

# Effusione endotimpanica persistente verosimilmente sostenuta da biofilm in un paziente pediatrico affetto da immunodeficienza comune variabile

Sara Torretta<sup>1</sup>, Lorenzo Pignataro<sup>1</sup>

## Abstract

*Bacterial biofilms play a role in upper respiratory tract diseases, including acute and chronic middle ear diseases, and are involved in chronic infections and resistance to antibiotic treatment. In particular, the nasopharynx and the surrounding tissues act as important reservoirs of resistant bacterial biofilms, which have been detected in biopsies taken from adenoid and/or middle ear mucosa of children with chronic middle ear effusion.*

*Here we describe the management of a child with congenital immunodeficiency and a chronic middle ear effusion, resistant to traditional medical treatment and presumably due to nasopharyngeal colonization by bacterial biofilms, which has been successfully treated by means of medicated nasal douches delivering antibiotic and a biofilm-destroying compound.*

**Keywords:** *Biofilm; Middle ear effusion; Children; Nasopharynx; Infections; Common variable immunodeficiency*

*Persistent middle ear effusion presumably biofilm-related in a paediatric patient with common variable immunodeficiency*  
CMI 2012; 6(1): 21-26

<sup>1</sup> Dipartimento di Scienze Chirurgiche Specialistiche, Università degli Studi di Milano, Fondazione IRCCS Ospedale Maggiore Policlinico, Milano

## INTRODUZIONE

Il ruolo del biofilm nelle infezioni ricidivanti e croniche è ben noto e rilevante, considerato che più del 60% delle infezioni batteriche sembrerebbe ascrivibile a esso [1]. In particolare, la capacità di sintesi di biofilm è stata comprovata per le specie batteriche più frequentemente coinvolte nella patogenesi dei processi infettivi delle alte vie aeree in età pediatrica, quali *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* [2].

Differenti studi hanno dimostrato la presenza di biofilm batterico all'interno dell'orecchio medio e a livello del tessuto adenoidico in pazienti pediatrici soggetti a otite media acuta, otite media acuta ricorrente e otite media cronica [3]. Inoltre è stato supposto il ruolo eziopatogenico del biofilm nell'otite media effusiva (tradizionalmente considerata

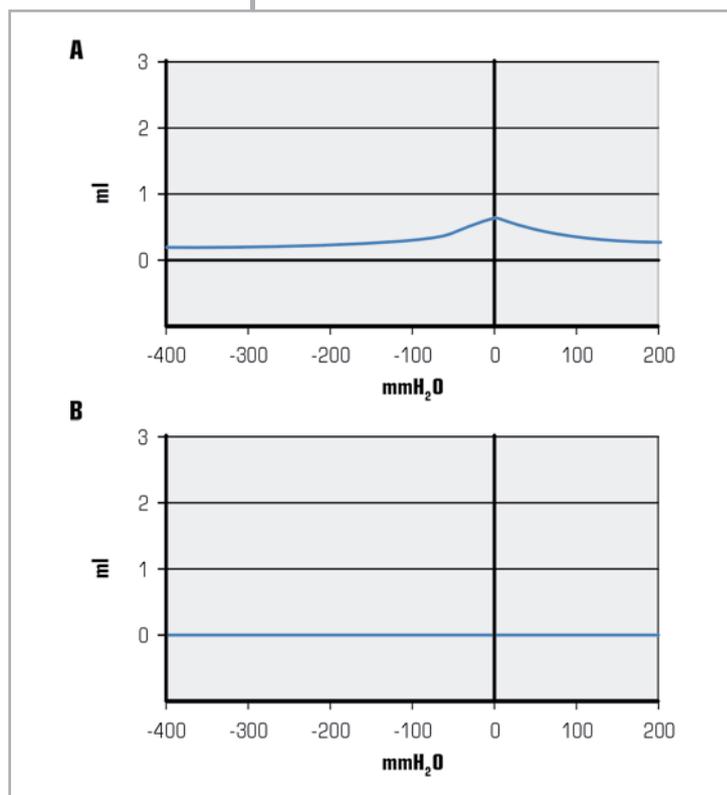
“sterile” sulla base del mancato riscontro di patogeni mediante le tecniche colturali tradizionali), anche grazie all'identificazione di

### Perché descriviamo questo caso

*Le infezioni ricorrenti delle alte vie aeree, tra cui le otiti medie acute, ricorrenti e croniche, sono un frequente riscontro nella pratica clinica in ambito pediatrico e otorinolaringoiatrico. Spesso, alla base della cronicizzazione della flogosi a carico dell'orecchio medio, vi è la colonizzazione rinofaringea da parte di un biofilm batterico, notoriamente resistente ai trattamenti medici tradizionali. Il presente articolo tratta del ruolo del biofilm nella patologia infiammatoria otologica ricorrente e cronica e delle alternative terapeutiche attualmente disponibili*

### Corresponding author

Dott.ssa Sara Torretta  
Dipartimento di Scienze Chirurgiche Specialistiche  
Università degli Studi di Milano  
Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico  
Via F. Sforza 35  
20122 Milano  
Tel.: +39 0250320245;  
Fax: +39 0250320248;  
sara.torretta@policlinico.mi.it



**Figura 1.** Timpanogramma di tipo A a destra (1) e di tipo B a sinistra (2)

DNA batterico spesso associato a mRNA e a proteine batteriche, indicatori di uno stato replicativo attivo [4].

In presenza di un'infezione batterica sostenuta da biofilm, l'approccio terapeutico deve tenere in considerazione l'elevata resistenza del biofilm batterico ai comuni trattamenti antibiotici, conseguente alle peculiari caratteristiche chimico-fisiche della matrice extra-cellulare all'interno della quale sono collocati i patogeni, allo stato di relativa quiescenza metabolica e replicativa delle specie batteriche all'interno del biofilm e all'acquisizione di meccanismi di resistenza trasmessi per via plasmidica [5]. La resistenza batterica si estende, oltre che ai presidi farmacologici, anche agli insulti biologici e non (radiazioni, temperature estreme) e all'azione difensiva del sistema immunitario, con la conseguente cronicizzazione del processo infettivo [5]. Alcuni studi hanno recentemente vagliato l'efficacia di trattamenti farmacologici e non farmacologici nelle infezioni croniche sostenute da biofilm, quali antibiotici, acetilcisteina, olio dell'albero del tè, miele di Manuka e surfattanti [6-8].

Di seguito si riporta un caso clinico relativo a un giovane paziente affetto da immunodeficienza congenita primitiva con effusione endotimpanica cronica, che è stato trattato con successo attraverso l'impiego per via to-

pica di un composto a base di tiamfenicolo e acetilcisteina.

## CASO CLINICO

Un paziente di 9 anni affetto da immunodeficienza comune variabile giungeva a valutazione specialistica otorinolaringoiatrica (ORL) per saltuaria ostruzione nasale e rinorrea.

La diagnosi del deficit immunitario congenito era stata posta all'età di 8 mesi, in seguito ad accertamenti eseguiti a causa di infezioni respiratorie ricorrenti e, da allora, il paziente è stato sottoposto a terapia infusionale di immunoglobuline ogni 21 giorni, con un buon controllo delle manifestazioni infettive. In particolare, dal punto di vista ORL, non venivano riportate tonsilliti o otiti pregresse, ma la madre riferiva saltuari episodi di rinosinusite acuta per cui il paziente assumeva antibioticoterapia, come prescritto dal pediatra curante. Al momento della valutazione otorinolaringoiatrica il paziente era in trattamento da 7 giorni con amoxicillina e acido clavulanico *per os* e lavaggi nasali per una rinosinusite acuta.

L'esame obiettivo ORL documentava la presenza di secrezione muco-purulenta a livello della parete posteriore dell'orofaringe; la membrana timpanica destra appariva normale, mentre a sinistra la membrana timpanica appariva di aspetto opacato e retratto con evidenza di un livello idro-aereo, suggestivo della presenza di un'effusione endotimpanica. Tale riscontro è stato confermato dall'esame timpanometrico (Amplaid 770, Amplifon, Milano, Italia) che mostrava a sinistra una curva piatta (tipo B) e a destra un picco (curva tipo A) (Figura 1).

All'indagine fibroendoscopica (fibroendoscopia flessibile da 2,7 mm, Pentax, Tokyo, Giappone) si riscontrava la presenza di uno scolo muco-purulento a provenienza dal meato medio e dall'area delle fontanelle posteriori di sinistra, fino al rinofaringe (che appariva libero da vegetazioni adenoidee) e andava a lambire l'orletto tubarico omolaterale. Il quadro clinico deponesse, pertanto, per una rinosinusite acuta associata a salpingite e a otite media effusiva. Il paziente veniva invitato a proseguire il trattamento in atto per una durata complessiva di 14 giorni e a eseguire un controllo al termine della terapia.

Dopo una settimana il paziente riferiva un netto miglioramento soggettivo, ma la persistenza dell'ovattamento auricolare sinistro.

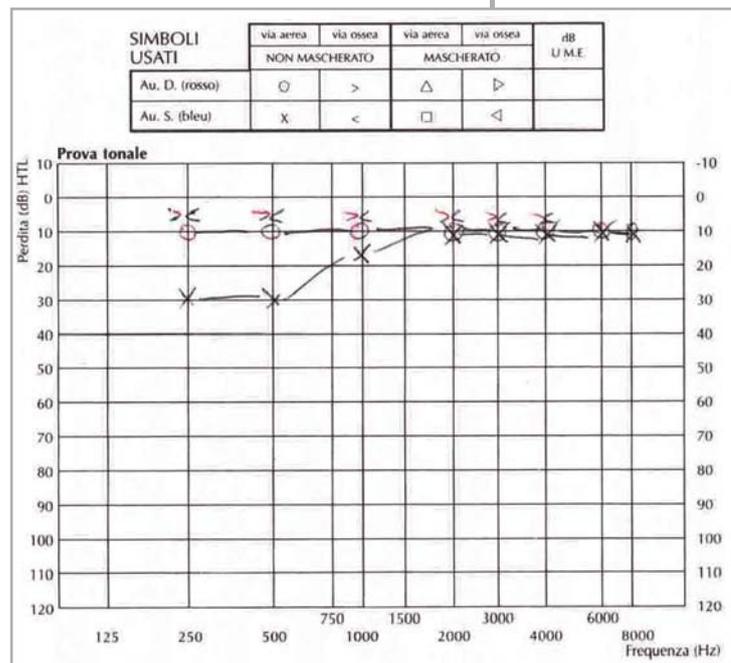
La valutazione clinica documentava la risoluzione della sinusopatia, mentre il quadro otoscopico e timpanometrico risultavano invariati rispetto alla valutazione precedente. Veniva pertanto raccomandata un'accurata igiene nasale mediante lavaggi nasali con soluzione fisiologica e ginnastica tubarica (chewing-gum e autoinsufflazioni domiciliari con dispositivi dedicati) e un successivo controllo a tre mesi di distanza. Al controllo seguente, data la persistenza dell'effusione endotimpanica sinistra e il riscontro all'esame audiometrico di un lieve deficit trasmissivo sui toni gravi omolateralmente (Figura 2), si prescriveva un ciclo di cure termali (insufflazioni endotimpaniche) e la rieducazione logopedica per una ginnastica tubarica mirata.

A tre mesi di distanza, data la persistenza del versamento endotimpanico sinistro e la sua resistenza ai trattamenti medici convenzionali, veniva ipotizzato che, alla base dell'automantenimento del processo flogistico a carico dell'orecchio medio, vi fosse una possibile colonizzazione cronica dell'unità rinofaringotubarica da parte di batteri produttori di biofilm. Veniva pertanto consigliato un trattamento medico topico con docce nasali medicate con tiamfenicolo e acetilcisteina con la seguente formulazione: soluzione fisiologica 5 ml + tiamfenicolo glicinato acetilcisteinato 405 mg per narice, una volta al giorno per 15 giorni al mese per tre mesi consecutivi che ha portato alla risoluzione del versamento endotimpanico, come documentato dal quadro otoscopico e timpanometrico (Figura 3) e dall'assenza di sintomatologia otologica a sei mesi di distanza.

## DISCUSSIONE

L'immunodeficienza comune variabile si caratterizza per la presenza di un'alterazione idiopatica del sistema immunitario, con una disfunzione sia dei linfociti B sia dei linfociti T, a cui conseguono una sintesi e una risposta anticorpale deficitari [9]. I pazienti affetti sono predisposti a infezioni batteriche ricorrenti e a differenti patologie sistemiche, con quadri clinici anche molto eterogenei [9]. In particolare, nei pazienti pediatrici con immunodeficienza comune variabile, la patologia flogistica otologica è di frequente riscontro [9].

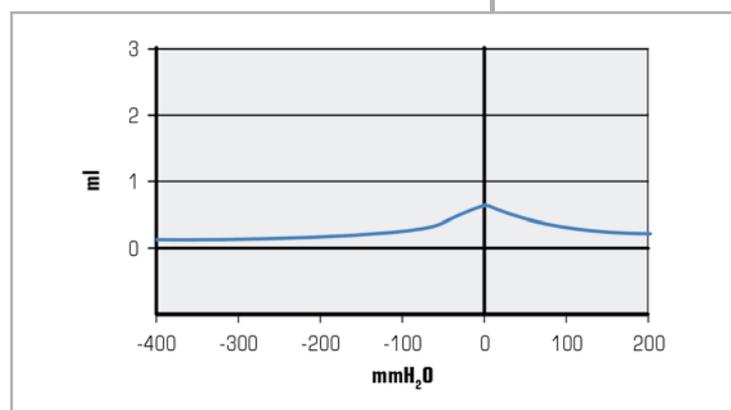
I meccanismi eziopatogenici della patologia flogistica ricorrente e cronica del distret-



to tubo-timpanico sono stati, negli ultimi anni, oggetto di numerosi studi, in particolar modo relativi all'organizzazione delle specie batteriche in una struttura tridimensionale, complessa e dinamica, detta biofilm [10-13].

Il ruolo del biofilm rinofaringeo nella genesi dell'otite media è stato comprovato in un modello animale che ha attestato lo sviluppo di un processo flogistico cronico a carico dell'orecchio medio pochi giorni dopo l'inoculazione intra-nasale di *Streptococcus*

**Figura 2.** Esame audiometrico tonale. In blu orecchio sinistro, in rosso orecchio destro



*pneumoniae* [10]. Inoltre, in questo studio, il biofilm mucosale è stato riscontrato a livello rinofaringeo e nell'orecchio medio, rispettivamente nell'83% e nel 67% delle cavie [10].

Il biofilm sembrerebbe essere coinvolto, pertanto, nella genesi degli episodi acuti, con

**Figura 3.** Timpanogramma di tipo A a sinistra dopo il trattamento

una buona corrispondenza tra la colonizzazione rinofaringea e quella endotimpanica [11]. Il ruolo del biofilm nell'otite media acuta ricorrente e nell'otite media cronica (otite media effusiva persistente, otite media cronica suppurativa semplice e colesteatomatosa) è, peraltro, ben noto [10,12-14]. A tal proposito uno studio del 2009 [10] ha riportato come, in pazienti pediatriche *otitis-prone*, più dell'85% della mucosa adenoidea fosse ricoperta da biofilm prodotto dagli otopatogeni.

Differenti studi clinici hanno infatti identificato il biofilm batterico a livello del tessuto adenoideo [10,12] suggerendo, pertanto, che le adenoidi potessero agire da *reservoir* per gli otopatogeni produttori di biofilm. In presenza di condizioni favorevoli la colonizzazione rinofaringea da parte degli otopatogeni, quali ad esempio una diminuzione dei meccanismi immunologici di difesa come nel caso presente, si può supporre come la mancata *clearance* dei patogeni a livello rinofaringeo predisponga allo sviluppo di biofilm batterico dal quale, periodicamente, verrebbero liberati germi in forma planctonica che, colonizzando l'orecchio medio, ne determinerebbero una flogosi persistente e saltuarie riacutizzazioni. A nostra conoscenza non esistono studi relativi al biofilm batterico nella cronicizzazione delle flogosi delle alte vie aeree e dell'orecchio medio in pazienti con immunodeficienza comune variabile o altre immunodeficienze congenite primitive. Tuttavia possiamo supporre come l'alterazione dei meccanismi immunologici di difesa, caratteristica di questi pazienti, possa facilitare l'ingresso e la persistenza nel distretto rinofaringotubarico di specie batteriche che, non venendo efficacemente rimosse mediante i meccanismi difensivi deficitari, causerebbero lo sviluppo di alterazioni epiteliali promuoventi l'adesione mucosale degli otopatogeni e la conseguente produzione di biofilm batterico.

Va comunque sottolineato come, nel caso descritto, l'effettiva presenza di un biofilm batterico rinofaringeo non sia stata documentata mediante indagini microbiologiche che, attualmente, prevedono come gold standard la ricerca del biofilm mediante microscopia elettronica su campioni biopatici, con la necessità di sottoporre i piccoli pazienti a un'indagine invasiva e mal tollerata [15]. Ad ogni modo, l'associazione causale tra la colonizzazione rinofaringea da parte di biofilm batterici e lo sviluppo di un'effusione endotimpanica persistente

è plausibile sulla base delle nuove acquisizioni in merito all'associazione tra biofilm batterico a localizzazione rinofaringea e lo sviluppo di flogosi persistenti del distretto tubo-timpanico [10,11] e comprovato dalla risposta al trattamento ottenuta in questo paziente.

Sulla base di queste premesse, i clinici che si trovano a dover gestire un paziente con infezioni ricorrenti delle alte vie aeree verosimilmente sostenute da biofilm batterico, devono mettere in atto delle strategie terapeutiche alternative comprendenti trattamenti che, da un lato, non siano tossici a livello delle mucose delle alte vie aeree e, dall'altro, risultino efficaci. In particolare il trattamento deve essere in grado di raggiungere i batteri all'interno del biofilm o di ostacolarne il meccanismo di *quorum-sensing*, impedendone, pertanto, la proliferazione o interferendo chimicamente/meccanicamente con la struttura del biofilm. Differenti trattamenti farmacologici e non farmacologici sono, attualmente, oggetto di studio, tra cui antimicrobici topici, surfattanti, diuretici dell'ansa, macrolidi, olio dell'albero del tè, terapia fotodinamica e ultrasuonoterapia pulsata [16]. Il *débridement* chirurgico dei tessuti colonizzati da biofilm è, infine, l'ultima *chance* terapeutica in caso di cronicizzazione del processo infettivo non responsivo alla terapia convenzionale.

Alla base di una possibile efficacia del trattamento antimicrobico contro il biofilm vi è la necessità di ottenere adeguate concentrazioni di farmaco a livello mucosale; inoltre gli antibiotici attivi contro i batteri in fase quiescente sembrerebbero essere più efficaci rispetto ai farmaci che agiscono esclusivamente contro i batteri in fase replicativa [17]. Relativamente alle vie di somministrazione, il trattamento topico sembrerebbe offrire maggior garanzia di successo, data la possibilità di ottenere concentrazioni locali anche elevate in assenza di effetti sistemici. Tra gli altri farmaci, acetilcisteina, un agente mucolitico, antiossidante e precursore del glutatione, dotato di una lieve attività antimicrobica e antinfiammatoria, ha una buona efficacia contro il biofilm, in particolar modo quando associato all'antibatterico tiamfenicolo o ai chinolonici [8]. Tale effetto sembrerebbe ascrivibile alla capacità da parte di acetilcisteina di inibire l'adesione batterica, ridurre la produzione di matrice extra-cellulare, distruggere il biofilm maturo e impedire la circolazione di batteri in forma planctoni-

ca. La somministrazione del composto può avvenire per via sistemica (orale o endovenosa), oppure topica, mediante nebulizzazione o instillazione diretta [8]. Nel caso specifico, l'utilizzo di un preparato per via topica costituito da tiamfenicolo glicinato acetilcisteinato ha portato alla risoluzione del versamento endotimpanico e alla stabilità clinica a sei mesi dalla sospensione del trattamento.

## CONCLUSIONI

Il caso clinico descritto, unito ai dati forniti dalla letteratura, suggerisce la possibilità di testare l'applicazione di nuove strategie terapeutiche per il trattamento delle infezioni ricorrenti delle alte vie aeree sostenute

da biofilm batterico, specialmente in pazienti con fattori di rischio locali o generali.

Tuttavia, nonostante gli incoraggianti riscontri preliminari, i clinici devono tenere in considerazione il fatto che, allo stato attuale, non esistono evidenze adeguate a comprovare la sicurezza e l'efficacia delle terapie antimicrobiche topiche nell'eradicazione del biofilm e come i risultati degli studi finora condotti su modelli animali o *in vitro* non possano essere, ad oggi, trasferiti direttamente alla pratica clinica.

## DISCLOSURE

Gli Autori dichiarano di non avere conflitti di interesse di natura finanziaria in merito ai temi trattati nel presente articolo.

### Punti chiave

- Il biofilm batterico ha un ruolo nell'eziopatogenesi dell'otite media effusiva
- La colonizzazione rinofaringea da parte di biofilm batterici determina il perpetuarsi delle flogosi mediante la liberazioni periodica di batteri in forma planctonica che, attraverso l'unità rinofaringotubarica, raggiungono l'orecchio medio
- La presenza di fattori predisponenti la colonizzazione rinofaringea da parte degli otopatogeni (ipertrofia adenoidea, rinosinusite cronica, immunodeficienze) deve essere tenuta in considerazione
- La resistenza del biofilm batterico ai comuni trattamenti antibiotici e all'azione del sistema immunitario è alla base della cronicizzazione dell'infezione
- È necessario testare nuove possibilità terapeutiche inibenti il biofilm e, allo stesso tempo, non lesive a livello mucosale

## BIBLIOGRAFIA

1. Stewart PS, Costerton JW. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Lancet* 2001; 358: 135-8
2. Post JC, Hiller NL, Nistico L, Stoodley P, Ehrlich GD. The role of biofilms in otolaryngologic infections: update 2007. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2007; 15: 347-51
3. Jero J, Virolainen A, Salo P, Leinonen M, Eskola J, Karma P. PCR assay for detecting *Streptococcus pneumoniae* in the middle ear of children with otitis media with effusion. *Acta Otolaryngol* 1996; 116: 288-92
4. Potera C. Forging a link between biofilms and disease. *Science* 1999; 283: 1837-9
5. Davies D. Understanding biofilm resistance to antibacterial agents. *Nat Rev Drug Discov* 2003; 2: 114-22
6. Kwiecinski J, Eick S, Wójcik K. Effects of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) oil on *Staphylococcus aureus* in biofilms and stationary growth phase. *Int J Antimicrob Agents* 2009; 33: 343-7
7. Alandejani T, Marsan J, Ferris W, Slinger R, Chan F. Effectiveness of honey on *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2009; 141: 114-8
8. Smith A, Buchinsky FJ, Post JC. Eradicating chronic ear, nose, and throat infections: a systematically conducted literature review of advances in biofilm treatment. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2011; 144: 338-47
9. Ogershok PR, Hogan MB, Welch JE, Corder WT, Wilson NW. Spectrum of illness in pediatric common variable immunodeficiency. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2006; 97: 653-6

10. Hoa M, Tomovic S, Nistico L, Hall-Stoodley L, Stoodley P, Sachdeva L, et al. Identification of adenoid biofilms with middle ear pathogens in otitis-prone children utilizing SEM and FISH. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2009; 73: 1242-8
11. Moriyama S, Hotomi M, Shimada J, Billal DS, Fujihara K, Yamanaka N. Formation of biofilm by *Haemophilus influenzae* isolated from pediatric intractable otitis media. *Auris Nasus Larynx* 2009; 36: 525-31
12. Hall-Stoodley L, Hu FZ, Gieseke A, Nistico L, Nguyen D, Hayes J, et al. Direct detection of bacterial biofilms on the middle-ear mucosa of children with chronic otitis media. *JAMA* 2006; 296: 202-11
13. Homøe P, Bjarnsholt T, Wessman M, Sørensen HC, Johansen HK. Morphological evidence of biofilm formation in Greenlanders with chronic suppurative otitis media. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2009; 266: 1533-8
14. Pagella F, Colombo A, Gatti O, Giourgos G, Matti E. Rhinosinusitis and otitis media: the link with adenoids. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2010; 23: 38-40
15. Torretta S, Drago L, Marchisio P, Mattina R, Clemente IA, Pignataro L. Diagnostic accuracy of nasopharyngeal swabs in detecting biofilm-producing bacteria in chronic adenoiditis: a preliminary study. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2011; 144: 784-8
16. Suh JD, Cohen NA, Palmer JN. Biofilms in chronic rhinosinusitis. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2010; 18: 27-31
17. Shigeta M, Tanaka G, Komatsuzawa H, Sugai M, Suginaka H, Usui T. Permeation of antimicrobial agents through *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: a simple method. *Chemotherapy* 1997; 43: 340-5