

# Evaluación de la densidad de *Demodex* en dos muestras consecutivas de piel como método diagnóstico en pacientes con rosácea papulopustulosa

Two consecutive standardized skin surface biopsy to evaluate Demodex density as a diagnostic tool for patients with papulopustular rosacea

María Victoria Roch<sup>1</sup>, Virginia González<sup>2</sup>, Dante Chinchilla<sup>3</sup> y Miguel Ángel Allevato<sup>4</sup>

## RESUMEN

**Antecedentes:** La prevalencia de *Demodex folliculorum* en los pacientes con rosácea papulopustulosa (RPP) es de 55-74%. Tanto la muestra superficial estandarizada de piel (MSEP) como la dermatoscopia son herramientas diagnósticas no invasivas y de realización sencilla en la consulta dermatológica.

**Objetivos:** Evaluar si la dermatoscopia y la toma consecutiva de dos MSEP son útiles para la evaluación de la densidad de *Demodex* en los pacientes con RPP.

**Materiales y métodos:** Se incluyeron pacientes mayores de 18 años y menores de 90, atendidos en nuestro Servicio con diagnóstico de RPP durante el período comprendido entre septiembre y diciembre de 2017. Se tomaron dos MSEP consecutivas en dos tipos de zonas previamente clasificadas por dermatoscopia como sugestivas o no sugestivas de *Demodex*. Se consideró MSEP positiva la detección de > 5 *Demodex*/campo en la primera toma o > 10 *Demodex*/campo en la segunda.

**Resultados:** Se evaluaron 39 pacientes. La zona sugestiva más frecuente fue la mejilla (87,18%) y, la no sugestiva, la frente (69,23%). Presentaron positiva la primera muestra 20 pacientes (51,28%) en la zona con dermatoscopia sugestiva y 7 (17,95%) en la zona no sugestiva. Al realizarse la segunda toma consecutiva, solo 2 pacientes por grupo pudieron ser recategorizados como *Demodex* positivos; se obtuvieron finalmente 22 (56,41%) pacientes con resultados positivos en las zonas con dermatoscopia sugestiva y 9 (23,08%) en las zonas con dermatoscopia no sugestiva.

**Conclusiones:** La realización de dos MSEP aumentó el rédito diagnóstico para la detección de *Demodex*. La dermatoscopia puede ser complementaria a la MSEP.

**Palabras clave:** *Demodex*, rosácea, muestra superficial estandarizada de piel.

Dermatol. Argent. 2019, 25 (1): 25-29

## ABSTRACT

**Background:** The prevalence of *Demodex folliculorum* in patients with rosacea pustular papule (RPP) was reported to be between 55-74%. Both the Standardized Skin Surface Biopsy (SSSB) and dermatoscopy are non-invasive diagnostic tools and simple to perform in the dermatological consultation.

**Objectives:** The objective was to evaluate whether dermatoscopy and taking two consecutive SSSB are useful for the evaluation of *Demodex* density in patients with PPR.

**Methods:** We included those patients over 18 and under 90 years old, attended in our service with PPR diagnosis, during the period between September and December 2017.

Two consecutive SSSB were taken in two types of areas previously classified by dermatoscopy as suggestive or non-suggestive of *Demodex*. Detection of > 5 *Demodex*/field in the first take or > 10 *Demodex*/field in the second was considered positive SSSB.

**Results:** A total of 39 patients were evaluated. The most frequent suggestive area was the cheek (87.18%) and the non-suggestive area was the forehead (69.23%). The first sample was positive in 20 patients (51.28%) in the area with suggestive dermatoscopy and 7 (17.95%) in the non-suggestive area. When the second consecutive dose was taken, only 2 patients, per group, could be recategorized as *Demodex* positive, finally obtaining 22 (56.41%) patients with positive results in areas with suggestive dermatoscopy and 9 (23.08%) in non-suggestive areas.

**Conclusions:** The performance of two SSSB increased the diagnostic revenue for the detection of *Demodex*. Dermatoscopy may be complementary to MSEP.

**Key words:** *Demodex*, rosacea, standardized skin surface biopsy.

Dermatol. Argent. 2019, 25 (1): 25-29

<sup>1</sup> Médica Concurrente del Servicio de Dermatología

<sup>2</sup> Médica del Servicio de Dermatología

<sup>3</sup> Médico del Servicio de Dermatología

<sup>4</sup> Jefe del Servicio de Dermatología

Hospital de Clínicas José de San Martín, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

Contacto del autor: María Victoria Roch

E-mail: vi\_roch@hotmail.com

Fecha de trabajo recibido: 5/10/2018

Fecha de trabajo aceptado: 9/4/2019

Conflicto de interés: los autores declaran que no existe conflicto de interés.

## INTRODUCCIÓN

La rosácea es una dermatosis benigna, crónica y recurrente que suele afectar en mayor proporción a mujeres de mediana edad. Se considera que su etiología es multifactorial, destacándose, por ejemplo, la alteración vascular, los trastornos alimentarios y hormonales y la sobreinfección por *Demodex folliculorum*. Clínicamente, se caracteriza por la presencia de *flushing* o eritema persistente, telangiectasias, pápulas y pústulas. Se describen cuatro formas clínicas de rosácea: 1) rosácea eritematotelangiectásica (RET), 2) rosácea papulopustulosa (RPP), 3) rosácea fimatosa (RF) y 4) rosácea ocular (RO), así como una variante: la rosácea granulomatosa<sup>1,2</sup>.

Los ácaros de *Demodex* son ectoparásitos pertenecientes a la familia *Demodicidae*, del género *Demodex*. Son artrópodos de aproximadamente 0,2-0,4 mm. Los ácaros de *Demodex* son comensales permanentes que habitan en las unidades pilosebáceas del ser humano. Se han identificado 140 especies-subespecies, de las cuales solo dos parasitan al hombre: *D. folliculorum* y *D. brevis*. El primero suele localizarse en el infundíbulo folicular, mientras que el segundo se encuentra en las glándulas sebáceas y de Meibomio. Su ciclo vital es de 14-18 días y transcurre en las unidades pilosebáceas. La copulación tiene lugar en la apertura del folículo piloso, desde donde la hembra grávida se dirige hacia la glándula sebácea para depositar los huevos. Estos se convierten en larvas y luego en protoninfas en el conducto glandular y son transportados hacia la apertura folicular para completar el ciclo y convertirse en adultos<sup>3</sup>.

Se describió el papel de *Demodex* en la fisiopatogenia de la demodicosis, pero su relación con la RPP sigue siendo controvertida. Esta dificultad podría estar asociada a tres factores: la localización de la enfermedad, el ser un parásito obligado y su ubicuidad en el ser humano. La mera presencia del parásito no es suficiente para probar la patogenicidad, por lo que comúnmente se lo considera partícipe cuando está presente en gran cantidad y/o de localización intradérmica<sup>4</sup>. Se podría aceptar el carácter patogénico de *Demodex* de forma indirecta cuando la dermatosis se resuelve con el tratamiento<sup>2</sup>.

El objetivo fue evaluar si la dermatoscopia y la toma de una segunda muestra superficial estandarizada de piel en forma consecutiva son útiles para la evaluación de la densidad de *Demodex folliculorum* en pacientes con RPP<sup>5</sup>.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se incluyeron todos los pacientes mayores de 18 años y menores de 90 años con diagnóstico clínico de RPP atendidos en el Servicio de Dermatología del Hospital de Clínicas José de San Martín durante el período comprendido entre septiembre y diciembre de 2017. Se excluyeron los enfermos con tratamiento antibiótico o antiparasitario tópico u oral 30 días antes de la consulta.

Se recabaron los siguientes datos de los pacientes: sexo; edad; fototipo; antecedentes de hipertensión arterial, dislipidemia, diabetes, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) o enfermedad coronaria; medicación habitual; antecedentes dermatológicos personales y familiares.

La MSEP se considera una técnica no invasiva. En nuestro estudio se realizaron dos tomas de MSEP para la búsqueda de *Demodex* con la siguiente metodología:

1) Dermatoscopia previa a la toma de las muestras para determinar el área más representativa de *Demodex* (dermatoscopia positiva) y el área de menor representatividad (dermatoscopia negativa) (Foto 1).

2) Asepsia y antisepsia con éter tanto de la piel como del portaobjetos y el cubreobjetos.

3) Colocación de una gota de cianoacrilato sobre un portaobjetos en el que previamente se delimitó una superficie de 1 cm<sup>2</sup>.



**FOTO 1:** Dermatoscopia antes de realizar la primera muestra, donde se observa un eritema difuso con protusiones foliculares amarillentas monomorfas llamadas colas de *Demodex*.

4) Colocación del portaobjetos sobre la piel del paciente durante 1-2 minutos y posterior retiro (Foto 2).

5) Aplicación de una gota de aceite sobre la muestra que luego se cubrió con el portaobjetos.

6) Dermatoscopia posterior a la toma de la primera muestra (Foto 3).

7) Toma de la segunda muestra en el mismo lugar de la primera con la misma técnica.

8) Toma de otras dos muestras, de igual manera, en el área de dermatoscopia negativa.

9) Evaluación con microscopía óptica de cada muestra para la determinación de la densidad de *Demodex* establecida por el número de ácaros presentes en la superficie de 1 cm<sup>2</sup> (Foto 4).



FOTO 2: Paciente de 58 años con rosácea papulopustulosa, realización de MSEP.



FOTO 3: Dermatoscopia posterior de la primera toma de muestra en la que se visualizan los elementos observados en la FOTO 1 más claramente.



FOTO 4: Microscopía óptica de numerosos *D. folliculorum* (HyE, 40X).

Los valores de referencia para considerar *Demodex* positivo fue  $> 5$  *Demodex*/cm<sup>2</sup> (D/cm<sup>2</sup>) para la primera muestra (MSEP1),  $> 10$  D/cm<sup>2</sup> para la segunda muestra (MSEP2) y  $> 15$  D/cm<sup>2</sup> para la sumatoria de las dos MSEP (1 + 2)<sup>5</sup>.

La dermatoscopia se consideraba positiva cuando se observaba la presencia de colas o aperturas de *Demodex*<sup>6</sup>.

## RESULTADOS

Se analizaron los datos de 39 pacientes, 33 (84,6%) eran mujeres y 6 (15,4%) varones, con una edad promedio de  $38,8 \pm 15$  años. En la Tabla 1 se presentan las zonas de donde se tomaron muestras según fueran sugestivas de *Demodex* por dermatoscopia.

En la Tabla 2 se presentan los resultados de la MSEP. De los 39 pacientes, presentaron positiva la primera muestra 20 (51,28%) en las zonas con dermatoscopia sugestiva y 7 (17,95%) en las zonas con dermatoscopia no sugestiva. Al realizarse la segunda toma consecutiva, solo 2 pacientes por grupo que no habían sido detectados con la primera muestra pudieron ser recategorizados como *Demodex* positivos y, finalmente, la cantidad de pacientes con resultados positivos fue de 22 (56,41%) en las zonas con dermatoscopia sugestiva y de 9 (23,08%) en las zonas con dermatoscopia no sugestiva. En las Tablas 3 y 4 se presentan los resultados de la primera y la segunda muestra según las zonas identificadas por dermatoscopia.

De las 78 MSEP (zonas sugestivas y no sugestivas), la concordancia absoluta entre la primera y la segunda muestra fue de 78,21% (47 negativas y 14 positivas), con índice kappa de 0,48. La discordancia se observó en 4 muestras que primero fueron negativas y 13 muestras que primero fueron positivas (McNemar;  $p = 0,0490$ ).

Las dos muestras consecutivas fueron por lo general bien toleradas, solo 6 pacientes (15,4%) refirieron un leve dolor local. Entre otros efectos adversos señalados por los pacientes se incluyen ardor leve (10,2%) e irritación ocular (5,1%) (Tabla 5).

Zona n (%)	Dermatoscopia sugestiva	Dermatoscopia no sugestiva
Mejilla	34 (87,18)	6 (15,38)
Mentón	4 (10,26)	2 (5,13)
Nariz	1 (2,56)	0
Frente	0	27 (69,23)
Preauricular	0	4 (10,26)

**TABLA 1:** Zonas seleccionadas para toma de muestras según el resultado de la dermatoscopia en 39 pacientes con rosácea.

	Dermatoscopia sugestiva (D/cm <sup>2</sup> )	Dermatoscopia no sugestiva (D/cm <sup>2</sup> )
1ª MSEP Mediana (rango)	6 (0-127)	1 (0-52)
2ª MSEP Mediana (rango)	6 (0-100)	1 (0-24)
1ª MSEP > 5 n pacientes (%)	20 (51,28)	7 (17,95)
2ª MSEP > 10 n pacientes (%)	15 (38,46)	3 (7,69)
Al menos una MSEP positiva n pacientes (%)	22 (56,41)	9 (23,08)
Ambas MSEP positivas n pacientes (%)	13 (33,33)	1 (2,56)

**TABLA 2:** Resultados de las muestras superficiales estandarizadas de piel (MSEP) en 39 pacientes con rosácea.

Zona sugestiva	2ª MSEP		
	Positiva	Negativa	Total
1ª MSEP			
Positiva	13	7	20
Negativa	2	17	19
Total	15	24	39

**TABLA 3:** Densidad de *Demodex*. MSEP 1 y 2 en zonas sugestivas por dermatoscopia.

Zona no sugestiva	2ª MSEP		
	Positiva	Negativa	Total
1ª MSEP			
Positiva	1	6	7
Negativa	2	30	32
Total	3	36	39

**TABLA 4:** Densidad de *Demodex*. MSEP 1 y 2 en zonas no sugestivas por dermatoscopia.

Efectos adversos	Nº pacientes/39	Porcentaje
Dolor	6	15,4
Ardor	4	10,2
Eritema	4	10,2
Irritación ocular	2	5,1
Total	16	41

**TABLA 5:** Efectos adversos.

## COMENTARIOS

En la práctica diaria no siempre resulta fácil el diagnóstico clínico de RPP o demodicosis; por ello, es importante determinar el punto de corte entre el valor normal y el patológico de la densidad de *Demodex* para poder apoyar dicho diagnóstico.

La densidad de *Demodex* puede determinarse por diversos métodos y se considera significativa la presencia de > 5 ácaros/cm<sup>2</sup>. Los estudios complementarios incluyen el escarificado, la observación directa en el microscopio de las secreciones de las glándulas sebáceas y el examen histológico de las biopsias realizadas por *punch*. Hasta la fecha, todos estos métodos diagnósticos para el estudio de *Demodex* fueron (semi) invasivos, incluso, en ocasiones, dolorosos<sup>7-11</sup>.

La MSEP permite obtener muestras de las capas más superficiales del estrato córneo y de los folículos, pero no incluye el contenido completo de este. Por lo tanto, podrían ocurrir falsos negativos en pacientes que presenten folículos pilosos elongados o hiperqueratósicos, o piel seborreica que disminuiría la adherencia del ácaro al portaobjetos. Forton *et ál.* publicaron un caso de baja densidad de *Demodex*, un falso negativo asociado, probablemente, a una mala adherencia. Por eso realizaron una segunda toma de muestra inmediatamente posterior y en el mismo lugar que la primera. Además, efectuaron una limpieza previa de la piel y del portaobjetos con éter para mejorar la adherencia y disminuir la variable seborrea que podría afectarla. Esto sugiere que tomar dos muestras consecutivas puede aumentar la sensibilidad del estudio<sup>12,13</sup>.

Recientemente, se ha incorporado la dermatoscopia como examen complementario en la demodicosis. Se describen tres patrones dermatoscópicos sugestivos: colas de *Demodex*, apertura folicular de *Demodex* y vasos dilataados reticulares posicionados horizontalmente, esto último considerado menos específico, ya que suele estar presente en las enfermedades inflamatorias.

Las colas de *Demodex* se observan como una hebra o filamento blanquecino, gelatinoso, de 1-3 mm de longitud, de disposición folicular o perifolicular, que

protruye del folículo. Su visualización corresponde a la presencia del ácaro y el hallazgo de tres o más colas se considera sugestivo de demodicosis. Las aperturas foliculares de *Demodex* son folículos dilatados redondeados que contienen tapones de color marrón grisáceo rodeados por un halo eritematoso. En oportunidades, pueden observarse las colas de *Demodex* que protruyen de estos. A diferencia de las colas de *Demodex*, las aperturas foliculares suelen corresponder a las variantes más inflamatorias de la demodicosis<sup>14,15</sup>.

En este estudio se evaluó no solo la realización de una segunda toma de muestra inmediatamente posterior a la primera para valorar la densidad de *Demodex*, sino que también se realizó la combinación de este método diagnóstico junto con la dermatoscopia. Ambas

técnicas son no invasivas y pueden considerarse herramientas diagnósticas útiles para todos los dermatólogos en la práctica cotidiana.

La realización de dos muestras consecutivas de MSEP aumentó el rédito diagnóstico de la densidad de *Demodex*. La MSEP fue bien tolerada y, sola o en conjunto con la dermatoscopia, puede ser una herramienta no invasiva, rápida y sencilla para efectuar en la consulta dermatológica.

El resultado positivo de la MSEP fue más frecuente en las zonas con dermatoscopia sugestiva. La discordancia entre ambos métodos fue estadísticamente significativa, resultado que sugiere que las MSEP y la dermatoscopia pueden ser complementarias para identificar la densidad de *Demodex*.

## BIBLIOGRAFÍA

- Erbagci Z, Ozgoztasi O. The significance of Demodex folliculorum density in rosacea. *Int J Dermatol* 1998;37:421-425.
- Forton F, Germaux MA, Brasseur T, De Liever A, et al. Demodicosis and rosacea: epidemiology and significance in daily dermatological practice. *J Am Acad Dermatol* 2005;52:74-87.
- Litwin D, Chen WC, Dzika E, Korycińska J. Human permanent Ectoparasites; recent advances on biology and clinical significance of Demodex mites: narrative review articles. *Iran J Parasitol* 2017;12:12-21.
- Forton F, Seys B. Density of Demodex folliculorum in rosacea: a case control study using standardized skin surface biopsy. *Br J Dermatol* 1993;128:650-659.
- Forton F, De Maertelaer V. Two consecutive standardized skin surface biopsies: an improved sampling method to evaluate Demodex density as a diagnostic tool for rosacea and demodicosis. *Acta Derm Venereol* 2017;97:242-248.
- Segal R, Mimouni D, Feuerman H, Pagovitz O, et al. Dermoscopy as a diagnostic tool in demodicosis. *Int J Dermatol* 2010;9:1018-1023.
- Sattler EC, Maier T, Hoffmann VS, Hegyi J, et al. Non-invasive in vivo detection and quantification of Demodex mites by confocal laser scanning microscopy. *Br J Dermatol* 2012;62:1050-1052.
- Aytekin S, Göktaş Y, Yaşar Ş, Gizlenti S, et al. Tips and tricks on Demodex density examination by standardized skin surface biopsy. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2016;30:e126-e127.
- Yun CH, Yun JH, Ok Baek J, Roh JY, et al. Demodex mite density determinations by standardized skin surface biopsy and direct microscopic examination and their relations with clinical types and distribution patterns. *Ann Dermatol* 2017;29:137-141.
- Hsu C, Hsu M, Lee J. Demodicosis: a clinicopathological study. *J Am Acad Dermatol* 2009;60:453-462.
- Aşkin U, Seçkin D. Comparison of the two techniques for the measurement of the density of Demodex folliculorum: standardized skin surface biopsy and direct microscopic examination. *Br J Dermatol* 2010;162:1124-1126.
- Forton F, Song M. Limitations of standardized skin surface biopsy in measurement of the density of Demodex folliculorum. A case report. *Br J Dermatol* 1998;139:697-700.
- Zeytun E, Tilki E, Doğan S, Mumcuoğlu KY, et al. The effect of skin moisture, pH, and temperature on the density of Demodex folliculorum and Demodex brevis (Acari: demodicidae) in students and staff of the Erzincan University, Turkey. *Int J Dermatol* 2017;56:762-766.
- Lallas A, Argenziano G, Longo C, Moscarella E, et al. Polygonal vessels of rosacea are highlighted by dermoscopy. *Int J Dermatol* 2013;53:e325-327.
- Friedman P, Cohen Sabban E, Cabo H. Usefulness of dermoscopy in the diagnosis and monitoring treatment of demodicosis. *Dermatol Pract Concept* 2017;7:35-38.

## PERLAS

Alberto Woscoff

Profesor Consulto Titular de Dermatología (Universidad de Buenos Aires). Maestro de la Dermatología Argentina.

### PRURITO EN LA DERMATITIS ATÓPICA

Los tratamientos están dirigidos a reparar la función de barrera, la inflamación, la hipersensibilidad neural y el ciclo prurito-rascado. Los recursos tópicos son emolientes y humectantes, compuestos con ceramida y avena coloidal. Evitar los jabones alcalinos, los corticosteroides y los inhibidores de la calcineurina (tacrolimus y pimecrolimus), crisaborole, capsaicina. Fórmula recomendada: ketamina tópica 10%, amitriptilina 5%, lidocaína en base liposómica, canabinoides tópicos, agentes refrigerantes: mentol, alcanfor, fenol, apósitos húmedos oclusivos, hipoclorito de sodio. Fototerapia: UVBba. Agentes sistémicos: monoclonales: dupilumab (bloquea el receptor de

IL-4, señales de IL-4 e IL-13) (recomendado como de primera línea), ciclosporina A, mofetil micofenolato, azatioprina, metotrexato, corticosteroides sistémicos, gabapentina, pregabalina, moduladores opioides (butofarnol). Reducción del estrés, acupuntura.

Pavlis J, Yosipovitch G. Management of Itch in atopic dermatitis. *Am J Clin Dermatol* 2018;19:319-332.

### MELANOMA y VITAMINA D

La acción biológica de la vitamina D es mediada por su forma activa 1,25-dihidroxivitamina D y su receptor intranuclear VDR. *In vitro* tiene diversos efectos anticancerígenos: promueve la diferenciación celular y la apoptosis e inhibe la angiogénesis. En 109 melanomas primarios se estimó el nivel de la forma activa dentro de los

6 meses del diagnóstico. El nivel de vitamina D estaba inversamente asociado con el espesor de Breslow, elevado en los tumores no ulcerados en comparación con los ulcerados y en aquellos con un índice mitótico menor de 1/mm<sup>2</sup>. Se hallaron asociaciones significativas entre el melanoma extensivo superficial, el nodular y el lentiginoso acral, con reducción del riesgo de recaída y de muerte. Los niveles elevados de vitamina D benefician el pronóstico de los pacientes con melanoma primario.

Lim A, Shayan R, Varigos G. High serum vitamin D level correlates with better prognostic indicators in primary melanoma: A pilot study. *Australas J Dermatol* 2018;59:182-187.