

ACNE VULGARIS: BACTERIAS AISLADAS Y SU SUSCEPTIBILIDAD A LOS ANTIBIOTICOS

Evelyn Rodríguez*, Juan R. Mora* y Oscar Prendas *

Key words: *acne vulgaris*, *Propionibacterium*, *Staphylococcus aureus*, antibiotic resistance.

RESUMEN

Se investigaron las bacterias aisladas de 207 pacientes con *acne vulgaris* y se estableció el perfil de sensibilidad a los antibióticos de las cepas encontradas a través de 13 años de estudio. En el 75 por ciento de las muestras se encontró *Propionibacterium sp.* en asociación con *Staphylococcus aureus*; sólo *Propionibacterium sp.* en el 17 por ciento de los aislamientos; sólo *S. aureus* en el 7 por ciento de las muestras y, en tres casos (1%), *Propionibacterium* más alguna de estas tres especies: *Streptococcus pyogenes*, *Enterobacter aerogenes* o *Staphylococcus sp. coagulasa negativa*. Los agentes antibacterianos probados *in vitro* fueron: ampicilina, clindamicina, cloranfenicol, cefalotina eritromicina lincomicina, penicilina G y tetraciclina. Los resultados revelan cepas altamente resistentes a ampicilina, penicilina G e incluso tetraciclina, uno de los antibióticos más recomendados para el tratamiento del *acne*. Los antibióticos más eficaces contra las dos especies principales fueron clindamicina y lincomicina.

* Laboratorio de Anaerobios, Departamento de Microbiología e Inmunología, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

Nuestros porcentajes de cepas resistentes, mayores que los comunicados en otros estudios, podrían explicarse por el hecho de que la mayoría de los pacientes habían recibido antibióticoterapia previamente.

INTRODUCCION

El *acne vulgaris* es una condición patológica de los folículos sebáceos de la piel humana, localizado generalmente en la cara, la espalda, el cuello o en una combinación de esos sitios (9).

Es una enfermedad multifactorial que involucra la estimulación androgénica de las glándulas sebáceas, con incremento en la producción de sebo, hidrólisis de los triglicéridos del sebo por la microflora del folículo, alteraciones en la diferenciación del epitelio folicular y un infiltrado inflamatorio (10).

Existen evidencias que sugieren que *Propionibacterium acnes* tiene un papel importante en el desarrollo de la lesión (9). Se supone que es a través de la acción lipolítica de la lipasa bacteriana que se produce la hidrólisis de los triglicéridos (a) ácidos grasos libres, los cuales favorecen la inflamación y el desarrollo del *acne* (7,14).

Por muchos años, el tratamiento con antibióticos ha sido administrado a los pacientes que presentan este tipo de problema, con el fin de inhibir el crecimiento de bacterias productoras de lipasa o la actividad de esta enzima (7,14). Es de esperar una correlación entre la mejoría clínica y la susceptibilidad *in vitro* de los

principales microorganismos involucrados. Ya que esta susceptibilidad puede variar a través del tiempo, se pretende, en este estudio, determinar cuál o cuáles bacterias se aíslan con mayor frecuencia en las lesiones de pacientes con *acne* y el perfil de sensibilidad de dichas bacterias a los agentes antimicrobianos tradicionalmente empleados en su tratamiento. Se espera así, contribuir a la mejoría de quienes padecen *acne vulgaris*.

MATERIALES Y METODOS

Se incluyó a 207 pacientes con problemas de *acne vulgaris*, ya fuera en cara, cuello o espalda. La mayoría fueron referidos a nuestro laboratorio por médicos de la Clínica de Salud de la Universidad de Costa Rica, en el período comprendido entre 1976 y 1988.

Para tomar la muestra se desinfectó, con alcohol etílico de 70°, la zona en donde se encontraron lesiones purulentas cerradas (espinillas) y se procedió a puncionar con aguja estéril una o más de ellas. El material drenado se recogió con dos hisopos de algodón: uno con el que se preparó un frotis para ser teñido por Gram y otro que se suspendió en 0,5 ml de solución salina estéril (SSE). A partir de esa suspensión se inoculó un tubo con caldo, infusión de cerebro y corazón (CICC) + carne picada, prerreducido (*i.e.* anaerobio), el cual fue incubado a 37°C por 48 horas.

Los microorganismos que crecieron en CICC se rayaron en placas de agar sangre y en tubos de agar infusión de cerebro y corazón (AICC) prerreducido. El agar sangre se incubó a 37°C por 24 horas con atmósfera de CO₂ incrementada (jarra con candela). El agar AICC prerreducido se incubó a 37°C por 24-48 horas.

Los microorganismos que crecieron en el agar sangre fueron identificados por los métodos convencionales empleados para bacterias facultativas (11). En el caso de *Staphylococcus aureus*, la identificación se basó en cuatro pruebas: crecimiento tanto en condiciones anaerobias como aerobias, morfología en tinción de Gram y pruebas

de catalasa y coagulasa. Los diferentes morfotipos coloniales presentes en el AICC prerreducido se rayaron en agar sangre y en AICC prerreducido con el fin de determinar si se trataba de microorganismos anaerobios o facultativos. Las bacterias facultativas fueron tratadas como se describió anteriormente. La identificación de las bacterias anaerobias se hizo inicialmente de acuerdo con las pruebas usuales para este tipo de bacterias (8). Posteriormente, se realizó una identificación presuntiva, tomando en cuenta sólo la morfología colonial, el crecimiento en CICC prerreducido y la morfología y arreglo en tinción de Gram. Cada cierto tiempo, se tomó una muestra de la(s) bacteria(s) identificada(s) presuntivamente y se le(s) realizó una identificación completa, encontrándose coincidencia completa entre ambos métodos.

Todas las bacterias aisladas de las lesiones fueron sometidas a pruebas de sensibilidad ante agentes antibacterianos. Se utilizó el método de difusión en agar de Bauer, Kirby, Sherris y Turck (3) para determinar la sensibilidad de las cepas de *S. aureus* y el método de discos en caldo de Wilkins y Thiel (17) en el caso de *Propionibacterium* sp. Los agentes antibacterianos empleados fueron los siguientes: penicilina G, ampicilina, doranfénicol, eritromicina, lincomicina, clindamicina, tetraciclina y cefalotina.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los agentes etiológicos que se encontraron en las 207 muestras fueron: *Propionibacterium* sp. junto con *S. aureus* en 153 muestras (75%); solamente *Propionibacterium* sp. en 36 casos (17%); solamente *S. aureus* en 15 muestras (7%) y *Propionibacterium* sp. más alguna de estas tres especies: *Streptococcus pyogenes*, *Enterobacter aerogenes* y *Staphylococcus* sp. coagulasa negativa, en tres casos (1%). Nuestros resultados están de acuerdo con la gran mayoría de los estudios en que se menciona a *Propionibacterium* como el microorganismo más frecuen-

temente involucrado en los casos de *acne* (9), ya que estuvo presente en 192 casos (93%), como especie única o en asociación con otras especies.

Es importante señalar la alta prevalencia de *S. aureus*, presente en 168 muestras (81%). El género *Staphylococcus* ha sido descrito como uno de los principales microorganismos de la microflora del folículo (9) y parece tener, al menos en la muestra estudiada, un papel sobresaliente en los casos de *acne*.

El perfil de sensibilidad ante ocho diferentes antimicrobianos del total de cepas de *Propionibacterium* y de *S. aureus* a través de los 13 años de estudio se puede apreciar en los Cuadros 1 y 2.

De especial interés es el comportamiento de estas cepas frente a la tetraciclina, uno de los antibióticos más recomendados para el tratamiento del *acne* (2,14). El 60 por ciento del total de *Propionibacterium* y apenas el 41 por ciento de *S. aureus* fueron sensibles. En la Figura 1 se pueden apreciar las variaciones en el patrón de sensibilidad a la tetraciclina en los últimos seis años de estudio; nótese el cambio drástico a partir de 1984, año en el que se encontró un 37 por ciento de *Propionibacterium* y apenas un 44 por ciento de *S. aureus* sensibles. Estos datos contrastan con los de Al-Mishari (2), quien informa de un 95 por ciento de respuesta clínica favorable en pacientes con *acne vulgaris* tratados con tetraciclina. Leyder y colaboradores (12) han demostrado que los recuentos de *P. acnes* después de tres semanas de discontinuar el tratamiento con tetraciclina vuelven a ser los mismos que antes de iniciarlo; esta condición podría favorecer la aparición de cepas resistentes. Por otro lado, otros autores han demostrado que la administración de tetraciclina seleccionó la aparición de microorganismos multirresistentes (1). Debido a que muchos de los pacientes que acuden a nuestro laboratorio han recibido tratamiento previo con antibióticos, podría ser ésta la explicación para la alta resistencia en las cepas.

Una situación similar se presentó con la ampicilina. El patrón de sensibilidad de las

cepas a partir de 1983 se puede ver en la Figura 2; el porcentaje de cepas sensibles va disminuyendo hasta encontrar que en 1988 todas las cepas de *Propionibacterium* y de *S. aureus* probadas fueron resistentes.

Los porcentajes de resistencia contra la penicilina G también fueron muy altos: 77 por ciento de *S. aureus* y 58 por ciento de los *Propionibacterium*. Esto concuerda con Varaldo (16) quien informa de un 80 por ciento de cepas de *S. aureus* resistentes a penicilina G.

La aparición de cepas resistentes a la cefalotina se comienza a apreciar a partir de 1986 y no supera el 20 por ciento. Este porcentaje podría mantenerse o ir aumentando, por lo que su uso debe ser cauteloso. La eritromicina, uno de los antibióticos muy usados para el tratamiento de *acne* (12,13), resultó eficaz contra la mayoría de las cepas aisladas de *S. aureus* (87%) y de *Propionibacterium* sp. (77%). El número de cepas resistentes nunca fue mayor de 3 casos por año para *S. aureus* y 6 para *Propionibacterium* sp. durante los 13 años de estudio y no se demostró una tendencia hacia el aumento de cepas resistentes. A pesar de que Adams (1) no encuentra que la eritromicina ejerza presión de selección para la aparición de microorganismos resistentes en la flora fecal, Eady y colaboradores (6) sí encuentran una asociación significativa entre la terapia con eritromicina y el aislamiento de propionibacterias resistentes. Aunque se recomienda limitar el uso de eritromicina para infecciones estafilocócicas serias (1), continúa estando entre las drogas de elección para el tratamiento del *acne*. Los antibióticos más eficaces contra *Propionibacterium* sp. y *S. aureus in vitro* fueron clindamicina y lincomicina, pues únicamente el 3 por ciento de *S. aureus* y el 2 por ciento de *Propionibacterium*, fueron resistentes a clindamicina y el 5 por ciento de *S. aureus* y el 7 por ciento de los *Propionibacterium* lo fueron contra la lincomicina. Debería pensarse en el uso de clindamicina tópica para el tratamiento del *acne*, pues por ser tópica, no causa cambios en la flora del colon, como sí sucede

con la administración oral de antibióticos (4). Tanto la clindamicina como el cloranfenicol han sido probados como antibióticos muy efectivos contra bacterias anaerobias (5), pero a pesar de que los porcentajes de sensibilidad del cloranfenicol también fueron muy favorables para nuestras cepas, su uso deberá limitarse, por los efectos secundarios en médula ósea y por su amplio espectro.

Los porcentajes encontrados de cepas resistentes, en algunos casos mayores a los encontrados en otros estudios, podrían explicarse por el hecho de que la mayoría de los pacientes que estudiamos no ha respondido adecuadamente a antibióticoterapias previas. Según Eady y colaboradores (6), un 20 por ciento de los pacientes que no respondieron adecuadamente a tratamiento tenían propionibacterias resistentes a antibióticos, comparado con un 5 por ciento encontrado en pacientes controles sin tratamiento previos.

Los mecanismos por los cuales los antibióticos contribuyen a la mejoría clínica del *acne* no están todavía claros. Tarayre y colaboradores (15) sugieren la participación de un mecanismo antiinflamatorio cuando se utiliza una base de eritromicina en algunas formas de *acne*. Ha sido demostrado también que la tetraciclina, pero no la eritromicina, es un inhibidor de la lipasa producida por *P. acnes*, pues detiene la actividad quimiotáctica de los polimorfonucleares (10). Se sabe que los ácidos grasos libres tienen un papel importante en la patogénesis del *acné* y ya que esos ácidos son producidos por la acción lipolítica de las bacterias de la flora normal, se supone que es a través de este mecanismo que los antibióticos ayudan a mejorarlo (13).

Aunque esos mecanismos no están claros, debería existir una correlación entre la mejoría clínica y el comportamiento *in vitro* de los principales microorganismos involucrados. Se espera que los datos

mostrados a través de este estudio de 13 años contribuyan al mejoramiento de quienes padecen *acne vulgaris*.

AGRADECIMIENTOS

Deseamos dejar constancia de nuestro agradecimiento a los doctores Tillmann Brunker y Bernal Fernández por su colaboración en este trabajo y a la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica por el apoyo económico (Proyecto N° 02-07-10-17).

ABSTRACT

The bacteria obtained through a period of 13 years from 207 patients afflicted by acne vulgaris were studied, with respect to the species involved and their antibiotic resistance pattern. In 75 percent of the strains we found Propionibacterium sp. associated with Staphylococcus aureus; 17 percent of the isolates yielded Propionibacterium sp. only; in 7 percent of the cases only S. aureus was found. The remaining 1 percent of the isolates was Propionibacterium sp. plus any one of the following: Streptococcus pyogenes, Enterobacter aerogens, or a coagulase-negative Staphylococcus sp. The antibacterial agents used in vitro were: ampicillin, clindamycin, chloramphenicol, cephalothin, erythromycin, lincomycin, penicillin G, and tetracyclin. Our results showed the presence of highly resistant isolates to ampicillin, penicillin G, and even tetracyclin, one of the most frequently recommended drugs for the treatment of acne. The two most effective antibiotics against the two main bacterial agents were clindamycin and lincomycin. The fact that our results show percentages of antibiotic resistant strains higher than those reported in other studies may be accounted for by the fact that a majority of our patients had been exposed to these antibiotics in prior treatments.

REFERENCIAS

1. Adams, S. J., Cunliffe, W. J., Cooke, E. M. Long-term antibiotic therapy for *acne vulgaris*: Effects on the bowel flora of patients and their relatives. *J. Invest. Dermatol.* 1985; 85:35-37.
2. Al-Mishari, M. A. Clinical and bacteriological evaluation of tetracycline and erythromycin in *acne vulgaris*. *Clin. Ther.* 1987; 9:273-280.
3. Bauer, A. W.; Kirby, W. M. M., Sherris, J. C., and Turck, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.* 1966; 54:493-496.
4. Borglund, E., Haegermark, O. and Nord, C. E. Impact of topical clindamycin and systemic tetracycline on the skin and colon microflora in patients with *acne vulgaris*. *Scand. J. Infect. Dis.* 1984; 43:76-81.
5. Collingnon, P. J., Munro, R., Morris, G. Susceptibility of anaerobic bacteria to antimicrobial agents. *Pathology.* 1988; 20:48-52.
6. Eady, E. A., Cove, J. H., Blake, J., Holland, K. T., and Cunliffe, W. J. Recalcitrant *acne vulgaris* clinical biochemical and microbiological investigation of patients not responding to antibiotic treatment. *Br. J. Dermatol.* 1988; 118:415-424.
7. Freinkel, R. K., Srauss, J. S., Yip, S. Y., and Pochi, P. E. Effect of tetracycline on the composition of sebum in *acne vulgaris*. *N. Engl. J. Med.* 1965; 273: 850-854.
8. Holdeman, L V., Cato, E. P., and Moore, W. E. C. (ed) *Anaerobe Laboratory Manual.* 4th ed. Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg. 1977; p. 56-59.
9. Holland, K. T., Ingham, E. and Cunliffe, W. J. A Review. The Microbiology of Acne. *J. Appl. Bacteriol.* 1981; 51:195-215.
10. Lee, W. I., Shalita, A. R., Suntharalingam, K. and Fikrig, S. M. Neutrophil Chemotaxis by *Propionibacterium acnes* Lipase and Its Inhibition. *Infect. Immunity.* 1982; 35:71-78.
11. Lennette, E. H., Balows, A., Hausler, W. J. Jr., and Shadomy, H. J. (Editors). *Manual of Clinical Microbiology*, 4th ed. American Society for Microbiology, Washington, D. C. 1985; p. 263-277.
12. Leyden, J J., McGinley, K. J., Klingman, A. M. Tetracycline and minocycline treatment. Effects on skinsurface lipid levels and *Propionibacterium acnes*. *Arch. Dermatol.* 1982; 118:19-22.
13. Murphy, G. M., Greaves, M. W. *Acne and psoriasis.* *Br. Med. J.* 1988; 296:546-548.
14. Pochi, P. E. Antibiotics in *acne*. *N. Engl. J. Med.* 1976; 294:43-44.
15. Tarayre. J. P., *et al.* Cutaneously applied erythromycin base reduces various types of inflammatory reactions in mouse ear. *Int. J. Tissue React.* 1987; 9:77-85.
16. Varaldo, P.E. *et al.* Identification, clinical distribution, and susceptibility to methicillin and 18 antibiotics of clinical *Staphylococcus* isolates: Nationwide Investigation in Italy. *J. Clin. Microbiol.* 1984; 19:838-843.
17. Wilkins, T. D., and Thiel, T. Modified broth-disk method for testing the antibiotic susceptibility of anaerobic bacteria. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1973; 3:350-356.

CUADRO 1

**PORCENTAJES DE SENSIBILIDAD *PROPIONIBACTERIUM* SP.
ANTE OCHO ANTIBIÓTICOS 1976 - 1988**

ANTIBACTERIANO	AÑO													TOTALES
	1976	1977	1978	1979	1980	1981	1982	1983	1984	1985	1986	1987	1988	
AMPICILINA	50	ND	ND	50	0	100	80	100	75	52	48	28	0	53
CEFALOTINA	67	ND	100	ND	0	100	ND	100	100	100	86	63	86	80
CLINDAMICINA	100	100	100	100	88	100	100	100	100	93	100	100	100	98
CLORANFENICOL	100	100	63	100	83	89	100	100	100	100	82	94	100	93
ERITROMICINA	70	20	9	100	75	82	100	55	79	79	100	96	100	77
LINCOMICINA	64	100	100	100	63	100	86	100	100	100	100	100	100	93
PENICILINA G	20	25	67	75	57	40	43	90	56	41	35	21	27	42
TETRACICLINA	91	89	94	100	80	33	86	100	37	26	26	14	29	60

ND: no hay datos.

CUADRO 2
PORCENTAJES DE SENSIBILIDAD STAPHYLOCOCCUS AUREUS
ANTE OCHO ANTIBIÓTICOS 1976 - 1988

ANTIBACTERIANO	AÑO													TOTALES
	1976	1977	1978	1979	1980	1981	1982	1983	1984	1985	1986	1987	1988	
AMPICILINA	ND	ND	ND	0	0	67	33	100	57	26	23	37	0	34
CEFALOTINA	100	ND	ND	ND	0	100	ND	100	100	100	93	80	80	84
CLINDAMICINA	100	100	91	100	86	100	100	100	94	92	100	100	100	97
CLORANFENICOL	100	100	100	100	83	100	100	100	100	100	94	94	100	98
ERITROMICINA	100	50	50	100	83	75	67	90	83	92	100	88	94	87
LINCOMICINA	100	100	100	100	71	100	100	67	100	100	100	100	100	95
PENICILINA G	0	40	100	50	67	25	50	44	20	0	19	28	0	23
TETRACICLINA	50	86	73	75	60	33	50	100	44	18	33	17	20	41

ND: no hay datos.

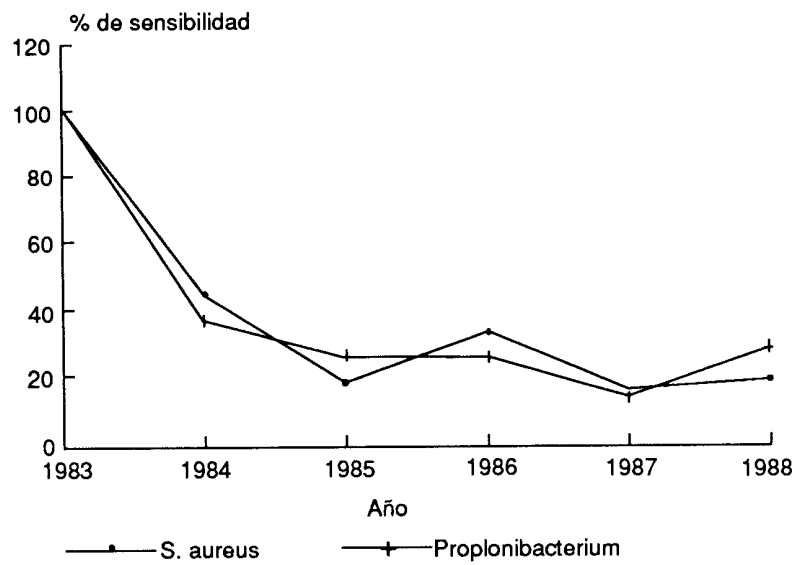


Figura 1. Porcentajes de sensibilidad de *Propionibacterium* sp. y *Staphylococcus aureus* ante tetraciclina. 1983-1988.

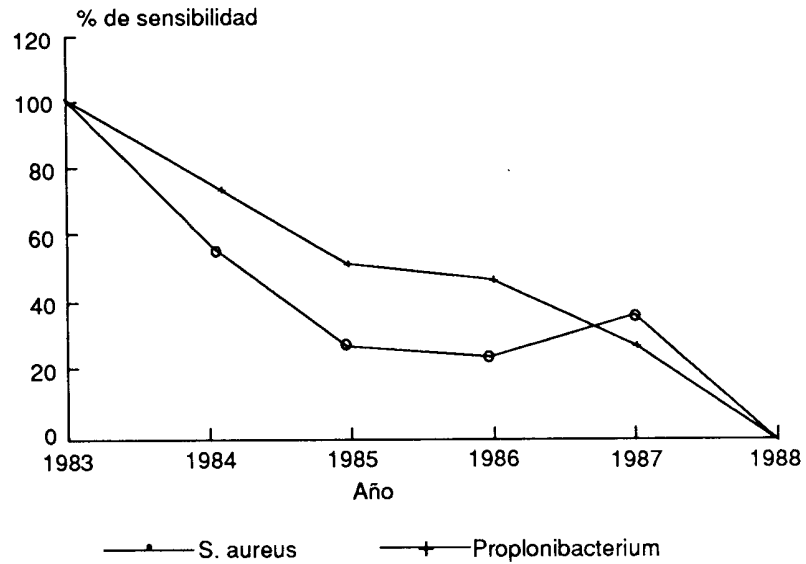


Figura 1. Porcentajes de sensibilidad de *Propionibacterium* sp. y *Staphylococcus aureus* ante ampicilina. 1983-1988.