

EFFICACIA DI UN PRODOTTO PER USO OTOLOGICO CONTENENTE GENTAMICINA, CLOTRIMAZOLO E BETAMETASONE NELLA TERAPIA DELLE OTITI ESTERNE DEL CANE

CHIARA NOLI¹, ALBERTO E. CEVIDALLI²

¹ Studio Dermatologico Veterinario, Milano

² Schering-Plough Animal Health, Segrate

Riassunto

Centoquarantadue cani con otite mono- o bilaterale, di prima insorgenza o ricorrente, sono stati trattati con un preparato otologico contenente gentamicina, clotrimazolo e betametasona valerato (Otomax[®], Schering-Plough) per 7 giorni e valutati clinicamente, citologicamente e con esami batteriologici e antibiogrammi prima e dopo il trattamento. I parametri clinici esaminati, quali fastidio, eritema, edema, quantità, odore e colore dell'essudato, sono tutti migliorati significativamente negli animali trattati. La valutazione soggettiva dell'efficacia del trattamento da parte degli sperimentatori ha riportato risultati eccellenti o buoni nell'88% dei casi, discreti nell'11% e insufficienti nell'1% dei casi. Citologicamente si è osservata una diminuzione della presenza di lieviti e batteri. Il miglioramento clinico e citologico non sembra essere influenzato dal tipo di germe coinvolto o dalla cronicità o ricorrenza dell'otite. In conclusione questo studio ha mostrato come il prodotto utilizzato rappresenti una efficace terapia in corso di otite esterna del cane, in presenza di *Malassezia* spp. e/o batteri.

Summary

One-hundred and forty-two dogs affected by mono- or bilateral, first occurrence or recurrent otitis, have been treated with an otic preparation containing gentamicin, clotrimazole and betamethasone valerate (Otomax[®], Schering-Plough) for 7 days. The animals were evaluated clinically, cytologically and by means of bacterial cultures and antibiotic sensitivity tests before and after the treatment. The clinical parameters assessed, i.e. discomfort, erythema, oedema, amount, odour and colour of the exudate, were all significantly reduced after the treatment. The subjective evaluation of treatment efficacy by the investigators gave good or excellent results in 88% of the animals, moderate results in 11% and insufficient in 1%. Cytologically a decreased bacteria and yeasts number was observed. Clinical and cytological improvements were neither dependent on the species of microorganism involved, nor on the chronicity or recurrency of the otitis. This study proves that the product used is an effective treatment of canine otitis externa with bacteria and/or Malassezia spp. yeasts involvement.

INTRODUZIONE

L'eziologia dell'otite esterna del cane è multifattoriale. Vi sono: 1. fattori primari, quali i corpi estranei, l'acaro auricolare *Otodectes cynotis*, i difetti della cheratinizzazione, le malattie allergiche (atopia, allergia alimentare, dermatite da contatto) e le malattie autoimmuni; 2. fattori predisponenti, tra cui la conformazione anatomica dell'orecchio, le patologie auricolari ostruttive e le condizioni ambientali; 3. fattori perpetuanti, tra i quali sono frequenti le infezioni batteriche e/o da

lieviti¹. I microrganismi coinvolti più frequentemente sono i lieviti del genere *Malassezia* e/o i batteri *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus aureus*, streptococchi, *Pseudomonas* spp., *Proteus* spp., *E. coli* e altri^{2,3,4,5,6,7}.

La terapia dell'otite esterna si basa sull'identificazione e correzione, ove possibile, delle cause primarie e predisponenti, e sull'uso di preparazioni topiche antibatteriche e/o antifungine, a cui spesso è associato un cortisone al fine di disinfiammare la cute del condotto e alleviare la sintomatologia dolorosa o pruriginosa⁸.

Recentemente è stato immesso sul mercato italiano un nuovo prodotto otologico veterinario a base di gentamicina, clotrimazolo e betametassone valerato (Otomax[®], Schering-Plough) che ha il vantaggio di agire sia su *Malassezia* spp., sia sui batteri, siano essi Gram positivi o Gram negativi. La gentamicina infatti è un antibiotico attivo verso la maggior parte dei batteri isolati in corso di otite esterna, ed è uno dei pochi efficaci nei confronti di *Pseudomonas aeruginosa*^{9,10}. Il clotrimazolo è un imidazolico particolarmente efficace nei confronti dei lieviti^{11,12,13}. Infine, il veicolo a base di olio minerale e gel plasticizzato di idrocarburi favorisce la permanenza del prodotto nel condotto uditivo esterno.

Lo scopo della presente ricerca è di valutare l'efficacia di questo prodotto in campo, con uno studio multicentrico che ha coinvolto 12 cliniche veterinarie su tutto il territorio italiano.

MATERIALI E METODI

Prodotto

Il prodotto valutato è una sospensione oleosa contenente gentamicina solfato pari a 2.640 U.I./ml di gentamicina base, 8,80 mg/ml di clotrimazolo e 0,88 mg/ml di betametassone valerato (Otomax[®], Schering-Plough), somministrata in ragione di 4 gocce per orecchio negli animali di peso inferiore ai 15 kg e 8 gocce per orecchio negli animali di peso superiore, 2 volte al giorno per 7 giorni.

Animali

In 12 strutture veterinarie italiane sono stati selezionati cani con otite mono- o bilaterale ceruminosa o purulenta. Sono stati inclusi cani di qualsiasi razza, età, peso, sesso e stato riproduttivo. Nel caso in cui l'otite batterica e/o da lieviti fosse stata secondaria ad un fattore eziologico primario locale (ad esempio corpo estraneo nel condotto uditivo esterno), il cane poteva essere incluso solo previa rimozione di tale causa. Non sono stati inclusi nella sperimentazione soggetti con otoacariasi, perforazione timpanica o neoformazioni di qualsiasi origine occludenti il canale auricolare, così come i cani trattati da meno di una settimana con altri prodotti otologici o con antibiotici, antimicotici, cortisonici, farmaci antiinfiammatori non steroidei o antiistaminici somministrati per via topica o sistemica, e quelli trattati da meno di un mese con preparati cortisonici deposito. La somministrazione di questi stessi farmaci era vietata per tutta la durata dello studio. Precedentemente alla prima applicazione del prodotto, ma dopo la valutazione clinica e la raccolta dei campioni necessari, venivano rimossi dall'area di trattamento il pelo in eccesso e il cerume, i detriti e gli essudati eventualmente presenti, esclusivamente con l'uso di acqua o di soluzione fisiologica, essendo vietate soluzioni di qualsiasi altra natura. Dopo tale lavaggio non era più permesso eseguire alcuna altra pulizia dell'orecchio sino al termine dello studio.

Ciascun animale è stato visitato dallo stesso sperimentatore prima di iniziare la terapia (giorno 1) e 4-6 giorni dopo il termine del trattamento (giorno 11-13). Oltre ai dati segnaletici sono state raccolte informazioni riguardo la du-

rata della sintomatologia, episodi di otite e trattamenti precedenti, terapie concomitanti, e la mono- o bilateralità dell'infezione.

Ove l'infezione fosse stata bilaterale, entrambe le orecchie venivano trattate, ma solo quella che appariva clinicamente più grave (più eritematosa, più dolorosa, contenente maggiore essudato) veniva valutata. Se non vi era differenza di gravità fra le due orecchie, si valutava solo quella destra.

Valutazione clinica

Parametri clinici quali il fastidio, l'eritema, l'edema e la quantità, l'odore e il colore dell'essudato venivano valutati prima e dopo il trattamento tramite una scala numerica da 0 a 2 (0 = assente, 1 da lieve a moderato, 2 intenso/marcato). Infine allo sperimentatore e al proprietario veniva chiesta una valutazione globale della risposta al trattamento mediante una scala numerica da 0 a 3 (0 = eccellente, 1 = buona, 2 = discreta, 3 = insufficiente).

Valutazione citologica

Per ciascun orecchio valutato clinicamente sono stati prelevati campioni di materiale auricolare per l'esame citologico prima e 4-6 giorni dopo il termine del trattamento. Un tampone sterile e asciutto è stato introdotto nel condotto uditivo esterno e successivamente rotolato su due vetrini portaoggetti puliti. In presenza di materiale ceruminoso i vetrini sono stati fissati su fiamma. Un vetrino veniva colorato con colorazione rapida (Dip Quick, Dyaset, Portomaggiore) e valutato dallo sperimentatore, e l'altro, dopo colorazione di Gram, veniva osservato da un unico laboratorista di riferimento. È stata valutata la presenza o meno di *Malassezia* spp. e di altri lieviti, di cocchi e di bastoncelli prima e dopo la terapia. In presenza di acari, ricercati mediante esame otoscopico e microscopico diretto, il cane veniva escluso dallo studio.

L'eventuale presenza di *Malassezia* spp. veniva quantificata dal laboratorista di riferimento osservando 10 campi microscopici a 400 ingrandimenti, secondo una scala numerica da 0 a 4 [0 = assenti in tutti i campi, 1 = scarsa (presenti, ma non in ogni campo), 2 = lieve (nella maggior parte dei campi sempre come singoli organismi), 3 = moderata (nella maggior parte dei campi anche come ammassi), 4 = massiccia (in ogni campo con presenza di molti ammassi)].

Culture batteriche e antibiogrammi

In occasione della prima visita, per tutti gli animali inclusi nello studio, è stato eseguito un esame colturale batterico con antibiogramma del materiale prelevato dall'orecchio valutato clinicamente. In caso di insuccesso terapeutico l'esame colturale batterico e l'antibiogramma sono stati ripetuti in occasione della visita finale. I tamponi sono stati seminati su terreni Agar-sangue di montone 5% e le piastre sono state incubate per 24 ore a 37°C in condizioni atmosferiche, poi riseminati su McConkey (per i batteri Gram negativi), Mannitol Salt Agar (per i batteri Gram positivi) e per la differenziazione degli stafilococchi

e Bile-Esculin (per i micrococchi), secondo le metodiche standard. In caso di crescita di colonie batteriche sono stati utilizzati i metodi microbiologici standard per identificare i batteri presenti. In particolare, per l'identificazione degli stafilococchi sono stati utilizzati il terreno Mannitol Salt Agar e il test della coagulasi. La tecnica API per l'identificazione batterica non è stata utilizzata per questo studio.

Gli antibiogrammi sono stati eseguiti secondo la metodica di Kirby-Bauer su terreno Mueller Hinton con gli antibiotici presenti nelle formulazioni otologiche ad uso veterinario o comunemente inclusi dai veterinari in preparazioni estemporanee da applicare nel condotto uditivo esterno: kanamicina, gentamicina, enrofloxacin, rifampicina, colistina, bacitracina, neomicina, polimixina B.

Analisi statistica

Per il confronto statistico fra la gravità della sintomatologia basale e di quella finale (valutata con scala ordinale a tre punti), è stato utilizzato il test non parametrico di Wilcoxon per dati appaiati (SAS/Stat and SAS Procedure Guide for Personal Computers, version 6, ed. by SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Il confronto finale verso basale dei risultati dell'esame citologico del materiale auricolare è stato eseguito con il test esatto di Fisher (SAS/Stat and SAS Procedure Guide for Personal Computers, version 6, ed. by SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

RISULTATI

Animali

Nello studio sono stati inclusi 142 cani, di cui 71 (50%) maschi interi, 57 (40%) femmine intere, 4 (3%) maschi castrati e 10 (7%) femmine sterilizzate. L'età media era di 5,5 anni (range 4 mesi - 17 anni, deviazione standard $\pm 3,8$ anni) e il peso di 22,8 kg (range 1,4 kg - 70 kg, deviazione standard $\pm 14,3$ kg). Erano rappresentate 43 razze (Tab. 1),

con prevalenza di meticci (38 cani, 26,8%), pastori tedeschi (15 cani, 10,6%), barboncini e labrador retriever (ciascuno 9 cani, 6,3%).

Cinquantadue cani (37%) presentavano un'otite monolaterale, e 90 (63%) un'affezione bilaterale.

Per 66 dei 142 animali (46%) l'episodio di otite in corso era il primo della loro vita, mentre per i restanti 76 (54%) si trattava di un'otite ricorrente, eventualmente già trattata in passato con altri prodotti. Per 12 cani (9%) l'episodio era di recentissima insorgenza (1-2 giorni), per 46 (32%) esso era presente da 3-7 giorni, per 20 (14%) da 8-14 giorni e per i restanti 64 (45%) il problema era oramai cronicizzato (oltre i 14 giorni).

Tabella 1
Razze canine incluse nello studio

Razza Canina	Frequenza	Percentuale
Meticcio	38	26,8%
Pastore Tedesco	15	10,6%
Barboncino	9	6,3%
Labrador	9	6,3%
Cocker	6	4,2%
Yorkshire Terrier	5	3,5%
Boxer	4	2,8%
Rottweiler	4	2,8%
West Highland White Terrier	4	2,8%
Bassotto	3	2,1%
Pastore Belga	3	2,1%
Shih-Tzu	3	2,1%
Setter Inglese	3	2,1%
Springer Spaniel	3	2,1%
Bouledogue Francese	2	1,4%
Dobermann	2	1,4%
Pastore Maremmano-Abr.	2	1,4%
Pinscher	2	1,4%
Samoiedo	2	1,4%
altre razze	21	14,7%

Tabella 2
Valutazione clinica dell'orecchio prima (giorno 1) e 4-6 giorni dopo il termine del trattamento (giorno 11-13)
(espressa in percentuale dei soggetti esaminati)

Parametro	Giorno	Marcato	Da lieve a moderato	Assente
Fastidio	Giorno 1	55	41	4
	Giorno 11-13	1	19	80
Eritema	Giorno 1	45	47	8
	Giorno 11-13	1	27	72
Edema	Giorno 1	11	47	42
	Giorno 11-13	1	4	95
Quantità di essudato	Giorno 1	49	50	1
	Giorno 11-13	3	53	44
Odore dell'essudato	Giorno 1	47	47	6
	Giorno 11-13	1	20	79
Colore dell'essudato		marrone o nero	giallo	nessuno
	Giorno 1	56	44	0
	Giorno 11-13	21	32	47

Valutazione clinica

In quasi tutti gli animali trattati si sono osservati notevoli segni di miglioramento. All'analisi statistica tutti i parametri considerati sono risultati significativamente migliorati ($p < 0,01$). I dati sono riassunti nella Tabella 2.

La risposta al trattamento, nell'ambito della valutazione finale complessiva da parte degli sperimentatori, è stata giudicata eccellente nel 54% dei casi, buona nel 34%, discreta nell'11% e insufficiente nell'1% dei cani trattati (Fig. 1). La valutazione finale complessiva è risultata uguale per gli animali con otite di prima insorgenza e per quelli con otite ricorrente. La valutazione da parte dei proprietari è risultata sostanzialmente sovrapponibile a quella degli sperimentatori (Fig. 2).

Valutazione citologica

In tutti i campioni citologici prelevati prima della terapia si è riscontrata la presenza di microrganismi (Tab. 3). Lieviti del genere *Malassezia* sono stati osservati in 109 casi (76,8%). La loro presenza era scarsa in 35 casi (24,6%),

lieve in 17 (12%), moderata in 33 (23,2%) e massiccia in 24 (16,9%). Dopo la terapia i lieviti si sono osservati solo in 86 casi (60,5%), con presenze notevolmente minori rispetto a quelle evidenziate al momento della visita iniziale (Tab. 4): solo in 13 su 86 (15,1%) si osservò una colonizzazione moderata o massiccia, mentre nella maggior parte dei casi questa era scarsa (47 animali su 86, 54,7%) o lieve (26 su 86, 30,2%). Non sono stati riscontrati citologicamente lieviti diversi da *Malassezia* spp.

Solamente in 2 casi (1,4%) al giorno 1 si è rilevata la presenza di *Malassezia* spp. in maniera esclusiva, mentre negli altri 140 (98,6%) si osservava la presenza di batteri, esclusiva in 33 e associata ai lieviti in 107 casi. In 5 casi (3,5%) si osservarono solo batteri bastoncellari e in 10 (7%) solo batteri di forma coccacea. Nella maggior parte dei casi si notava invece un'infezione mista (Tab. 3). Nei campioni ottenuti durante la visita finale si è osservato come in 28 cani (19,7%) i prelievi risultassero privi di microrganismi, con una riduzione significativa rispetto al giorno 1 ($p < 0,001$). Nei restanti campioni, in cui si sono osservati microrganismi, si è ottenuta una marcata diminuzione della presenza di batteri: da 140/142 (98,6%) a 86/142 (60,5%). Questa riduzione ha riguardato sia i batteri bastoncellari sia i coccoci (Tab. 3). Il successo terapeutico valutato soggettivamente dal veterinario non pare dipendere dal tipo di infezione con eccezione delle otiti

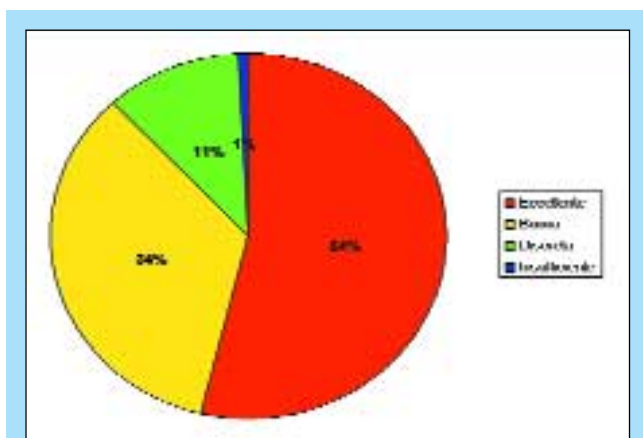


FIGURA 1 - Valutazione della risposta clinica al trattamento da parte degli sperimentatori.

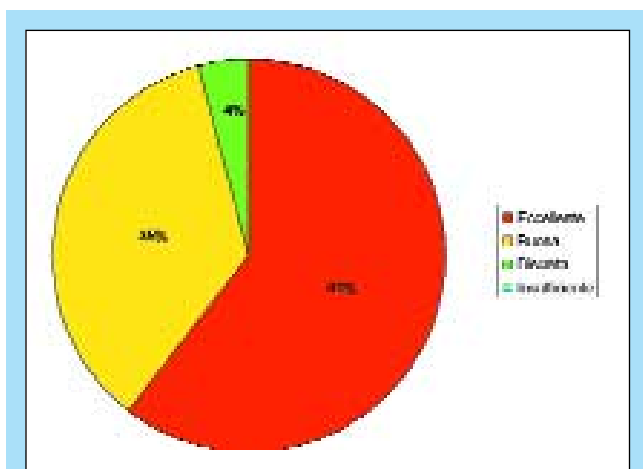


FIGURA 2 - Valutazione della risposta clinica al trattamento da parte dei proprietari.

Tabella 3
Esame citologico del materiale auricolare prima (giorno 1) e 4-6 giorni dopo il termine del trattamento (giorno 11-13)

Microrganismi	Basale giorno 1		Finale giorno 11-13	
Assenti	0	0,0%	28	19,7%
Solo Malassezia	2	1,4%	58	40,9%
Solo Bastoncelli	5	3,5%	8	5,6%
Solo Cocchi	10	7,0%	15	10,6%
Malassezia + Bastoncelli	17	12,0%	5	3,5%
Malassezia + Cocchi	63	44,4%	21	14,8%
Bastoncelli + Cocchi	18	12,7%	4	2,8%
Malassezia + Bastoncelli + Cocchi	27	19,0%	3	2,1%
Totale	142	100,0%	142	100,0%

Tabella 4
Valutazione quantitativa della presenza di lieviti *Malassezia* spp. nei preparati citologici

Malassezia	Giorno 1		Giorno 11-13	
Assente	33	23,2%	55	39,0%
Scarsa	35	24,7%	47	33,3%
Lieve	17	12,0%	26	18,5%
Moderata	33	23,2%	12	8,5%
Massiccia	24	16,9%	1	0,7%
Totale	142	100,0%	141	100,0%

sostenute da soli cocchi che hanno dato risultati eccellenti in una percentuale più elevata delle altre (Tab. 5). Se però si considerano i risultati eccellenti e quelli buoni insieme, questa differenza non è più apparente.

Valutazione batteriologica

Da 98 cani (69%) sono stati isolati batteri Gram positivi, e fra questi in 42 (29,6%) *Staphylococcus aureus*, in 25 (17,6%) *Staphylococcus intermedius*, in 18 (12,7%) *Micrococcus* spp., in 10 (7%) *Streptococcus* spp. e in 3 (2,1%) *Staphylococcus epidermidis*. Da 48 (33,8%) casi sono stati isolati batteri Gram negativi, e fra questi in 35 (25%) *Pseudomonas* spp. e da 13 (9%) *Escherichia coli*. Solamente in pochi casi si sono osservate combinazioni batteriche, quali *S. aureus* ed *E. coli* (3 casi), *S. aureus* e *Pseudomonas* spp. (3 casi) e *S. intermedius* e *Pseudomonas* spp. (1 caso). Da tre animali non si è ottenuta alcuna crescita batterica.

I risultati degli antibiogrammi sono riportati nella Tabella 6. La sensibilità *in vitro* alla gentamicina, l'antibiotico presente nella preparazione usata nel presente studio, è

risultata pari al 95,2% per *S. aureus*, 88% per *S. intermedius*, 100% per *Micrococcus* spp., 100% per *Pseudomonas* spp. e 91,7% per *E. coli*, rivelandosi, per ciascuna specie batterica, fra gli antibiotici più efficaci nell'ambito di quelli saggiati. In particolare, la gentamicina è risultata essere l'unico antibiotico attivo contro *Pseudomonas* spp.

È stata analizzata la variazione del successo terapeutico, valutato soggettivamente dallo sperimentatore, a seconda del germe coinvolto (Tab. 7). *Streptococcus* spp. e *S. epidermidis*, entrambi germi scarsamente patogeni, non sono mai associati a insuccessi terapeutici, *E. coli* è associato più frequentemente degli altri microrganismi ad un risultato discreto (23,1% dei casi, contro un 11% medio degli altri germi), e *Pseudomonas* spp. è l'unico germe ad essere associato a insuccesso terapeutico clinico completo (1 caso), nonostante la sensibilità del ceppo batterico alla gentamicina *in vitro*. La valutazione soggettiva dell'efficacia è stata anche esaminata in base alla sensibilità o meno del germe alla gentamicina: delle otiti con presenza di ceppi sensibili (133 cani) 88,7% dei casi hanno ottenuto risultati buoni o eccellenti e 11,3% discreti o scarsi, mentre delle otiti con presenza di ceppi a sensibilità intermedia o resistenti, da soli o associati ad altri batteri (6 cani), 5 casi

Tabella 5
Valutazione del miglioramento clinico da parte dello sperimentatore a seconda dei microrganismi presenti nei preparati citologici al giorno 1

Microrganismi	n	Valutazione del Veterinario (valori percentuali arrotondati)							
		Eccellente		Buona		Discreta		Insufficiente	
Solo Malassezia	n = 2	1	50%	0	0%	1	50%	0	0%
Solo Bastoncelli	n = 5	2	40%	2	40%	1	20%	0	0%
Solo Cocchi	n = 10	8	80%	1	10%	1	10%	0	0%
Malassezia + Bastoncelli	n = 17	9	53%	4	23%	3	18%	1	6%
Malassezia + Cocchi	n = 63	34	54%	23	37%	6	9%	0	0%
Bastoncelli + Cocchi	n = 18	7	39%	10	56%	1	5%	0	0%
Malassezia + Bastoncelli + Cocchi	n = 27	15	56%	9	33%	3	11%	0	0%
Totale	n = 142	76	54%	49	34%	16	11%	1	1%

Tabella 6
Percentuale dei ceppi batterici sensibili agli antibiotici saggiati, divisi per specie

	<i>Staphylococcus aureus</i> n = 42	<i>Staphylococcus intermedius</i> n = 25	<i>Micrococcus</i> spp. n = 18	<i>Pseudomonas</i> spp. n = 35	<i>Escherichia coli</i> n = 13
Gentamicina	95,2	88,0	100,0	100,0	91,7
Neomicina	92,0	84,6	100,0	0,0	25,0
Kanamicina	88,2	83,3	92,9	0,0	50,0
Polimixina B	0,0	0,0	0,0	0,0	37,5
Colistina	0,0	0,0	0,0	0,0	83,3
Bacitracina	28,0	30,8	75,0	0,0	0,0
Rifampicina	47,6	64,0	27,8	0,0	0,0
Enrofloxacin	69,0	40,0	83,3	0,0	41,7

Tabella 7
Valutazione del miglioramento clinico da parte dello sperimentatore a seconda del germe isolato

Valutazione del Veterinario	<i>S. aureus</i> n = 42	<i>S. intermedius</i> n = 25	<i>S. epidermidis</i> n = 3	<i>Micrococcus</i> n = 18	<i>Streptococcus</i> n = 10	<i>Pseudomonas</i> n = 35	<i>E. coli</i> n = 13	Valutazione clinica globale (Tab. 5)
Eccellente	54,8%	56,0%	66,7%	50,0%	40%	54,3%	46,2%	54%
Buona	38,1%	36,0%	33,3%	33,3%	60%	28,6%	30,8%	34%
Discreta	7,1%	8,0%	0,0%	16,7%	0,0%	14,3%	23,0%	11%
Insufficiente	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	2,8%	0,0%	1%

(83,3%) hanno ottenuto risultati buoni o eccellenti e uno (16,7%) discreti o insufficienti.

La cultura batterica e gli antibiogrammi sono stati ripetuti al termine dello studio in 7 cani. Sono stati isolati 6 ceppi batterici Gram positivi (due *S. aureus*, due *Micrococcus* spp., uno *S. epidermidis* e uno *S. intermedius*) e uno Gram negativo (*Pseudomonas* spp). La sensibilità nei confronti della gentamicina in questi antibiogrammi è stata pari a 100%.

Tollerabilità

Il prodotto è stato tollerato ottimamente da tutti gli animali trattati. Non sono state segnalate reazioni avverse da parte degli sperimentatori o dei proprietari.

DISCUSSIONE

L'infiammazione dell'orecchio esterno, coinvolge dal 10 al 20% dei cani portati alla visita veterinaria⁸, e conosce numerose cause primarie e fattori predisponenti, che agiscono in sinergia¹. Qualsiasi siano le cause di otite esterna, sono molto frequenti le infezioni complicanti da batteri e/o da lieviti, che ne aggravano e perpetuano la sintomatologia nel tempo. La terapia nei confronti di questi microrganismi, unitamente al riconoscimento e alla correzione, ove possibile, delle cause predisponenti e primarie, è la chiave per la risoluzione delle otiti esterne⁸. Poiché lo scopo di questo studio era di valutare l'efficacia di un nuovo preparato otologico sui batteri e sui lieviti complicanti le otiti del cane, non sono state prese in considerazione le cause predisponenti e primarie, con eccezione delle otiti parassitarie che non sono state incluse. Queste rappresenterebbero però la minoranza (circa il 7%) delle otiti del cane³.

Le razze più rappresentate nel nostro studio sono il pastore tedesco, il barboncino, il labrador, il cocker e lo Yorkshire terrier (Tab. 1). Studi epidemiologici condotti in altri paesi hanno mostrato prevalenze sostanzialmente simili^{2,3,5,14}. È possibile che la prevalenza di alcune particolari razze rifletta la loro maggiore frequenza nei diversi paesi, ma è sorprendente come i dati siano simili in paesi diversi, suggerendo comunque una predisposizione di alcune razze allo sviluppo di otiti esterne. Ciò è stato infatti dimostrato in soggetti con padiglione pendulo e/o presenza di numerosi peli nel dotto auricolare esterno¹⁵.

L'esame citologico di campioni di materiale auricolare è una importante metodica usata comunemente per determinare rapidamente quali agenti infettivi sono presenti nell'orecchio, ed è il metodo diagnostico preferito per accertare il ruolo svolto da *Malassezia pachydermatis*^{8,16}. Tuttavia sono pochi i lavori che comparano i risultati ottenuti con l'esame citologico e con quello batteriologico del materiale auricolare, nella valutazione dei microrganismi coinvolti nelle otiti esterne. Uno studio riporta una corrispondenza della citologia, se comparata alla batteriologia, del 53,8% nell'identificare le infezioni sostenute da cocci, del 100% per quelle sostenute da bastoncelli⁵. Nel nostro studio i cocci sono stati osservati citologicamente in 118 casi, mentre sono stati isolati solo in 98 colture batteriche. Batteri di forma bastoncellare sono stati osservati citologicamente in 67 casi e isolati in coltura in 48 animali. Questa differenza può derivare dal fatto che alcuni dei batteri osservati nei preparati citologici non fossero vitali oppure dal fatto che detriti e artefatti delle stesse dimensioni siano stati scambiati per microrganismi (ad esempio melanosomi di eumelanina).

Il lievito *Malassezia pachydermatis* è frequentemente associato alle otiti esterne del cane^{8,17} dove la presenza del cerume ne promuove la crescita¹⁸. Tuttavia questo lievito si osserva comunemente anche nei dotti auricolari di animali sani¹⁹. Al fine di stabilire il ruolo svolto da *Malassezia* spp., è stato proposto un limite indicativo di 5-10 lieviti per campo microscopico a forte ingrandimento (400x)⁸. Il rilevamento di un numero di lieviti pari o superiore a tale limite è indice di una loro proliferazione abnorme, mentre quantità inferiori possono essere considerate normali, compatibilmente con il quadro clinico e valutando anche la presenza o meno di altri microrganismi⁸. In questo studio la quantità di lieviti *Malassezia* spp. è stata valutata con una scala diversa e originale, che permette anche la determinazione della gravità dell'infezione da *Malassezia* spp., in quanto include la valutazione della presenza di aggregati di lieviti, tipici delle infezioni.

La presenza di *Malassezia* spp. in quantità patologica è stata osservata in altri studi nel 56-82% circa delle otiti non parassitarie^{2,3,4,5}, associata a batteri nel 22-38%^{2,3,4} dei casi. I risultati del nostro studio sono quindi sovrapponibili a quelli riportati in letteratura per quello che riguarda la presenza dei lieviti (76,8% dei casi), mentre si discostano se si considera la percentuale dei cani in cui si è osservata la presenza esclusiva di *Malassezia* spp. (1,4%), di molto inferiore ai dati già pub-

blicati. Una possibile spiegazione risiede nel fatto che i nostri dati si riferiscono all'osservazione citologica, mentre gli studi precedenti si basavano sui risultati delle colture batteriche e fungine. Come già suggerito, l'osservazione di batteri con l'esame citologico risulta superiore all'effettivo isolamento colturale dei batteri dagli essudati auricolari.

In studi precedenti sono stati isolati, mediante coltura, dai dotti auricolari esterni di cani affetti da otite prevalentemente i batteri *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus aureus*, streptococchi, *Pseudomonas* spp., *Proteus* spp., *E. coli*, e altri^{2,3,4,5,6,7}. I batteri isolati durante il nostro studio sono sovrapponibili, con l'eccezione di *Proteus* spp., che non è stato isolato da nessun campione, mentre è stato osservato nel 4-18% dei casi in studi precedenti^{3,4,5}. Tuttavia, in un altro lavoro la sua presenza è stata valutata inferiore all'1%², risultato più vicino al nostro. Una differenza di rilievo fra i nostri risultati e quelli riportati in letteratura è la prevalenza di *S. aureus*, isolato in 42 campioni su 142 (29,5% dei casi) nel nostro studio e in <1% dei casi in un lavoro precedente². Il motivo di tali discrepanze è sconosciuto e può forse dipendere da differenti metodiche di laboratorio.

Il batterio Gram negativo *Pseudomonas* spp. risulta presente nel 24% dei casi nel nostro studio, risultato simile a quello di lavori precedenti in cui è stato isolato nel 12-24% dei campioni^{2,3,4,9}.

Similmente ad altri studi precedenti^{2,4,5,6}, anche in questo lavoro è stato effettuato l'antibiogramma utilizzando il metodo Kirby-Bauer. Sono stati saggiati i principali antimicrobici contenuti nei preparati otologici in commercio nel nostro Paese, tralasciando gli antibiotici per uso orale. È stata fatta un'eccezione per l'enrofloxacin e la kanamicina, incluse nell'elenco dei nostri antibiotici, poiché vengono spesso utilizzate dal veterinario per l'allestimento di preparazioni otologiche estemporanee. L'esecuzione degli antibiogrammi è stata ritenuta utile per completare i dati batteriologici, tuttavia va ricordato che nella pratica la valutazione della sensibilità ai farmaci antimicrobici viene reputata utile in caso di otite esterna e media, solo qualora si desideri trattare l'animale per via sistemica⁸. Anche se sono rilevabili delle differenze tra i risultati di questo studio e quelli di altri, per quanto riguarda la sensibilità di alcune specie batteriche (soprattutto stafilococchi coagulasi positivi e *Pseudomonas* spp.) agli antibatterici saggiati, un dato abbastanza costante ci appare l'alto tasso di sensibilità (56,3-100%) alla gentamicina (Tab. 8). Tuttavia è da tenere presente che una minore sensibilità di altri antibiotici potrebbe essere superata dalla maggiore quantità di antibiotico che viene a contatto coi batteri, se applicato topicamente nel canale auricolare.

Il preparato otologico ideale dovrebbe essere efficace sia nei confronti dei lieviti *Malassezia* spp., che dei batteri Gram positivi (soprattutto gli stafilococchi coagulasi positivi) e Gram negativi (soprattutto *Pseudomonas* spp.). Lo scopo del presente studio era valutare l'efficacia di un preparato otologico contenente gentamicina, clotrimazolo e betametasona valerato. La gentamicina è un antibiotico aminoglicosidico ad ampio spettro che possiede attività battericida nei confronti di microrganismi Gram positivi e Gram negativi. Poiché il suo assorbimento

Tabella 8
Sensibilità a gentamicina ed enrofloxacin
di *S. intermedius* e *Pseudomonas* spp

Autore e anno	McCarthy 1988	Bornand 1992	Kiss 1997	Cole 1998	Noli 2000
Gentamicina					
<i>S. intermedius</i>	n.e.	n.e.	96%	96,3%	88%
<i>Pseudomonas</i> spp.	78,6%	64%	92%	56,3%	100%
n.e. = non eseguito					

cutaneo è molto limitato, addirittura nullo quando la cute è integra, essa viene spesso utilizzata per preparati ad uso topico¹⁰. La gentamicina agisce sull'unità ribosomiale 30s interrompendo la sintesi proteica delle cellule batteriche. Essa è stata scelta nello studio di Kiss et al.²⁰, poiché risultava essere l'antibiotico più efficace nei confronti di tutti i batteri saggiati, similmente ai risultati ottenuti nel nostro studio. La gentamicina, come tutti i membri della famiglia degli aminoglicosidi, può avere effetti di ototossicità se somministrata a lungo per via sistemica e ad alte dosi¹⁰, mentre secondo quanto riscontrato nel corso di una prova sperimentale, quando somministrata localmente per via auricolare, anche in presenza di perforazione timpanica, essa non sembra indurre danni vestibolari o sordità²¹.

Il clotrimazolo è un membro della famiglia degli imidazolici. Questi farmaci hanno attività antifungina ad ampio spettro e sono attivi nei confronti di alcuni protozoi e di alcuni ceppi batterici Gram positivi¹². Gli imidazolici agiscono sulla membrana cellulare dei microrganismi, legandosi agli strati fosfolipidici e alterandone la permeabilità. Il clotrimazolo, in particolare, non viene assorbito sistemicamente¹¹, ma raggiunge concentrazioni fungicide nell'epidermide¹². Esso rimane stabile nelle condizioni in cui viene applicato localmente ed è generalmente ben tollerato dalla cute animale e dell'uomo, anche se infiammata¹². È la prima volta che questo farmaco antimicotico viene incluso in formulazioni ad uso veterinario, mentre esso è già da tempo conosciuto in medicina umana e usato in formulazioni antimicotiche ad uso topico. In uno studio comparativo sull'attività fungicida *in vitro* di cinque agenti antimicotici nei confronti di *Malassezia pachydermatis*, il clotrimazolo è risultato il migliore dopo il chetoconazolo, con una MIC50 equivalente a quella del miconazolo (1,25 µg/ml), e una MIC90 (5 µg/ml) inferiore a quella del miconazolo (20 µg/ml)¹³. Nello stesso studio non si sono osservate resistenze nei confronti del clotrimazolo, mentre si sono osservate nei confronti del miconazolo, della nistatina e della pimamicina.

La presenza di un cortisonico nei prodotti otologici è importante, poiché esso ha effetto antiinfiammatorio, antipruriginoso ed è capace di diminuire l'edema del dotto uditivo e la produzione di essudato e cerume, favorendo la penetrazione degli agenti terapeutici antimicrobici⁸. La terapia d'attacco richiede un cortisonico potente quale il betametasona, il desametasona o il fluocinolone, al fine di ottenere un controllo rapido dell'in-

fiammazione, del fastidio e delle reazioni allergiche⁸. Il betametasona è un glucocorticoide sintetico sviluppato in special modo per la terapia dermatologica. Esso ha una forte attività steroidea e solo un leggero effetto mineralcorticoide. L'esterificazione a betametasona valerato ne aumenta l'attività topica e ne allunga l'emivita di più del 50%. Esso è poco solubile e si lega specificamente agli strati più esterni della cute, rendendolo particolarmente adatto alle formulazioni dermatologiche topiche. Come tutti i cortisonici ad uso topico, anche il betametasona valerato viene assorbito sistemicamente e può dare una temporanea soppressione dell'asse ipofisario-surrenalico²². Per l'uso prolungato vengono invece consigliati glucocorticoidi meno potenti, quali ad esempio l'idrocortisone⁸.

Il veicolo a base di olio minerale e gel plasticizzato di idrocarburi è di nuova concezione e specificamente studiato per questo prodotto. Esso è capace di sciogliere il cerume e gli essudati, favorisce la rimozione dei detriti e il contatto dei principi attivi con la cute del condotto e con i microrganismi patogeni. Questo veicolo risulta inoltre in grado di aderire e permanere a lungo nel dotto auricolare esterno. L'assenza di odore e colore, infine, permette la valutazione clinica dell'evoluzione dell'otite e dell'efficacia della terapia.

L'associazione della gentamicina, del clotrimazolo e del betametasona valerato in un veicolo innovativo potrebbe rappresentare quindi una soluzione molto interessante al problema otite esterna, associando un'ottima attività antibatterica ed antifungina ad ampio spettro a una attività antiinfiammatoria, persistente fra una somministrazione e l'altra.

Dati forniti dalla ditta produttrice (Schering-Plough, Dossier di Registrazione), riguardanti un precedente studio clinico multicentrico controllato in doppio cieco, riportano un'efficacia clinica (eliminazione del dolore e diminuzione dell'infiammazione) del 93% dopo soli 7 giorni di trattamento. I risultati del presente studio, nonostante non fosse controllato da placebo, sono comparabili, con un 89% di efficacia clinica buona o ottima dopo 7 giorni di terapia. Questi risultati sono simili a quelli ottenuti da Kiss e collaboratori²⁰ (efficacia nel 94,2% dei casi) con il preparato simile contenente gentamicina, chetocanazolo e maziopredone, un cortisonico derivato dal prednisolone.

È degno di nota che gli sperimentatori abbiano osservato risultati buoni od eccellenti in 5 cani con otite sostenuta da ceppi batterici (*S. aureus*, *S. intermedius*, *E. coli*) resistenti alla gentamicina. Probabilmente le concentrazioni del farmaco usato topicamente a contatto con i microrganismi sono comunque sensibilmente superiori alla concentrazione minima inibente (MIC) dei batteri considerati resistenti. È possibile che questo fatto spieghi anche la similitudine dei risultati ottenuti nelle otiti di prima insorgenza e in quelle croniche già trattate precedentemente, come anche fra le otiti sostenute da cocci e quelle causate da batteri bastoncellari.

L'efficacia del prodotto nelle otiti sostenute da *Pseudomonas* spp. è risultata soddisfacente, con risultati clinici buoni o ottimi nell'82,9% dei casi (n=35), discreti nel 14,3% e insufficienti in un solo caso (2,8%). In questo unico caso, dato che il batterio risultava sensibile alla gen-

tamicina prima e dopo il trattamento, è probabile che l'insuccesso terapeutico possa essere dipeso da altri fattori, quali ad esempio problemi di *compliance* da parte del proprietario.

Dopo il trattamento, il numero di campioni citologici da materiale auricolare privi di microrganismi è aumentato significativamente, anche se il 60,5% dei preparati mostrava ancora la presenza di *Malassezia* spp., scarsa o lieve nella maggior parte dei casi (84,8%). Tuttavia essa può venire considerata normale nell'orecchio esterno, dove si ritiene fisiologica se limitata a meno di 5-10 microrganismi per campo microscopico ad alta risoluzione⁸.

CONCLUSIONE

Con questo studio multicentrico in campo si è dimostrato che il prodotto utilizzato, a base di gentamicina, clotrimazolo e betametasona, può essere di grande utilità nel trattamento delle otiti esterne del cane, siano esse di natura batterica, da lieviti o miste. Per le otiti batteriche il prodotto risulta efficace sia quando esse sono sostenute da batteri Gram positivi che Gram negativi. Questo prodotto è inoltre dotato di una notevole sicurezza d'impiego, essendo stato tollerato ottimamente da tutti gli animali trattati.

Ringraziamenti

Si ringraziano gli sperimentatori Dr. Francesco Albanese, Dr. Francesco Basso, Dr. Fabrizio Fabbrini, Dr. Ivan Fileccia, Dr.ssa Franca Galeotti, Dr. Francesco Ghiani, Dr. Federico Leone, Dr.ssa Erica Romano, Dr.ssa Fabia Scarampella, Dr.ssa Silvia Schiavi, Dr.ssa Antonella Vercelli, per la partecipazione a questo studio. Siamo grati inoltre ai Dr. Sergio Antonini ed Emanuele Minetti del Laboratorio di Analisi Veterinarie BiEsseA di Milano, per l'allestimento delle colture batteriche e degli antibiogrammi e per la valutazione citologica. Si ringraziano infine il Dr. Erminio A. Bonizzoni per l'analisi statistica e il Sig. Mario Marzanati per l'inserimento dei dati su supporto informatico.

Parole chiave

Otite, gentamicina, clotrimazolo, betametasona, cane, *Malassezia*, *Pseudomonas*.

Key words

Otitis, gentamicin, clotrimazole, betamethasone, dog, *Malassezia*, *Pseudomonas*.

Abbreviazioni

U.I.: Unità Internazionali

MIC: Minimum Inhibitory Concentration (concentrazione minima inibente)

Bibliografia

1. August JR: Otitis externa: A disease of multifactorial etiology. *Vet. Clin. North Am: Small Anim. Practice* 18(4):731-42, 1988.
2. Kiss G, Radvanyi Sz, Szigeti G: New combination for the therapy of canine otitis externa I: Microbiology of otitis externa. *J. Small An. Pract.* 38:51-6, 1997.
3. Besignor E, Legeay D, Médaille CH: Étude prospective sur les otites externes du chien adulte en France. *Prat Méd Chir Anim Comp*, 35:405-14, 2000.
4. Bornand V: Bactériologie et mycologie de l'otite externe du chien. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 134:341-8, 1992.
5. Cole LK, Kwochka KW, Kowalski JJ, Hillier A: Microbial flora and antimicrobial susceptibility pattern of isolated pathogens from the horizontal ear canal and middle ear in dogs with otitis media. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 4:534-8, 1998.
6. McCarthy G, Kelly WR: Microbial species associated with the canine ear and their antibacterial sensitivity patterns. *Irish Vet. J.* 36:53-6, 1982.
7. Kowalski J: The microbial environment of the ear canal in health and disease. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 18(4):743-54, 1988.
8. Griffin CE: Otitis externa and otitis media. In: Griffin CE, Kwochka KW, MacDonald JM (eds.) *Current Veterinary Dermatology*, Mosby Year Book, St. Louis, 1993:245-62.
9. Foster AP, DeBoer, DJ: The role of *Pseudomonas* in canine ear disease. *The Compendium, Small Animal*, 20(8):909-19, 1998.
10. Sande MA, Mandell GL. *Antimicrobial agents. The Aminoglycosides.* In Goodman AG, Rall TW, Nies AS, Taylor P (eds.): *Goodman and Gilman's - The pharmacological basis of therapeutics*, 8th ed., Pergamon Press, New York, 1990:1098-1110.
11. Sawyer PR, Brodgen RN, Pinder RM, Speight TM, Avery GS: Clotrimazole: A review of its antifungal activity and therapeutic efficacy. *Drugs* 9:424-47, 1975.
12. Raab W: Clinical pharmacology of modern topical broad spectrum antimicrobials. *Current Therap. Res.* 22(1):65-82, 1977.
13. Uchida Y, Nakade T, Kitazawa K: In vitro activity of five antifungal agents against *Malassezia pachydermatis*. *Jpn. J. Vet. Sci.* 52(4):851-53, 1990.
14. Baba E, Fukata T, Saito M: Incidence of otitis externa in dogs and cats in Japan. *Vet. Rec.* 108:393-5, 1981.
15. Hayes HM, Williams Pickle L, Wilson GP: Effects of ear type and weather on the hospital prevalence of canine otitis externa. *Res. Vet. Sci.* 42:294-8, 1987.
16. Chickering WR: Cytologic evaluation of otic exudates. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 18(4):773-82, 1988.
17. Mansfield PD, Boosinger TR, Attleberger MH: Infectivity of *Malassezia pachydermatis* in the external ear canal of dogs. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 26:97-100, 1990.
18. Gabal MA: Preliminary studies on the mechanism of infection and characterization of *Malassezia pachydermatis* in association with canine otitis externa. *Mycopathologia* 104:93-98, 1988.
19. Bond R, Saijonmaa-Koulumies LEM, Lloyd DH: Population sizes and frequency of *Malassezia pachydermatis* at skin and mucosal sites on healthy dogs. *J. Small An. Pract.* 36:147-50, 1995.
20. Kiss G, Radvanyi, Szigeti G, Lukats B, Nagy G: New combination for the therapy of canine otitis externa II: Efficacy in vitro and in vivo. *J. Small An. Pract.* 38:57-60, 1997.
21. Strain GM, Merchant SR, Neer MT, Tedford BL: Ototoxicity assessment of a gentamycin sulfate otic preparation in dogs. *Am. J. Vet. Res.* 56:532-8, 1995.
22. Zenoble RD, Kemppainen RJ: Adrenocortical suppression by topically applied corticosteroids in healthy dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 191(6):685-8, 1987.



Via Liguria 28
20068 Peschiera Borromeo (MI)
Tel. 02 51650371
Fax 02 51650393
e-mail: info@bioimpianti.it
http://www.bioimpianti.it

Produzione e vendita di materiale di osteosintesi per traumatologia, in particolare:

Viti, Placche, Strumenti per ortopedia, Set completi viti e placche, Placche da TPO, Small Bone Fixator, Cemento per ossa (con e senza antibiotico), Fili di Kirschner

Presenti al **42°** **congresso nazionale scivac**
FIERA MILANO
1-4 MARZO 2001

con una vetrina nel padiglione 22 corsia D
(adiacente all'area libri).

Tutti i nostri prodotti vengono realizzati rispettando gli standard internazionali (perfettamente AO compatibili)
e la qualità è garantita dal marchio CE.