

# VALUTAZIONE DELL'EFFICACIA DI UNA SOLUZIONE PER USO OTOLOGICO CONTENENTE CLOREXIDINA DIGLUCONATO E ALCHILAMIDOBETAINA NELLE OTITI ESTERNE DA *MALASSEZIA* SPP. E NELLE PROLIFERAZIONI BATTERICHE AURICOLARI DEL CANE

FABIA SCARAMPELLA, *Dip. ECVD* - CHIARA NOLI, *Dip. ECVD*  
*Studio Dermatologico Veterinario, Milano*

## Riassunto

Venti cani con otite esterna ceruminosa mono- o bilaterale sono stati trattati una volta al dì con una soluzione per uso otologico contenente clorexidina digluconato allo 0,26% e alchilamidobetaina allo 0,7% (Deroxen oto<sup>®</sup>, Teknofarma) per 2 settimane. I soggetti inclusi sono stati valutati clinicamente e citologicamente il giorno di inclusione e dopo 7 e 14 giorni di trattamento. I parametri clinici esaminati quali prurito, eritema, edema, quantità e odore del cerume sono migliorati in 19 dei 20 soggetti trattati.

La valutazione citologica ha evidenziato una diminuzione della presenza di lieviti e batteri in tutti i campioni esaminati al giorno 7 e al giorno 14 della sperimentazione.

I risultati di questo studio suggeriscono che il prodotto testato rappresenti una terapia efficace nelle otiti da *Malassezia* e nelle proliferazioni batteriche auricolari del cane.

## Summary

*Twenty dogs affected by mono-or bilateral otitis externa have been treated once daily with an otic solution containing chlorhexidine digluconate 0,26% and alchilamidobetaine 0.7% (Deroxen oto<sup>®</sup>, Teknofarma) for two weeks. Animals were evaluated clinically, cytologically before and after 7 and 14 days of therapy. The clinical parameters pruritus, erythema, oedema, amount and odour of cerumen were reduced in 19 dogs over 20. Cytologically a decreased number of yeast and bacteria was observed in all specimens examined on days 7 and 14 of the study. This study suggest that the product tested is an effective treatment of canine otitis externa caused by *Malassezia* spp. and of otic bacterial overgrowth.*

## INTRODUZIONE

L'otite esterna è un processo infiammatorio che interessa il padiglione auricolare ed il condotto uditivo esterno e rende quest'ultimo un ambiente favorevole alla moltiplicazione dei microrganismi patogeni. Essa può essere la conseguenza di un singolo agente causale oppure il risultato della somma di più fattori. La più recente classificazione degli

agenti eziologici dell'otite riconosce fattori predisponenti, cause primarie, cause secondarie e fattori perpetuanti.<sup>1,11</sup>

I fattori predisponenti, quali ad esempio la produzione eccessiva di cerume, aumentano il rischio che l'otite esterna si sviluppi. Le cause primarie comprendono malattie che sono in grado, da sole, di causare otite esterna ad esempio l'otocariasi, le malattie allergiche (atopia, allergia alimentare, dermatite da contatto) e i difetti di cheratinizzazione.

I lieviti e i batteri sono considerati come cause secondarie che possono indurre otite soltanto se associati a fattori predisponenti o a fattori perpetuanti quali le alterazioni patologiche progressive del condotto uditivo.

“Articolo ricevuto dal Comitato di Redazione il 22/12/2003 ed accettato per pubblicazione dopo revisione il 7/2/2004”.

L'approccio clinico e terapeutico all'otite esterna prevede da una parte l'identificazione e, qualora possibile, la correzione di tutte le cause che hanno contribuito al suo sviluppo, e dall'altra un'accurata pulizia del condotto uditivo seguita dall'applicazione di preparazioni topiche contenenti antibatterici/antifungini e antinfiammatori.<sup>5</sup>

La clorexidina è un composto biguanide efficace nei confronti di molti batteri Gram positivi e Gram negativi nonché di lieviti e funghi.<sup>7</sup> Preparazioni per uso otologico contenenti clorexidina gluconato allo 0,25% sono da tempo impiegate per la disinfezione dei condotti uditivi in cani con otite esterna e soluzioni di clorexidina acetato allo 0,2% sono state impiegate in uno studio in cani con perforazione timpanica senza che nessuno dei soggetti trattati abbia manifestato sindrome vestibolare.<sup>3</sup>

L'alchilamidobetaina è un tensioattivo anfolitico ben tollerato da cute e mucose che, grazie al suo potere detergente e schiumogeno consente di asportare efficacemente il cerume e gli essudati dal condotto uditivo e non richiede di essere risciacquato (Ref Teknofarma).

Lo scopo di questo studio è di valutare l'efficacia di un nuovo prodotto otologico veterinario contenente una soluzione allo 0,26% di clorexidina digluconato (pari allo 0,15% di clorexidina base) e un tensioattivo anfolitico, l'alchilamidobetaina, nelle otiti da *Malassezia* e nelle proliferazioni batteriche auricolari.

## MATERIALI E METODI

### Animali

Vennero inclusi nello studio i soggetti affetti da otite eritematosa-ceruminosa, mono- bilaterale da *Malassezia* e/o con sovraccrescita batterica, che non avevano ricevuto antibiotici, antimicotici, antistaminici, cortisonici, antinfiammatori non steroidei, né per via generale né locale, negli ultimi 15 giorni. Qualora i soggetti fossero stati trattati con cortisonici deposito, il tempo di sospensione richiesto era di 40 giorni.

Non vennero inclusi nella sperimentazione soggetti con otoacariasi, otite purulenta, perforazione timpanica o neoformazioni di qualsiasi origine, occludenti il canale auricolare.

I proprietari venivano informati preventivamente sui fini e sulle procedure dello studio e davano il proprio consenso verbale alla sperimentazione.

### Prodotto

Il prodotto impiegato nella sperimentazione era una soluzione di clorexidina digluconato allo 0,26% (pari a clorexidina base 0,15%) e di alchilamidobetaina allo 0,7% in veicolo acquoso.

### Procedure

I soggetti vennero valutati clinicamente dallo stesso sperimentatore il giorno dell'inclusione (giorno 0) e successivamente dopo 7 e 14 giorni. Nel corso della prima visita

vennero raccolti i dati segnaletici del soggetto e le informazioni relative alla presenza contemporanea o pregressa di altre malattie. Veniva inoltre accertata la mono- o bilateralità dell'otite, la sua durata, l'esistenza di episodi precedenti e gli eventuali trattamenti impiegati, nonché l'eventuale somministrazione di terapie concomitanti. Prima di applicare il prodotto vennero prelevati campioni di cerume da entrambi i condotti uditivi per l'esame citologico. La presenza nei preparati di granulociti neutrofili con batteri in sede intracitoplasmatica, era considerata diagnostica di infezione purulenta e precludeva l'inclusione del soggetto nello studio. In presenza di acari, accertata mediante esame otoscopio o microscopico, il cane veniva parimenti escluso.

Il giorno dell'inclusione il prodotto venne applicato in entrambi i condotti uditivi e, dopo un leggero massaggio, il cerume e i detriti presenti venivano rimossi. Un'ulteriore, piccola quantità della soluzione venne applicata dopo la pulizia. Non fu consentito l'impiego di altri detergenti auricolari per tutta la durata della sperimentazione.

La soluzione è stata impiegata per la pulizia dei condotti uditivi il giorno di inclusione e successivamente somministrata dal proprietario in ragione di 0,5 ml per orecchio una volta ogni 24 ore per la prima settimana, poi una volta ogni 48 ore la seconda settimana della sperimentazione.

La somministrazione di qualsiasi farmaco per via locale o generale ad eccezione di prodotti antiparassitari e terapie iposensibilizzanti in corso da più di sei mesi, era vietata per tutta la durata dello studio.

### Valutazione clinica

I parametri clinici quali prurito, eritema, edema e quantità e odore del cerume vennero valutati prima della somministrazione del prodotto e ai giorni 7 e 14 del trattamento impiegando una scala numerica da 0 a 3 (0 = assente, 1 = lieve, 2 = moderato, 3 = grave). Venne inoltre annotato il colore del cerume.

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

### Valutazione citologica

Da ciascun orecchio vennero prelevati campioni di cerume al giorno 0, 7 e 14. Un tampone venne introdotto in ciascun orecchio e successivamente rotolato su un vetrino portaoggetti. I preparati vennero fissati su fiamma e colorati con colorazione rapida (Dip Quick®, Dyaset, Portomaggiore) e lasciati asciugare all'aria.

La presenza di *Malassezia* spp. e di altri lieviti, di batteri di forma coccacea e bastoncellare venne valutata il giorno 0, 7 e 14 della sperimentazione. Nel corso di ciascuna valutazione citologica venivano esaminati dallo sperimentatore 10 campi microscopici ad immersione (1000 x). La presenza di più di 4 lieviti (*Malassezia* spp.) per campo veniva considerata diagnostica di infezione da lieviti mentre la presenza di più di un batterio di forma

bastoncellare e di più di cinque batteri di forma coccacea per campo era considerata diagnostica di sovraccrescita batterica.

## RISULTATI

Venti cani di proprietà sono stati inclusi nello studio. Il gruppo era eterogeneo per sesso, età e razza e comprendeva 6 meticci, un bracco italiano, un Cavalier King Charles,

un carlino, 3 labrador retriever, un bull terrier, un boxer, 2 bull dog Inglesi, un cocker americano, un cocker spaniel, un bassotto e un terranova. L'età dei cani inclusi era compresa tra i 4 mesi e i 14 anni e 12 soggetti erano di sesso maschile, 8 femminile di cui 3 femmine castrate.

La dermatite atopica era, per 14 dei soggetti, la causa primaria accertata; un soggetto era affetto da seborrea idiopatica primaria mentre per i 5 rimanenti non è stata individuata una causa primaria certa.

## Valutazione clinica

La valutazione clinica del trattamento ha evidenziato una buona risposta in 19 dei 20 soggetti trattati (Tab. 2).

Il colore del cerume, nei soggetti in cui ne persisteva una quantità apprezzabile al termine dello studio, non ha subito cambiamenti nella maggior parte dei soggetti esaminati.

## Valutazione citologica

In tutti i campioni citologici prelevati il giorno di inclusione è stata riscontrata la presenza di microrganismi. Lieviti del genere *Malassezia* spp. in quantità patologica sono stati osservati in 18 cani su 20. Questi erano presenti in forma esclusiva in 8 soggetti mentre in 10 i lieviti erano associati a batteri di forma coccacea in quantità patologica. Nei condotti uditivi di un solo soggetto era presente una elevata quantità di batteri (cocchi) in forma esclusiva. Infine nei preparati ottenuti dai condotti uditivi dell'ultimo

**Tabella 1**  
Razze canine e numero di soggetti per razza inclusi nello studio

Razza	Numero di soggetti
Incrocio	6
Labrador retriever	3
Bracco Italiano	1
Carlino	1
Cocker Americano	1
Terranova	1
Bull terrier	1
Cavalier King Charles	1
Boxer	1
Bull dog	2
Cocker spaniel	1
Bassotto	1

**Tabella 2**  
Valutazione clinica dell'orecchio il giorno di inclusione (giorno 0) e 7 e 14 giorni dopo il termine del trattamento (espressa in numero dei soggetti esaminati)

Parametro	Giorno	(0) Assente	(1) Lieve	(2) Moderato	(3) Grave
Prurito	Inclusione	1	5	10	4
	Giorno 7	5	12	2	0
	Giorno 14	13	6	0	0
Eritema	Inclusione	1	4	12	3
	Giorno 7	4	11	3	1
	Giorno 14	9	9	1	0
Edema	Inclusione	4	13	3	0
	Giorno 7	8	10	1	0
	Giorno 14	15	4	0	0
Quantità di cerume	Inclusione	0	7	12	1
	Giorno 7	3	14	2	0
	Giorno 14	8	10	1	0
Odore del cerume	Inclusione	0	11	8	1
	Giorno 7	4	12	3	0
	Giorno 14	9	9	1	0
Colore del cerume		Nessuno	Giallastro	Bruno	
	Inclusione	0	11	9	
	Giorno 7	3	8	8	
Giorno 14	10	3	6		

soggetto testato, ad un'elevata quantità di batteri (cocchi) era associato un numero di lieviti non patologico (<4 elementi a 1000 ingrandimenti) (Tab. 3).

In nessuno dei preparati allestiti sia il giorno d'inclusione che nel corso dei controlli successivi è stata osservata la presenza di batteri in forma bastoncellare e di lieviti diversi da *Malassezia* spp.

In nessuno dei campioni prelevati dopo 7 e 14 giorni di terapia è stata riscontrata la contemporanea presenza di lieviti e batteri in quantità patologica. Lieviti del genere *Malassezia* spp. in quantità minore rispetto al giorno di inclusione ma in numero superiore a 4 elementi per campo a 1000 ingrandimenti, sono stati osservati in 8 preparati, su 19 il giorno 7 e in 5 preparati su 19 l'ultimo giorno dello studio. L'esclusiva presenza di batteri in quantità inferiore a quella riscontrata il giorno di inclusione, ma in numero superiore a 5 elementi per campo a 1000 ingrandimenti, è stata osservata in due preparati solo il 7° giorno dello studio. La presenza di sovraccrescita batterica associata ad un numero di lieviti in quantità inferiore a 4 elementi per campo a 1000 ingrandimenti, è stata osservata in due campioni prelevati dopo sette giorni di terapia.

Due dei campioni prelevati il 14° giorno dello studio, risultavano privi di microrganismi. I restanti campioni esaminati presentavano un quadro microbiologico compatibile con un orecchio sano.

## Tollerabilità

Il prodotto è stato tollerato ottimamente da 19 su 20 cani trattati. Un solo cane, affetto da dermatite atopica, è stato ritirato dallo studio poiché ha manifestato aumento del prurito e dell'eritema del padiglione auricolare dopo tre giorni di terapia.

## DISCUSSIONE

L'otite esterna rappresenta uno dei motivi più frequenti di consulto veterinario. I dati della letteratura riportano un'incidenza del 5-10% su tutte le visite cliniche di routine<sup>5,6</sup>.

Tuttavia questo dato sottostima la situazione reale, dal momento che molte infiammazioni auricolari di lieve entità possono non venire notate dal proprietario<sup>2</sup>.

Fanno parte della normale microflora del condotto uditivo i lieviti del genere *Malassezia pachydermatis* e i batteri *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococchi* spp.  $\beta$  emolitici, *Micrococcus* spp. e occasionalmente *E. coli* in numero limitato<sup>4</sup>. In presenza di fattori predisponenti o di una causa primaria questi microrganismi possono proliferare in maniera eccessiva e comportarsi da patogeni.

La dermatite atopica è stata individuata come la causa primaria di otite in 14 su 20 soggetti. Questo conferma i dati presenti in letteratura in cui l'otite eritematosa viene riportata come la manifestazione clinica più frequente nei cani atopici (presente nell'83% dei casi)<sup>11</sup>.

Nei casi cronici spesso essa evolve in forma eritematoso-ceruminosa e viene complicata da infezioni secondarie batteriche e da lieviti. Tutti i cani atopici inclusi in questo studio presentavano otite eritematoso-ceruminosa complicata da sovraccrescita batterica e/o di *Malassezia* spp.

La presenza di *Malassezia* spp. in quantità patologica è stata osservata in 18 su 20 soggetti, in 11 dei quali era associata a cocchi in carica elevata. In un solo cane sono stati osservati esclusivamente batteri in quantità patologica. In nessun caso è stata apprezzata la presenza di batteri bastoncellari né di lieviti del genere *Candida*. Questi risultati sono sovrapponibili a quelli riportati in letteratura nei quali la presenza di *Malassezia* spp. in quantità patologica è stata osservata nel 56-82% circa delle otiti non parassitarie, e confermano, in caso di infezioni miste, la prevalenza dell'associazione di *Malassezia* spp. con batteri di forma coccacea (la totalità dei casi in questo studio)<sup>2,4,10</sup>. L'assenza di batteri bastoncellari e di *Candida* spp. nei preparati citologici sia il giorno di inclusione che nei successivi controlli, conferma la rarità con cui essi sono riscontrati in corso di otiti eritematoso-ceruminose e nell'orecchio sano<sup>10</sup>.

**Tabella 3**  
Presenza di lieviti e batteri valutata per ciascun soggetto con esame citologico del materiale auricolare prelevato il giorno di inclusione (giorno 0) e i giorni 7 e 14 del trattamento (espresso in n° di soggetti)

Microrganismi	Giorno 0	Giorno 7	Giorno 14
Assenti	0	0	2
Malassezia (>4 a 1000x)*	8	6	4
Malassezia (<5 a 1000x)	0	3	6
Bastoncelli (>1 a 1000x)*	0	0	0
Bastoncelli (1 a 1000x)	0	0	0
Cocchi (>5 a 1000x)*	1	1	0
Cocchi (<6 a 1000x)	0	1	0
Malassezia* + Cocchi*	10	0	0
Malassezia + Cocchi	0	4	6
Malassezia* + Cocchi	0	2	1
Malassezia + Cocchi*	1	2	0
Totale	20	19	19

\*Presenza del microrganismo in quantità anormale (>4 elementi a 1000 ingrandimenti per *Malassezia*, >5 elementi a 1000 ingrandimenti per i batteri di forma coccacea e >1 elemento a 1000 ingrandimenti per i batteri di forma bastoncellare).

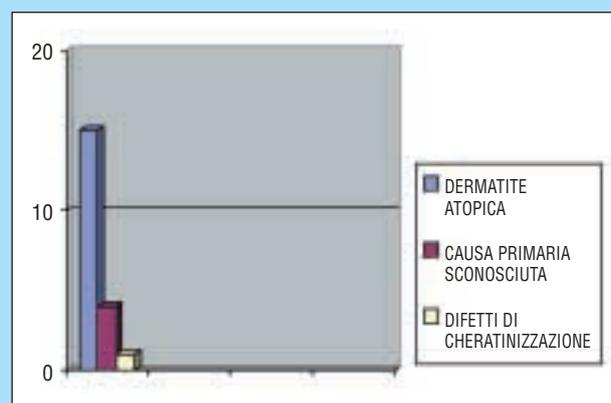


FIGURA 1 - Rappresentazione grafica della causa primaria di otite tra i soggetti inclusi.

La clorexidina è un disinfettante appartenente al gruppo delle biguanidi, largamente impiegato come disinfettante di cute e ferite, e per il lavaggio di cavità e tessuti molli<sup>9</sup>. L'attività battericida della clorexidina base sola o associata a coformulanti è ottimale alla concentrazione dello 0,4% con un tempo di contatto di 15 minuti per *Staphylococcus* spp. *Pseudomonas* spp. *Proteus mirabilis* e *Malassezia* spp.<sup>9</sup>

## CONCLUSIONI

Questo studio ha dimostrato che l'applicazione di una soluzione di clorexidina digluconato allo 0,26% contenente un tensioattivo anfoterico, l'alchilamidobetaina, consente l'asportazione efficace degli accumuli di cerume nel condotto uditivo ed una riduzione della carica batterica e di lieviti in questa sede. La riduzione della gravità di ciascun parametro clinico esaminato nella quasi totalità dei soggetti inclusi ha evidenziato l'efficacia del prodotto testato nelle otiti eritematoso-ceruminose, nelle otiti da *Malassezia* e nella sovraccrescita batterica auricolare.

Il trattamento con clorexidina allo 0,26% associata ad un tensioattivo anfoterico ha indotto una netta diminuzione della carica batterica e di lieviti già dopo sette giorni di terapia, e in 14 su 19 dei campioni prelevati il 14° giorno era presente un numero di microrganismi considerato normale in un orecchio sano. È possibile che questi risultati derivino sia dall'attività batteriostatica e fungistatica della clorexidina a questa concentrazione, sia all'attività del detergente che ha consentito di rimuovere gli accumuli di cerume, che rappresentano un ottimo terreno di coltura per i microrganismi patogeni nel condotto uditivo.

L'assenza di microrganismi nei preparati è stata osservata in due soli campioni prelevati il 14° giorno della sperimentazione, mentre 12 soggetti albergavano microrganismi in quantità fisiologica. In condizioni fisiologiche infatti in un orecchio sano la presenza di un limitato numero di batteri e lieviti è da considerarsi normale.

Uno solo dei cani testati ha interrotto lo studio poiché aveva manifestato un peggioramento dei segni clinici pochi giorni dopo l'applicazione del prodotto. La causa primaria dell'otite in questo soggetto era la dermatite atopica, e non è stato possibile accertare se l'aumento del prurito e

dell'eritema del padiglione auricolare fossero dovuti ad una reazione irritativa da contatto oppure ad un peggioramento della causa primaria. L'unico modo, infatti per differenziare le due condizioni, sarebbe stato provocare nuovamente il cane riapplicando la soluzione nel condotto uditivo, ma i proprietari rifiutarono di sottoporre il cane a questa indagine.

## Parole chiave

*Otite, clorexidina, alchilamidobetaina, cane, Malassezia, proliferazione batterica.*

## Key words

*Otitis, clorebxidine, alchilamidobetaine, dog, Malassezia, bacterial overgrowth.*

## Bibliografia

1. August JR: Otitis externa: A disease of multifactorial etiology. *Vet. Clin. North Am: Small Anim. Practice* 18(4):731-42, 1988.
2. Besignor E, Legeay D, Médaille Ch.: Etude prospective sur les otites externes du chien adulte en France. *Prat Med Chir Anim Comp.* 35: 405-414, 2000.
3. Merchant, S.R. et al: Ototoxicity assesement of a chlorexidine otic preparation in dogs. *Prog. Vet. Neurol.* 4:72-75, 1993.
4. 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.
5. 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.
6. Baba E, Fukata T, Saito M: Incidence of otitis externa in dogs and cats in Japan. *Vet. Rec.* 108:393-5, 1981.
7. Lloyd D.H., Lamport A.I.: Activity of chlorexidine shampoos in vitro against *Staphylococcus intermedius*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Malassezia pachydermatis*. *Veterinary Record*, 144:536-537.
8. 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.
9. Odore R., Re G., Colombatti ValleV.: Clorexidina digluconato nelle preparazioni ad uso dermatologico del commercio, valutazioni delle possibili variazioni di efficacia dovute ai coformulanti. Assorbimento transcutaneo in presenza di soluzioni di continuo. *Veterinaria* 5:83-89, 1999.
10. Chickering WR: Cytologic evaluation of otic exudates. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 18(4):773-82, 1988.
11. Scott D.W., Miller W.H., Griffin C.E. (2001): *Muller and Kirk's Small Animal Dermatology*, 6<sup>th</sup> edition. W.B. Saunders, Philadelphia.