

<https://doi.org/10.24245/dermatolrevmex.v65i6.7149>

Comparación del efecto de isotretinoína y doxiciclina en el microbioma oral por *Candida* spp en pacientes mexicanos con acné inflamatorio

Comparison of the effect of isotretinoin and doxycyclin on the oral microbioma due to Candida spp in Mexican patients with inflammatory acne.

Adameck Abraham Hernández-Collazo,¹ Osvaldo Gabriel Saavedra-Casas,² Moisés Humberto Capilla-García,³ Itzel Alejandra Jiménez-Hernández,³ Ramón Felipe Fernández-Martínez,⁴ Roberto Arenas-Guzmán,⁴ Jorge Mayorga-Rodríguez⁵

Resumen

ANTECEDENTES: Durante el tratamiento sistémico contra el acné inflamatorio se han reportado efectos adversos secundarios a disbiosis gastrointestinal; sin embargo, no se han estudiado los efectos en la colonización oral por *Candida*.

OBJETIVO: Comparar el efecto de isotretinoína y doxiciclina en *Candida* spp encontrada en el microbioma oral de pacientes mexicanos con acné inflamatorio.

MATERIALES Y MÉTODOS: Estudio analítico, observacional, efectuado en una muestra de pacientes con acné inflamatorio clasificados en dos grupos terapéuticos de acuerdo con la gravedad clínica: isotretinoína o doxiciclina. En los días 0 y 45 del tratamiento se realizó examen directo con tinción de Gram, cultivo micológico con conteo manual de colonias y determinación de especie en CHROMagar.

RESULTADOS: Se incluyeron 80 pacientes: 40 en el grupo de doxiciclina y 40 en el de isotretinoína. Las diferencias en media de unidades formadoras de colonias al día 45 y la media comparativa entre los días 0 y 45 fueron significativas entre ambos grupos, siendo mayor en el grupo de isotretinoína. No hubo diferencias en las especies de colonias después del tratamiento.

CONCLUSIONES: La doxiciclina y la isotretinoína pueden conducir a proliferación de *Candida* spp en pacientes con acné; sin embargo, esta proliferación es mayor en los que reciben isotretinoína.

PALABRAS CLAVE: Acné; doxiciclina; isotretinoína; *Candida*.

Abstract

BACKGROUND: During systemic treatment for inflammatory acne adverse effects secondary to gastrointestinal dysbiosis have been reported. However, the effects on oral *Candida* colonization have not been studied.

OBJECTIVE: To compare the effect of isotretinoin and doxycycline on *Candida* spp found in oral microbiome during inflammatory acne treatment.

¹ Dermatólogo. Nuevo Hospital Miguel Hidalgo, Aguascalientes, Aguascalientes, México.

² Residente de Medicina Interna, Hospital General de Zona núm. 11, IMSS, Nuevo Laredo, Tamaulipas, México.

³ Estudiante de Medicina. Universidad Autónoma de Aguascalientes, Aguascalientes, México.

⁴ Hospital General Dr. Manuel Gea González, Ciudad de México, México.

⁵ Centro de Referencia en Micología del Estado de Jalisco, Jalisco, México.

Recibido: mayo 2021

Aceptado: mayo 2021

Correspondencia

Adameck Abraham Hernández Collazo
adameckderma@gmail.com

Este artículo debe citarse como:

Hernández-Collazo AA, Saavedra-Casas OG, Capilla-García MH, Jiménez-Hernández IA, Fernández-Martínez RF, Arenas-Guzmán R, Mayorga-Rodríguez J. Comparación del efecto de isotretinoína y doxiciclina en el microbioma oral por *Candida* spp en pacientes mexicanos con acné inflamatorio. Dermatol Rev Mex 2021; 65 (6): 871-878.

MATERIALS AND METHODS: Observational analytical study of a sample of patients with inflammatory acne classified into two therapeutic groups according to clinical severity: isotretinoin or doxycycline. On day 0 and day 45 of treatment direct examination with Gram stain, mycological culture with manual colony counting and species determination in CHROMagar was performed.

RESULTS: Eighty patients were included: 40 for isotretinoin and 40 for doxycycline. There were significant differences in colony forming units at day 45 and comparative between day 0 and 45 between both groups, major in the isotretinoin. There were no differences in colony species after treatment.

CONCLUSIONS: Both doxycycline and isotretinoin can lead to proliferation of *Candida* species in patients with acne; nevertheless, this proliferation is major in those who take isotretinoin.

KEYWORDS: Acne; Doxycycline; Isotretinoin; *Candida*.

ANTECEDENTES

El acné es una enfermedad inflamatoria de la unidad pilosebácea de origen multifactorial y morfología variable con gran efecto en la calidad de vida.¹ Su fisiopatología implica factores como alteraciones en queratinización epidérmica, en la secreción, excreción y composición de sebo, colonización de la luz folicular por microflora y aparición de fenómenos inflamatorios.²

La isotretinoína oral y los antibióticos sistémicos (tetraciclinas y macrólidos) son una opción terapéutica exitosa contra el acné inflamatorio (pápulo-pustuloso y nódulo-quístico).^{3,4} Sin embargo, son remarcables los reportes de efectos adversos secundarios a la alteración de la flora microbiana durante el tratamiento con estos agentes.^{5,6} La administración prolongada de antibióticos orales en acné (más de tres meses) incrementa la resistencia bacteriana a eritromicina, roxitromicina y clindamicina transmitida vía plásmidos de *Staphylococcus epidermidis*;⁷ la folliculitis asociada con bacterias entéricas gramnegativas⁸ y la proliferación de especies de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina.⁹

Ambos grupos de fármacos pueden alterar la microbiota gastrointestinal y reducir la resistencia del tubo digestivo a la colonización por patógenos, incluyendo la boca.¹⁰ Los antibióticos reducen la población de *Lactobacillus* y permiten el florecimiento de organismos candidiásicos residentes de la boca y provocan cuadros como candidiasis aguda atrófica resistente a fluconazol.^{11,12} En pacientes con isotretinoína, las lesiones orales, particularmente la queilitis, ocurren en el 90% de los pacientes, específicamente el 44.6% muestran la forma angular (**Figura 1**).¹³ La queilitis angular por sí sola (fuera de la administración de retinoides) se ha asociado con proliferación de *Candida* intraoral (forma eritematosa y pseudomembranosa), infecciones por bacterias grampositivas y deficiencias nutricionales;¹⁴ sin embargo, no se ha investigado si la queilitis y sobre todo la queilitis angular se asocian con proliferación de especies de *Candida* oral.

El objetivo de este artículo es describir el efecto de isotretinoína y doxiciclina sistémicas para tratar el acné inflamatorio sobre las especies de *Candida* encontradas en el microbioma oral de pacientes mexicanos



Figura 1. Queilitis angular severa en un paciente en tratamiento con isotretinoína contra acné conglobata.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio observacional, prospectivo y descriptivo en el que se reclutaron todos los pacientes consecutivos que acudieran por primera vez a la consulta de dermatología del Centenario Hospital Miguel Hidalgo en Aguascalientes, México, en el periodo de septiembre de 2017 a enero de 2018. Se incluyeron todos los pacientes con diagnóstico de acné inflamatorio que, de acuerdo con la Guía terapéutica de la Alianza Global 2016, requiriera tratamiento sistémico y que aceptara su ingreso al protocolo de estudio. Se excluyeron los pacientes con antecedente personal de diabetes mellitus o cualquier tipo de inmunodeficiencia celular o factores de complemento, además de aquéllos que en las últimas cuatro semanas recibieran fórmulas de aseo oral, como enjuagues bucales con clorhexidina o la administración de esteroides, antibióticos o antimicóticos sistémicos o tópicos en el área bucal.

Los pacientes se clasificaron en cada grupo de acuerdo con la necesidad de terapia sistémica por su gravedad clínica según la escala de la

Alianza Global en dos grupos: el grupo que recibió isotretinoína a dosis de 20 mg al día (como dosis inicial, independientemente del peso) y el grupo que recibió doxiciclina a dosis habituales subinhibitorias de 100 mg al día. Se excluyeron los pacientes en quienes se consideró contaminación de la muestra, interrumpieran tratamiento o que cuatro semanas previas a la segunda toma de muestra recibieran tratamientos que modificaran la flora oral. Los pacientes se agendaron a dos visitas médicas, la primera en el día 0 de tratamiento y la segunda a 45 días de haber iniciado el tratamiento. En la visita médica se evaluaron las variables estudiadas a través de un examen clínico oral y se tomaron dos muestras para realizar estudio micológico: una para el examen directo y otra para cultivo y determinación morfológica de especie.

Examen directo con tinción de Gram

La muestra se obtuvo a través de técnica de hisopado previa higiene bucal con un hisopo humedecido en solución fisiológica estéril, raspando la mucosa oral de los carrillos, la lengua y las comisuras labiales. Se realizó un frotis con el hisopo, fijando la laminilla al calor y tiñiendo con estuche comercial Gram. El frotis se consideró como forma comensal de *Candida* si se observaron sólo levaduras aisladas y escasas; o forma patógena cuando se observaron más de cuatro levaduras por campo con o sin pseudo-hifas o hifas.

Cultivo micológico

La muestra se obtuvo a través de técnica de centrifugado de enjuague oral usando 5 mL de solución salina estéril, se realizó un enjuague en la boca durante un minuto. La solución se concentró por centrifugación (2000 x g; 20 minutos), de los que se inocularon 100 mL del sedimento en un medio de agar dextrosa Sabouraud utilizando un sistema de siembra en espiral.

Después de 48 horas de incubación a 37°C con técnica aeróbica, el crecimiento se evaluó por enumeración de las colonias de forma manual, expresado como unidades formadoras de colonias candidiásicas por 100 mL de enjuague (UFC/100 mL).

Subcultivo e identificación fenotípica

En los cultivos positivos, se obtuvo mediante una asa bacteriológica o micológica una porción de las colonias y se cultivó en medio CHROMagar®. El desarrollo de colonias verde claro fue indicativo de *C. albicans*, colonias rosa claro con halo blanco de *C. krusei* y azul verdoso metálico de *C. tropicalis*, a incubación en la placa en atmósfera aerobia a 35 ± 2°C durante 20 a 48 horas en posición invertida.

RESULTADOS

Se incluyeron 110 pacientes, de los que sólo 80 continuaron el estudio hasta la segunda toma: 40 en el grupo de isotretinoína y 40 en el grupo de doxiciclina; 57/80 eran del sexo femenino; la edad promedio fue de 22.65 años. Hubo mayor frecuencia de hombres en el grupo de isotretinoína, esta diferencia fue significativa ($p = 0.01$). Esta diferencia en el sexo de ambos grupos responde al hecho que los hombres tienen mayor riesgo de padecer formas más severas de acné, comparados con mujeres, requiriendo más frecuentemente la administración de isotretinoína como tratamiento de primera línea.² El resto de las características demográficas y variables estudiadas en forma basal (examen directo, el número de cultivos positivos, el crecimiento de colonias y las especies de *Candida*) fueron similares en ambos grupos y se describen en el **Cuadro 1**. A través del centrifugado oral se aisló *Candida* en 48 cultivos; la especie predominantemente aislada en ambos grupos fue *Candida krusei* en 31/48 cultivos, seguida por *Candida albicans* en 13/48 y finalmente *Candida glabrata* en 4/48.

En la segunda muestra, el examen directo fue similar en ambos grupos. De los 40 pacientes que recibieron doxiciclina 23 mostraron crecimiento de colonias, así como 26 de 40 en el grupo que tomó isotretinoína, sin diferencia estadística. La media de unidades formadoras de colonia por centrifugado oral fue de 23.8 y 131.4 UFC/100 mL en el grupo de doxiciclina e isotretinoína, respectivamente (**Figura 2**); esta diferencia fue significativa ($p < 0.001$). No hubo diferencia en las especies de colonias desarrolladas después del tratamiento. Los pacientes con doxiciclina desarrollaron una media de diferencia entre los cultivos del día 0 y día 45 de 14.08 ± 31.02 UFC/100 mL, mientras que en el grupo de isotretinoína fue de 115.83 ± 147.74 UFC/100 mL, diferencia que fue significativa ($p < 0.0001$). El crecimiento en medio CHROMagar *Candida* no tuvo cambios en especies desarrolladas durante el tratamiento. Las características de los cultivos se describen en el **Cuadro 2**.

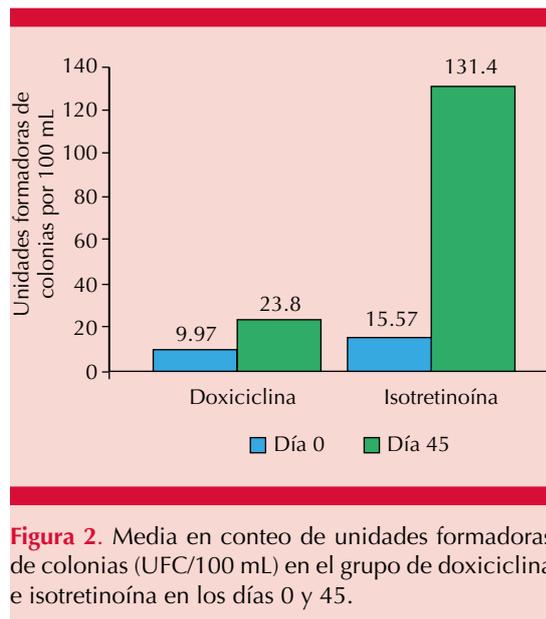
Después de iniciar el tratamiento 27 de 80 pacientes manifestaron lesiones orales, predominando la queilitis (22/27), seguida de queilitis angular (5/27). Todos los pacientes con lesiones orales pertenecían al grupo en tratamiento con isotretinoína, mientras que ningún paciente con doxiciclina desarrolló manifestaciones, diferencia que fue significativa ($p < 0.0001$). En pacientes con lesiones orales la media de UFC/100 mL de los cultivos fue más alta, comparada con cultivos de pacientes sin lesiones orales ($p < 0.0001$). Las características de los cultivos en el día 45 se describen en el **Cuadro 3**.

DISCUSIÓN

La flora orofaríngea está compuesta por flora residente de especies anaerobias y aerobias, como *Peptostreptococcus* spp y *Streptococcus viridans*, y transitoria (*Staphylococcus aureus*, *Candida* spp). En casos especiales, como la administración de fármacos, los microorga-

Cuadro 1. Características demográficas, examen directo teñido con Gram, cultivo Sabouraud y subcultivo en medio CHROMagar en ambos grupos previo al inicio del tratamiento

Parámetros	Doxiciclina (n = 40)	Isotretinoína (n = 40)	Valor de p
Edad (años)	22.96 ± 7.89	22.28 ± 6.81	0.36
Sexo (masculino/femenino)	7/33	16/24	0.02
Lesiones orales (%)	0	0	-
Examen directo teñido con Gram (formas patógenas/comensal)	5/35	6/34	0.42
Conteo de colonias (UFC/100 mL)	9.97 ± 28.42	15.57 ± 28.31	0.98
Crecimiento en medio Sabouraud (%)	57.5 (23/40)	57.5 (23/40)	> 0.99
<i>Candida albicans</i>	17.39 (4/23)	21.74 (5/23)	0.72
<i>Candida krusei</i>	69.56 (16/23)	73.91 (17/23)	0.37
Otras especies	13.04 (3/23)	4.35 (1/23)	0.15

**Figura 2.** Media en conteo de unidades formadoras de colonias (UFC/100 mL) en el grupo de doxiciclina e isotretinoína en los días 0 y 45.

nismos transitorios pueden volverse residentes y ocasionar signos clínicos.¹⁵ Por ejemplo, el tratamiento con tetraciclinas en dosis subinhibitoria se acompaña de proliferación asintomática de *Candida* spp en la vía alimentaria.^{12,16} Esto ocurre debido a la supresión del microbiota bacteriano que controla el sobrecrecimiento

fúngico.^{12,16} Asimismo, el mayor riesgo del abuso en la prescripción de antibióticos orales radica en la posibilidad de causar fenotipos microbianos resistentes como un efecto indeseable en una afección de evolución benigna.¹²

En nuestra muestra, los pacientes en tratamiento con doxiciclina no padecieron manifestaciones orales de candidiasis oral; pero la proliferación fue 238 veces mayor en cantidad de colonias que en los cultivos previos a iniciar el tratamiento. Por otro lado, en los pacientes del grupo de isotretinoína, el crecimiento fue 4228 veces mayor que antes de iniciar el tratamiento; además, el desarrollo de colonias se manifestó con lesiones orales, como queilitis y queilitis angular. Los pacientes que manifestaron queilitis tuvieron mayor proliferación de unidades formadoras de colonias de *Candida* spp en comparación con los pacientes sin lesiones orales. Esto tiene importantes implicaciones terapéuticas, ya que el efecto adverso asociado con más frecuencia con la administración de isotretinoína es la queilitis¹³ y, de acuerdo con los resultados de este estudio, existe una relación con la proliferación oral de *Candida* spp.

Cuadro 2. Examen directo teñido con Gram, cultivo Sabouraud y subcultivo en medio CHROMagar en ambos grupos, 45 días después del inicio de tratamiento

Parámetros	Doxiciclina (n = 40)	Isotretinoína (n = 40)	Valor de p
Examen directo teñido con Gram (formas patógenas/comensal)	4/36	8/32	0.10
Conteo de colonias (UFC/100 mL)	23.8 ± 38.82	131.4 ± 153.24	< 0.001
Diferencia entre cultivo día 0 y día 45	14.08 ± 31.02	115.83 ± 147.74	< 0.001
Crecimiento en medio Sabouraud (%)	57.5 (23/40)	65 (26/40)	0.24
<i>Candida albicans</i>	30.44 (7/23)	26.92 (7/26)	0.39
<i>Candida krusei</i>	56.52 (13/23)	69.23 (18/26)	0.17
Otras especies	13.04 (3/23)	3.85 (1/26)	0.15

Cuadro 3. Hallazgos clínicos orales de ambos grupos 45 días después del inicio del tratamiento

Parámetros	Lesiones orales (n = 27)	Sin lesiones orales (n = 53)	Valor de p
Hallazgos clínicos			
Queilitis	81.48 (22/27)	-	-
Queilitis angular	18.52 (5/27)	-	
Isotretinoína	33 (27/40)	67 (13/40)	< 0.001
Doxiciclina	0 (0/40)	100 (40/40)	
Examen directo teñido con Gram			0.03 (IC 95%, OR 1.08-3.62)
Patógeno	25.92 (7/27)	10 (5/53)	
Comensal	74.08 (20/27)	90 (48/53)	
Crecimiento en medio Sabouraud (%)	85.18 (23/27)	49.05 (26/53)	0.001 (IC 95%, OR 1.39- 9.52)
Conteo de colonias (UFC/100 mL)	185.33 ± 155.82	44.25 ± 22.72	< 0.001

El sobrecrecimiento de *Candida* en la cavidad oral es inhibido por constituyentes de la saliva como polipéptidos ricos en histidina, lactoferrina, lisozima y sialopeptidasa.¹⁷ Asimismo, las condiciones que afecten la calidad y la cantidad de secreción salival pueden llevar al aumento en la proliferación de *Candida* spp.¹⁷ La xerostomía es uno de los signos más asociados con la proliferación de *Candida* en cultivos orales.¹⁸ Alrededor del 30% de los pacientes que reciben isotretinoína tienen xerostomía, un síntoma que frecuentemente se describe como saliva espesa

y viscosa.¹⁹ Martins-Gomes encontró que la sensación de xerostomía es significativa entre pacientes que reciben isotretinoína; mientras que el flujo y el pH salival permanecen sin cambios.²⁰ Existen otros factores que ocasionan alteraciones salivales que favorecen el sobrecrecimiento fúngico oral, como la disminución de glucopolipéptidos y carbohidratos,¹⁹ el aumento en la actividad de metaloproteína de matriz 9 (gelatinasa B)²¹ y la disminución en las concentraciones de orosomucoide, una enzima secretada en el hígado que funciona como reac-

tante de fase aguda en la boca y que disminuye su secreción durante la administración de isotretinoína por inducción enzimática microsomal hepática por efecto metabólico de lípidos.²²

A pesar que hubo mayor proliferación de *Candida spp* oral en los pacientes que recibieron isotretinoína, la doxiciclina en estudios *in vitro* se ha relacionado con el desarrollo de especies de *Candida* con resistencia extrínseca a antimicóticos.¹² Se requieren otros estudios que investiguen la relación entre *Candida spp* y la queilitis exclusivamente durante el tratamiento con isotretinoína, así como el desarrollo de resistencia a antimicóticos durante el tratamiento con antibióticos en acné.

CONCLUSIONES

La doxiciclina y la isotretinoína, fármacos prescritos de forma frecuente para tratar formas severas y muy severas de acné, pueden conducir a cambios en la microbiota oral por proliferación de *Candida spp*; sin embargo, esta proliferación es mayor en los pacientes en tratamiento con isotretinoína en comparación con doxiciclina, proceso dependiente de la existencia de manifestaciones orales, como queilitis y queilitis angular.

REFERENCIAS

- Rathi, SK. Acne vulgaris treatment: the current scenario. *Indian J Dermatol* 2011; 56: 7- 13.
- Fiedlander SF, Eichenfield LF, Fowler JF, Fried RC, Levy ML, Webster GF. Acne epidemiology and pathophysiology. *Semin Cutan Med Surg* 2010; 29: 2-4. doi: 10.1016/j.sder.2010.04.002.
- Farrar G, Tan E. The use of oral antibiotics in treating acne vulgaris: a new approach. *Dermatol Ther* 2016; 29: 377-384. doi: 10.1111/dth.12370.
- Tan J, Boyal S, Desai K, Knezevic S. Oral isotretinoin: new developments relevant to clinical practice. *Dermatol Clin* 2016; 34: 175-184. doi: 10.1016/j.det.2015.11.002.
- Adams S, Cunliffe WJ, Cooke EM. Long term antibiotic therapy for acne vulgaris: effects on the bowel flora of patients and their relatives. *J Invest Dermatol* 1985; 85: 35-37. doi: 10.1111/1523-1747.ep12275004.
- Valtonen MJ, Valtonen VV, Salo DP, Makela PH. The effect of long term tetracycline treatment for acne vulgaris on the occurrence of factors in the intestinal flora of man. *Br J Dermatol* 1976; 95: 311-316. doi: 10.1111/j.1365-2133.1976.tb07019.x.
- Patel M, Bowe WP, Heughebaert C, Shalita AR. The development of antibiotic resistance due to the antibiotic treatment of acne vulgaris: a review. *J Drugs Dermatol* 2010; 9: 655-664.
- Oudenhoven MD, Kinney MA, McShane DB, Burkhart CD, Morrel DS. Adverse effects of acne medications: recognition and management. *Am J Clin Dermatol* 2015; 16: 231-242. doi: 10.1007/s40257-015-0127-7.
- Nishijima S, Kurokawa I, Katoh N, Watanabe K. The bacteriology of acne vulgaris and antimicrobial susceptibility of *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus epidermidis* isolated from acne lesions. *J Dermatol* 2000; 27: 318-323. doi: 10.1111/j.1346-8138.2000.tb02174.x.
- Becker E, Schmidt TSB, Bengs S, Poveda L, Opitz L, Atrott K, et al. Effects of oral antibiotics and isotretinoin on the murine gut microbiota. *Int J Antimicrob Agents* 2017; 50: 342-351. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2017.03.017.
- Ben-Ami R, Olshtain-Pops K, Krieger M, Oren I, Bishara J, Dan M. Antibiotic exposure as a risk factor for fluconazole-resistant *Candida* bloodstream infection. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56: 2518- 2523. doi: 10.1128/AAC.05947-11.
- Payne S, Gibson G, Wynne A, Hudspeth B, Brostoff J, Tuohy K. In vitro studies on colonization resistance of the human gut microbiota to *Candida albicans* and the effects of tetracycline and *Lactobacillus plantarum* LPK. *Curr Issues Intest Microbiol* 2003; 4: 1-8.
- Hull PR, Demkiw-Bartel C. Isotretinoin use in acne: prospective evaluation of adverse events. *J Cutan Med Surg* 2000; 4: 66-70. doi: 10.1177/120347540000400205.
- Sharon V, Fazel N. Oral candidiasis and angular cheilitis. *Dermatol Ther* 2010; 23: 230-242. doi: 10.1111/j.1529-8019.2010.01320.x.
- Wade WG. The oral microbiome in health and disease. *Pharmacol Res* 2013; 69: 137-143. doi: 10.1016/j.phrs.2012.11.006.
- MacNeill S, Rindler E, Walker A, Brown AR, Cobb CM. Effects of tetracycline hydrochloride and chlorhexidine gluconate on *Candida albicans*. *J Clin Periodont* 1997; 24: 753-760. doi: 10.1111/j.1600-051x.1997.tb00193.x.
- Patil S, Rao RS, Majumdar B, Anil S. Clinical appearance of oral candida infection and therapeutic strategies. *Front Microbiol* 2015; 6: 1391. doi: 10.3389/fmicb.2015.01391.
- Tooyama H, Matsumoto T, Hayashi K, Kurashina K, Kurita H, Uchida M, et al. Candida concentrations determined following concentrated oral rinse culture reflect clinical oral signs. *BMC Oral Health* 2015; 15: 150. doi: 10.1186/s12903-015-0138-z.

19. Reynolds NJ, Gough M, Clamp JR, Burton JL. Effect of oral isotretinoin therapy on saliva volume and composition. *Brit J Dermatol* 1991; 125: 189-195. doi: 10.1111/j.1365-2133.1991.tb06071.x.
20. Martins-Gomes AP, Vasconcellos-Caspar Nobre C, Drummond-Bento GC, Gomes AA, Martins-Gomes AM, Oliveira-Guaré R. Efeito da isotretinoína na xerostomia, pH e fluxo salivar. *J Health Sci* 2016; 18: 13-17.
21. Oikarinen K, Salo T, Kylmäniemi M, Palatsi R, Karhunen T, Oikarinen A. Systemic oral isotretinoin therapy and flow rate, pH, matrix metalloproteinase-9 activity of stimulated saliva. *Acta Odontol Scand* 1995; 53: 369-371. doi: 10.3109/00016359509006003.
22. Marsden JR, Shuster S, Dennis JD. Atipyrine clearance and a1-acid glycoprotein levels after isotretinoin. *Human Toxicol* 1985; 4: 335-338. doi: 10.1177/096032718500400317.

