

# ***Malassezia* otit hos hund**

*Utvärdering av lokal behandling med betametason, ekonazol respektive  
ättiks- och borsyrelösning*

**Caroline Eriksson**

**Handledare: Kerstin Bergvall**

**Inst. för kliniska vetenskaper, avdelningen för medicin och kirurgi smådjur**

**Biträdande handledare: Ulf Emanuelson**

**Inst. för kliniska vetenskaper, avdelningen för idisslarmedicin och epidemiologi**

## INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Sammanfattning .....	1
Summary .....	2
Introduktion .....	3
Allmänt om externa otiter hos hund .....	3
Malassezia pachydermatis .....	3
Diagnos av jästsvamp otit .....	4
Behandling vid en jästsvamp otit.....	4
Syftet med studien .....	5
Material och metoder .....	6
Djur .....	6
Insamling av fall samt behandlingsmetod .....	6
Utvärderingsmetod.....	7
Statistisk analys.....	7
Resultat .....	8
Observationer före behandling.....	8
Cytologiresultat.....	8
Kliniska symtom .....	8
Observationer efter behandling.....	10
Cytologiresultat.....	10
Jämförelse av andelen friska respektive ej friska .....	10
Kliniska symtom .....	11
Övriga observationer.....	11
Diskussion.....	11
Litteraturlista.....	14

## SAMMANFATTNING

*Malassezia* otit hos hund är en vanlig orsak till veterinärbesök. Vid en *Malassezia*-orsakad otitis externa har hunden en ökad förekomst av jästsvampsorganismer och/eller en inflammatorisk respons till mikroorganismen i örat, vilket yttrar sig i form av varierande grad av klåda, rodnad, svullnad och ökad sekretförekomst. Diagnosen jästsvamp otit ställs med hjälp kliniska symtom och cytologi av öronsekret. För att undvika recidiv bör även bakomliggande orsak identifieras och åtgärdas.

De medicinska behandlingsalternativen för en infektiös extern otit består framför allt av topikal behandling. I Sverige finns för närvarande inte något registrerat preparat för otiter med enbart jästsvampsinfektion, utan samtliga innehåller även antibiotika.

Syftet med denna studie var att i en randomiserad, prospektiv studie utvärdera och jämföra resultat av tre olika lokala behandlingsalternativ för jästsvampassocierad otitis externa på hund. De tre behandlingsalternativen vi valde var betametason (Betnovat), ekonazol (Pevaryl), respektive ättiks och borsyrelösning (MalAcetic Otic). Dessa preparat förekommer frekvent i praxis, men några jämförande studier finns ej publicerade avseende hur effektiva dessa olika preparat är.

I studien inkluderades 30 hundar varav 10 registrerades som drop outs. Veterinären bedömde hundens symtom och tog cytologiproov vid inklusion samt efter 14 dagars behandling. Av de 20 hundar resultaten slutligen beräknades på behandlades 7 med Betnovat, 7 med Pevaryl och 6 med MalAsetic Otic. En signifikant skillnad i behandlingsresultat kunde ses mellan Pevaryl respektive Betnovat och MalAsetic Otic. Antalet hundar som blev helt friska (kliniskt och mikrobiellt) efter behandling var 86 % för Betnovat, 67 % för MalAsetic Otic men enbart 14 % för Pevaryl. Dock skiljde sig symtomen åt innan behandling då hundarna i Pevarylgruppen visade mer höggradiga kliniska symtom vid inklusion, vilket kan vara en bidragande orsak till preparatets dåliga behandlingsresultat. Inga biverkningar noterades i någon av behandlingsgrupperna.

Sammanfattningsvis: Denna pilotstudie visar att topikal behandling av *Malassezia pachydermatis*-associerad otitis externa är effektiv och säker vid behandling med betametason (Betnovat) respektive ättiks och borsyrelösning (MalAcetic Otic). Effekten av ekonazol (Pevaryl) var signifikant sämre. För att komma fram till statistiskt säkrare resultat kommer studien att fortgå och avser att inkludera minst 38 hundar per behandlingsgrupp.

## SUMMARY

*Malassezia* otitis in dogs is a common cause of visit to a veterinary service. In otitis externa due to *Malassezia* overgrowth the dog has a higher number of yeast organisms and/or a local inflammatory response to the micro organism. Common clinical signs include pruritus, erythema, swelling and increased exudate production. Clinical symptoms and results from cytology of ear swabs from the ear canal is the mainstay for diagnosis. Any underlying condition has to be identified and corrected to avoid relapse.

The treatment options for infective otitis externa are based upon topical administration of eardrops containing antibiotics, steroids and antifungals. For the time being there is no registered preparation available in Sweden for the treatment of a *Malassezia* otitis with no bacterial component. All otic preparation for topical use also contains antibiotics.

The aim of this randomly and prospective study was to evaluate and compare three different treatment protocols in the treatment of canine *Malassezia* otitis externa. The three treatment options chosen were betametasone (Betnovat), ekonazole (Pevaryl) and acetic-boric acid combination (MalAsetic Otic). All these topical treatments are widely used in Swedish small animal veterinary practice, but to date no study has been published comparing the efficacy of these treatment regimens.

30 dogs were included in the study of which 10 were registered as drop outs. The veterinary graded clinical signs at inclusion and at follow up after 14 days by the use of a clinical scoring system for pruritus, erythema, swelling and amount of exudate. Cytological evaluation was performed at inclusion and at follow up. Cytology at follow up was evaluated blinded to the investigator. The results were calculated in 20 dogs of which 7 were treated with Betnovat, 7 with Pevaryl and 6 with MalAsetic Otic. There was a significant difference between Pevaryl compared to Betnovat and MalAsetic Otic. Completely healthy dogs (clinical and cytological cure) after treatment were 86 % for Betnovat, 67% for MalAsetic Otic and 14 % for Pevaryl. The clinical signs at inclusion were more severe in the Pevaryl group as compared to the others, especially with respect to swelling, and this could possibly bias the outcome. No side effect could be noticed in any of the treatment groups.

In summary: This pilot-study shows that topical treatment of *Malassezia*-associated otitis externa in dogs is effective and safe when using betametasone (Betnovat) and acetic-boric acid combination (MalAsetic Otic). The efficacy of ekonazole (Pevaryl) was significant lower. The statistical power will improve by larger treatment groups and the study will continue, aiming to include 38 dogs in each treatment group.

## INTRODUKTION

### Allmänt om externa otiter hos hund

Otitis externa är en inflammatorisk reaktion som involverar ytterörats och hörselgångens hud och en mycket vanlig orsak till att en hund kommer på veterinärbesök. Den uppskattade incidensen av otit på hund ligger mellan 4 % och 20 % (Ettinger & Feldman, 2005).

Extern otit på hund utgör i många fall en sjukdom som inte bara är lokaliserad till yttre hörselgången utan utgör ett delsymtom i annan underliggande dermatologisk sjukdom. De utlösande faktorerna till en extern otit kan delas in i följande faktorer: predisponerande (ökar risken för otit); primära (inducerar otit direkt); sekundära (bidrar till otit enbart i ett onormalt öra eller i kombination med predisponerande faktorer) och underhållande (exempelvis patologiska processer i örat). För att få en korrekt diagnos måste alla dessa orsaker finnas i åtanke. Predisponerande faktorer såsom kraftig hårväxt i örat eller hängande öron ändrar miljön i ytterörat och gör det därmed mer disponerat för sekundär mikrobiell infektion. Vanliga primära faktorer inkluderar främmande kropp, allergi (speciellt atopisk dermatit och foderallergi), ektoparasiter, neoplasier i örat samt keratiniseringsrubbingar (till exempel primär idiopatisk seborré och hypotyroidism) (Jacobson, 2002; Ettinger & Feldman, 2005). Till vanliga sekundära orsaker hör mikroorganismer såsom jästsvampen *Malassezia pachydermatis* och olika bakterier (Öhlen & Bergvall, 1999). Blandinfektioner med båda dessa typer av mikroorganismer är inte ovanligt (Gotthelf, 2005).

Kliniska symtom hos en hund med extern otit kan variera beroende på grundorsak. De flesta otiter ger någon form av klåda eller smärta i öronregionen. Hörselgången, och emellanåt ytterörat, rodnar och svullnar i olika grad och en ökad mängd sekret kan som regel påvisas i ytterörat (Öhlen & Bergvall, 1999).

### **Malassezia pachydermatis**

Jästsvampen *Malassezia pachydermatis* är en avknoppande, lipofil men inte lipidberoende kommensal som sekundärt är patogen. Denna svamp bildar ej mycel, är till formen jordnötslik och karakteriseras av en tjock cellvägg (Cafarchia et al., 2005a). Genuset *Malassezia* består av 11 arter varav *M. pachydermatis* är den som dominerar i öronsekret och på huden hos både friska individer och hundar med otit och/eller dermatit (Nardoni et al., 2007).

I en studie av Girão et al (2005) påvisades jästsvamp hos 63,7 % och 21,43 % av öron med kliniska symtom på otit respektive från friska öron. En annan studie av Cafarchia et al (2005b) visade på liknande resultat. Här fann man *Malassezia* spp. hos 57,3 % och 28,0 % av hundarna med respektive utan extern otit. I samma studie framodlades *M. pachydermatis* i 97,6 % av alla fall med *Malassezia* spp. vilket visade att just denna typ av jästsvamp är den absolut dominerande.

Patogeniteten hos *Malassezia* arterna är relaterad till en störning i de normala fysiska, kemiska, eller immunologiska mekanismerna som har som uppgift att förhindra mikrobiell kolonisation av huden (Guillot & Bond, 1999). En teori till jästsvampens virulens framlades av Cafarchia & Otranto (2004) som studerade

fosfolipas aktiviteten hos *M. Pachydermatis*-stammar isolerade från friska hundar samt hundar med otit och dermatit. En hög procent av de jästsvampar som påvisades hos de sjuka hundarna visade sig producera detta enzym, jämfört med en låg procent av stammar isolerade från friska individer. Detta talar för att fosfolipas kan vara inblandat i jästsvampens patogenes.

Hundar med allergier (födoämnesreaktioner och atopisk dermatit) och hundar med täta hudveck har visats vara predisponerade för *Malassezia*-orsakad otit (Scott et al., 2001). Resultatet från en studie av Chen et al. (2001) indikerade att majoriteten av atopiska hundar med *Malassezia*-orsakad dermatit hade ett högre anti-*Malassezia*-IgE svar än normala hundar. Förekomst av IgE-antikroppar mot *Malassezia* kan förklara varför atopiska hundar kan utveckla en kraftig inflammatorisk reaktion och klåda i öronen även vid sparsam till måttlig överväxt av jästsvamp.

### **Diagnos av jästsvamp otit**

Vid en *Malassezia*-orsakad otit har hunden en ökad förekomst av jästsvampsorganismer och/eller en inflammatorisk respons till mikroorganismen i örat, vilket yttrar sig i form av varierande grad av rodnad, ökad sekretförekomst, svullnad och klåda.

För att ta reda på mängd och typ av mikroorganismer i öronsekret är cytologisk undersökning av svabbprov från hörselgången en mycket användbar metod. Absolut gräns för vad som maximalt kan anses som normal förekomst av *Malassezia pachydermatis* i öronsekret varierar från individ till individ. Olika studier har kommit fram till ungefärliga mått, men i slutändan måste veterinären lägga samman de cytologiska fynden med hundens övriga symtom och historia för att avgöra om antalet *Malassezia* spp. är normalt eller inte (Gotthelf, 2005). Tater et al. (2003) visade att normala öron hos hundar kunde innehålla mellan 0 och 2,6 jästsvampar per 40x synfält. Ginel et al. (2002) jämförde cytologiprover från normala och sjuka öron och kom fram till att upp till i genomsnitt två jästsvampar per synfält (40x förstoring) är acceptabelt hos friska hundar. En studie av Gaugere et al. (1996) visade att ej friska öron i genomsnitt har 4 jästsvampar eller mer per oljeimmersionsfält.

Odlingsprov på öronsekret utförs ej rutinmässigt för att ställa diagnosen jästsvamp otit på hund. Detta p.g.a. att studier visat att odling har en lägre sensitivitet än cytologi för att påvisa *Malassezia* spp. Även specificiteten vid cytologisk undersökning är mycket god och falskt positiva prover förekommer i princip endast vid färgning av preparat med kontaminerat färgbad. I en blindad studie av Huang et al. (1993) var sensitiviteten för att cytologiskt hitta jästsvamp 100 % emedan odling enbart hade en känslighet på 50 %. Odling är dessutom både mer kostsamt och tidskrävande än cytologi.

### **Behandling vid en jästsvamp otit**

Hörselgången består av en broskgång som är hudbeklädd på insidan. Huden i hörselgången består av förhornat ytskikt (*Str. Corneum*), epidermis, hårsäckar och dermis (underhud) med riklig förekomst av vax- och talgkörtlar. Patologiska processer som påverkar huden kan även påverka huden i hörselgången. Därför är

det viktigt, framför allt vid recidiverande otiter, att noggrant se över om det finns en dermatologisk sjukdom, predisponerande för sekundärinfektioner, som även den måste behandlas (Gotthelf, 2005).

De medicinska behandlingsalternativen för en infektiös extern otit består framför allt av topikal behandling. Behandlingen bör riktas mot de mikroorganismer som påvisats i hörselgången. Vid *M. pachydermatis*-infektion utan bakteriell involvering rekommenderas behandling med topikala kortikosteroider tillsammans med ett antimykotiskt medel (Antibiotika policy för hund och kattsjukvård, 2002). I Sverige finns för närvarande inte något registrerat preparat för otiter med enbart jästsvampsinfektion, utan samtliga innehåller även antibiotika. Ett flertal olika behandlingsalternativ förekommer dock frekvent i praxis, framför allt topikal behandling med betametason (Betnovat, 1mg/ml kutan lösning), ekonazol (Pevaryl, 10mg/ml kutan emulsion), respektive 2 % ättiks- och 2 % borsyrelösning (MalAcetic Otic, DermaPet). Topikala glukokortikoider såsom **Betametason** verkar positivt på en otit genom dess antiinflammatoriska effekt. Detta får svullnaden att gå ned och de sebakösa körtlarna atrofierar och deras sekretion minskar. Hunden blir dessutom ofta lättare att behandla då betametason gör att smärtan minskar (Scott et al., 2001). Riskerna med topikal steroidbehandling i öronen anses som minimal, då en klinisk studie av Ghubash et al. (2004) visade att hundar av små hundraser som behandlades med topikal betametason dagligen i friska öron under 2 veckor ej fick en påverkan på binjuren. Betnovat kutan lösning 1mg/ml innehåller även isopropylalkohol vilket möjligen kan ha ototoxisk effekt i ett öra där trumhinnan är trasig (Gotthelf, 2005). **Ekonazol** är ett antifungalt medel av imidazoltyp som interfererar med ergosterolsyntesen och därför ändrar permeabiliteten av svampens cellmembran. Den antimikrobiella aktiviteten hos ekonazol liknar den hos ketokonazol och rapporteras vara fungistatisk vid kliniskt uppnådda koncentrationer (Fass, 2006). En studie gjord av Miranda et al. (2006) visade att majoriteten av försökets *Malassezia*-isolat var känsliga mot samtliga azoler. I en annan undersökning av Pinchbeck et al. (2002) gjordes upptäckten att antalet jästsvampar minskade på huden hos de hundar med dermatit men antalet minskade ej i öronsekretet hos de med otit efter oral giva med itraconazole. En pilotstudie har gjorts av Basset et al. (2004) angående **MalAsetic Otics** effekt som visade att 88 % av hundar med jästsvamp otit blev friska efter 14 dagars behandling. Den rengörande effekten av ättiksyran tar bort fettsyror som är nödvändiga för metabolismen och reproduktionen av *Malassezia*. Borsyre- lösningen i MalAsetic Otic är uttorkande och tar bort sekret som behövs för att jästsvampen skall kunna fästa till öronkanalen (Gotthelf, 2005).

Några jämförande studier finns dock ej publicerade avseende hur effektiva dessa olika preparat är.

### **Syftet med studien**

Syftet med denna studie var att i en randomiserad, prospektiv studie utvärdera och jämföra resultat av tre olika lokala behandlingsalternativ för jästsvampassocierad otitis externa på hund. De tre behandlingsalternativen vi valt är betametason (Betnovat), ekonazol (Pevaryl), respektive ättiks och borsyrelösning (MalAcetic Otic). Cytologisk bedömning av behandlingsresultat utfördes blindat för undersökaren.

## **MATERIAL OCH METODER**

### **Djur**

Denna kliniska pilotstudie består av privatägda hundar med kliniska symtom överensstämmande med extern otit och där *Malassezia* spp. kunde påvisas vid cytologisk undersökning av öronsekret. Studien är godkänd av Uppsala djurförsöksetiska nämnd samt dispens har beviljats från kravet att försöksdjur ska vara destinationsuppfödda. I inklusionskriterierna ingick att hunden skulle visa något eller några kliniska tecken på öroninflammation såsom klåda, ökad sekretmängd, rodnad och/eller svullnad i hörselgången. Hundar exkluderades om bakterier kunde påvisas i det cytologiska preparatet, om en tydligt trasig trumhinna observerades vid otoskopering eller om hörselgången var så pass ockluderad och svullen att örondroppar inte gick att få ned. Inte heller hundar som blivit behandlad för otit mindre än 4 veckor före inklusion fick ingå i studien. Både hundar med bilateral och unilateral *M. pachydermatis* otit deltog i studien. I de bilaterala fallen valde den behandlande veterinären vilket av öronen som skulle ingå i studien. Hundar som fick allmänbehandling mot sin jästsvamp otit, såsom antifungala medel eller kortikosteroider, exkluderades ur studien. Däremot fick de hundar som vid första besöket redan stod på en allmän behandling mot annan sjukdom ingå i studien under förutsättning att denna behandling ej ändrades. Hundar som ej fullföljt behandlingen eller ej kommit på återbesök registrerades som drop outs. Djurägare till hundar som ej kommit tillbaka till kliniken för återbesök ringdes upp per telefon för att försöka utröna orsaken till uteblivet återbesök.

Beräkningar av nödvändig stickprovsstorlek gjordes med förutsättningarna att hitta en skillnad i tillfrisknadsgrad på 30 % mellan bästa (90 %) och sämsta (60 %) behandling med 0,05 % signifikans och 80 % power. Enligt dessa beräkningar avsåg studien att inkludera minst 38 hundar i varje grupp för att uppnå statistisk säkerhet i materialet.

### **Insamling av fall samt behandlingsmetod**

Fall rekryterades från två kliniker under perioden november 2006 till oktober 2007; SLU klinikcentrum i Uppsala samt Djurakuten AB i Stockholm.

Djurägaren signerade ett godkännande till att delta i studien där de noggrant informerades att de när som helst och utan motivering kunde välja att utgå ur studien. Behandlande veterinär fyllde i ett protokoll där symtom i form av klåda, svullnad, rodnad, mängd sekret graderas från 0 (inget) till 3 (kraftigt). En sammanfattning av symtomen skapades genom att summera graderingarna för varje hund, vilket innebar en maximal symtompöäng på 12. Även färg på sekret samt övrigt av intresse såsom till exempel konstaterad allergi skulle anges. Från varje fall togs cytologiprov genom att en ren bomullstopps fördes ned i hörselgången och gneds mot huden på hörselgångens insida. Topsen ströks därefter ut på två objektglas. Det ena färgades med Hemacolor (Merck, Darmstadt, Tyskland) och inspekterades i mikroskop under 100x förstoring. Det andra objektglaset märktes med nummer och datum och sparades ofärgat till undersökaren. Om behandlande veterinär ansåg sig påvisa infektion med enbart



jästsvamp i örat/öronen och hunden uppfyllde kriterierna för studien, inkluderades patienten. Patienterna indelades randomiserat i en av tre olika behandlingsgrupper. De tre behandlingsalternativen hade blivit slumpvis randomiserade genom lottdragning i block om tre, detta för att öka chansen att lika många hundar skulle behandlas med respektive preparat. De tre olika behandlingsalternativen bestod av Betnovat (GlaxoSmithKline, Solna, 1mg/ml kutan lösning), Pevaryl (Janssen-Cilag, Sollentuna, 10mg/ml kutan emulsion) respektive MalAsetic Otic (DermaPet, Potomac, Maryland). Djurägaren fick av veterinär veta vilket preparat hunden skulle behandlas med och blev sedan noggrant instruerad hur behandlingen skulle utföras samt fick med sig ett behandlingsprotokoll hem. För både Pevaryl och Betnovat löd instruktionerna att sträcka öronlappen uppåt, droppa i 5-10 droppar av preparatet och massera öronbasen i 1 minut. MalAsetic Otic skiljde sig något i sin behandlingsform då djurägaren efter att sträckt öronlappen skulle fylla hörselgången med upp till 5ml av lösningen, massera öronbasen i 5 minuter och sedan ta bort synligt sekret med en bomullstuss. Samtliga behandlingar skulle utföras 2 gånger om dagen i 14 dagar.

### **Utvärderingsmetod**

Vid återbesök efter 14 dagar togs ett nytt svabbprov med tops ur hörselgången enligt samma metod som vid initialbesöket. Svabben ströks åter ut på två objektglas, varav ett färgades med Hemacolor och bedömdes av behandlande veterinär och det andra glaset märktes och sparades till undersökaren. Den praktiserande veterinären bedömde och registrerade hundens kliniska status genom att åter fylla i ett protokoll där symtom i form av klåda, svullnad, rodnad, mängd sekret graderats från 0 (inget) till 3 (kraftigt). Även färg på sekret, eventuella noterade biverkningar samt information om djurägaren lyckats behandla hunden skulle anges. Veterinären ombads även svara på om de ansåg att hunden var frisk eller inte efter att ha vägt samman cytologisvar samt kliniska symtom. Om hunden ej blivit frisk var det upp till behandlande veterinär att avgöra fortsatt behandling.

Cytologiglasen från både initialbesök och återbesök undersöktes blindat av veterinärstudenten Caroline Eriksson, SLU i Uppsala, detta för att få en rättvis och opartisk bild av antalet jästsvampar samt för att återigen kontrollera att inga bakterier kunde ses. Alla cytologiglas färgades med färgningsmetoden Hemacolor och undersöktes sedan i oljeimmersion 100x där ett medelvärde av antalet *M. pachydermatis* räknades ut per synfält efter att räknat det totala antalet i 10 fält.

### **Statistisk analys**

T-test användes för att jämföra cytologiresultaten, dels antalet jästsvampar per oljeimmersionsfält vid initialbesöket och dels förändringen i antalet jästsvampar, mellan de olika behandlingsgrupperna.

Chi<sup>2</sup>-test användes för att jämföra kliniska symtom mot ej kliniska symtom vid initialbesöket för de olika behandlingsgrupperna. Grad 0 ansågs i det avseendet som inga kliniska symtom vilket jämfördes med grad 1-3 som tolkades som symtom. Skillnader i summan av graderingarna jämfördes mellan behandlingsgrupperna med hjälp av en Wilcoxon rangsummetest. Chi<sup>2</sup> användes

även för att jämföra behandlingsresultatet av de olika behandlingarna bedömt av behandlande veterinär vid återbesök som frisk/ej frisk.

## RESULTAT

Sammanlagt 30 hundar uppfyllde studiekriterierna och inkluderades i studien. Av dessa fullföljde 20 behandlingen. De resterande 10 hundarna registrerades som drop outs. Av dessa exkluderades 4 p.g.a. avsaknad av återbesök; 2 behandlade med Pevaryl och 2 med MalAsetic Otic. Via telefon kunde 3 av dessa 4 djurägare som ej kommit på återbesök kontaktas. Det visade sig att båda hundarna som blivit Pevarylbehandlade hade blivit något bättre men ej symtomfria. En av de hundar som behandlats med MalAsetic Otic blev helt bra enligt djurägaren och den andra hunden som även den blivit behandlad med MalAsetic Otic gick som tidigare nämnt ej att få tag på. Av övriga drop outs utgick 1 hund p.g.a. att djurägaren aldrig påbörjat behandling, 3 hundar p.g.a. att djurägaren ej behandlat hunden enligt givna anvisningar, samt 2 hundar p.g.a. att hunden vid inklusion samtidigt påbörjat en allmän behandling med antifungala medel och/eller allmänbehandling med glukokortikoider.

Bland de 20 hundar som slutligen inkluderades i utvärderingen behandlades 7 hundar med Betnovat, 7 hundar med Pevaryl och 6 hundar med MalAsetic Otic.

### Observationer före behandling

#### *Cytologiresultat*

Alla cytologiresultat som presenteras grundar sig på den blindade undersökarens mikroskopiering av öronsekret.

Medeltalet jästsvampar per oljeimmersionsfält (OIF) 100x förstoring, samt SEM (medelvärdets medelfel), minimum och maximum före behandling redovisas i tabell 1. Medeltalet jästsvampar innan behandling jämfördes mellan de olika behandlingsalternativen och ingen signifikant skillnad förelåg ( $P \gg 0,05$ ).

Tabell 1. Medeltal, SEM, minimum samt maximum av antalet jästsvampar/OIF innan påbörjad behandling för de tre olika behandlingsalternativen

Behandling	Cytologiresultat före behandling			
	Medeltal	SEM	Minimum	Maximum
Betnovat	14,9	9,9	2,9	73,9
Pevaryl	10,2	3,2	2,2	23,5
MalAsetic Otic	29,5	14,1	2,5	88,7

#### *Kliniska symtom*

En procentuell fördelning av de olika graderna av kliniska symtom för klåda, svullnad, rodnad och mängd sekret före behandling har åskådliggjorts i figur 1. Kliniska symtom jämfördes mot ej kliniska symtom för respektive kategori.

Signifikant skillnad mellan de olika behandlingarna förelåg för svullnad ( $P < 0,03$ ) då de som påbörjade behandling med Pevaryl i högre grad hade kliniska symtom jämfört med både MalAsetic Otic och Betnovat. De övriga kliniska symtomen skiljde sig ej signifikant åt.

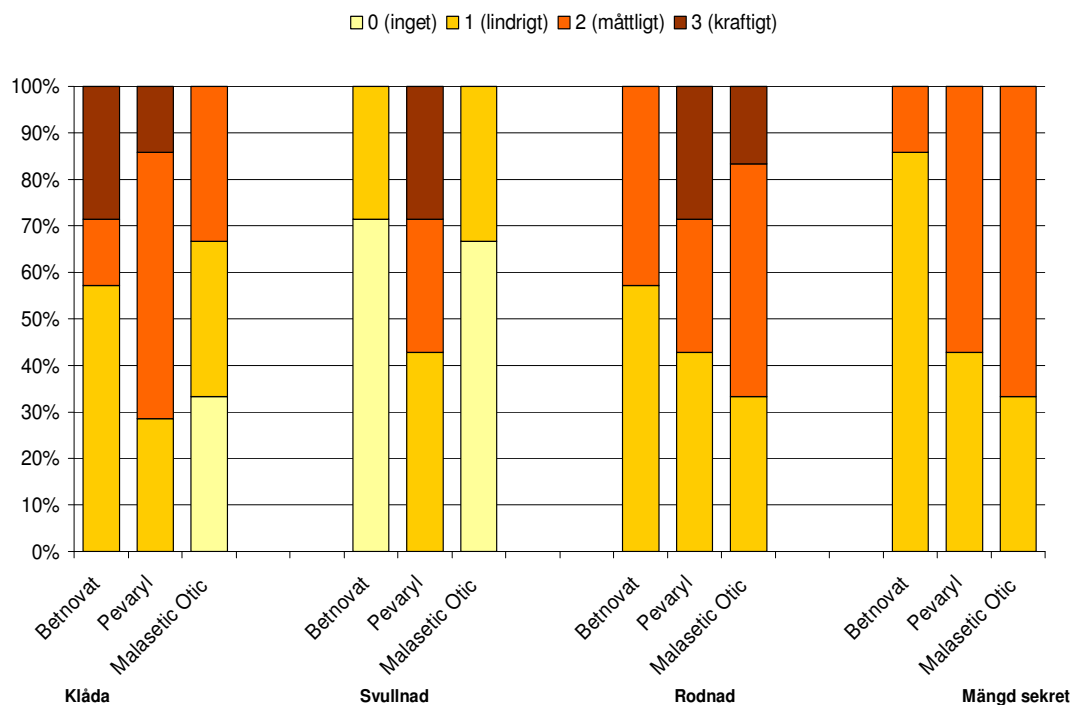


Fig. 1. Graden av kliniska symtom för de tre olika behandlingsalternativen innan behandling påbörjats.

Graderingarna för de kliniska symtomen innan behandling summerades och jämfördes mellan de tre olika behandlingsalternativen. I tabell 2 redovisas sammanlagd grad av symtom, med median, minimum och maximum, för hundarna inom varje behandlingsgrupp. En tendens till skillnad ( $P < 0,07$ ) förelåg mellan Betnovat och Pevaryl respektive MalAsetic Otic och Pevaryl. Ingen skillnad kunde ses vid jämförelse mellan Betnovat och MalAsetic Otic ( $P >> 0,05$ ).

Tabell 2. Sammanlagd grad av symtom, med median, minimum och maximum för de tre olika behandlingsalternativen. Varje hund kunde maximalt ha 12 poäng.

Behandling	Sammanlagd grad av symtom/hund		
	Median	Minimum	Maximum
Betnovat	5	4	7
Pevaryl	8	4	8
MalAsetic Otic	5	3	7

## Observationer efter behandling

### **Cytologiresultat**

Förändringen i cytologiresultaten, det vill säga skillnaden mellan antalet jästsvampar innan och efter behandling för de tre olika behandlingsalternativen, presenteras i tabell 3.

Tabell 3. Medeltal, SEM, minimum samt maximum av förändringen i cytologiresultaten av antalet jästsvampar/OIF efter behandling (antalet efter minus antalet innan) för de tre olika behandlingsalternativen

Behandling	Förändring i cytologiresultat			
	Medeltal	SEM	Minimum	Maximum
Betnovat	-12,8	10,0	-71,8	6,9
Pevaryl	-0,1	5,5	-15,1	30,9
MalAsetic Otic	-28,7	14,2	-88,7	-2,5

Förändringen av cytologiresultaten jämfördes mellan behandlingarna och ingen signifikant skillnad kunde ses ( $P >> 0,05$ ) förutom vid jämförelse mellan Pevaryl och MalAsetic Otic ( $P < 0,08$ ) då en tendens till signifikant skillnad kunde påvisas.

Efter behandling hade antalet *M. pachydermatis* minskat hos alla hundar i studien utom för tre hundar varav två blivit behandlade med Pevaryl och en med Betnovat.

I alla 20 fall stämde diagnosen "frisk hund" överens med att hundarnas cytologiprov innehöll lågt antal *Malassezia pachydermatis*. Cytologiresultatet för de hundar som efter behandling ansågs som friska varierade mellan 0 och 2,1 jästsvampar/OIF och medeltalet *Malassezia* spp/OIF var 0,41 för dessa individer. Hundar som vid återbesök definierats som "ej frisk" av behandlande veterinär uppvisade varierande antal *Malassezia* organismer/OIF (mellan 0,2 och 54,4, medelantal 10,4/OIF). I figur 2 redovisas bland annat antalet hundar som ansågs som cytologiskt friska efter 14 dagars behandling, det vill säga de individer som hade mindre än 3 jästsvampar per synfält.

### **Jämförelse av andelen friska respektive ej friska**

I figur 2 åskådliggörs antalet, enligt veterinär, friska hundar efter behandling. En signifikant skillnad förelåg vid parvisa jämförelser mellan Betnovat och Pevaryl ( $P < 0,007$ ) samt mellan MalAsetic Otic och Pevaryl ( $P < 0,03$ ). En tendens till signifikant skillnad förelåg även mellan Betnovat och MalAsetic Otic ( $P < 0,09$ ).

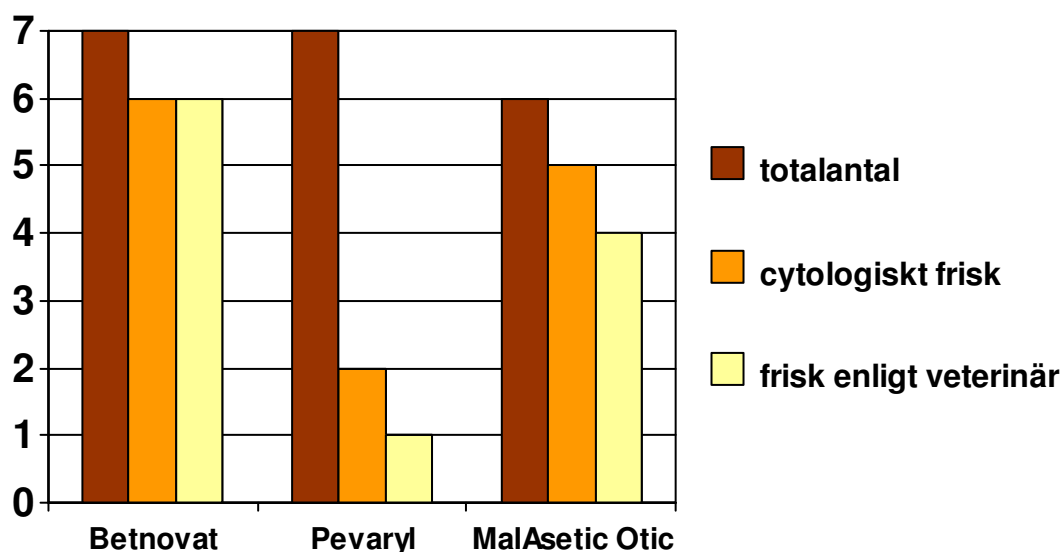


Fig. 2. Det totala antalet hundar, antalet cytologiskt friska hundar enligt blindad undersökares mikroskopiering samt antalet friska hundar enligt veterinär för respektive behandlingsalternativ efter 14 dagars behandling.

### **Kliniska symtom**

Sammanlagt 9 hundar betraktades som ej friska av veterinären efter behandling. Av dessa hade 6 blivit behandlade med Pevaryl. Bland dessa "ej friska" hundar i Pevaryl gruppen hade alla utom två minskad klåda. Svullnaden, rodnaden och mängden sekret hade hos dessa individer förblivit oförändrad förutom för en individ där svullnaden hade ökat och två individer där rodnaden hade ökat.

Biverkningar av behandlingen noterades inte i något fall.

### **Övriga observationer**

Vid inklusion ordinerades allmän antibiotika till 6 hundar p.g.a. samtidig bakteriell hudinfektion. Av dessa behandlades 4 med Betnovat, 1 med Pevaryl och 1 med MalAsetic Otic.

## **DISKUSSION**

En tydlig skillnad i behandlingsresultat kunde ses mellan Pevaryl respektive Betnovat och MalAsetic Otic. God avläkning av jästsvamp otiten och helt friska öron (kliniskt och mikrobiellt) kunde ses hos 86 % av hundarna behandlade med Betnovat och 67 % av hundarna behandlade med MalAsetic Otic. Enbart 14 % av hundarna i Pevarylgruppen blev helt friska från sin otit.

De goda resultaten vid behandling med Betnovat och MalAcetic Otic stämmer väl överens med anekdotiska uppgifter från kliniskt praktiserande veterinärer. Även pilotstudien gjord av Basset et al. (2004) där 88 % av 18 hundar med jästsvamp otit blev friska efter behandling med MalAsetic Otic överensstämmer väl med

våra resultat. Avläkningen hos båda dessa preparat beror sannolikt inte på en hög andel spontana tillfrisknanden, eftersom hundarna i Pevarylgruppen inte blev bra. Möjligen skulle Pevaryl kunna hindra spontanavläkning genom att förändra mikromiljön i för mikroorganismen gynnsam riktning, men det förefaller inte troligt. Betnovats goda effekt beror troligen till stor del på dess antiinflammatoriska verkan på en otit och dess förmåga att dämpa immunologisk respons på mikroorganismen och möjligen också på minskad bildning av anti-*Malassezia*-IgE. Studier krävs för att ta reda på om det är bättre att enbart behandla med Betnovat eller om effekten blir bättre om man kombinerar Betnovat och Pevaryl.

Enbart 1 av 7 hundar blev bättre efter 14 dagars behandling med enbart Pevaryl i öronen, vilket står i kontrast till resultat i studien av Miranda et al. (2006), vilken visade att azolerna ska ha en tillfredsställande effekt mot *Malassezia* spp. De tre behandlingsgrupperna är dock ej jämförbara med varandra då hundarna i Pevarylgruppen uppvisade mer höggradiga kliniska symtom före behandling, framför allt i form av svullnad, jämfört med både MalAsetic Otic- och Betnovatgrupperna. Dock var ingen hund så svullen att droppar ej gick att få ned (detta var ett exklusionskriterie), dessutom har djurägarna på återbesöken uppgivit att de lyckats genomföra behandlingen enligt anvisning. De mer höggradiga kliniska symtomen kan dock vara en bidragande faktor till Pevaryls dåliga behandlingsresultat men troligtvis ej den enda. Ett större antal hundar krävs för att ta reda på hur mycket de kliniska symtomen innan behandling har påverkat det slutliga resultatet. Pinchbeck et al (2002) visade att enbart orala azoler ej gav tillräcklig effekt vid behandling av jästsvamp otiter. Dock kan detta ej bero på resistens då samma försök visade att tillfredsställande effekt erhöles för hundar som hade en jästsvampsorsakad dermatit. Vår studie indikerar att enbart topikala azoler inte heller har en tillfredsställande effekt mot *Malassezia* otiter. Om denna iakttagelse är sann, kan en möjlig orsak vara att dessa antifungala medel ej har någon påverkan på den inflammatoriska reaktion som uppstår vid en otit. Denna inflammation kan möjligen vara en förutsättning för att mikroben skall överleva, alternativt kan azollösningen inaktiveras i den inflammatoriska miljön.

Medeltalet *Malassezia pachydermatis* påvisade via cytologi innan påbörjad behandling skiljde sig ej åt mellan de tre grupperna ( $P \gg 0,05$ ) och detta indikerar att de är jämförbara avseende cytologin. Dock är SEM högt för alla tre behandlingar vilket gör resultatet mindre tillförlitligt och det låga antalet hundar, och därmed låg power, gör att resultatet måste tolkas med viss försiktighet. Ett större antal individer krävs även här för att dessa resultat skall bli mer tillförlitliga. Liknande resonemang gäller för resultatet av förändringen i antalet jästsvampar efter avslutad behandling. Ingen signifikant skillnad kunde ses mellan behandlingarna ( $P > 0,1$ ) förutom vid jämförelse mellan Pevaryl och MalAsetic Otic ( $P < 0,08$ ) då en tendens till signifikant skillnad kunde påvisas efter behandling. Dock är SEM högt och ingen säker slutsats kan dras.

Antalet hundar som fick ett cytologiresultat under 3 jästsvampar/OIF och antalet hundar som är friska enligt veterinär i varje grupp (figur 2) stämmer väl överens med varandra vilket indikerar att det som veterinären bedömt som friskt även har inneburit ett lågt antal *Malassezia*.

En bias i denna studie är att de patienter som samlades in inte är helt representativa för den normala populationen hundar. Huvuddelen av de veterinärer som hjälpte till att samla in fall tar emot hundar med komplicerade hudproblem. Dock gäller detta för hundar inkluderade i samtliga behandlingsgrupper vilket betyder att jämförelsen mellan behandlingar ändå inte påverkas av denna bias. Eventuell parallell allmänbehandling med antibiotika såsom klindamycin, cefalosporin samt amoxicillin och klavulansyra bör ej ha påverkat behandlingsresultaten, då jästsvampen ej är känslig för dessa preparat, som heller inte har beskrivits som riskfaktor för *Malassezia* infektion hos hund.

Av det totala antalet hundar som inkluderades i studien registrerades 33 % (10 hundar) som drop outs. Av dessa var det sex som antingen inte påbörjade behandlingen, ej blev behandlade enligt instruktion (p.g.a. tidsbrist samt missförstånd av instruktioner) eller fick allmänbehandling med kortikosteroider och/eller antifungala medel. De resterande fyra klassades som drop outs på grund av att de inte kom på återbesök. Av dessa hade 2 blivit behandlade med Pevaryl, av vilka båda enligt djurägare blivit något bättre men ej besvärsfria medan en enligt djurägaren hade blivit helt bra efter 14 dagars behandling med MalAsetic Otic. En djurägare vars hund behandlad med MalAsetic Otic kunde ej nås. Om dessa uppgifter om att 2 behandlade med Pevaryl ej blev friska men att en behandlad med MalAsetic Otic blev frisk stämmer med verkligheten och vi utesluter den hund som ej kunde nås via telefon blir resultaten för respektive behandlingsalternativ 86 %, 11 % och 71 % avläkta för respektive Betnovat, Pevaryl och MalAsetic Otic.

Antalet individer som resultatet slutligen beräknades på var 20 hundar. Intentionen var att inkludera minst 38 hundar i varje behandlingsgrupp för att upptäcka tillförlitliga skillnader mellan grupperna. Tidigt i studiens gång upptäcktes svårigheter med att samla in patienter. Två kliniker deltog i studien, men det hade krävts många fler för att uppnå tillfredställande antal hundar inom tidsramen för examensarbetet. Eftersom så få individer ingick i studien fick ett dåligt behandlingsresultat hos en hund stor effekt på hela gruppens resultat. Det nuvarande resultatet med tydlig resultatskillnad mellan grupperna måste verifieras med större grupper.

Sammanfattningsvis visar resultaten av denna pilotstudie att topikal behandling av *Malassezia pachydermatis*-associerad otitis externa är effektiv och säker vid behandling med betametason (Betnovat) respektive ättiks och borsyrelösning (MalAcetic Otic). Effekten av Pevaryl var signifikant sämre.

Detta är en klinisk pilotstudie. För att komma fram till statistiskt säkrare resultat kommer studien att fortgå och avser att inkludera minst 38 hundar per behandlingsgrupp.

## LITTERATURFÖRTECKNING

- Basset, RJ. Burton, GG. Robson, DC. Hepworth, G. (2004). Clinical pilot studie: Efficacy of an acetic acid/boric acid ear cleaning solution for treatment and prophylaxis of *Malassezia sp.* otitis externa. Aust Vet Pract. 34:79.
- Bond, R. Lloyd, DH. (1998). The relationship between population sizes of *Malassezia pachydermatis* in healthy dogs and in basset hounds with *M. pachydermatis*-associated seborrhoeic dermatitis and adherence to canine corneocytes in vitro. Adv Vet Dermatol. 3. p283.
- Cafarchia, C. Otranto, D. (2004). Association between phospholipase production by *Malassezia pachydermatis* and skin lesions. J Clin Microbiol. 42, 4868-4869.
- Cafarchia, C. Gallo, S. Romito, D. Capelli, G. Chermette, R. Guillot, J. Otranto, D. (2005a). Frequency, body distribution and population size of *Malassezia* species in healthy dogs with localized cutaneous lesions. J Vet Diagn Invest. 17:316-322.
- Cafarchia, C. Gallo, S. Capelli, G. Otranto, D. (2005b). Occurrence and population size of *Malassezia spp.* in the external ear canal of dogs and cats both healthy and with otitis. Mycopathologia. 160(2):143-149.
- Chen, T-A. Halliwell, REW. Pemberton, AD. Hill, PB. (2002). Identification of major allergens of *Malassezia pachydermatis* in dogs with atopic dermatitis and *Malassezia* overgrowth. Vet Dermatol. 13:141-150.
- Ettinger, SJ. Feldman, EC. (2005). Textbook of Veterinary Internal Medicine. 6. ed. St Louis.
- Fass 2006. Läkemedelsindustriföreningen. Stockholm.
- Gaugere, E. Prélard, P. (1996). Etude rétrospective de 54 cas de dermatite à Malassezia pach chez le chien: Résultats épidémiologiques, cliniques, cytologiques et histopathologiques. Prat Médecine Chir Anim Comp. 31:309.
- Ghubash, R. Marsella, R. Kunkle, G. (2004) Evaluation of adrenal function in small-breed dogs receiving otic glucocorticoids. Vet Dermatol. 15 (6): 363-368.
- Ginel, PJ. Lucena, R. Rodriguez, JC. Ortega, J. (2002) A semiquantitative cytological evaluation of normal and pathological samples from the external ear canal of dogs and cats. Vet Dermatol. 13:151-156.
- Girão, MD. Prado, MR. Brilhante, RSN. Cordeiro, RA. Monteiro, AJ. Sidrim, JJC. Rocha, MFG. (2006). *Malassezia pachydermatis* isolated from normal and diseased external ear canals in dogs: A comparative analysis. Vet J. 172, 544-548
- Gotthelf, L. (2005). Small animal ear diseases. 2. ed. Missouri.
- Guillot, J. Bond, R. (1999). *Malassezia pachydermatis*: a review. Med Mycol. 4:72.
- Huang, HP. Taylor, D, Little, CJL. (1993). The relationship between microbial numbers found on cytological examination and microbial growth density on culture of swabs from the external ear canals in dogs. Proc Eur Soc Vet Dermatol. 10:81.
- Jacobson, LS. (2002). Diagnosis and medical treatment of otitis externa in the dog and cat. J S Afr Vet Assoc. Dec; 73 (4): 162-70.
- Miranda, KC. de Araujo, CR. Costa, CR. Passos, XS., de Fátima Lisboa Fernandes, O. do Rosário Rodrigues Silva, M. (2007). Antifungal activities ofazole agents against the *Malassezia* species. Int J Antimicrob Agents. 29: 281-284.



- Nardoni, S. Dini, M. Taccini, F. Mancianti, F. (2007). Occurrence, distribution and population size of *Malassezia pachydermatis* on skin and mucosae of atopic dogs. *Vet Microbiol.* 122:172-177.
- Pinchbeck, LR. Hillier, A. Kowalski, JJ. Kwochka, KW. (2002). Comparison of pulse administration versus once daily administration of itraconazole for the treatment of *Malassezia pachydermatis* dermatitis and otitis in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* Jun 15; 220(12): 1807-12.
- Scott, DW. Miller, WH. & Griffin, CE. (2001). *Muller & Kirk's small animal dermatology.* 6. Ed. Pennsylvania.
- Sveriges Veterinärförbund SVF 2002, antibiotikapolicy för hund och kattsjukvård., IV öron, 33-35.
- Tater, KC. Scott, DW. Miller, WHJr. Erb, HN. (2003). The cytology of the external ear canal in the normal dog and cat. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med.* 50:370-374.
- Öhlen, B. Bergvall, K. (1999). *Vanliga hudsjukdomar hos hund och katt.* 3. ed. Stockholm.