

Valutazione dell'antibiotico-resistenza nell'acne

Maria Rita Rossi¹, Milena Baldrati¹, Vittoria Catapano¹, Gloria Giovannini¹,
Vincenzo Bettoli², Ferroni Marcello²

¹Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologia Azienda Ospedaliera-Universitaria S. Anna di Ferrara

²Dipartimento Medicina Clinica e Specialistica - Sezione di Dermatologia Azienda Ospedaliera-Universitaria S. Anna di Ferrara

Key words: Antibiotic resistance, Propionibacters, Acne, Therapy

SUMMARY

Acne is a multifactorial disease whose clinical features include inflammatory and non-inflammatory lesions.

The aim of this study is to define possible guidelines for the treatment of this disease, taking into account the problems caused by antibiotic resistance and the side effect of antibiotics.

From april 2000 to december 2002, 841 skin swab have been performed to detect the Propionbacteria, the agents more commonly related to the occurrence of acne.

The results showed a correlation between low therapeutic response and antibiotic resistance, mainly concerning erytromycin (412/841-52.2%). Further investigations should be carried out in the near future, to clarify and understand the clinical effects of the resistant strain, and to overcome the lack of efficacy of the current antibiotic therapies.

INTRODUZIONE

L'acne è una patologia multifattoriale che colpisce il follicolo pilo-sebaceo, caratterizzata da lesioni non infiammatorie (i comedoni aperti e chiusi) e lesioni infiammatorie (le papule, le pustole e le lesioni nodulo cistiche). Le lesioni infiammatorie insorgono quando i batteri responsabili dell'acne infettano i comedoni determinando la rottura della parete del follicolo pilo-sebaceo.

I microrganismi più frequentemente riscontrati sulla pelle appartengono ai generi *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Propionibacterium* e miceti del genere *Malassezia*; questi microrganismi giocano un ruolo molto importante nella genesi delle lesioni infiammatorie anche se al giorno d'oggi non è ancora chiaro se essi siano i responsabili dell'iniziazione delle lesioni o se trovino nelle lesioni il loro habitat ideale (6).

Varie specie di stafilococchi appartengono alla normale flora commensale, ma in alcuni casi questi batteri possono essere responsabili di infezioni cutanee soprattutto grazie alla loro produzione di enzimi lipolitici. Gli stafilococchi acquisiscono rapidamente la resistenza agli antibiotici, fenomeno molto importante soprattutto per gli stafilococchi coagulasi-negativa.

La *Malassezia* è un lievito monomorfo, aerobio-anaerobio facoltativo, lipofilo. La specie *Malassezia furfur* è l'agente eziologico della pitiriasi versicolor, un'infezione cutanea caratterizzata da lesioni non infiammatorie con desquamazione dello strato corneo. Nel 90% dei casi la

Malassezia può essere associata alla normale flora commensale ma può determinare anche follicoliti ed acne, soprattutto grazie alla produzione dell'enzima lipasi (8).

I Propionibatteri sono bacilli Gram-positivi, microaerofili che presentano un massimo di crescita in condizioni di anerobiosi; questa caratteristica consente loro di potere colonizzare le parti più profonde del follicolo pilo-sebaceo dove la presenza di ossigeno si riduce quasi a zero. I Propionibatteri sono suddivisi in: Propionibatteri caseari comunemente presenti nei latticini e Propionibatteri cutanei rilevati sulla cute e nell'intestino dell'uomo. Le specie di maggior isolamento umano sono: *Propionibacterium avidum*, *Propionibacterium granulosum* e *Propionibacterium acnes*.

P. avidum non sembra essere correlato alla eziopatogenesi dell'acne, dal momento che colonizza le zone più umide e meno grasse della pelle come il perineo e le ascelle.

P. granulosum è la seconda specie di Propionibatteri come frequenza di isolamento e sembra essere legato all'eziopatogenesi dell'acne in quanto è in grado di produrre elevate quantità dell'enzima lipasi.

P. acnes è il microrganismo più direttamente correlato all'eziopatogenesi dell'acne. Può essere rilevato da reperti istologici di lesioni acneiche, evidenziato sulla cute anche in condizioni normali, ma in alcuni casi può comportarsi da patogeno opportunisto e causare endocarditi (associate ad interventi alle valvole cardiache), endoftalmiti

(associate ad intervento alla cataratta), infezioni al sistema nervoso, osteomieliti ed artriti. Il *P. acnes* produce numerosi fattori extracellulari legati allo sviluppo di un quadro acneico tra cui: la proteinasi, la fosfolipasi C, la fosfatasi alcalina, l'istamina, la neuraminidasi, la ialuronidasi, le porfirine e la lipasi. Quest'ultimo è l'enzima più importante per quanto riguarda l'eziopatogenesi dell'acne, infatti è in grado di scindere i trigliceridi, di cui è ricco il sebo, in glicerolo ed acidi grassi. Questi sono dotati di un notevole potere comedogenico ed infiammatorio, in particolar modo l'acido propionico è dotato di azione citotossica sui fibroblasti della pelle (6).

L'eziopatogenesi dell'acne oltre ad essere legata alla proliferazione di *P. acnes* dipende anche dall'ipercheratosi dell'infundibolo, dall'ipersecrezione sebacea e dall'infiammazione (2, 10).

Il trattamento dell'acne prevede l'utilizzo di farmaci antibiotici ed antimicrobici non antibiotici che riducono la proliferazione del *P. acnes* determinando così un effetto terapeutico sull'acne. Le classi di antibiotici principalmente utilizzate per la terapia dell'acne sono: le tetracicline (minociclina, tetraciclina, doxiciclina e limeciclina, i macrolidi (eritromicina e azitromicina) ed i lincosammidi (clindamicina) (5).

L'utilizzo di antibiotici per lunghi periodi ha determinato l'insorgenza di ceppi resistenti.

Il primo caso di *P. acnes* antibiotico-resistente è stato rilevato nel 1979 negli Stati Uniti, da allora casi di *P. acnes* antibiotico-resistenti sono stati rilevati un po' in tutto il mondo ma il maggior numero di dati proviene dallo Skin Research Centre di Leeds, il più grande centro di studio dell'acne europeo; in questo centro è stato rilevato un picco dell'antibiotico-resistenza di *P. acnes* nel 1997 (13, 14, 1, 7).

Dall'anno 2000 anche in Italia si è iniziato a testare l'antibiotico-resistenza di *P. acnes*; i pazienti acneici afferenti presso l'Ambulatorio Acne della Clinica Dermatologica dell'Università di Ferrara sono stati sottoposti dall'aprile 2000 al dicembre 2002 a tampone cutaneo sia per la ricerca di *P. acnes* che per la valutazione dell'antibiotico resistenza.

Scopo di questo studio è stato di individuare le linee guida per la terapia dell'acne, considerando il fenomeno dell'antibiotico-resistenza e garantendo risultati migliori in tempi più brevi in modo da ridurre gli effetti collaterali legati all'uso degli antibiotici.

MATERIALI E METODI

Dall'aprile del 2000 al dicembre del 2002 sono stati eseguiti 841 tamponi cutanei per la ricerca di Propionibatteri. L'età media dei pazienti era di 20,7 anni e la maggior parte di loro era di sesso

femminile (67%). I tamponi cutanei risultati positivi per la ricerca di *Propionibacterium spp.* sono stati 801 (95.2%) (tabella 1).

Tabella 1. Casistica dell'Azienda Ospedaliera-Universitaria di Ferrara (Aprile 2000-Dicembre 2002)

Tamponi eseguiti	841
Età media pazienti	20.7 anni
Maschi	33%
Femmine	67%
Tamponi negativi per <i>Propionibacterium spp</i>	40 (4.8%)
Tamponi positivi per <i>Propionibacterium spp</i>	801 (95.2%)

I pazienti acneici sono stati sottoposti a tampone cutaneo (strisciato sulla fronte, guance e mento). Il tampone sterile è stato preventivamente imbevuto in una soluzione detergente (tampone fosfato + 0.1% di Triton X-100) e in seguito seminato sui terreni di coltura TYG agar specifici per i Propionibatteri (15). Il terreno base è costituito da: Bacto-agar, Tryptone, Yeast-extract, D-glucosio e furazolidone; quest'ultimo è un antibiotico che inibisce la crescita degli stafilococchi, ma non agisce sui propionibatteri. I terreni antibiotati si differenziano dal terreno base per la presenza nella loro composizione di un antibiotico (eritromicina, clindamicina, tetraciclina e minociclina) verso il quale si vuole testare l'antibiotico-resistenza dei Propionibatteri (11). Sia i terreni base che quelli antibiotati sono prodotti manualmente nel Laboratorio di Microbiologia dell'Azienda Ospedaliera-Universitaria S. Anna di Ferrara.

I terreni TYG una volta seminati sono stati incubati per 7 giorni a 37°C in anaerobiosi.

Trascorso questo tempo è stata eseguita un'ispezione macroscopica delle piastre per evidenziare le colonie morfologicamente diverse; da ogni tipo di colonia è stato strisciato un vetrino, successivamente colorato secondo Gram e letto al microscopio (100X) per rilevare la presenza di Propionibatteri. Prima di tutto è stato valutato il terreno base per verificare la positività del tampone cutaneo. Le colonie di Propionibatteri sono state contate ed in base al loro numero è stato definito il grado di crescita del germe (tabella 2). Utilizzando la stessa procedura sono stati poi valutati i terreni antibiotati. Le colonie di Propionibatteri sono state contate ed in base al

Tabella 2. Grado di crescita di *Propionibacterium spp* su TYG agar base

N. colonie	Grado di crescita	Referto
0	-	Negativo
1-10	+	Positivo
11-50	++	Positivo
51-100	+++	Positivo
101-confluente	++++	Positivo
confluente	+++++	Positivo

loro numero è stato stabilito il livello di resistenza del germe verso gli antibiotici specifici (tabella 3) (9).

Tabella 3. Grado di crescita e livello di resistenza di *Propionibacterium spp.* su TYG agar antibiotati

N. colonie	Grado di crescita	Livello di resistenza
0	-	Nessuna
1-10	+	MR (bassa)
11-50	++	MR (bassa)
51-100	+++	I (intermedia)
101-confluente	++++	R (alta)
confluente	+++++	R (alta)

RISULTATI

Con questo studio è stata rilevata la presenza di Propionibatteri sulla cute di pazienti acneici e si è valutata la sensibilità di questi microrganismi nei confronti dei seguenti antibiotici: eritromicina, clindamicina, tetraciclina e minociclina.

La resistenza dei Propionibatteri alla tetraciclina è stata valutata dal 04/04/2000 al 18/07/2000, poi il test è stato interrotto, dal momento che in Italia la tetraciclina è un farmaco poco usato nella cura dell'acne.

Dal mese di febbraio 2002 nella terapia dell'acne la limeciclina ha sostituito la minociclina, per cui quest'ultima non è più stata testata, si è quindi utilizzato come farmaco antiacne la limeciclina. Dal momento però che la limeciclina non è disponibile per i test *in vitro*, ma ha una struttura chimica affine alla tetraciclina, si è testata nuovamente la resistenza alla tetraciclina.

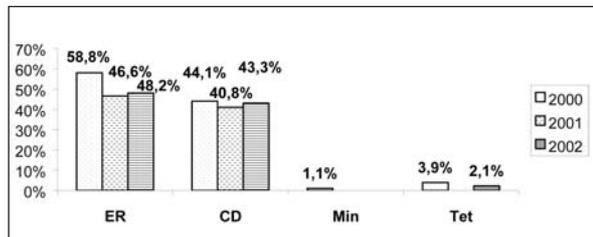
Sulla base dei dati raccolti in questi 3 anni si rileva che:

- 412 pazienti (52.2% dei pazienti positivi) sono portatori di ceppi resistenti all'eritromicina
- 344 (42.9% dei pazienti positivi) sono portatori di ceppi resistenti alla clindamicina
- 3 (0.6% dei pazienti positivi) sono portatori di ceppi resistenti alla minociclina
- 10 (2.5% dei pazienti positivi) sono portatori di ceppi resistenti alla tetraciclina (tabella 4). Valutando l'andamento dell'antibiotico-resistenza per anno si rileva che questa si è mantenuta piuttosto costante tranne che per l'eritromicina, per la quale risulta un calo di circa il 10% dell'antibiotico-resistenza; questo dato è tutt'ora difficilmente interpretabile ma sembra essere correlato ad una diversa modalità di

Tabella 4. Risultati dei test di sensibilità agli antibiotici (anni 2000-2002)

	Sensibile (S)	Moderatamente Resistente (MR)	Intermedio (I)	Resistente (R)	Tot. ceppi testati	Tot. R MR+I+R
Eritromicina	389 (48.5%)	140 (17.4%)	96 (11.9%)	176 (21.9%)	801	412 (51.2%)
Clindamicina	457 (57%)	142 (17.7%)	73 (9.1%)	129 (16.1%)	801	344 (42.9%)
Minociclina	525 (99.4%)	3 (0.6%)	0	0	528	3 (0.6%)
Tetraciclina	367 (97.3%)	7 (1.8%)	1 (0.2%)	2 (0.5%)	377	10 (2.5%)

Figura 1. Percentuale di antibiotico-resistenza di *Propionibacterium spp* (2000-2002)



prescrizione di questo antibiotico (figura 1).

CONCLUSIONI

Dagli studi effettuati si è notato che vi è una profonda correlazione tra scarsa risposta terapeutica ed antibiotico-resistenza. Essere a conoscenza della presenza di ceppi resistenti di Propionibatteri prima di iniziare una terapia antibiotica può permettere al medico di scegliere il trattamento più idoneo. L'antibiotico-resistenza dei Propionibatteri è un fenomeno ampiamente diffuso nei vari paesi del mondo; anche se ultimamente si è notata una riduzione di resistenza alla eritromicina sia nei nostri dati che in quelli riportati dalla letteratura internazionale (13), il fenomeno rimane in ogni modo a livelli elevati.

I pazienti acneici sottoposti a terapia antibiotica agiscono da serbatoi di ceppi resistenti e da vettori per la loro trasmissione (12). Monitorare nel tempo l'andamento delle resistenze si è dimostrato perciò utile, oltre che per migliorare i risultati terapeutici, per prevenire l'insorgenza di nuove resistenze.

A tale scopo presso lo Skin Research Centre (Università di Leeds, Inghilterra) sono state elaborate delle linee guida per minimizzare l'insorgenza di questo fenomeno:

- prescrivere l'antibiotico solo quando è assolutamente necessario;
- non prescrivere antibiotici per via sistemica se il trattamento locale è sufficiente;
- prolungare il trattamento per 6 mesi se nella forma orale o 3 mesi per la terapia topica;
- se è necessario continuare il trattamento, occorre prescrivere lo stesso antibiotico (non ruotare o cambiare);
- se è possibile verificare la presenza di ceppi resistenti nel caso di fallimento di terapia;
- utilizzare il benzoino perossido per un minimo di

5 o 7 giorni insieme all'antibiotico per ridurre la comparsa di resistenze;

- implementare una politica di controllo dell'antibiotico terapia;
- se vengono praticate contemporaneamente terapia orale e topica utilizzare antibiotici diversi;
- evidenziare l'importanza della corretta applicazione della terapia;
- ridurre i pazienti che non rispettano le prescrizioni e ridurre la prescrizione di medicinali alternativi.

Vi sono poi altri fattori che possono agire negativamente sul successo terapeutico, come la forza inadeguata degli antibiotici topici, l'inadeguata durata del trattamento, l'inadeguata educazione del paziente all'uso del farmaco, la scarsa compliance del paziente per il trattamento, l'elevata secrezione di sebo ($< 2.5 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$), la presenza di follicoliti dovute a batteri Gram-negativi, stafilococchi o lieviti del genere *Malassezia*.

Sono stati definiti alcuni criteri che possono permettere al dermatologo di sospettare in un paziente l'insorgenza di ceppi di *Propionibatteri* antibiotico-resistenti:

- pazienti sottoposti a successive terapie antibiotiche a lungo termine;
- pazienti che hanno avuto una scarsa risposta all'antibiotico-terapia;
- pazienti con ricadute durante la terapia;
- pazienti che osservano male la terapia;
- pazienti che frequentano spesso ambulatori dermatologici per lunghi periodi. Ceppi resistenti possono usare le mani del medico come veicolo per la trasmissione.

È meno probabile la presenza di *Propionibatteri* antibiotico-resistenti in:

- pazienti mai sottoposti a terapia antibiotica per acne;
- pazienti che rispondono bene al trattamento;
- pazienti trattati per l'acne con terapie non antibiotiche.

Vi è un certo rischio relativamente basso di resistenza nei pazienti trattati solo da medici di base. Gli effetti dell'antibiotico-resistenza dei *Propionibatteri* nelle terapie antibiotiche a lungo termine non possono essere predetti con accuratezza. Una delle ipotesi peggiori prevede che fra 5-10 anni, virtualmente tutti i ceppi di *Propionibatteri* saranno resistenti all'eritromicina, con la conseguente perdita dell'efficacia clinica della terapia. Molti più studi dovranno essere condotti per capire l'epidemiologia della resistenza e il significato clinico dei ceppi resistenti; ma questi studi devono essere svolti in tempi brevi, prima che sia troppo tardi per modificare l'antibiotico-terapia che si esegue nel trattamento del-

l'acne (4).

BIBLIOGRAFIA

1. Cunliffe WJ. *Propionibacterium acnes* resistance and its clinical relevance. J Dermat Treatment. 1995; 6 suppl 1: S3-S4.
2. Cunliffe WJ. Acne. Kartin Dunitz. London. II ed. 1998.
3. Eady EA. Bacterial resistance in acne. Dermatology 1998; 196: 59-66.
4. Eady EA, Cove JH, Holland KT, Cunliffe WJ. Erythromycin resistant propionibacteria in antibiotic treated acne patients: association with therapeutic failure. Br J Dermatol 1989; 121: 51-7.
5. Goodman & Gillman. In: Le basi farmacologiche della terapia. McGraw-Hill, Eds, Libri Italia 1997.
6. Holland KT. The normal skin microflora in health and disease. Retinoids Today and Tomorrow. 1998; 14: 4-7.
7. Jones CE, Vyaknarm S, Eady EA, et al. Antibiotic resistant propionibacteria and acne: crisis or conundrum? J Invest Dermatol 1997; 108: 381.
8. La Placa M. In: Principi di Microbiologia Medica. Esculapio Eds. 1995.
9. Leyden JJ. In: Antibiotic resistant acne. Cutis Eds 1976; 593-6.
10. Leyden JJ, McGinley KJ, Vowels B. *Propionibacterium acnes* colonisation in acne and nonacne. Dermatology. 1998; 196: 55-8.
11. Marples RR, Klingman AM. Ecological effects of oral antibiotics on the microflora of human skin. Arch Derm 1970; 103: 148-53.
12. Miller YW, Eady EA, Lacey RW, Cove JH, Joanes DN, Cunliffe WJ. Sequential antibiotic therapy for acne promotes the carriage of resistant staphylococci on the skin of contacts. Antimicrob Chemother 1996; 38 (5): 829-37.
13. Ross JI, Eady EA, Cove JH, et Al. Clinical resistance to erythromycin and clindamycin in cutaneous propionibacteria isolated from acne patients is associated with mutation in 23S rRNA. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 1997; 41:1162-65.
14. Ross JI, Snelling AM, Eady EA, Coates P, Adams CA, Cove JH, et Al. Colonisation of the skin of acne patients by antibiotic resistant propionibacteria in Spain, Italy and UK - Detection of an erythromycin ribosomal methylase gene (*ermcd*) of corynebacterial origin in *P. acnes*. Proc. of International Congress of Chemotherapy. Madrid 2000: 20.
15. Williamson P, Kligman AM. A new method for the quantitative investigation cutaneous bacteria. J.Invest Dermatol. 1965; 45: 498-503.

Maria Rita Rossi

Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche e Microbiologia

Azienda Ospedale-Università S. Anna

Corso Giovecca 203 - 44100 Ferrara

Tel.: 0532 236427; Fax 0532 236905

E-mail oqnro@tin.it