

Flora cutánea normal e infección bacteriana secundaria

X. Soria^a y J.M. Carrascosa^b

^aServicio de Dermatología. Hospital Universitari Arnau de Vilanova. Universitat de Lleida. Lleida. España.

^bServicio de Dermatología. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Universitat Autònoma de Barcelona. Badalona. España.

Resumen. Definimos como flora cutánea normal a todos aquellos microorganismos presentes de forma habitual en la piel, sin que estos sean responsables de procesos infecciosos. Ya en el momento del parto se inicia la colonización microbiana cutánea, de manera que a los pocos meses de vida la flora cutánea del niño estará compuesta por los mismos tipos de gérmenes que podrán encontrarse en la vida adulta. La flora cutánea está compuesta tanto por bacterias, sobre todo grampositivos como *Staphylococcus* sp., levaduras predominantemente constituidas por *Malassezia* sp., virus y artrópodos, como *Demodex folliculorum*.

En los últimos años el desarrollo de la microbiología molecular y en concreto de técnicas como la amplificación y comparación del gen 16S ARNr, han permitido demostrar que la flora cutánea normal está compuesta por un número mayor de bacterias que el que se había considerado tiempo atrás a partir de estudios basados en cultivos microbiológicos.

En el presente escrito se lleva a cabo asimismo una revisión de las principales formas de infección bacteriana cutánea secundaria.

Palabras clave: flora comensal, microbiología molecular, 16S ARNr, microflora.

NORMAL CUTANEOUS FLORA AND SECONDARY BACTERIAL INFECTION

Abstract. Normal skin microflora consists of those micro-organisms which are usually present on the skin, without causing infection. The infant's skin colonization starts during birth and after the first months of life the skin microbiota is composed of the same micro-organisms as in the adult. The skin microflora is composed of bacteria, mostly gram-positives *Staphylococcus* species, yeasts which the most prevalent is *Malassezia*, viruses and arthropods like *Demodex folliculorum*.

In the last years, the development of molecular microbiology and specially techniques like amplification and comparison of 16S rRNA, have demonstrated that cutaneous microbiota is composed of a higher diversity of bacteria than the traditionally observed in culture methods. We also review the main secondary bacterial skin infections.

Key words: commensal flora, molecular microbiology, 16S rRNA, microflora.

Introducción

Los términos flora cutánea normal o flora cutánea comensal se emplean para describir aquellos microorganismos que se encuentran de forma habitual en la piel de los individuos sanos. La colonización de la piel y de las mucosas se inicia ya en el momento del parto, con la ruptura de las membranas, el paso del recién nacido por el canal vaginal, el posterior contacto del niño con la flora cutánea de la madre

o de otros individuos que toquen al niño y por los gérmenes del propio ambiente. Una vez pasados los primeros meses de vida, la flora cutánea que puede encontrarse en un lactante es muy parecida a la de un individuo adulto^{1,2}.

Las diferentes especies que constituyen la flora cutánea de un individuo dependerán de factores ambientales como la temperatura, la humedad o la exposición a la luz solar y de factores propios del huésped como la edad, el sexo, el estado del sistema inmune, la higiene, el uso de jabones o cosméticos o determinados fármacos como antibióticos o corticosteroides, así como de antecedentes peculiares, como sería el caso de una hospitalización reciente. Por otro lado, la flora cutánea de una persona no es homogénea en toda la superficie de la piel. Las diferencias que existen de humedad, pH o de contenido lipídico epidérmico, según la región anatómica estudiada, propiciarán la existencia de dife-

Correspondencia:

Xavier Soria.

Servicio de Dermatología.

Hospital Universitari Arnau de Vilanova.

Avda. Alcalde Rovira Roure, 80.

25198. Lleida. España.

36911xsg@comb.es

rentes nichos ecológicos constituidos por distintos microorganismos, en función de sus distintas características morfológicas, fisiológicas y genéticas¹⁻⁶. En este sentido se han determinado diferencias cuantitativas importantes en la composición de la flora en tres territorios principales: el grupo que comprende las axilas, el periné y los espacios interdigitales, el grupo que comprende las manos, la cara y el tronco y el grupo que comprende los brazos y las piernas^{1,6}.

La microflora cutánea se distribuye tanto en la superficie de la piel, formando microcolonias, como en los ductos de los folículos y en las glándulas sebáceas. El lavado puede disminuir la cantidad de gérmenes de la superficie cutánea hasta en un 90% de los valores normales, pero estos se restablecen de forma rápida, volviendo a la normalidad a las 8 horas, gracias al reservorio bacteriano procedente de los folículos, y sobre todo de las glándulas sebáceas. Por el contrario, la ausencia de lavado de la piel no se traduce en un aumento del número de bacterias residentes en la misma. También es importante tener en cuenta la liberación de bacterias desde la piel hacia el medio ambiente, ya que en algunos individuos se pueden eliminar hasta 1×10^6 microorganismos durante 30 minutos de ejercicio^{1,5}.

Flora cutánea. Estudios microbiológicos clásicos

Nuestro conocimiento sobre la microflora de la piel humana se fundamenta en estudios realizados a partir de cultivos microbiológicos. En estos, sin embargo, los resultados varían en gran medida en función de los procedimientos escogidos para llevarlos a cabo. Es decir, según la técnica de recogida de la muestra (frotis, rascado, lavado y contacto directo con agar), las condiciones de procesamiento (cultivo aerobio, anaerobio, en medio líquido y en placas de agar) y las condiciones de cultivo (pH, osmolaridad, temperatura, concentración de dióxido de carbono y tipos de sustratos orgánicos)⁷.

De forma clásica los estudios microbiológicos basados en cultivos han determinado que la flora bacteriana cutánea predominante está constituida por estafilococos coagulasa-negativos, micrococcos, corinebacterias saprofitas (difteroides), especies de acinetobacter y especies de propionibacterias (tabla 1). Una de las bacterias mejor estudiada es *Propionibacterium acnes*, debido a su asociación con el acné. Aunque este microorganismo puede verse de forma puntual en la piel de los neonatos, la auténtica colonización de la piel ocurre en la cara y en el tercio superior del tórax durante la pubertad. Otras bacterias pertenecientes a la flora cutánea habitual y que también han sido ampliamente estudiadas son los estafilococos coagulasa-negativos^{1,3,7-9}. Algunos de estos estafilococos muestran preferencia por ciertas regiones anatómicas. Así *S. capitis* y *S. auricularis* tienen una mayor predilección por la cabeza y el conducto auditivo externo, respectivamente, mientras que *S. hominis* y *S. hae-*

molyticus se encuentran sobre todo en áreas ricas en glándulas apocrinas, como las axilas o la región púbica. Otros estafilococos considerados de forma clásica como patógenos, como es el caso del *S. aureus*, pueden verse de forma transitoria en las fosas nasales de hasta un 30% de los individuos sanos, en un 15% principalmente en el periné, en las axilas y en los espacios interdigitales. Los micrococcos, en especial *Micrococcus luteus*, se encuentran sobre todo en la piel de las mujeres y de los niños, al igual que los estreptococos hemolíticos, que tienden a colonizar la piel de los niños, pero no la de los adultos. Diversas especies de *Acinetobacter* han sido aisladas de las axilas, espacios interdigitales, las ingles o las fosas antecubitales de hasta en 25% de la población. Bacilos gramnegativos como *Proteus*, *Pseudomonas*, *Enerobacter* o *Klebsiella* o micobacterias atípicas son menos frecuentes, y pueden encontrarse de forma ocasional en la piel del conducto auditivo externo o en las regiones axilares o genitales^{1,3,7}.

Además de las especies bacterianas ya descritas, en la flora cutánea también encontramos virus¹⁰⁻¹³, levaduras lipofílicas del género *Malassezia*¹⁴⁻¹⁸, levaduras no lipofílicas como las *Candidas*¹⁹ o ácaros como *Demodex folliculorum*²⁰⁻²³.

Flora cutánea. La era de la microbiología molecular

El desarrollo de la microbiología molecular en los últimos años ha permitido demostrar que el estudio mediante cultivos bacterianos de la flora de la piel y de las mucosas como la boca, el conducto auditivo externo, la vagina o el intestino, proporciona una visión incompleta de su diversidad microbiológica^{2,24-29}. A diferencia de los cultivos tradicionales, la microbiología molecular ha permitido identificar en la piel especies bacterianas cultivables conocidas y otras no cultivables, tanto identificables como totalmente nuevas. Uno de los genes más empleado en el reconocimiento de bacterias es el gen 16S ARNr (gen que pertenece a la subunidad pequeña del ARN ribosomal). Este gen se encuentra en todas las bacterias y está compuesto por regiones altamente conservadas desde un punto de vista evolutivo comunes a la mayoría de las bacterias y por regiones variables exclusivas de cada especie bacteriana. Las regiones comunes permiten el diseño de *primers* para la realización de reacciones en cadena de la polimerasa (PCR). La amplificación del gen 16S ARNr en una muestra mediante PCR permite identificar diferentes clonas, una por cada especie existente según su región variable. Una vez obtenidas estas clonas se comparan mediante programas informáticos con las clonas presentes en bases de datos existentes³⁰. Una homología elevada entre una clona problema amplificada, y otra presente en las bases de datos permite la identificación de la bacteria. Por el contrario, cuando no existe homología, o esta es baja, la probabilidad de que se trate de una bacteria no conocida es alta, y en-

Tabla 1. Flora cutánea habitual detectada mediante cultivos microbiológicos

Bacteria	Localización	Características distintivas	Patología producida
Grampositivas			
<i>Staphylococcus</i>			
<i>S. epidermidis</i>	Tronco superior	Productor biofilm	
<i>S. hominis</i>	Piel glabra		
<i>S. haemolyticus</i>		Productor biofilm	
<i>S. capitis</i>	Cabeza		
<i>S. midis</i>			
<i>S. warneri</i>			
<i>S. saprophyticus</i>	Periné		
<i>S. cohnii</i>			
<i>S. xylosus</i>			
<i>S. simulans</i>			
<i>S. saccharolyticus</i>	Frente/antecubital	Anaerobio	
<i>Micrococcus</i>			
<i>M. luteus</i>			
<i>M. varians</i>			
<i>M. lylae</i>	Niños/ temperaturas frías		
<i>M. kristianae</i>	Niños		
<i>M. nishinomyacnsis</i>			
<i>M. roseus</i>			
<i>M. sedentarius</i>			Queratólisis punteada
<i>M. agieis</i>			
<i>Corynebacterium</i>			
<i>C. minutissimum</i>	Pliegues	Lipofílico/productor de porfirinas	Eritrasma
<i>C. tenuis</i>	Pliegues	Lipofílico	Tricomosis
<i>C. xerosis</i>	Conjuntiva	Lipofílico	Conjuntivitis
<i>C. jeikeium</i>	Pliegues	Lipofílico	
<i>Rhodococcus</i>			Granulomas en VIH
<i>Propionibacterium</i>			
<i>P. acnes</i>	Glándula sebácea	Lipofílico/anaerobio	Acné
<i>P. granulosum</i>	Glándula sebácea	Lipofílico/anaerobio	Acné severo
<i>P. avidum</i>	Axilas	Lipofílico/anaerobio	
<i>Brevibacterium</i>	Pliegues interdigitales	No lipofílico/grandes colonias	Mal olor pies/piedra blanca
<i>Dermabacter</i>			Queratólisis punteada
Gramnegativas			
<i>Acinetobacter</i>	Zonas secas	Gramnegativo	Sobreinfección quemaduras

Extraída de Chiller K, et al⁹. VIH: virus de la inmunodeficiencia humana.

tonces se le infiere una relación filogenética con aquellas especies existentes con mayor parecido génico. De este modo, el conocimiento de las variaciones del gen 16S ARNr en una muestra permitirá realizar un censo microbiológico exhaustivo de aquella sin la necesidad de la práctica de cultivos^{7-9,31}.

Las diferencias entre los resultados procedentes de la determinación del 16S ARNr y de los cultivos microbiológicos habituales también han sido demostradas en medios como el agua de mar, el agua dulce o el suelo, donde sólo alrededor de un 1% de las especies identificadas por el estudio del 16S ARNr son cultivables^{7,32-34}.

La flora cutánea como agente preservador de la salud

La flora cutánea desempeña un papel importante tanto en la preservación de la salud como en el origen de enfermedades. Como ejemplo de lo primero cabe destacar su implicación en la estimulación antigénica del sistema inmune, a través de la síntesis en las mucosas de diferentes tipos de inmunoglobulina A^{1,2}. Aunque persisten algunos aspectos desconocidos, el papel de estas inmunoglobulinas parece importante en la defensa del huésped, interfiriendo en la colonización de tejidos profundos por la flora normal y, de paso, por otros elementos patógenos. Otra consecuencia favorable para el hospedador es la interacción de la flora con gérmenes patógenos, la competencia con estos por los nutrientes existentes en el medio y la síntesis de productos metabólicos que inhibirán su crecimiento. Por último la ocupación previa de la superficie cutánea por los microorganismos comensales se considera uno de los efectos beneficiosos más relevantes de la flora cutánea, al impedir la adhesión sobre la piel de los agentes patógenos^{1,3,7,9}.

Infecciones cutáneas bacterianas secundarias

Se entiende como infección cutánea secundaria aquella infección de la piel que aparece sobre una dermatosis, una infección cutánea no bacteriana, una parasitosis, una úlcera o una herida previas. En general, este tipo de infecciones está producido por microorganismos que forman parte de una flora transitoria, en especial cocos grampositivos aerobios como el *Staphylococcus aureus* o el *Streptococcus pyogenes*.

Es importante diferenciar entre colonización bacteriana e infección secundaria. En la colonización bacteriana es habitual hallar más de una especie en los cultivos, pero sin capacidad de invasión y de proliferación en el interior de los tejidos y, por lo tanto, no se producirán manifestaciones inflamatorias locales o sistémicas. En cambio se hablará de infección cuando exista invasión y multiplicación bacteriana en los tejidos con clínica local o sistémica. También es importante di-



Figura 1. Niña de 4 años de edad con dermatitis atópica que presenta impetiginización de blefaritis derecha con cultivos positivos para *S. aureus*.

ferenciar entre una infección cutánea primaria y una secundaria. La infección primaria suele estar producida por un único germen y aparece sobre piel que antes de la infección presentaba un aspecto sano. En cambio, las infecciones cutáneas secundarias van a estar producidas por más de un microorganismo y aparecerán sobre una piel previamente alterada que actuará como puerta de entrada de la infección^{35,36}.

Dermatosis primarias complicadas por infecciones bacterianas secundarias

Con frecuencia, algunas enfermedades cutáneas inflamatorias crónicas como la psoriasis³⁵⁻³⁷ o dermatosis tales como la dermatitis atópica^{35,36,38,39} (fig. 1), el eczema numular³⁷, la dishidrosis³⁷ (figs. 2 y 3) o las dermatitis alérgicas de contacto son colonizadas o infectadas de forma secundaria^{35,36,40}. El *S. aureus* es la bacteria aislada con mayor frecuencia en estos casos, aunque también pueden cultivarse de forma menos habitual bacterias gramnegativas, en particular enterobacterias y bacterias anaerobias en aquellas lesiones que se encuentran cerca de las mucosas.

Infecciones cutáneas no bacterianas complicadas por infecciones bacterianas secundarias

Tanto las infecciones virales como las dermatofitosis tienen un riesgo notable de sobreinfección bacteriana^{35,36}.

En el caso de las infecciones virales, son las producidas por los virus herpes simplex (VHS) y el virus varicella-zoster (VVZ) las complicadas con mayor frecuencia. La infección activa por estos virus promueve una destrucción tisular



Figura 2. Dishidrosis en un paciente de 25 años que presenta infección secundaria polimicrobiana constituida por enterobacterias.



Figura 3. Detalle de las lesiones donde predomina la maceración y la exudación.

y los detritus celulares generados favorecen el crecimiento bacteriano. Los gérmenes detectados habitualmente son los cocos grampositivos *S. aureus* y *S. pyogenes*, dando como resultado desde una impetiginización de fácil manejo hasta procesos graves como la fascitis necrotizante⁴¹⁻⁴⁴.

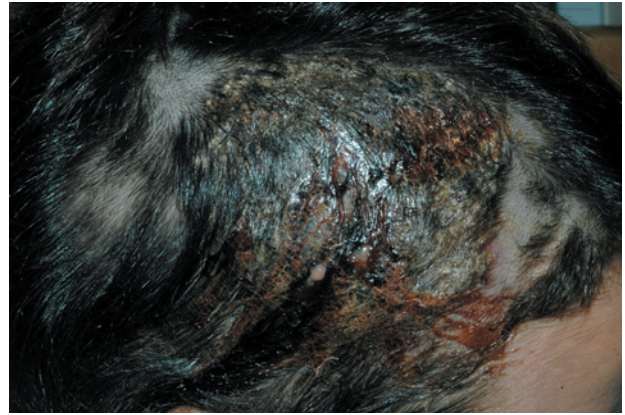


Figura 4. Querion de Celso con infección secundaria por *S. aureus*.

Las dermatofitosis son también susceptibles de sufrir una sobreinfección bacteriana, en particular las tiñas inflamatorias como el Querion de Celso (fig. 4) o formas en las que existe una maceración cutánea importante y un aumento de temperatura local como la *tinea pedis*. En el Querion el germen más frecuente es el *S. aureus*, mientras que en la infección secundaria del pie de atleta podemos observar además de este coco grampositivo, difteroides y gramnegativos como *Proteus* sp. o *Pseudomonas* sp.^{35,36,45}.

Infestaciones y picaduras complicadas por infecciones bacterianas secundarias

Las picaduras de insecto pueden ser el origen de una infección bacteriana secundaria, ya sea por la herida producida por la propia picadura (fig. 5) o a partir de las excoriaciones producidas por el rascado.

Las parasitosis como la pediculosis o la escabiosis pueden ser también fuente de infección. Al igual que en las picaduras, la disrupción de la barrera cutánea y el rascado serán los factores predisponentes. Diferentes estudios han demostrado que el *S. aureus* y el *S. pyogenes* son las bacterias implicadas de forma más frecuente, aunque en las lesiones de las piernas y tercio inferior del tronco también se pueden encontrar con frecuencia gramnegativos y anaerobios como *Bacteroides* sp., *Clostridium* sp., *Prevotella* sp., *Porphyromonas* sp. o *Fusobacterium* sp.^{35,36,46}.

Úlceras y traumatismos complicados por infecciones bacterianas secundarias

Las úlceras por estasis venosa son la causa más frecuente de úlcera en las piernas. La solución de continuidad producida por la úlcera, junto a la presencia de abundante material necrótico en el fondo de esta, hacen habituales su co-

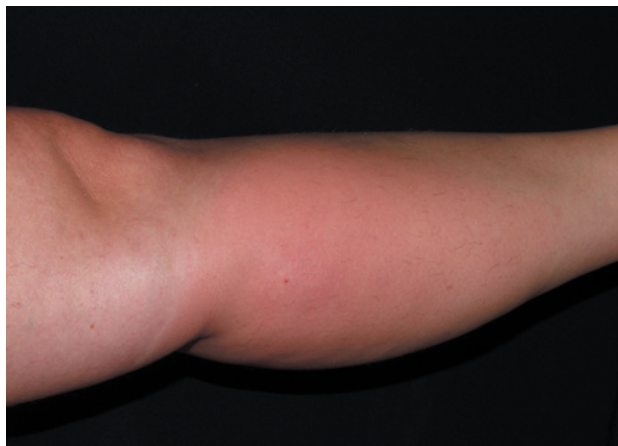


Figura 5. Celulitis secundaria a una picadura de insecto.

lonización e infección. Además de *S. aureus* y de *S. pyogenes* no es rara la infección de estas úlceras por gramnegativos. Otros tipos de úlceras sobreinfectadas a menudo son las úlceras por presión y las de origen facticio^{35,36,47}.

La infección secundaria de una herida quirúrgica es la primera causa de infección nosocomial. El riesgo de infección de una herida quirúrgica dependerá de la edad del paciente, de factores predisponentes, como la obesidad, de la existencia de una infección a distancia o del estado inmunitario, así como de factores locales como la contaminación bacteriana durante el acto quirúrgico, de la localización y vascularización de la herida y de la presencia de tejido desvitalizado o cuerpos extraños.

Dentro de los traumatismos no quirúrgicos que con más frecuencia se sobreinfectan se citan excoriaciones, las abrasiones, las laceraciones y las quemaduras^{36,48}.

Conflicto de intereses

Declaramos no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- Granato PA. Pathogenic and indigenous microorganisms in humans. En: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenoer FC, Tenover RH, editors. Manual of clinical microbiology. 6th ed. Washington: ASM Press; 1995. p. 44-54.
- Traskalova-Hogenova H, Stepankova R, Hudcovic T, Tuckova L, Cukrowska B, Lodinova-Zadnikova R, et al. Commensal bacteria (normal microflora), mucosal immunity and chronic inflammatory and autoimmune diseases. Immunol Lett. 2004;93:97-108.
- Chiller K, Selkin BA, Murakawa GJ. Skin microflora and bacterial infections of the skin. J Invest Dermatol Symp Proc. 2001;6:170-4.
- Bibel DJ, Miller SJ, Brown BE, Pandey BB, Elias PM, Shenefield HR, et al. Antimicrobial activity of stratum corneum lipids from normal and essential fatty acid-deficient mice. J Invest Dermatol. 1989;92:632-8.
- Hendley JO, Ashe KM. Eradication of resident bacteria of normal human skin by antimicrobial ointment. Antimicrob Agents Chemother. 2003;47:1988-90.
- Murakawa GJ. Common pathogens and differential diagnosis of skin and soft tissue infections. Cutis. 2004;73:7-10.
- Fredricks DN. Microbial ecology of human skin in health and disease. J Invest Dermatol Symp Proc. 2001;6:167-9.
- Gao Z, Tseng CH, Pei Z, Blaser MJ. Molecular analysis of human forearm superficial skin bacterial biota. Proc Natl Acad Sci USA. 2007;104:2927-32.
- Dekio I, Hayashi H, Sakamoto M, Kitahara M, Nishikawa T, Suematsu M, et al. Detection of potentially novel bacterial components of the human skin microbiota using culture-independent molecular profiling. J Med Microbiol. 2005;54:1231-8.
- Viviano E, Giovannelli L, Martorana E, Migliore MC, Caputo V, Romano N. Human papillomavirus is commonly present in psoriatic skin and normal skin samples from healthy subjects. J Dermatol Sci. 2007;45:141-3.
- Antonsson A, Erfurt C, Hazard K, Holmgren V, Simon M, Kataoka A, et al. Prevalence and type spectrum of human papillomaviruses in healthy skin samples collected in three continents. J Gen Virol. 2003;84:1881-6.
- Antonsson A, Forslund O, Ekberg H, Sterner G, Hansson BG. The ubiquity and impressive genomic diversity of human skin papillomaviruses suggest a commensal nature of these viruses. J Virol. 2000;74:11636-41.
- Boxman IL, Mulder LH, Russell A, Bouwes Bavinck JN, Green A, Ter Schegget J. Human papillomavirus type 5 is commonly present in immunosuppressed and immunocompetent individuals. Br J Dermatol. 1999;141:246-9.
- Juncosa Morros T, González-Cuevas A, Alayeto Ortega J, Muñoz Almagro C, Moreno Hernando J, Gene Giralta A, et al. Colonización cutánea neonatal por *Malassezia* sp. An Esp Pediatr. 2002;57:452-6.
- Ashbee HR, Leck AK, Puntis JW, Parsons WJ, Evans EG. Skin colonization by *Malassezia* in neonates and infants. Infect Control Hosp Epidemiol. 2002;23:212-6.
- Till AE, Goulden V, Cunliffe WJ, Holland KT. The cutaneous microflora of adolescent, persistent and late-onset acne patients does not differ. Br J Dermatol. 2000;142:885-92.
- Silva V, Di Tilia C, Fischman O. Skin colonization by *Malassezia furfur* in healthy children up to 15 years old. Mycopathologia. 1995-1996;132:143-5.
- Bell LM, Alpert G, Slight PH, Campos JM. *Malassezia furfur* skin colonization in infancy. Infect Control Hosp Epidemiol. 1988;9:151-3.
- Marks MI, Marks S, Brazeau M. Yeast colonization in hospitalized and nonhospitalized children. J Pediatr. 1975;87:524-7.
- Patrizi A, Neri I, Chiericato C, Misciali M. Demodicidosis in immunocompetent young children: report of eight cases. Dermatology. 1997;195:239-42.
- English FP, Zhang GW, McManus DP, Horne FA. The presence of the parasite *Demodex folliculorum* on the skin surface of the eyelid. Aust NZ J Ophthalmol. 1991;19:229-34.
- Kairinen EO, Kaszynski E. Scanning electron microscopy of skin replicas showing demodectic infestation of the pilosebaceous follicle. J Cutan Pathol. 1984;11:103-6.
- Crosti C, Menni S, Sala F, Piccinno R. Demodectic infestation of the pilosebaceous follicle. J Cutan Pathol. 1983;10: 257-61.

24. Frank DN, Spiegelman GB, Davis W, Wagner E, Lyons E, Pace NR. Culture-independent molecular analysis of microbial constituents of the healthy human outer ear. *J Clin Microbiol.* 2003;41:295-303.
25. Paster BJ, Boches SK, Galvin JL, Ericson RE, Lau CN, Levanos VA, et al. Bacterial diversity in human subgingival plaque. *J Bacteriol.* 2001;183:3770-83.
26. Suau A, Bonnet R, Sutren M, Godon JJ, Gibson GR, Collins MD, et al. Direct analysis of genes encoding 16S rRNA from complex communities reveals many novel molecular species within the human gut. *Appl Environ Microbiol.* 1999;65: 4799-807.
27. Wilson KH, Blitchington RB. Human colonic biota studied by ribosomal DNA sequence analysis. *Appl Environ Microbiol.* 1996;62:2273-8.
28. Zhou X, Bent SJ, Schneider MG, Davis CC, Islam MR, Forney LJ. Characterization of vaginal microbial communities in adult healthy women using cultivation-independent methods. *Microbiology.* 2004;150:2565-73.
29. Brown CJ, Wong M, Davis CC, Kanti A, Zhou X, Forney LJ. Preliminary characterization of the normal microbiota of the human vulva using cultivation-independent methods. *J Med Microbiol.* 2007;56:271-6.
30. Cole JR, Chai B, Farris RJ, Wang Q, Kulam-Syed-Mohideen AS, McGarrell DM, et al. The ribosomal database project (RDP-II): introducing myRDP space and quality controlled public data. *Nucleic Acids Res.* 2007;35(Database issue):D169-72.
31. Nolte FS, Caliendo AM. Molecular detection and identification of microorganisms. En: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH, editors. *Manual of clinical microbiology.* 6th ed. Washington: ASM Press; 1995. p. 234-56.
32. Walker JJ, Pace NR. Phylogenetic composition of rocky mountain endolithic microbial ecosystems. *Appl Environ Microbiol.* 2007;73:3497-504.
33. Pace NR. A molecular view of microbial diversity and the biosphere. *Science.* 1997;276:734-40.
34. Suzuki MT, Rappe MS, Haimberger ZW, Winfield H, Adair N, Strobel J, et al. Bacterial diversity among small-subunit rRNA gene clones and cellular isolates from the same seawater sample. *Appl Environ Microbiol.* 1997;63:983-9.
35. Brook I. Secondary bacterial infections complicating skin lesions. *J Med Microbiol.* 2002;51:808-12.
36. Bikowski J. Secondarily infected wounds and dermatoses: a diagnosis and treatment guide. *J Emerg Med.* 1999;17:197-206.
37. Brook I, Frazier EH, Yeager JK. Microbiology of infected pustular psoriasis lesions. *Int J Dermatol.* 1999;38:579-81.
38. Brook I, Frazier EH, Yeager JK. Microbiology of infected atopic dermatitis. *Int J Dermatol.* 1996;35:791-3.
39. Lubbe J. Secondary infections in patients with atopic dermatitis. *Am J Clin Dermatol.* 2003;4:641-54.
40. Brook I, Frazier EH, Yeager JK. Microbiology of infected poison ivy dermatitis. *Br J Dermatol.* 2000;142:943-6.
41. Brook I, Frazier EH, Yeager JK. Microbiology of infected eczema herpeticum. *J Am Acad Dermatol.* 1998;38:627-9.
42. Fustes-Morales A, Gutiérrez-Castrellón P, Duran-Mckinster C, Orozco-Covarrubias L, Tamayo-Sánchez L, Ruiz-Maldonado R. Necrotizing fasciitis: report of 39 pediatric cases. *Arch Dermatol.* 2002;138:893-9.
43. Martínez Roda MJ, Cintado Bueno C, Loscertales Abril M, Gómez de Terreros I. Necrotizing fasciitis and varicella: an association increased by ibuprofen? *An Pediatr (Barc).* 2004;60:594-5.
44. Clark P, Davidson D, Letts M, Lawton L, Jawadi A. Necrotizing fasciitis secondary to chickenpox infection in children. *Can J Surg.* 2003;46:9-14.
45. Brook I, Frazier EH, Yeager JK. Aerobic and anaerobic microbiology of kerions. *Pediatr Infect Dis J.* 1995;14:326-7.
46. Brook I. Microbiology of secondary bacterial infection in scabies lesions. *J Clin Microbiol.* 1995;33:2139-40.
47. Brook I, Frazier EH. Aerobic and anaerobic microbiology of chronic venous ulcers. *Int J Dermatol.* 1998;37:426-8.
48. Dissemmond J, Schmid EN, Esser S, Witthoff M, Goos M. Bacterial colonization of chronic wounds. Studies on outpatients in a university dermatology clinic with special consideration of ORSA. *Hautarzt.* 2004;55:280-8.