

Mikroorganismer och antibiotikaresistens vid otitis externa hos hund.

Kristina Mieziowska, PhD

Handledare: Martin Wierup, Avd för livsmedelshygien och
bakteriologi, BVF, SLU
Biträdande handledare: Kerstin Bergvall Smådjurskliniken SLU,
Viveca Båverud, Avd. för mikrobiologi, SVA.

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

SAMMANFATTNING	1
SUMMARY	1
INTRODUKTION	2
Introduktion till otitproblematiken ¹⁾	2
Introduktion till studien	3
MATERIAL OCH METODER	4
RESULTAT	4
DISKUSSION	10
Antibiotika i otitpreparat	10
Antibiotikaresistens hos <i>S. intermedius</i> och <i>P. aeruginosa</i>	11
Alternativa och förebyggande behandlingar.....	13
Otitis media, en komplikationsrisk?	14
KONKLUSION	15
ACKNOWLEDGMENTS	15
LITTERATURFÖRTECKNING	15

SAMMANFATTNING

Otitis externa hos hund är en vanlig orsak till veterinärbesök. Sjukdomen har ofta ett antal predisponerande faktorer vilka kan medföra komplikationer och leda till ett kroniskt förlopp. Ett av de vanligaste behandlingsalternativen för extern otit innefattar topikal otit preparat innehållandes antibiotika, kortison och fungicid.

Sextio prov för bakterieodling på öronsekret från hundar med otit, skickade till Avd. för Bakteriologi, SVA. Provsvarerna sammanställdes för att få en uppfattning om mikroorganismfloran med särskild hänsyn till förekomsten av potentiellt patogena mikroorganismer. *Staphylococcus intermedius* var den vanligaste isolerade bakterien involverad i otit, ibland i kombination med *Malassezia pachydermatis* (jästsvamp). I 15 % av proverna fanns endast *M. pachydermatis*, därefter var en kombination av *M. pachydermatis* och *Pseudomonas aeruginosa* vanligast. Kombinationer med *S. intermedius*, *P. aeruginosa* och *M. pachydermatis* utgjorde ca 80 % av inskickat material.

Det andra syftet med studien var att undersöka de påvisade bakteriernas resistens mot de olika antibiotika som ingår i otitpreparaten i Fass Vet. Resistensbestämningarna för de två vanligaste bakterierna, *S. intermedius* och *P. aeruginosa* sammanställdes. Resistens påvisades mot några av de antibiotika som ingår i otitpreparaten men också mot sådana antibiotika som normalt inte används för otitbehandling. Andelen penicillinresistenta *S. intermedius* var 81,5 %, vilket var högt jämfört med andra studier. För *S. intermedius* kunde förekomst av resistens i denna studie jämföras med resistens hos hundar med kroniska hudlidanden (otiter, pyodermier) i andra studier. Resultaten skulle delvis kunna förklaras med att de flesta prov i denna studie sannolikt kommer från hundar med återkommande otiter. Större studier skulle behövas för att klargöra ett potentiellt samband mellan antibiotikabehandling av andra sjukdomar än otit och resistens hos bakterier som orsakar otit.

SUMMARY

Canine otitis externa is a common reason for a visit to the vet. Predisposing factors often complicate treatment and may result in a chronic disease progression. All otic preparation for topical use in Fass Vet contain antibiotics, corticosteroids and a fungicide. Sixty cerumen samples from dogs with external otitis, sent to the Department of Bacteriology at SVA, were categorised according to their profile of isolated microorganisms. *Staphylococcus intermedius* alone or together with *Malassezia pachydermatis* were the most common organisms found. Fifteen percent of the samples contained *M. pachydermatis* only. *M. pachydermatis* and *Pseudomonas aeruginosa* in combination was also fairly common. Combinations of *S. intermedius*, *P. aeruginosa* and *M. pachydermatis* comprised about 80 % of the material.

Antimicrobial susceptibility of *S. intermedius* and *P. aeruginosa* was determined to antibiotics used in drugs licensed for veterinary otic preparations. Resistance to some of those antibiotics was seen as well as to some other antibiotics. A relatively high number of penicillin-resistant isolates of *S. intermedius* was found (81.5%). The antimicrobial susceptibility pattern in this study was similar to that of other studies on *S. intermedius* isolates from dogs with chronic otitis and pyodermias. The majority of bacterial isolates in this study were most likely sampled from dogs with chronic otitis. A larger study would be required to

investigate a possible connection between antibiotic resistance in bacteria that can cause chronic otitis and antibiotic treatment of the dog for other diseases.

INTRODUKTION

Introduktion till otitproblematiken¹⁾

Otitis externa på hund är en vanlig orsak till veterinärbesök. Det är en infektion och en inflammation av ytterörat som kan inkludera insidan av öronlappen samt den yttre hörselgången in till trumhinnan. Den kliniska bilden i hörselgång och ytteröra utgörs av erythem, hyperplasi och svullnad av hudpitelet samt en förändring av det normala öronsekretet. Kliniska tecken inkluderar klåda, smärta vid beröring, huvudskakningar, sekretförändringar och en kraftig ”öronlukt”.

Olika bakterier och en jästsvamp – *Malassezia pachydermatis* hör till de vanligaste fynden vid mikroskopi på öronsekret. Vid klinisk undersökning av öron med extern otit kan en preliminär bedömning av vad som orsakar infektionen göras genom att undersöka öronsekretet med blotta ögat. Ett fuktigt brunt utseende kan förekomma med stafylokocker och *M. pachydermatis* infektion, ett torrt mörkt sekret är typiskt för öronskabb (vanligare på katt) och ett gult flytande exudat indikerar en infektion med gramnegativa bakterier (Kristensen et al, 1996). En hypersekreterisk otit (ex. kronisk förändring/irritation av hörselgången med eller utan infekterande agens) kan ha ett varierande utseende med en stor mängd ljus, till mörkt brunt sekret. Sekretet skall alltid undersökas genom direktmikroskopi och vid behov skall en bakteriologiskt odling utföras för att en korrekt diagnos skall kunna ställas.

Det normala epitelet i den yttre hörselgången är ett slätt plattepitel täckt med ett tunt lager av sekret och debris. Sekret, döda epitelceller och annat debris förflyttas utåt, vilket håller trumhinnan ren (Harvey et al., 2001). Öronsekretet är en kombination av sekret från talgkörtlar och cerumenkörtlar (apokriner) samt döda epitelceller. Talgkörtlarna är lokaliserade i en koncentrationsgradient längst hörselgången med flest körtlar distalt (utåt). Körtlarna utsöndrar större mängder av ett antal olika lipider (fettsyror). I normala friska öron är lipidinnehållet i öronsekretet högt. De apokriner körtlarna är också lokaliserade i en gradient i hörselgången, men med flest körtlar proximalt, närmast trumhinnan. Dessa körtlar utsöndrar en mer lättflytande kombination av mukopolysaccharider och fosfolipider. Det finns en stor variation mellan olika individer i antalet körtlar och i proportionerna av de två typerna. Långhåriga hundar tenderar generellt att ha fler och mer utvecklade körtlar, än korthåriga hundar. Hundar predisponerade för otitis externa har ofta en ökad proportion av apokriner körtlar och således en ökad mängd av den apokriner delen av sekretet. En ökad öronsekretion kan också vara associerat med generell seborre. Vid extern otit minskar relativt antalet talgkörtlar och därmed lipidinnehållet i sekretet, som blir voluminösare och mer lättflytande. En kronisk otit kan utvecklas när det apokriner epitelet hypertrofierat och fuktigheten i örat har stigit. Det förändrade mikroklimatet medför gynnsammare förhållanden för tillväxt av mikroorganismer.

1) Förutom referenserna i texten baseras redogörelsen på Rosychuk 1994, Harvey et al., 2001, Murphy, 2001 och Jacobson 2002.

Ett flertal studier av öronsekretmorfologi från normala öron och otitöron har gjorts. Som ett exempel undersöktes vid en studie i Spanien, öronsekretet hos 37 hundar med extern otit samt 24 kliniskt friska hundar (Ginel et al., 2002). Förekomsten av epitelceller, inflammatoriska celler, bakterier och jästsvamp i hörselgången dokumenterades genom cytologiprover.

Signifikant skillnad i förekomst av jästsvamp och bakterier fanns mellan kliniskt friska öron och otitöron. Hög förekomst av inflammatoriska celler fanns i sekret från hundar med purulent otit, vilket bedömdes som en indikation på en allvarligare bakteriell infektion. Inflammatoriska celler fanns däremot inte alltid i prover med bakteriellt innehåll. Antalet epitelceller i sekretet skilde sig inte signifikant mellan normala öron och otit öron, men författarna reserverade sig för att provtagning och räkning av epitelceller i studien inte var optimalt för att visa en eventuell skillnad. Hos hundar utan klinisk otit var mikroorganismfloran oftast densamma i bägge öronen. Vissa hundar kunde ha både bakterier och jästsvamp i örat utan att visa kliniska symptom. En viss transient flora existerar troligtvis utan att otit utvecklas.

Problematiken runt patogenesen vid otitis externa på hund har varit föremål för omfattande studier och utredningar som alla kommit fram till att följande faktorer måste inkluderas för en korrekt diagnos.

1. Primära orsaker - vad orsakar otiten?
2. Predisponerande faktorer.
3. Patologiska processer som försvårar läkning och möjliggör utveckling av kronisk otit.

Exempel på primära orsaker är ektoparasiter, främmande kroppar, neoplasi i örat, samt ett antal immunologiska sjukdomar såsom allergisk dermatit. Predisponerande faktorer påverkar miljön i örat (pH, luftfuktighet och epitelets utseende och integritet). Sådana faktorer kan vara ärftliga rasbundna tillstånd såsom kraftig hårväxt i hörselgången eller olika sjukdomstillstånd exempelvis atopi, matallergi eller otitis media. Andra faktorer t.ex. årstid/temperatur eller vatten i hörselgången påverkar också. Diagnosen extern otit innebär att ytterörat, pga ovannämnda faktorer, har blivit koloniserat och infekterat av mikroorganismer. En otit kan redan efter den första episoden resultera i kroniska förändringar i hörselgången som medför en ökad recidivrisk. Vikten av en grundlig utredning initialt kan inte nog understrykas, då den efterföljande behandlingen i hög grad kan påverka risken för uppkomsten av kroniska förändringar i hörselgången (Harvey et al., 2001).

Introduktion till studien

Medicinska behandlingsalternativ vid extern otit inkluderar örondroppar som alla är kombinationspreparat för maximal effekt mot de vanligaste otitpatogenerna. De fyra preparat för topikal applikation med indikation extern otit hos hund som finns upptagna i Fass Vet innehåller alla en kombination av kortikosteroider, fungicider samt antibiotika. Några studier har gjorts där resultaten indikerar att många fall av extern otit skulle kunna hanteras med gott resultat utan att använda denna läkemedelskombination (se diskussionen).

Syftet med detta arbete var:

1. Att undersöka hur stor del av externa otiter som orsakas av bakterier respektive jästsvamp.
2. Att undersöka förekomsten av resistens mot de antibiotika som ingår i otitpreparaten i Fass Vet.

MATERIAL OCH METODER

Studiematerialet utgjordes av prov från kliniska fall av otit på hundar. Bakterierproven från öronsekret från hundar med otit var insända till och undersökta vid Avdelning för bakteriologi, SVA under en höstmånad 2004 (60 st). Provresultaten sammanställdes och redovisades i två delar.

1. Bakteriologisk undersökning av de vanligast förekommande mikroorganismerna.
2. En bestämning av antibiotikaresistens för de två vanligast förekommande bakterierna.

Odling och resistensbestämning gjordes enligt laboratoriets standardmetoder redovisade nedan.

Bakteriologisk odling: Svabben utodlades på 5 % hästblodagar (SVA) och bromocresolpurpurlaktosagar (SVA). Plattorna inkuberades i 37° C och lästes efter 1 och 2 dygn. Bakterierna typades enligt Quinn et al. (1994)

Mykologisk odling: Svabben odlades också på sabouraud dextrose agar 2% (Difco laboratories, Detroit, M) med chloramfenikol (0,5 µg/ml) och inkuberades i 30° C och lästes avseende jästsvamp efter 5 dygn.

Resistensbestämning: En 96-håls mikrotiterplatta (VetMIC, SVA) innehållande 14 olika intorkade antibiotika användes för resistensbestämningen. Kolonimaterial slammades i Mueller Hinton buljong. Bakterietätheten motsvarade ca 10⁵ CFU/ml. Varje brunn inokulerades med 50 mikroliter. Plattan inkuberas i 37° C i 16-18h. Minimum inhibitory concentration (MIC) lästes som den lägsta koncentrationen där ingen synlig växt eller den mest signifikanta reduktionen av växt observerades. Som kvalitetskontroll användes 4 kontrollstammar; *Staphylococcus aureus* ATCC 29 213, *Enterococcus faecalis* ATCC 29 212, *Escherichia coli* ATCC 25 922 och *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27 853.

RESULTAT

Malassezia pachydermatis odlades fram som ensam jästsvamp i samtliga fall utom två där en annan art av jästsvamp fanns i blandflora med *M. pachydermatis*, samt i ett fall där en *Aspergillus fumigatus* påvisades i renkultur utan växt av bakterier. Trettio % av proven innehöll enbart bakterier. Femton % innehöll endast svamp. Hälften av de undersökta proven (47 %) var en kombination av bakteriell växt och växt av jästsvampen *M. pachydermatis* (fig 1), I 8 % av proven påvisades inga mikroorganismer.

De vanligaste isolerade mikroorganismerna var; *Staphylococcus intermedius* och *Malassezia*. Dessa två agens utgjorde sammanlagt 62 % av proverna (fig 2). *Pseudomonas aeruginosa* ensam (8 %) eller tillsammans med *M. pachydermatis* (11 %) förekom i sammanlagt 19 % av materialet. Andra förekommande bakterier som isolerades var *Proteus mirabilis*, *Proteus* spp, *Staphylococcus* spp, *Streptococcus* spp och *Bacillus* spp. Dessa bakterier och svampar, andra än *M. pachydermatis*, utgjorde 11 % av materialet.

I figur 1 och 2 redovisas förekomst av *S. intermedius* och *P. aeruginosa*. Dessa bakterier kunde växa i renkultur eller i blandflora. Bakterier som misstänktes vara patogener som *S. intermedius* och *P. aeruginosa* prioriterades vid typning. Växt av övrig bakterieflora redovisas då som riklig, måttlig eller sparsam växt av annan bakterie. Uppdelningen av *S. intermedius* och *P. aeruginosa* respektive, i renkultur eller i blandflora, redovisas i fig 3 och 4. I ungefär hälften av de fall där dessa två bakterier påvisades förekom de i blandflora. När *S. intermedius* förekom tillsammans med *P. aeruginosa* isolerades inte *S. intermedius* utan redovisades som blandflora och därför förekommer ingen notering av dessa två bakterier i samma prov.

I Figur 5 förtydligas att *S. intermedius* och *P. aeruginosa* påvisades i 80 % av de odlade proven. Resistensbestämningarna för dessa två bakterier sammanställdes och redovisas i tabell 1 och 2.

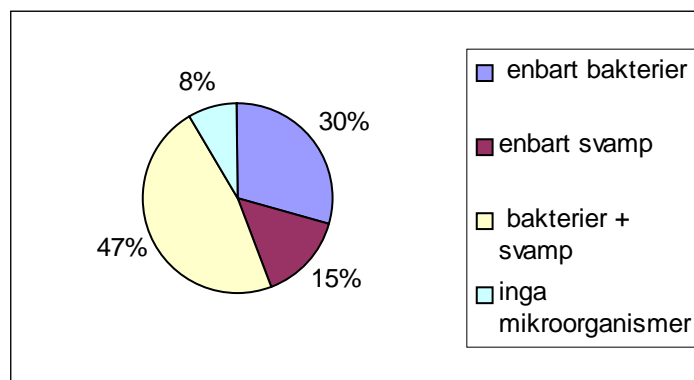


Fig 1. Fördelning av bakterier (renkultur och blandflora) och svamp (alla) isolerade från öronsekret från hundar med extern otit. Diagrammet läses medsols med början kl 12, texten läses uppifrån och ner. n=62

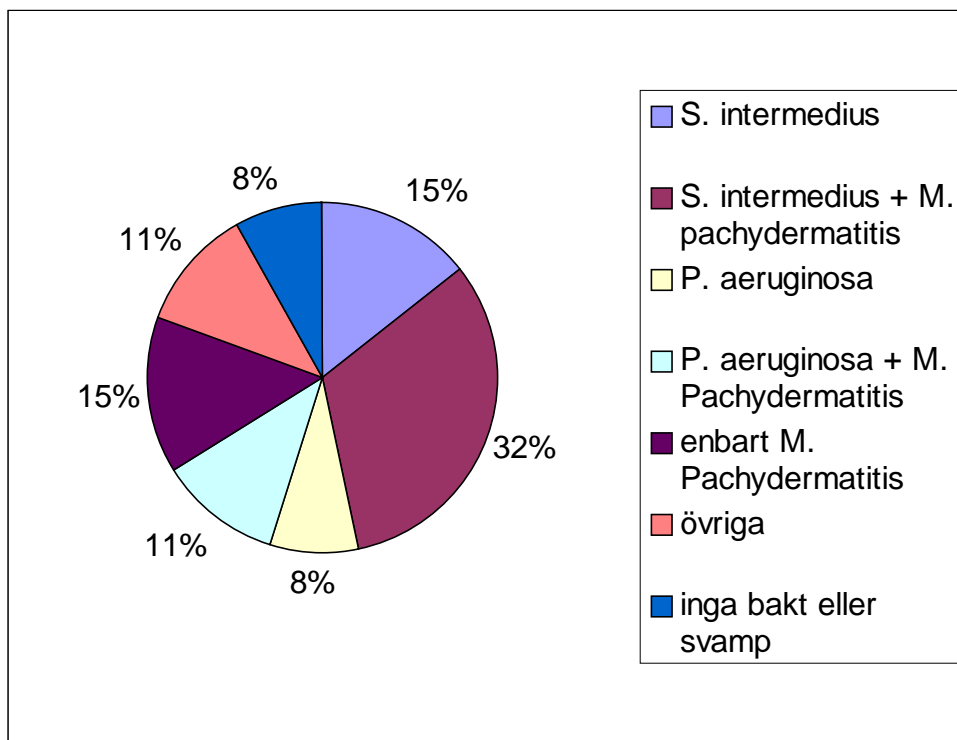


Fig 2. Olika kombinationer av bakterier och jästsvamp isolerade från öronsekret från hundar med extern otit. *S.intermedius* och *P.aeruginosa* var isolerade från prov där dessa bakterier förekom antingen i renkultur eller i blandflora. Bakterier i blandflora typas endast om de misstänks vara specifika patogener. "Övriga" är övriga bakterier och svampkombinationer. Diagrammet läses medsols med början kl 12, texten läses uppifrån och ner. n=62

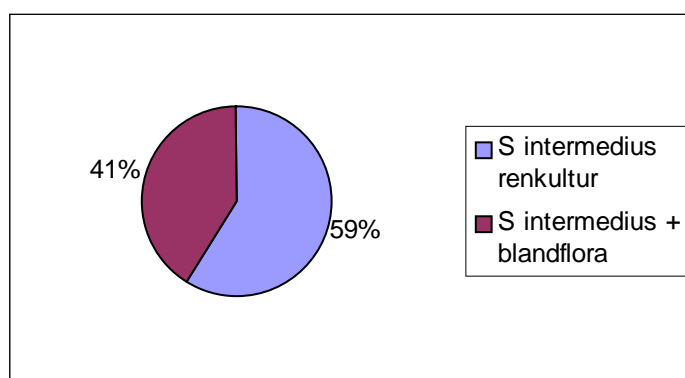


Fig 3. Fördelning av *S. intermedius* i renkultur eller i blandflora. Växt av *M. pachydermatis* är inte medtaget i diagrammet. Mikroorganismerna var isolerade från öronsekret från hundar med extern otit. n= 29

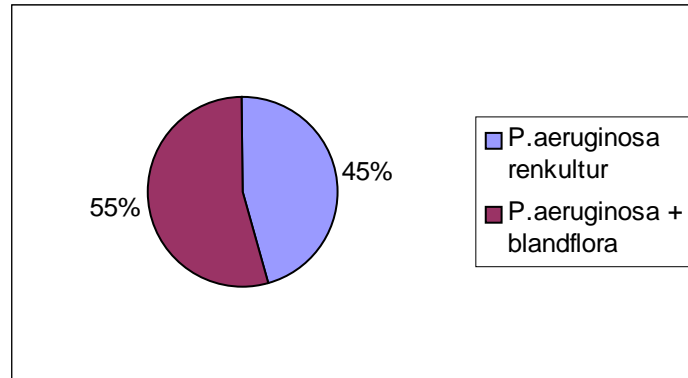


Fig 4. Fördelning av *P. aeruginosa* i renkultur eller i blandflora. Växt av *M. pachydermatis* är inte medtaget i diagrammet. Mikroorganismerna var isolerade från öronsekret från hundar med extern otit. n=11

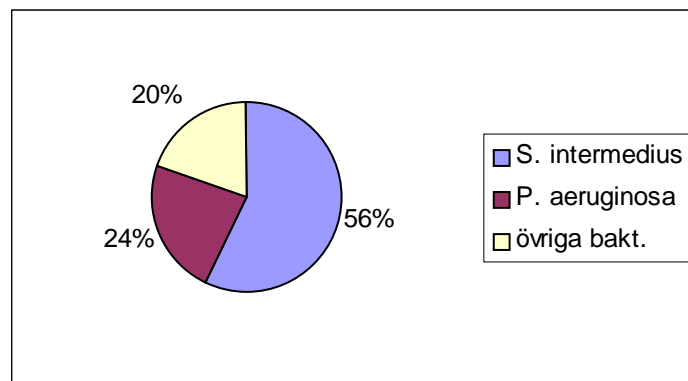


Fig 5. Fördelningen mellan *S. intermedius*, *P. aeruginosa* i renkultur eller blandflora och övriga isolat som inte inkluderar dessa bakterietyper. Mikroorganismerna var isolerade från öronsekret från hundar med extern otit. n=51

Av 27 st *S. intermedius* prover var 22 st (81,5 %) penicillinase (β -laktamase) positiva (tabell 2). Dessa är inte redovisade i tabellen på minimum inhibitory concentration (MIC) värden utan blev automatiskt räknade som resistenta avseende penicillin och ampicillin. Det fanns inga penicillinresistenta penicillin negativa *S. intermedius*. Förutom β -laktam resistens noterades resistens mot tetracyklin (56 %), fucidin, klindamycin (linkosamin), erytromycin (makrolid) och streptomycin (aminoglycosid) (22 %). *P. aeruginosa* uppvisade en hög grad av multiresistens (tabell 3). Alla 11 isolaten var resistenta mot penicillin, ampicillin, cefalotin, amoxicillin/klavulansyra, oxacillin, fucidin, klindamycin erytromycin och nitrofurantoin. Isolaten var resistenta eller intermediärt känsliga mot streptomycin, trimetoprim-sulfa, tetracyklin och enrofloxacin. Av 11 isolat var 8st känsliga mot gentamicin och resterande 4st var intermediära. *S. intermedius* och *P. aeruginosa* stammar uppvisade generellt två eller tre olika resistensmönster d.v.s. bakterieisolaten kunde indelas i två-tre grupper med liknande resistensmönster, detta kan dock inte utläsas från tabellerna.

Tabell 1. Resistensmönster för *S. intermedius* från hundöron med extern otit.

antibiotika	MIC													S	I	R	
	<0,25	<0,5	<1	1	<2	<4	4	>4	<8	8	>8	16	32				>32
Penicillin	3	1	1												18,5		81,5
Ampicillin			3			2									11	7,5	81,5
Cefalotin					26	1									100		
Amoxicil/klavu.									27						100		
Oxacillin		25	1	1											100		
Fucidin					20		1	6							78		22
Klindamycin			21					6							78		22
erytromycin		20		1				6							74	4	22
gentamicin					27										100		
Streptomycin						18				3				6	78		22
Trimetoprim-sulfa		14		11		1		1							52	44	4
Tetracykin			12								15				44		56
Enrofloxacin	20	5	1	1											92,5	7,5	
Nitrofurantoin											27				100		

MIC värden i mg/l, tjocka mellanstreck visar gräns mellan R-S-I, eller om endast ett streck, mellan R och S. Grått område markerar resistens. R= resistens, I= intermediär, S= sensitiv. n= 27. S-I-R till höger i tabellen visas i % av n. För penicillin och ampicillin är inga MIC värden utarbetade på beta-laktamase producerande stammar utan de är betraktade som resistenta. Varje antibiotika testas inom ett visst MIC intervall, dessa intervall är inte redovisade här. De redovisade antibiotikasubstanserna är representanter för olika antibiotikagrupper. MIC= minimum inhibitory concentration.

Tabell 2. Resistensmönster för *P. aeruginosa* från hundöron med extern otit.

antibiotika	MIC													S	I	R	
	<0,5	0,5	1	>1	<2	4	>4	8	>8	16	>16	32	>32				
Penicillin				12													12
Ampicillin								12									12
Cefalotin										12							12
Amoxicil/klavu											12						12
Oxacillin				12													12
Fucidin							12										12
Klindamycin							12										12
erytromycin							12										12
gentamicin					7	1		4							8	4	
Streptomycin										1		5	6			6	6
Trim-Sulfa					1	11										2	10
Tetracykin							2	10								3	9
Enrofloxacin		1	3	8												4	8
Nitrofurantoin													12				12

MIC värden i mg/l, tjocka mellanstreck visar gräns mellan R-S-I eller om endast ett streck – mellan R och S. Grått område markerar resistens. R = resistens, I= intermediär, S= sensitiv. n= 12. obs. S-I-R till höger i tabellen visar reelt antal. Varje antibiotikagrupp testas inom ett visst MIC intervall, dessa intervall är inte redovisade här. De redovisade antibiotikasubstanserna är representanter för olika antibiotikagrupper. MIC= miniuml inhibitory concentration.

Som ett exempel på antibiotikaanvändning vid otit gjordes en sammanställning av preparaten i Fass Vet 2005. En ökande trend sågs i förskrivning av topikala otitpreparat för hund och katt (tabell 3). Dock är den totala mängd antibiotika i de otitpreparat som finns i vet fass en mycket liten del av den totala mängden antibiotika som skrivs ut till hund (Odensvik pers. medd.).

Tabell 3. Antalet försålda flaskor av öronpreparat i Fass Vet(2005) har ökat under perioden. Data är sammanställt av och visat med tillstånd av Kristina Odensvik, Apoteksbolaget AB.

Försäljningsår	2000	2001	2002	2003
summa antalet flaskor*	79 182	86 222	91 775	92 775
ökning från föregående år.		8% (7040)	6% (4977)	2% (1576)

*Preparat och förpackningsstorlekar: Fucidin comp 10x25 ml och 25 ml, Surolan 10x15 ml och 15ml, Aurizon 10 ml, Otomax 14 ml och 34 ml.

Tabell 4. Otitpreparat för topikalt bruk i Fass vet.

preparat	Antibiotika	fungicid	Kortikosteroid
Fucidin comp® vet (Leo)	<u>fucidindietanolamin</u> (steroidantibiotikum för f.f.a. (penicillinas producerande) stafylokocker <u>framycetin</u> (aminoglykosid, bredspektrum, toxisk, endast för topikalt bruk ej representerad på resistenstest).	Nystatin	Prednisolon
Surolan® (Bohringer Ingelheim)	polymyxin B (baktericid effekt mot G-bakterier, neuro. och nefrotoxisk använd endast topikalt, ej representerad på resistenstest)	Miconazol	Prednisolon
Aurizon® (Scanimal health)	<u>marbofloxacin</u> (fluorokinolon bredspektrum G+ och G- ex <i>S. intermedius</i> , <i>P. aeruginosa</i> . och <i>Proteus mirabilis</i>). reserverad för infektioner som svarar dåligt på annan behandling.	Klotrimazol	Dexa-methason
Otomax® (Scheering -Plough)	<u>gentamicinbas</u> (aminoglycosid, G-, <i>S. intermedius</i> , <i>Proteus spp</i> , <i>P. aeruginosa</i>	Klotrimazol	Betametazon

Vissa preparat är enligt Rang et al., endast avsedda för topikal applikation (framycetin och polymyxin B) då de är toxiska. Det ges ingen information om eventuell ototoxicitet. Information om preparaten är kortfattad och inte fullständig, hämtad från Fass Vet. (2005) och Pharmacology 5ht ed. Rang et al. (1999)

Tabell 4 är en sammanställning av de otitpreparat avsedda för topiskt bruk som fanns i Fass Vet 2005. Antibiotika som ingår i dessa preparat jämfördes med resistensbestämningarna för *S. intermedius* och *P. aeruginosa* (tabell 1 och 2) med följande resultat.

Framycetin (Fucidin comp vet) är en aminoglykosid som inte är representerad på resistenstestet. Två andra aminoglykosider, gentamicin och streptomycin, finns med. 22 % (6 st) *S. intermedius* och 50 % (6 st) *P. aeruginosa* var resistenta mot streptomycin men ingen mot gentamicin.

Fucidin (Fucidin comp vet) Samtliga *P. aeruginosa* och 22 % av *S. intermedius* var resistenta mot fucidin.

Gentamicin (Otomax vet) aminoglykosid och verksamt mot alla bakterier i studien utom mot en koagulasnegativ stafylokock (1 st).

Marbofloxacin (Aurizon) är en fluorokinolon, representerad av enrofloxacin i resistensbestämningen. 8st av *P. aeruginosa* isolaten i studien var resistenta mot enrofloxacin och resterande fyra var intermediärt känliga. Inga *S. intermedius* var resistenta.

Polymyxin B (Surolan) Antibiotikat ingår inte i SVAs resistensbestämning.

DISKUSSION

Antibiotika i otitpreparat

Undersökningen visar att en kombination med växt av både svamp och bakterier var det vanligaste fyndet vid extern otit (ca 50 % av infektionerna). Näst vanligast var enbart bakteriell infektion (32 %) eller svampinfektion (18 %), (fig 1). Behandling av otiter på klinik omfattar både förstagångsotiter och kroniska eller svårbehandlade otiter. Många kliniska otiter behandlas framgångsrikt utan att ett öronsekretprov behöver skickas till ett bakteriologiskt laboratorium för odling. De bakterieisolat som fanns med i studien kan således antas komma från hundar med en mer svårbehandlad otit och innehålla en större andel ”problembakterier” än vad som skulle vara normalt i otitöron ute i landet. Eventuella effekter av årstidsvariationer kan finnas då det undersökta materialet skickades in under en höstmånad. Olika hundraser är representerade i studien. I 24 av de 60 fallen i studien anges att otiten är kronisk eller recidiverande. På flertalet remisser anges ingen anamnes vilket omöjliggör en klassificering av otiten eller av predisponerande faktorer som allergi och pyodermi.

Femton % av det undersökta materialet i studien utgjordes av enbart *M. pachydermatis* infektion vilket troligtvis är en låg skattning av den verkliga situationen. Det är mindre vanligt att skicka in ett öronsekretprov för bakteriologisk odling om endast jästsvamp syns i ett cytologiprova. Vid *M. pachydermatis* infektion utan bakteriell involvering rekommenderas behandling med kortikosteroid tillsammans med ett antimykotiskt medel (Antibiotikapolicy för hund och kattsjukvård, 2002). Ett sådant kombinationspreparat finns inte i Fass Vet. I ”humanfass” finns örondroppar med enbart kortikosteroider men inga med kortikosteroider och antimykotiska substanser. Resultaten i föreliggande studie visar att det förekommer resistens mot antibiotika i öronpreparat hos de vanligaste otitpatogenerna. Med tanke på hur vanliga jästsvampinfektioner är skulle ett antibiotikafritt preparat innehållande antimykotiskt medel vara önskvärt.

I Antibiotikapolicy för hund och kattsjukvård, (2002), finns en arbetsgång för undersökning och behandling av extern otit. *P. aeruginosa* kan ge en svårbehandlad otit då multiresistens hos denna bakterie är relativt vanlig. Vid *Pseudomonas* otit rekommenderas lokalbehandling med Tris-EDTA lösning eller silversulfadizin (ex tempore). Alternativt används en kombination av Tris-EDTA och antingen polymyxin-B eller gentamicin (eller marbofloxacin, K. Bergvall pers. medd.) samt allmän behandling med enrofloxacin i ökad dosering pga höga MIC värden. I denna studie var av 8 av 12 *P. aeruginosa* isolat resistent mot och resterande 4 st intermediärt känsliga för enrofloxacin.

MIC värdena i föreliggande studie visar att bakterierna är resistent mot vissa antibiotika. Resistens mot ett antibiotika tillhörande en speciell grupp behöver inte alltid betyda att bakterien är resistent mot andra antibiotika i samma grupp. Resistens mot antibiotika är ofta överförbart mellan olika bakterier (se diskussion nedan) och effekten av en eventuell spridning av resistens bör inte underskattas. Däremot är det i denna studie inte möjligt att på grundval av resultaten försöka bedöma effekten av otitpreparaten som sådana på resistent bakterier. Olika variabler som t.ex. antibiotikakonzentration och effekt av andra ingående substanser gör en bedömning komplicerad.

Antibiotikaresistens hos *S. intermedius* och *P. aeruginosa*.

Ett flertal tidigare studier är gjorda på öronsekretinnehåll vid extern otit på hund. En tabell är sammanställd i Ear diseases of dog and cat (Harvey et al, 2001) på 14 olika studier från 1956 och framåt med mycket varierande skattningar av förekomst av *M. pachydermatis* och olika bakterier. Variationen kan reflektera skillnader i provtagningsteknik, ursprungsland, urvalskriterier, metod för resistensbestämning o.s.v. Vid en jämförelse mellan olika studier måste detta beaktas.

I en svensk studie, från 1989, där det gjordes 361 bakterieodlingar från öron med extern otit var 2,5 % av de framodlade isolaten *Pseudomonas* spp och oftast multiresistenta mot de antibiotika som testades inom studien utom mot gentamicin (Jerre 1989). I Jerres material utgjorde stafylokocker 44 %, 20 % var betalaktamasbildare. Då odling gjordes på alla öron som uppvisade tecken på infektion var Jerres studie troligtvis en mer korrekt approximation till den faktiska förekomsten av olika mikroorganismer i extern otit år 1984, och kan inte direkt jämföras med föreliggande studie. Då olika resistensbestämningmetodik användes och resultaten inte redovisades med MIC värden är det även svårt att göra en jämförelse av antibiotikaresistens, dock var multiresistens hos *Pseudomonas* spp vanligt redan 1984, enligt Jerre. Jästsvamp förekom i 68 % av otitöronen och i 47 % av de kliniskt friska kontrollerna vilket belyser att förekomst av jästsvamp i örat inte nödvändigtvis betyder att det föreligger en infektion.

S. intermedius är en viktig patogen hos hund vid exempelvis dermatiter och otit. Pedersen and Wegener (1995) undersökte resistens hos 36 isolat av *S. intermedius*, från danska hundar med varierande hudproblem, samt hos ett antal isolat av bakterien från friska hundar (samt från några hundar med otit). De fann att 60 % av alla *S. intermedius* isolaten och 56 % av otitisolaten var resistent mot penicillin. 20 % av alla isolaten och 33 % av isolaten från öron var resistent mot

tetracyklin. Ingen stam var resistent mot trimetoprim-sulfa. Fucidinresistens fanns hos två isolat av 60, ingen från öron.

I en amerikansk studie sammanställde Petersen et al (2002) odlingsresultat avseende *S. intermedius* och *P. aeruginosa* från 497 hudprover och från 553 öronprov från hund. Proven var tagna under åren 1992-1997. *S. intermedius* isolerades i genomsnitt från 49,4 % av otitmaterialet under denna period. Av *S. intermedius* isolaten förekom 32,7% i renkultur. I materialet ingick dock både otitis externa och otitis media. Resistens förekom mot olika antibiotika, exempelvis mot penicillin, 51 % och tetracyklin, 26 %. *P. aeruginosa* isolerades från 27,8 % (33,3 % av isolaten i renkultur) av samma material, multiresistens var vanligt. Under den 6-års period proverna samlats syntes ingen ökning av resistens hos de två bakterietyperna.

Jämförelsevis påvisades *S. intermedius* i föreliggande studie i 47 % av alla prover och av dessa isolat växte 59 % i renkultur. Resistens mot penicillin och ampicillin var 81,5 % och mot tetracyklin 56 %. Om detta visar en reell ökning av resistensförekomst eller om ökningen beror på urvalet av fall går inte att bedöma. *P. aeruginosa* isolerades i 19 % av proven och av dessa var 45 % renkultur. Jämförelse av resistens är approximativ i dessa fall då både metod och val av antibiotika skilde mellan länderna.

Problemet med att skilja på debuterande och kroniska bakterieinfektioner adresserades av Holm et al (2002). I en svensk studie sammanställdes prover från 201 hundar med förstagångspyodermi och 233 hundar med återkommande pyodermi. *S. intermedius* var den vanligaste hudbakterien hos hundar med pyodermi såväl som hos friska hundar. Proverna var tagna under åren 1995-96 (från både förstagångs och återkommande pyodermi). Produktion av betalaktamas fanns hos 76 % av *S. intermedius* isolaten. Denna resistens har enligt författarna sannolikt selekterats fram med frekvent användande av penicillinpreparat på hund. Resistens hos hundar med återkommande pyodermi var vanligast mot streptomycin (38 %), erytromycin (39 %), spiramycin (40 %), clindamycin (32 %), tetracyklin (31 %) och fucidinsyra (23 %). Samma resistensmönster fanns hos hundar med förstagångspyodermi men med signifikant lägre prevalens. Resistensprevalens för *S. intermedius* från normala hundar var samma som hos hundar med förstagångspyodermi. Jämfört med tidigare studier hade enligt Holm resistens mot makrolider (erytromycin), linkosamid (klindamycin) och tetracykliner sannolikt fördubblats under en 5-års period. Resistensmönstret hos *S. intermedius* reflekterade enligt Holm et al., (2002) användandet av de vanligaste antibiotika som fanns mot pyodermi (och mot andra infektioner).

I föreliggande studie fanns en högre *S. intermedius* resistens mot tetracykliner (56 %) än hos Holms et al. studie på hundar med återkommande pyodermi (31 %). Eftersom tetracyklin och betalaktamer inte används mot otiter reflekterar den höga resistensförekomsten även i denna studie troligtvis en ökad användning av dessa antibiotika vid andra infektioner. I föreliggande studie var förekomst av resistens hos otitbakterierna högre än hos de bakterier i Holms studie som tagits från hundar med förstagångspyodermier, men generellt lägre än hos hundar med återkommande pyodermi. Resultaten antyder att det skulle kunna finnas ett samband mellan frekvensen av antibiotikabehandling av en hund och förekomst

av resistens mot dessa antibiotika hos *S. intermedius* vid otit såväl som vid pyodermi. Dock finns inga undersökningar på skillnader mellan resistens hos *S. intermedius* vid förstagångsotiter och recidiverande otiter.

En ökad användning av cefalosporiner mot pyodermier på hund har däremot inte gett upphov till resistens hos *S. intermedius* i föreliggande studie.

En omfattande studie av resistensutveckling hos koagulas-positiva stafylokocker från alla typer av infektioner på hund gjordes i Canada på journaler samlade från 1984-1998 (Prescott et al., 2004). Då djur med svårare infektioner sannolikt utgjorde en större del av provmaterialet var förekomsten av antibiotikaresistens i studien troligtvis högre än vad som var normalt i populationen. Dock kunde vissa trender ses i materialet, som att antibiotikaresistens inte kunde ses som en ökning under perioden p.g.a. ökad antibiotikaanvändning. Resistens mot enskilda substanser reflekterade både upp och nedgångar i användandet av just den substansen. Detta betyder att en minskad användning av ett visst antibiotika kan leda till en reducering av resistensförekomsten mot samma antibiotika. Dock är resistens hos bakterier en intrikat mekanism, som när den väl selekterats fram i vissa fall kan ligga vilande i populationen även efter att användningen av antibiotikat har minskat.

Uttryck av gener hos *S. intermedius* för resistens mot erytromycin triggas av exponering. Resistens mot makrolider och linkosamider hos *S. intermedius* kan induceras genom exponering för erytromycin. Således, en exponeringsinducerad resistens i en antibiotikagrupp kan i vissa fall också ge resistens i en annan grupp, exempelvis mellan makrolider och linkosamider och tetracyklin. Det skulle kunna förklara den ökade resistensen mot dessa preparat vid återkommande pyodermier (Holm et al., 2002) och eventuellt hos *S. intermedius* stammar i denna studie.

Alternativa och förebyggande behandlingar.

Ett antal medel för rengöring av öron finns på marknaden. Försök har gjorts med behandling av otit med topikala öronrengöringspreparat utan tillsats av antimykotika och antibiotika för att undersöka effektiviteten av dessa preparat vid behandling av extern otit. Epi-Otic (Virbac) innehåller 2,5 % mjölksyra och 0,1 % salicylsyra som är antibakteriella och keratolytiska ämnen. Spheruliter (multilamellära mikrovesikler), chitosanide, propylenglykol och natrium docusate är olika hjälpämnen, samt PCMX (parachlorometaxylenol), som är en bredspektrum antibakteriell substans. Cole et al., (2003), behandlade 16 hundar med förstagångs och återkommande otitis externa, med enbart Epi-Otic (Virbac) 2 gånger dagligen i 14 dagar. Cytologisk utvärdering gjordes efter 1 och 2 veckors behandling. Alla hundar bedömdes ha en minskning av kliniska symptom. Åttiotre % (83,3 %) av hundarna med *S. intermedius* infektion (6 st), alla med *P. aeruginosa* infektion (2 st) och 72 % av jästsvampinfektionerna (12 st) bedömdes som kliniskt friska efter 2 veckor. Jästsvamp återfanns oftare vid förstagångsotiter än vid återkommande otiter.

En liknande studie var gjord tidigare där Epi-Otics antibakteriella och antimykotiska egenskaper testades. Försök gjordes både in vivo, på 8 bassethundar med dubbelsidig kronisk ceruminös otit, och in vitro på renkulturer av *S. intermedius*, *P. aeruginosa* och *Proteus* spp. samt på *M. pachydermatis*. Bassethundarna bedömdes under de 7 dagar som behandlingen pågick ha en signifikant minskning av både bakterier och *M. pachydermatis* i det behandlade

örat jämfört med det andra örat på varje hund som användes som obehandlad kontroll. Innehållet i Epi-Otic hade sämre effekt mot *M. pachydermatis* än mot bakterierna (Lloyd et al., 1998). Med tanke på de ofta komplicerade och svårdiagnosticerade omständigheter vid vilka extern otit uppstår och upprätthålls är det en lockande möjlighet att kunna förebygga återkommande otiter. Speciellt då med en förhållandevis enkel behandling och rengöring av öronen hos predisponerade hundar. Detta förutsätter djurägarens förståelse av problemet och villighet att rengöra hundens öron enligt instruktioner även när hunden inte synes ha något problem. Det skulle vara intressant att se en långtidsstudie på hundar med kronisk otit med och utan regelbunden rengöring av öronen med ett öronrengöringspreparat.

Vikten av en noggrann uppföljning av en otit är ofta poängterat i fackböcker. Genom samtal med olika veterinärkliniker i Sverige framgick att inte alla tog tillbaks behandlade otiter efter 2-3 veckor. Ofta berodde detta på att ägaren helt enkelt avbokade tiden om hunden blev symptomfri efter behandling. Det framgår att djurägarens bedömning av hundens tillstånd ofta bestämmer om det blir en uppföljning eller inte. Om detta beror på att de inte får information av den behandlande veterinären om vikten av en uppföljning, eller av andra skäl exempelvis att behandlingen upplevs som dyr är en intressant fråga som tyvärr är obesvarad. Samtidigt är det ofta så att djurägare ofta inte söker veterinär för hundens öronproblem förrän besvären är uttalade.

En extern otit är ofta smärtsam och det kan vara mycket svårt för en hundägare att applicera örondroppar eller öronrens till en hund som tröttnat på behandlingen. En fullgod behandling av problemöron kan därmed vara svår att utföra i praktiken. Desto viktigare då att veterinären tar sig tid att förklara problematiken med otitöron till djurägare vid första besöket och därmed motiverar dem att uppmärksamma symptom och att följa upp behandlingar.

Otitis media, en komplikationsrisk?

Det är osäkert hur mellanörat påverkas av en behandling med olika preparat om trumhinnan är perforerad. Jerre (1989) och Stern-Bertholtz et al. (2003) gjorde båda den intressanta observationen att behandling med kortikosteroider lokalt inte påverkade läkningen av en perforerad trumhinna. Ca 50 % av trumhinnorna undersökta i en studie på otitöron 1984 var rupturerade (Jerre 1989). Nerver ligger blottade och skulle kunna påverkas av preparat som kommer in i mellanörat genom en rupturerad trumhinna. Detta till trots har toxicitet hos öronpreparat varit ett försumbart problem vid behandling av extern otit. (K Bergvall muntl. kom.). Det förekommer fall av hörselnedsättning eller neurologiska problem som skulle kunna sättas i samband med extern otit. Dessa fall är få och det är omöjligt att säga exakt vad som orsakat problemen då det skulle kunna vara en följd av infektionen, behandlingen, djurets ålder eller andra faktorer. Vid tecken på problem som skulle kunna relateras till mellanörat skall örat undersökas för bakteriella infektioner eller andra sjukdomar, exempelvis primär sekretorisk otitis media hos ffa Cavallier King Charles spaniel (Stern-Bertholtz et al., 2003).

KONKLUSION

De vanligaste patogena mikroorganismerna i bakterieprovtagning från hörselgången på hund med extern otit var *Malassezia pachydermatis*, *S. intermedius* och *P. aeruginosa*. *M. pachydermatis* förekom antingen ensam eller i kombination med en bakterie. De prover där *M. pachydermatis* förekom som ensamt agens tillsammans med de 8 % av proverna där ingen mikroorganism kunde odlas fram representerade 19 % av fallen där ingen antibiotikabehandling var indicerad.

Antalet penicillinpositiva *S. intermedius* var något högre i föreliggande studie jämfört med liknande studier. En jämförelse av förekomst av antibiotikaresistens hos *S. intermedius* och *P.aeruginosa* i denna studie med andra liknande studier indikerar att resistens hos dessa två bakterier är relativt vanligt. Resistens förekom mot antibiotika i topikala otitpreparat. Resistens fanns också mot antibiotika som inte används för behandling otit.

En väl genomtänkt behandling bör inkludera undersökningar och val av preparat som reducerar användningen av antibiotika.

ACKNOWLEDGMENTS

Tack till Karel Krovacek, BVF, Avd för livsmedelshygien och bakteriologi och Kristina Odensvik, Apoteksbolaget.

LITTERATURFÖRTECKNING

- Cole, L. K., Kwochka, K. W., Kowalski, J. J., Hillier, A. and Hoshaw-Woodard, S.L. 2003. Evaluation of an ear cleanser for the treatment of infectious otitis externa in dogs. *Veterinary Therapeutics*, 4:1, 12-23.
- Fass Vet., 2005. Läkemedelsindustriföreningen.
- Ginel, P. J., Lucena, R., Rodrigues, J.C., and Ortega, J. 2002. A semiquantitative cytological evaluation of normal and pathological samples from the external ear canal of dogs and cats. *Veterinary Dermatology*, 13, 151-156.
- Harvey, R.G., Harari, J. and Delauche, A.J. 2001. Ear diseases of the dog and cat. Manson publ. Ltd.
- Holm, B.R., Petersson, U., Mörner, A., Bergström, K., Franklin, K. and Greco, C. 2002. Antimicrobial resistance in staphylococci from canine pyoderma: a prospective study of first-time and recurrent cases in Sweden. *Veterinary Record*, 151, 600-605.
- Jacobson, L.S. 2002, diagnosis and medical treatment of otitis externa in the dog and cat. *J. S,Afr.Vet. Ass.* 73:4, 162-170.
- Jerre, S. 1989.Otiter hos hund – ett underskattat problem. *Svensk Veterinärtidning*, 41:4, 185-194.
- Kristensen, F., Jacobsen, J.O.G., Eriksen, T. 1996. Otolaryngology in cats and dogs.1. edition, publ. LEO.
- Lloyd, D.H., Bond, R., Lamport, I. 1998. Antimicrobial activity in vitro and in vivo of a canine ear cleanser. *Veterinary Record*, 143, 111-112.
- Murphy, K.M. 2001. A review of techniques for the investigation of otitis externa and otitis media. *Clin. Tech. Small Animal Pract.* 16:3, 236-241.

- Pedersen, K., Wegener, H.C. 1995. Antimicrobial susceptibility and rRNA gene restriction pattern among *Staphylococcus intermedius* from healthy dogs and from dogs suffering from pyoderma or otitis externa. *Acta Vet Scandinavica*, 36, 335-342.
- Petersen, A.D., Walker, R.D., Bowman, M.M., Schott II, H.C. and Rosser, E.J. 2002. Frequency of isolation and antimicrobial susceptibility patterns of *Staphylococcus intermedius* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates from canine skin and ear samples over a 6-year period (1992-1997). *J. Am Animal Hosp. Ass.*, 38, 407-413.
- Prescott, J.F., Hanna, W.J.B., Reid-Smith, R. and Drost, K. 2002. Antimicrobial drug use and resistance in dogs. *Can. Vet. J.*, 43:2, 107-116.
- Quinn, P.J., Carter, M.E., Markey, B. and Carter, G.R. 1994. *Clinical Veterinary Microbiology*, Wolfe Publ. Mosby-Year Book Europe Limited, London. pp 118-292.
- Rang, H.P., Dale, M.M. and Ritter, J.M. 1999. *Pharmacology* 4th ed. Churchill Livingstone.
- Rosychuk, R.A.W., 1994. Management of otitis externa. *Vet. clin.N, Am.:Small Animal Pract.* 24:5, 921-951.
- Stern-Bertholtz, W., Sjöström, L., Wallin-Håkansson, N. 2003. Primary secretory otitis media in the Cavalier King Charles spaniel: a review of 61 cases. *J Small Animal Practice*, 44, 253-256.
- Sveriges Veterinärförbund SVF 2002, Antibiotikapolitik för hund och kattsjukvård., IV öron, 33-35.