

# Med Space

## Evidence in Medicine

---

Volume XIX

**Dermatology**

Luglio 2014

XVI Riunione

### **Giornate di Terapia in Dermovenereologia**

Catania, 2014

### **Report Congressuale**

**Ruolo di Zinco, Argento Micronizzato e  
Acido Laurico nella terapia dell'acne e  
nella gestione delle resistenze batteriche**

**Mauro Barbareschi**

*Dipartimento di Fisiopatologia Medica e dei Trapianti Università di Milano  
Fondazione Cà Granda Ospedale Policlinico Milano*

**OXYS**  
PUBLISHING

---

Copyright © 2014 rights reserved

**Editorial Office**

Oxys Publishing, Italy  
20841 - Carate Brianza (MB)  
via F. Cusani, 123  
Tel +39 02 30 35 68 58  
Fax +39 02 30 35 68 59  
e-mail [info@oxyspace.eu](mailto:info@oxyspace.eu)  
web [www.oxyspace.eu](http://www.oxyspace.eu)

**Copyright**

© 2014 Oxys Publishing  
All rights reserved in  
all languages

This publication or any part  
thereof must not be reproduced  
in any form without the written  
permission of the copyright  
holder

**Government Registration**

Milano, n. 342/2009

**Medical Referee**

MD Danilo Ruggeri

**Scientific Advisors**

Prof. Alberto Corsini  
Prof. Andrea Francesconi  
Prof. Carlo Gelmetti  
Prof. Umberto Genovese  
Prof. Fabrizio Pregliasco  
Prof. Stefano Veraldi

**Policy Statement**

Whilst every effort is made by  
the publisher and editorial  
board to ensure that no inaccurate  
or misleading data, opinion or  
statement appears in this  
journal, they wish to make it  
clear that the data and opinions  
appearing in the articles and  
advertisements herein are the  
responsibility of the contributor  
or advertiser concerned.

Although great care has been  
taken to ensure that drug doses  
and other quantities are  
presented accurately, readers are  
advised that new methods and  
techniques involving drug usage,  
described within this  
journal, should only be  
followed in conjunction with  
the drug manufacturer's own  
published literature

**Reprints and Permissions**

For reprints of any article in this  
journal or reproduction rights,  
please contact the editor in chief  
at the publisher's address

**Advertisements**

Enquiries concerning  
advertisements should be address  
to: advertisement manager,  
[oxys@oxyspace.eu](mailto:oxys@oxyspace.eu)

**Printed in Italy**

# Ruolo di Zinco, Argento Micronizzato e Acido Laurico nella terapia dell'acne e nella gestione delle resistenze batteriche

Mauro Barbareschi

*Dipartimento di Fisiopatologia Medica e dei Trapianti Università di Milano  
Fondazione Cà Granda Ospedale Policlinico Milano*

## Keywords

Argento Micronizzato  
Acne  
Resistenze Batteriche  
Ruolo dello Zinco  
Antibiotici

Lo zinco è un elemento essenziale per la vita degli esseri umani e degli animali superiori. Il suo contenuto medio nell'uomo è pari a 1.5-2.5 g La sua RDA (per adulti) è di 12 mg nella donna/15 mg nell'uomo.

Fonti naturali dello zinco sono le ostriche, la carne rossa e bianca, la frutta secca, i legumi e i cereali. Solo il 20-30% dello zinco assunto con la dieta viene assorbito (la biodisponibilità viene compromessa dalla presenza nella dieta di fitati e fosfati organici).

Lo zinco circola nel sangue legato all'albumina e alla alfa-2-microglobulina in stato di ossidazione stabile e partecipa all'attivazione di più di 300 enzimi variamente implicati nella sintesi del DNA, nella divisione cellulare e nella sintesi proteica.

Stabilizza la struttura tridimensionale di più di 1000 fattori di trascrizione e svolge una funzione anti-androgena in quanto inibisce l'attività della 5-alfa-reduttasi (fino al 30%) - l'associazione con piridossina (vitamina B6) ne aumenta l'efficacia.

### La carenza di zinco può dipendere da:

nutrizione parenterale prolungata

dialisi

malassorbimento

alcolismo

terapia con anti MAO

corticosteroidi

diuretici

ustioni

Se la carenza è moderata si ha ritardo nella crescita oltre che ipogonadismo maschile, ipercheratinizzazione cutanea, anoressia, letargia, ritardata guarigione delle ferite, disfunzione dell'immunità cellulo-mediata, alterazioni neurosensitive (ipogeusia).

Il deficit di zinco è inoltre responsabile di una riduzione dei livelli plasmatici di IGF1 (Insulin Growth Factor) e di un'alterazione dei meccanismi di trasduzione del segnale che determinano l'azione biologica del GH (Growth Hormone) e dell'insulina.

Nella terapia dell'acne lo zinco riveste un ruolo ormai consolidato come confermato da abbondante letteratura.

Lo zinco possiede attività batteriostatica sul *Propionibacterium Acnes*.

Se la carenza è grave si ha dermatite pustolosa-bollosa, alopecia, diarrea, disordini emotivi, calo ponderale, infezioni ricorrenti, nanismo, e oligospermia e può risultare fatale.

Dal punto di vista immunologico lo zinco è fondamentale per l'attivazione dei linfociti T, dei linfociti NK, dei linfociti B, dei macrofagi, e dei polimorfonucleati neutrofili.

Regola l'attività della "timulina", l'ormone timico coinvolto nella maturazione e nella differenziazione linfocitaria nonché nella produzione di citochine pro-infiammatorie come IL2, IFN- $\gamma$ .

Inibisce la chemiotassi dei polimorfonucleati neutrofili e regola l'espressione di molecole di adesione (ICAM1).

Come "scavenger" lo zinco inibisce la NADPH ossidasi con conseguente riduzione della percentuale di radicali liberi dell'ossigeno.

Lo zinco costituisce insieme al rame la SOD (Super Ossido Dismutasi) responsabile della trasformazione dei radicali dell'ossigeno in composti non reattivi (perossido di idrogeno  $H_2O_2$ ). Induce la produzione di metalotionine, ricche in cisteina, eccellenti scavengers dei ROS (Reactive Oxygen Species).

Nella terapia dell'acne lo zinco riveste un ruolo ormai consolidato come confermato da abbondante letteratura (Staci Brandt PA "The clinical effects of zinc as a topical/ oral agent on the clinical response and pathophysiological mechanisms of acne " *Journal of Drugs in Dermatology* 2013; Vol.12/5).

Possiede attività batteriostatica sul *Propionibacterium Acnes* e inibisce l'attività della 5- $\alpha$ -reduttasi di tipo I a livello del follicolo sebaceo.

Uno studio clinico eseguito con estratti di *Propionibacterium Acnes* e colture di cheratinociti incubati per 3 ore con Sali di Zinco (1 $\mu$ g/mL) ha dimostrato la riduzione dose-dipendente dell'espressione del TLR2 (Toll-like Receptor) sulla membrana cheratinocitaria.

I sali di zinco, in colture di *P.Acnes*, riducono la resistenza delle colonie batteriche agli antibiotici (eritromicina).

Il meccanismo d'azione degli antibiotici nell'acne risiedono nell'azione batteriostatica/battericida nei confronti del *P. Acnes*.

Nel dettaglio, con l'uso degli antibiotici ottiene un'inibizione indiretta della sintesi delle lipasi batteriche, una riduzione del quantitativo degli acidi grassi liberi, l'inibizione della chemiotassi dei neutrofili e la modulazione delle vie classica e alternativa del complemento .

Si utilizzano gli antibiotici nell'acne per l'azione antibatterica e soprattutto per l'azione anti-infiammatoria.

#### Gli antibiotici orali più largamente utilizzati nell'acne sono:

Macrolidi (eritromicine, josamicina, azitromicina)

Tetraciline (tetraciclina, doxiciclina, minociclina, limeciclina)

Lincosamidi (clindamicina)

**Gli antibiotici topici più frequentemente utilizzati nell'acne sono:**

Macrolidi (eritromicina)

Lincosamidi (clindamicina)

Sulfamidici (dapsons)

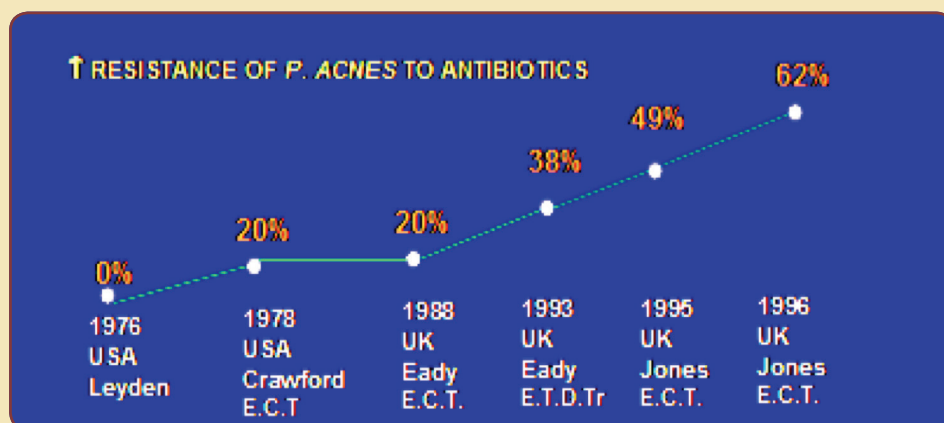
Chinoloni (nadifloxacina)

Il principale problema legato all'uso degli antibiotici nell'acne non risiede soltanto nei relativi effetti collaterali ma anche e soprattutto nel crescente fenomeno delle "resistenze batteriche".

Il principale problema legato all'uso degli antibiotici nell'acne non risiede soltanto nei relativi effetti collaterali ma anche e soprattutto nel crescente fenomeno delle "resistenze batteriche".

La resistenza alle Tetracicline è dovuta alla ridotta penetrazione, all'accelerata e/o aumentata eliminazione e all'inattivazione enzimatica.

Ne caso dei Macrolidi la resistenza è condizionata dall'accelerata e aumentata eliminazione, dalla "protezione" ribosomiale per sintesi di mutilasi, dall'idrolisi per mezzo di esterasi, delle mutazioni cromosomiche che alterano la sub-unità ribosomiale 50 S.



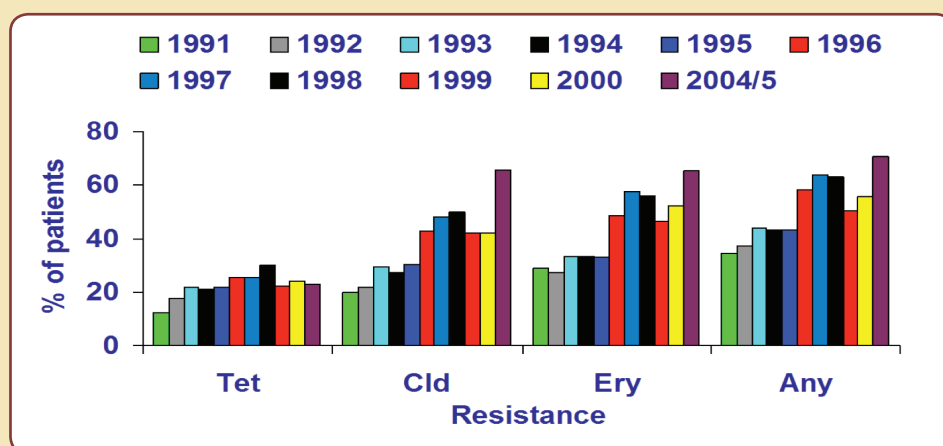
**Figura 1.** Andamento della percentuale di resistenza batterica negli anni.

Il fenomeno delle resistenze batteriche è in costante aumento da quando sono stati introdotti gli antibiotici nella terapia dell'acne.

Le resistenze batteriche all'eritromicina e alla clindamicina topiche compaiono dopo circa tre mesi di trattamento e sono reversibili alla sospensione del trattamento. Le resistenze sono spesso crociate (Leyden JJ et al "Propionibacterium acnes resistance to antibiotics in acne patients" J Am Acad Dermatol 1983;8:41-5), (Eady EA et al "Erythromycin-resistant propionibacteria in antibiotic treated acne patients: association with therapeutic failure" Br J Dermatol 1989;121:51-7).

Il fenomeno delle resistenze batteriche (Figura 1) è in costante aumento da quando sono stati introdotti gli antibiotici nella terapia dell'acne (J.Ross et al "Antibiotic-resistant acne: lessons from Europe" Br J Dermatol 2003; 148: 467-78 ).

Sono coinvolti nel fenomeno delle resistenze tutti i principali antibiotici utilizzati nel trattamento topico e sistemico dell'acne (*Figura 2*).



*Figura 2. Trend delle resistenze batteriche per tipo di antibiotico negli anni (tetraciclina, clindamicina, eritromicina, altri)*

Sono coinvolti nel fenomeno delle resistenze tutti i principali antibiotici utilizzati nel trattamento topico e sistemico dell'acne.

Nel 1985 la resistenza alla minociclina era dello 0.1%, in 25 anni è aumentata di 30 volte ed è la conseguenza di:

- antibiotici obsoleti
- dosaggi quotidiani troppo bassi
- durata della terapia troppo breve/ troppo lunga
- scarsa penetrazione nell'infra-infundibolo
- counseling insufficiente; scarsa compliance.

A livello internazionale la "Global Alliance for Acne" si è occupata del fenomeno delle resistenze batteriche (*Tabella 1*) fornendo linee guida utili alla loro prevenzione ("New insights into the management of acne: an update from the Global Alliance to improve outcomes in acne group" J Am Acad Dermatol 2009; 60: S1-50).

Le resistenze sono spesso crociate.

#### CONSENSUS: Strategies to Limit Antibiotic Resistance Are Important in Acne Management

##### Level of Evidence: V

- Treatment regimens that limit, or even reduce, the incidence of bacterial antibiotic resistance are recommended
  - o Selection pressure can affect other, more pathogenic bacteria in addition to *P. acnes*
  - o High rates of resistance have been correlated with high outpatient use of antibiotics
- Use of oral antibiotics can lead to resistance in commensal flora at all body sites; topical antibiotics lead to resistance largely confined to skin of treated site
  - o Oral antibiotics are recommended for moderate to moderately severe acne
  - o Topical antibiotics may be used in mild to moderate acne as long as they are combined with benzoyl peroxide (BPO) and a topical retinoid
  - o Limit the duration of antibiotic use and assess response to antibiotics and continuing need at 6 to 12 weeks
  - o Some countries have regulatory guidance limiting the duration of use of topical antibiotics (alone and in fixed-dose combination products) to 11 to 12 weeks
- Use BPO concomitantly as a leave-on or as a wash
  - o BPO for 5 to 7 days between antibiotic courses may reduce resistant organisms on the skin; however, BPO does not fully eradicate potential for resistant organisms
- Avoid using antibiotics (either oral or topical) as monotherapy either for acute treatment or maintenance therapy
- Avoid the simultaneous use of oral and topical antibiotics without BPO, particularly if chemically different

*Tabella 1. Linee Guida Internazionali per la prevenzione delle resistenze batteriche*

Anche a livello europeo (*Tabella 2*) sono state promulgate alcune linee guida per l'uso corretto degli antibiotici nell'acne per sfavorire le resistenze batteriche ("European evidence-base (S3 guidelines for the treatment of acne " JEADV 2012; 26 (Suppl 1): 1-29).

	Comedonal acne	Mild-to-moderate papulopustular acne	Severe papulopustular/moderate nodular acne	Severe nodular/conglobate acne§
High strength of recommendation	–	Adapalene + BPO (f.c.) or BPO + clindamycin (f.c.)	Isotretinoin*	Isotretinoin*
Medium strength of recommendation	Topical retinoid‡	Azelaic acid or BPO or topical retinoid‡ or systemic antibiotic† + adapalene¶¶	Systemic antibiotics¶ + adapalene¶¶ or systemic antibiotics¶ + azelaic acid‡‡ or systemic antibiotics + adapalene + BPO (f.c.)	Systemic antibiotics¶ + azelaic acid
Low strength of recommendation	Azelaic acid or BPO	Blue light or oral zinc or topical erythromycin + isotretinoin (f.c.) or topical erythromycin + tretinoin (f.c.) or systemic antibiotic†,¶ + BPO†† or systemic antibiotic †,¶ + azelaic acid¶¶ or systemic antibiotics †,¶ + adapalene + BPO (f.c.)§§	Systemic antibiotics¶ + BPO††	Systemic antibiotics¶ + BPO†† or systemic antibiotics¶ + adapalene§§,¶¶ or systemic antibiotics¶ + adapalene + BPO (f.c.)§§
Alternatives for female patients	–	–	Hormonal antiandrogens + topical treatment or hormonal antiandrogens + systemic antibiotics**	Hormonal antiandrogens + systemic antibiotics**

**Tabella 2.** Linee Guida Europee per "sfavorire" le resistenze batteriche.

Le strategie terapeutiche che si possono mettere in campo contro le resistenze batteriche sono:

- disporre di antibiotici nuovi
- adottare dosaggi quotidiani pieni
- programmare una adeguata durata della terapia
- utilizzare gli antisettici topici
- utilizzare le associazioni (zinco,...).

Tra le associazioni che si possono proporre e che hanno acquisito un ruolo confermato da ampi dati della letteratura, quelle che contengono i sali di zinco sono molto interessanti.

Citando Cunliffe in tema di zinco ed acne si può affermare: "There is evidence that combined therapy with (...) zinc (...) increases the bacterial effect and reduces the risk of resistance. Therefore, zinc has a protective effect against the development of bacterial resistance. However, mechanisms by which zinc acts are unknown. – (Cunliffe WJ, Gollnick HPM: Acne. Diagnosis and management. Martin Dunitz, London, 2001; 114 ).

**L'associazione costituita da Zinco Acetato, Acido Laurico e Argento micronizzato può essere una valida alternativa all'uso di un antibiotico topico.**

Tra le associazioni che si possono proporre e che hanno acquisito un ruolo confermato da ampi dati della letteratura, quelle che contengono i sali di zinco sono molto interessanti.

Di notevolissimo interesse è il dato che l'acido laurico ha dimostrato di avere una MIC 15 volte minore, rispetto a quella del benzoil perossido, nei confronti del P. Acnes.



Il razionale dell'impiego dello zinco acetato in tale formulazione sfrutta:

- l'azione anti-infiammatoria (inibisce la chemiotassi dei neutrofili)
- l'azione sebastatica
- l'azione batteriostatica nei confronti del P. Acnes.

Per quanto riguarda l'acido laurico, *acido grasso a 12 atomi di carbonio*, la letteratura ne conferma il potenziale anti-acneico (Nakatsuji T et al "Antimicrobial property of lauric acid against P.Acnes: its therapeutic potential for inflammatory acne vulgaris", J Invest Dermatol 2009,129/10).

**L'argento in forma micronizzata ha dimostrato la sua azione antimicrobica.**

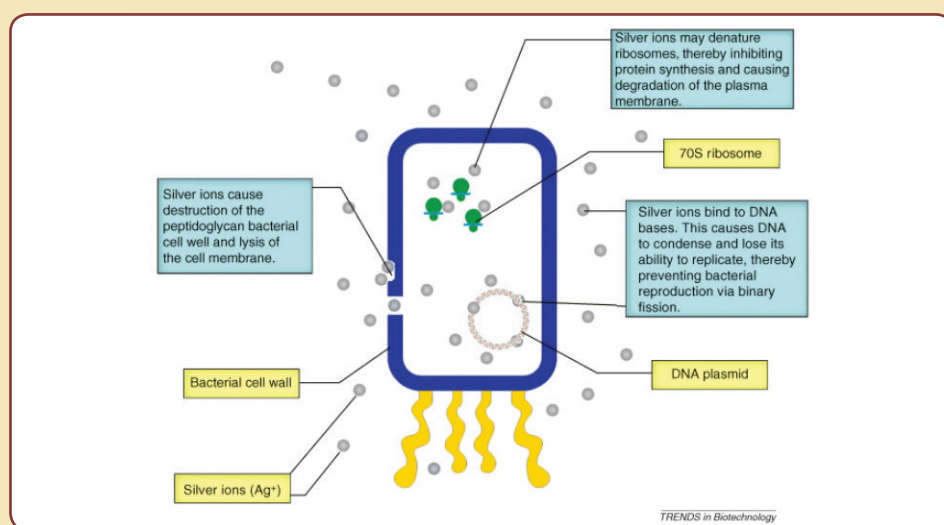
Di notevolissimo interesse è il dato che l'acido laurico ha dimostrato di avere una MIC 15 volte minore, rispetto a quella del benzoin perossido, nei confronti del P. Acnes (Yang D et al "The antimicrobial activity of liposomal lauric acids against P.Acnes" Biomaterials 2009, 30/6035.).

Infine per l'argento in forma micronizzata i dati di laboratorio e l'esperienza clinica nel trattamento delle ulcere hanno dimostrato la sua azione antimicrobica (Morones JR, Elechiguerr JL, Camacho A et al "The bactericidal effect of silver nanoparticles" Nanotechnology 2005,16/10), (Kim JS, Kuk E, YU KN et al "Antimicrobial effects of silver nanoparticles" Nanomedicine 2007,3/1).

**L'associazione zinco acetato, acido laurico e argento micronizzato ha dimostrato di essere efficace, a MIC basse, su ceppi di P.Acnes multiresistenti agli antibiotici.**

Dopo applicazione, l'argento in forma micronizzata produce un aumento della permeabilità della parete batterica (*Figura 3*) attraverso la formazione di "pits" (buchi) visibili al microscopio elettronico a scansione (SEM).

**L'argento in forma micronizzata produce un aumento della permeabilità della parete batterica attraverso la formazione di "pits".**



**Figura 3.** Attività antimicrobica dell'argento micronizzato

L'associazione fissa di Zinco Acetato, Acido Laurico e Argento Micronizzato, è stata sottoposta ad approfonditi studi di laboratorio per dimostrarne l'efficacia nei confronti di ceppi di P.Acnes multi-resistenti agli antibiotici (eritromicina, clindamicina ed entrambi) (R.Bojar, D.J Fitzgerald "In vitro investigations into the antimicrobial activity against Propionibacterium acnes" Evocutis plc, EVO-0436 Sept 2013).

La MIC è stata determinata seguendo una precisa metodologia di laboratorio per evitare batteri "inquinanti" le piastre di coltura (*Figure 4a - 4b*).



## APPENDIX 2: *PROPIONIBACTERIUM ACNES* PANEL QUALITY CONTROL

Isolate	Phenotype	Mutation	OD	Purity	Zone of inhibition (mm)		
					Clin (2)	Ery (5)	Tet (10)
EVO-2	Sensitive	None	0.205	Pass	43.32	46.05	43.93
EVO-58	Resistant - C	Unknown	0.203	Pass	20.90	47.26	46.95
EVO-59	Resistant - E	2057	0.202	Pass	38.47	24.84	43.93
EVO-33	Resistant - C/E	erm (X)	0.201	Pass	0.00	0.00	39.08
EVO-44	Resistant - C/E/T	1058/2059	0.205	Pass	0.00	0.00	0.00

Antibiotic	Breakpoints (mm)	
	Resistant	Sensitive
	Clin (2)	Ery (5)
Clin (2)	< 25	≥ 25
Ery (5)	< 25	≥ 25
Tet (10)	< 32	≥ 32

Recenti ricerche hanno ormai inequivocabilmente confermato che l'uso prolungato e indiscriminato di antibiotici ha incrementato in maniera preoccupante le resistenze batteriche.

Figura 4a. Standard qualitativi di controllo

### DETERMINATION OF MIC

1. The activity of the Diakon Krem was evaluated against an agreed panel comprising five *P. acnes* isolates (normal, resistant C, resistant E, resistant C+E and resistant C+E+T).
2. The *P. acnes* isolates were grown on Wilkins-Chalgren agar at 37°C under anaerobic conditions for 96 h and then prepared to an OD<sub>550</sub> nm of 0.2 (±0.005) in Wilkins-Chalgren broth to yield ~1-2 × 10<sup>8</sup> cfu/mL.
3. The plates containing Diakon Krem (inc. control) were inoculated from low to high concentration using an AQS A400 multipoint inoculator to deliver spots of ~1-2 µL to give a final inoculum of ~1-2 × 10<sup>5</sup> cfu per spot.
4. Plates were incubated at 37°C under anaerobic conditions for 72 h.
5. For quality control purposes each inoculum was checked for purity and antibiotic resistance profile to clindamycin (2 µg), erythromycin (5 µg), and tetracycline (10 µg) – (See Appendix 2).
6. Following incubation, MIC was determined by noting the concentration where a marked reduction in the appearance of growth on the test plate as compared to the control plate. Examples of a marked change in growth include a change from a uniform spot of confluent growth to a film of growth or multiple tiny colonies, or one to several normal sized colonies – this follows guidance given by CLSI M11-A7.

Figura 4b. Procedura per la determinazione della MIC

Disporre di alternative agli antibiotici (**antibiotic-like agents**) è quindi il modo corretto per vincere la sfida nei confronti delle resistenze batteriche.

Al termine dell'esperimento l'associazione zinco acetato, acido laurico e argento micronizzato (Tabella 3) ha dimostrato di essere efficace, a MIC basse, su ceppi di *P. Acnes* multiresistenti agli antibiotici (indipendentemente dall'antibiotico a cui erano divenuti resistenti).

<i>P. acnes</i> isolate	Phenotype	Mutation/ Gene	Source	MIC (% v/v)
EVO-2	Sensitive	None	United States	0.156
EVO-58	Resistant - C	Unknown	Sweden	0.156
EVO-59	Resistant - E	2057	England	0.156
EVO-33	Resistant - C/E	erm (X)	Spain	0.156
EVO-44	Resistant - C/E/T	1058/2059	United States	0.156

C = Clindamycin, E = Erythromycin, T = Tetracycline

Tabella 3. Efficacia dell'associazione nei confronti dei diversi ceppi di *P. Acnes* selezionati

Recenti ricerche su larga scala, hanno ormai inequivocabilmente confermato che l'uso prolungato e indiscriminato di antibiotici ha incrementato in maniera preoccupante le resistenze batteriche. Ciò potrà, in un prossimo futuro, avere ripercussioni generali. Ridurre la prescrizione di antibiotici è una necessità che va oltre la dermatologia ed è ormai un tema di salute pubblica.

Disporre di alternative agli antibiotici (**antibiotic-like agents**) è quindi il modo corretto per vincere la sfida nei confronti delle resistenze batteriche e - nello specifico dermatologico - curare efficacemente i pazienti acneici.

This image shows a single sheet of white paper with horizontal blue ruling lines. The lines are evenly spaced and run across the width of the page. There are no margins, text, or other markings on the paper.

