

CLOREXIDINA DIGLUCONATO NELLE PREPARAZIONI AD USO DERMATOLOGICO DEL COMMERCIO

Valutazione delle possibili variazioni di efficacia dovute ai coformulanti.
Assorbimento transcutaneo in presenza di soluzioni di continuo.

ROSANGELA ODORE*, G. RE*, V. COLOMBATTI VALLE**

*Dipartimento di Patologia Animale, Settore di Farmacologia e Tossicologia Veterinaria, Università di Torino,
via Leonardo da Vinci, 44 - 10095 Grugliasco - Torino

**Laboratori Teknofarma S.p.A., Strada Comunale da Bertolla all'Abbadia di Stura, 14 - 10156 - Torino

Riassunto

La clorexidina è uno dei disinfettanti ad ampio spettro più utilizzati sia nel settore umano che veterinario, nonostante sia poco documentata la reale azione germicida di tale principio attivo da solo e meno ancora in presenza di coformulanti.

Nel presente lavoro sono state valutate l'azione antisettica della clorexidina da sola e in associazione ai coformulanti presenti nella formulazione farmaceutica "Deroxen" e l'influenza di questi sull'assorbimento transcutaneo anche in presenza di soluzioni di continuo.

Summary

Although chlorhexidine is a broad spectrum antiseptic widely used in human and veterinary medicine, the antiseptical activity of chlorhexidine alone and of chlorhexidine associated to surfactants contained in some commercially available formulations is not well documented.

In the present study was therefore evaluated the efficacy of chlorhexidine alone and associated to coformulating contained in the formulations "Deroxen®". Moreover, the possible interference of chlorhexidine and surfactant with transcutaneous absorption in presence of skin lesions was considered.

INTRODUZIONE

La clorexidina, 1,1'-esametilenebis [5-(p-clorofenil)biguanide] è un disinfettante appartenente al gruppo delle biguanidi, utilizzata da anni sia nel settore umano che in quello veterinario per la preparazione del campo e degli strumenti chirurgici, la disinfezione di cute e ferite, il lavaggio di cavità e tessuti molli e per la disinfezione del capezzolo^{1,4}.

Il meccanismo d'azione della clorexidina è di tipo battericida: il principio attivo viene infatti rapidamente assorbito da parte delle cellule batteriche inducendo modificazioni a livello di membrana, quali variazioni della densità ottica e della permeabilità, nonché danneggiamento della membrana stessa, cui seguono alterazioni del metabolismo del glucosio, inibizione dell'ATPasi e fuoriuscita di componenti intracellulari^{5,6}.

L'attività battericida, se la concentrazione di principio attivo risulta sufficiente, si esplica rapidamente sia nei confronti dei batteri Gram positivi che di quelli Gram negativi, mentre l'attività antimicotica è minore. Solamente a concentrazioni elevate (4-5 mg/ml) e con tempi di contatto di almeno un'ora si ottiene infatti la sterilità totale per *Microsporum canis*, mentre nelle medesime condizioni sopravvivono ancora colonie di *Aspergillus niger*⁷.

I dati riscontrati in letteratura riguardanti l'attività germicida della clorexidina possono talvolta ingenerare confusione dal momento che i sali di clorexidina contenuti nelle preparazioni esistenti in commercio sono almeno tre (clorexidina diacetato, clorexidina dicloridrato e clorexidina digluconato) con pesi molecolari molto diversi e soprattutto molto più grandi di quelli della clorexidina base. Poiché la parte attiva della molecola è rappresentata dalla clorexidina base, mentre l'anione esercita unicamente

azione solubilizzante, l'azione germicida dovrebbe essere sempre riferita alla concentrazione della base presente nella soluzione e non a quella del sale. Infatti, qualora per definire l'attività germicida si faccia riferimento alla concentrazione percentuale in peso della molecola del sale, è possibile commettere errori anche grossolani rispetto alla concentrazione effettiva di sostanza attiva.

Ad esempio 100 mg di clorexidina digluconato corrispondono a 56,5 mg di sostanza attiva (clorexidina base), per cui l'attività germicida del digluconato corrisponde a poco più del 50% di quella della base.

Non esistono inoltre dati definitivi riguardo alla possibile interferenza sull'attività germicida della clorexidina esercitata da alcuni coformulanti (tensioattivi, cheratolitici e cheratoplastici) presenti in molte preparazioni per uso esterno in commercio⁸. Recentemente, Lloyd e Lampion⁹ hanno evidenziato differenze significative nell'efficacia della clorexidina nei confronti di patogeni responsabili di lesioni cutanee, in base al tipo di formulazione ed al tempo di contatto.

Non sono inoltre disponibili, relativamente al cane e al gatto, dati riguardanti il possibile assorbimento transcutaneo della clorexidina attraverso eventuali soluzioni di continuo, comuni nel corso di malattie cutanee.

In una precedente sperimentazione da noi svolta sono state determinate le concentrazioni efficaci ed i tempi di contatto necessari per garantire un'azione antisettica della clorexidina nei confronti di un vasto numero di microrganismi¹⁰.

Scopo del presente lavoro è verificare le possibili interferenze sull'attività germicida della clorexidina da parte dei coformulanti presenti in alcune preparazioni per uso esterno del commercio, sia su microrganismi di collezione che su microrganismi isolati da materiale patologico, e inoltre valutare, attraverso studi di farmacocinetica, il grado di assorbimento della clorexidina attraverso soluzioni di continuo presenti sulla cute.

MATERIALI E METODI

Valutazione dell'efficacia

Allo scopo di definire l'attività germicida della clorexidina e di verificare l'eventuale interferenza da parte dei coformulanti sono state utilizzate le seguenti preparazioni farmaceutiche presenti in commercio: Deroxen® Schiuma Spray, Deroxen® Shampoo e Deroxen® Soluzione (Teknofarma S.p.A. Torino). Sono state determinate le concentrazioni minime inibenti (MIC) della clorexidina (da sola e associata ai coformulanti) nei confronti di agenti patogeni di interesse veterinario. La sperimentazione è stata condotta utilizzando il metodo delle diluizioni in brodo¹¹. Tale metodica consente di valutare lo sviluppo di ceppi patogeni (*Staphylococcus aureus*, *Microsporum spp*, *Trichophyton mentagrophytes*) isolati da lesioni cutanee, in terreni di coltura contenenti quantità scalari di clorexidina (da 10 a 0,078 µg/ml per *Staphylococcus aureus*, da 200 a 1,06 µg/ml per *Microsporum spp*. e da 200 a 0,78 µg/ml per *Trichophyton mentagrophytes*) da sola e in associazione alla coccoilamidopropilbetaina al 14% e al 20% (come nel Deroxen Soluzione e nel Deroxen Shampoo rispettivamente).

Analogamente è stata valutata la possibile interferenza di allantoina 0,4%, bisabololo 1% e coccoilamidopropilbetaina 3%, presenti nel Deroxen® Schiuma Spray.

Brevemente, provette contenenti concentrazioni decrescenti di clorexidina in brodo sono state inoculate con 100 µl di una sospensione standardizzata dei batteri (5×10^5 batteri/ml) e miceti (2 cm² di una coltura fungina di 7 giorni in terreno di Sabouraud, sospesi per omogeneizzazione in 100 ml di soluzione fisiologica) e incubate rispettivamente a 37°C per 24 ore e a 30°C per 7 giorni. La più bassa concentrazione del disinfettante che determina l'inibizione della crescita rappresenta la MIC.

L'attività è riferita a concentrazioni di clorexidina espressa come base.

Sono inoltre state condotte prove di efficacia secondo le "Metodiche UNI-CEN per disinfettanti contro batteri e miceti"^{12,13}, utilizzando i germi ATCC richiesti dalle metodiche stesse (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442).

Inoltre, allo scopo di fornire dati più significativi, sono stati utilizzati anche microrganismi isolati di recente da cani e gatti con patologie in atto e dotati di un grado di sensibilità diverso e rappresentativo nei confronti della clorexidina (*Bacillus sphericus forma vegetativa*, *Streptococcus faecalis*, *Malassezia pachydermatis*)¹⁰.

La metodica prevede che ad una sospensione microbica, contenente o meno sostanze interferenti con l'attività germicida, venga aggiunta una soluzione a concentrazione nota del disinfettante in esame. La soluzione così ottenuta viene lasciata a 20°C per 15 minuti e, dopo l'eliminazione del prodotto germicida mediante filtrazione, si procede al conteggio delle cellule batteriche ancora vitali. L'attività germicida viene determinata sulla base della capacità del principio attivo in esame di provocare una diminuzione drastica del numero delle colonie (batteri: da 1×10^7 - 3×10^7 a non più di 300 u.f.c./ml; miceti e spore: da 1×10^6 - 3×10^6 a non più di 300 u.f.c./ml) oppure determinare l'abbattimento totale della carica batterica. Sono state allestite soluzioni madre contenenti clorexidina base al 3% da sola (controllo) e soluzioni di clorexidina base al 3% associata a coccoilamidopropilbetaina al 3%, al 14% o al 20%. Da queste sono poi state effettuate le diluizioni in modo da ottenere le concentrazioni di clorexidina desiderate. Le concentrazioni utilizzate sono sempre riferite alla clorexidina base e come principio attivo è stata utilizzata la clorexidina digluconato. Il tempo di contatto è stato di 15 minuti.

Al pari di quanto effettuato per la coccoilamidopropilbetaina, sono state condotte prove comparative per valutare l'efficacia della preparazione "Deroxen® Schiuma Spray", contenente come coformulanti anche bisabololo e allantoina. Tale preparazione è stata diluita fino ad ottenere due diverse concentrazioni di clorexidina (1 mg/ml e 2 mg/ml) di cui è stata valutata l'attività rispetto alle stesse concentrazioni del principio attivo nei confronti di *Malassezia pachydermatis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus faecalis* ed *Escherichia coli*. Tali germi sono di comune riscontro nelle dermatopatie del cane e del gatto. La sperimentazione è stata condotta secondo le metodiche UNI-CEN^{12,13}. Sono state utilizzate concentrazioni di clorexidina più basse di quelle d'uso (4 mg/ml) in modo da mettere in evidenza le possibili interferenze esplicate dai coformulanti.

I dati riportati in letteratura indicano un'attività molto scarsa della clorexidina nei confronti delle spore dei bacilli¹⁴; la diluizione del principio attivo in alcool ne facilita però l'azione germicida e ne potenzia l'azione nei confronti delle spore¹⁰. Su questa base sono state condotte prove finalizzate a verificare l'attività esplicata dal "Deroxen® Soluzione" nei confronti di diversi microrganismi sia dopo diluizione in acqua che per diluizione in alcool.

La preparazione Deroxen® Soluzione è stata diluita con alcool etilico denaturato del commercio (20:80 v/v) in modo da ottenere una concentrazione finale di clorexidina base pari a 5 mg/ml, inferiore a quella d'uso (6 mg/ml). Come controllo è stata verificata la sensibilità dei germi al solo alcool etilico diluito 80:20 v/v in acqua, nonché la sensibilità alle medesime concentrazioni di clorexidina (5 mg/ml) diluita in acqua invece che con alcool. I tempi di contatto sono stati di 2 minuti e 5 minuti tenendo conto delle necessità pratiche di disinfezione in situazione di emergenza (ad esempio sterilizzazione di ferri chirurgici e campo operatorio).

Prove di farmacocinetica

Gli studi di farmacocinetica sono stati condotti utilizzando un barboncino femmina di 5 kg e un pastore tedesco maschio di 12 kg affetti da piodermite con presenza di lesioni cutanee di tipo infiammatorio, caratterizzate da soluzioni di continuo imputabili al processo batterico in atto e al grattamento.

Entrambi i soggetti sono stati trattati su tutta la superficie corporea (con un tempo di esposizione di 15 minuti) con una formulazione appositamente allestita al 4% di clorexidina base (anziché al 3% come previsto per il prodotto in commercio), al fine di aumentare la possibilità di assorbimento rispetto alle condizioni applicative. La formulazione è stata applicata per 15 minuti sulla cute degli animali in quantità pari a 2,5 ml/kg p.c. (equivalente ad una quantità complessiva di clorexidina pari rispettivamente a 500 e 1200 mg), evitando che i soggetti potessero ingerire il prodotto mediante lambimento.

Dai campioni di sangue, raccolti prima del trattamento e a distanza di 15, 30 e 45 minuti dalla fine del trattamento, sono stati ottenuti 2,5 ml di siero a cui sono stati aggiunti 0,5 ml di NaOH 2N. Tale soluzione è stata estratta

per 2 volte con 2 ml di acetato di etile ed ogni volta la fase organica è stata separata da quella acquosa per centrifugazione. Le fasi organiche sono state a loro volta estratte per 2 volte con 1,25 ml di una soluzione di H₂SO₄ 0,05 M. La frazione acquosa così ottenuta, eliminando le componenti lipofile presenti nel siero, è stata analizzata con metodica HPLC, effettuando su ciascuna estrazione 5 repliche dell'analisi. La misurazione delle concentrazioni di clorexidina nei campioni è stata effettuata utilizzando un cromatografo Perkin Elmer 500 con loop di 20 µl, collegato ad un rivelatore UV Perkin Elmer LC 235 a serie di diodi tarato ad una lunghezza d'onda di 260 nm con 0,05 AUFS. I dati sono stati analizzati per mezzo di un integratore Perkin Elmer LC 100. La fase stazionaria era rappresentata da una colonna Merck Superspher 100 RP 18 endcapped 125X4,6 mm, mentre la fase mobile era costituita da una miscela di soluzione campione (esansulfonato di Na 2,35 g, KH₂PO₄ 1,02 g in 550 ml di acqua per HPLC, pH 4) 57% e acetonitrile 43%, erogata ad un flusso costante di 1 ml/min. La determinazione quantitativa è stata effettuata utilizzando il metodo dello standard esterno. La sensibilità del metodo è risultata pari a 1,5 ng di clorexidina/ml e il metodo è stato validato calcolando il recupero del composto nel siero, risultato pari a 82,3 ± 1,9% con un coefficiente di variabilità pari a 9,4 ± 1,8% (valori medi ± D.S.).

RISULTATI E CONCLUSIONI

Determinazione delle MIC e prove di efficacia

I risultati relativi alle MIC della clorexidina da sola e in associazione ai coformulanti sono riportati in Tabella 1. Come si può notare le MIC rilevate nei confronti di ceppi di *Staphylococcus aureus*, *Microsporum gypseum* e *Trichophyton mentagrophytes* risultano in linea di massima sovrapponibili a quelle riportate in letteratura¹⁴; fa eccezione un ceppo di *Microsporum canis*, isolato da un caso di dermatite micotica particolarmente resistente alla terapia routinaria, per il quale le MIC si sono dimostrate sensibilmente più elevate rispetto a quelle della letteratura (50 µg/ml contro 12-18 µg/ml della letteratura). Risulta inoltre evidente che i coformulanti impiegati nelle 3 formulazioni Deroxen®, in particolare la coccoilamidopropilbetaina utilizzata in concentrazione anche piuttosto elevata (20%

Tabella 1
Concentrazioni minime inibenti di clorexidina al 3%, clorexidina (3%) associata a coccoilamidopropilbetaina 14% o 20% e della clorexidina (0,4%) in associazione ad allantoina (0,4%), bisabololo (1%) e coccoilamidopropilbetaina (3%) nei confronti di *Staphylococcus aureus*, *Microsporum gypseum*, *Microsporum canis* e *Trichophyton mentagrophytes*.

Ceppo testato	Clorexidina 3%	Clorexidina 3% Coccoilam 14%	Clorexidina 3% Coccoilam 20%	Clorexid. 0,4% Coccoilam. 3% Bisabololo 1% Allanto. 0,4%	Dati della letteratura*
<i>Staphyl. aureus</i>	0,625 µg/ml	0,625 µg/ml	0,625 µg/ml	0,625 µg/ml	0,5 - 6 µg/ml
<i>Micr. gypseum</i>	12,5 µg/ml	12,5 µg/ml	12,5 µg/ml	12,5 µg/ml	12 - 18 µg/ml
<i>Micr. canis</i>	50 µg/ml	50 µg/ml	50 µg/ml	50 µg/ml	12 - 18 µg/ml
<i>Tric. mentagr.</i>	6,25 µg/ml	6,25 µg/ml	6,25 µg/ml	6,25 µg/ml	2,5 - 14 µg/ml

* Auslander et al., 1986.

nella formulazione Shampoo), non influenzano in alcun modo l'azione germicida della clorexidina.

I risultati riportati in Tabella 2 consentono di affermare che la coccoilamidopropilbetaina, nei rapporti di concentrazione utilizzati per queste prove e quindi per le concen-

trazioni utilizzate nelle formulazioni farmaceutiche in commercio, non interferisce con l'attività della clorexidina, al contrario di quanto osservato con altri tensioattivi⁹.

In Tabella 3 sono riportati i dati relativi all'efficacia della clorexidina in associazione ai coformulanti presenti nel-

Tabella 2
Risultati dei test relativi all'interferenza della coccoilamidopropilbetaina (3% - 14% - 20%) sull'azione germicida della clorexidina.
Ceppi saggiati: *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442), *Streptococcus faecalis*, *Bacillus sphericus* (forma vegetativa), *Malassezia pachydermatis*

<i>Ceppo testato</i>	<i>Tempo di contatto</i>	<i>Concetra- z. mg/ ml</i>	<i>Clorexidina</i>	<i>Clorexidina + tensioattivo 3%</i>	<i>Clorexidina + tensioattivo 14%</i>	<i>Clorexidina + tensioattivo 20%</i>
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	15'	0,1	> 300 u.f.c./ ml	> 300 u.f.c./ ml	> 300 u.f.c./ ml	> 300 u.f.c./ ml
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	15'	0,5	0	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	15'	1	0	0	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442	15'	0,5	0	1 u.f.c./ ml	0	0
<i>Streptococcus faecalis</i>	15'	2	2 u.f.c./ ml	10 u.f.c./ ml	11 u.f.c./ ml	7 u.f.c./ ml
<i>Bacillus sphericus</i> vegetativo	15'	3	0	0	10 u.f.c./ ml	0
<i>Malassezia pachydermatis</i>	15'	1	0	0	0	0

Tabella 3
Valutazione dell'eventuale interferenza di allantoina, bisabololo e coccoilamidopropilbetaina sull'azione germicida della clorexidina nel "Deroxen® Schiuma Spray".
Ceppi saggiati: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, *Malassezia pachydermatis*, *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis*, *Microsporum canis*

<i>Ceppo testato</i>	<i>Tempo di contatto</i>	<i>Concetra- zione mg/ ml</i>	<i>Clorexidina</i>	<i>DEROXEN schiuma *</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	15'	1	0	0
<i>Staphylococcus intermedius</i>	15'	1	0	0
<i>Malassezia pachydermatis</i>	15'	1	0	0
<i>Escherichia coli</i>	15'	2	0	0
<i>Streptococcus faecalis</i>	15'	2	< 300 u.f.c./ ml	< 300 u.f.c./ ml
<i>Microsporum canis</i>	30'	4	> 300 u.f.c./ ml	> 300 u.f.c./ ml
<i>Microsporum canis</i>	60'	4	0	0

* Diluito alle concentrazioni di clorexidina indicate.

la preparazione "Deroxen® Schiuma Spray": per nessuno dei microrganismi considerati sono state osservate interferenze negative sull'efficacia della clorexidina ad opera dei costituenti del preparato.

Si può quindi affermare che la concentrazione di utilizzo di 4 mg/ml risulta sufficiente per abbattere la carica batterica dei germi più comunemente coinvolti nelle malattie cutanee del cane e del gatto, nonché dei dermatofiti, in quanto la schiuma non viene allontanata dalla cute dopo il trattamento e pertanto i tempi di contatto risultano più lunghi.

Nelle Tabelle 4 e 5 sono infine riportati i valori relativi all'attività germicida del "Deroxen® Soluzione" nei confronti dei ceppi analizzati.

Come si può osservare la soluzione alcoolica si dimostra attiva su tutti i microrganismi saggiati in un tempo di 5 minuti, mentre quella acquosa non risulta di pari efficacia.

Prove di farmacocinetica

Pur essendo condotta su due soli soggetti e quindi puramente indicativa, l'analisi dei cromatogrammi (dati non riportati) in HPLC rileva che in seguito a trattamento con la soluzione di clorexidina al 4% non sono presenti nel siero concentrazioni di principio attivo superiori al limite di sensibilità del metodo utilizzato e pertanto sempre inferiori a 1,5 ng/ml. Tale risultato concorda con quanto osservato in precedenza in studi condotti sulla distribuzione della clorexidina nell'organismo di diverse specie animali, uomo compreso, anche in seguito a somministrazione per via orale¹⁵. Da quanto osservato in questi studi, condotti utilizzando clorexidina marcata con C¹⁴, si desume che essa contrae legami con le strutture delle cellule superficiali degli epiteli. Tale condizione, unitamente alle caratteristiche di solubilità, giustificherebbe lo scarso assorbimento osservato sia per via cutanea sia per via gastroenterica e la sua persistente azione a livello locale.

Tabella 4

Attività germicida della clorexidina nei confronti di: a) *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* (forma vegetativa), *Bacillus subtilis* (spore); b) *Bacillus sfericus* (forma vegetativa), *Bacillus sfericus* (spore), *Clostridium perfringens* (forma vegetativa), *Clostridium perfringens* (spore); c) *Candida albicans*, *Microsporum canis*, *Aspergillus niger*, *Malassezia pachydermatis*. Come soluzione madre è stata utilizzata "Deroxen® Soluzione" diluita con alcool denaturato del commercio

A

Concentrazione mg/ml	Tempo di contatto (minuti)	<i>Staphyl. aureus</i>	<i>Strepto. faecium</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Bacillus subtilis</i> (vegetativo)	<i>Bacillus subtilis</i> (spore)
5	2'	0	0	0	0	< 300 u.f.c./ ml
BIANCO	2'	crescita	crescita	crescita	crescita	crescita
5	5'	0	0	0	0	0
BIANCO	5'	crescita	crescita	crescita	crescita	crescita

BIANCO: soluzione acqua - alcool e coccoilamidopropilbetaina alle stesse concentrazioni del "DEROXEN® Soluzione"

B

Concentrazione mg/ml	Tempo di contatto (minuti)	<i>Bacillus sfericus</i> (vegetativo)	<i>Bacillus sfericus</i> (spore)	<i>Clostridium perfringens</i> (vegetativo)	<i>Clostridium perfringens</i> (spore)
5	2'	0	> 300 u.f.c./ ml	0	< 300 u.f.c./ ml
BIANCO	2'	crescita	crescita	crescita	crescita
5	5'	0	0	0	0
BIANCO	5'	crescita	crescita	crescita	crescita

BIANCO: soluzione acqua - alcool e coccoilamidopropilbetaina alle stesse concentrazioni del "DEROXEN® Soluzione"

C

Concentrazione mg/ml	Tempo di contatto (minuti)	<i>Candida albicans</i>	<i>Microsporum canis</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Malassezia pachydermatis</i>
5	2'	0	< 300 u.f.c./ ml	< 300 u.f.c./ ml	0
BIANCO	2'	crescita	crescita	crescita	crescita
5	5'	0	0	0	0
BIANCO	5'	crescita	crescita	crescita	crescita

BIANCO: soluzione acqua - alcool e coccoilamidopropilbetaina alle stesse concentrazioni del "DEROXEN® Soluzione"

Tabella 5

Attività germicida della clorexidina nei confronti di: a) *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Candida albicans*, *Microsporum canis*, *Aspergillus niger* e *Malassezia pachydermatis*; b) *Clostridium perfringens* (forma vegetativa), *Clostridium perfringens* (spore), *Bacillus subtilis* (forma vegetativa), *Bacillus subtilis* (spore), *Bacillus sfericus* (forma vegetativa), *Bacillus sfericus* (spore). Come soluzione madre è stata utilizzata "Deroxen® Soluzione" diluita con acqua

A									
Concentraz. mg/ml	Tempo di contatto (minuti)	<i>Staphyl. aureus</i>	<i>Strept. faecium</i>	<i>Pseudo. aerugin.</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Microsp. canis</i>	<i>Aspergil. niger</i>	<i>Malass. pachyd.</i>
5	2'	0	< 300 u.f.c./ ml	0	0	> 300 u.f.c./ ml	> 300 u.f.c./ ml	> 300 u.f.c./ ml	0
5	5'	0	0	0	0	0	> 300 u.f.c./ ml	> 300 u.f.c./ ml	0

B							
Concentraz. mg/ml	Tempo di contatto (minuti)	<i>Clostri. perfring. (veget.)</i>	<i>Clostri. perfring. (spore)</i>	<i>Bacillus subtilis (veget.)</i>	<i>Bacillus subtilis (spore)</i>	<i>Bacillus sfericus (veget.)</i>	<i>Bacillus sfericus (spore)</i>
5	2'	0	> 300 u.f.c./ ml	0	> 300 u.f.c./ ml	> 300 u.f.c./ ml	> 300 u.f.c./ ml
5	5'	0	> 300 u.f.c./ ml	0	> 300 u.f.c./ ml	0	> 300 u.f.c./ ml

CONCLUSIONI

Le prove di efficacia germicida della clorexidina da sola o in associazione ai coformulanti coccoilamidopropilbetaina, allantoina e bisabololo (Deroxen Schiuma Spray) permettono di concludere che 4 mg/ml di base con un tempo di contatto di 15 minuti sono già sufficienti per esercitare un'azione germicida totale sui microrganismi più comuni nelle patologie cutanee del cane e del gatto (Tabella 3) ad eccezione del *Microsporum canis* per il quale, per avere una totale eliminazione, occorre prolungare il tempo di esposizione a 60 minuti. Con la concentrazione di 4 mg/ml, in 15 minuti di esposizione, si ottiene una forte diminuzione della carica micotica ma non la sterilità.

Dal momento però che il "Deroxen® Schiuma" viene lasciato sulla cute e che la clorexidina non viene praticamente assorbita, è ampiamente superato il tempo di 60 minuti richiesto perché venga esercitata un'azione germicida totale anche su Candida e Dermatofiti. Per il "Deroxen® Shampoo", sulla base dei risultati ottenuti nella presente sperimentazione si può affermare che il tempo di contatto con la cute previsto (15 minuti) e le due concentrazioni di clorexidina base preconizzate (1,5 e 3 mg/ml) garantiscono, anche in presenza di coccoilamidopropilbetaina in elevata concentrazione (necessaria peraltro per esercitare un'efficace azione detergente), un'azione germicida soddisfacente per i due usi indicati. Tale azione non si esplica in modo totale nei confronti di Candida e Dermatofiti, in ragione del tempo di contatto limitato che assicura comunque una forte riduzione della carica di questi germi.

Infine, i risultati ottenuti consentono di affermare che il "Deroxen® Soluzione", diluito in acqua 1:20 (pari a 1,5 mg di clorexidina base/ml) svolge un'azione germicida totale nei confronti dei microrganismi di più frequente ripresentamento nelle ferite infette.

Per diluizione in acqua 1:1 o 1:2 (pari a 15 o 10 mg di clorexidina base/ml) "Deroxen® Soluzione" può essere utilizzato solo su cute integra per la pulizia preventiva del campo chirurgico e per la rasatura del pelo, dove l'impiego del principio attivo in concentrazione così elevata è senza dubbio in grado di svolgere un'azione germicida totale.

In seguito a diluizione in alcool etilico del commercio in ragione di 1:5 (pari a 6 mg/ml di clorexidina base) trova indicazione per l'antisepsi del campo operatorio e dei ferri chirurgici in caso di emergenza.

Questa concentrazione è superiore di quella di 5 mg/ml, che ha permesso di ottenere un'azione germicida totale in un tempo di 5 minuti nei confronti non solo dei batteri Gram positivi e Gram negativi, ma anche di lieviti, miceti, bacilli sporigeni e relative spore (Tab. 4); essa offre piena garanzia di un abbattimento della carica di tutti i microrganismi presente in un tempo sufficientemente breve.

Le prove farmacocinetiche, benché condotte su due soli soggetti, dimostrano infine che lo scarso assorbimento della clorexidina attraverso la cute integra non subisce sostanziali variazioni in presenza di processi infiammatori o di soluzioni di continuo, come d'altra parte già documentato in letteratura¹⁵.

Parole chiave

Clorexidina, coccoilamidopropilbetaina, batteri, funghi.

Key words

Chlorhexidine, coca amido propyl betaine, bacteria, fungi.

Bibliografia

1. Boddie R.L., Watts J.L., Nickerson S.C., 1990. In vitro and in vivo evaluation of a 0,5% chlorhexidine gluconate teat dip. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 196: 890-893.
2. Muller G.H., Kirk R.W., Scott D.W., 1994. In: *Dermatologia Veterinaria dei Piccoli Animali*. UTET, Torino, 105-164.
3. Boddie R.L., Nickerson S.C., Adkinson R.W., 1997. Efficacies of teat germicides containing 0,5% chlorhexidine and 1% iodine during experimental challenge with *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae*. *Journal of Dairy Science*. 80: 2809-2814.
4. Boothe H., 1998. Antiseptics and Disinfectants. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 28: 233-248.
5. Carlotti D.N., Maffart P., 1996. La chlorhexidine, revue bibliographique. *Pratique Médicale e Chirurgicale de l'Animal de Compagnie*, 31: 553-563.
6. Lemarié R.J., Hosgood G., 1995. Antiseptics and disinfectants in small animal practice. *Compendium of Continuing Animal Education*, 17: 1339-1351.
7. Russell A.D., 1986. Chlorhexidine: antibacterial action and bacterial resistance. *Infection*, 14: 212-215.
8. *Dizionario Italiano degli Ingredienti Cosmetici*, 1991, II ed., 29, 37, 302.
9. Lloyd D.H., Lampport A.I., 1999. Activity of chlorhexidine shampoos in vitro against *Staphylococcus intermedius*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Malassezia Pachydermatis*. *Veterinary Record*, 144: 536-537.
10. Odore R., Colombatti Valle V., Re G., 1999. Efficacy of chlorhexidine against some strains of cultured and clinically isolated microorganisms. *Veterinary Research Communication*, in press.
11. Isaksson I., Hanberger H., Maller R., Nilsson L.E., Nilsson M., 1991. Synergic post-antibiotic effect of amikacin in combination with β -lactam antibiotics on Gram-negative bacteria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 28: 25-34.
12. Chemical Disinfectants and antiseptics. Quantitative suspension test for the evaluation of bactericidal activity of chemical disinfectants and antiseptics used in veterinary field. Test method and requirements (September 1994). UNI-CEN prEN 1656.
13. Chemical disinfectants and antiseptics. Quantitative suspension test for the evaluation of fungicidal activity of chemical disinfectants and antiseptics used in veterinary area. Test method and requirements (September 1994). UNI-CEN prEN 1657.
14. Auslander D., Nash R., Riebe K., Allwood C., Emerson J., 1986. Chlorhexidine. In: *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, ed. American Pharmaceutical Association Washington, USA, 69-71.
15. Winrow M., 1973. Metabolic studies with radiolabelled Chlorhexidine in animals and man. *Journal of Periodont Research*, 8: 45-48.