



Open Access

DOI 10.2377/0023-2076-65-312

Laboklin GmbH und Co. KG, Labor für Klinische Diagnostik, Bad Kissingen

Otitis externa beim Hund – Ergebnisse mikrobiologischer Untersuchungen von Ohrtupferproben inklusive Antibiotikaresistenztestung aus dem Jahr 2016

Corinna Hader

Korrespondenzadresse: hader@laboklin.com

Zusammenfassung Otitis externa ist ein häufiger Grund, warum Hunde in der tierärztlichen Praxis vorgestellt werden. In den meisten Fällen ist es ein multifaktorielles Geschehen, dem eine Primärerkrankung zugrunde liegt. Durch Vermehrung und Besiedelung mit Bakterien oder Pilzen kann es zu Sekundärinfektionen kommen.

Ziel dieser Auswertung war, das Erregerspektrum von Ohrtupferproben von Hunden aus dem Jahr 2016, die im Rahmen der Routinediagnostik eingegangen sind, zu erfassen und das Resistenzverhalten gegenüber den in Ohrpräparaten enthaltenen Wirkstoffen zu betrachten.

Insgesamt wurden 8.896 Proben kulturell untersucht. 22 % der Proben wurden ausschließlich bakteriologisch und 78 % sowohl bakteriologisch als auch mykologisch untersucht. Bei den bakteriologisch untersuchten Proben waren 80 % kulturell positiv und 20 % kulturell negativ. Bei den bakteriologisch und mykologisch untersuchten Proben waren 51 % in beiden Untersuchungen kulturell positiv, 31 % nur bakteriologisch positiv, 12 % nur mykologisch positiv und 6 % in beiden Untersuchungen kulturell negativ.

Das Ergebnis der allein bakteriologisch untersuchten Proben zeigte in 19 % der Proben kein Bakterienwachstum. In 32,5 % konnte ein potenziell pathogener Erreger (Reinkultur) und in 31,7 % mehr als ein potenziell pathogener Erreger (Mischkultur) nachgewiesen werden. In 16,8 % konnte nur ein physiologisches Mikrobiom angezüchtet werden. Am häufigsten wurden *Staphylococcus pseudintermedius* (38,7 %), beta-hämolysierende Streptokokken (12,7 %) und *Pseudomonas aeruginosa* (12,3 %) identifiziert. In 98,6 % der mykologisch positiven Proben wurde *Malassezia pachydermatis* nachgewiesen. Marbofloxacin, Orbifloxacin, Gentamicin, Neomycin, Chloramphenicol, Florfenicol und Polymyxin B sind häufig in Ohrpräparaten enthalten. Die Bakterien zeigten deutliche Unterschiede im Resistenzverhalten. Bei Verdacht einer bakteriellen Infektion kann sich der Tierarzt in den Antibiotika-Leitlinien (Leitlinien für den gewissenhaften Umgang mit antibakteriell wirksamen Tierarzneimitteln) über das diagnostische Vorgehen informieren. Außerdem sind mit der neuen Tierärztlichen Hausapothekenverordnung (TÄHAV) rechtlich bindende Vorgaben in Kraft getreten, an die sich der Tierarzt halten muss. Eine mikrobiologische Untersuchung der entnommenen Ohrprobe und das Anfertigen eines Antibiotogramms sind für einen gezielten und richtigen Einsatz von Antibiotika erforderlich.

Schlüsselwörter Ohr, canin, Entzündung, bakteriell, Antibiotika

Canine otitis externa – microbial investigations including antibiotic susceptibility testing of ear swabs from the year 2016

Summary Otitis externa is one of the most common diseases of the ear canal in dogs. It is a disorder of multifactorial etiology and bacterial or fungal infections are in most of the cases secondary to other conditions.

The study aims to determine the distribution pattern of pathogens derived from ear swabs that were collected from dogs in the year 2016 and to analyse their antibiotic pattern.

8896 samples were cultured and examined for microbial growth. In 22% of the samples only a bacteriological examination was performed. 78% were examined for bacteria and fungi. In 80% of the samples that were only bacteriologically examined, growth could be detected. In samples that were bacteriologically and mycologically examined, 51% were tested positive for bacteria and fungi, 31% were tested positive for bacteria only, 12% were tested positive for fungi only and in 6% no growth could be observed. In 32.5% of the bacteriological samples only one putative pathogen (pure culture) was present, in 31.7% two or more putative pathogen (mixed culture) could be isolated and in 16.8% only physiological bacterial microbiom was present. Bacterial species that were most frequently isolated were *Staphylococcus pseudintermedius* (38.7%), beta-haemolytic streptococci (12.7%) and *Pseudomonas aeruginosa* (12.3%). In the mycological positive samples *Malassezia pachydermatis* was detected in 98.6%.

The most commonly used antibiotic compounds for treatment of canine ear infections are marbofloxacin, orbifloxacin, gentamicin, neomycin, chloramphenicol, florfenicol and polymyxin B. The antimicrobial susceptibility patterns of the bacterial isolates differed from each other. The antibiotic-guidelines are a useful tool for the effective selection of antimicrobial agents. With the coming into force of the new Tierärztliche Hausapothekenverordnung (TÄHAV) there are new legal rules the veterinarian has to consider. It is crucial to perform bacteriological and mycological examinations in addition to antimicrobial susceptibility testing prior to choosing an effective antibiotic compound.

Keywords ear, canine, inflammation, bacterial, antibiotics



Einleitung

Patienten mit Otitis externa werden häufig in der Kleintierpraxis vorgestellt, denn ungefähr 15 % aller Hunde haben Probleme mit Ohrentzündungen (Horn 2017). Klinische Anzeichen sind Kratzen, Kopfschütteln, Unruhe und unangenehmer Geruch. Eine leichte Kopfschiefhaltung kann ebenfalls auftreten (Kohn und Brunnberg 2012).

Bei den meisten Patienten mit Otitis externa handelt es sich um ein multifaktorielles Geschehen. Zum einen können prädisponierende Ursachen vorliegen. Weiterhin kann zwischen primären (ursächlichen) und sekundären, die Krankheit aufrechterhaltenden Ursachen unterschieden werden (August 1988, Kohn und Brunnberg 2012).

Zu den prädisponierenden Ursachen zählen

- Rassespezifität: Hängeohren, enger Gehörgang, starke und dichte Ohrbehaarung
- vermehrte Feuchtigkeit im Ohr: vor allem bei Hunden, die gerne und oft schwimmen
- falsche Ohrreinigung: oft iatrogen verursacht durch häufiges Säubern, Anwendung reizender Substanzen, starke Haarentfernung

Zu den primären Ursachen zählen

- Fremdkörper: v. a. Grannen, eingetrockneter Schmutz oder Sekrete
- Parasiten: v. a. Milben (*Otodectes*, *Sarcoptes* und *Demodex*), seltener Zecken
- Hypothyreose
- Allergien
- Keratinisierungsstörungen
- Autoimmunerkrankungen

Zu den sekundären, aufrechterhaltenden Ursachen zählen:

- unbehandelte oder falsch behandelte Entzündungen
- pathologische Veränderungen oder Entstehung einer Otitis media bei chronischer Entzündung

Eine Kolonisation mit Bakterien bzw. Pilzen führt genauso wie prädisponierende Ursachen nicht allein zu einer Otitis externa. In verschiedenen Studien (Linek 2011, Lyskova et al. 2007, Rosser

2004) konnte eine geringe Menge an Bakterien im gesunden äußeren Gehörkanal nachgewiesen werden, welche zum physiologischen Hautmikrobiom zählen. Dazu gehören koagulasenegative Staphylokokken, alpha- und anhämolysierende Streptokokken, *Bacillus* spp. und *Corynebacterium* spp. Allerdings ließen sich auch als pathogen eingestufte Bakterien in geringer Zahl im gesunden Ohr finden. Diese sind *Staphylococcus* (*S.*) *pseudintermedius*, beta-hämolyisierende Streptokokken, *Escherichia* (*E.*) *coli*, *Proteus* spp. und Pseudomonaden. Das alleinige Vorliegen von Bakterien stellt also keinen Beweis für eine Otitis dar. Ebenso ist ein geringer Gehalt an Hefen wie *Malassezia* (*M.*) *pachydermatis* als normal anzusehen. Auch saprophytäre Pilzgattungen wie z. B. *Penicillium* oder *Aspergillus* konnten aus den Ohren von gesunden Hunden und an Otitis erkrankten Hunden isoliert werden (Hoffman et al. 2014, Linek 2011, Ngo et al. 2018).

Da sich bei vielen Patienten, v. a. bei Vorliegen einer chronischen Problematik, durch die veränderten Bedingungen im Ohr sowohl Bakterien als auch Hefen gut vermehren, ist es sinnvoll, eine Probe aus dem Ohr bzw., wenn beide betroffen sind, aus beiden Ohren zu entnehmen und mikrobiologisch untersuchen zu lassen.

Zu Beginn sollte aus der entnommenen Probe ein zytologisches Präparat angefertigt werden. Dabei wird der Tupfer auf einem Objektträger ausgerollt und das Präparat beispielsweise mit Diff-Quick® gefärbt. Die Zytologie gibt Informationen über die Menge an Bakterien. Ebenfalls ist die Differenzierung in Kokken und Stäbchen möglich bzw. der Nachweis von Malassezien und Entzündungszellen. Eine vermehrte Anzahl von Bakterien oder Malassezien oder der Nachweis von Stäbchenbakterien kann ein Hinweis auf ein entzündliches Geschehen sein.

Bei gramnegativen Stäbchen sind Pseudomonaden, v. a. *Pseudomonas* (*P.*) *aeruginosa* und *Proteus* spp. zu beachten. Infektionen mit *P. aeruginosa* oder *Proteus* spp. führen zu schweren Infektionen mit sehr schmerzhaften Ulzerationen, hochgradigen Entzündungsreaktionen und massiver Eiteransammlung (Linek 2011). *P. aeruginosa* gehört außerdem zu den Biofilm-Bildnern und wird oft bei chronischen Otitiden nachgewiesen (Pye et al. 2013, Rosser 2004, Tolker-Nielsen 2014).

Können in der Zytologie verdächtige Strukturen dargestellt werden, sollte immer eine kulturelle Anzucht mit anschließendem

Tab. 1: Ohrpräparate*

Handelsname	Antibiotikum (Wirkstoff)	Wirkstoffgruppe	Antimykotikum	Steroid	Keimspektrum
Aurizon®	Marbofloxacin	Fluorchinolone	Clotrimazol	Dexamethason	grampos. / gramneg.
Easotic®	Gentamicin	Aminoglykoside	Miconazol	Hydrocortison	gramneg. (grampos.)
Marbodex®	Marbofloxacin	Fluorchinolone	Clotrimazol	Dexamethason	grampos. / gramneg.
Mitex®	Polymyxin B	Polypeptide	Miconazol	Prednisolon	gramneg.
Osrurnia®	Florfenicol	Fenicole	Terbinafin	Betamethason	grampos. / gramneg.
Otomax®	Gentamicin	Aminoglykoside	Clotrimazol	Betamethason	gramneg. (grampos.)
Otiprin®	Chloramphenicol	Fenicole	Benzylbenzoat	Dexamethason	grampos. / gramneg.
Panolog***	Neomycin (Thiostrepton)	Aminoglykoside	Nystatin	Triamcinolon	gramneg. (grampos.)
Posatex®	Orbifloxacin	Fluorchinolone	Posaconazol	Mometason	grampos. / gramneg.
Surolan®	Polymyxin B	Polypeptide	Miconazol	Prednisolon	gramneg.

* kein Anspruch auf Vollständigkeit; **zum Zeitpunkt der Auswertung noch im Handel



Grafiken: Laboklin GmbH und Co. KG

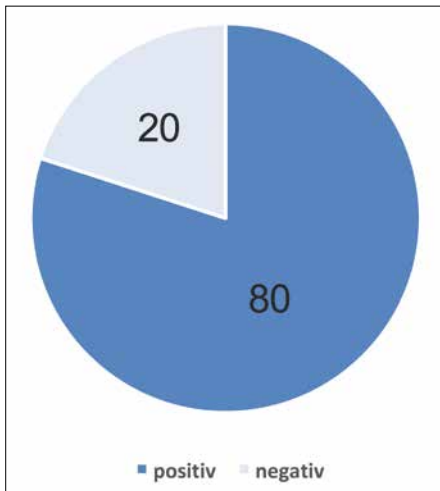


Abb. 1a: Ergebnisse in Prozent der ausschließlich bakteriologisch untersuchten Proben (n = 1.957, positiv = kulturell positiv, negativ = kulturell negativ)

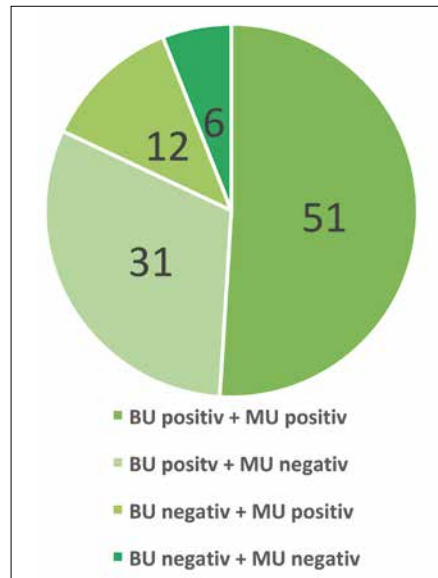


Abb. 1b: Ergebnisse in Prozent der bakteriologisch und mykologisch untersuchten Proben (n = 6.939) (BU = bakteriologische Untersuchung, MU = mykologische Untersuchung, positiv = kulturell positiv, negativ = kulturell negativ)

dem Antibiogramm vorgenommen werden. Obwohl in der Praxis oft die Meinung vertreten wird, dass bei lokaler Therapie ein Antibiogramm nicht unbedingt notwendig ist, ist es aus mikrobiologischer Sicht ratsam. *P. aeruginosa* ist gegen viele Antibiotika resistent. Bei *S. pseudintermedius* muss immer häufiger an das Auftreten multiresistenter Varianten gedacht werden (MRSP = Methicillin-resistenter *Staphylococcus pseudintermedius*). Das Vorkommen von ESBL (Extended-Spectrum-Beta-Lactamase)-bildenden Enterobakterien (*E. coli*, *Klebsiella* spp., *Proteus* spp.) nimmt ebenfalls kontinuierlich zu.

In den Antibiotika-Leitlinien ist geregelt, wie das diagnostische Vorgehen bei Verdacht einer bakteriellen Infektion aussehen soll. Eine verbindliche Rechtsvorschrift sind die Antibiotika-Leitlinien nicht, allerdings sollte sich der Tierarzt an diesen Empfehlungen orientieren. Mit der neuen Verordnung für tierärztliche Hausapotheken (TÄHAV) gelten außerdem für den Praktiker jetzt Vorschriften im Umgang mit Antibiotika, an die er sich halten muss.

Beim Einsatz von Fluorchinolonen und Cephalosporinen der 3. und 4. Generation muss ein Antibiogramm erstellt werden. Fluorchinolone und Cephalosporine der 3. und 4. Generation dürfen nur abgegeben werden, wenn sie für die jeweilige Tierart zugelassen sind (Umwidmungsverbot). Die Probenentnahme, Erregerisolierung und Empfindlichkeitstestung haben, soweit verfügbar, nach national oder international anerkannten Verfahren zu erfolgen.

Ist eine antibiotische Behandlung notwendig, stehen kommerzielle Ohrprodukte mit verschiedenen Wirkstoffen zur Verfügung. Neben dem Antibiotikum sind darin ein Antimykotikum und ein Steroid enthalten. ► Tabelle 1 zeigt die Produkte im Überblick.

Bei einer antiinfektiösen Behandlung sollte, vergleichend der Therapie einer Pyodermie, immer beachtet werden, dass auf eine eintretende Verbesserung oder kurzfristige Heilung Rezidive folgen können, solange eine primäre, therapeutisch nicht berücksichtigte Ursache vorliegt (Linek 2011).

Grafik: Laboklin GmbH und Co. KG

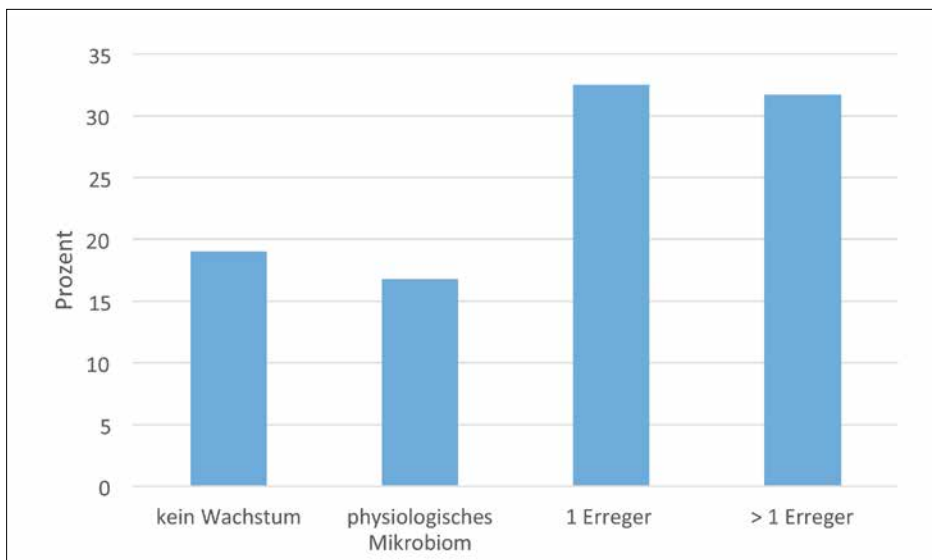


Abb. 2: Anzahl der isolierten Erreger in Prozent pro Ohrtupfer (n = 8.896)



Ziel dieser Auswertung war es, das Erregerspektrum aus Ohrtupfern von Hunden aus dem Jahr 2016 zu erfassen und das Resistenzverhalten der Erreger zu den in ► Tabelle 1 aufgeführten verfügbaren antibiotischen Wirkstoffen zu zeigen.

Material und Methoden

Insgesamt wurden im Jahr 2016 8.896 Tupferproben aus Ohren von Hunden im Rahmen der Routinediagnostik mikrobiologisch untersucht. 7.820 Proben waren Einzeltupferproben und 1.076 Proben stammten aus beiden Ohren eines Tieres.

Für die bakteriologische Untersuchung wurden die Proben auf Columbia-Blut-Agar (BD Diagnostics) und Endo-Agar (BD Diagnostics) ausgestrichen und für 16–24 h bzw. 48 h aerob bei 36 °C bebrütet.

Für die mykologische Untersuchung wurden die Tupfer zusätzlich auf Sabouraud-Gentamicin-Chloramphenicol-Agar (BD Diagnostics) ausgestrichen. Hier erfolgte die Bebrütung bei 36 °C bis zu sieben Tage.

Nach dem Ausstreichen auf die Agarplatten wurden die Tupfer für 16–24 h bei 36 °C in eine Thioglycolat-Anreicherungsbouillon (BD Diagnostics) verbracht. Anschließend wurde die Bouillon ebenfalls auf Columbia-Blut-Agar und Endo-Agar ausgestrichen und für 16–24 h aerob bei 36 °C bebrütet.

Konnte nach Bebrütung ein Bakterienwachstum beobachtet werden, erfolgte die Identifizierung der Bakterienkolonien sowohl visuell, biochemisch (Amtsberg und Verspohl 2011) oder mithilfe der MALDI-TOF-Methode (Shimazu GmbH, Software: AnagnosTec SARAMIS Premium [Version 3.4.1.5]).

Gleichzeitig erfolgte bei verdächtigen Bakterienkolonien das Anfertigen eines Antibiogramms zur Resistenzbestimmung anhand der Bouillon-Mikrodilution. Bei der Bouillon-Mikrodilution handelt es sich um eine In-vitro-Empfindlichkeitstestung zur Bestimmung des MHK-Wertes (minimale Hemmstoffkonzentration) eines Antibiotikums. Dabei werden Mikrotiterplatten, die mit antimikrobiellen Substanzen in definierten Konzentrationen beschichtet sind, mit Bakteriensuspension befüllt, inkubiert und auf Wachstum photometrisch oder visuell überprüft. Pro Wirkstoff werden verschiedene Konzentrationen getestet. Wenn es zur „Knopfbildung“ oder einer sichtbaren Trübung kommt, ist der Erreger nicht empfindlich (= resistent) gegenüber dem Antibiotikum. Bleibt die Suspension klar, konnte ein Wachstum unterdrückt werden (= sensibel) (Laboklin 2015).

Die photometrische Auswertung der Mikrotiterplatten findet automatisiert statt (MERLIN Micronaut System). Alle getesteten Antibiotika sind hierbei auf das

Kleintier abgestimmt und die Testung erfolgt nach international anerkannten standardisierten Verfahren des Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Folgende antibiotische Wirkstoffe werden gemessen: Penicillin G, Ampicillin, Amoxicillin-Clavulansäure, Cefalexin, Cefoxitin, Cefoperazon, Cefovecin, Cefquinom, Gentamicin, Neomycin, Erythromycin, Spiramycin, Clindamycin, Ibfloxacin, Difloxacin, Enrofloxacin, Marbofloxacin, Pradofloxacin, Orbifloxacin, Doxycyclin, Chloramphenicol, Fusidinsäure, Trimethoprim-Sulfonamid, Polymyxin B/Colistin, Nitrofurantoin und Rifampicin.

Gewachsene Pilze wurden anhand ihres makroskopischen und mikroskopischen Aussehens bestimmt (Amtsberg und Verspohl 2011). ►



Grafik: Laboklin GmbH und Co. KG

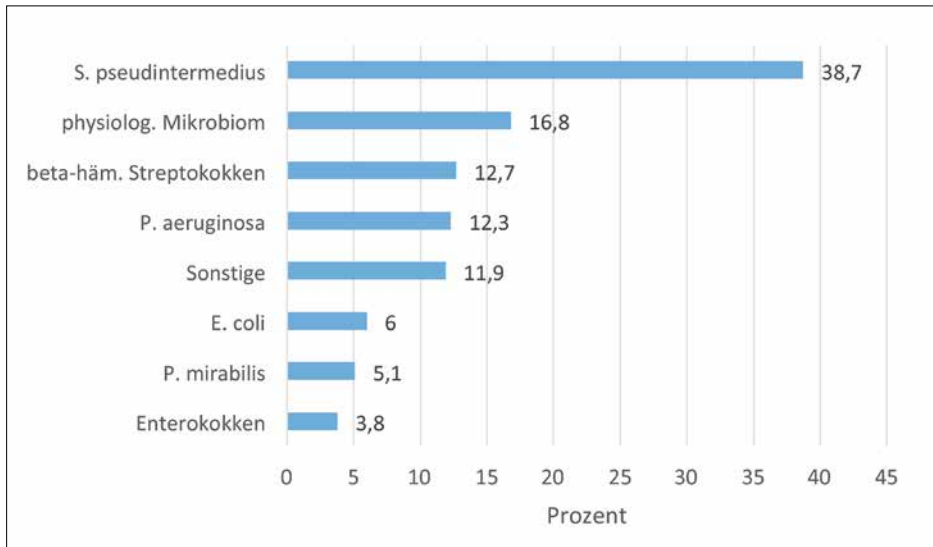


Abb. 3: Prozentuale Verteilung der am häufigsten nachgewiesenen Bakterien (x Bakterienisolate aus 8.896 Tupferproben)

Grafik: Laboklin GmbH und Co. KG

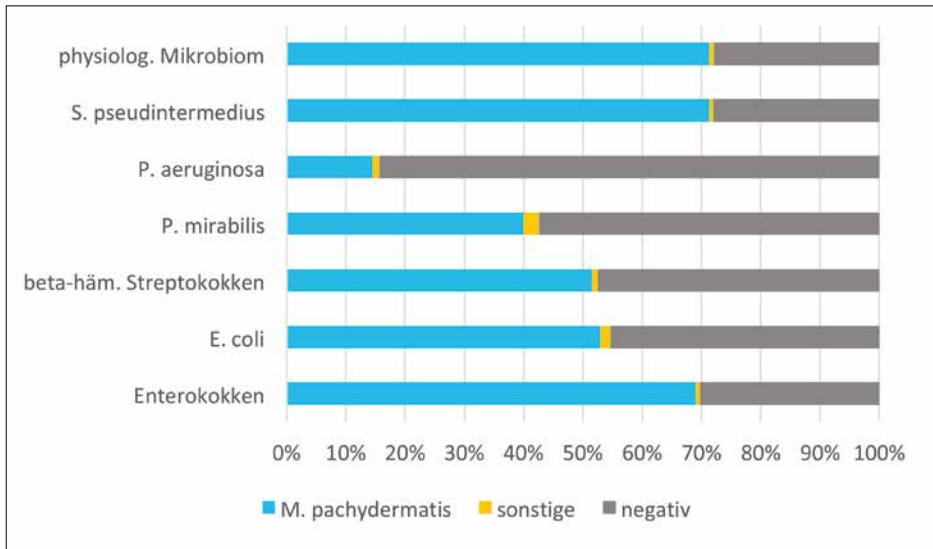


Abb. 4: Ergebnisse der mykologischen Untersuchung in Kombination mit den jeweils nachgewiesenen Bakterienisolaten

Ergebnisse

Von den insgesamt 8.896 untersuchten Proben wurden 22 % nur bakteriologisch (n = 1.957) und 78 % sowohl bakteriologisch als auch mykologisch (n = 6.939) untersucht. Bei 81 % (n = 7.206) der Gesamtprobenzahl (n = 8.896) waren Bakterien nachweisbar. Von den bakteriologisch und mykologisch untersuchten Proben (n = 6.939) waren 4.359 (62,8 %) mykologisch positiv.

Bei den ausschließlich bakteriologisch untersuchten Proben (n = 1.957) waren 80 % kulturell positiv und 20 % kulturell negativ (▶ Abb. 1a). Bei den Proben mit beiden Untersuchungen (n = 6.939) waren 51 % der Fälle bakteriologisch sowie mykologisch positiv, 31 % nur bakteriologisch positiv, 12 % nur mykologisch positiv und 6 % bakteriologisch und mykologisch negativ (▶ Abb. 1b).

Die Auswertung der bakteriologischen Ergebnisse (n = 8.896) zeigte in 19 % der Proben kein Bakterienwachstum (kulturell negativ). In 32,5 % konnten eine Reinkultur (1 potenziell pathogener Erreger), in 31,7 % eine Mischkultur (> 1 potenziell pathogener Erreger) und in 16,8 % nur ein physiologisches Mikrobiom angezüchtet werden (kulturell positiv) (▶ Abb. 2). *M. pachydermatis* machte mit 98,6 % (n = 4.298) den größten Anteil der mykologisch positiven Proben (n = 4.359) aus. *Candida* spp. und Schimmelpilze wurden in den verbleibenden Proben nachgewiesen.

In den bakteriologisch positiven Proben (n = 7.206) wurde *S. pseudintermedius* mit 38,7 % am häufigsten isoliert (▶ Abb. 3). Davon war fast die Hälfte in Reinkultur nachweisbar. Außerdem konnte bei 4,2 % der Isolate durch phänotypische Bestimmung eine Methicillin-Resistenz (MRSP) bestätigt werden.

Beta-hämolyisierende Streptokokken (12,7 %) und *P. aeruginosa* (12,3 %) konnten in ähnlich großer Zahl angezüchtet werden. „Sonstige“ Mikroorganismen ließen sich in 11,9 % der Proben nachweisen. Danach folgten *E. coli* mit 6 %, *P. mirabilis* mit 5,1 % und Enterokokken mit 3,8 %.

Als „Sonstige“ sind hier Bakterien genannt, welche sich seltener im Ohr vermehren. Folgende Bakterien ließen sich isolieren: *Stenotrophomonas maltophilia*, *Klebsiella variicola*, *Proteus hauseri*, *Proteus vulgaris*, *Proteus* spp., *Pasteurella canis*, *Pasteurella* spp., *Neisseria zoodegmatis*, *Neisseria* spp., *Arthrobacter polychromogenes*, *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Acinetobacter lwoffii*, *Acinetobacter junii*, *Acinetobacter bouvetii*, *Acinetobacter pittii*, *Acinetobacter johnsonii*, *Acinetobacter baylyi*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus* spp., *Serratia marcescens*, *Serratia fonticola*, *Leclercia adecarboxylata*, *Raoultella ornithinolytica*, *Arcanobacterium haemolyticum*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*,



Providencia stuartii, *Alcaligenes faecalis*, *Escherichia hermannii*, *Pantoea agglomerans*, *Pantoea* spp., *Pantoea anatis*, *Pantoea septica*, *Streptococcus* spp., *Achromobacter* spp., *Pseudomonas* spp., *Enterobacter* spp., *Burkholderia cenocepacia*, *Burkholderia* spp., *Cronobacter sakazakii*, *Corynebacterium* spp., *Corynebacterium amycolatum*, *Citrobacter* spp., *Citrobacter freundii*, *Bordetella bronchiseptica*, *Arthrobacter chlorophenicus*, *Arthrobacter oxydans*, *Arthrobacter protophormiae*, *Microbacterium testaceum*, *Ochrobactrum intermedium*, *Pluralibacter gergoviae*, *Weissella confusa*.

► Abbildung 4 zeigt die Malasseziennachweisrate in Kombination mit den jeweils nachgewiesenen Bakterien (physiologisches Mikrobiom 71,4 %, *S. pseudintermedius* 71,4 %, *P. aeruginosa* 14,5 %, *P. mirabilis* 40 %, beta-hämolysierende Streptokokken 51,5 %, *E. coli* 53 %, Enterokokken 69 %) sowie die Menge negativer Ergebnisse. *Candida* spp. und Schimmelpilze, welche unter „Sonstige“ zusammengefasst sind, wurden nur vereinzelt nachgewiesen.

Die ► Abbildungen 5 bis 10 zeigen das Resistenzverhalten der in dieser Studie überwiegend nachgewiesenen Bakterien gegenüber den Wirkstoffen, welche in erhältlichen Ohrpräparaten vorhanden sind. Aufgeführt sind Marbofloxacin, Orbifloxacin, Gentamicin, Neomycin, Chloramphenicol (Florfenicol) und Polymyxin B.

Gegenüber Marbofloxacin überwiegen die sensiblen Erreger. Lediglich bei *P. aeruginosa* besteht ein höherer Anteil resisten-

ter Isolate (► Abb. 5). Die Ergebnisse von Orbifloxacin ähneln denen von Marbofloxacin. Hier sind neben *P. aeruginosa* auch bei *P. mirabilis* und *E. coli* höhere Anteile resistenter Isolate erkennbar (► Abb. 6).

Gegenüber Gentamicin und Neomycin zeigen beta-hämolysierende Streptokokken und Enterokokken eine vollständige Resistenz. Andere getestete Erreger erwiesen sich als überwiegend sensibel (► Abb. 7 und 8).

Sowohl ein hoher Anteil resistenter Isolate (*P. aeruginosa*, *S. pseudintermedius* und *P. mirabilis*) als auch ein geringer Anteil an Resistenzen (beta-hämolysierende Streptokokken, Enterokokken, *E. coli*) sind gegenüber Chloramphenicol erkennbar (► Abb. 9).

Gegenüber Polymyxin B sind die grampositiven Bakterien vollständig resistent. Bei den gramnegativen Bakterien zeigt *P. mirabilis* einen hohen Anteil an resistenten Isolaten (► Abb. 10).

Diskussion

Im Jahr 2016 wurden bei Laboklin 8.896 Tupferproben von Hundehohren untersucht. Die hohe Zahl lässt erkennen, dass die Otitis externa bei Hunden ein häufiger Grund zur Vorstellung in der tierärztlichen Praxis ist. Der äußere Gehörkanal gehört zur normalen Haut. Bakterien kommen als Bewohner der Haut physiologisch vor. Zum physiologischen Mikrobiom zählen Bakterien wie aerobe ►



Grafik: Laboklin GmbH und Co. KG

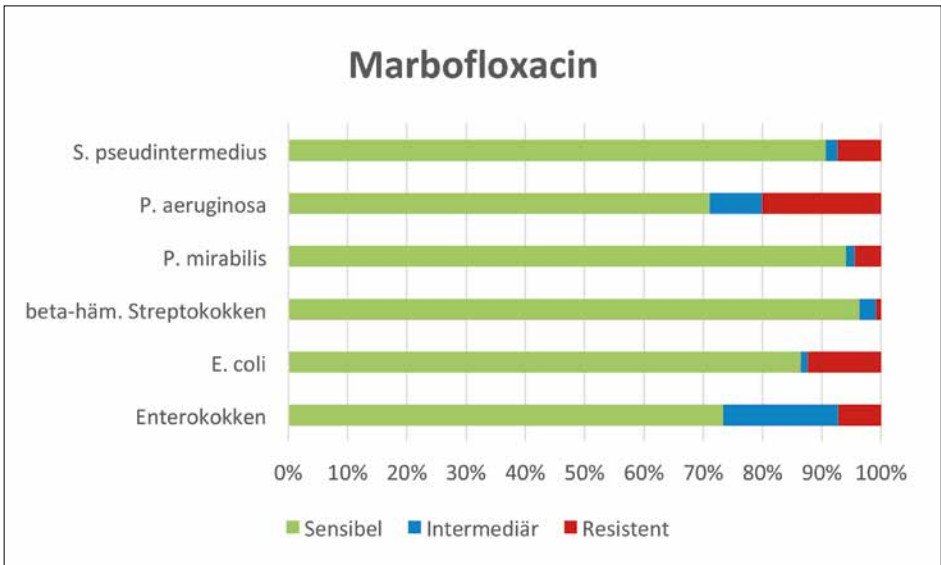


Abb. 5: Anteil in Prozent der als sensibel/intermediär/resistent gegenüber Marbifloxacin zu bewertenden, am häufigsten nachgewiesenen Bakterien

Grafik: Laboklin GmbH und Co. KG

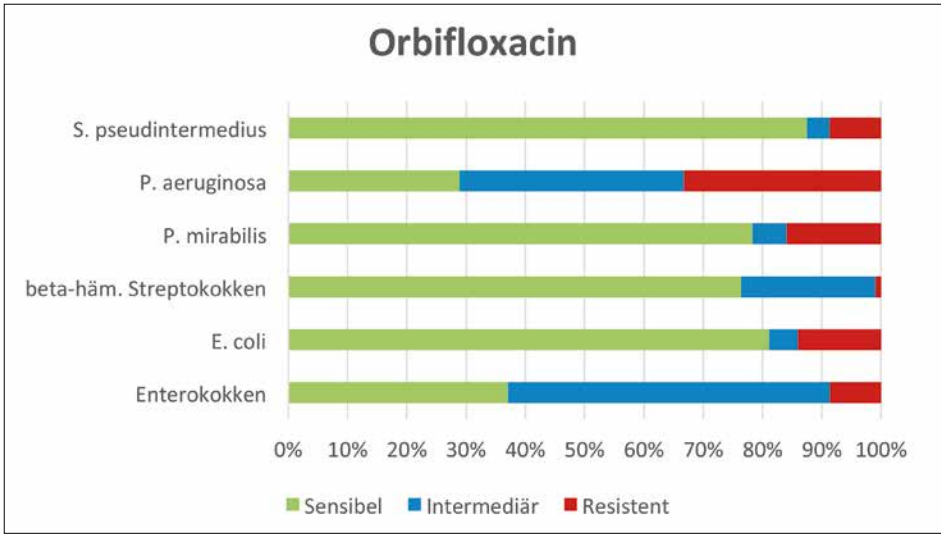


Abb. 6: Anteil in Prozent der als sensibel/intermediär/resistent gegenüber Orbifloxacin zu bewertenden, am häufigsten nachgewiesenen Bakterien

Sporenbildner (z. B. *Bacillus* spp.), alpha- und anhämolysierende Streptokokken, *S. epidermidis* und Mikrokokken. Diese Bakterien haben in der Regel keine pathologische Auswirkung. Außerdem ist ein geringer Gehalt an *M. pachydermatis* als normal anzusehen. Es finden sich in geringer Zahl aber auch Erreger wie *S. pseudintermedius*, beta-hämolyisierende Streptokokken und gramnegative Stäbchenbakterien, welche zu den potenziell pathogenen Bakterien gehören. Diese können geringgradig die Haut kolonisieren, ohne Infektionen zu verursachen. Kommt es aufgrund einer primären Ursache zu Veränderungen und Entzündungen im Ohr, können sich Bakterien sowie Pilze (hier v. a. Malassezien) ansiedeln bzw. vermehren und sekundäre Infektionen hervorrufen.

Zu Beginn der Otitis-Diagnostik kann eine Zytologie Hinweise über die Menge an Bakterien geben. Ebenfalls ist die Differenzierung in Kokken und Stäbchen möglich bzw. der Nachweis von Malassezien. Zur Erregerdifferenzierung ist eine kulturelle Untersuchung notwendig.

81 % der bakteriologischen Untersuchungen und 51 % der mykologischen Untersuchungen waren kulturell positiv. In 19 % aller Proben war das Ergebnis der Kultur negativ, d. h., es konnten keine Bakterien oder Pilze angezüchtet werden. Nach den Erfahrungen aus der Praxis ist dies eine hohe Anzahl. Gründe dafür könnten sein, dass es sich um eine Therapiekontrolle handelt. Weiterhin wäre

denkbar, dass das Ohr vorbehandelt war und der Abstand zwischen letzter Antibiotikagabe und Probenahme zu gering war oder die Probenentnahme wurde nicht richtig durchgeführt. Hier wäre eine mögliche Fehlerquelle, dass die Tupferprobe aus Verkrustungen oder eitrigem Sekret des betroffenen Ohres entnommen wurde, wo keine lebensfähigen Bakterien mehr vorhanden sind.

In den ausschließlich bakteriologisch untersuchten Proben fiel bei 20 % das Ergebnis kulturell negativ aus. In den bakteriologisch und mykologisch untersuchten Proben ließen sich nur in 6 % keine Bakterien oder Pilze anzüchten (kulturell negativ). Somit ist es sinnvoll, eine mikrobiologische Untersuchung sowohl bakteriologisch als auch mykologisch durchführen zu lassen.

Unter den Pilzgattungen wird *M. pachydermatis* am häufigsten im äußeren Gehörkanal sowohl von gesunden als auch bei Hunden mit Otitis externa nachgewiesen.

In der vorliegenden Auswertung konnte in 98,6 % der mykologisch positiven Proben *M. pachydermatis* nachgewiesen werden. Dies entspricht Ergebnissen aus früheren Studien von Laboklin (Wölms 2014) und anderen Forschungsgruppen (Campbell et al. 2010, Crespo et al. 2002, Lyskova et al. 2007, Oliveira et al. 2008). Zum Teil können bei einer Otitis externa mehrere Pathogene gleichzeitig kultiviert werden. Vor allem wird *S. pseudintermedius*



gemeinsam mit *M. pachydermatis* vermehrt nachgewiesen (Lyskova et al. 2007, Oliveira et al. 2008). Bei beiden besteht die Möglichkeit, die Stoffwechselprodukte des anderen zu nutzen (Lyskova et al. 2007). Es ist außerdem erkennbar, dass bei einem Nachweis von *P. aeruginosa* und *P. mirabilis* die Malasseziennachweisrate deutlich niedriger lag. Dies könnte damit begründet werden, dass beide Spezies über Eigenschaften verfügen, welche ein Wachstum anderer Erreger einschränken könnten (Schwärmverhalten von *Proteus* spp., Bildung von Bakteriozinen bei *P. aeruginosa*; Ghequire et al. 2018).

Ein weiterer Punkt, der in dieser Arbeit näher betrachtet wurde, ist das Resistenzverhalten der am häufigsten nachgewiesenen Bakterien gegenüber den Wirkstoffen, welche in verfügbaren Ohrprodukten enthalten sind. Diese sind Marbofloxacin, Orbifloxacin, Gentamicin, Neomycin, Chloramphenicol (Florfenicol) und Polymyxin B.

Marbofloxacin und Orbifloxacin gehören zur Antibiotika-Gruppe der Fluorchinolone und sind sogenannte Gyrasehemmer. Sie sind in Aurizon[®], Marbodex[®] und Posatex[®] enthalten.

Fluorchinolone besitzen eine bakterizide Wirkung und wirken gegen gramnegative und grampositive Bakterien (Breitspektrumantibiotika). Sie sollten als sog. Reserveantibiotika gehandhabt werden (Haman 2017, Potschka 2014). Bisher war die Empfehlung, diese Antibiotika erst einzusetzen, wenn durch Sensibili-

tätsprüfung festgestellt werden konnte, dass kein anderes Mittel verwendet werden kann. Mit Inkrafttreten der neuen TÄHAV muss nun beim Einsatz von Fluorchinolonen ein Antibiogramm erstellt werden. In dieser Arbeit waren lediglich *P. aeruginosa*-Isolate in einem höheren Prozentsatz resistent gegen Marbofloxacin. Resistenzen gegen Orbifloxacin lagen vermehrt bei *P. aeruginosa*, *P. mirabilis* und *E. coli* vor. Insgesamt konnte noch eine günstige Resistenzlage für beide Wirkstoffe gezeigt werden.

Gentamicin und Neomycin sind Aminoglykosidantibiotika. Ihr Wirkspektrum liegt vor allem im gramnegativen Bereich. Gentamicin ist in Easotic[®] und Otomax[®], Neomycin in Panolog[®] enthalten.

Die Kreuzresistenz gegenüber anderen Aminoglykosidantibiotika ist meistens einseitig, d. h., bei Gentamicinresistenz liegen auch Resistenzen gegen Strepto-, Neo- und Kanamycin vor, während umgekehrt Bakterien, die gegen andere Aminoglykoside resistent sind, noch gentamicinempfindlich sein können (Potschka 2014). Aufgrund der großen Variabilität in den Resistenzmechanismen ist es dennoch nicht möglich, eine Leitsubstanz in dieser Wirkstoffklasse festzulegen. Eine Ableitung der Beurteilung eines Aminoglykosidantibiotikums sollte nicht vom Ergebnis eines anderen getroffen werden. Es sollte genau der Wirkstoff getestet werden, welcher eingesetzt werden soll (Werckenthin et al. 2005). Beide in dieser Studie getesteten Wirkstoffe lassen ▶

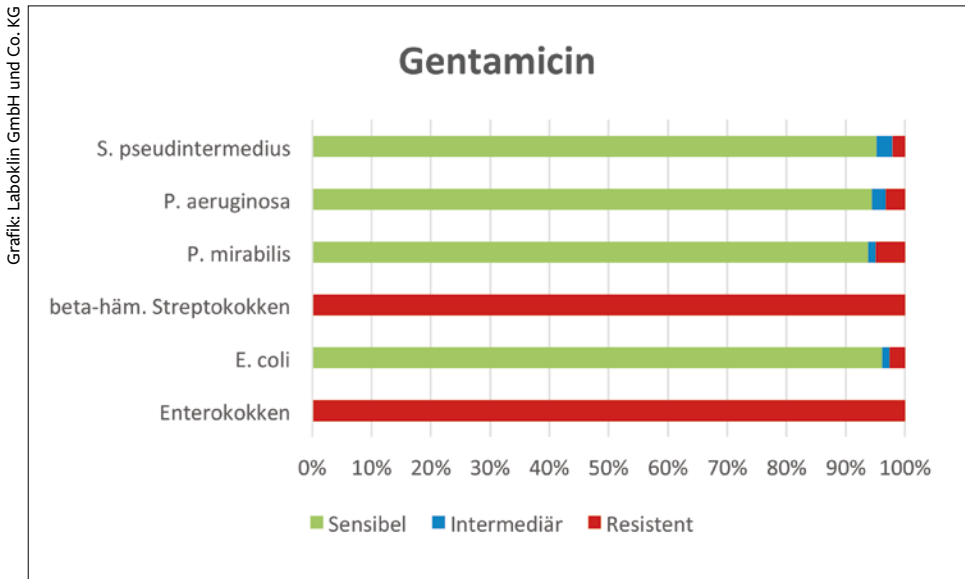


Abb. 7: Anteil in Prozent der als sensibel/intermediär/resistent gegenüber Gentamicin zu bewertenden, am häufigsten nachgewiesenen Bakterien

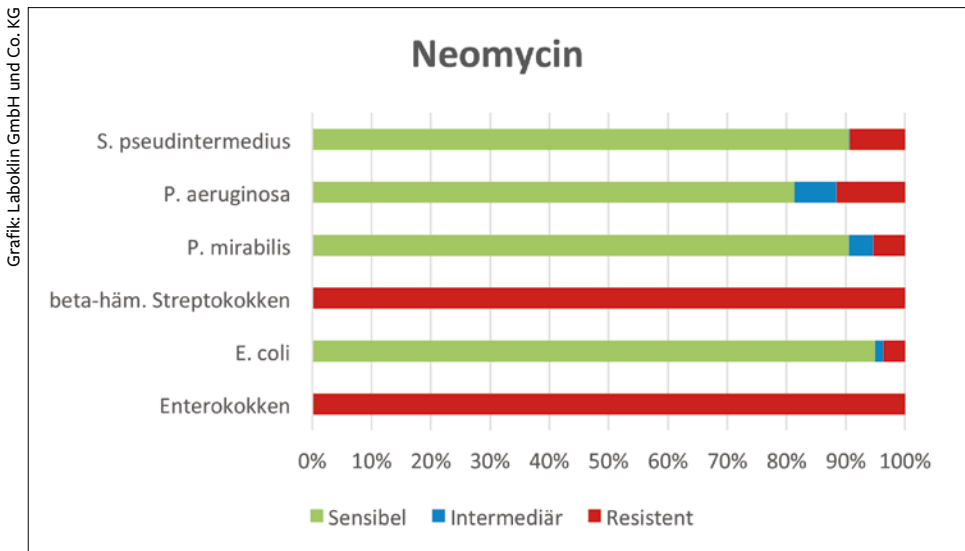


Abb. 8: Anteil in Prozent der als sensibel/intermediär/resistent gegenüber Neomycin zu bewertenden, am häufigsten nachgewiesenen Bakterien

in der Auswertung ein sehr ähnliches Resistenzmuster erkennen. Die derzeitige Resistenzlage ist bei gramnegativen Bakterien gut. Beta-hämolisierende Streptokokken und Enterokokken weisen eine natürliche Resistenz gegenüber Aminoglykosiden auf. Natürliche Resistenz bedeutet, dass der Erreger von Natur aus nicht im Wirkungsspektrum des Antibiotikums liegt. Bisher galt, dass der Einsatz von Aminoglykosidantibiotika nur bei intaktem Trommelfell aufgrund der starken ototoxischen Wirkung erfolgen sollte. Allerdings zeigt eine aktuelle Studie von Paterson aus dem Jahr 2018 neue Ergebnisse. Hier wurden Hunde mit Otitis media nach mehrwöchiger Therapie mit Gentamicin mit dem BAER (Brainstem Auditory Evoked Response)-Test untersucht, mit welchem man feststellen kann, ob eine Taubheit vorliegt. Keiner der untersuchten Hunde zeigte Anzeichen von Taubheit, sodass Gentamicin durchaus als topisches Therapeutikum bei Otitis media in Betracht gezogen werden kann. Zur Gruppe der Phenicole gehören Chloramphenicol (Otiprin®) und Florfenicol (Osurnia®). Phenicole haben ein sehr breites Wirkungsspektrum. Dieses umfasst grampositive und gramnegative Keime. Aufgrund von Unterschieden in der chemischen Struktur und verschiedenen Mechanismen können sich die beiden Stoffe in ihrem Resistenzverhalten unterscheiden.

Florfenicolresistente Bakterien sind in der Regel immer auch chloramphenicolresistent. Ein chloramphenicolresistentes Isolat kann aber je nach Resistenzmechanismus auch florfenicolempfindlich sein (Werckenthin et al. 2005).

Häufig besteht in dieser Wirkstoffgruppe eine Resistenz bei Pseudomonaden, v. a. *P. aeruginosa*. In dieser Arbeit zeigen neben *P. aeruginosa*-Isolaten auch *S. pseudintermedius* und *P. mirabilis* einen höheren Prozentsatz an resistenten Isolaten.

Polymyxin B (Surolan®) gehört zu den Polypeptidantibiotika und zeigt eine Wirksamkeit gegenüber vielen gramnegativen Bakterien. Grampositive Bakterien sind überwiegend resistent. In dieser Studie zeigen die Gruppen der gramnegativen Erreger hohe Anteile resistenter Isolate (30 % und mehr). Alle grampositiven Bakterienisolate sind resistent.

Vergleichend mit früheren Studien sind die Resultate der vorliegenden Arbeit ähnlich. Sowohl im nationalen (Bouassiba et al. 2013, Wölms 2014) als auch im internationalen Vergleich (Bugden 2013, Lyskova et al. 2007, Oliveira et al. 2008, Zamankhan Malayeri et al. 2010) sind *S. pseudintermedius* und *P. aeruginosa* die Bakterien, welche am häufigsten bei der Otitis externa beim Hund nachgewiesen werden. Danach folgen beta-hämolisierende Streptokokken

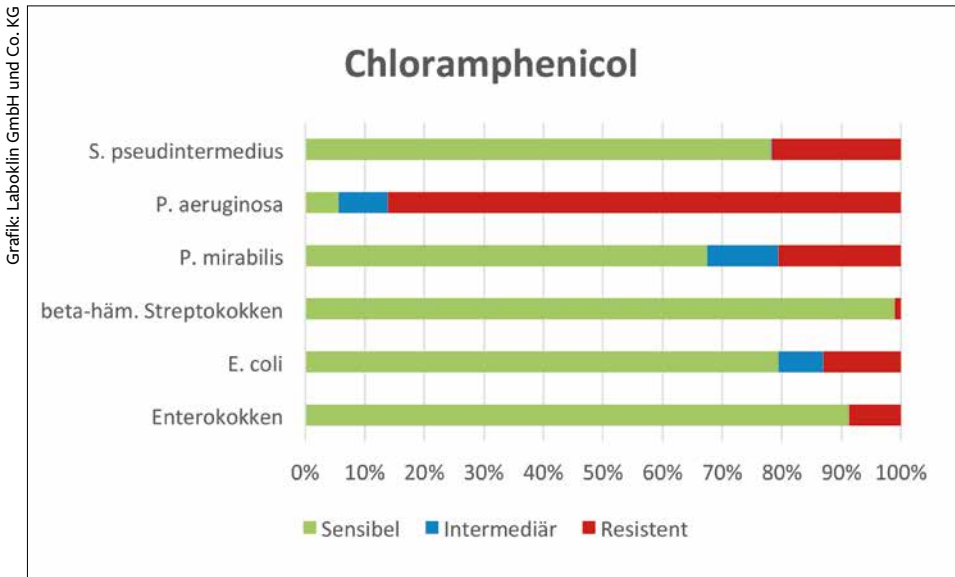


Abb. 9: Anteil in Prozent der als sensibel/intermediär/resistent gegenüber Chloramphenicol (Florfenicol) zu bewertenden, am häufigsten nachgewiesenen Bakterien

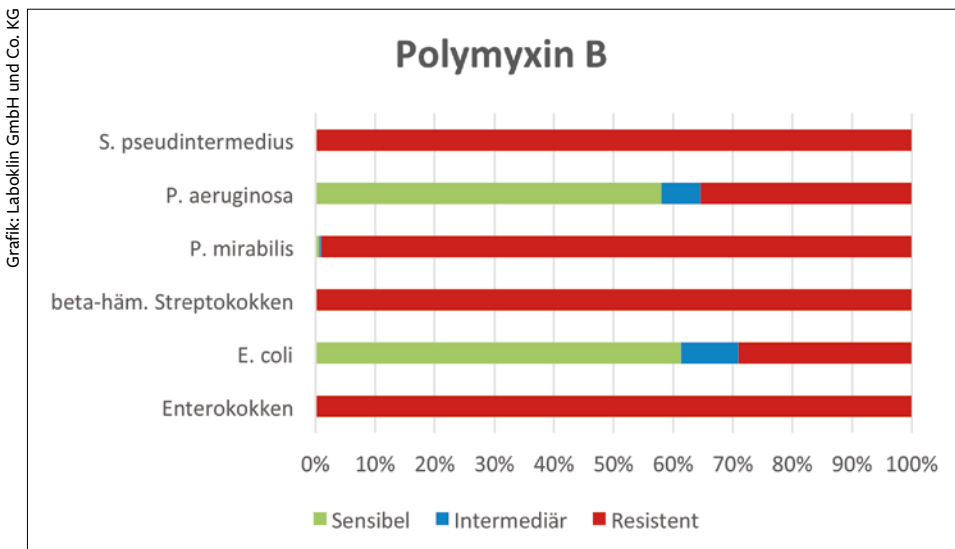


Abb. 10: Anteil in Prozent der als sensibel/intermediär/resistent gegenüber Polymyxin B zu bewertenden, am häufigsten nachgewiesenen Bakterien

und *P. mirabilis*. Die Ergebnisse der mykologischen Untersuchung zeigen einen sehr hohen Anteil an *M. pachydermatis*-positiven Proben (Lyskova et al. 2007, Oliveira et al. 2008).

Die Resistenzlage der Wirkstoffe, welche in Ohrpräparaten vorhanden sind, stimmen in vielen Punkten mit einer früheren Arbeit bei Laboklin von Wölms (2014) überein. Ein Vergleich mit weiteren Studien ist schwer möglich, da hier andere Wirkstoffe getestet wurden. Es ist zu erkennen, dass *P. aeruginosa* und *E. coli* hohe Anteile resistenter Isolate gegenüber Polymyxin B zeigen. Gegenüber den anderen Wirkstoffen überwiegen die sensiblen Isolate, was die Situation als durchaus positiv beurteilen lässt.

Die Untersuchung bei Verdacht auf Otitis externa sowie das weitere Vorgehen der Probennahme, die Auswertung und die darauffolgende Behandlung bleiben dem behandelnden Tierarzt überlassen. Dabei sollen die Antibiotika-Leitlinien „praktizierenden Tierärztinnen und Tierärzten als eine zusammenfassende Empfehlung für den verantwortungsbewussten Gebrauch von Antibiotika bei Tieren dienen“.

Gemäß den Antibiotika-Leitlinien sollte ein Antibiotikaeinsatz nur bei einer bakteriellen Infektion erfolgen. Dies lässt sich durch eine kulturelle Untersuchung der Probe abklären. Im Hinblick auf

die vermehrte Ausbildung von Resistenzen bis hin zu multiresistenten Erregern empfiehlt sich im Anschluss an die Identifizierung ein Resistenztest. Die Antibiotika-Leitlinien sehen einen Erregernachweis und ein Antibiotogramm bei einem Wechsel des Antibiotikums, beim wiederholten Einsatz, bei der Kombination von Antibiotika und bei einer Umwidmung sogar vor. Nach der neuen TÄHAV muss beim Einsatz von Fluorchinolonen und Cephalosporinen der 3. und 4. Generation ein Antibiotogramm erstellt werden, was eine Erregeridentifizierung voraussetzt. Mit einer kulturellen Isolierung des Erregers besteht außerdem die Möglichkeit der Herstellung einer Autovaccine bei chronischen Geschehen.

Aus Sicht des Praktikers steht die topische Behandlung vor einer systemischen Therapie. Die Interpretation der Resistenztestung richtet sich nach klinischen Grenzwerten (z. B. CLSI 2015) für die systemische Anwendung von Antibiotika. Klinische Grenzwerte für die topische Anwendung am Tier fehlen. Dennoch bieten auch systemische Grenzwerte einen Anhaltspunkt und können im Zusammenhang mit den klinischen Erfahrungen entscheidend zur Wahl des Antibiotikums beitragen. Es besteht die Möglichkeit, dass lokal verabreichte Antibiotika trotz einer in vitro getesteten Resistenz wirksam sein können (Horn 2017, Linek 2011). ▶



Zusammenfassend wird deutlich, dass sich die Ergebnisse dieser Auswertung mit denen vorangegangener Studien im Hinblick auf die am häufigsten nachgewiesenen Bakterien und ihr Resistenzverhalten gegenüber den Wirkstoffen, welche in den verfügbaren Ohrprodukten enthalten sind, als auch die hohe Nachweisrate von *M. pachydermatis* in mykologisch positiven Proben decken. Die Otitis externa beim Hund ist ein multifaktorielles Geschehen, was nicht allein durch Bakterien oder Hefen hervorgerufen wird, sondern aufgrund einer Primärerkrankung auftritt, welche für eine erfolgreiche Behandlung identifiziert werden muss.

Anhand der mikrobiologischen Ergebnisse empfiehlt es sich für den Praktiker, sowohl eine bakteriologische als auch mykologische Untersuchung durchführen zu lassen und weiterhin Antibiotika verantwortungsbewusst einzusetzen.

Conflict of interest

Die Autorin bestätigt, dass sie zum Zeitpunkt der Erstellung und Veröffentlichung dieses Artikels bei Laboklin GmbH und Co. KG, Labor für Klinische Diagnostik, angestellt ist.

Ethische Anerkennung

Die Autorin versichert, während der Entstehung der vorliegenden Arbeit die allgemeinen Regeln guter wissenschaftlicher Praxis befolgt zu haben.

Funding

Diese Arbeit wurde nicht finanziell unterstützt. ■

Literatur

- Amtsberg G, Verspohl V (2011): Infektionsdiagnostik. In: Selbitz HJ, Truyen U, Valentin-Weigand P (Hrsg.), Tiermedizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre. Enke, Stuttgart, 51–61.
- August JR (1988): Otitis externa. A disease of multifactorial etiology. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 18: 731–742.
- Bouassiba C, Osthold W, Müller RS (2013): Aktuelle Resistenzlage der bei der caninen Otitis externa isolierten Bakterien in Nordrhein-Westfalen, Deutschland (2009–2010). *Prakt Tierarzt* 94: 486–496.
- Bugden DL (2013): Identification and antibiotic susceptibility of bacterial isolates from dogs with otitis externa in Australia. *Aust Vet J* 91(1-2): 43–46.
- Bundestierärztekammer (BTK) und Arbeitsgruppe Tierarzneimittel (AGTAM) der Länderarbeitsgemeinschaft Verbraucherschutz (2015): Leitlinien für den gewissenhaften Umgang mit antibakteriell wirksamen Tierarzneimitteln.
- Campbell JJ, Coyner KS, Rankin SC, Lewis TP, Schick AE, Shumaker AK (2010): Evaluation of fungal flora in normal and diseased canine ears. *Vet Dermatol* 21: 619–625.
- CLSI (2015): Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals. 3rd ed. CLSI supplement VET01S. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Crespo MJ, Abarca ML, Cabañes FJ (2002): Occurrence of *Malassezia* spp. in the external ear canals of dogs and cats with and without otitis externa. *Med Mycol* 40(2): 115–121.
- Ghequire MGK, Öztürk B, De Mot R (2018): Lectin-Like Bacteriocins. *Front Microbiol* 9: 2706.
- Hamann M (2017): Fluorchinolone und Cephalosporine in der Kleintiermedizin. *Prakt Tierarzt* 98(10): 1020–1036.
- Hoffmann AR, Patterson AP, Diesel A, Lawhon SD, Ly HJ, Elkins Stephenson C, Mansell J, Steiner JM, Dowd SE, Olivry T, Suchodolski JS (2014): The skin Microbiom in healthy and allergic dogs. *PLoS One* 9(1): e83197.
- Horn M (2017): Otitis externa beim Hund, systemisch oder chirurgisch behandeln? *Komp Kleintier*: 5–16.
- Kohn B, Brunnberg L (2012): Ohrenkrankheiten. In: Suter P, Kohn B, Schwarz G (Hrsg.), *Praktikum der Hundeklinik*. Enke, Stuttgart, 442–452.
- Laboklin aktuell (2015): Antibiotikatestung nach CLSI / EUCAST – was ändert sich?
- Linek M (2011): Otitis externa and media in the dog and cat. *Tierärztl Prax* 39(K): 451–463.
- Lyskova, P, Vydralova, M, Mazurova J (2007): Identification and antimicrobial susceptibility of bacteria and yeasts isolated from healthy dogs and dogs with otitis externa. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 54: 559–563.
- Ngo J, Taminiou B, Fall PA, Daube G, Fontaine J (2018): Ear canal microbiota – a comparison between healthy dogs and atopic dogs without clinical signs of otitis externa. *Vet Dermatol* 29: 425–e140.
- Oliveira LC, Leite CAL, Brillhante RSN, Carvalho CBM (2008): Comparative study of the microbial profile from bilateral canine otitis externa. *Can Vet J* 49: 785–788.
- Patterson S (2018): Brainstem auditory evoked responses in 37 dogs with otitis media before and after topical therapy. *Small Anim Pract* 59(1): 10–15.
- Potschka H (2014): Pharmaka zur Behandlung bakterieller Infektionen. In: Löscher W, Richter A, Potschka H (Hrsg.), *Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren*. Enke, Stuttgart, 282–330.
- Pye CC, Yu AA, Weese JS (2013): Evaluation of biofilm production by *Pseudomonas aeruginosa* from canine ears and the impact of biofilm on antimicrobial susceptibility in vitro. *Vet Dermatol* 24(4): 446–449.
- Rosser EJ (2004): Causes of otitis externa. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 34: 459–468.
- Tolker-Nielsen T (2014): *Pseudomonas aeruginosa* biofilm infections: From molecular biofilm biology to new treatment possibilities. *APMIS Suppl* 138: 1–51.
- Werckenthin C, Arbeitsgruppe „Antibiotikaresistenz“ der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft (DVG) e. V. (2005): Kreuzresistenzen gegenüber antimikrobiellen Wirkstoffen in der Veterinärmedizin: Molekulare Grundlagen und praktische Bedeutung für die Empfindlichkeitsprüfung. *Berl Münch Tierärztl Wochenschr* 118: 471–480.
- Wölms C (2014): Otitis externa – Keimverteilung und Resistenzverhalten der nachgewiesenen Isolate in Tupferproben aus dem Jahr 2011. *Kleintierprax* 59(6): 297–312.
- Zamankhan Malayeri H, Jamshidi S, Zahraei Salehi T (2010): Identification and antimicrobial susceptibility patterns of bacteria causing otitis externa in dogs. *Vet Res Com* 34: 435–444.

Korrespondenzadresse

Dr. Corinna Hader
Laboklin GmbH und Co. KG
Labor für Klinische Diagnostik
Steubenstr. 4
97688 Bad Kissingen
hader@laboklin.com

