

# EFFICACIA DELLA CLOREXIDINA ALLO 0,45% IN FORMULAZIONE GEL IN DIECI CANI AFFETTI DA OTITE DA *MALASSEZIA SPP.*

**LUISA CORNEGLIANI, DMV**

*Ambulatorio Veterinario Associato, C.so Traiano 99/D, Torino (I)*

**ANTONELLA VERCELLI, DMV, CESDerm**

*Ambulatorio Veterinario Associato, C.so Traiano 99/D, Torino (I)*

## Riassunto

La clorexidina digluconato è un disinfettante dalla famiglia delle biguanidi con attività battericida e fungicida. È comunemente impiegata in dermatologia veterinaria a concentrazioni tra 0,5% e 4%. Lo scopo del presente lavoro è di descrivere l'efficacia della clorexidina allo 0,45% in gel nella terapia delle otiti da lieviti. Si riporta uno studio clinico eseguito su 10 cani con otite ceruminosa ed eritematosa da *Malassezia spp.* La clorexidina in preparazione gel, grazie al maggiore tempo di permanenza, è fungicida e battericida anche a basse concentrazioni. La formulazione in gel è una terapia adeguata e, nel frattempo, non interferisce con i test di laboratorio utilizzati per indagare le cause di otite.

## Summary

*Chlorhexidine digluconate is an antiseptic biguanidine with bactericidal and fungicidal effects. In veterinary dermatological therapy is generally used at concentration between 0,5% and 4%. The aim of this paper is to report the efficacy of chlorhexidine 0.45% gel formulation in yeast otitis topical therapy. For this reason a clinical study on treatment of *Malassezia spp* otitis in ten dogs is reported. Chlorhexidine gel formulation has fungicidal and bactericidal activities thanks to a long contact time due to the vehicle. Topical administration of the drug is effective and does not limit the use of other laboratory tests to investigate underlying causes of the ear diseases.*

## INTRODUZIONE

La clorexidina digluconato è un disinfettante ad azione antisettica (germicida) attivo nei confronti di lieviti e batteri Gram negativi e positivi. Essa agisce alterando la permeabilità di membrana degli agenti microbici favorendone la distruzione. In campo dermatologico veterinario, è utilizzata ampiamente in corso sia di piodermite sia di infezione da lieviti, a concentrazioni tra lo 0,5 ed il 4%. La sua attività disinfettante non è alterata dalla presenza di materiale organico e questo la rende particolarmente adatta in presenza di lesioni cutanee con detriti, essudato e croste<sup>1</sup>. È inoltre impiegata, in medicina veterinaria ed umana, come disinfettante del cavo orale a concentrazioni tra

0,005% e 0,2%<sup>2,3</sup>, come antibatterico ed antifungino nella detersione delle ferite e per lo *scrubbing* pre-chirurgico a 0,5%. L'efficacia della molecola come germicida è principalmente dovuta al tempo di contatto con gli agenti microbici<sup>3</sup>. È disponibile in preparazioni differenti quali: gel, schiuma, shampoo e soluzione. Lo scopo del presente lavoro è valutare l'efficacia clinica della clorexidina, in corso d'otite ceruminosa ed eritematosa da *Malassezia spp.* in formulazione gel a concentrazione dello 0,45% (Cloxyderm® Spot Gel, I.C.F.). Il gel garantisce la permanenza della molecola a contatto con i microrganismi patogeni per un tempo superiore rispetto ad altre preparazioni; questo consente di utilizzarla a concentrazioni non ototossiche (inferiore a 0,5%) senza alterarne l'effetto antisettico battericida/fungicida. Formulazioni simili sono, da qualche tempo, impiegate in medicina umana, per la terapia topica delle infezioni batteriche e fungine di cute e mucose, con risultati terapeutici già a concentrazioni di 0,1%-0,25%<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> "Articolo ricevuto dal Comitato di Redazione il 22/7/2002 ed accettato per pubblicazione dopo revisione l'1/12/2002".

## MATERIALI A METODI

Sono stati inclusi nello studio dieci cani d'età compresa tra i 18 mesi ed i 12 anni, appartenenti a razze e sesso diversi (Tabella 1). Lo studio è stato condotto seguendo i dettami della "good clinical practice" e con il consenso informato dei proprietari (G.U. n° 289, 10-12-1996, 47-53). Tutti i cani erano affetti da otite eritematosa ceruminosa mono e/o bilaterale, mai trattati precedentemente. I criteri d'inclusione degli animali nel gruppo sperimentale prevedevano: assenza d'otite purulenta, parassitaria, da corpo estraneo e la presenza d'integrità timpanica. Un'ulteriore selezione era fatta in base al risultato dell'esame citologico del cerume, effettuato su campione allestito con colorazione rapida (Diff-quick®) (Fig. 1). Si includevano nello studio solo gli animali in cui era stata dimostrata la presenza di lieviti del genere *Malassezia* spp. in quantità superiore ai 10 elementi per campo microscopico a 20X. In tutti i casi, inoltre, è stato effettuato un esame colturale su terreno Agar sangue per l'identificazione dell'agente eziologico principale.

Il protocollo terapeutico prevedeva: giorno 0 visita dermatologica ed inclusione, giorno 7 e giorno 21 controlli. Al giorno 0 era effettuata la prima applicazione del prodotto, a scopo dimostrativo, in presenza del proprietario. Il protocollo prevedeva: introduzione del gel nel condotto auricolare tramite apposito applicatore (presente nella confezione), massaggio manuale esterno del condotto stesso, per una migliore distribuzione del farmaco, ed infine l'asportazione del cerume e del gel in eccesso, mediante garza, dopo qualche minuto di contatto. Il trattamento veniva eseguito dal proprietario con due applicazioni giornaliere per 3 settimane. Ad ogni controllo successivo venivano ripetuti la visita clinica e gli esami citologici. Come parametri di controllo sono stati valutati: quantità di cerume presente, eritema, numero di lieviti evidenziabili ad ingrandimento microscopico 20X. L'evoluzione clinica veniva controllata attraverso una scala di valutazione a punteggio da 0 a 10 (0 = orecchio sano, 10 = orecchio con eritema ed ostruzione del canale auricolare da parte del cerume). Il giudizio citologico veniva definito in base al numero di lieviti presenti ad ingrandimento microscopico 20X con i seguenti parametri: <5 lieviti/20X = orecchio guarito, >10 lieviti/20X otite da *Malassezia*.

## RISULTATI

Al giorno 0 tutti gli animali presentavano un'otite ceruminosa eritematosa con presenza di lieviti superiore a 10 per campo ad ingrandimento microscopico 20X. L'esame colturale micologico evidenziava in tutti i casi la crescita di colonie di *Malassezia* spp. (5-10 per piastra). Al giorno 7, durante la visita clinica, si osservava un netto miglioramento con diminuzione di eritema e cerume in 9 animali su 10. In un cane, con normalizzazione del canale auricolare, si effettuava una modifica del protocollo terapeutico, applicando la clorexidina in gel una sola volta al giorno. L'esame citologico del cerume auricolare evidenziava diminuzione della popolazione dei lieviti: in 5 casi su 10 il numero di *Malassezia* spp. era compreso tra 5-10 per campo a 20X; nei restanti era inferiore 5 per campo a 20X (Tabella 2). Al giorno 21, 8 cani su 10 presentavano un condotto uditivo normale, con buona visualizzazione della membrana timpanica, mentre in 2 era residuo un modesto eritema (Tabella 3). Tutti gli esami citologici di controllo allestiti mostravano assenza o presenza non significativa di lie-

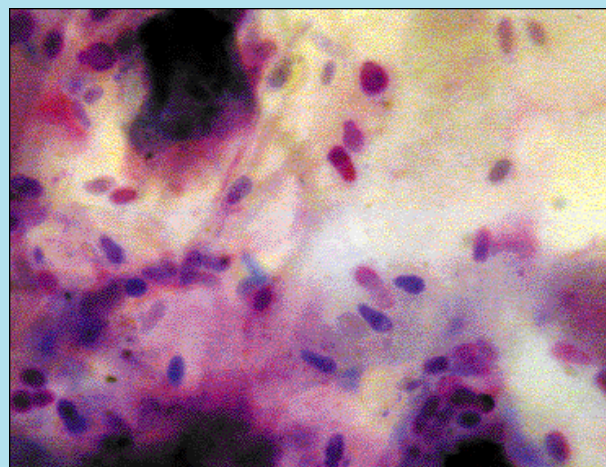


FIGURA 1 - Esame citologico allestito con colorazione rapida (diff-quick®). Sono ben visibili lieviti del gen. *Malassezia* spp. dalla caratteristica forma di nocciolina americana (*malassezie* >20/HPF) in parte adese a cheratinociti.

Tabella 1  
Animali inclusi nello studio

Caso	Razza	Sesso	Età	Motivo della visita
1	Epagnol breton	Maschio	18 mesi	Otite ceruminosa
2	Meticcio	Femmina	5 anni	Otite ceruminosa
3	Epagnol breton	Femmina	3 anni	Otite ceruminosa e piodermite
4	Yorkshire Terrier	Femmina	11 anni	Otite eritematosa ceruminosa
5	Meticcio	Maschio	9 anni	Otite ricorrente ceruminosa
6	Pechinese	Femmina	12 anni	Otite ricorrente eritematosa
7	Yorkshire Terrier	Femmina	12 anni	Otite ceruminosa
8	Pastore Tedesco	Femmina	10 anni	Otite eritematosa e piodermite
9	Pastore Tedesco	Maschio	10 anni	Otite ceruminosa eritematosa
10	Shih tzu	Femmina	5 anni	Otite ceruminosa eritematosa

viti (1-2 per campo a 20X) (Tabella 2). Durante tutto lo studio, non si sono osservati effetti collaterali dovuti all'applicazione del gel topico ed il prodotto è risultato ben tollerato da parte di tutti gli animali. Tutti i cani trattati sono giunti a guarigione clinica con normalizzazione del quadro citologico.

### CONCLUSIONI

La clorexidina è un disinfettante appartenente al gruppo delle biguanidi. Ha azione germicida ed è assorbita a livello della parete cellulare batterica dove induce modificazioni di membrana. Tali alterazioni consistono in: variazione della permeabilità di membrana (diminuzione del rap-

porto tra acidi grassi insaturi/saturi, con aumento dell'acido palmitico e stearico e diminuzione dell'acido palmitoleico ed oleico), successiva alterazione del metabolismo del glucosio e inibizione dell'ATPasi. La clorexidina è attiva nei confronti di batteri, lieviti e virus, con l'eccezione di alcuni ceppi di *Pseudomonas* e *Serratia*<sup>1,3</sup>. La sua efficacia nei confronti dei microrganismi patogeni varia sia in rapporto al tempo di contatto della molecola sia alla sua concentrazione<sup>3,4</sup>. Non causa, generalmente, fenomeni di irritazione topica o di sensibilizzazione, possiede azione residua e non è inattivata dalla presenza di materiale organico<sup>1</sup>. Per queste caratteristiche si è scelto di utilizzarla nel controllo delle otiti da *Malassezia*, dove, spesso il cerume è presente in quantità abbondante con possibile occlusione parziale o completa del condotto uditivo. Le con-

Tabella 2

Variatione del numero di *Malassezia* spp. nei cani sottoposti al trattamento. I prelievi citologici sono stati effettuati al giorno 0 (G0), 7 (G7) e 21 (G21); il conteggio dei lieviti è stato effettuato osservando 5 campi ad ingrandimento 20X

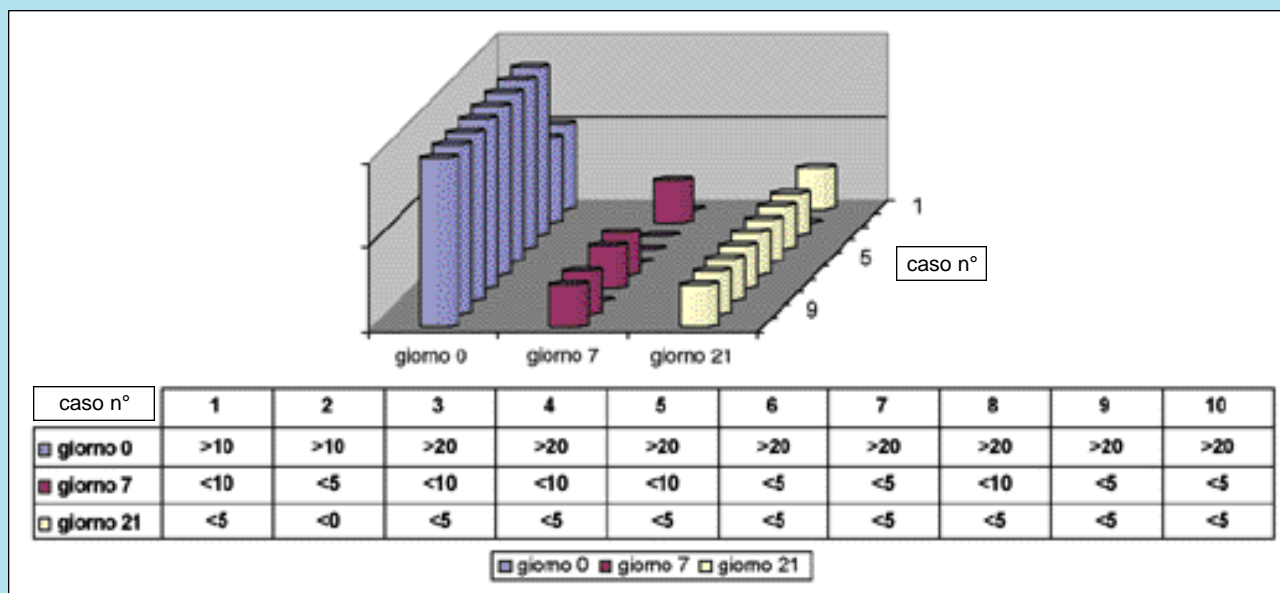


Tabella 3

Punteggio assegnato per valutare clinicamente l'evoluzione dell'otite in corso di terapia: da 0 a 10: 0 = orecchio sano, 10 = orecchio eritematoso con ostruzione del canale auricolare da parte del cerume

Caso	Eritema e cerume giorno 0	Eritema e cerume giorno 7	Eritema e cerume giorno 21
1	10	6	0
2	8	0	0
3	10	8	2
4	10	6	0
5	10	6	0
6	9	7	0
7	9	5	0
8	10	8	2
9	10	6	0
10	10	7	0

centrazioni efficaci nei confronti dei lieviti sono comprese tra il 2 ed il 4%<sup>1</sup>. Tuttavia, in determinate formulazioni, quest'azione può essere esplicata anche a concentrazioni inferiori e meno irritanti. La clorexidina veicolata in gel è fungicida e battericida anche allo 0,45% grazie al maggiore tempo di permanenza garantito dal veicolo<sup>4</sup>. La sua azione antisettica è stata valutata *in vitro* tramite test di laboratorio che ne hanno dimostrato l'efficacia<sup>4</sup>. In medicina umana, l'uso di questo disinfettante, è stato oggetto di studio nel trattamento delle infezioni del cavo orale sostenute da *Candida albicans*. I test *in vitro* hanno dimostrato che la clorexidina altera la composizione dei fosfolipidi e lipidi della membrana cellulare del lievito<sup>5</sup>. Il risultato di quest'azione porta ad una riduzione sia della replicazione del lievito, sia della sua capacità di adesione alla mucosa orale, con diminuzione della patogenicità. Si può ragionevolmente supporre che, la stessa azione, sia esplicata anche nei confronti di altri lieviti come la *Malassezia* spp. L'otite da *Malassezia* spp. è frequente negli animali da compagnia e, particolarmente, nel cane dove spesso è associata ad altre malattie dermatologiche o sistemiche<sup>1,6</sup>. Non sempre è possibile identificare la causa scatenante l'otite, soprattutto in assenza di una buona *compliance* da parte del proprietario. Per questo motivo, l'applicazione di prodotti topici efficaci e privi di effetti collaterali è importante nella gestione iniziale di questo tipo di otite. L'otite da *Malassezia* spp. è generalmente trattata sia con disinfettanti ad azione fungicida sia con antimicotici topici e sistemici. Gli antisettici comunemente utilizzati, oltre alla clorexidina, sono: acido acetico, mertiolato, iodio povidone e derivati. Tutti questi disinfettanti hanno potenziali effetti tossici sull'orecchio medio e/o interno<sup>1,7,8,9</sup>. Per questo motivo, è necessario che la membrana timpanica sia integra; in casi dubbi è consigliabile eseguire un lavaggio con detergenti e ceruminolitici atti solo ad asportare il materiale in eccesso e garantire la visione della membrana timpanica<sup>8,9,10,11</sup>. In presenza di lesioni timpaniche o nei casi in cui l'animale manifesti eccessivo dolore auricolare alla manipolazione medica, si preferisce la terapia sistemica con antimicotici quali per esempio il chetoconazolo<sup>1,12</sup>. In letteratura la clorexidina è considerata ototossica a concentrazioni superiori o uguali allo 0,5%<sup>3,8,9</sup>; tuttavia, la formulazione in gel allo 0,45% ne consentirebbe un uso terapeutico ragionevolmente sicuro nelle infezioni del canale auricolare dai lieviti. Nel gruppo di animali selezionati per lo studio, gli esami citologici ripetuti ad ogni controllo hanno mostrato la diminuzione della carica dei lieviti già a 7 giorni, concomitante al miglioramento clinico con riduzione dell'eritema e della quantità di cerume. Il numero dei lieviti, ai controlli citologici, si è mantenuto mediamente sotto i 5 elementi per campo ad ingrandimento microscopico 20X. Non sono stati riscontrati effetti collaterali quali aumento dell'eritema, dolore o sintomi neurologici vestibolari. I dati clinici e di laboratorio emersi, nonostante siano riferibili ad un basso numero di animali esaminati, mostrano la possibilità di impiegare la clorexidina in gel allo 0,45% come unico

trattamento topico nell'otite da lieviti. Una monoterapia con tali caratteristiche potrebbe essere di notevole utilità in tutti quei casi dove l'uso, per esempio, di un cortisonico, debba essere sospeso in funzione di determinate indagini cliniche e di laboratorio (vedi esecuzione di test allergologici). Basti pensare che vari tipi di cortisonici sono, di fatto, presenti nella maggior parte dei prodotti auricolari in commercio. La continua applicazione topica di questi anti-infiammatori può alterare il risultato dei test allergologici ed indurre nel paziente iperadrenocorticismismo iatrogeno; inoltre, un loro uso indiscriminato, può talvolta fuorviare o ritardare la corretta diagnosi.

## Ringraziamenti

Si ringrazia la ditta I.C.F. per aver fornito il materiale utilizzato nello studio clinico eseguito.

## Parole chiave

Cane, otite, *Malassezia*, clorexidina 0,45% in gel.

## Key words

Dog, otitis, *Malassezia*, chlorhexidine 0.45% gel.

## Bibliografia

1. Scott D. W., Miller W. H., Griffin C. E.: *Mueller & Kirk's Small Animal Dermatology*, 6<sup>th</sup> Edition. W. B. Saunders Co., Philadelphia, 2001, pp. 230, 371-374, 1203-1231.
2. Patton D.L., Sweeney Y.T., McKay T.I., DeMers S.M., Clark A.M., Rabe L.K., Hillier S.L.: 0.25% chlorhexidine gluconate gel. A protective topical microbicide. *Sex Transm Dis* 25, 1998, pp. 421-424.
3. Carlotti D.N., Maffart P.: La chlorhexidine, revue bibliographique. *Prat Méd Chir Anim Comp* 31, 1996, pp. 553-561.
4. Abu-Elteen K. H., Whittaker P.A.: Effect of sub-inhibitory concentration of chlorhexidine on lipid and sterol composition of *Candida albicans*. *Mycopathologia* 140, 1997, pp.69-76.
5. Biolab srl: rapporto finale n° 97/9511-4; Clorexyderm spot gel, valutazione dell'attività fungicida, 1997, pp. 1-20.
6. Kristensen F., Jacobsen J.O.G., Eriksen T.: Otology in dogs and cats, 1996, pp. 29-36.
7. Griffin C. E.: Principles of dermatologic therapy and topical therapy. *Proceedings of the ESVD Workshop on Dermatological Therapy*, Cremona, 1999, pp. 16-29.
8. Mansfield P.D., Miller S.C.: Ototoxicity of topical preparations. In *Small Animal Ear Diseases*, L.N. Gotthelf, Philadelphia, W.B. Saunders, 2000, pp. 145-154.
9. Rohn G. N., Meyerhoff W. L., Wright C. G.: Ototoxicity of topical agents. *Otolaryngol Clin North Am* 26, 1993, pp. 747-758.
10. Melman S.A.: Diagnosis and treatment of pruritic otitis. In *Small Animal Ear Diseases*, L.N. Gotthelf, Philadelphia, W.B. Saunders, 2000, pp. 213-222.
11. Griffin C. E., Kwochka K. W., MacDonald J. M.: Current veterinary Dermatology, St. Louis, Mosby Year Book, 1993, 254-262.
12. Whitford R.E.: Making Ear Care and Otitis Therapy: The Nuds and Bolts. In *Small Animal Ear Diseases*, L.N. Gotthelf, Philadelphia, W.B. Saunders, 2000, pp. 223-237.