

ESTRATTO

# Isolamento di batteri del genere *Staphylococcus* dall'idiosoma di *Demodex brevis* (Acari: Demodecidae) da materiale sebaceo di soggetti affetti da alopecia seborroica

*Isolation of Staphylococcus spp. from idiosoma of Demodex brevis  
(Acari: Demodecidae) associated to seborrheic alopecia in humans*

MARIO PRINCIPATO, VINCENZO CUTERI\*, GIROLAMO ANTONIO POLIDORI

Istituto di Parassitologia, \* Istituto Malattie Infettive, Profilassi e Polizia Veterinaria, Facoltà di Medicina Veterinaria, Perugia

**RIASSUNTO Obiettivi** Si è voluta verificare la capacità, da parte di acari del genere *Demodex* di fungere da serbatoio batterico.

**Metodi** Sono stati scelti 4 campioni di *Demodex brevis* prelevati da materiale sebaceo proveniente dal capo di uomini affetti da alopecia seborroica e ne è stato seminato il contenuto idiosomale.

**Risultati** Sono state identificate tre specie di stafilococchi: *S. sciuri*, *S. hominis*, *S. kloosii*. Quest'ultima specie non era ancora mai stata segnalata nell'uomo in acari del genere *Demodex*.

**Conclusioni** Si ritiene che, in relazione alle fasi di sviluppo degli acari, questi batteri possano avere un ruolo patogeno nell'evoluzione dell'alopecia seborroica dell'uomo.

**PAROLE CHIAVE:** *Staphylococcus* spp., *Demodex* spp., alopecia, isolamento

**SUMMARY Objectives** The aim of the present study was to verify the possibility by *Demodex* mites to contain bacteria in their idiosoma.

**Methods** Four samples of *Demodex brevis*, obtained from sebaceous material of people's heads affected by seborrheic alopecia, have been selected and their idiosomal content has been cultured.

**Results** Three species of *Staphylococcus* have been isolated, i.e. *S. hominis*, *S. sciuri*, *S. kloosii*. The last species has never been isolated from *Demodex* mites in humans.

**Conclusions** It has been speculated that the bacteria isolated from the mites in their latent stage may have a role in the onset of seborrheic alopecia in humans.

**KEY WORDS:** *Staphylococcus* spp., *Demodex* spp., alopecia, isolation

[Giorn It Mal Inf 1995;1:351-354]

## Introduzione

Gli acari del genere *Demodex* vivono e si riproducono, elettivamente, in alcune regioni anatomiche dell'uomo, quali la cute del naso, del volto e del cuoio capelluto. In tali sedi, i parassiti compiono il proprio ciclo biologico con un andamento strettamente periodico<sup>1,2</sup>, causando irritazione del follicolo pilifero, e determinando ipersecrezione sebacea per stimolazione, attiva e passiva, delle ghiandole sebacee<sup>3</sup>.

Il loro movimento e la loro migrazione cutanea da un follicolo

all'altro sono causa del trasporto passivo di batteri e funghi, all'interno dei follicoli piliferi e delle ghiandole sebacee dell'ospite parassitato<sup>4</sup>. Sono inoltre molto frequenti i casi in cui la presenza di questi artropodi si associa a patologie cutanee più o meno gravi come l'acne rosacea<sup>5,6</sup>, l'otite seborroica<sup>7</sup>, la dermatite periorale<sup>8</sup> e alcune forme di blefarocongiuntivite<sup>9,10,11</sup>. Il ruolo patogeno di questi acari è stato molto discusso e controverso ma, già da tempo, alcuni autori hanno dimostrato la possibilità che questi artropodi possano avere un ruolo attivo in alcune malattie anche come vettori o serbatoi di agenti patogeni.

IDENTIFICAZIONE DI <i>STAPHYLOCCUS EPIDERMIDIS</i>			
Catalasi	+	Riduzione nitrati	+
Ossidasi	-	Acetoina	+
Vibriostatique 0/129	Resistente	Fosfatasi alcalina	+
Bacitracina	Resistente	Urea	+
Furanici	Sensibile	Arginina deidrolasi	-
Novobiocina	Sensibile	Ornitina decarbossilasi	-
Coagulasi	-	Esculina	-
<i>Clumping factor</i>	-	$\beta$ -Galattosidasi	-
Termonucleasi	-	Arginina arilamidasi	-
N-Acetil-Glucosamina	-	Pirrolidonil arilamidasi	-
$\beta$ -Glucuronidasi	-		
Acidificazione dei carboidrati in aerobiosi:			
Glucosio	+	Raffinosio	-
Fruttosio	+	Saccarosio	+
Mannosio	+	Turanosio	-
Maltosio	+	Ribosio	-
Lattosio	+	Cellobiosio	-
Tralosio	-	Arabinosio	-
Mannitolo	-		

TABELLA 1

IDENTIFICAZIONE DI <i>STAPHYLOCCUS HOMINIS</i>			
Catalasi	+	Riduzione nitrati	+
Ossidasi	-	Acetoina	+
Vibriostatique 0/129	Resistente	Fosfatasi alcalina	+
Bacitracina	Resistente	Urea	+
Furanici	Sensibile	Arginina deidrolasi	-
Novobiocina	Sensibile	Ornitina decarbossilasi	-
Coagulasi	-	Esculina	-
<i>Clumping factor</i>	-	$\beta$ -Galattosidasi	-
Termonucleasi	-	Arginina arilamidasi	-
N-Acetil-Glucosamina	+ (Debolmente)	Pirrolidonil arilamidasi	-
$\beta$ -Glucuronidasi	-		
Acidificazione dei carboidrati in aerobiosi:			
Glucosio	+	Raffinosio	-
Fruttosio	+	Saccarosio	-
Mannosio	-	Turanosio	-
Maltosio	+	Ribosio	-
Lattosio	+	Cellobiosio	-
Tralosio	-	Arabinosio	-
Mannitolo	+		

TABELLA 2

Già nel 1908 Borrel<sup>12</sup> discuteva la possibilità che gli acari del genere *Demodex* potessero essere responsabili della trasmissione di *Mycobacterium leprae* e di alcuni virus implicati in processi neoplastici. Tale possibilità venne successivamente confermata da Spickett, nel 1961<sup>13</sup>, con l'isolamento di *M. leprae* dalla cavità idiosomale di demodocidi umani, mentre la possibilità che questi acari potessero essere serbatoio e vettori di particelle virali, in particolare di *Herpes simplex*, venne dimostrata, nel 1981, da English e Nutting studiando le modalità di assunzione del cibo di questo parassita<sup>14</sup>. Nel 1988 Wolf osservò le spore di *Microsporium canis* all'interno della cavità idiosomale di acari del genere *Demodex*<sup>15</sup>, dimostrando dunque anche la capacità micofagica di questi acari che, del resto, era già stata intuita precedentemente da altri autori (Spickett, 1961). Si è visto, inoltre, che questi artropodi trasportano passivamente stafilococchi da un follicolo all'altro (Norm, 1972)<sup>16</sup> e che la presenza degli acari ne promuove, talora, lo sviluppo (Clifford, 1990)<sup>17</sup>. Poiché nel corso di cinque anni di ricerche sulla demodicosi umana ci si è frequentemente accorti della presenza di forme batteriche vitali all'interno della cavità idiosomale di alcuni acari del genere *Demodex* prelevati dal capo di soggetti con alopecia seborroica, si è voluto tentarne l'isolamento e l'identificazione.

## Materiali e metodi

Sono stati sottoposti a esame batteriologico 4 campioni di sebo prelevati dal capo di uomini affetti da alopecia seborroica, con demodicosi del cuoio capelluto. Contemporaneamente, è stato effettuato l'isolamento e l'identificazione degli acari del genere *Demodex* presenti nel materiale sebaceo raccolto. Dopo sterilizzazione esterna con una soluzione di formaldeide all'1%, i parassiti, ancora vivi, sono stati immersi in soluzione fisiologica sterile e osservati al microscopio ottico per verificare la presenza, nel loro interno, di batteri. Attraverso microaghi, gli acari sono stati, quindi, dissezionati, aprendone la regione opistosomale dell'idiosoma. Tale materiale è stato, quindi, seminato in Trypticase Soy Broth (BBL) per 12 ore a 37 °C e, poi, trapiantato su Trypticase Soy Agar, con aggiunta di sangue defibrinato di pecora (5%). Le piastre venivano poste a incubare a 37 °C per 2 giorni. Successivamente, sono state ottenute delle subcolture su terreno di Chapman (BioMérieux). Questi terreni di coltura e gli stessi procedimenti di semina sono stati utilizzati per l'esame batteriologico del sebo in toto.

Dal materiale colturale ottenuto dall'interno degli acari e dal sebo in toto, sono stati allestiti preparati microscopici che sono sta-



ti osservati sia a fresco, che previa colorazione con i metodi Gram e Ziehl-Neelsen.

## Risultati

Gli acari isolati dal materiale sebaceo prelevato dal capo delle quattro persone affette da alopecia seborroica sono stati identificati come appartenenti alla famiglia *Demodecidae*, genere *Demodex*, delle seguenti specie: *Demodex folliculorum* e *Demodex brevis*. Quest'ultima si mostrava come specie prevalente.

La colorazione Ziehl-Neelsen non ha messo in evidenza alcun batterio acido-resistente. Il metodo Gram ha, invece, evidenziato la presenza di batteri Gram+ cocchi, disposti appaiati, a tetrade o a *clusters*. Le colonie apparivano biancastre, della dimensione di 2-3 mm.

L'identificazione biochimica ha consentito di tipizzare i batteri sviluppati nella coltura da materiale sebaceo prelevato in toto, come *Staphylococcus epidermidis* (Tabella 1). I batteri, invece, isolati dal materiale proveniente dall'idiosoma di esemplari di sesso femminile di *Demodex brevis*, sono stati identificati come *Staphylococcus hominis*, *S. sciuri* e *S. kloosii* (Tabelle 2, 3, 4). L'antibiogramma ha messo in evidenza una sensibilità comune ai furanici.

## Discussione

È necessario, innanzitutto, sottolineare che *S. kloosii* non risulta essere stato mai segnalato sulla cute dell'uomo, nè, tantomeno, in acari del genere *Demodex*.

L'isolamento di *S. hominis*, *S. sciuri* e *S. kloosii* dall'interno di questi acari, conferma il ruolo di questi parassiti come serbatoio batterico. In ogni caso la presenza del *Demodex* nel follicolo pilifero e nelle ghiandole sebacee di soggetti affetti da alopecia seborroica, unitamente alla presenza di questi batteri, sembra importante per una eventuale possibile relazione con la complessa patologia cutanea che porta all'atrofia e distruzione del bulbo pilifero e, comunque, a una anomala caduta dei capelli.

Un'importante osservazione da segnalare, sia pure in via preliminare, riguarda la possibile azione inibente del *Demodex*, su colonie fungine e batteriche.

È stata, infatti, notata una grande difficoltà e, spesso, l'assoluta impossibilità, di isolare batteri da materiale sebaceo nei periodi riproduttivi dell'acaro, mentre tali colture riuscivano di più facile realizzazione nei periodi di quiescenza biologica del parassita. Tale osservazione è ancor più importante, se si mette in relazione ai periodi di maggior caduta dei capelli o di sviluppo di lesioni acneiformi in cui spesso si isolano questi artropodi. Tali pe-

IDENTIFICAZIONE DI *STAPHYLOCCUS KLOOSII*

Catalasi	+	Riduzione nitrati	+
Ossidasi	-	Acetoina	-
Vibriostatique 0/129	Resistente	Fosfatasi alcalina	-
Bacitracina	Resistente	Urea	-
Furanici	Sensibile	Arginina deidrolasi	-
Novobiocina	Resistente	Ornitina decarbossilasi	-
Coagulasi	-	Esculina	-
<i>Clumping factor</i>	-	$\beta$ -Galattosidasi	-
Termonucleasi	-	Arginina arilamidasi	-
N-Acetil-Glucosamina	-	Pirrolidonil arilamidasi	+
$\beta$ -Glucuronidasi	-		
Acidificazione dei carboidrati in aerobiosi:			
Glucosio	+	Raffinosio	-
Fruttosio	+	Saccarosio	+
Mannosio	+	Turanosio	-
Maltosio	+	Ribosio	+
Lattosio	+	Cellobiosio	-
Tralosisio	+	Arabinosio	-
Mannitolo	+		

TABELLA 3

IDENTIFICAZIONE DI *STAPHYLOCCUS SCIURI*

Catalasi	+	Riduzione nitrati	+
Ossidasi	-	Acetoina	-
Vibriostatique 0/129	Resistente	Fosfatasi alcalina	-
Bacitracina	Resistente	Urea	-
Furanici	Sensibile	Arginina deidrolasi	-
Novobiocina	Sensibile	Ornitina decarbossilasi	NE
Coagulasi	-	Esculina	NE
<i>Clumping factor</i>	-	$\beta$ -Galattosidasi	-
Termonucleasi	-	Arginina arilamidasi	NE
N-Acetil-Glucosamina	+	Pirrolidonil arilamidasi	NE
$\beta$ -Glucuronidasi	-		
Acidificazione dei carboidrati in aerobiosi:			
Glucosio	+	Raffinosio	-
Fruttosio	+	Saccarosio	+
Mannosio	+	Turanosio	-
Maltosio	+	Ribosio	+
Lattosio	+	Cellobiosio	+
Tralosisio	+	Arabinosio	+
Mannitolo	+		
NE: Non eseguita			

TABELLA 4

riodi sembrano corrispondere, perfettamente, ai periodi di quiescenza di questi acari, cioè ai periodi in cui non risultano in riproduzione.

Potrebbe essere probabile l'ipotesi secondo la quale i *Demodex* esplichino la propria azione patogena sia direttamente nel lume del follicolo pilifero e della ghiandola sebacea, sia indirettamente, nel periodo di quiescenza permettendo lo sviluppo di batteri e funghi che, precedentemente, avevano introdotto e conservato nel derma.

Stimoli esogeni, quali l'alimentazione, shampoo troppo forti, o trattamenti, comunque, tendenti a ridurre la produzione di sebo e che rendono, quindi, disvitale il microhabitat del parassita, possono realmente stimolarlo a uscire dallo stato di quiescenza in cui si trova e a renderlo attivo.

Si potrà avere allora liberazione dei batteri dall'idiosoma e l'acaro, entrato in attività, potrà pungere e stimolare le cellule ghiandolari provocando attivamente una ipersecrezione sebacea che diverrà notevolmente più fluida con l'eliminazione di una lipasi da parte del parassita<sup>18</sup>.

Non è noto se la totale eliminazione del *Demodex* dall'uomo, contemporaneamente all'eliminazione dei batteri, possa determinare la regressione del quadro alopecico in quanto, in nessun caso e con nessun trattamento, si è mai riusciti a eliminare totalmente i parassiti dall'uomo.

È un dato di fatto importante che, comunque, i vari tentativi di trattamento antiparassitario e antibatterico migliorano, nettamente, lo stato del cuoio capelluto e anche alcune forme di acne. Riteniamo che la soluzione, quantomeno parziale, a molti casi di calvizie seborroica di origine parassitaria e di talune forme di acne, sia legata a trattamenti mirati, soprattutto nel periodo, contro questi parassiti e gli elementi, batterici o fungini, ad essi associati.

#### Ringraziamenti

Si ringrazia il Dr. N. Elsolh del Centro Nazionale di Riferenza per gli Stafilococchi, Istituto Pasteur, Parigi, per la cortese collaborazione.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Principato M. Demodectose humaine chez des sujets atteints d'alopecie seborrheique: modifications periodiques dans le cycle biologique des parasites et considerations cliniques sur les causes de la calvitie. Bull Soc Fr Parasitol 1994;12:81-91.
2. Principato M. Observations on Demodicosis of man's scalp: seasonal peaks in the parasites' life cycle. Parassitol. 1994;36 (suppl. 1):116.
3. Forton F. *Demodex* et inflammation perifolliculaire chez l'homme: revue et observation de 69 biopsies. Ann Dermatol Venereo 11986;113:1047-1058.
4. Akbulatova LK. The pathogenic role of *Demodex* mite and the clinical form of Demodicosis in man. Vest Derm Vener, Moscow 1963;40:57-61.
5. Grosshans EM, Kremer M, Maleville J. *Demodex folliculorum* und die Histogenese der Granulomatosen Rosacea. Hautarzt 1974;25:166-177.
6. Varotti C, Ghetti P, Negosanti M, Passarini B. *Demodex folliculorum* e acne rosacea. Giorn It Dermatol Venereo 1983;116:489-491.
7. Nutting WB, Firda KE, Clifford E, Desch Jr. Topology and histopathology of hair follicle mites (Demodecidae) of man. Med Veter Acarol 1:113-121.
8. Principato M, Polidori GA. Parasitological observations on cronical perioral dermatitis in women caused by *Demodex brevis*. Atti VIII Int Congr of Parasitol, Izmir-Turkey, 1994;2:259.
9. Principato M, Cianchetti A, Lupidi G. Note parassitologiche sulla demodectosi oculare nell'uomo: isolamento di *Demodex brevis*. Ann Oftalm Clin Oculist 1988;114:577-581.
10. Post C, Juhlin E. *Demodex folliculorum* and blepharitis. Arch Dermatol 1963;88:298-302.
11. Uyttebroeck WIN, Maudgal PC, Missotten L. Incidence of *Demodex folliculorum* on the eyelash follicle in normal people and in blepharitis patients. Bull Soc Belge Ophthalmol 1982;201:83-87.
12. Borrel A. *Demodex* et infections cutanées. C.r.Séanc Soc Biol 1908;65:596.
13. Spickett SA. A Preliminary note on *Demodex folliculorum* Simon (1842) as possible vector of leprosy. Leprosy Rev 1961;32:263-268.
14. English FP, Nutting WB. Feeding characteristics in demodectic mites of the eyelid. Austral J Ophthalmol 1981;9:311-313.
15. Wolf R, Ophir J, Avigad J, Lengy J, Krakowski A. The hair follicle mites (*Demodex* spp.). Could they be vectors of pathogenic microorganisms? Acta Dermato-Venereo 1988;68:535-537.
16. Norn MS. The follicle mite (*Demodex folliculorum*). Eye, Ear, Nose Throat Monthly 1972;51:187-191.
17. Clifford CW, Fulk GW. Association of diabetes, lash loss, and *Staphylococcus aureus* with Infestation of Eyelids by *Demodex folliculorum* (Acari: Demodecidae). J Med Entomol 1990;27:467-470.
18. Jimenez-Acosta F, Planas L. *Demodex* mites contain immunoreactive lipase. Arch Dermatol 1989;125:1436-1437.