

PERFIL BACTERIOLÓGICO EN PACIENTES

CON ACNÉ



TRABAJO DE FIN DE GRADO

AUTOR: Guillén Octavio Puente Barbé

**TUTORA: Dra. Rosa María Giménez García
Dr. Luis López-Urrutia Lorente**

Grado en Medicina. Curso 2018/19

RESUMEN

El acné es un motivo frecuente de consulta en Atención primaria y en Dermatología, el conocimiento del perfil bacteriológico del mismo junto al microbioma puede conllevar una mejoría en la aproximación terapéutica al mismo.

El acné se considera una enfermedad crónica de tipo inflamatorio en la que juegan un papel importante *Cutibacterium acnes* (*C. acnes*), una bacteria anaerobia Gram positiva, la glándula sebácea y el epitelio de la unidad pilosebácea.

La ausencia de estudios concluyentes acerca del papel del microbioma en el acné y las repercusiones del mismo en su patogénesis motivaron a la realización de este trabajo.

En este estudio profundizamos en el conocimiento del perfil bacteriológico de los pacientes con acné, el papel del microbioma y su interés en el abordaje terapéutico de los mismos. Además, realizamos un estudio del perfil bacteriológico de un grupo de pacientes con acné atendidos en nuestra área sanitaria.

Dentro del grupo de 34 pacientes que fueron estudiados por acné en una consulta del área Oeste de Valladolid, que aceptaron formar parte del estudio, los resultados del estudio microbiológico fueron los siguientes: La cepa bacteriana más frecuentemente aislada fue *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*) en un 64,5% de los casos, seguido de *C. acnes* en el 47.1%. En dos casos de acné fulminans se observó crecimiento de *Staphylococcus haemolyticus* (*S. haemolyticus*) y *Staphylococcus hominis* (*S. hominis*).

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Microbioma y microbiota	2
1.1.2. Microbioma en la piel sana	2
1.1.3. Microbioma y acné	3
1.2. <i>Cutibacterium acnes</i>	5
1.3 Antibioterapia, microbioma y <i>C. acnes</i>	6
1.4. Patogénesis del acné	7
2. OBJETIVOS	9
3. MATERIAL Y METODOS	10
3.1. Ámbito de realización	10
3.2. Variables epidemiológicas	10
3.3. Recogida de muestras y estudio bacteriológico	11
4.RESULTADOS	12
5.DISCUSIÓN	15
6.CONCLUSIONES	17
7. BIBLIOGRAFÍA	18

1.INTRODUCCIÓN

El acné supone una **entidad dermatológica** común que genera un gran impacto en el paciente tanto en su calidad de vida como en su salud mental.

Se define como acné la enfermedad inflamatoria cutánea, que pese a ser percibida como un proceso limitado a la adolescencia, su **prevalencia** permanece alta durante la edad adulta. Alcanzando una prevalencia del 90% entre adolescentes, y entre estos un 50% siguen experimentando síntomas cuando son adultos de tal forma que un 1% de los **varones** y un 5% de las **mujeres** mayores de 40 años todavía presentan lesiones de ahí que se haya replanteado su clasificación como una entidad crónica. ¹

Desde el punto de vista **patológico**, se produce una inflamación de los folículos pilosebáceos con **4 factores** implicados: la **hiperqueratización** folicular, la **hiperproducción sebácea**, la presencia del *Cutibacterium acnes* (*C. acnes*), anteriormente *Propionibacterium acnes*, y la **inflamación** subsecuente. La interacción entre estos 4 factores; junto a la estimulación de la respuesta inmune innata y celular y la carga genética del individuo juegan el papel más importante en la patogénesis del acné, junto a una posible implicación de los hábitos dietéticos y hormonales del paciente. ¹

Esta **hipertrofia de las glándulas sebáceas** se incrementa durante la etapa prepuberal periodo durante el cual los niveles de DHEA-S (dihidroandrostendiona) aumentan, lo que proporciona un medio de crecimiento y proliferación para *C. acnes* que es un componente normal de la flora bacteriana generando así un microambiente anaerobio lipídico que a través de la hidrólisis de triglicéridos del sebo y la liberación de ácidos grasos de cadena corta inhibe la colonización por otras bacterias a nivel cutáneo. ^{2, 3}

Desde el punto de vista clínico-**macroscópico** las lesiones encontradas en el acné proceden de un precursor común el **microcomedón**; estos son los comedones cerrados que evolucionan a abiertos y cuando la respuesta inflamatoria se ha intensificado a pápulas, pústulas y nódulos, a través de cambios cualitativos y cuantitativos en el sebo que pueden traducirse en cambios en el microbioma.

⁴

Continuando con la presentación **clínica**, el acné frecuentemente afecta a aquellas **áreas del cuerpo** como la cara, cuello, pecho, lomo de la espalda y parte superior de los brazos dónde la concentración de glándulas sebáceas hormonalmente dependientes es mayor en nuestro organismo. Generando a modo de **secuelas** cicatrices e hiperpigmentación residual, causa de enorme malestar entre los pacientes desde un punto de vista estético. Estos mecanismos de hiperpigmentación postinflamatoria son más comunes entre pacientes de raza negra y sujetos que presentan máculas hiperpigmentadas que puede llevar a que la resolución del proceso tarde meses sin tratamiento. ⁴

El diagnóstico del acné está basado en una adecuada **exploración y anamnesis**, centrándonos en la valoración endocrinológica y los antecedentes personales del paciente pues puede subyacer como causa secundaria de acné patología orgánica severa. Siempre se debe interrogar acerca de la toma de **fármacos y suplementos dietéticos**. Desde el punto de vista **endocrinológico** cabría descartar el síndrome del ovario poliquístico en caso de aparición súbita de acné junto a signos de virilización u oligomenorrea planteando un diagnóstico diferencial con posibles tumores a nivel ovárico o suprarrenal. A nivel **farmacológico** tanto los suplementos vitamínicos: B6, B12 o B2 como la toma de glucocorticoides, fenitoína, sales de litio e isoniazida pueden resultar factores iatrogénicos para el desarrollo de acné. ⁵

De forma incorrecta se ha atribuido a *C. acnés* un papel patogénico en el acné que no está demostrado puesto que se trata de una bacteria presente en la piel sana ni existen estudios que demuestren la relación de la gravedad del acné con el sobrecrecimiento de este organismo que de hecho coexiste con otras especies de cutibacterias, estafilococos y *Corynebacterium* spp. ³

En esta revisión profundizamos en el conocimiento del perfil bacteriológico de los pacientes con acné, el papel del microbioma y su interés en el abordaje terapéutico de los mismos. Además, realizamos un estudio del perfil bacteriológico de un grupo de pacientes con acné atendidos en nuestra área sanitaria.

1.1. Microbioma y microbiota

Se define microbiota como el conjunto de microorganismos que coloniza un nicho ecológico, así pues, el microbiota **de la piel** es el conjunto de microorganismos que colonizan la superficie cutánea. Por otro lado, el microbioma hace referencia al genoma colectivo del conjunto de simbioses que colonizan un nicho ecológico, así pues, el **microbioma de la piel** es el conjunto del genoma de los microorganismos de la piel. ⁶

La composición de ambos presenta variaciones a nivel intrapersonal (diferentes regiones corporales, características bioquímicas de la piel como pH, composición de ácidos grasos) y a nivel interpersonal (edad, dieta, género, región geográfica y clima), así como variaciones temporales que resultan en una microbiota dinámica y fluctuante. ^{1, 7}

1.1.1 Microbioma en la piel sana

El microbioma se encuentra sometido a un completo dinamismo a nivel cualitativo y cuantitativo desde el momento del nacimiento, siendo el proceso de colonización fundamental para el establecimiento de mecanismos de tolerancia inmunológica entre el huésped y la flora comensal. Así en la edad adulta se alcanza un estado final de equilibrio con una microbiota de piel y cuero cabelludo comensal / mutualista asombrosamente diversa que es única, a nivel de género para cada individuo.

Grice ⁸ et al estudiando el microbioma cutáneo en el adulto sano identificaron 4 phyla bacterianos dominantes: Actinobacteria, Proteobacteria, Firmicutes y Bacteroidetes. Los tres géneros bacterianos más comunes identificados fueron: *Corynebacterium* (Actinobacteria), *Propionibacterium* (Actinobacteria) y *Staphylococcus* (Firmicutes).

Como hemos señalado la variabilidad del microbioma en un individuo –dependerá de múltiples factores pero el principal determinante de dicha diversidad es la localización cutánea ⁹. Se diferencian principalmente 3 microambientes a nivel cutáneo: el seco, húmedo y sebáceo, cada uno de los cuales tendrá unas bacterias predominantes: así en las áreas húmedas encontraremos *Staphylococcus* y *Corynebacterium* como cepas dominantes, mientras que en las zonas sebáceas se encuentra en mayor densidad *Propionibacterium* que está mejor adaptado a ambientes anaerobios ricos en lípidos. En las zonas secas encontramos predominantemente *Staphylococcus*, *Propionibacterium*, *Micrococcus*, *Corynebacterium*, *Micrococcus* y *Streptococcus* ^{10 11}

Cada microambiente se va a ver sometido a distintas modificaciones a nivel bioquímico (pH, contenido lipídico, secreción sebácea etc) estando los microambientes secos están sometidos a un mayor número de cambios bioquímicos en su composición mientras que los microambientes húmedos son típicamente más estables. La composición también puede variar durante las diferentes etapas de la vida; por ejemplo, durante la pubertad hay un aumento en la producción de sebo en comparación con el estado adulto lo que determina un aumento en el nivel de bacterias lipofílicas.

Las diferencias interindividuales se deben a factores secundarios y pueden atribuirse al medio ambiente, ocupación, dieta o hábitos de higiene. ⁷

Así la definición de una piel saludable depende de las proporciones de bacterias, pero debido a que el microbioma es un ecosistema vivo que interactúa con el sistema inmunitario cutáneo serán la naturaleza de estas interacciones entre el huésped y las bacterias las que definitivamente definan la salud de un individuo.

1.1.2. Microbioma en el acné

El estudio del microbioma en pacientes con acné, así como el papel de la microbiota cutánea humana en el acné todavía no está completamente establecido. Exponemos algunas aportaciones recientes. El estudio del microbioma ha permitido demostrar que *C. acnes* es la bacteria más abundante en el folículo pilosebáceo tanto en pacientes con acné como en individuos sanos, siendo su carga o abundancia relativa similar en ambos grupos ¹². También se han observado ausencia de correlación entre los niveles de *C. acnes* en las lesiones y el grado de inflamación. ¹³

Por otra parte, Dreno et al ¹⁴ estudiaron el microbioma superficial de la piel de pacientes con acné y observaron que *Proteobacteria* es significativamente menos abundante en áreas con comedones y lesiones pápulo-pustulosas que en áreas sin lesiones acnéicas, mientras que Firmicutes es significativamente más abundante en áreas con comedones comparado con áreas sin lesiones de

acné, no observando diferencias en Actinobacterias. *Staphylococcus* fue el género bacteriano más abundante en la superficie cutánea aproximadamente un 27% del total y fue significativamente más abundante en las zonas donde se localizaban las lesiones acnéicas que en aquellas de piel sana, incrementándose su concentración con la severidad de acné mientras que *Propionibacterium* representaba menos del 2% del total de bacterias.^{11 14}

Estos hallazgos evidencian que existe una interacción entre *Propionibacteria* y *Staphylococci*, que resulta en variaciones en la microbiota de las lesiones del acné.¹⁴

Así *S. epidermidis* y *C. acnes* presentan mecanismos de interacción sinérgica demostrados, que prueban como *S. epidermidis* presenta un arsenal de mecanismos para inhibir la proliferación de *C. acnes* participando así en el mantenimiento del equilibrio homeostático entre microbiota y el sistema inmunitario.¹⁴ Así mismo *S. epidermidis* inhibe la inflamación inducida por el *C. acnes* mediada por activación de los TLR-2, pues el ácido lipoteicoico activa en TLR2 la expresión del microRNA-143 en los queratinocitos que interactúa con la región 3UTR del receptor TLR2, generando una inestabilidad del complejo proteico receptor TLR2 y en consecuencia inhibiendo la respuesta proinflamatoria mediada por citoquinas que activa el *C. acnes*.¹⁵

En análisis metagenómicos a nivel folicular realizados por Barnard et. al.¹⁶ revelaron mayor abundancia de *C. acnes* y *Cutibacterium. granulosum* en individuos sanos que, en pacientes con acné, y en los pacientes con acné la composición a nivel de especies y a nivel de cepas de *C. acnes* es más diversa que en individuos sanos.

A nivel de cepas de *C. acnes*, Fitz-Gibbon et al.¹² desarrollaron un estudio entre pacientes con acné y aquellos con piel sana, confirmaron que en ambos grupos los 3 ribotipos más abundantes fueron el RT1, RT2 y RT3, los ribotipos RT4 y RT5 presentaron una fuerte asociación con el acné mientras que el ribotipo 6 la presentó con los sujetos sanos. Ambos ribotipos 4 y 5 portan elementos genéticos similares y se piensa que puedan jugar un papel en la patogénesis de la enfermedad.

Por lo tanto, un nuevo punto de vista en la patogénesis microbiológica del acné se postula, por el cual la patogénesis se debería no a la presencia de una especie en particular o una cepa sino más bien al equilibrio de la totalidad de microbiota que conduce a la salud de la piel o al desarrollo del acné.

1.2. *Cutibacterium acnes* (C. acnes)

Dado que clásicamente *C. acnes* ha sido considerado implicado en el desarrollo del acné vamos a hacer una breve revisión.

Anteriormente denominado *Propionibacterium acnes*, estudios genómicos y metagenómicos han conducido a un cambio en el Género pasando a denominarse a *Cutibacterium acnes*¹⁷ teniendo en cuenta sus características específicas para colonizar la piel, diferenciándolo de otros *Propionibacterium* spp ambientales. Pertenece al phylum *Actinobacteria*.

Cutibacterium acnés (*C. acnes*) es un bacilo gram-positivo pleomórfico, no esporulado y anaerobio (aerotolerante). Coloniza principalmente las glándulas sebáceas y folículos pilosos, pero puede ser encontrado en cavidad oral, y tracto intestinal y genitourinario. Puede ser cultivado en diferentes medios (agar sangre, brucella, chocolate o cerebro-corazón) bajo condiciones anaeróbicas-microaerófilas. Colonias en agar sangre tienen 1-2 mm, brillantes, circulares, siendo la mayoría de las cepas catalasa e indol positivas.¹⁸ Es capaz de colonizar el ambiente rico en lípidos del folículo sebáceo gracias a su capacidad de degradar los triglicéridos presentes y generar ácidos grasos de cadena corta, cuya acumulación participa en el mantenimiento del pH ácido de la piel.¹⁹

Su distribución anatómica en el organismo va a depender de los factores bioquímicos ya mencionados con anterioridad como el contenido lipídico, el pH, secreción sebácea y sudor, y ante todo la cantidad de unidades pilosebáceas presentes, así tórax, cara y espalda son las regiones dónde se encuentra en mayor concentración.²⁰

Se han descrito diversos factores de virulencia en *C. acnes* que pueden explicar su implicación en el acné: neuramidasa, lipasa, isomerasa de ácidos grasos poliinsaturados, HtaA (proteína captadora de hierro), heat shock proteins, CAMP factors, hemolisinas y adhesinas.²¹

Los análisis genómicos iniciales comparando la secuencia de los genes *recA* y *tly*, así como estudios de MLST (multi-locus sequence typing) categorizaron a *C. acnes* en 5 filotipos IA1, IA2, IB, II y III los cuales presentan diferencias en determinantes de virulencia y en propiedades inflamatorias.²²

Otros métodos de clasificación se basan en la secuenciación ribosómica clasificando a *C. acnés* distinguiendo 10 ribotipos¹²principales (cuya asociación con acné hemos indicado previamente).

El filotipo más más frecuentemente aislado en pacientes con acné es el IA1, con una fuerte asociación con las lesiones de acné moderado-severo, seguido de los filotipos IA2 y II,²² mientras que el filotipo III no se aisló en pacientes con acné.²³

Por lo tanto, aquí cabe recalcar el papel de la investigación a nivel genético, molecular y microbiológico para concluir si estos tipos se limitan a una simple relación comensal o una autentica infección por acné, y así poder desarrollar mejores aproximaciones diagnósticas junto a nuevas terapias más eficaces antimicrobianas orientadas a dichas dianas.

1.3. Antibioterapia, microbioma y *C. acnes*

En el tratamiento del acné se han usado rutinariamente antibióticos tanto orales como tópicos debido al papel atribuido a *C. acnes* en su patogénesis. El acné no es una enfermedad primariamente infecciosa y la importancia de los efectos antibacterianos de los antibióticos no está clara, sin embargo, parece que actúan en gran parte inhibiendo la inflamación.²⁴

Los antibióticos más utilizados han sido eritromicina y clindamicina (vía tópica) y doxiciclina (vía oral) que son antibióticos bacteriostáticos (inhiben el crecimiento bacteriano). Su uso en tratamientos largos ejerce una considerable presión selectiva para el desarrollo de resistencias existiendo una correlación entre la emergencia de resistencias y el uso de antibióticos.²⁴

Así en relación con *C. acnes* múltiples países (con variabilidad geográfica) han informado incrementos en la tasa de resistencia antibiótica, con porcentajes de resistencia de más del 50 %, fundamentalmente a eritromicina y clindamicina tópicos y en menor porcentaje a tetraciclinas.²⁵

En referencia a España, en 2002, Galván Perez del Pulgar et al.²⁶ mostraban un porcentaje de resistencia a eritromicina del 55,8% y a clindamicina del 51,8 % en *C. acnes* de pacientes tratado por acné vulgar, siendo solo el 2,3 % resistente a clindamicina. Ross et al.²⁷ en su estudio con cepas de un centro español encuentran un % de resistencia combinada a eritromicina y clindamicina del 93,6 %. En nuestros resultados mostraremos el porcentaje de resistencia de los microorganismos aislados.

Se conocen dos mecanismos de resistencia a macrólidos en *C. acnes*: Mutaciones del 23S rRNA (en las bases 2057-2059 y 2611) que es la diana de los macrólidos, siendo responsable este mecanismo del 90% de las cepas resistentes, con grado variable de resistencia a macrólidos y clindamicina según la mutación. El otro mecanismo es la adquisición del gen *erm(X)* que codifica para un rRNA metiltransferasa que le confiere alto nivel de resistencia a macrólidos y clindamicina.²⁸ En el caso de la resistencia a tetraciclinas la resistencia se asocia a una mutación en el 16S rRNA (en la base 1058).

²⁷

Con el fin de reducir la resistencia antibiótica en *C. acnes* y otras bacterias la Global Alliance to Improve Outcomes in Acne, recomienda no utilizar en monoterapia los antibióticos tópicos en el tratamiento del acné, y si se utilizan debe ser en combinación de retinoides o peróxido de benzoilo (BPO)²⁵. Así mismo nunca deben usarse simultáneamente antibióticos orales y tópicos. Los antibióticos orales tienen todavía un papel en el tratamiento del acné moderado a severo, pero sólo en combinación con retinoides tópicos o BPO y no más de tres meses.

En relación con el microbioma, el uso de antibióticos puede ejercer una presión de selección sobre otras bacterias, las cuales pueden desarrollar resistencia antibiótica²⁵. Mills et al.²⁹ encontraron que tras 12 semanas de tratamiento con eritromicina se incrementaba la densidad de estafilococos coagulasa negativa resistentes a eritromicina con respecto al nivel basal. Levy et al.³⁰ mostraron que

la colonización y resistencia de *S. pyogenes* en la orofaringe estaba asociada con la terapia antibiótica en pacientes con acné. De igual modo, en el tratamiento con clindamicina se observó un aumento en las bacterias resistentes: así en el 80 % de los pacientes con *C. acnes* clindamicina resistentes también tenían *S. epidermidis* clindamicina resistentes. La resistencia puede emerger rápidamente: tras sólo 4 semanas de tratamiento tópico con eritromicina, la flora aerobia de la cara es dominada por estafilococos coagulasa negativos resistentes a eritromicina y a la semana 12, *S. epidermidis* resistente a eritromicina es la especie dominante de los estafilococos.²⁵

El tratamiento con antibióticos orales puede conducir a resistencia antibiótica en la flora comensal de todas las partes de cuerpo, y promover la proliferación de patógenos oportunistas, por lo tanto, el daño colateral en el microbioma es una preocupación importante, particularmente para *S. aureus* y MRSA: de hecho, el porcentaje de portadores nasales de *S. aureus* se incrementa de 15% a 40% tras 12 semanas de tratamiento con eritromicina.

En el estudio de Dreno¹⁴ demostró que el uso tópico de eritromicina redujo el número de Actinobacterias (incluyendo *Corynebacterium* y *Propionibacterium*) mientras que sólo tuvo un limitado efecto antibacteriano sobre *Staphylococci*, confirmando potencialmente su incremento de resistencia a macrólidos

1.4 Patogénesis del acné

El microbioma de la piel ha evolucionado de igual manera que los seres humanos hasta alcanzar un enorme rango de respuestas inmunes para proteger al cuerpo contra procesos infecciosos gracias al íntimo contacto que desarrolla con el epitelio cutáneo y capa córnea. Es importante por lo tanto que el sistema inmune esté preparado para responder de manera apropiada ante cada amenaza pues una reacción inmunitaria intensa puede conllevar el desarrollo de **un proceso inflamatorio crónico**.

Los **queratinocitos** son el principal tipo de célula a nivel epidérmico, que participa en la respuesta **innata y adaptativa** como fuente de péptidos antimicrobianos y citoquinas que desarrollan una reacción inflamatoria cuando el epitelio expuesto a PAMPS (patrones moleculares asociados a patógenos) como el TLR2/6 (Toll-receptor)³¹ más concretamente del TLR2 en *C. acnes* que estimula el proceso inflamatorio a través de la liberación del **GM-CSF e IL-1**. Del mismo modo la inflamación causada por cepas gram positivas se debe a estos receptores reconocedores de patrones moleculares tales como los peptidoglicanos y el ácido lipoteicoico (exotoxina A, marcador séptico por gram positivos) que interactúan con los queratinocitos induciendo la liberación citoquinas quimiotácticas como el **TNF- β o la IL8** que conducen a un agravamiento de status proinflamatorio.

³¹

Las lesiones iniciales del acné que terminan evolucionando a pápulas inflamatorias ya descritas en la introducción a través de este arsenal proinflamatorio mediado por la liberación de interleuquinas y el secuestro de **neutrófilos y macrófagos** que contribuyen a formar un infiltrado inflamatorio a nivel superficial y en casos esporádicos llegando a la ruptura folicular con **liberación de componente hidrolítico lisosomal**.³¹

En el caso del acné se desarrollan cambios dinámicos en la microbiota folicular, puede inducir distintas respuestas transcripcionales por ejemplo en un microcomedón cerrado, donde nos encontramos un ambiente anaerobio y lipídico, desarrolla un metabolismo anaerobio con un aumento subsecuente de la producción de ácidos grasos de cadena corta y con ello cambios epigenéticos que inducen la expresión del TLR2 en los queratinocitos¹² siendo este el punto de comienzo de la secuencia inflamatoria explicada en este apartado

Desde la perspectiva **inflamatoria e inmunológica destacar**:³²

- 1- La respuesta **inmune innata ya explicada**, por su prolongada activación secundaria a la producción mantenida de citoquinas juega un papel clave en la evolución crónica de las lesiones por acné. Los pacientes con acné presentan una sobreexpresión de TLR-2 y TLR-4 en queratinocitos y macrófagos. Así *C. acnes* interacciona con TLR-2 de los monocitos estimulando la liberación de citoquinas proinflamatorias: IL12 e IL8 que atraen a los neutrófilos al foco de lesión activa induciendo la liberación de enzimas lisosomales y una disrupción hidrolítica del epitelio folicular que agrava el proceso inflamatorio.³³
- 2- El **PAR-2(proteasa-activator-receptor)** receptor de patrón molecular asociado a patógenos) es sobreexpresado por los queratinocitos en el acné induciendo la activación transcripcional de genes implicados en la codificación de citoquinas proinflamatorias como serían la **IL-6, IL-8, IL-12**; que contribuyen a la activación del **inflammasoma** y agravan la neutrofilia en sangre periférica.³⁴
- 3- La **MMP-9 (metaloproteasa 9)** es sobreexpresada en pacientes con acné favoreciendo la ruptura del folículo piloso y expandiendo la inflamación a nivel dérmico.³⁵ El enzima degrada el colágeno presente en los espacios intercelulares a través de mecanismo mediados por TLR2, activando simultáneamente en los fibroblastos dérmicos la **vía NF-KB** que a nivel transcripcional incrementa los niveles de TNFalfa3, que participa en la producción de prometaloproteasa-2. Se ha demostrado que una disminución de los niveles de MMP en aquellos pacientes con mejoría clínica una vez resuelta la fase inflamatoria lo cuál podría resultar una diana terapéutica de interés de cara a futuros tratamientos.³⁶
- 4- Continuando con la inmunidad innata y el papel mediado por TLR2/4, interaccionan con péptidos antimicrobianos de síntesis epitelial y leucocitaria que incrementa la permeabilidad membranal a patógenos e induce la activación de las cascadas de señalización proinflamatorias aún no del

todo conocidas: como sería el caso de las beta defensinas elevadas en estudios in vivo en acné.

37

- 5- *C. acnes* activa al **inflammasoma** que lleva a cabo la producción de IL1 β en los monocitos, esta citoquina se expresa en el citoplasma como preforma biológicamente inactiva y es procesada proteolíticamente por enzimas con actividad **caspasa**.³⁸
- 6- Los **factores CAMP**, son proteínas formadoras de poros que actúan como exotoxinas 5 subtipos diferentes pueden ser secretados por. En estudios animales se demostró que la inhibición del **CAMP2** atenuó el proceso inflamatorio, a su vez se ha descrito el papel exotóxico del **CAMP2** de cara a la amplificación de la respuesta inflamatoria y puede actuar como **esfingomielasa ácida** para amplificar la virulencia bacteriana.³⁹
- 7- A nivel humoral citar que se encuentran anticuerpos **IgG** contra en sangre de la mayoría de los adultos hayan padecido o no acné, estos son generados contra exoenzimas de diversa naturaleza bioquímica polisacárida o carbohidratada, los títulos de anticuerpos solo varían significativamente en pacientes con acné severo ya que los niveles no muestran diferencias entre pacientes con lesiones moderadas y leves y, aquellos que nunca han padecido acné.³⁸
- 8- Desde la perspectiva de la **respuesta inmune celular** comentar que el infiltrado del folículo sebáceo se encuentra rodeado periféricamente por linfocitos CD4+ asociado a la sobreexpresión de mediadores de la inflamación tales como la E-selectina y el VCAM1 lo cual sugiere una reacción de hipersensibilidad tipo IV previa a la hipertrofia del queratinocito y la formación del comedón.⁴⁰

2.OBJETIVOS

- 1- Revisión bibliográfica disponible acerca del perfil bacteriológico implicado en el desarrollo del acné: microbioma, microbiota y patogénesis.
- 2- Identificar el perfil bacteriológico de pacientes con acné vulgar.
- 3- Perfil bacteriológico en pacientes con acné fulminans.
- 4- Exposición de conclusiones a fin de mejorar el abordaje diagnóstico y terapéutico del acné.

3.MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Ámbito de realización

El estudio se realizó observando los pacientes con acné atendidos en una de las consultas externas de Dermatología en el periodo del 1 de octubre de 2018 al 30 de abril de 2019, en la que

se asiste a pacientes tanto en el Hospital Universitario Río Hortega como en el centro de especialidades Arturo Eyres, todos ellos procedentes del área Oeste de Valladolid, remitidos desde las consultas de Atención Primaria según los criterios de derivación considerados por sus médicos de Familia. La población estimada en esta área es de unos 260000 habitantes (262.035 tarjetas sanitarias en 2018) y abarca tanto el medio rural como el urbano.

Los criterios de **inclusión** en el estudio fueron los siguientes:

- i. Pertenecer al Área Oeste de Salud de Valladolid
- ii. Acudir a consulta de Dermatología derivado por el Médico de atención primaria por primera vez.
- iii. Edad comprendida entre los 10 a 25 años sin diferencias entre sexos.
- iv. Consentimiento informado para participar en el estudio y para la obtención de muestras microbiológicas.
- v. Valoración por parte del Médico Especialista en Dermatología y establecimiento del diagnóstico de acné

Los criterios de **exclusión** fueron:

- i. Menores de 10 años y mayores de 25 años
- ii. Acudir por segunda vez o a revisión previa de un problema dermatológico
- iii. Cultivo negativo

3.2. Variables epidemiológicas

La recogida de datos se realizó a partir la historia clínica dermatológica basada en la anamnesis, exploración y pruebas complementarias adecuadas llevándose a cabo de forma protocolizada cerrada a una serie de variables. La entrevista ha sido directa al paciente y en casos en los que hubiera una discapacidad presente con ayuda del familiar, cuidador o acompañante del paciente. Las variables recogidas han sido epidemiológicas y dermatológicas.

3.2.1. Variables epidemiológicas

- Identificación del paciente por su número de historia clínica
- Sexo del paciente
- Edad en años

3.2.2. Variables dermatológicas

- Localización de las lesiones y tipo de lesión
- Tratamiento antibiótico previo tópico (eritromicina o clindamicina) u oral(tetraciclinas)
- Resultados cultivo microbiología

Los datos recogidos en cada paciente se recogieron en una hoja de cálculo de Excel, desarrollándose su análisis en el mismo programa.

El trabajo fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Área de Salud de Valladolid Oeste (**Referencia CEIm PI 114-19**). Los datos de los pacientes han sido almacenados en una base de datos anonimizada respetando la Ley Orgánica 15/1999 de Protección de datos de Carácter Personal. Se han mantenido los principios éticos expresados en la Declaración de Helsinki y en el Convenio de Oviedo.

3.3. Recogida de muestras y estudio bacteriológico

-La muestra fue recogida mediante técnica aséptica, tras punción con aguja o bien hoja de bisturí estéril, recogiendo el exudado con un hisopo con medio de Amies (Copan®) que se remitirá inmediatamente al Servicio de Microbiología, de las lesiones cutáneas de acné (de la región facial y/o del tronco)

-Posteriormente la muestra se sembró en medios de cultivo sólidos (agar sangre, CNA, y agar Brucella) y medio líquido Thioglicolato, todos ellos para recuperar tanto microorganismos aerobios como anaerobios.

-Estas muestras sembradas se incubaron en atmósferas aerobias y anaerobias a 37°C durante 7 días, revisándose periódicamente para detectar el crecimiento en los medios citados.

-Se realizó la identificación mediante tinción de Gram, morfología de las colonias y test bioquímicos estándar. La identificación definitiva se realizará mediante el sistema automatizado VITEK2 (bioMérieux®) o mediante tecnología proteómica con VITEK®MS (Maldi-Toff bioMérieux®).

-Posteriormente se estudió la susceptibilidad antibiótica a través de la determinación de las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) a eritromicina, clindamicina, doxiciclina y minociclina por E-test (bioMérieux®). Para la interpretación de las CMI se aplicaron los criterios EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) y en aquellos casos para los que no existan punto de corte definidos se aplicaron los criterios CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute).

4.RESULTADOS.

Dentro del **grupo de 34 pacientes** que fueron estudiados por acné y que aceptaron formar parte del estudio, las bacterias aisladas y los resultados de sensibilidad fueron los que cito a continuación:

Un 35,2% (12) fueron monomicrobianos y un 64,8% (22) polimicrobianos. Los microorganismos aislados en cultivo puro (monomicrobiano) fueron: *S. epidermidis* (7), *C. acnes* (3), *Staphylococcus hominis* (*S. hominis*) (1) y *Staphylococcus capitis* (*S. capitis*) (1)

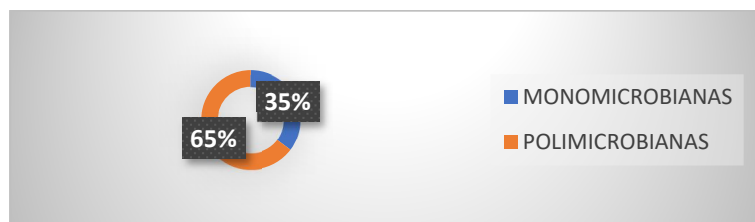


Figura 1: Distribución de cultivos según número de bacterias aisladas

- El **64,5%** (20) de los pacientes presentaron cultivo positivo para *S. epidermidis* en estudio bacteriológico de los cuales el 95% (19) fueron resistentes a eritromicina y el 80% (16) fueron resistentes a clindamicina. No se encontraron casos que fueran sensibles a ambos fármacos, presentando un 85% (17) de las cepas de *S. epidermidis* resistencia combinada tanto para clindamicina como a eritromicina.
- El 47,1% (16) de los pacientes presentaron crecimiento de *C. acnes*. El 75% (12) de las cepas fueron sensibles a clindamicina y el 25% (4) restantes resistentes. No se ensayó la eritromicina al no existir puntos de corte definidos para la misma ni en EUCAST ni en CLSI. Dentro de los cultivos en los que se aisló *C. acnes* sensibles a clindamicina un 66,6% (8) fueron también positivos para *S. epidermidis* (7 resistentes a clindamicina y uno sensible). El 16,6% (2) de los casos no presentaban gérmenes aerobios en el cultivo y el 16,6% (2) restante presentaban crecimiento de *S. capitis*.
- Otras bacterias aisladas en menor frecuencia fueron:
 - i. *C. granulorum* fue hallado en un 5,8% (2) de los pacientes estudiados siendo ambas cepas resistentes a clindamicina y en ambos casos se aisló en medio aerobio *S. epidermidis* resistente a clindamicina y eritromicina.
 - ii. *Cutibacterium avidum* fue aislado en un 2,9% (1) de los casos siendo resistente a clindamicina y en el que también se aisló en medio aerobio *S. epidermidis* resistente a clindamicina y eritromicina.
 - iii. *Staphylococcus capitis* (*S. capitis*) fue aislado en un 11,75% (4) de los casos de entre los cuales un 75% (3) resultaron sensibles a clindamicina y eritromicina, mientras que el 25% (1) restante fue resistente a ambas. Una cepa se aisló en cultivo puro mientras que las otras tres se aislaron juntamente con *C. acnes* sensible a clindamicina y *S. epidermidis* resistente a eritromicina y clindamicina, la cepa resistente se aisló conjuntamente junto a *C. acnes* sensible a clindamicina.
 - iv. *S. aureus* fue aislado en un caso ,2,9% siendo resistente a eritromicina y clindamicina en cultivo mixto con sensible a clindamicina *C. acnes*.

- v. *Streptococcus sanguis* (*S. sanguis*) fue aislado en un caso (2,9%) siendo resistente a eritromicina creciendo en cultivo mixto con *S. epidermidis* resistente a clindamicina y eritromicina y con *C. acnes* sensible a clindamicina.
- vi. *Staphylococcus hominis* (*S. hominis*) fue hallado en 5,8% (2) de los pacientes y en uno de los casos junto a *Staphylococcus haemolyticus* (*S. Haemolyticus*) siendo ambas cepas de *S. hominis* resistentes a eritromicina y en ambos casos se trato de acné fulminans.

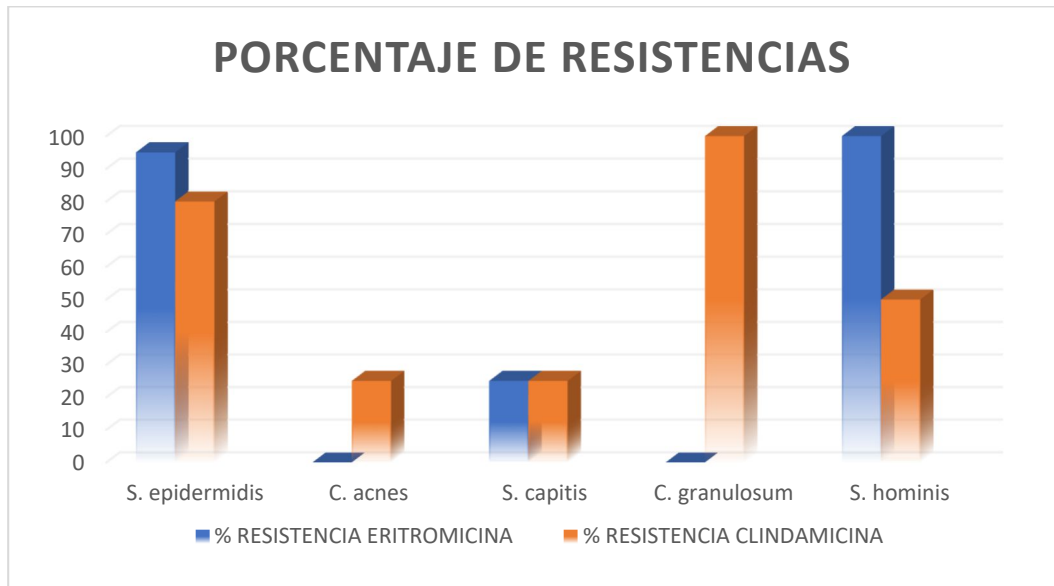


Figura 2: Porcentaje de resistencias de los principales microorganismos aislados.

Se representa las cepas encontradas en el eje de abcisas y en el eje de ordenadas el porcentaje de resistencias para cada antibiótico. Dado el pequeño tamaño muestral solo hemos representado gráficamente aquellas especies bacterianas con al menos 2 aislados.

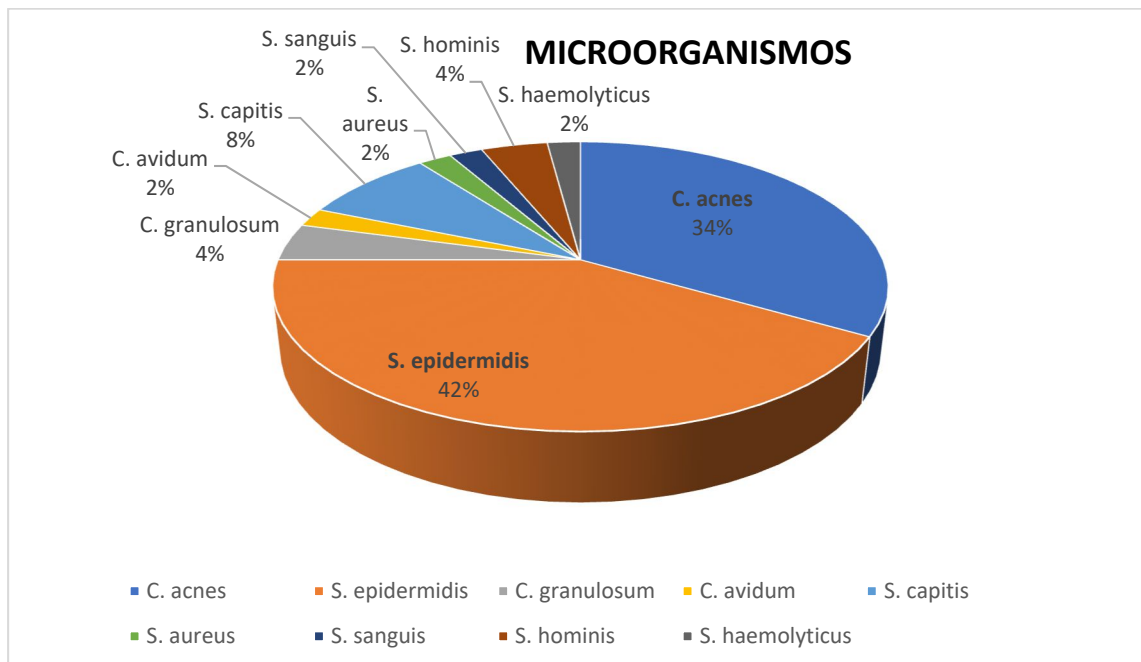


Figura 3: Porcentaje de microorganismos aislados.

En lo relativo a la **localización de las lesiones** distinguimos entre el acné clásico: de localización en cara y espalda con lesiones papulopustulosas que fue el 61,75% (21) de los pacientes, siendo el 38,25% (13) restante los que presentasen otro tipo de lesiones.

En relación con **la variedad clínica** encontramos **dos casos de Acné fulminans (5,8%)**, y cuatro casos acné severo de características nódulo-quísticas (11.6%). El resto de los casos correspondieron a acnés de grado I –III.

De todos los casos estudiados el **82,3% (29) habían recibido tratamiento antibiótico previo**, el **11,76% (4)** se desconoce si lo habían recibido y **solo un 2,86% (1) no lo habían recibido**

Con relación al tratamiento antibiótico previo recibido (29) un 79,3% (23) de los casos habían realizado tratamiento con eritromicina, de los cuales 6 recibieron tratamiento combinado con clindamicina tópica. Los pacientes tratados con clindamicina en monoterapia o asociado a eritromicina fueron el 37,9% del total (11). Once pacientes (37,9%) fueron tratados con tetraciclinas (doxiciclina y minociclina).

5. DISCUSIÓN

El acné es la entidad patológica resultante de la interacción del microbioma cutáneo con una enorme variedad de factores físicos, químicos, biológicos, genéticos e inmunológicos. Tras revisar el tema **no queda clara la contribución del *C. acnes* en la patofisiología del acné**, aunque la conclusión sería que **el desencadenante del acné no es *C. acnes* sino el desequilibrio de la flora cutánea o entre los distintos filotipos de *C. acnes*.**

Los hallazgos divergentes en lo relativo a asociación entre filotipos de *C. acnes* y la severidad del acné pueden deberse a factores ambientales o del propio huésped. Por otra parte, la recogida de muestras es heterogénea entre los diferentes estudios por lo que finalmente resulta difícil la comparación entre estudios, si bien algunos autores concluyen que tanto la toma de muestras superficiales como a nivel folicular son enfoques apropiados para la investigación del microbioma de la piel en el acné.

En nuestro estudio encontramos un alto porcentaje de cultivos polimicrobianos (65%), lo cual parece indicar como muchos autores recogen que el acné no es un proceso de etiología exclusivamente infecciosa, si no una alteración del equilibrio u homeostasis entre el microbioma y el sistema inmune del sujeto y los factores externos que modulan ambos

En el estudio realizado ha sido hallada una **incidencia de *S. epidermidis*** superior al 64%, siendo la cepa con una mayor frecuencia relativa entre los casos incluidos en el estudio, el pequeño tamaño muestral (34) nos lleva a cuestionar si la muestra es representativa a nivel poblacional y en consecuencia que los datos extrapolados sean estadísticamente significativos. La incidencia hallada concuerda con los resultados experimentales demostrados por la Dra. Dreno ¹⁴ que afirmaba que la cepa patológica más frecuentemente hallada en las lesiones por acné era *S. epidermidis* lo cuál podría quedar explicado por la similitud en la recogida de muestras. Estos autores recogieron el papel sinérgico ya citado del *S. epidermidis* en el mantenimiento de la homeostasis cutánea junto al *C. acnes*, pero desconocían los mecanismos patogénicos implicados. Así estudios posteriores han logrado especificar y entender mejor este papel patogénico y homeostático inclusive llegando a plantear una visión terapéutica del mismo ⁴¹. Dichos estudios confirman que *S. epidermidis* puede llevar a cabo reacciones de fermentación del glicerol a ácidos grasos de cadena corta (SCFAs) como el butirato, lactato, succinato y acetato, atenuando la inflamación inducida por los cuales gracias a la inhibición del enzima histona desacetilasa y la activación de los receptores de ácidos grasos (Ffar 1 y 2, también conocidos como receptor 41 acoplado a proteínas G), por dicho mecanismo de fermentación disminuye el pH intracelular de actuando como un mecanismo bactericida.

Con respecto a *C. acnes*, segunda cepa en frecuencia relativa aislada en nuestro estudio (47%), presentó un 25% de resistencia a clindamicina. En lo relativo al porcentaje de resistencia a clindamicina publicada de *C. acnes* se encuentran rangos muy variables en función de los estudios

y países. Nuestro resultado se aleja de lo expuesto por .Ross et al ²⁷ en su estudio con cepas de un centro español dónde encontraron un porcentaje de resistencia a clindamicina del 91%. Mientras que en el estudio de Galván Pérez del Pulgar et al. ²⁶ encuentran un porcentaje de resistencia a clindamicina del 51,8 % en *C. acnes* de pacientes tratado por acné vulgar. La diferencia con nuestros resultados puede ser debida a nuestro menor tamaño muestral ya que estos autores reflejan datos de un mayor número de muestras: 92 el primero y 88 el segundo.

Otros estudios han recogido los cambios en el microbioma en relación con el inicio de tratamiento antibiótico pautado en acné, observando una relación inversa entre la concentración de que disminuye a la vez que se incrementa los niveles de *Pseudomonas* así Hall et al, ⁴² vieron esta correlación negativa entre la abundancia de especies de *C. acnes* y *Pseudomonas* en muestras de piel de individuos con acné. Lo cual sugiere que las especies de *C. acnes* y *Pseudomonas* pueden competir por los mismos microambientes dentro de la piel. El crecimiento transitorio de poblaciones bacterianas, como *Pseudomonas*, inmediatamente después del tratamiento con antibióticos, apunta hacia la posibilidad de infecciones oportunistas de la piel, como la foliculitis gramnegativa en pacientes con terapia antibiótica prolongada para el acné. ⁴³

Estudios posteriores de Margolis et al ⁴³ también sugirieron una asociación entre el tratamiento con antibióticos para el acné y las infecciones del tracto respiratorio superior, en particular la faringitis. Aunque no se muestro la orofaringe en el presente estudio, la observación de un aumento de especies de *Streptococcus* en la piel facial después de un tratamiento antibiótico sistémico plantea la cuestión de si un crecimiento similar de las especies de *Streptococcus* ocurre en la orofaringe, un proceso que puede mediar previamente Asociaciones entre la terapia antibiótica para el acné y la faringitis oral.

Dado el papel asociado al microbioma en la patogenia del acné existen una serie de estudios animales en los que se monitorizó la eficacia en el tratamiento del acné **de preparados probióticos** capsulados con una matriz de microtubos de polisulfona resultando efectivos, ello se monitorizó por una disminución de los niveles de IL-8 tras la instauración de la terapia con probiótico. No se ha aplicado en sujetos humanos pues pueden causar bacteriemias secundarias pero la línea de investigación permanece abierta. ⁴⁴

Con respecto al **acné fulminans** fue muestreado en 2 de nuestros pacientes (5,88%), es una entidad dermatológica rara se suele presentar en pacientes **varones** de edad comprendida entre los **18 a los 20** años, con antecedentes de toma de isotretinoína para el tratamiento del acné severo que ya padecían (como ocurrió en uno de los casos, ambos eran varones en dicha franja de edad) y en algunos casos guarda relación con la toma de fármacos anabólicos de origen esteroideo. Presenta un componente genético y autoinmune. El cuadro se presenta como lesiones nodulares, ulceradas y costrohorrágicas extremadamente dolorosas, El tratamiento recomendado para el mismo es una combinación de corticoesteroides e isotretinoína. Los corticosteroides orales deben iniciarse primero

en dosis altas (0,5 a 1 mg / kg / día) durante al menos 2 semanas (al menos 4 semanas si los síntomas son sistémicos) hasta que las lesiones sanen. Entonces se inicia la isotretinoína.⁴⁵ En ambos casos las cepas aisladas fueron *Staphylococcus haemolyticus* y *Staphylococcus hominis*. Hay pocos estudios poblacionales que estudien la relevancia de estas e inclusive su hallazgo en pacientes con acné.

Nuestros resultados con un predominio en los cultivos de *S. epidermidis* y *C. acnes* coinciden con el conocimiento actual (3) en el que gracias al análisis metagenómico del microbioma sabemos que el acné vulgaris se puede caracterizar por el predominio de diferentes cepas de *C. acnes*, así como por el incremento en *S. epidermidis*, necesitándose más investigaciones para evitar posibles sesgos en la metodología. Así mismo la mejora del conocimiento de las relaciones de mutualismo y antagonismo entre ambas especies es crucial no solo para entender la patofisiología del acné si no para descubrir metabolitos secundarios que puedan ser explotados como estrategias terapéuticas y evitar de ese modo el uso de antibióticos que favorecen el desarrollo de resistencias y alteran el microbioma.

6. CONCLUSIONES

- Existen muy **pocas revisiones** en lo relativo al estudio del microbiota y el microbioma en el acné, con resultados contradictorios.
- El 65% de los cultivos realizados a nuestros pacientes en este estudio presentaron más de una bacteria.
- En la muestra estudiada el microorganismo más frecuentemente aislado fue ***S. epidermidis*** en el 64,5% (20) de los pacientes de los cuales el 95% (19) fueron resistentes a eritromicina y el 80% resistentes a la clindamicina.
- El 47,1% (16) de los pacientes presentaron crecimiento ***C. acnes*** con un porcentaje de resistencia a clindamicina del 25%.
- Estudiamos **dos pacientes con acné fulminans**. En ambos casos las cepas aisladas fueron *Staphylococcus haemolyticus* y *Staphylococcus hominis*.
- La comparación del estudio del microbioma entre individuos sanos y con acné es importante de cara al esclarecimiento de la fisiopatología en el acné. Esta debe de ser planteada como una futura línea de investigación junto al esclarecimiento del papel llevado a cabo por la epigenética en la pérdida de tolerancia inmunológica y el desarrollo de inflamación crónica en ausencia de infección objetivable.

Bibliografia

1. Dawson AL, Dellavalle RP. Acne vulgaris. *BMJ*. 2013;346:f2634.
2. Brüggemann H, Henne A, Hoster F, et al. The complete genome sequence of *Propionibacterium acnes*, a commensal of human skin. *Science*. 2004;305(5684):671-673.
3. O'Neill AM, Gallo RL. Host-microbiome interactions and recent progress into understanding the biology of acne vulgaris. *Microbiome*. 2018;6(1):177.
4. Thiboutot D, Zaenglein A. Pathogenesis, clinical manifestations, and diagnosis of acne vulgaris. 2019 Post Tw, ed.UpToDate. Waltham, MA : UpToDate Inc.<https://www.uptodate.com> Accessed February 10, 2019.
5. Timpatanapong P, Rojanasakul A. Hormonal profiles and prevalence of polycystic ovary syndrome in women with acne. *J Dermatol*. 1997;24(4):223-229.
6. Dréno B, Araviiskaia E, Berardesca E, et al. Microbiome in healthy skin, update for dermatologists. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2016;30(12):2038-2047.
7. Musthaq S, Mazuy A, Jakus J. The microbiome in dermatology. *Clin Dermatol*. 2018 36:390-398.
8. Grice EA. The skin microbiome: potential for novel diagnostic and therapeutic approaches to cutaneous disease. *Semin Cutan Med Surg*. 2014;33(2):98-103.
9. Perez GIP, Gao Z, Jourdain R, et al. Body Site Is a More Determinant Factor than Human Population Diversity in the Healthy Skin Microbiome. *PLOS ONE*. 2016;11(4):e0151990.
10. Zeeuwen PLJM, Boekhorst J, van den Bogaard EH, et al. Microbiome dynamics of human epidermis following skin barrier disruption. *Genome Biol*. 2012;13(11):R101.
11. Gao Z, Perez-Perez GI, Chen Y, Blaser MJ. Quantitation of major human cutaneous bacterial and fungal populations. *J Clin Microbiol*. 2010;48(10):3575-3581
12. Fitz-Gibbon S, Tomida S, Chiu B-H, et al. *Propionibacterium acnes* strain populations in the human skin microbiome associated with acne. *J Invest Dermatol*. 2013;133(9):2152-2160.
13. Omer H, McDowell A, Alexeyev OA. Understanding the role of *Propionibacterium acnes* in acne vulgaris: The critical importance of skin sampling methodologies. *Clin Dermatol*. 2017;35(2):118-129.
14. Dreno B, Martin R, Moyal D, Henley JB, Khammari A, Seité S. Skin microbiome and acne vulgaris: *Staphylococcus*, a new actor in acne. *Exp Dermatol*. 2017;26(9):798-803.
15. Xia X, Li Z, Liu K, Wu Y, Jiang D, Lai Y. Staphylococcal LTA-Induced miR-143 Inhibits *Propionibacterium acnes*-Mediated Inflammatory Response in Skin. *J Invest Dermatol*. 2016;136(3):621-630.
16. Barnard E, Shi B, Kang D, Craft N, Li H. The balance of metagenomic elements shapes the skin microbiome in acne and health. *Sci Rep*. 2016;6:39491.

17. Scholz CFP, Kilian M. The natural history of cutaneous propionibacteria, and reclassification of selected species within the genus *Propionibacterium* to the proposed novel genera *Acidipropionibacterium* gen. nov., *Cutibacterium* gen. nov. and *Pseudopropionibacterium* gen. nov. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2016;66(11):4422-4432
18. Achermann Y, Goldstein EJC, Coenye T, Shirtliff ME. *Propionibacterium acnes*: from commensal to opportunistic biofilm-associated implant pathogen. *Clin Microbiol Rev*. 2014;27(3):419-440.
19. Dréno B, Pécastaings S, Corvec S, Veraldi S, Khammari A, Roques C. *Cutibacterium acnes* (*Propionibacterium acnes*) and acne vulgaris: a brief look at the latest updates. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2018;32(S2):5-14.
20. Nakatsuji T, Chiang H-I, Jiang SB, Nagarajan H, Zengler K, Gallo RL. The microbiome extends to subepidermal compartments of normal skin. *Nat Commun*. 2013;4:1431.
21. Christensen GJM, Brüggemann H. Bacterial skin commensals and their role as host guardians. *Benef Microbes*. 2014;5(2):201-215.
22. McDowell A, Valanne S, Ramage G, et al. *Propionibacterium acnes* types I and II represent phylogenetically distinct groups. *J Clin Microbiol*. 2005;43(1):326-334.
23. Argote Ruiz AC, Mora Hernández Ó, Torres-Tobar L, et al. Caracterización de las cepas de *Cutibacterium acnes* en pacientes con diagnóstico de acné en una población colombiana. *Piel*. 2019;34(4):204-211.
24. Dréno B. Bacteriological resistance in acne: A call to action. *Eur J Dermatol EJD*. 2016;26(2):127-132.
25. Walsh TR, Efthimiou J, Dréno B. Systematic review of antibiotic resistance in acne: an increasing topical and oral threat. *Lancet Infect Dis*. 2016;16(3):e23-33.
26. Galvañ Pérez Del Pulgar JI, Fernández Nebreda R, Laza García JM, Cunliffe WJ. Antibiotic resistance of *Propionibacterium acnes* in patients with acne vulgaris treated in Málaga. *Actas Dermosifiliogr*. 2002;93:271-275.
27. Ross JI, Snelling AM, Carnegie E, et al. Antibiotic-resistant acne: lessons from Europe. *Br J Dermatol*. 2003;148(3):467-478.
28. Nakase K, Okamoto Y, Aoki S, Noguchi N. Long-term administration of oral macrolides for acne treatment increases macrolide-resistant *Propionibacterium acnes*. *J Dermatol*. 2018;45(3):340-343.
29. Mills O, Thornsberry C, Cardin CW, Smiles KA, Leyden JJ. Bacterial resistance and therapeutic outcome following three months of topical acne therapy with 2% erythromycin gel versus its vehicle. *Acta Derm Venereol*. 2002;82(4):260-265
30. Levy RM, Huang EY, Roling D, Leyden JJ, Margolis DJ. Effect of antibiotics on the oropharyngeal flora in patients with acne. *Arch Dermatol*. 2003;139(4):467-471.
31. Jeremy AHT, Holland DB, Roberts SG, Thomson KF, Cunliffe WJ. Inflammatory events are

involved in acne lesion initiation. *J Invest Dermatol*. 2003;121(1):20-27.

32. Quintero Y, Asuaje L, Franco F, Roye R. Propionibacterium acnes: pasado, presente y futuro. *Dermatol Venez*. 2015;53(2). Accessed April 1, 2019.
33. Miller LS. Toll-like receptors in skin. *Adv Dermatol*. 2008;24:71-87.
34. Lee SE, Kim J-M, Jeong SK, et al. Protease-activated receptor-2 mediates the expression of inflammatory cytokines, antimicrobial peptides, and matrix metalloproteinases in keratinocytes in response to Propionibacterium acnes. *Arch Dermatol Res*. 2010;302(10):745-756.
35. Choi J-Y, Piao MS, Lee J-B, Oh JS, Kim I-G, Lee S-C. Propionibacterium acnes stimulates pro-matrix metalloproteinase-2 expression through tumor necrosis factor-alpha in human dermal fibroblasts. *J Invest Dermatol*. 2008;128(4):846-854.
36. Ryu S, Han HM, Song PI, Armstrong CA, Park Y. Suppression of Propionibacterium acnes Infection and the Associated Inflammatory Response by the Antimicrobial Peptide P5 in Mice. *PLoS One*. 2015;10(7):e0132619.
37. Ryu S, Park Y, Kim B, et al. Inhibitory and anti-inflammatory effects of the Helicobacter pylori-derived antimicrobial peptide HPA3NT3 against Propionibacterium acnes in the skin. *Br J Dermatol*. 2014;171(6):1358-1367.
38. Ingham E, Gowland G, Ward RM, Holland KT, Cunliffe WJ. Antibodies to P. acnes and P. acnes exocellular enzymes in the normal population at various ages and in patients with acne vulgaris. *Br J Dermatol*. 1987;116(6):805-812.
39. McDowell A, Nagy I, Magyari M, Barnard E, Patrick S. The Opportunistic Pathogen Propionibacterium acnes: Insights into Typing, Human Disease, Clonal Diversification and CAMP Factor Evolution. *PLOS ONE*. 2013;8(9):e70897.
40. Jappe U, Ingham E, Henwood J, Holland KT. Propionibacterium acnes and inflammation in acne; P. acnes has T-cell mitogenic activity. *Br J Dermatol*. 2002;146(2):202-209.
41. Christensen GJM, Scholz CFP, Enghild J, et al. Antagonism between Staphylococcus epidermidis and Propionibacterium acnes and its genomic basis. *BMC Genomics*. 2016;17.
42. Hall JB, Cong Z, Imamura-Kawasawa Y, et al. Isolation and Identification of the Follicular Microbiome: Implications for Acne Research. *J Invest Dermatol*. 2018;138(9):2033-2040.
43. Margolis DJ, Bowe WP, Hoffstad O, Berlin JA. Antibiotic treatment of acne may be associated with upper respiratory tract infections. *Arch Dermatol*. 2005;141(9):1132-1136.
44. Yang A-J, Marito S, Yang J-J, et al. A Microtube Array Membrane (MTAM) Encapsulated Live Fermenting Staphylococcus epidermidis as a Skin Probiotic Patch against Cutibacterium acnes. *Int J Mol Sci*. 2018;20(1).
45. Zito PM, Badri T. Acne Fulminans. In: *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2019. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459326/>. Accessed May 2, 2019.