

L'uso di una soluzione detergente auricolare a base di clorexidina 0,15% e Tris-EDTA nell'otite batterica

RIASSUNTO

Otodine® (ICF, Palazzo Pignano) è un detergente auricolare contenente clorexidina 0,15% e Tris-EDTA. Questo studio randomizzato in doppio cieco è stato eseguito per valutare l'efficacia di Otodine® come unico trattamento otologico in cani con sovraccrescita batterica (+/- *Malassezia*) od otite purulenta. Dopo un primo lavaggio auricolare eseguito in ambulatorio, i seguenti vennero effettuati giornalmente a casa. I parametri clinici (prurito/dolore, eritema, edema, quantità ed odore dell'essudato) vennero valutati al giorno 0, 14 e 28 con una scala di punteggio 0-4. Il conteggio citologico semiquantitativo di batteri e neutrofili (scala 0-4) venne effettuato ad ogni controllo sulle orecchie affette. Il confronto fra gruppi delle caratteristiche di base (età, peso e parametri clinici) è stato effettuato con l'analisi della varianza di Friedman (ANOVA). La comparazione tra gruppi della riduzione dei parametri clinici e citologici è stata eseguita usando il t-test di Student per dati appaiati. $P < 0,05$ è stato considerato statisticamente significativo. Sono state incluse nello studio 59 orecchie di 33 cani, 34 trattate con Otodine® e 25 con veicolo. Non c'era differenza significativa tra gruppi per età, peso, parametri clinici o citologici al Giorno 0. Il miglioramento nel gruppo con Otodine® è stato sempre maggiore del gruppo con veicolo. Nei giorni 14 e 28 nel gruppo con Otodine® c'è stato un miglioramento significativo di tutti i parametri, mentre nel gruppo con veicolo il miglioramento dell'edema e della conta dei neutrofili non era significativo. In conclusione, questo studio suggerisce che Otodine® è in grado di ridurre in modo significativo i parametri clinici ed i parametri citologici nell'otite batterica, se usato giornalmente per 14-28 giorni.

INTRODUZIONE

L'otite esterna è una delle malattie multifattoriali più comuni in dermatologia canina e l'identificare i fattori predisponenti, primari, secondari e complicanti è indispensabile per la sua risoluzione.¹ Sebbene un gran numero di casi siano associati ad una causa sottostante, le proliferazioni batteriche secondarie costituiscono fattori aggravanti che dovrebbero venire sempre trattati. Lavaggi auricolari frequenti con un agente disinfettante sono una componente molto importante per una efficace terapia dell'otite batterica,² soprattutto ora che l'emergenza di resistenze batteriche associate all'uso degli antibiotici e l'isolamento da infezioni auricolari di batteri resistenti a molte classi antibiotiche risulta sempre più attuale e frequente.³ Otodine® è un prodotto sviluppato per l'applicazione nel condotto uditivo esterno contenente clorexidina 0,15% e Tris EDTA, entrambi con efficacia comprovata nei confronti dei batteri.^{4,6}

Tris-EDTA ha un'azione battericida: si lega ai cationi bivalenti (Mg^{++} e Ca^{++}), aumenta la permeabilità di membrana e altera la stabilità dei ribosomi.⁷ L'acido etilendiaminotetracetico (EDTA) ha un'azione battericida diretta verso *Pseudomonas aeruginosa*, poiché chela gli ioni me-

I risultati di questo studio sono stati presentati al congresso annuale ESVD-ECVD a Bruxelles, in Belgio, nel 2011, e pubblicati come abstract su *Veterinary Dermatology* 2011; 22: 465.

"Articolo ricevuto dal Comitato di Redazione il 21/12/2011 ed accettato per la pubblicazione dopo revisione il 14/05/2012".

Chiara Noli*, **Svetlana Belova†**,
Emmanuel Besignor‡, **Kerstin Bergvall§**,
Giovanni Ghibaudo¶, **Monika Linek****,
Carmen Lorente††, **Laura Ordeix‡‡**,
Mario Galzerano¶¶

* Ospedale Veterinario Cuneese, Borgo S. Dalmazzo, Italia

† Department of Therapy, Institute of Veterinary Medicine and Animal Science, Estonian University of Life Sciences, Tartu, Estonia

‡ Dermatology Referral Service, Rennes-Cesson, Paris and Nantes, Francia

§ Department of Clinical Sciences, Swedish University of Agriculture, Uppsala, Svezia

¶ Clinica Veterinaria Malpensa, Samarate, Italia

** Tierärztliche Spezialisten, Hamburg, Germania

†† Centro de Dermatología Veterinaria ADERVET, Madrid, Spagna

‡‡ Hospital Ars Veterinaria, Barcelona, Spagna

¶¶ Università di Torino, Italia

tallici importanti per l'integrità della sua parete cellulare, blocca la pompa di efflusso e inattiva gli enzimi secreti dal batterio, che sarebbero altrimenti causa di ulcerazione e necrosi tissutale. Soluzioni tampone contenenti trometamina (Tris) vengono usate per migliorare gli effetti dell'EDTA su *Pseudomonas aeruginosa* e altri organismi Gram-negativi.⁸ Un altro meccanismo d'azione dell'EDTA nei confronti di batteri Gram-negativi sembra essere quello di sregolare le autolisine associate allo strato dei peptidoglicani, in modo da attivarle artificialmente e provocare la lisi batterica.⁹ Tris-EDTA ha anche dimostrato buoni effetti sinergici quando usato in combinazione con antibiotici, come gli aminoglicosidi o i fluorochinoloni.^{10,11} Grazie alla sua basicità (pH 8) è particolarmente adatto all'associazione con fluorochinoloni.

La clorexidina digluconato è un agente antisettico ad ampio spettro, con una buona attività residua, attivo su batteri e miceti.¹² Esercita la sua azione sulle membrane delle cellule batteriche, inducendo il deterioramento della loro funzione osmotica, la precipitazione del contenuto intracellulare e l'inibizione dell'ATP.¹² Utilizzata a basse concentrazioni non è irritante e non è inattivata dalle sostanze organiche.² Inoltre, in uno studio effettuato su cani con membrana timpanica intatta o chirurgicamente perforata, l'instillazione nel condotto uditivo esterno di una soluzione contenente clorexidina allo 0,20% non ha indotto neurotossicità vestibolare o cocleare.¹³ Se ne deduce che la clorexidina allo 0,15%, come in Otodine®, non dovrebbe essere ototossica.

L'associazione clorexidina digluconato con Tris-EDTA, presente in Otodine®, ha un effetto sinergico e, comparata *in vitro* con la sola clorexidina, si è dimostrata maggiormente attiva contro un'ampia varietà di batteri, permettendo l'uso di una concentrazione di clorexidina al di sotto dei livelli considerati irritanti per la cute e le mucose.¹⁴ Studi preliminari non controllati suggeriscono che Otodine® da solo è stato in grado di ridurre significativamente i parametri clinici e il numero di batteri e neutrofilii in corso di otite batterica.¹⁵⁻¹⁷

Lo scopo di questo studio in cieco e randomizzato è stato di valutare l'efficacia di Otodine® nel trattamento di orecchie affette da otite ceruminosa dovuta a sovraccrescita batterica, con o senza *Malassezia pachydermatis*, o da otite purulenta, e compararla a quella del solo veicolo.

MATERIALI E METODI

Animali

Gli animali utilizzati erano cani di proprietà reclutati da investigatori di diversi centri in Europa, durante la pratica clinica quotidiana (studio su campo internazionale multicentrico), sulla base dell'evidenza clinica e citologica di otite esterna bat-

terica con o senza la presenza di organismi del genere *Malassezia*. Un consenso informato è stato ottenuto oralmente da ogni proprietario prima dell'inizio dello studio.

Sono stati esclusi i cani affetti da otite causata da corpi estranei, otoacariasi (valutata mediante esame microscopico a fresco dell'essudato auricolare) o malattie neoplastiche del canale auricolare, cani con stenosi da moderata a grave, evidenza di rottura del timpano all'esame otoscopico, cani con otite media clinicamente manifesta (rotazione della testa, rottura del timpano, evidenze radiologiche di effusione nella bolla timpanica) o cani che sono stati trattati con prodotti otologici topici o antibiotici sistemici di qualunque natura, durante i dieci giorni precedenti l'inclusione. Durante lo studio non sono stati permessi cambiamenti di alimentazione o di ambiente o stile di vita.

Tipizzazione citologica dell'otite

Sono stati inclusi cani con otite ceruminosa da sovraccrescita batterica e cani con otite purulenta. Queste due forme di otite sono state diagnosticate osservando la presenza di un numero eccessivo di batteri nella valutazione citologica del cerume, raccolto con tamponi cotonati introdotti in ogni canale auricolare, strisciato su un vetrino poi colorato con una colorazione di Wright modificata (Diff-Quik® Baxter Diagnostic AG, Duingen, Switzerland o Hemacolor®, Merck, Darmstadt, Germania). L'otite ceruminosa da sovraccrescita batterica è stata diagnosticata con la presenza di un numero maggiore di 5 batteri per campo ad alto ingrandimento (HPF: 100x con immersione in olio) in assenza di neutrofilii, mentre l'otite purulenta è stata definita come la presenza di batteri e quantità significative di neutrofilii.

Trattamento

Gli animali sono stati assegnati casualmente a due gruppi: uno trattato con il veicolo, l'altro trattato con il solo Otodine®, entrambi applicati giornalmente. La randomizzazione è stata ottenuta con un codice di randomizzazione generato a computer. Né gli investigatori, né i proprietari conoscevano la natura (veicolo o prodotto attivo) del trattamento (studio in doppio cieco).

Otodine® contiene glicole propilenico, clorexidina digluconato 0,15% e Tris-EDTA tamponato a pH 8, mentre nel veicolo gli ultimi due ingredienti sono assenti. Il primo trattamento è stato somministrato dall'investigatore, dopo una accurata pulizia auricolare con la soluzione in esame, se necessario eseguita in anestesia generale. Dopo la pulizia il condotto auricolare è stato completamente riempito con la soluzione e successivamente delicatamente massaggiato per 3-5 minuti. Al cane sveglia è poi stato permesso di scuotere la testa ed eliminare il liquido in eccesso, mentre nel cane in anestesia questo è stato aspirato meccanicamente.

mente. I proprietari sono stati poi istruiti al fine di ripetere il trattamento (applicazione del prodotto, massaggio del dotto e scuotimento della testa) a casa una volta al giorno per 4 settimane.

Valutazione clinica e citologica della terapia

I parametri clinici (prurito/dolore, eritema, edema, quantità e odore dell'essudato) sono stati valutati soggettivamente dall'investigatore al giorno 0, 14 e 28, con una scala da 0 a 4 (0=assente, 1=lieve, 2=moderato, 3=grave, 4=molto grave). I cani sono stati valutati dallo stesso investigatore durante tutto lo studio.

I conteggi semiquantitativi di batteri e neutrofilii (scala da 0 a 4) nei preparati citologici sono stati eseguiti ad ogni visita per ogni orecchio incluso nello studio, con il sistema di valutazione riportato nella Tabella 1. Per ogni campione sono stati valutati 10 campi ad immersione (HPX, 100x), scelti fra i più rappresentativi e il valore riportato nella Tabella 2 rappresenta la loro media.

Statistica

La comparazione fra gruppi delle caratteristiche al giorno 0 (età, peso e parametri clinici) è stata effettuata utilizzando l'analisi della varianza di Friedman (ANOVA), non essendo i dati delle caratteristiche di base distribuiti normalmente. Il test di Bonferroni è stato utilizzato per valutare le differenze *post-hoc* tra i gruppi. La valutazione dei parametri clinici e citologici nei giorni 0 e 14, 0 e 28 e 14 e 28 è stata effettuata utilizzando il test ANOVA per misure ripetute con *post-hoc*.

L'influenza dei punteggi totali iniziali (i punteggi di tutti i parametri sommati fra di loro) sui parametri al giorno 28 è stata valutata per mezzo della regressione lineare. L'influenza dei punteggi batterici sui punteggi finali totali è stata valutata per mezzo della regressione lineare con comparazione diretta (ANOVA). Un valore P inferiore a 0.05 è stato considerato statisticamente significativo. Le analisi sono state effettuate utilizzando Predictive Analytics Software 18.0 per Windows.

TABELLA 1
Valutazione semiquantitativa della citologia auricolare

Batteri	Neutrofilii
0 - nessun batterio	0 - assenti
1 - meno di 5 batteri/HPF	1 - presenti <1x10HPF
2 - 5/10 batteri/HPF	2 - presenti 1-5x10HPF
3 - 10/25 batteri/HPF	3 - presenti 5-10x10HPF
4 - > 25 batteri/HPF	4 - presenti >10x10HPF

HPF= campo ad alto ingrandimento a 100x con olio da immersione.

RISULTATI

Allo studio hanno partecipato sei centri veterinari europei. Sono stati inclusi nello studio 59 orecchie di 33 cani. Quattro cani (7 orecchie) sono stati reclutati in Polonia, 13 cani (24 orecchie) in Francia, due cani (3 orecchie) in Svezia, tre cani (4 orecchie) in Germania, due cani (4 orecchie) in Italia, e nove cani (17 orecchie) in due centri in Spagna. Di questi sette erano Labrador Retrievers, quattro Bouledogue Francesi, due Bassotti tedeschi, due Shar-pei e un Bassotto, un West Highland White Terrier, uno Schnauzer, uno Shetland Shepherd, un Setter Inglese, un Setter Irlandese, un Cavalier King Charles, un Cocker Spaniel e un Akita e quattro erano incroci. Undici erano femmine intere, 6 sterilizzate, 13 maschi interi e 3 maschi sterilizzati. L'età variava dagli 8 mesi ai 14 anni (con una media di quattro anni e nove mesi), il peso andava dai 4 ai 61 kg (con una media di 22,5 kg). Quarantaquattro orecchie erano affette da otite ceruminosa e 15 presentavano un essudato purulento.

Venticinque orecchie sono state assegnate al gruppo veicolo e 34 al gruppo Otodine®. Di tre cani del gruppo trattati con Otodine® (4 orecchie) e di 4 cani del gruppo trattati con il veicolo (8 orecchie) si è perso il *follow up* dopo il primo controllo (14° giorno) e i loro risultati sono stati considerati nelle valutazioni statistiche finali al 28° giorno con il metodo ITT (*intention to treat*).

Non è stata rilevata una differenza significativa tra i gruppi per l'età, il peso, per i parametri clinici e citologici al giorno 0. Delle 34 orecchie trattate con Otodine® 13 presentavano otite purulenta, mentre tra le orecchie trattate con il veicolo solo 2/25 avevano questo tipo di infezione.

La distribuzione e l'aspetto citologico dei microrganismi al giorno dell'inclusione sono mostrati in Tabella 2.

Le Tabelle 3a e 3b riassumono la media dei punteggi e la deviazione standard per ognuno dei parametri valutati e per entrambi i gruppi al giorno 0, 14 e 28. Nel gruppo trattato con Otodine®, sia al 14° giorno che al 28° giorno, è stato rilevato un miglioramento significativo di tutti i parametri clinici e citologici. Nel gruppo trattato con il veicolo

TABELLA 2
Numero di orecchie per tipo di microorganismo osservato all'esame citologico al momento dell'inclusione. N=59 orecchie

Gruppo	Cocchi	Cocchi e Malassezia	Bacilli	Cocchi e bacilli	Totale
Otodine®	9	11	7	7	34
Veicolo	15	6	0	4	25
Totale	24	17	7	11	59

TABELLA 3a
Media dei punteggi +/- deviazione standard in 34 orecchie trattate con Otodine®

Parametri (n=34)	G0	G14	Valore P G0-G14	G28	Valore P G0-G28
Prurito/dolore	2.2 +/- 0.699	1.32 +/- 0.684	<0.000	1.03 +/- 0.674	<0.000
Eritema	2.26 +/- 0.71	1.29 +/- 0.836	<0.000	1.03 +/- 0.797	<0.000
Edema	1.38 +/- 1.206	0.94 +/- 1.013	0.002	0.76 +/- 0.855	<0.000
Quantità essudato	2.59 +/- 0.821	1.29 +/- 1.06	<0.000	1.03 +/- 0.969	<0.000
Odore	1.94 +/- 1.229	0.91 +/- 0.866	<0.000	0.59 +/- 0.743	<0.000
Conteggio batteri	2.94 +/- 0.814	1.29 +/- 1.194	<0.000	0.94 +/- 1.179	<0.000
Conteggio neutrofili	1 +/- 1.456	0.32 +/- 0.535	0.002	0.18 +/- 0.387	0.001

TABELLA 3b
Media dei punteggi +/- deviazione standard in 25 orecchie trattate con il veicolo
(* = differenza non significativa)

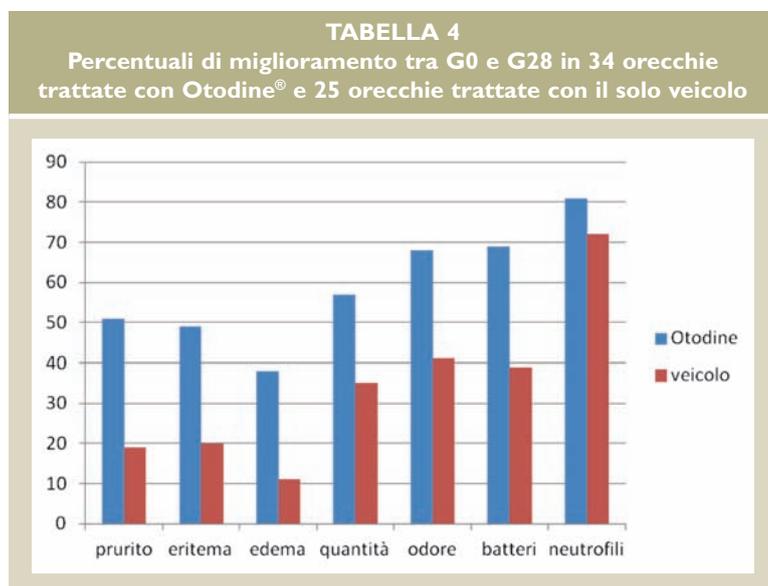
Parametri (n=25)	G0	G14	Valore P G0-G14	G28	Valore P G0-G28
Prurito/dolore	2 +/- 0.707	1.4 +/- 0.764	0.005	1.36 +/- 0.860	0.008
Eritema	2 +/- 0.866	1.36 +/- 0.907	<0.000	1.44 +/- 0.917	0.005
Edema*	0.8 +/- 0.764	0.76 +/- 0.779	0.574*	0.64 +/- 0.81	0.161*
Quantità essudato	2 +/- 0.577	1.4 +/- 0.5	0.001	1.16 +/- 0.746	<0.000
Odore	1.2 +/- 1.041	0.72 +/- 0.792	0.001	0.6 +/- 0.866	0.19
Conteggio batteri	2.8 +/- 0.866	2.08 +/- 1.115	<0.000	1.6 +/- 1.258	<0.000
Conteggio neutrofili*	0.4 +/- 1	0.24 +/- 0.523	0.212*	0.28 +/- 0.614	0.478*

è stato rilevato un miglioramento significativo al giorno 14 e al giorno 28 dei parametri prurito/dolore, eritema, quantità e odore dell'essudato e del numero dei batteri, mentre il miglioramento dell'edema e della conta dei neutrofili non si è dimostrato significativo. Miglioramenti significativi

degli stessi parametri nei due gruppi sono stati riscontrati anche fra il giorno 14 e il giorno 28. È importante notare come il punteggio iniziale di gravità totale (somma del punteggio di tutti i parametri) abbia influenzato significativamente i parametri al giorno 28 (p=0,000 per tutti i parametri). Il miglioramento del gruppo Otodine® si è dimostrato sempre maggiore di quello del gruppo di controllo, come dimostrato in modo descrittivo nella Tabella 4.

Anche se all'inizio dello studio la media del punteggio totale del gruppo Otodine® era più alta di quella del gruppo di controllo (14 contro 11,4), nel gruppo Otodine® è stata ottenuta una guarigione completa (punteggio 0) in 6 orecchie (17% delle orecchie trattate), contro nessuna del gruppo trattato con il veicolo. Allo stesso modo, nel primo gruppo il 59% delle orecchie ha raggiunto un punteggio di ≤5, in confronto al 44% del secondo gruppo (Tabella 5).

Considerando il tipo di otite riportata al giorno 0, la terapia con Otodine® ha permesso un significativo miglioramento di tutti i parametri sia negli animali che presentavano otite ceruminosa dovuta a sovraccrescita batterica, sia in quelli che erano affetti da otite purulenta. I secondi mostravano un miglioramento maggiore dell'edema rispetto ai



primi. L'iniziale conta batterica ha avuto una influenza significativa sul risultato finale ($p=0,000$), poiché gli animali con una quantità inferiore di batteri hanno mostrato un punteggio finale più basso. Una comparazione statistica dei risultati tra le orecchie con i cocchi e quelle con i bastoncini non è stata possibile, per via del ridotto numero delle seconde rispetto alle prime. Non sono state riportate reazioni avverse in nessuno dei due gruppi.

DISCUSSIONE

È risaputo che il Tris-EDTA e la clorexidina, componenti dell'Otodine®, sono capaci di potenziare l'efficacia degli antibiotici topici, anche nei confronti dei batteri resistenti, se questi ultimi sono applicati 30-60 minuti dopo il disinfettante.^{18,19} L'uso quotidiano di Otodine® come lavaggio auricolare associato agli antibiotici topici è un protocollo terapeutico utilizzato comunemente per le otiti batteriche.

L'eccessivo uso di antibiotici porta allo sviluppo di antibiotico-resistenza, e negli ultimi anni è aumentata la preoccupazione per il diffondersi dei batteri meticillino-resistenti e multi-resistenti²⁰. Dopo la prima segnalazione dell'isolamento di *S. intermedius* (chiamato ora *S. pseudintermedius*) multi- e meticillino-resistente, avvenuto 4 anni fa in Europa²¹, c'è stata una diffusa e rapida emergenza di ceppi di stafilococchi meticillino-resistenti in medicina veterinaria dei piccoli animali nel nostro²² e in altri continenti.^{23,24} È opinione comune ritenere che gli antibiotici dovrebbero essere evitati, quando possibile, per il trattamento delle infezioni batteriche superficiali, come la piodermite superficiale e l'otite esterna, mentre al loro posto dovrebbero essere usate le soluzioni disinfettanti topiche. La clorexidina è indicata come una molecola adatta a questo scopo.²⁰ Sebbene negli stafilococchi le pompe di efflusso per i farmaci possano mediare la resistenza alla clorexidina o ad altre sostanze antisettiche,^{25,26} è stato riportato che l'uso della clorexidina non induce antibiotico-resistenza nei batteri.²⁷

Un'opzione per il trattamento delle otiti infettive, in accordo con queste linee guida, è l'uso di soluzioni disinfettanti come l'Otodine® per il lavaggio delle orecchie. Ci sono solo pochi studi in letteratura che valutano l'efficacia di soluzioni disinfettanti nelle otiti batteriche canine, in genere a base di clorexidina (con o senza Tris-EDTA)^{15-17,28} o acido lattico/salicilico.²⁹⁻³¹

In accordo con i risultati del nostro studio, la maggior parte di questi articoli descrive un miglioramento dei parametri clinici e batteriologici, con risultati significativi già dopo una settimana di trattamento. Di questi, in uno studio si comparavano orecchie trattate con un prodotto a base di

TABELLA 5 Numero di orecchie trattate giornalmente con Otodine® o con il veicolo per 28 giorni che hanno raggiunto un punteggio pari a 0 o ≤ 5 al giorno 28 (e % sul totale delle orecchie trattate per ogni gruppo)			
	Media punteggio G0	N. orecchie con punteggio 0 al G28 (guariti)	N. orecchie con punteggio ≤ 5 al giorno 28
Otodine n=34	14	6 (17%)	20 (59%)
Veicolo n=25	11.4	0 (0%)	11 (44%)

acido lattico, acido salicilico, docusato di sodio, glicole propilenico e paraclorometaxilenolo (Epiotic®, Virbac, Carros, Francia) a quelle non trattate²⁹ e in un altro è stato usato un prodotto a base di acido salicilico, docusato di sodio, paraclorometaxilenolo, acido sodico etilendiamminicotetracetico e monosaccaridi antiadesivi (Epiotic con Anti-Adhesive Complex®, Virbac, Carros, Francia) controllato dal prodotto di referenza (Epiotic®, Virbac Carros, Francia).³¹ Tuttavia in nessuno di questi sono stati testati la clorexidina e/o il Tris-EDTA come agenti disinfettanti. Pertanto lo studio descritto in questo articolo è il primo studio randomizzato e controllato in doppio cieco che valuta l'efficacia della soluzione otologica a base di clorexidina e tris-EDTA come unico trattamento delle otiti esterne batteriche o sostenute da batteri e *Malassezia*.

Studi precedenti non controllati pubblicati da Ghi-baudo¹⁶ et al. e Swenton¹⁷ et al. che descrivono l'uso di Otodine® hanno mostrato una buona efficacia (miglioramento clinico e microbiologico) in approssimativamente i due terzi dei cani dopo 10-14 giorni, con un decremento della sintomatologia di circa il 90% dopo un mese di terapia. Nel primo studio,¹⁶ i parametri clinici e microbiologici erano migliorati rispettivamente del 61,4% e 74,7% al giorno 14, e del 87% e 90,4% al giorno 28, con dei risultati migliori di quelli osservati nel nostro studio. È importante rimarcare, però, che in alcuni di questi animali è stato permesso l'uso contemporaneo di enrofloxacin topica. Nel secondo articolo,¹⁷ i parametri clinici migliorarono del 70,3%, risultati più in accordo con i nostri.

Nel nostro studio controllato la soluzione di lavaggio Otodine® è stata confrontata al suo veicolo. È interessante notare come entrambi i prodotti abbiano determinato un miglioramento significativo della maggior parte dei parametri valutati al 28° giorno, sebbene il miglioramento fosse maggiore nel gruppo trattato con Otodine® (incluse alcune orecchie che ottennero una guarigione completa), confermando che l'azione detergente della soluzione, capace di rimuovere detriti ed essudati, è fondamentale nel trattamento dell'otite esterna.² Da un lato questo studio rimarca l'importanza del lavaggio auricolare quotidiano nel trattamento del-

le otiti: se da solo è efficace contro le otiti batteriche, è poi indispensabile in associazione con gli antibiotici nelle infezioni auricolari più difficili. Dall'altro lato, il risultato migliore ottenuto con l'utilizzo di Otodine® rispetto al suo veicolo sottolinea l'importanza di usare in corso di otite una soluzione antibatterica attiva, e non solamente un prodotto per la pulizia delle orecchie. Questa conclusione è sostenuta dalle diverse percentuali di miglioramento osservate per i leucociti e i microrganismi: mentre l'azione meccanica del lavaggio porta ad una diminuzione simile fra i due gruppi del numero di neutrofili (Otodine® 80% e veicolo 70%), la riduzione del numero di batteri è maggiore per il gruppo Otodine® rispetto al gruppo di controllo (Otodine® 70% e veicolo 40%), testimoniando l'importante attività disinfettante dell'associazione clorexidina/Tris-EDTA.

Nel nostro studio non sono state segnalate reazioni avverse. Sebbene le reazioni di ipersensibilità cutanea verso la clorexidina siano state riportate negli uomini, esse sono considerate rare.³² Si sa inoltre che la clorexidina allo 0,2% instillata nel canale auricolare con membrana timpanica perforata non induce ototossicità,¹³ per questo Otodine® può essere considerato sicuro per il trattamento dell'otite esterna dei cani, sia con timpano intatto che perforato.

Infine, per questo particolare studio multicentrico di campo, è stato scelto di non allestire colture batteriche dalle orecchie affette, per motivi organizzativi dovuti alla natura multicentrica internazionale dello studio. Sarebbe stato interessante osservare una possibile correlazione tra la virulenza delle specie batteriche e l'entità del miglioramento clinico, ma precedenti studi non hanno mostrato correlazioni,¹⁵⁻¹⁷ e anche la relazione tra i risultati citologici e le colture batteriche sono stati scarsi.³³

In conclusione, il nostro studio conferma che Otodine® è capace di ridurre significativamente, da solo, i parametri clinici e citologici delle otiti batteriche, se usato quotidianamente per 14-28 giorni. Sia la sovraccrescita batterica sia l'otite batterica (in assenza di otite media) hanno mostrato significativi miglioramenti, rendendo Otodine® un valido aiuto in tutti i casi di infezione batterica auricolare. Grazie alla sua capacità di diminuire in maniera significativa la conta batterica anche nell'otite purulenta, esso può essere considerato un'opzione interessante nei casi di infezioni da batteri multi-resistenti, quando un uso più razionale degli antibiotici o un'alternativa non-antibiotica è da preferire.

FONTI DI FINANZIAMENTO

Questo studio è stato sponsorizzato da ICF S.r.l., Palazzo Pignano (CR), Italia.

CONFLITTI DI INTERESSE

C. Noli e G. Ghibaudo hanno effettuato consulenze per ICF S.r.l. come per diverse altre compagnie farmaceutiche e di alimenti per animali.

Gli altri autori dichiarano di non avere conflitti di interesse correlabili a questo studio.

Parole chiave

Clorexidina, tris-EDTA, otite, cane, cute.

■ The use of an ear flushing solution with chlorhexidine 0.15% and Tris-EDTA in bacterial otitis

Summary

Otodine® (ICF, Palazzo Pignano, Italy) is an ear flushing solution containing 0.15% chlorhexidine and Tris EDTA.

The aim of this randomized double-blinded study was to evaluate the efficacy of Otodine® as sole treatment of canine ears with bacterial overgrowth (+/- *Malassezia*), or purulent otitis. After the first ear flushing performed by the investigator, the following flushings were performed by the owner daily at home.

Clinical signs (pruritus/pain, erythema, oedema, quantity and odour of the exudate) were evaluated on day 0, 14 and 28, with a 0-4 point scale. Bacteria and neutrophils semiquantitative (0-4 scale) counts on cytology were performed at each time point from each ear.

Within-group comparison of the baseline characteristics (age, weight and clinical parameters) was performed using a Friedman analysis of variance (ANOVA).

Between-group comparison of the reduction of clinical and cytological parameters was performed using the Paired-Samples Student's t-test. $P < 0.05$ was considered statistically significant.

Fifty-nine ears, 34 treated with Otodine® and 25 with the vehicle, of 33 dogs were included into the study. There was no significant difference between groups for age, weight, clinical or cytological parameters at Day 0.

Improvement in the group treated with the active ingredients was always greater than in the one treated with the vehicle.

At day 14 and 28 in the active treatment group there was a significant improvement of all parameters, while in the vehicle group improvement of oedema and neutrophil count was not significant. In conclusion, this study suggests that Otodine is able to significantly reduce clinical and cytological parameters in bacterial otitis, if used daily for 14-28 days.

Key words

Chlorhexidine, tris-EDTA, otitis, dog, skin.

BIBLIOGRAFIA

1. August JR. In: Solvay Veterinary Inc. The complete manual of ear care, Trenton NJ: Veterinary Learning Systems USA, 1986, p. 37.
2. Griffin CE. Otitis externa and otitis media. In: Current Veterinary Dermatology. The Art and Science of Therapy. Eds Griffin CE, Kwochka KW, Macdonald JD. St. Louis, Mosby-Year Book, 1993, p. 245-62.
3. Oliveira LC, Leite CA, Brilhante RS, Carvalho CB. Comparative study of the microbial profile from bilateral canine otitis externa. Canadian Veterinary Journal; 49: 785-8, 2008.
4. Guardabassi L, Ghibaud G, Damborg P. In vitro antimicrobial activity of a commercial ear antiseptic containing chlorhexidine and Tris-EDTA. Veterinary Dermatology; 21: 282-6, 2010.
5. Harper WE, Epis JA. Effect of chlorhexidine/EDTA/Tris against bacterial isolates from clinical specimens. Microbios; 51: 107-12, 1987.
6. Wooley RE, Jones MS. Action of EDTA-Tris and antimicrobial agent combinations on selected pathogenic bacteria. Vet Microbiol; 8: 271-80, 1983.
7. Metry AC, Maddox CW, Dirikolu L, et al. Determination of enrofloxacin stability and in vitro efficacy against Staphylococcus pseudintermedius and Pseudomonas aeruginosa in four ear cleaner solutions over a 28 day period. Vet Dermatol; 23: 23-28, 2012.
8. Goldschmidt MC, Wyss O. The role of Tris in EDTA toxicity and lysozyme lysis. J Gen Microbiol; 47: 421-31, 1967.
9. Watt SR, Clarke AJ. Role of autolysins in the EDTA-induced lysis of Pseudomonas aeruginosa. FEMS Microbiol. Lett.; 124: 113-20, 1994.
10. Sparks TA, Kemp DT, Wooley RE, Gibbs PS. Antimicrobial effect of combinations of EDTA-Tris and amikacin or neomycin on the microorganisms associated with otitis externa in dogs. Vet Res Commun; 18: 241-9, 1994.
11. Gotthelf LN. Evaluation of the in vitro effect of Tris-EDTA on the minimum inhibitory concentration of enrofloxacin against ciprofloxacin resistant Pseudomonas aeruginosa. In: Proceedings of 19th Annual Congress of ESVD-ECVD, Tenerife, 2003, p. 145.
12. Guaguere E. Topical treatment of canine and feline pyoderma. Veterinary Dermatology; 7: 145-51, 1996.
13. Merchant SR, Neer TM, Tedford BL, et al. Ototoxicity assessment of a chlorhexidine otic preparation in dogs. Prog Vet Neurol; 4: 72-5, 1993.
14. Harper WE. Simple additives to increase the activity of chlorhexidine digluconate against urinary pathogens. Paraplegia; 21: 86-93, 1983.
15. Ghibaud G, Cornegliani L, Martino P. Evaluation of the in vivo effects of Tris-EDTA and chlorhexidine digluconate 0.15% solution in chronic bacterial otitis externa: 11 cases. Veterinary Dermatology; 15: 41-69, 2004.
16. Ghibaud G, Cornegliani L, Martino P. Efficacia e tollerabilità di una soluzione con Tris-EDTA e clorexidinadigluconato 0,15%. Summa; 4: 1-8, 2007.
17. Swanton AK, Cikota R, Guardabassi L. Terapia anti-séptica de otite esterna. Veterinary Medicine: 31-7, 2010.
18. Farca AM, Nebbia P, Re G. Potentiation of antibiotic activity by EDTA-tromethamine against three clinically isolated gram-positive resistant bacteria. An in vitro investigation. Vet Res Commun; 18: 1-6, 1994.
19. Farca AM, Piromalli G, Re G. Potentiation of antibiotic activity by EDTA-Tris on the activity of antibiotics against resistant bacteria associated with otitis, dermatitis and cystitis. J Small An Practice; 38: 243-5, 1997.
20. European Medicine Agency. Reflection paper on methicillin-resistant Staphylococcus pseudointermedius. Available at www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2011/02/WC500102017.pdf. Published Feb 4, 2011. Accesso al sito 20 Dicembre 2011.
21. Loeffler A, Linek M, Moodley A, Guardabassi L, Sung JML, Winkler M, Weiss R, Lloyd DH. First report of multiresistant, mecA-positive Staphylococcus intermedius in Europe: 12 cases from a veterinary dermatology referral clinic in Germany. Veterinary Dermatology; 18: 412-21, 2007.
22. Ruscher C, Lübke-Becker A, Semmler T, Wleklinski CG, Paasch A, Soba A, Stamm I, Kopp P, Wieler LH, Walther B. Widespread rapid emergence of a distinct methicillin- and multidrug-resistant Staphylococcus pseudintermedius (MRSP) genetic lineage in Europe. Vet Microbiol; 144: 340-6, 2010.
23. Perreten V, Kadlec K, Schwarz S, Grönlund Andersson U, Finn M, Greko C, Moodley A, Kania SA, Frank LA, Bemis DA, Franco A, Iurescia M, Battisti A, Duim B, Wagenaar JA, van Duikeren E, Weese JS, Fitzgerald JR, Rossano A, Guardabassi L. Clonal spread of methicillin-resistant Staphylococcus pseudintermedius in Europe and North America: an international multicentre study. J Antimicrob Chemother; 65: 1145-54, 2010.
24. Onuma K, Tanabe T, Sato H. Antimicrobial resistance of Staphylococcus pseudintermedius isolates from healthy dogs and dogs affected with pyoderma in Japan. Vet Dermatol 23: 17-22, 2012.
25. McDonnell G, Denver Russell A. Antiseptics and disinfectants: Activity, action and resistance. Clinical Microbiology Reviews; 12: 147-79, 1999.
26. Longtin J, Seah C, Siebert K et al. Distribution of antiseptic-resistant genes gacA/B and smr in methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolated in Toronto 2005-2009. Antimicrobial Agents and Chemotherapy; 55(6): 2999-3001, 2011.
27. Weber DJ, Rutala WA. Use of germicides in the home and the healthcare setting: Is there a relationship between germicide use and antibiotic resistance? Infection Control and Hospital Epidemiology; 27: 1107-19, 2006.
28. Scarpampella F, Noli C. Valutazione dell'efficacia di una soluzione per uso otologico contenente cloressidina digluconato e alchilamidobetaina nelle otiti esterne da Malassezia spp e nelle proliferazioni batteriche auricolari nel cane. Veterinaria; 18: 11-5, 2004.
29. Lloyd DH, Bond R, Lamport AI. Antimicrobial activity in vitro and in vivo of a canine ear cleanser. Vet Rec; 143: 111-2, 1998.
30. Cole LK, Kwochka KW, Kowalski JJ, et al. Evaluation of an ear cleanser for the treatment of infectious otitis externa in dogs. Vet Ther; 4: 12-23, 2003.
31. Rème CA, Pin D, Collinot C, Cadiergues MC, Joyce JA, Fontaine J. The efficacy of an antiseptic and microbial anti-adhesive ear cleanser in dogs with otitis externa. Veterinary Therapeutics; 7: 15-26, 2006.
32. Lim KS, Kam PC. Chlorhexidine-pharmacology and clinical applications. Anaesthesia and Intensive care; 36:502-12, 2008.
33. Graham-Mize C, Rosser E. Comparison of microbial isolates and susceptibility patterns from the external ear canal of dogs with otitis externa. J Am Anim Hosp Assoc; 40(2): 102-8, 2004.