

## STUDIUL BACTERIOLOGIC AL FLOREI MICROBIENE ÎN ACNEE

SIMONA IANOȘI\*, IRINA STOICESCU\*, G. IANOȘI\*, DANIELA NEAGOE\*,  
VALERIA TOMA\*\*

Craiova

### Rezumat

La nivelul foliculului pilosebaceu există trei tipuri de germeni: *Propionibacterium acnes*, stafilococi și *Pityrosporum ovale*. Scopul studiului a fost de a investiga bacteriologic pacienții cu acnee papulo-pustuloasă, nodulară și conglobată.

Am investigat bacteriologic 118 pacienți cu acnee papulo-pustuloasă și nodulară de la care am prelevat produs patologic și am urmărit flora microbiană și levurică.

*Propionibacterium acnes* a fost germele cel mai frecvent întâlnit în leziunile de acnee (43%) urmat de coci (22%) și *Pityrosporum ovale* (8%) iar sensibilitatea in vitro a acestora a fost superioară pentru eritromicină și a tetraciclină comparativ cu tetraciclină și doxicilina.

**Cuvinte cheie:** acnee, floră microbiană.

### Summary

At the pilosebaceous unit there are 3 types of germs. *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus* and *Pytirosporum ovale*. The aim of our study was to investigate bacteriological patients with papulo-pustulous acne, nodularis and conglobate.

We investigated and prelevated pus from 118 patients with papulo-pustulous and nodularis acne and we followed up microbial and levuric flora.

*P. Acnes* was the most germ involved in acne lesions (43%), followed by cocci (22%) and *Pytirosporum ovale* (8%) and in vitro sensibility of them was better of erythromicine and azythromicine compared with tetracycline and doxycycline.

**Keywords:** acne, microbial flora.

DermatoVenerol. (Buc.), 52: 5-9

Este binecunoscut faptul că foliculul pilosebaceu este colonizat de trei specii de microorganism, specialiștii dermatologi acordând o importanță specială lui *P. acnes*. Deoarece rolul lui în patogenizarea acneei rămâne, totuși, incert, nu trebuie neglijat aportul pe care alți germeni cum ar fi stafilococul coagulo-negativ și mai ales stafilococul epidermidis îl aduc deoarece aceste sușe devenite rezistente pot disemina sau schimba materialul genetic cu sușe cu adevărat patogene, cum ar fi *Stafilococul aureu*. Al treilea microorganism, *Pityrosporum ovale*, este, de fapt,

o levură lipofilă aparținând genului *Malassezia*, fiind un anaerob facultativ al regiunilor seboreice ale tegumentului (1, 2, 6).

### Pacienți și metodă

Am investigat bacteriologic un lot de 118 pacienți cu acnee papulo-pustuloasă, nodulară și conglobată. Am prelevat produsul patologic de la nivelul pustulelor sau nodulilor cu ajutorul ansei bacteriologice și cu tampon steril de unică folosință. Prelucrarea produsului patologic s-a efectuat, astfel:

\* Clinica de Dermato-venerologie, U.M.F. Craiova.

\*\* Laboratorul de analize medicale BIOLAB, Craiova.

1. *Examenul bacterioscopic* a constat în efectuarea de frotiuri colorate Gram și albastru metilen din leziunile pustuloase sau nodulare din acnee. Am urmărit celularitatea, flora microbiană și levurică din punct de vedere morfologic și tinctorial și relația dintre acestea și celularitate reprezentată prin polimorfonucleare neutrofile care confirmă procesul inflamator.
2. *Examenul culturilor pentru izolarea florei microbiene și levurice.* Pentru flora microbiană s-au efectuat însămânțări pe medii de cultură solide adecvate cum este mediul Agar Columbia îmbogățit cu 5% sânge de berbec, incubat la 37°C în condiții de aerobioză timp de 24-48 ore și anaerobioză folosind sistemul Genbox timp de 48-72 ore și mediul Chapman pentru stafilococ. De asemenea, s-a folosit și mediul lichid de îmbogățire, bulionul Schaedler incubat la 37°C urmărit 7 zile. Pentru levuri am folosit mediul Sabouraud dextroză agar îmbogățit cu ulei de măsline.
3. *Identificarea florei microbiene și levurice izolate prin culturi.* Flora microbiană și levurică izolată pe mediile solide în condiții specifice, a fost identificată pe baza următoarelor criterii:
  - caractere morfologice și tinctoriale evidențiate cu ajutorul frotiurilor;
  - caractere culturale prin examinarea coloniilor;
  - caractere biochimice folosind sistemul APIStaph (BIO Merieux) pentru stafilococ și APICoryne (BIO Merieux) pentru identificarea Propionibacterium acnes.

## Rezultate și discuții

Bacterioscopia efectuată la cei 118 pacienți cu acnee a arătat următoarele: 51 de pacienți (43,22%) prezentau leucocite rare sau frecvente, bacili Gram pozitivi scurți, uneori încurbați, cu umflături terminale în formă de măciucă și cu granulații în lungul corpului. Ca așezare erau izolați sau în palisade, nesorulați și necapsulați; 26 de pacienți (22,03%) au prezentat pe frotiu leucocite frecvente însoțite de coci Gram pozitivi așezați „in diplo” și grămezi, majoritatea fiind extracelulari; 19 pacienți (16,1%) au prezentat leucocite frecvente, bacili Gram pozitivi cu

umflături terminale și coci Gram pozitivi așezați „in diplo” și grămezi; 9 pacienți (7,62%) au prezentat rare leucocite și celule levurice. La 13 pacienți (11,01%) examenul bacterioscopic a arătat leucocite rare sau frecvente dar nu s-a observat floră microbiană.

La 26 pacienți culturile pe Agar Columbia îmbogățit cu 5% sânge de berbec incubate aerob la 37°C timp de 24-48 ore prezentau colonii rotunde, convexe, lucioase, cu margini regulate, pigmentate în alb, frotiul arătând coci Gram pozitivi „in diplo” și grămezi. La 51 pacienți (43,22%) s-au dezvoltat anaerob, în cultură pură, colonii mici cu aspect sifoniu care produc hemoliză și uneori un pigment roz, frotiul confirmând aspectul de bacili Gram pozitivi cu umflături terminale și așezare în palisadă sau litere chinezești. 19 culturi (16,1%) în anaerobioză au prezentat colonii mixte, frotiurile confirmând două feluri de germeni, coci Gram pozitivi și bacili pozitivi. La cele 13 cazuri negative la bacterioscopie, însămânțarea directă și pe mediul de îmbogățire Schaedler a rămas sterilă.

Identificarea biochimică folosind testele APIStaph și APICoryne a condus la următoarele rezultate (Fig. 1).

Astfel, 51 de culturi (43,22%) au fost cu Propionibacterium acnes, 26 (22,03%) cu Staphilococcus epidermidis, 19 (16,10%) cu P. acnes și Staphylococcus epidermidis, pe 9 culturi (7,62%) s-a dezvoltat Pytirosporom ovale, iar pe 13 culturi (11,01%) nu s-au dezvoltat germeni.

La cei 118 pacienți s-au efectuat concomitent investigațiile bacteriologice ale cavităților orofaringiene și nazale. S-au recoltat exudatele faringiene și nazale cu tampoane sterile de unică

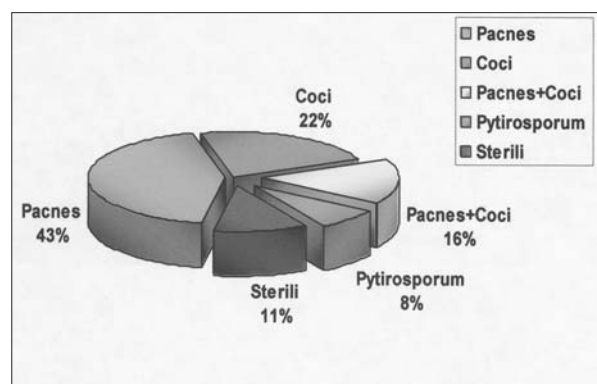


Fig. 1. Compoziția florei microbiene din leziunile de acnee

folosință și s-au prelucrat în aceleași condiții de erobioză și anaerobioză, urmărindu-se prezența în cantitate semnificativă a stafilococului epidermidis și a Propionibacterium acnes. Având în vedere faptul că, acești germeni se pot găsi asociați cu altă floră microbiană, s-a efectuat și examenul bacterioscopic pentru a vedea concordanța între flora microbiană existentă pe frotiu și cultură. În exudatul nazal, 35 pacienți (30%) au avut stafilococ epidermidis, 28 de pacienți (24%) propionibacterium acnes, 23 de pacienți (19%) streptococ hememolitic, la 13 pacienți s-a asociat propionibacterium acnes cu stafilococul epidermidis (11%), iar la 19 pacienți (16%) nu s-a dezvoltat nici un germene (Fig. 2).

În exudatul faringian, 57 pacienți (48%) au avut propionibacterium acnes asociat cu o floră microbiană polimorfă, 27 pacienți (23%) au avut stafilococ epidermidis asociat cu flora comensală a cavității bucale, la 19 pacienți (16%) s-a asociat florei comensale, stafilococul epidermidis și propionibacterium acnes, iar la 15 pacienți (13%) nu s-a dezvoltat flora microbiană incriminată în acnee (Fig. 3).

### Testarea sensibilității la antibiotice

Am testat sensibilitatea „in vitro” a germenilor izolați aerob și anaerob din leziunile de acnee, iar pentru culturile mixte testarea s-a făcut separat pentru fiecare germene. S-au folosit următoarele antibiotice utilizate frecvent în terapia sistemică a acneei: tetraciclina, doxicilina, eritromicina și, pentru prima dată în țara noastră,

a fost testată sensibilitatea în acnee pentru azitromicină. S-au obținut următoarele rezultate:

- dintre cele 70 de cazuri la care a fost identificat Propionibacterium acnes, 40 (57,14%) au fost sensibili și intermediari la tetraciclina, iar 30 (42,86%) au fost rezistenți. La doxicilina, au fost sensibili 49 pacienți (70%) și rezistenți 21 pacienți (30%). La eritromicina, au fost sensibili și intermediari 54 pacienți (77, 14%) și rezistenți 16 pacienți (22,86%). La azitromicină, au fost sensibili „in vitro” toți cei 70 pacienți;
- stafilococul epidermidis depistat la 45 pacienți a fost sensibil și moderat sensibil la 18 cazuri (40%) și rezistent la 27 cazuri (60%) la tetraciclina. La doxicilina, au fost sensibili și moderat sensibili 29 cazuri (64,44%) și rezistenți 16 cazuri (35,56%). La eritromicina, au fost sensibili, „in vitro”, 33 cazuri (73,33%) și rezistenți 12 cazuri (26,67%). La azitromicină, au fost sensibili „in vitro” toți cei 45 de pacienți.

Sensibilitatea germenilor din exudatele nazale și faringiene a fost testată în aceleași condiții și la aceleași antibiotice ca la pacienții cu acnee și s-a observat că germenii prezintă o sensibilitate asemănătoare.

După trei luni de tratament antibiotic, general sau local, efectuat conform antibiogramei, s-a obținut vindecare bacteriologică la 77 de pacienți (62,71%). 28 de pacienți (23,72%) considerați nevindecați după aspectul clinic au fost supuși unor noi investigații bacteriologice la care s-a izolat doar stafilococul epidermidis care avea

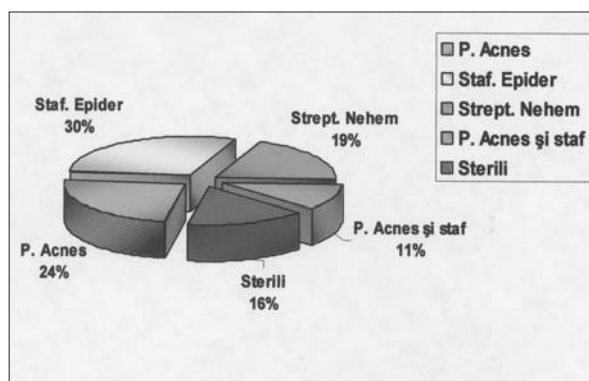


Fig. 2. Compoziția florei microbiene din exudatul nazal la pacienții cu acnee

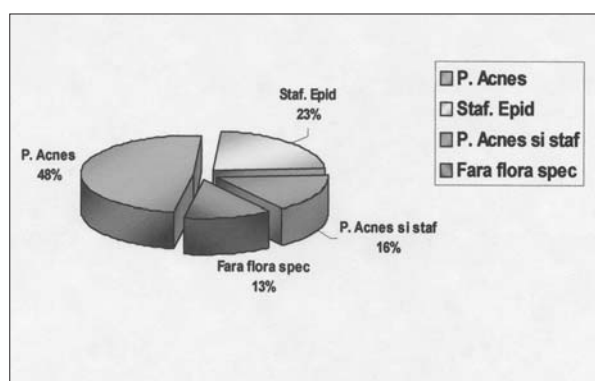


Fig. 3. Compoziția florei microbiene din exudatul faringian la pacienții cu acnee

sensibilitate numai la azitromicină. În această situație am efectuat investigațiile bacteriologice și membrilor din familie care au venit în contact cu pacienții. Astfel, am investigat 52 de persoane din anturajul apropiat al pacienților (părinți, frați, surori, parteneri sexuali) cărora le-am efectuat exudatul faringian și nazal urmărind prezența stafilococului epidermidis precum și testarea sensibilității acestuia la cele patru antibiotice. Examenul bacterioscopic și culturile microbiene au arătat prezența stafilococului epidermidis la 28 de persoane (53,84%) în exudatul faringian și la 6 persoane (11,53%) în exudatul nazal, iar antibiograma a demonstrat rezistență la tetraciclină, doxicilină și sensibilitate numai la azitromicină. La 18 (34,61%) din cei 52 de pacienți investigați, nu am identificat stafilococ epidermidis.

În situațiile în care la pacienți nu se obține o vindecare bacteriologică după tratamentul cu antibiotice și nu se observă o ameliorare a leziunilor de acnee, se recomandă retestarea sensibilității germenilor microbieni la antibiotice și efectuarea investigațiilor bacteriologice la persoanele din mediul familial care ar putea constitui o sursă a eșecului terapeutic prin transmiterea unor sușe bacteriene rezistente în cazul bolnavilor cu acnee.

Este binecunoscut la ora actuală faptul că tratamentul cu doze mici de antibiotice administrate timp îndelungat, reprezintă modul cel mai sigur de a selecționa sușe rezistente la antibiotice. Ca urmare, tratamentul antibiotic în acnee (doze mici administrate timp îndelungat) „scapă” regulilor generale de administrare a antibioticelor, definite de Agenția Națională pentru Dezvoltare și Evaluare Medicală în recomandările sale privind „Buna folosire a antibioticelor” publicată în 1996, permițând dezvoltarea sușelor bacteriene rezistente. Mai mult, în studiul realizat în 1996, Miller și colab. au arătat că antibioticele administrate în acnee nu selecționează numai sușe de stafilococ rezistente la antibioticul respectiv în flora cutanată a pacienților tratați, ci, aceste sușe au fost regăsite și la indivizii care au venit în contact cu pacienții tratați (frați, surori, părinți, parteneri sexuali) ceea ce demonstrează clar potențialul de transmitere al sușelor rezistente selecționate după tratamentul antibiotic în acnee (8, 10, 11).

Caracterele de rezistență sunt purtate, pe de o parte de bacteriile rezistente selecționate, iar pe de altă parte de plasmide sau de transpozomi și sunt transmisibile. De altfel, o plasmidă conține, cel mai adesea, genele codante pentru rezistența mai multor antibiotice, ceea ce poate explica rezistența bacteriană încrucișată la alte familii de antibiotice diferite de cea pe care pacientul a primit-o și care a fost agentul de selecție (9).

Studiile din literatura de specialitate (1, 4, 5, 7) arată că evoluția clinică nefavorabilă a bolii ar putea fi corelată cu numărul de colonii de *P. acnes* rezistente la antibioticele administrate, acești pacienți răspunzând mai puțin la antibiotice decât cei la care au fost izolate sușe sensibile.

Din acest studiu se pot trage o serie de concluzii a căror aplicabilitate practică poate fi foarte utilă pentru monitorizarea terapeutică și postterapeutică a pacienților cu acnee.

## Concluzii

- Există puține studii în literatura de specialitate care să arate corelațiile între rezistența la antibiotice și eșecul terapeutic la pacienții cu acnee în timpul utilizării antibioticelor.
- Atât *P. acnes* cât și stafilococul epidermidis au „in vitro” o sensibilitate bună la azitromicină și eritromicină.
- Eficacitatea clinică a ciclinelor în acnee este parțial datorată efectului antimicrobian prin inhibarea proliferării *P. acnes*, în principal, fiind consecința proprietăților antiinflamatorii cu inhibarea chemotactismului polimorfonuclearelor, a metaloproteazelor și inhibarea formării granulomului inflamator.
- Acest studiu vine să confirme, o dată în plus, că administrarea prelungită în doze mici a antibioticelor pentru tratamentul acneei are, pe de o parte, un impact ecologic local important modificând proporția diferitelor specii bacteriene implicate, iar pe de altă parte permite selecționarea de sușe microbiene rezistente.

Intrat în redacție: 11.03.2007

## Bibliografie

1. Buiuc D., Neguț M. – Tratat de microbiologie clinică, Ed. Medicală 1999, București, 592-5, 893-9.
2. Cooper A.J. – Systemic review of Propionibacterium acnes resistance to systemic antibiotic, *Med. J. Aust.*, 1998, 169: 259-61.
3. Cunliffe W.J. – Acne, Dunitz, London, 1989.
4. Cunliffe W.J. – The sebaceous gland and acne – 40 years on, *Dermatology* 1998, 196: 9-15.
5. Kurokawa I., Nishijima S., Kawabata S. – Antimicrobial susceptibility of Propionibacterium acnes isolated from acne vulgaris, *Eur. J. Dermatol.* 1999, 9: 25-8.
6. Leyden J. J. – Current issues in antimicrobial therapy for the treatment of acne, *JEADV* 15 (3), 2001: 51-5.
7. Marples R. R. – The microflora of the face and acne lesions, *J. Invest. Dermatol.*, 1974, 62: 326.
8. Monroe S., Polk R. – Antimicrobial use and bacterial resistance, *Curr. Opin. Microbiol.*, 2000, 3: 496-501.
9. Puhvel S. M. – Propionibacterium acnes and acne vulgaris. *Semin. Dermatol.*, 1982, 1: 293.
10. Puhvel S. M., Sakamoto M. – Cytotoxin production by comedonal bacteria (Propionibacterium acnes, Propionibacterium granulosum and Staphylococcus epidermidis), *J. Invest. Dermatol.*, 1980, 74: 36.
11. Ross J. J., Snelling A. M., Eady E. A. – Phenotypic and genotypic characterisation of antibiotic resistant Propionibacterium acnes isolated from acne patients attending dermatology clinics in Europe, the USA, Japan and Australia, *Br. J. Dermatol.*, 2001, 144: 339-46.