

**T.C.**  
**AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**VETERİNERLİK İÇ HASTALIKLARI**  
**DOKTORA PROGRAMI**

**AKUT OTİTİS EKSTERNALİ KÖPEKLERDE**  
**SOĞUK ATMOSFERİK PLAZMA UYGULAMASININ**  
**TERAPÖTİK ETKİNLİĞİ**

**ALANUR BAKIR**  
**DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN**  
**PROF. DR. BÜLENT ULUTAŞ**

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF-23014 proje numarası ile desteklenmiştir.

**AYDIN-2025**

## KABUL VE ONAY

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veterinerlik İç Hastalıkları Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde Alanur BAKIR tarafından hazırlanan “Akut Otitis Eksternalı Köpeklerde Soğuk Atmosferik Plazma Uygulamasının Terapötik Etkinliği” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 24/01/2025

Üye (T.D.) : Prof. Dr. Bülent ULUTAŞ  
Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi .....

Üye : Prof. Dr. Hüseyin VOYVODA  
Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi .....

Üye : Prof. Dr. Göksel ERBAŞ  
Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi .....

Üye : Prof. Dr. Turan CİVELEK  
Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi .....

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Durmuş Fatih BAŞER  
Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi .....

### ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsünün ..... tarih ve ..... sayılı oturumunda alınan ..... nolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Süleyman AYPAK

Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Bu doktora tezi hayatıma dokunan, beni bilim yolunda destekleyen, yol gösteren ve yüreklendiren birçok değerli insanın katkısıyla ortaya çıktı. Her birinin varlığı bu başarının temel taşlarını oluşturdu.

Öncelikle bu tezin doğmasına ilham veren, Türkiye'de henüz emsali olmazken ve dünya çapında tam anlamıyla bilinmezken bana soğuk atmosferik plazma teknolojisi ile çalışma fikrini sunan, bu konuda beni cesaretlendiren değerli danışman hocam Prof. Dr. Bülent ULUTAŞ' a teşekkürlerimi sunarım. Yalnızca akademik rehberliği ile değil vizyoner yaklaşımıyla da kendimi daha ileriye taşıma arzumun temellerini atarak ilham kaynağım oldu.

Bilim yolculuğumda duruşuyla daima örnek aldığım ve bilimsel rehberliğiyle bana ışık tutan Prof. Dr. Hüseyin VOYVODA' ya şükranlarımı sunarım. Kendisinin bilim ışığındaki tavsiyeleri ve destekleri bu çalışmada ilerlememi sağlayan pusulam oldu.

Doktora tez izleme komitemde yer alarak kıymetli yönlendirmeleriyle bana yol gösteren Prof. Dr. Göksel ERBAŞ' a özellikle mikrobiyolojik analizler konusundaki değerli bilgi ve deneyimlerini benimle paylaştığı ve laboratuvar olanaklarından faydalanmamı sağladığı için teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca mikrobiyolojik analizlerin her aşamasındaki büyük yardım ve emeklerinden dolayı Araş. Gör. Yiğit SEFEROĞLU' na teşekkür ederim.

Bir diğer teşekkürüm, bana sadece bilimsel anlamda değil aynı zamanda manevi olarak da rehberlik eden Doç. Dr. Ceren DİNLER AY' a. İstatistiksel analizlerdeki yardımları, bu tezin yapı taşlarını oluşturan unsurlar arasındadır. Akademik bilgisi ve bir abla sıcaklığındaki manevi desteğiyle yanımda olması bu süreci benim için kolaylaştırdı.

Doktora sürecimin manevi dayanaklarından ve bu yolda her daim destek olan Doç. Dr. Gülten Emek TUNA' ya teşekkürlerimi sunarım.

Hayata dair tavsiyeleriyle vizyonumu genişleten, her daim 21. yüzyıl yetkinliklerine vurgu yaparak ilerlemem gerektiğini hatırlatan Türk Üniversiteli Kadınlar Derneği Ankara Şubesi eski başkanı sevgili Lale GÜREL' e teşekkür ederim. Onun rehberliğinde attığım her adım, kariyerime dair sağlam temelleri oluşturdu.

Bu tezin gerçekleşmesinde teknik anlamda büyük katkıları olan İsviçre menşeli ActivCell firmasının yönetim kurulu başkanı Dr. Michael Hiestand' a projemi destekleyip cihazı Türkiye'ye ulaştırarak bana bu fırsatı sunduğu için müteşekkirim. Kendisinin ve firmanın

hem maddi hem de manevi anlamda yanımda oluşu projemin ilerlemesinde son derece değerliydi.

Ayrıca ActivCell firmasının Veteriner Danışmanı Dr. Claudia Susan NETT-METTLER' a projenin tasarlanmasındaki eşsiz bilimsel desteği, sabırlı ve hoşgörülü rehberliği için minnettarım. Bu projeyi uluslararası bir boyuta taşımamda, ön çalışma sonuçlarını dünya çapında bir kongrede sunmamda ve bilimsel bir yayına dönüştürmemde büyük bir rehberdi.

Ve hayatımın en büyük dayanakları olan aileme... Hayatın her alanında olduğu gibi bu tez sürecinde de yanımda olan, sabrını ve sevgisini hiç eksik etmeyen annem Nurcan VAROL' a en derin minnetimi sunuyorum. Bu yolculukta yorulduğum anlarda beni yeniden motive eden, her başarıyı en büyük coşkuyla kutlayan, en zor anlarımda bile bana sonsuz bir güven aşılayan anneme olan minnetim kelimelerle ifade edilemeyecek kadar büyük.

Canım kardeşim Efe Eren Can BAKIR, her başarıda sevincimi, her zorlukta yükümü paylaşan destekçim. Bu süreçte yakın uzak fark etmeksizin maneviyatını ve sevgisini her daim hissettirerek bana her daim güç verdi.

Hayat yolculuğumda, bu zorlu süreçte sabrı, fedakârlığı ve özverisiyle yanımda olan Onur ARI' ya benim için son derece kıymetli olan desteği ve sevgisi için teşekkür ederim.

Gönül bağıyla bana kız kardeşi olan Uzm. Veteriner Hekim İrem ÇINAR' a, çalışmamın her aşamasında hem bilimsel hem manevi desteği ile yanımda olduğu için teşekkür ederim.

Son olarak, bu doktora tezimi büyük bir özlem, minnet ve saygıyla rahmetli dedem Nurettin VAROL ve anneannem Elife VAROL' un aziz hatıralarına ithaf ediyorum. Dedemin bana "dağ çiçeğim" diye seslenişleri, her zaman ne kadar kıymetli olduğumu ve zorluklar karşısında dimdik ayakta kalmam gerektiğini hatırlatmıştır. İşte bugün bir kız çocuğu olarak okuyup bir unvana ulaşabildiysem ve kendi ayaklarım üzerinde durabiliyorsam onların bana kattıkları değerler, sundukları sınırsız sevgi ve destek sayesinde. Onların bana kazandırdığı değerleri yaşatmak ve gelecek nesillere taşımak adına bu tezi onların anısına adamaktan onur duyuyor, özverili sevgilerinin ve cesaret veren varlıklarının her satırda yaşadığını hissediyorum.

Alanur BAKIR

# İÇİNDEKİLER

|                                           |      |
|-------------------------------------------|------|
| KABUL VE ONAY .....                       | i    |
| TEŞEKKÜR .....                            | ii   |
| İÇİNDEKİLER .....                         | iv   |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....      | vii  |
| ŞEKİLLER DİZİNİ .....                     | viii |
| RESİMLER DİZİNİ .....                     | ix   |
| TABLolar DİZİNİ .....                     | xi   |
| ÖZET .....                                | xiii |
| ABSTRACT .....                            | xiv  |
| 1. GİRİŞ .....                            | 1    |
| 2. GENEL BİLGİLER .....                   | 3    |
| 2.1. Otitis Eksterna .....                | 3    |
| 2.1.1. Etiyoloji.....                     | 3    |
| 2.1.2. Klinik Bulgular.....               | 6    |
| 2.1.3. Tanı.....                          | 6    |
| 2.1.3.1. Genel Tanısal Değerlendirme..... | 7    |
| 2.1.3.1. Eşgal.....                       | 7    |
| 2.1.3.2. Anamnez.....                     | 8    |
| 2.1.3.3. Klinik Muayene.....              | 8    |
| 2.1.3.2. Özel Tanısal Değerlendirme.....  | 9    |
| 2.1.3.2.1. Otik ve Otoskopik Muayene..... | 9    |
| 2.1.3.2.2. Video-Otoskopik Muayene.....   | 10   |
| 2.1.3.2.3. Sitolojik Muayene.....         | 10   |

|                                                                                        |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.1.3.2.4. Mikrobiyolojik Kültür.....                                                  | 11 |
| 2.1.3.2.5. Tanısal Görüntüleme.....                                                    | 12 |
| 2.1.4. Tedavi .....                                                                    | 12 |
| 2.1.4.1. Primer Nedenlerin Yönetimi.....                                               | 13 |
| 2.1.4.2. Sekonder Nedenlerin Yönetimi.....                                             | 16 |
| 2.1.4.3. Hazırlayıcı Nedenlerin Yönetimi.....                                          | 19 |
| 2.1.4.4. Sürekliliğini Sağlayan Nedenlerin Yönetimi.....                               | 22 |
| 2.2. Otitis Eksterna Tedavisinde Başarısızlığın Nedenleri.....                         | 22 |
| 2.2.1. Antimikrobiyal Direnç.....                                                      | 22 |
| 2.2.1.1. Metisilin ve Çoklu İlaç Dirençli <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> ..... | 23 |
| 2.2.1.2. Çoklu İlaç Dirençli <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....                       | 24 |
| 2.2.1.3. Biyofilm Kaynaklı Otitis Eksterna.....                                        | 25 |
| 2.2.2. Tedaviye Uyum.....                                                              | 26 |
| 2.3. Soğuk Atmosferik Plazma.....                                                      | 27 |
| 2.3.1. Soğuk Atmosferik Plazma ve Dermatoloji.....                                     | 32 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM .....                                                               | 38 |
| 3.1. Gereç .....                                                                       | 38 |
| 3.1.1. Hayvan Materyali.....                                                           | 38 |
| 3.1.2. Ekipman.....                                                                    | 39 |
| 3.1.2.1. Soğuk Atmosferik Plazma Cihazı ve Teknik Özellikleri.....                     | 39 |
| 3.2. Yöntem .....                                                                      | 42 |
| 3.2.1. Klinik Çalışma Dizaynı .....                                                    | 42 |
| 3.2.2. Tedavi Protokolü.....                                                           | 44 |
| 3.2.3. Muayene ve Değerlendirme Protokolü.....                                         | 45 |
| 3.2.4. İstatistiksel Değerlendirme .....                                               | 48 |
| 4. BULGULAR .....                                                                      | 50 |

|                                                                                                                             |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 4.1. Demografik Bulgular.....                                                                                               | 50  |
| 4.2. Klinik Muayene Bulguları.....                                                                                          | 51  |
| 4.3. Video- Otokopik Muayene Bulguları.....                                                                                 | 54  |
| 4.4. Sitolojik Muayene Bulguları.....                                                                                       | 60  |
| 4.5. Mikrobiyolojik Muayene Bulguları.....                                                                                  | 67  |
| 4.6. Araştırmacı ve Hasta Sahibinin Tedaviye Verilen Yanıtı Değerlendirmesi.....                                            | 67  |
| 4.7. Lokal Tolere Edilebilirlik Değerlendirmesi.....                                                                        | 70  |
| 5. TARTIŞMA .....                                                                                                           | 71  |
| 6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....                                                                                                  | 78  |
| KAYNAKLAR .....                                                                                                             | 79  |
| EKLER .....                                                                                                                 | 107 |
| Ek 1 (Kısa Makale- Therapeutic Efficacy of Cold Atmospheric Plasma in Four Golden Retrievers with Acute Otitis Externa..... | 107 |
| Ek 2 (ADÜ-HADYЕК) .....                                                                                                     | 111 |
| Ek 3 (Aydınlatma Onam Formu) .....                                                                                          | 112 |
| Ek 4 (Hasta Kayıt ve Muayene Formu).....                                                                                    | 113 |
| BİLİMSEL ETİK BEYANI .....                                                                                                  | 117 |
| ÖZ GEÇMİŞ .....                                                                                                             | 118 |

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

|                        |                                                                   |
|------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| <b>AOE</b>             | : Akut Otitis Eksterna                                            |
| <b>AD</b>              | : Atopik Dermatit                                                 |
| <b>DBD</b>             | : Dielektirik Bariyer Deşarj                                      |
| <b>DNA</b>             | : Deoksiribonükleik Asit                                          |
| <b>MDRSP</b>           | : Çoklu İlaç Dirençli <i>Staphylococcus pseudintermedius</i>      |
| <b>MRSP</b>            | : Metisilin Dirençli <i>Staphylococcus pseudintermedius</i>       |
| <b>OE</b>              | : Otitis Eksterna                                                 |
| <b>OTIS-3</b>          | : Otitis İndeks Skoru- 3                                          |
| <b>ROAT</b>            | : Reaktif Oksijen ve Azot Türleri                                 |
| <b>SAMP</b>            | : Soğuk Atmosferik Mikrodalga Plazma                              |
| <b>SAP</b>             | : Soğuk Atmosferik Plazma                                         |
| <b>SAP<sub>1</sub></b> | : Soğuk Atmosferik Plazma Grubu 1                                 |
| <b>SAP<sub>2</sub></b> | : Soğuk Atmosferik Plazma Grubu 2                                 |
| <b>STD<sub>1</sub></b> | : Standart Tedavi Grubu 1                                         |
| <b>STD<sub>2</sub></b> | : Standart Tedavi Grubu 2                                         |
| <b>Tris-EDTA</b>       | :Tris (Hidrokdimetil) Aminometan- Etilen Diamin Tetra Asetik Asit |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|                 |                                                                                                                                                                                                       |    |
|-----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Şekil 1.</b> | Dermatolojik hastalıkların tedavisinde soğuk atmosferik plazmanın deriye etki düzeyleri.....                                                                                                          | 36 |
| <b>Şekil 2.</b> | Çalışma grupları.....                                                                                                                                                                                 | 43 |
| <b>Şekil 3.</b> | Klinik çalışma dizaynı.....                                                                                                                                                                           | 43 |
| <b>Şekil 4.</b> | STD <sub>1</sub> ve SAP <sub>1</sub> gruplarında OTIS-3' ün zamana bağlı değişimi.....                                                                                                                | 56 |
| <b>Şekil 5.</b> | STD <sub>2</sub> ve SAP <sub>2</sub> gruplarında OTIS-3' ün zamana bağlı değişimi.....                                                                                                                | 57 |
| <b>Şekil 6.</b> | (a) Biyofilm tespit edilen standart tedavi uygulanan olgularda OTIS-3' ün zamana bağlı değişimi. (b) Biyofilm tespit edilen SAP uygulanan olgularda OTIS-3' ün zamana bağlı değişimi.....             | 59 |
| <b>Şekil 7.</b> | STD <sub>1</sub> ve SAP <sub>1</sub> gruplarında sitolojik skorun zamana bağlı değişimi.....                                                                                                          | 63 |
| <b>Şekil 8.</b> | STD <sub>2</sub> ve SAP <sub>2</sub> gruplarında sitolojik skorun zamana bağlı değişimi.....                                                                                                          | 64 |
| <b>Şekil 9.</b> | (a) Biyofilm tespit edilen standart tedavi uygulanan olgularda sitolojik skorun zamana bağlı değişimi. (b) Biyofilm tespit edilen SAP uygulanan olgularda sitolojik skorun zamana bağlı değişimi..... | 66 |

## RESİMLER DİZİNİ

|                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |    |
|------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Resim 1.</b>  | Soğuk atmosferik plazma cihazı (PetCellpen®); (a) Cam elektrot, (b) Darbe frekansı, (c) Amplitüd.....                                                                                                                                                                                                                                                                             | 40 |
| <b>Resim 2.</b>  | Soğuk atmosferik plazma cihazı (PetCellpen®)'nın farklı ırk köpeklerde kulak uygulamaları: (a) Cocker spaniel, (b, c) Poodle, (d) Staffordshire bull Teriyer, (e, f) Golden retriever.....                                                                                                                                                                                        | 41 |
| <b>Resim 3.</b>  | Melez ırk köpekte sol kulak kepçesinde şiddetli eritem (a); sağ kulak kepçesinde eritem ve kahverengi renkli akıntı (b).....                                                                                                                                                                                                                                                      | 51 |
| <b>Resim 4.</b>  | Golden retriever ırkı köpekte sağ kulak kepçesinde eritem ve olası kaşıntı ilişkili preaurikular bölgede ekskoriasyon.....                                                                                                                                                                                                                                                        | 52 |
| <b>Resim 5.</b>  | Cocker spaniel ırkı köpekte sağ kulak kepçesinde ve dış kulak kanalı girişinde eritem (a) ve sarı renkte akıntı (b).....                                                                                                                                                                                                                                                          | 52 |
| <b>Resim 6.</b>  | Poodle ırkı köpeğin sağ kulağında eritem.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 53 |
| <b>Resim 7.</b>  | Golden retriever ırkı köpekte sol kulak kepçesinde şiddetli eritem (a); sağ kulakta kahverengi renkli akıntı.....                                                                                                                                                                                                                                                                 | 53 |
| <b>Resim 8.</b>  | Dış kulak kanalında mevcut farklı tip eksudat örnekleri. (a) Purulent, nemli eksudat. (b) Mukopurulent eksudat. (c,d) Ten renkli kremsi/balmumsu eksudat. (e,f) Kahverengi mumsu eksudat.....                                                                                                                                                                                     | 54 |
| <b>Resim 9.</b>  | (a,b) Dış kulak kanalında eritem ve kıllar. (c) Dış kulak kanalında kıllar ve üzerine dökülmüş mumsu kalıntılar.....                                                                                                                                                                                                                                                              | 55 |
| <b>Resim 10.</b> | Dış kulak kanalında farklı bulguların bir arada görünümü. (a) Şiddetli erozyon ve kahverengi mumsu eksudat. (b) Eritem, erozyon ve kıllar. (c) Eritem ve kahverengi mumsu kalıntılar. (d) Kılcal damarlarda belirginleşme ve sarı renkli kremsi eksudat. (e) Ödem, kılcal damarlarda belirginleşme ve kıllar. (f) Eritem, sebasöz bezlerde hipetrofi ve mukopurulent eksudat..... | 55 |
| <b>Resim 11.</b> | Otik eksudat örneklerine ait sitolojik muayene bulguları (100x objektif, 1000x büyütme). (a,b) Kok (siyah ok), basil (beyaz ok), maya (kırmızı ok) ve keratinositler (sarı ok). (c) Kok, basil ve dejenere nötrofiller (yeşil ok).                                                                                                                                                | 61 |

(d) Kok, basil ve keratinositler. (e) Maya ve koklar. (f) Kok ve keratinositler.....

**Resim 12.** Olası biyofilm oluşumunu gösteren kok ve basiller (a,b,c) ile mayaları (d) 62 çevreleyen dantel benzeri mor filamentli yapılar.....

## TABLÖLAR DİZİNİ

|                  |                                                                                                                                          |    |
|------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tablo 1.</b>  | Otitis eksternanın primer nedenleri.....                                                                                                 | 4  |
| <b>Tablo 2.</b>  | Otitis eksternanın sekonder nedenleri .....                                                                                              | 4  |
| <b>Tablo 3.</b>  | Otitis eksternanın hazırlayıcı nedenleri.....                                                                                            | 5  |
| <b>Tablo 4.</b>  | Otitis eksternanın sürekliliğini sağlayan nedenler.....                                                                                  | 5  |
| <b>Tablo 5.</b>  | Otitis eksternanın kesin tanısı ve şiddetinin belirlenmesi için kullanılabilir araştırma teknikleri.....                                 | 7  |
| <b>Tablo 6.</b>  | Primer nedenlerin yönetiminde önemli noktalar.....                                                                                       | 14 |
| <b>Tablo 7.</b>  | Hazırlayıcı nedenlerin yönetiminde önemli noktalar.....                                                                                  | 20 |
| <b>Tablo 8.</b>  | Soğuk atmosferik plazma tipleri.....                                                                                                     | 29 |
| <b>Tablo 9.</b>  | İnsan ve veteriner hekimliğinde dermatolojide SAP’ ın kullanıldığı hastalıklar ve ilgili çalışmalar.....                                 | 33 |
| <b>Tablo 10.</b> | Soğuk plazmanın hayvanlarda Gram-pozitif ve Gram-negatif patojen bakteriler üzerindeki etkisine ilişkin çalışmalar.....                  | 34 |
| <b>Tablo 11.</b> | SAP’ ın hayvanlarda derideki etkilerine ilişkin çalışmalar.....                                                                          | 37 |
| <b>Tablo 12.</b> | Sitolojik skorlama.....                                                                                                                  | 46 |
| <b>Tablo 13.</b> | OTIS-3.....                                                                                                                              | 47 |
| <b>Tablo 14.</b> | Araştırmacı ve hasta sahibinin tedaviye yanıtı değerlendirme ölçekleri.....                                                              | 48 |
| <b>Tablo 15.</b> | Köpeklerin demografik özellikleri.....                                                                                                   | 50 |
| <b>Tablo 16.</b> | Klinik bulguların dağılımı [n (%)].....                                                                                                  | 51 |
| <b>Tablo 17.</b> | Mikrobiyolojik kültürde tespit edilen etkenlerin dağılımı (%).....                                                                       | 67 |
| <b>Tablo 18.</b> | STD <sub>1</sub> ve SAP <sub>1</sub> gruplarında araştırmacının (hasta sahibinin) tedaviye verilen yanıtı genel değerlendirmesi (%)..... | 68 |

|                  |                                                                                                                                          |    |
|------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tablo 19.</b> | STD <sub>2</sub> ve SAP <sub>2</sub> gruplarında araştırmacının (hasta sahibinin) tedaviye verilen yanıtı genel değerlendirmesi (%)..... | 69 |
|------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

## ÖZET

### AKUT OTİTİS EKSTERNALI KÖPEKLERDE SOĞUK ATMOSFERİK PLAZMA UYGULAMASININ TERAPÖTİK ETKİNLİĞİ

**Bakır A. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veterinerlik İç Hastalıkları Programı, Doktora Tezi, Aydın, 2025.**

**Amaç:** Bu çalışmada, SAP uygulamasının köpeklerde akut otitis eksterna tedavisindeki terapötik etkinliğinin değerlendirilmesi amaçlandı.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışma kapsamında klinik ve laboratuvar bulgular temelinde bilateral akut otitis eksterna tanısı konulan 22 köpek, her iki kulak için farklı iki uygulama protokolleriyle iki gruba ayrıldı. Birinci gruptaki köpeklerin bir kulağına 0. ve 5. günlerde temizlik yapılarak toplamda iki kez SAP uygulanırken (SAP<sub>1</sub>), diğer kulağına aynı günlerde temizlik yapılarak günde iki kez 10 gün boyunca antibiyotik/antifungal/kortikosteroid kombinasyonu içeren standart tedavi uygulandı (STD<sub>1</sub>). İkinci gruptaki köpeklerin bir kulağına 0., 3., 6. ve 9. günlerde temizlik yapılarak dört kez SAP uygulanırken (SAP<sub>2</sub>), diğer kulaklarına aynı günlerde temizlik yapılarak günde iki kez 10 gün boyunca antibiyotik/antifungal/kortikosteroid kombinasyonu içeren standart tedavi uygulandı (STD<sub>2</sub>). Tüm gruplarda 0., 5., 10. ve 15. günlerde Otitis İndeks Skoru (OTIS-3) ve sitolojik skor belirlenirken 5., 10. ve 15. günlerde ise araştırmacı ve hasta sahibinin tedavi etkinliğini değerlendirmesi kaydedildi.

**Bulgular:** OTIS-3 ve sitolojik skorda SAP<sub>1</sub> ve SAP<sub>2</sub> gruplarında, STD<sub>1</sub> ve STD<sub>2</sub> ile benzer şekilde zamanla anlamlı bir düşüş gözlemlendi ( $p<0,001$ ). SAP<sub>1</sub> ve SAP<sub>2</sub> gruplarında tedavi yanıtı, hem araştırmacı hem de hasta sahiplerinin neredeyse tamamı tarafından iyi ve çok iyi olarak değerlendirildi. SAP uygulamasının lokal tolere edilebilirliği oldukça yüksekti ve uygulandığı kulaklarda yan etki gözlemlenmedi.

**Sonuç:** Bu çalışmada, SAP uygulandığı iki farklı protokolde de standart tedavi kadar etkili, pozitif bir terapötik etkinlik gösterdi.

**Anahtar kelimeler:** Akut otitis eksterna, Köpek, Soğuk atmosferik plazma, Terapötik etkinlik.

## ABSTRACT

### THERAPEUTIC EFFICACY OF COLD ATMOSPHERIC PLASMA IN DOGS WITH ACUTE OTITIS EXTERNA

**Bakir A. Aydın Adnan Menderes University, Health Sciences Institute, Veterinary Internal Medicine Program, Doctorate Thesis, Aydın, 2025.**

**Objective:** This study evaluated the therapeutic efficacy, tolerability, and safety of CAP in treating acute otitis externa in dogs.

**Material and Methods:** Twenty-two dogs with bilateral acute otitis externa were divided into two groups of 11, with two different treatment protocols for each ear. In the first group, one ear was treated twice daily with a topical antibiotic/antifungal/corticosteroid for 10 days (STD<sub>1</sub>), while the opposite ear was applied CAP on Day (D) 0 and D5 (SAP<sub>1</sub>). In the second group, one ear received the same drug protocol (STD<sub>2</sub>), while the opposite ear was applied CAP on D0, D3, D6, and D9. OTIS-3 and cytology scores were assessed on D0, D5, D10, and D15, with efficacy evaluations from investigators and owners were recorded on D5, D10, and D15.

**Results:** Significant reductions in OTIS-3 and cytology scores were observed over time in both SAP groups, similar to STD groups ( $p<0.001$ ). Treatment response in SAP groups was evaluated as good or very good by nearly all investigators and owners. CAP demonstrated high tolerability, with no adverse effects.

**Conclusion:** CAP was proved to be as effective as standard therapy providing a positive therapeutic effect in both protocols in this study.

**Keywords:** Acute otitis externa, Cold atmospheric plasma, Dog, Therapeutic efficacy.

# 1. GİRİŞ

Otitis eksterna, küçük hayvan hekimliğinde en yaygın görülen şikayetlerden biridir (August, 1988; Lund ve diğerleri, 1999). Dış kulak kanalının inflamasyonu ve buna bağlı olarak kulak kanalının daralması sonucu neredeyse her olguda bakteri ve/veya maya organizmaları ile enfeksiyon meydana gelir (Angus, 2004; Zur ve diğerleri, 2011). Enfeksiyon kaynaklı ağrı, kaşıntı, doku hasarı ve kötü kokulu akıntı gibi belirtiler yalnızca köpeklerin yaşam kalitesini düşürmekle kalmaz, aynı zamanda tedavi sürecinde hayvan sahiplerini de zorlayıcı bir bakım yükü altına sokar (Jamet ve diğerleri, 2016). Piyasadaki topikal kulak ilaçların çoğu genellikle günde bir veya iki kez düzenli uygulama ve uzun süreli kullanım gerektiren antibiyotik, antimikotik ve antiinflamatuvar ajanların bir kombinasyonunu içerir (Nuttall ve Cole, 2007). Otitisli köpeklerin tedavisindeki en önemli sorunlardan biri de tedavi sürecindeki hasta sahibi ve hasta arasındaki uyumdur (Boda ve diğerleri, 2011; Miller ve diğerleri, 2013). Sıklıkla ağrılı ve daralmış bir kulak kanalına topikal ilaçların verilmesi hem hasta sahibi hem de hasta tarafından istenmeyen bir işlem haline gelmektedir (Miller ve diğerleri, 2013). Hasta sahibi tarafından günlük yapılan uygulamalar ve uzun süreli bir tedavi süreci, hem tedavi etkinliğini sınırlamakta hem de hasta sahiplerinin sürece uyumunu zorlaştırmaktadır. Ayrıca zaman alıcı, yorucu ve zor tedavilerin hem köpeklerin hem de hasta sahiplerinin yaşam kalitesini olumsuz etkileyebileceği de bildirilmektedir (Jamet ve diğerleri, 2016). Bir çalışmada, kulak temizliğinin ve ilaç uygulamasının seyrek yapılmasının günlük uygulamalara kıyasla hasta sahipleri ve hastaların yaşam kalitesini iyileştirdiği de gösterilmiştir (Noli ve diğerleri, 2017).

Geleneksel tedavi yaklaşımlarında kullanılan topikal antibiyotiklerin uygulama prensiplerine uyulmaması durumunda çoklu ilaca dirençli bakteri izolatlarının gelişme riski de artmaktadır (Andersson ve Hughes, 2014; Sandegren, 2014). Aynı zamanda düşük konsantrasyonlarda antibiyotiklere tekrar tekrar maruz kalmak da veteriner hekimlikte enfeksiyonların tedavisini giderek zorlaştıran çoklu ilaca dirençli bakterilerin oluşumuna zemin hazırlamaktadır (Loeffler ve diğerleri, 2005; Beck ve diğerleri, 2012; Sandegren, 2014). Mikroorganizmaların geliştirdiği bu direnç mekanizmalarının yanı sıra oluşturdıkları biyofilm yapıları dolayısıyla da günümüzde tedavi zorlukları ile karşı karşıya kalınmaktadır (Kang ve diğerleri, 2017).

Bu nedenlerle hayvan sahibinin uygulamasına gerek kalmaksızın, hasta sahibi ve hastanın yaşam kalitesini minimum düzeyde etkileyecek, ilaç dirençli ve biyofilm oluşturan mikroorganizmalara da etkili tedavi seçeneklerine duyulan ihtiyaç veteriner hekimlikte giderek artmaktadır.

Soğuk atmosferik plazma (SAP), son yıllarda yenilikçi bir tedavi seçeneği olarak insan hekimliğinde yoğun ilgi görmektedir (Busco ve diğerleri, 2020). İçerdiği reaktif oksijen ve azot türleri (ROAT) ve ultraviyole ışınlar, dokulara zarar vermeksizin güçlü antimikrobiyal etki göstermektedir. İlgili reaktif türler patojen mikroorganizmaların hücre zarlarını hedefleyerek etkisiz hale getirmekte ve bu da mikroorganizma direncini kırmakta oldukça etkili olmaktadır (Kazemi, 2024). Aynı zamanda SAP, kan dolaşımını destekleyici, inflamasyonu azaltıcı ve hücre yenilenmesi ile yara iyileşme süreçlerini hızlandırıcı özellikleriyle öne çıkmaktadır (Friedman, 2020). İnsan hekimliğinde SAP, yara iyileşmesini hızlandırmak ve deri enfeksiyonlarını tedavi etmek için başarıyla kullanılmakta (Friedman, 2020; Tan ve diğerleri, 2022); veteriner hekimlikteki uygulamaları ise sınırlı kalmaktadır (Friedman, 2020). Son zamanlarda yapılan *in vitro* çalışmalarda da köpeklerde otitis eksternanın etiyolojisinde rol oynayan patojenlere karşı SAP' ın antimikrobiyal aktivite gösterdiği bildirilmektedir (Jin ve diğerleri, 2021; Kim ve diğerleri, 2022). Özellikle otitis eksterna gibi kronikleşme eğilimi gösteren ve hasta sahibi, hasta ve veteriner hekim için tedavisi zor olabilen enfeksiyonlarda SAP' ın klinik etkinliği hakkında daha fazla veri elde edilmesi, veteriner hekimlik alanında önemli bir yenilik oluşturacaktır. Hasta sahibi uygulamasına gerek kalmaksızın ve günlük uygulamalar olmaksızın tedavinin sağlanması hem hastalar hem de hasta sahipleri için çok yönlü fayda sağlayabileceği düşünülerek, bu çalışmada SAP' ın köpeklerde akut otitis eksterna tedavisindeki terapötik etkinliğinin, değerlendirilmesi amaçlandı.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Otitis Eksterna**

Dış kulak kanalının yangısal bir hastalığı olan otitis eksterna, akut veya kronik olarak seyreder (Hnilica ve Patterson, 2019). Akut Otitis Eksterna (AOE), epitel hiperplazisi, glandüler dilatasyon ve hiperplazi gibi kronik değişikliklerin bulunmadığı, 2 ay veya daha kısa süren olguları tanımlamaktadır (Huang ve diğerleri, 2009; Bajwa, 2019; Hnilica ve Patterson, 2019).

#### **2.1.1. Etiyoloji**

Otitis eksterna (OE) etiyolojisinde rol oynayan faktörler; primer nedenler (Tablo 1), sekonder nedenler (Tablo 2), hazırlayıcı nedenler (Tablo 3) ve süreklilik sağlayan nedenler (Tablo 4) olmak üzere sınıflandırılmaktadır (Griffin, 2010; Harvey ve Paterson, 2014). Primer ve sekonder nedenler, yangının ve hastalığın başlangıcı ile gelişiminden sorumludur. Hazırlayıcı ve süreklilik sağlayan nedenler ise tek başlarına enfeksiyona neden olmaz; ancak inflamasyona katkıda bulunabilir (Paterson, 2024). Bu nedenler, uygun bir şekilde yönetilmedikleri takdirde iyileşmeyi önleyebilir ve hastalığın tekrarlamasına yol açabilir (Miller ve diğerleri, 2013; Paterson, 2016).

**Tablo 1.** Otitis eksternanın primer nedenleri (Harvey ve Paterson, 2014).

| Primer Faktör              | Karakteristikleri                                                                                                                               |
|----------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Alerjiler                  | Gıda hipersensitivitesi, atopik otit, kontakt dermatit                                                                                          |
| Otoimmün hastalıklar       | Büllöz pemfigoid, Epidermolizis bülloza, Lupus eritematozus, Pemfigus foliaceus                                                                 |
| Ektoparazitler             | <i>Otodectes cynotis</i> , <i>Otobius megnini</i> , <i>Demodex</i> spp., <i>Eutrombicula</i> spp.                                               |
| Endokrin bozukluklar       | Hiperadrenokortisizm, hipotiroidizm, Sertoli hücre tümörü, seks hormonu anormallikleri                                                          |
| Epitelizasyon bozuklukları | Primer idiyopatik seборе, sebasöz adenit, çinko yanıtı dermatoz, vitamin A yanıtı dermatoz, Cocker Spaniel' lerin idiyopatik inflamatuvar otiti |
| Yabancı cisimler           | Kıl, bitki materyali, kum, kir                                                                                                                  |
| Glandüler bozukluklar      | Hipersekresyon durumları, sebasöz bez anormallikleri                                                                                            |
| İmmün aracılı hastalıklar  | Eritema multiforme, vaskülit, kutanöz ilaç reaksiyonları                                                                                        |
| Mikroorganizmalar (nadir)  | Mantarlar ( <i>Aspergillus</i> spp.)                                                                                                            |
| Misellanöz hastalıklar     | Eozinofilik granüloma kompleks, juvenil selülit, yavru kedilerin proliferatif otiti                                                             |
| Viral hastalıklar          | Köpek distemper virüsü                                                                                                                          |

**Tablo 2.** Otitis eksternanın sekonder nedenleri (Harvey ve Paterson, 2014).

| Sekonder Faktör            | Karakteristikleri                                                                                                                                                                                                         |
|----------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Bakteriler                 | Kok: <i>Staphylococcus</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp., <i>Enterococcus</i> spp.<br>Basil: <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Proteus</i> spp., <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella</i> spp., <i>Corynebacteria</i> spp. |
| Maya ve mantarlar          | <i>Malassezia</i> spp., <i>Candida</i> spp.                                                                                                                                                                               |
| Kutanöz ilaç reaksiyonları | İrritan içeren topikal ürünler (alkol, düşük pH, propilen glikol)                                                                                                                                                         |
| Aşırı temizleme            | Maserasyona neden olan su bazlı solüsyonlar (su, su bazlı temizleyiciler, sulu solüsyonda antibiyotikler); pamukla kuru temizleme.                                                                                        |

**Tablo 3.** Otitis eksternanın hazırlayıcı nedenleri (Harvey ve Paterson, 2014).

| Hazırlayıcı Faktör              | Karakteristikleri                                                                       |
|---------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|
| Kulak yapısı                    | Kıllı kulak kanalı, dar kulak kanalı, sarkık kulak kepçesi, kıllı içbükey kulak kepçesi |
| Kulak kanalının aşırı ıslanması | Çevre (sıcaklık ve yüksek nem), su (yüzücü kulağı, bakım)                               |
| Obstrüktif kulak hastalıkları   | Neoplazi, polip, kist                                                                   |
| Sistemik hastalık               | Zayıflama, bağışıklığın baskılanması                                                    |
| Tedavi etkileri                 | Temizlik kaynaklı travma, antibiyotiklerin gereğinden fazla kullanımı                   |

**Tablo 4.** Otitis eksternanın sürekliliğini sağlayan nedenler (Harvey ve Paterson, 2014)

| Süreklilik Sağlayan Faktör                         | Karakteristikleri                                                                                           |
|----------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Kulak kanalında devam eden patolojik değişiklikler | Epitel göçün başarısızlığı, ödem, proliferatif değişiklik, kanal stenozu, kulak kıkırdağının kalsifikasyonu |
| Timpanik membran                                   | Akantoz, genişleme, yırtılma, divertikül veya cep oluşumu                                                   |
| Glandüler doku                                     | Apokrin tıkanıklık ve genişleme, hidradenit, glandüler hiperplazi                                           |
| Orta kulak- Otitis Media                           | Orta kulaktaki granülasyon dokusu, enfeksiyon, yabancı madde; primer seruminöz OM                           |

### 2.1.2. Klinik Bulgular

Otitis eksternanın sık görülen klinik bulguları arasında kulakta kaşıntı, ağrı ve kafa sallama yer alır (Miller ve diğerleri, 2013; Vercelli ve diğerleri, 2021). Akut olgularda, kulak kepçesinde alopesi, ekzoriyasyon, kabuklanma, eritem ve hiperpigmentasyon gibi değişiklikler gözlenebilir (Bajwa, 2019). Genellikle kötü kokulu otik eksudat mevcuttur (Bensignor, 2003). Ayrıca, kulak hematomu oluşumu ve etkilenen kulağın olduğu tarafa kafanın eğilmesi gibi belirtiler de görülebilir (Venker-van Haagen, 2005). Kulak kanalında sıklıkla eritem, ödem ve bazen de ülserler mevcuttur (Hnilica ve Patterson, 2019).

### 2.1.3. Tanı

Otitis eksterna olgularına yaklaşım, diğer hastalıkların değerlendirilmesinden çok farklı değildir. Bu kapsamda, eşgal, anamnez ve hastanın klinik bulgularına dayanarak OE için risk faktörleri değerlendirilir (Restrepo, 2013; Harvey ve Paterson, 2014). Hasta sahibinden alınan anamnez tanı sürecinde önemli bir rol oynamaktadır. Örneğin, eğer köpeğin daha önce kulak problemi yaşamış olduğu öğrenilirse, bu bilgi ön tanı koymada yol gösterici olabilmektedir (Greek, 2004; Harvey ve Paterson, 2014). Böyle durumlarda, daha detaylı bir inceleme gerekebilir.

Hastanın eşgali ve anamnez dikkate alınarak yapılan fiziksel muayenenin ardından geçici bir ayırıcı tanı konulabilir (August, 1988; Harvey ve Paterson, 2014). Kesin tanı koymak ve OE'nin şiddetini belirlemek amacıyla, Tablo 5' te gösterilen çeşitli araştırma teknikleri uygulanabilir (Harvey ve Paterson, 2014).

**Tablo 5.** Otitis eksternanın kesin tanısı ve şiddetinin belirlenmesi için kullanılabilecek araştırma teknikleri (Harvey ve Paterson, 2014).

| Araştırma teknikleri                                                                               |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Kulak kepçesinin görsel/fiziksel muayenesi ve palpasyonu                                           |
| Dış kulak kanalının otoskopik/video-otoskopik muayenesi                                            |
| Serumen ve eksudatın sitolojik muayenesi                                                           |
| Mikrobiyolojik kültür ve duyarlılık testi için örnek alınması                                      |
| Kulak kanalının ve timpanik membranın muayenesini kolaylaştırmak için kulak kanalının temizlenmesi |
| Radyografi                                                                                         |
| Biyopsi örneklerinin histopatolojik muayenesi                                                      |

### 2.1.3.1. Genel Tanısal Değerlendirme

#### 2.1.3.1.1. Eşgal

Otitis eksternaya yatkın olduğu bilinen köpek ırkları arasında springer spaniel, minyatür kaniş, shar pei ve alman çoban köpekleri bulunmaktadır (Harvey ve Paterson, 2014). Cocker spanieller ise seruminoz OE gelişimine zemin hazırlayan keratinizasyon bozukluklarına yatkındır. Ayrıca, bu ırkta ot dikenli kaynaklı AOE' ye yatkınlık olduğu bildirilmektedir (Saridomichelakis ve diğerleri, 2007). Atopik dermatite (AD) yatkın olan ırklarda genellikle bilateral seyreden OE gelişimi olasıdır. Sarkık kulak kepçesine sahip köpekler, OE gelişimine yatkın olmasalar da enfeksiyon geliştiğinde hızla ilerleyen bir tabloya duyarlı olabilmektedir (Harvey ve Paterson, 2014; Paterson ve diğerleri, 2021). Kaniş gibi dış kulak kanallarında aşırı kıl bulunan ırklar, OE' yi tetikleyen serumen ve döküntü birikimine daha yatkındır (McQuillan, 2005). Yorkshire teriyerler ise bilateral kulak kepçesi alopesisi ve hiperpigmentasyona yatkındır (Harvey ve Paterson, 2014).

Otitis eksterna'nın en yüksek insidansı, genellikle 3 ila 6 yaş arasındaki köpeklerde görülmektedir. Otik yabancı cisimler ise genç köpeklerde nadiren rapor edilmiştir. Buna karşın,

keratinizasyon bozuklukları, AD veya gıda hipersensitivitesi gibi OE' ye yol açan faktörlerin varlığında OE genç köpeklerde daha sık görülebilmektedir (Harvey ve Paterson, 2014).

Otitis eksterna ile ilişkili belirgin bir cinsiyet yatkınlığı bulunmamaktadır (Harvey ve Paterson, 2014); ancak dişi köpeklerin alerjik nedenlerle OE geliştirme olasılığının erkek köpeklere kıyasla daha yüksek olduğu bildirilmektedir (Saridomichelakis ve diğerleri, 2007). Sertoli hücre tümörleri, kulak çevresindeki deri ve kıllarda yağlı serumen birikimine yol açarak OE riskini artırabilmektedir (De Bellis, 2011).

#### **2.1.3.1.2. Anamnez**

Anamnez, hastanın bakım şekli, yaşam tarzı ve kullanılan ilaçların belirlenmesinin yanında OE' nin nedenini anlamaya yönelik önemli bir tanı aracıdır (Miller ve diğerleri, 2013). İyi ve kapsamlı bir anamnez, bazı durumlarda kesin bir tanıya ve ardından spesifik tedaviye olanak sağlamaktadır. Ayrıca, hastanın OE' ye yatkınlığını ve altta yatan bir hastalığın varlığını ortaya koyabilir.

Hastanın yaşam tarzıyla ilgili bilgiler hasta sahibinden edinilmelidir. Bu bilgiler; diyet, su tüketimi, barınma koşulları, güneş ışığına maruziyeti, egzersiz alışkanlıkları, tıraş işlemleri (tıraş makinesi yanığı veya kulak kanallarındaki kılların yolunması sonrası tahriş), diğer hayvanların ve avcı kedilerin varlığı gibi unsurları içermelidir (Harvey ve Paterson, 2014).

Otik ilaçların topikal uygulaması bazı durumlarda tahriş edici veya alerjik kontakt dermatitise yol açabilmektedir. Bu durumun başlıca göstergesi, ilacın tekrarlayan uygulamalarına rağmen iyileşmeyen otitis eksterna ve hasta sahibinden alınan anamnezde ilaca yönelik dikkat çekici bilgilerin varlığıdır (Harvey ve Paterson, 2014).

#### **2.1.3.1.3. Klinik Muayene**

Hastanın güncel ve geçmiş anamnez bilgileri alındıktan sonra tam bir klinik muayene gerçekleştirilmelidir (Hnilica ve Patterson, 2019). Klinik muayenede, iç hastalıkları ve endokrin bozukluklar açısından belirtiler araştırılmalıdır. Bu kapsamda lenf düğümleri, ağız boşluğu, torakal ve abdominal bölge, testisler ve perineum sistematik olarak muayene edilmelidir

(McQuillan, 2005). Genel klinik muayenenin ardından dermatolojik bir değerlendirme yapılmalıdır (Harvey ve Paterson, 2014).

Dermatolojik muayene sırasında pinnal kaşıma refleksi varlığına özellikle dikkat edilmelidir. Kaşıntılı deri hastalığı olan köpeklerde, kulak kepçesinin distal kenarı başparmak ve işaret parmağı arasına alınarak ovulduğunda aynı taraftaki arka bacakta kaşıma refleksi oluşabilir (Harvey ve Paterson, 2014). Bu pozitif kaşıma refleksi genellikle uyuz ile ilişkilidir; ancak kesin patognomonik bir bulgu değildir (Mueller ve diğerleri, 2001). Ayrıca pedikülozis, *Malassezia pachydermatis* kaynaklı dermatit ve AD gibi hastalıklarda da pozitif kaşıma refleksi görülebilmektedir (Harvey ve Paterson, 2014).

### **2.1.3.2. Özel Tanısal Değerlendirme**

#### **2.1.3.2.1. Otik ve Otokopik Muayene**

Kulak kepçelerinin genel muayenesi sırasında belirlenen bazı bulgular altta yatan hastalıkların belirteci olabilmektedir. Periferik kabuklanma ve pullanma, uyuz, pediküloz, keratinizasyon bozuklukları, çinko eksikliği, endokrinopatiler veya sinek ısırığı ve sivrisinek aşırı duyarlılığı gibi durumlara işaret edebilir (Hnilica ve Patterson, 2019). Dışbükey taraftaki eritem, özellikle distal bölgede aktinik güneş ışığı hasarının bir göstergesi olabilir. İçbükey taraftaki eritem ise AD veya alerjik kontakt dermatit belirtisi olarak değerlendirilebilir.

Alopesiler kaşıntı, dermatofitoz veya endokrinopatiler ile ilişkilendirilebilmektedir (Miller ve diğerleri, 2013). Alopesiye eşlik eden hiperpigmentasyon da sıklıkla bir endokrinopatiyi yansıtmaktadır. Veziküller, püstüller ve kabuklanmalar, yüzeysel piyoderma, pemfigus foliaceus veya çinko eksikliği nedeniyle ortaya çıkabilmektedir (Harvey ve Paterson, 2014).

Dış kulak kanalının genel muayenesinde, kulak kıkırdağındaki kalsifikasyon palpasyonla hissedilebilir ve bu durum kronik OE varlığına işaret edebilir (Bloom, 2009; Miller ve diğerleri, 2013). Dış kulak kanalından gelen kötü koku, *Malassezia pachydermatis* ve/veya Gram-negatif bakteriyel enfeksiyonlar, devitalize dokular ya da neoplazi ile ilişkili olabilmektedir (Harvey ve Paterson, 2014).

Kanal girişindeki ve içerisindeki kıl miktarı değerlendirilmelidir. Özellikle kanal girişindeki kıkırdak kıvrımları arasında gizlenen bölgeler, keneler ve trombikülid akarlar gibi ektoparazitler açısından dikkatlice incelenmelidir (Harvey ve Paterson, 2014). Eritem, genellikle dış kulak kanalının yumuşak dokularında şişme ve kanalın daralması ile ilişkilidir. Bazı durumlarda kulak kanalında daralma çok şiddetli olduğu için otoskop konisinin kanala yerleştirilmesi imkânsız hale gelebilmektedir (Gothelf, 2005). Eğer dikey kanalda eritem mevcutken yatay kanal normal veya normale yakın bir görünüme sahipse bu durum güçlü bir şekilde AD' yi düşündürmektedir (Harvey ve Paterson, 2014). Kulak kanalı epitelinin ülserasyonu genellikle Gram-negatif bakteriyel enfeksiyonlarla ilişkilidir; ancak bazen immün aracılı hastalıkların bir belirtisi de olabilir (Harvey ve Paterson, 2014).

Dış kulak kanalında herhangi bir akıntının niteliği, rengi ve kokusu dikkatlice not edilmelidir. Ancak, akıntının fiziksel özelliklerine dayanarak OE' ye neden olan organizmayı tespit etmek genellikle yanıltıcı olabilmektedir. Bu nedenle, otik eksudatın sitolojik incelemesi çok daha güvenilir bir yöntemdir (Plant, 2009; Harvey ve Paterson, 2014; Paterson ve diğerleri, 2021).

#### **2.1.3.2.2. Video-Otoskopik Muayene**

Köpek kulağının benzersiz kıvrımları nedeniyle, kulak kanalı ve timpanik zarın ayrıntılı bir şekilde incelenmesi için video-otoskop kullanımı oldukça önemlidir. Video-otoskop, kulak kanalında meydana gelen eritem, ödem, ülser, proliferatif değişiklikler ve eksudat varlığı gibi patolojik bulguların tespit edilmesini sağlamaktadır (Bloom, 2009; McQuillan, 2005). Özellikle aşırı miktarda akıntının kulak kanalını net bir şekilde incelemeyi zorlaştırdığı durumlarda kanal yıkama işlemi uygulanarak daha iyi bir görüntüleme sağlanabilir. Video-otoskop yalnızca ayrıntılı bir inceleme için üstün bir ışık kaynağı ve büyütme imkânı sunmakla kalmaz, aynı zamanda biyopsi aletleri veya kateterlerin kullanımına olanak tanıyarak döküntülerin temizlenmesini de mümkün kılmaktadır (Moriello, 2013).

#### **2.1.3.2.3. Sitolojik Muayene**

Otik eksudatın sitolojik incelemesi, tanı ve tedavi sürecinde hızlı ve etkili bilgiler sağlayan, kolay uygulanabilir ve nispeten non-invaziv ekonomik bir yöntemdir (Chickering,

1988; Kowalski, 1988; Rosser, 1988; Huang, 1993). Her yeni otit tanısında ve tedavi sonlandırılmadan önce yapılan kontrollerde sitolojik değerlendirme mutlaka uygulanmalıdır (Grable, 2017).

Sitolojik inceleme, mikroorganizmaların tespitinde yüksek tekrarlanabilirliğe sahiptir ve mikroorganizmaların saptanması açısından oldukça güvenilirdir. Ancak, mayaların tespiti konusunda daha az etkili olduğu rapor edilmiştir (Lehner ve diğerleri, 2010). Çoğu durumda, otik eksudatın sitolojik incelemesi, mikrobiyolojik kültür ve duyarlılık testlerinden daha doğru sonuçlar verebilmektedir. Ayrıca, otik eksudat içerisinde bulunan protein kalıntıları ve yangısal hücrelerin incelenmesi sayesinde herhangi bir mikroorganizmanın klinik önemi değerlendirilebilir (Harvey ve Paterson, 2014).

Sitolojik muayene için en faydalı örnek, kulak kanalından alınan ve temiz bir cam lam üzerine yayılmış bir pamuklu sıvayla elde edilen materyaldir. Mümkünse, her iki kulağın da yatay kulak kanalından örnek alınması önerilmektedir (Grable, 2017).

Çoğu klinisyen, Diff-quick gibi modifiye Wright boyalarının kullanılmasını önermektedir (Chickering, 1988; Kowalski, 1988; Griffin, 1993). Alkol bazlı boyalar, otik eksudatın lipid içeriği nedeniyle su bazlı boyalardan daha etkili bulunmuştur (Kowalski, 1988). Lipidlerin çözücü ile çözünmesini önlemek amacıyla balmumu içeren preparatların ısı ile sabitlenmesi önerilmektedir (Griffin, 1993). Kulak kirinin her zaman lipid içerdiği göz önünde bulundurulduğunda tüm örneklerin ısı ile sabitlenmesi uygun bir yöntem gibi görünmekle birlikte bu konuda farklı görüşler bulunmaktadır (Chickering, 1988; Kowalski, 1988; Rosychuck, 1994; Lehner ve diğerleri, 2010; Bouassiba ve diğerleri, 2013).

Ticari laboratuvarlar mikroorganizmaların morfolojisinin değerlendirilmesine olanak tanıdığı için genellikle Gram boyama yöntemini kullanmaktadır. Ancak, Gram boyama işlemi zaman alıcı ve zahmetli olduğu için klinisyenler tarafından pek tercih edilmemektedir (Rosychuck, 1994; Harvey ve Paterson, 2014).

#### **2.1.3.2.4. Mikrobiyolojik Kültür**

Sitolojik incelemede çubuk şekilli bakteriler ve inflamatuvar hücreler tespit edildiğinde, özellikle tedaviye yanıt vermeyen OE olgularında ve sistemik antibiyotiklerin gerektiği durumlarda mikrobiyolojik kültür yapılması önerilmektedir (Plant, 2009; Restrepo, 2013; Grable, 2017). Ancak yalnızca topikal tedavi uygulanacaksa mikrobiyolojik kültür genellikle faydalı olmayabilir, çünkü kulak kanalında topikal ilaçlar, sistemik ilaçlara kıyasla çok daha

yüksek konsantrasyonlara ulaşabilmektedir (Miller ve diğerleri, 2013; Hnilica ve Patterson, 2019). Mikrobiyolojik kültür için örnekler, sitolojik incelemede kullanılan yöntemle benzer şekilde steril bir pamuklu sıvap kullanılarak alınabilir (Grable, 2017).

#### **2.1.3.2.5. Tanısal Görüntüleme**

Radyografik muayene, köpeklerde ve kedilerde kulak hastalıklarının teşhisinde faydalı bir araçtır. Genellikle orta kulak hastalıklarının değerlendirilmesinde kullanılmakla birlikte dış kulak kanalının radyografik incelemesinin gerektiği bazı durumlarda da uygulanabilmektedir (Harvey ve Paterson, 2014).

Timpanik bullaların radyografik yorumunda doğru pozisyonlama oldukça önemlidir. En iyi görüntüleme dorsoventral, rostrokaudal ve lateral oblik pozisyonlarda sağlanabilmektedir (Trower ve diğerleri, 1998). Köpeklerde ırklar ve bireyler arasındaki anatomik farklılıklar göz önüne alındığında bir tarafın diğer tarafla karşılaştırılması sıklıkla tanı için gereklidir. Bu nedenle mükemmel pozisyonlama kritik bir rol oynamaktadır (Rose, 1977; Gibbs, 1978).

Bilgisayarlı tomografi ve manyetik rezonans görüntüleme, bazı otit olgularında faydalı olabilecek ileri düzey görüntüleme yöntemleridir. Bilgisayarlı tomografi, kulağa ait kemik yapıların detaylı bir şekilde incelenmesini sağlar ve dış kulak kanalındaki daralma, tıkanıklık veya timpanik bulladaki doluluğun teşhisinde etkilidir. Manyetik rezonans görüntüleme ise yumuşak doku yapılarını yüksek çözünürlükte görüntüleme imkânı sunar ve özellikle kulak içinde veya çevresinde kitle şüphesi varsa tercih edilmektedir (Garosi ve diğerleri, 2003; Benigni ve Lamb, 2006).

#### **2.1.4. Tedavi**

Otitis eksternanın başarılı bir şekilde tedavi edilebilmesi için etiyolojisinde rol oynayan faktörlerin göz önünde bulundurulması ve bunlara yönelik tedavi protokollerinin belirlenmesi büyük önem taşımaktadır (Harvey ve Paterson, 2014). Bu doğrultuda, öncelikle primer nedenlerin teşhis edilip tedavi edilmesi veya yönetilmesi, ardından sekonder nedenlerin belirlenip tedavi edilmesi gerekmektedir. Son olarak, süreklilik sağlayan ve hazırlayıcı

faktörlerin ortaya konularak yönetimi sağlanmalı ve böylece hastalığın tekrarlaması önlenmelidir (Griffin, 2010; Harvey ve Paterson, 2014; Hnilica ve Patterson, 2019).

Otitis eksterna yönetiminde tedavinin temeli topikal uygulamalara dayanmaktadır. Bununla birlikte, bazı durumlarda bireysel hastalıklara bağlı olarak sistemik antiinflamatuvar ve/veya antimikrobiyal tedaviler de endike olabilmektedir (Bajwa, 2019). Ancak, uygun topikal kulak temizleyicileri ve reçeteli kulak damlaları seçilmediği takdirde hastalığın iyileşmeyeceği ve hatta kötüleşebileceği bildirilmiştir (Harvey ve Paterson, 2014; Hnilica ve Patterson, 2019). Topikal tedavi ile uygulanan etken maddeler lokal olarak plazma seviyesinin 100 ila 1000 katına kadar yüksek konsantrasyonlarda bulunabilir. Bu nedenle, tedavi protokolü belirlenirken ve mikrobiyolojik kültür ile duyarlılık sonuçları değerlendirilirken bu sonuçların yalnızca antimikrobiyal ajanın plazma seviyelerini temsil ettiği unutulmamalıdır. Dolayısıyla, mikrobiyolojik kültür ve duyarlılık sonuçları, topikal tedavinin etkinliğini belirlemek veya değerlendirmek için tek başına yeterli bir gösterge olarak kabul edilmemelidir (Cole, 2013).

Başarılı bir tedavi için tedaviye uyum sağlanması da kritik bir öneme sahiptir. Tedaviye direnç gösteren hastalarda kulak temizleme solüsyonlarının ve ilaçların uygulanması her zaman kolay olmayabilir. Bu durum, hasta ve sahibi için uzun süreli strese yol açarak tedavinin başarısız olmasına neden olabilmektedir (Boda ve diğerleri, 2011). Ayrıca zaman alıcı, yorucu veya uygulanması zor tedavilerin evcil hayvanların ve sahiplerinin yaşam kalitesini olumsuz etkileyebileceği bildirilmiştir (Favrot ve diğerleri, 2010; Noli ve diğerleri, 2011a; Noli ve diğerleri, 2011b). Jamet ve diğerleri (2016), OE' nin neden olduğu stres ve rahatsızlık nedeniyle hem köpeklerde hem de sahiplerinde yaşam kalitesinin olumsuz etkilendiğini ortaya koymuştur.

#### **2.1.4.1. Primer Nedenlerin Yönetimi**

Otitis eksterna olgularında primer nedenlerin belirlenmesi ve etkili bir şekilde yönetilmesi başarılı bir tedavisi için kritik noktalardandır. Bu bağlamda özellikle alerjik nedenler, OE olgularının büyük bir kısmında primer etken olarak karşımıza çıkmaktadır (Paterson, 2002).

Otitis eksterna olgularının %75' inde mevcut olabilen en yaygın primer neden alerjidir (Paterson, 2002; Saridomichelakis ve diğerleri, 2007; Zur ve diğerleri, 2011). OE, yaygın bir alerjik deri hastalığının parçası olarak ortaya çıktığında genellikle sistemik ilaçlar veya alerjen spesifik immünoterapi ile yönetilebilmektedir. Bazı olgularda yalnızca kulaklar etkilenebilir

veya kulaklar, vücudun diğer bölgelerine göre daha şiddetli etkilenebilmektedir. Sistemik ilaçların alerjik OE' yi kontrol etmekte yetersiz kaldığı ve ek tedavi gerektiren durumlar da görülebilir. Bu gibi olgularda topikal ilaçlar tek başına tedavi seçeneği olabilir veya alerjen spesifik immünoterapi gibi tedavileri desteklemek amacıyla kullanılabilir (Colombo ve diğerleri, 2007). Ayrıca, sekonder nedenlerin veya enfeksiyonların varlığı mutlaka taranmalı ve tespit edilirse uygun şekilde tedavi edilmelidir. Bununla birlikte, alerjik reaksiyonların en etkili yönetiminin antiinflamatuvar tedavi ile gerçekleştirilebileceği bildirilmektedir (Harvey ve Paterson, 2014).

**Tablo 6.** Primer nedenlerin yönetiminde önemli noktalar (Harvey ve Paterson, 2014).

| Primer neden               | Topikal tedavinin önemli noktaları                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|----------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Alerji                     | Temizleme solüsyonları hassas kulaklarda hafif yapıda olmalıdır. Asidik, alkol bazlı, astringent çözeltiler ve güçlü seruminolitikler dikkatli kullanılmalıdır. Glukokortikoid içeren kulak damlaları tercih edilmelidir. Propilen glikol ve neomisin gibi alerjik kontakt dermatitise neden olabilecek ürünlerden kaçınılmalıdır.                        |
| Otoimmün/immün aracılı     | Temizleme solüsyonları hafif yapıda olmalıdır; çünkü kulak hassas ve genellikle ülserlidir. Kulak damlaları mometazon veya hidrokortizon aseponat gibi güçlü topikal glukokortikoidler içermelidir.                                                                                                                                                       |
| Ektoparazitler             | Temizleme solüsyonları, <i>Otodectes cynotis</i> olgularında kalın, kuru akıntıyı temizleyebilmelidir. Skualen ve sodyum dokuzat gibi seruminolitik ajanlar faydalıdır. <i>Demodex</i> olgularında propilen glikol bazlı ürünler kullanılmalıdır. Akarisid içeren kulak damlaları (ivermektin, permetrin, tiabendazol, rotenon) yararlıdır.               |
| Endokrin bozukluklar       | Hipotiroidizmde, serüminöz akıntı nedeniyle iyi seruminolitik aktiviteye sahip temizleme solüsyonları kullanılmalıdır. Skualen veya sodyum dokuzat hastalığın erken evrelerinde yararlıdır. İyileştikçe yağ ve propilen glikol bazlı temizleyicilere geçilmelidir. Azol, polien veya alilamin içeren damlalar sekonder maya enfeksiyonlarında gereklidir. |
| Epitelizasyon bozuklukları | Temizleme solüsyonu seçimi kulaktaki serumen miktarına göre yapılmalıdır. Sebasöz adenitiste yağ bazlı solüsyonlar önerilir. Primer idiopatik sebase olgularında karbamid peroksit, sodyum dokuzat ve skualen gibi güçlü ajanlar kullanılır. Sekonder maya enfeksiyonlarında azol, polien veya alilamin içeren damlalar tercih edilmelidir.               |

Primer nedenlerin yönetiminde, kulak temizleme solüsyonlarının önemi göz ardı edilemeyecek kadar büyüktür ve bu ürünlerin Tablo 6’ da özetlendiği şekilde kullanılması gerekmektedir.

Glukokortikoidler (Rougier ve diğerleri, 2005; Bolinder ve diğerleri, 2006) veya takrolimus (Mauldin ve diğerleri, 2007; Kelley ve diğerleri, 2010) içeren topikal ürünler, hem alerjik hem de immün aracılı hastalıkların yönetiminde etkili antiinflamatuvar tedavi seçenekleri olarak tanımlanmaktadır. Uygun bir glukokortikoid preparatının seçimi, tedavi için gereken etkisi, preparattaki glukokortikoidin türü ve konsantrasyonu, glukokortikoidin içinde bulunduğu bazın özellikleri, hastanın genel sağlığına göre sistemik emilim potansiyeli ve ihtiyaç duyulan tedavi süresine bağlı olarak yapılmalıdır (Harvey ve Paterson, 2014). Bu faktörlerin dikkate alınması tedavinin hem etkinliği hem de güvenliği açısından büyük önem taşımaktadır.

Glukokortikoid içeren lisanslı veteriner kulak ürünlerinin içerikleri mometazon, hidrokortizon aseponat, fluosinolon, deksametazon ve betametazon gibi güçlü antiinflamatuvar ajanlardan triamsinolon asetonid ve prednizolon gibi orta derecede güçlü ajanlara kadar çeşitlilik göstermektedir (Koch ve diğerleri, 2012). Glukokortikoid içeren bu ürünlerin formülasyonlarında genellikle bir antibiyotik ve bir antifungal ajan da yer almaktadır. Bu nedenle yalnızca glukokortikoid kullanımının gerektiği durumlarda kedi ve köpekler için ruhsatsız olan sadece glukokortikoid içeren insan kulak damlaları kullanılmaktadır (Harvey ve Paterson, 2014).

Otit olgularında glukokortikoidlerin antiinflamatuvar etkilerini değerlendiren iki çalışma, topikal prednizolonun kulak kalınlığında ve eritemde önemli bir azalma sağladığını göstermiştir (Bolinder ve diğerleri, 2006). Ancak, deksametazon ile karşılaştırıldığında, prednizolonun ağrıyı, eksudat üretimini ve kokuyu azaltmada daha az etkili olduğu rapor edilmiştir (Rougier ve diğerleri, 2005). Alerjik OE tedavisinde, hidrokortizon aseponat içeren bir ürünün haftada iki kez üç damla olarak AD’ li köpeklerin kulaklarında kullanılmasıyla OE’nin nüksetme oranının azaldığı bildirilmiştir (Bensignor ve diğerleri, 2012).

Çeşitli çalışmalar, topikal glukokortikoidlerin kulak yolu ile uygulanmasının adrenal ve hepatik fonksiyon testlerini etkileyebilecek düzeyde sistemik emilime neden olabileceğini de göstermiştir (Moriello ve diğerleri, 1988; Meyer ve diğerleri, 1990; Ghubash ve diğerleri, 2004; Abraham ve diğerleri, 2005; Reeder ve diğerleri, 2008; Gottschalk ve diğerleri, 2011).

Takrolimus, orta ile şiddetli AD' li insanlarda kullanım amacıyla ruhsatlandırılmış bir makrosiklik laktondur. Son yıllarda, takrolimus merheminin insanlarda non-enfeksiyöz dirençli otit tedavisinde etkili olduğu bildirilmiştir (Caffier ve diğerleri, 2007; Harth ve diğerleri, 2007; Lennon ve Fenton, 2010). Köpekler ve kedilerde takrolimusun kullanımı ile ilgili sınırlı sayıda veri bulunmaktadır. Bir çalışmada, OE' si olmayan AD' li Beagle ırkı köpeklerin kulaklarına steril zeytinyağı bazlı %0,1' lik takrolimus süspansiyonu uygulandığında lokal yan etki, OE gelişimi, otik sitolojide değişiklik, vestibüler disfonksiyon veya işitme kaybı gözlemlenmemiştir (Kelley ve diğerleri, 2010).

#### 2.1.4.2. Sekonder Nedenlerin Yönetimi

Otitis eksterna olgularında, bakteri ve maya enfeksiyonları genellikle primer hastalığın yol açtığı inflamatuvar sürecin bir sonucu olarak gelişmektedir. Maya otitislerinde en sık rastlanan tür *Malassezia spp.*' dir. Bu enfeksiyonların tedavisi için polien, azol veya alilamin sınıfından antifungal ajanlar içeren lisanslı veteriner ürünleri bulunmaktadır. Bu antifungal ilaçların birçoğu glukokortikoid ve antibiyotiklerle kombinasyon halinde sunulurak kulak damlası formunda üretilmektedir (Koch ve diğerleri, 2012). Ancak, yalnızca %1 klotrimazol veya %1 mikonazol içeren sınırlı sayıda veteriner ürünü mevcuttur (Koch ve diğerleri, 2012). Etkilenen kulağa, antifungal içeren damlalardan her 12 saatte bir 0,2–0,5 mL uygulanması önerilmektedir. Tedavi, otik eksudatın sitolojik incelemesinde maya enfeksiyonunun negatif olduğu tespit edilene kadar ve dış kulak kanalındaki ödem ile inflamasyon giderilip epitel normalleşene kadar devam etmelidir (Hnilica ve Patterson, 2019).

Bakteriyel otitlerin tedavisinde antibiyotik veya antibakteriyel aktiviteye sahip dezenfektan içeren çok sayıda lisanslı kulak ürünü bulunmaktadır. En yaygın kullanılan topikal antibiyotikler arasında aminoglikozidler (framisetin, gentamisin, neomisin), florokinolonlar (siprofloksasin, enrofloksasin, marbofloksasin, orbifloksasin), polimiksinler (kolistin sülfat, polimiksin B), fusidik asit, florfenikol ve gümüş sülfadiazin yer almaktadır (Koch ve diğerleri, 2012).

Veteriner kulak damlalarında yaygın olarak kullanılan aminoglikozid antibiyotikler arasında framisin, neomisin ve gentamisin bulunmaktadır. Framisin, geniş spektrumlu bir bakterisidal antibiyotiktir ve özellikle *Staphylococcus* türlerine karşı etkilidir. Ayrıca *in vitro* ortamda fusidik asit ile sinerjistik etki gösterdiği bildirilmiştir (Allison ve diğerleri, 2011).

Proteus türleri ve bazı *Pseudomonas* türleri gibi birçok Gram-negatif patojene karşı da yüksek aktivite sergilemektedir (Harvey ve Paterson, 2014). Neomisin, veteriner aminoglikozidleri arasında en az etkili olanıdır. Gram-pozitif koklara karşı iyi bir aktiviteye sahip olmakla birlikte, Gram-negatif bakterilere karşı sınırlı bir etki göstermektedir. Otik sitolojide koklar tespit edildiğinde neomisin ilk tercih olarak önerilmektedir (Morris, 2004). Gentamisin ise hem Gram-pozitif hem de Gram-negatif bakterilere karşı geniş bir etki spektrumuna sahiptir. *Staphylococcus* (Kiss ve diğerleri, 1997; Lyskova ve diğerleri, 2007; Zamankhan Malayeri ve diğerleri, 2010), *Corynebacterium* (Henneveld ve diğerleri, 2012), *Proteus*, *Escherichia coli* (Lyskova ve diğerleri, 2007; Zamankhan Malayeri ve diğerleri, 2010; Bugden, 2013) ve *Pseudomonas* (Kiss ve diğerleri, 1997; Lyskova ve diğerleri, 2007; Schick ve diğerleri, 2007; Zamankhan Malayeri ve diğerleri, 2010; Bugden, 2013) türlerine karşı etkili olduğu bildirilmektedir. Gentamisin içeren birçok veteriner kulak ürünü genellikle bir glukokortikoid ve bir antifungal ilaç ile kombinasyon halinde sunulmaktadır.

Florokinolonlar, Gram-negatif ve Gram-pozitif çubuk şekilli bakterilere karşı iyi bir bakterisidal etki göstermektedir (McKellar, 1996). Siprofloksasin, enrofloksasin, marbofloksasin ve orbifloksasinin OE olgularında *Pseudomonas* türlerine karşı etkili olduğu kanıtlanmıştır (Rougier ve diğerleri, 2005; Schick ve diğerleri, 2007; Wildermuth ve diğerleri, 2007; Zamankhan Malayeri ve diğerleri, 2010). Florokinolonlar, özellikle *Pseudomonas aeruginosa* ile ilişkilendirilen kronik OE olgularında ikinci veya üçüncü basamak antibiyotikler olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Ancak, bu ilaçların artan kullanımı nedeniyle *Pseudomonas* türlerinde florokinolon direnci daha sık rapor edilmektedir (Martin Barrasa ve diğerleri, 2000). Bazı çalışmalarda direnç oranlarının oldukça yüksek olduğu belirtilmiş; örneğin, bir çalışmada *Pseudomonas* suşlarının %87,5' inin enrofloksasine duyarlı olmadığı bildirilmiştir (Cole ve diğerleri, 1998).

Enrofloksasin veya florokinolon grubu bir antibiyotiği içeren lisanslı veteriner ürünlerinin bulunmadığı ya da mevcut ürünlerin kulak zarına zarar verme riski taşıdığı durumlarda steril salin veya Tris-EDTA (Tris [hidroksimetil] aminometan- Etilen Diamin Tetra Asetik Asit) ile karıştırılmış enjektabl florokinolonlar lisanssız olarak kullanılabilir. Bu tür uygulamalarda, su ile 1:6 oranında seyreltilmiş %2 enrofloksasin önerilmektedir (Farca ve diğerleri, 1997). Diğer seyreltilmiş formlar arasında, %2 enrofloksasinin 1:3 oranında seyreltilmiş hali veya %1 marbofloksasinin Tris-EDTA ile karıştırılmış formu yer almaktadır (Paterson, 2012).

Polimiksin B ve kolistin sülfat, bakteriyel hücre zarının geçirgenliğini artırarak bakterisidal etkiler gösteren polipeptid antibiyotiklerdir (Morris, 2004). Polimiksinler, çoğu Gram-negatif çubuk şekilli bakteri türüne karşı güçlü bakterisidal aktivite sergilemektedir (Kiss ve diğerleri, 1997; Gales ve diğerleri, 2006; Gales ve diğerleri, 2011). Ancak, Gram-pozitif bakterilere karşı etkileri daha sınırlı görünmektedir (Bugden, 2013). Bununla birlikte, mikonazol ile kombine edildiklerinde etkinliklerinin arttığı da bildirilmiştir (Pietschmann ve diğerleri, 2013).

Polimiksin B, prednizolon ve mikonazol ile kombinasyon halinde veteriner ilaçları arasında yaygın olarak bulunmaktadır. Avustralya' da bu kombinasyonu değerlendiren bir çalışmada, polimiksin B içeren kombinasyonun otit olgularında nüks oranları açısından iki farklı neomisin-glukokortikoid preparatına kıyasla daha üstün olduğu gösterilmiştir (Studdert ve Hughes, 1991). Pietschmann ve diğerleri (2013), *Escherichia coli* ve *Pseudomonas* türleri gibi Gram-negatif enfeksiyonlarda polimiksin B ve mikonazol kombinasyonu arasında belirgin bir sinerjik etki olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca, bu kombinasyonun metisilin dirençli *Staphylococcus* türlerine karşı da etkili olduğu bildirilmiştir (Boyen ve diğerleri, 2012).

Kolistin sülfat, veteriner lisanslı bir ürün olarak mevcut değildir; ancak bazı klinisyenler, kolistin sülfat içeren insan kulak ürünlerinin lisanssız kullanımını önermektedir (Morris, 2004).

Hafif şiddette seyreden AOE olgularının tedavisinde, birçok Avrupa ülkesinde antibakteriyel ve antifungal özelliklere sahip kulak temizleme solüsyonları ile topikal glukokortikoidlerin birlikte kullanımı ilk basamak tedavi olarak değerlendirilmektedir (Paterson, 2024). İzopropil alkol, güçlü antibakteriyel özelliklere sahip yaygın bir bileşen olup birçok kulak temizleme solüsyonunun içeriğinde bulunmaktadır (Larson ve Morton, 1991; Swinney ve diğerleri, 2008). Bazı ürünlerin antibakteriyel etkinliğine katkıda bulunduğu düşünülmektedir (Swinney ve diğerleri, 2008). Paraklorometaksilenol ise geniş spektrumlu bir fenolik germisit olup Gram-pozitif organizmalara karşı etkinlik göstermektedir. Ancak, *Pseudomonas* türlerine karşı *in vitro* koşullarda tutarsız bir aktivite sergilediği belirtilmiştir (Swinney ve diğerleri, 2008; Steen ve Paterson, 2012). Organik asitler (asetik asit, sitrik asit, laktik asit ve salisilik asit) iyi bir antibakteriyel aktivite göstermektedir. Asetik asit geniş bir bakteri yelpazesine karşı etkili olup, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* ve *Proteus mirabilis* gibi bakterilere karşı *in vitro* koşullarda güçlü bir aktivite sergilemiştir (Thorp ve diğerleri, 1998; Van Balen ve diğerleri, 2003). Asetik asidin anti-*Pseudomonas* etkisi, sonraki veteriner çalışmalarıyla da kanıtlanmıştır (Bussieras ve diğerleri, 1998; Cochat-Aubert,

1998; Steen ve Paterson, 2012). Sitrik asit de *Pseudomonas* türlerine karşı etkili olduğu bildirilen bir diğer organik asittir (Strauss ve diğerleri, 2005). Laktik asit Gram-negatif bakterilerin dış hücre zarını bozarak antibakteriyel etki göstermektedir (Alakomi ve diğerleri, 2000). Veteriner kulak temizleyicilerinde tipik olarak %2,5 konsantrasyonunda kullanılan laktik asidin, *Pseudomonas* türlerine ve *Staphylococcus* gibi Gram-pozitif bakterilere karşı *in vitro* koşullarda etkili olduğu gösterilmiştir (Lloyd ve diğerleri, 1998; Lloyd ve Lamport, 2000; Cole ve diğerleri, 2003; Swinney ve diğerleri, 2008).

Hipokloröz asit, Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteriler ile mayalara karşı hızlı etki gösteren geniş spektrumlu bir antimikrobiyaldir (Koch ve diğerleri, 2012; Mueller ve diğerleri, 2023). Bakterisidal etkisi, bakterilerin hücre zarını bozarak işlevlerini yitirmesine neden olmasından kaynaklanmaktadır (Hidalgo ve diğerleri, 2002). Tris-EDTA ise Gram-negatif bakterilerin hücre duvarını bozarak hücreyi daha geçirgen hale getiren ve ülserojen bakteriyel enzimlerin etkilerini engelleyen bir diğer antimikrobiyal üründür (Blue ve diğerleri, 1974; Wooley ve Jones, 1983; Foster ve Deboer, 1998; Koch ve diğerleri, 2012). Klorheksidin (Guardabassi ve diğerleri, 2010), gümüş sülfadiazin (Buckley ve diğerleri, 2013), aminoglikozitler (Sparks ve diğerleri, 1994; Buckley ve diğerleri, 2013), florokinolonlar (Farca ve diğerleri, 1997; Ghibaud ve diğerleri, 2004; Buckley ve diğerleri, 2013) ve kloramfenikol (Farca ve diğerleri, 1991) gibi bileşiklerin etkisini artırdığı gösterilmiştir. Özellikle, bu bileşiklerin uygulanmasından 15-20 dakika önce Tris-EDTA'nın kullanılması güçlü potansiyel artırıcı etkiler sağlamaktadır.

N-asetil sistein, antibakteriyel ve anti-maya etkileri olan bir bileşik olarak tanımlanmaktadır (Chan ve diğerleri, 2019). Borik asit ve asetik asit kombinasyonunun, *Malassezia* kaynaklı otitlerin tedavisinde yararlı olduğu bildirilmiştir (Bassett ve diğerleri, 2004). Marrero ve diğerleri (2017) bir çalışmada, %1,5 hidrojen peroksitin *Malassezia* türlerine karşı etkili bir aktivite gösterdiğini ortaya koymuşlardır.

#### **2.1.4.3. Hazırlayıcı Nedenlerin Yönetimi**

Hazırlayıcı nedenler, otite doğrudan neden olmamakla birlikte hastalığın iyileşmesini hızlandırmak ve tekrarlamasını önlemek için yönetilmesi gereken faktörlerdir. Bu kapsamda uygun olmayan tedavi seçenekleri ile yapısal ve çevresel faktörler en önemli hazırlayıcı nedenler arasında yer almaktadır (Griffin, 2010).

Veteriner kulak temizleme ürünlerinin pek çoğu mükemmel antibakteriyel ve antifungal aktiviteye sahip olsa da etkili temizleme ve kurutma özellikleri genellikle göz ardı edilmektedir. Bu nedenle, Tablo 7’ de özetlenen önemli noktalara dikkat edilerek kulak temizliği özenle yapılmalıdır (Paterson, 2016). Kılı ve daralmış kulak kanalları ile sarkık kulaklara sahip köpeklerde kulakların etkili bir şekilde temizlenmesi gerekmektedir. Bu gibi yapısal sorunları olan hastalarda, inflamasyona neden olan alerji gibi primer nedenlerin varlığında antibakteriyel kulak yıkama solüsyonlarının etkili kullanımı sekonder enfeksiyon riskini azaltmaya yardımcı olabilir. Ayrıca, kulak temizliğinin doğru ve etkili bir şekilde yapılması, mumsu kalıntıların uzaklaştırılmasını sağlayarak lokal uygulanan ilaçların etkinliğini artırmak ve kulak zarı bütünlüğünü doğru bir şekilde değerlendirmek için de oldukça önemlidir (Harvey ve Paterson, 2014).

**Tablo 7.** Hazırlayıcı nedenlerin yönetiminde önemli noktalar (Harvey ve Paterson, 2014).

| <b>Hazırlayıcı neden</b>               | <b>Topikal tedavinin önemli noktaları</b>                                                                                                                                                                                                          |
|----------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Kulak yapısı</b>                    | Uygun serumolitik veya seruminosolvent ürünlerin seçimi ve düzenli kullanımı önerilmektedir.                                                                                                                                                       |
| <b>Kulak kanalının aşırı ıslanması</b> | Topikal kurutucu temizleme ürünlerinin düzenli kullanımı, suya maruz kalmayı yönetmekte etkili olabilir.                                                                                                                                           |
| <b>Obstrüktif kulak hastalıkları</b>   | Düzenli temizlik, akıntıyı gidermek ve sekonder enfeksiyonu kontrol etmek için faydalıdır, ancak bu yöntem uzun vadeli bir çözüm sağlamaz.                                                                                                         |
| <b>Tedavi etkileri</b>                 | Temizleme solüsyonlarının dikkatli seçilmesi önemlidir. Hassas kulaklarda asidik, güçlü serumolitik ve astringent temizleyicilerden kaçınılmalıdır. Düzenli kulak temizliği, kanal içindeki ve dışındaki kılları yoldan daha etkili bir yöntemdir. |

Kıllı kulak kanallarına sahip köpeklerde, kulak kanalında mikrotravmalara yol açarak enfeksiyon riskini artırabilecek kıl koparma işlemi yerine, uygun bir serumolitik veya seruminosolvent temizleyicinin kullanılması önerilmektedir (Harvey ve Paterson, 2014).

Serumolitik kulak temizleyicileri kullanılarak mumsu kalıntıların etkili bir şekilde temizlenmesi, otit tedavisinin ve tedavi sonrası bakım sürecinin önemli bir parçasıdır (Nuttall ve Cole, 2004). Gerçek serumolitik kulak temizleyicileri, döküntüleri lize ederek serumenin

bütünlüğünü bozar, kalıntı ve döküntüleri emülsifiye eder, parçalar ve çözeltide tutar (Robinson ve diğerleri, 1989; Nuttall ve Cole, 2004). Bu amaçla kullanılan güçlü seruminolitik ajanlar arasında dioktil sodyum sülfosüksinat, kalsiyum sülfosüksinat, üre ve karbamid peroksit bulunmaktadır.

Seruminosolvent kulak temizleyicileri, organik yağlar ve çözücülerden oluşan bir grup ajan olup serumenin yumuşamasını ve bütünlüğünün bozulmasını sağlamaktadır. Bu ajanlara örnek olarak bütilat hidroksitoluen, kokamidopropil betain, gliserin, lanolin, propilen glikol ve skualen verilebilir (Nuttall ve Cole, 2004).

Skualen, bu ajanlar arasında en güçlü seruminosolvent olarak kabul edilmekte ve birçok veteriner kulak temizleyicisinde bulunmaktadır. Bazı temizleyicilerde %2 gibi düşük konsantrasyonlarda yer alırken güçlü seruminosolvent temizleyicilerde %22 ila %25 arasında değişen konsantrasyonlarda bulunmaktadır (Koch ve diğerleri, 2012).

Farklı kulak temizleyicilerinin seruminosolvent özelliklerini değerlendirmek amacıyla bir dizi çalışmada sentetik köpek serumenleri tasarlanarak kullanılmıştır (Nielloud ve diğerleri, 2004; Sanchez-Leal ve diğerleri, 2006; Robson ve diğerleri, 2009). Bu çalışmalarda, yalnızca klorheksidin içeren antiseptik kulak temizleme solüsyonlarının serumenin uzaklaştırılmasında zayıf bir performans gösterdiği rapor edilmiştir. Ancak propilen glikol, gliserin ve skualen bazlı ürünlerin etkili performans gösterdiği bildirilmiştir (Nielloud ve diğerleri, 2004; Sanchez-Leal ve diğerleri, 2006; Robson ve diğerleri, 2009). Özellikle, bir çalışmada propilen glikol ve gliserin içeren bir kulak temizleyicinin, deney tüpünde yer alan sentetik serumenin %90' ını uzaklaştırdığına vurgu yapılmıştır (Sanchez-Leal ve diğerleri, 2006).

Kurutucu kulak temizleyicileri (astringentler), kulağın seruminolitik veya seruminosolvent ürünlerle temizlenmesinin ardından, su bazlı tedavilerden sonra ya da banyo ve yüzme gibi durumlarda suyun kulak kanalına girmesini takiben profilaktik olarak kullanılmaktadır (Koch ve diğerleri, 2012). Bu ürünler, kulak kanalının yüzeyini kurutarak maserasyonu önlemektedir (Nuttall ve Cole, 2004). Kurutucu temizleyicilerde genellikle izopropil alkol veya bir asit aktif bileşen olarak kullanılmaktadır. Bu amaçla sıkça tercih edilen bileşenler arasında asetik asit, borik asit, benzoik asit, salisilik asit, alüminyum asetat ve silikon dioksit bulunmaktadır (Nuttall ve Cole, 2004).

#### 2.1.4.4. Sürekliliğini Sağlayan Nedenlerin Yönetimi

Otit tedavisini kolaylaştırmak için süreklilik sağlayan nedenlerin tespit edilmesi ve uygun şekilde yönetilmesi gerekmektedir. Otit olgularında meydana gelen kronik değişimler genellikle yeterince ele alınamamakta ve hastalığın tekrarlamasına yol açmaktadır (Harvey ve Paterson, 2014). Kanal duvarlarında ve/veya serumen dokusunda belirgin hiperplastik değişiklikler görüldüğünde, güçlü glukokortikoid tedavisi gereklidir (Harvey ve Paterson, 2014; Hnilica ve Patterson, 2019). Kronik OE olgularının yaygın bir sonucu olan otitis media (OM) tedavi edilmesi gereken önemli bir süreklilik sağlayan faktördür.

Otitis media olgularında topikal tedavi seçimi ototoksisite riski nedeniyle zorluk yaratabilmektedir. Bu tür durumlarda tedavi için ruhsatlı bir topikal ürün bulunmamaktadır. Bu nedenle, klinisyen mevcut verileri dikkatle değerlendirerek, en güvenli ürünü (bazen sistemik bir ilaç) seçmelidir (Harvey ve Paterson, 2014).

#### 2.2. Otitis Eksterna Tedavisinde Başarısızlığın Nedenleri

Otitis eksterna tedavisinde başarı, yalnızca doğru teşhis ve tedavi yöntemlerinin uygulanmasıyla değil, aynı zamanda tedavi sürecini etkileyen çeşitli faktörlerin kontrol altına alınmasıyla mümkündür. Ancak antimikrobiyal direnç, biyofilm oluşumu ve tedaviye uyum eksikliği gibi nedenler, tedavide başarısızlığın temel etkenleri olarak öne çıkmaktadır (Paterson ve diğerleri, 2021). Bu nedenler, tedavi sürecinin uzamasına, tekrarlayan enfeksiyonlara ve karmaşık klinik tablolara yol açabilir ve hem hasta hem de sahibi için zorluklar yaratabilir.

##### 2.2.1. Antimikrobiyal Direnç

Son yıllarda, dünya çapında metisilin dirençli *Staphylococcus aureus*, vankomisin dirençli enterokoklar, çoklu ilaç dirençli *Pseudomonas aeruginosa* ve diğer ESKAPE patojenleri (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp.) ile ilişkili antimikrobiyal direnç sorunu dikkat çekmektedir. Herhangi bir önlem alınmadığı takdirde, bu

durumun 2050 yılına kadar yılda tahmini 10 milyon insanın ölümüne ve 100 trilyon dolara kadar ulaşabilecek küresel ekonomik kayıplara yol açabileceği bildirilmektedir (O'Neill, 2016).

Günümüzde, mevcut antibiyotiklerin etkinliği klinik ihtiyaçları karşılamakta giderek yetersiz kalmaktadır. Bunun yanı sıra, 1980'lerden bu yana yalnızca sınırlı sayıda yeni antimikrobiyal sınıf (örneğin, lipopeptitler ve oksazolidinonlar) kullanımı onaylanmıştır. Ancak, yeni antimikrobiyallerin ve antimikrobiyal sınıfların araştırma ve geliştirme süreçleri, antimikrobiyal direncin hızla artışıyla başa çıkmakta yetersiz kalmaktadır (Blaskovich, 2019). Antimikrobiyallerin yanlış ve aşırı kullanımı, hem insan hem de veteriner hekimliğinde direnç gelişimi ve dirençli patojenlerin yayılmasına katkıda bulunan önemli bir faktör olarak tanımlanmaktadır (Weese ve diğerleri, 2013).

#### **2.2.1.1. Metisilin ve Çoklu İlaç Dirençli *Staphylococcus pseudintermedius***

Metisilin dirençli *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) ve çoklu ilaç dirençli *Staphylococcus pseudintermedius* (MDRSP) ile ilişkili otit ve diğer dermatolojik hastalık raporları dünya genelinde artmaktadır (Morris ve diğerleri, 2006; Weese ve van Duijkeren, 2010; Saputra ve diğerleri, 2017).

Amerika Birleşik Devletleri'nde, 2001-2005 yılları arasında gerçekleştirilen bir geriye dönük araştırma, köpeklerden izole edilen *S. pseudintermedius* suşlarında oksasiline ve çoklu ilaca direncin arttığını rapor etmiştir. Bu çalışmada, *S. pseudintermedius* izolatlarının %94'ü (31/33) MDRSP olarak sınıflandırılmış; izolatların dört veya daha fazla antimikrobiyal sınıfa karşı dirençli, oksasiline dirençli ve mecA geni pozitif olduğu ortaya konulmuştur (Jones ve diğerleri, 2007).

Avrupa'da deri ve kulak enfeksiyonu olan 11 köpek ve bir kediden izole edilen 12 *S. pseudointermedius* suşunun, metisilin dirençli olduğu ve penisilinler, sefalosporinler, florokinolonlar, makrolidler, tetrasiklinler ve aminoglikozidler gibi en az beş antimikrobiyal sınıfa karşı direnç gösterdiği bildirilmiştir (Loeffler ve diğerleri, 2007).

Brezilya'da yapılan prospektif bir çalışmada, OE'li köpeklerden izole edilen *S. pseudintermedius* suşlarının %85,7'sinin (33/35) MDRSP olduğu bulunmuştur. Ayrıca, bu izolatların amoksisilin-klavulanik aside karşı yüksek direnç (%85,7) gösterdiği, ancak neomisine karşı en düşük direnç oranına (%8,6) sahip olduğu belirlenmiştir (Penna ve diğerleri,

2010). Bir diğer çalışmada, OE olgularından izole edilen *S. pseudintermedius* suşlarının %86' sının (38/44) en az bir antibiyotik dirençli ve %40,9' unun (18/44) oksasilin direnci ile mecA geni pozitif olduğu bildirilmiştir (Scherer ve diğerleri, 2018).

İki yıllık bir Kore çalışmasında, köpeklerin deri veya kulaklarından izole edilen *S. pseudintermedius* suşlarının %78,4' ünün MDRSP olduğu ve  $\beta$ -laktamlar hariç dört veya daha fazla antimikrobiyal sınıfa karşı dirençli olduğu belirtilmiştir. Aynı çalışmada, suşların %17,6' sının mecA pozitif MRSP olduğu rapor edilmiştir (Yoon ve diğerleri, 2010). Bir diğer çalışmada, köpeklerde OE veya piyoderma olgularından izole edilen mecA pozitif MRSP suşlarının %52' sinin (n=25) florokinolonlara (örneğin, enrofloksasin, marbofloksasin, siprofloksasin, levofloksasin, moksifloksasin) yüksek direnç gösterdiği tespit edilmiştir (Yoo ve diğerleri, 2010).

Degi ve diğerleri (2013), OE tedavisi öncesinde köpeklerden izole edilen 24 *S. pseudintermedius* suşunun en az iki antimikrobiyal ilaca dirençli, tamamının polimiksin B' ye dirençli olduğu bildirilmiştir. Bourelly ve diğerleri (2019), köpeklerde OE ile ilişkili 1066 *S. pseudintermedius* izolatının %56' sının bir veya iki antibiyotik sınıfına dirençli olduğunu, %20,7' sinin çoklu ilaç dirençli ve iki izolatın sekiz antimikrobiyal sınıfa (aminoglikozidler, sefalosporinler, florokinolonlar, makrolidler, penisilinler, kloramfenikol, fusidik asit, trimetoprim-sülfametoksazol) tam dirençli olduğunu belirtmişlerdir.

#### **2.2.1.2. Çoklu İlaç Dirençli *Pseudomonas aeruginosa***

Köpeklerde *Pseudomonas aeruginosa* kaynaklı OE olguları, bakterinin doğal ve kazanılmış direnç mekanizmaları nedeniyle genellikle çoklu ilaç dirençli suşlarla ilişkilendirilmektedir (Arais ve diğerleri, 2016; Vingopoulou ve diğerleri, 2018). Son çalışmalar, en az üç farklı antimikrobiyal sınıfa dirençli *P. aeruginosa* suşlarının ortaya çıktığını göstermektedir (Ciocan ve diğerleri, 2015). Bu durum, artan florokinolon direnci ile birlikte rapor edilmiştir (Mekić ve diğerleri, 2011; Penna ve diğerleri, 2011).

Martin Barrasa ve diğerleri (2000), köpeklerde kronik ve tekrarlayan OE ile ilişkili *P. aeruginosa* suşlarında en yüksek florokinolon direncinin enrofloksasine (%57,9), ardından siprofloksasine (%21,1) ve marbofloksasine (%10,1) karşı olduğunu bildirilmişlerdir. Benzer şekilde, Wildermuth ve diğerleri (2007), köpeklerde OE' den izole edilen *P. aeruginosa* izolatlarının enrofloksasin (%53,1), marbofloksasin (%33,3) ve siprofloksasine (%25) dirençli

olduğunu rapor etmişlerdir. Bu izolatların %50' sinin (n=30) en az bir florokinolona, %20' sinin ise tüm florokinolonlara dirençli olduğu gösterilmiştir. Yakın tarihli bir çalışmada, köpeklerde OE' den izole edilen *P. aeruginosa* suşlarının %44'ünün enrofloksasine, %32' sinin marbofloksasine ve %48' inin üçüncü nesil florokinolon olan pradofloksasine dirençli olduğu bildirilmiştir (Vingopoulou ve diğerleri, 2018).

Çoklu ilaca dirençli *P. aeruginosa* suşlarının yalnızca florokinolonlara değil, aynı zamanda insan hekimliği için kritik öneme sahip karbapenemler, monobaktamlar ve geniş spektrumlu antipseudomonal penisilinlere karşı direnç gösterdiği de bildirilmektedir (Arais ve diğerleri, 2016). Başka bir çalışmada, çoklu ilaç dirençli *P. aeruginosa* otik izolatlarının dördüncü nesil sefalosporin olan sefepim ve üçüncü nesil florokinolon olan levofloksasine karşı yüksek direnç gösterdiği ortaya konulmuştur (Ciocan ve diğerleri, 2015; WHO, 2019).

### 2.2.1.3. Biyofilm Kaynaklı Otitis Eksterna

Biyofilmler, köpeklerde OE olgularının kronikleşmesine, tekrarlamasına ve antimikrobiyal direncin artmasına neden olmaktadır (Costerton ve diğerleri, 1999; Clutterbuck ve diğerleri, 2007; Nuttall, 2016). *S. pseudintermedius* ve *P. aeruginosa* gibi kulak patojenlerinin biyofilm oluşturma yetenekleri bilinmekle birlikte bu konuda yapılan çalışmalar sınırlıdır (Nuttall, 2016).

Bir çalışmada, köpeklerde OE olgularından izole edilen *S. intermedius* izolatlarının %39,3' ünün biyofilm ürettiği rapor edilmiştir (Moreira ve diğerleri, 2012). Benzer şekilde, köpeklerin kulaklarından izole edilen *P. aeruginosa* suşlarının %40' ının biyofilm ürettiği; bu izolatların %8,4' ünün zayıf, %18,1' inin orta, %13,3' ünün ise güçlü biyofilm üreticisi olduğu belirlenmiştir (Pye ve diğerleri, 2013). İki farklı çalışmada, sağlıklı ya da dermatolojik hastalıklı köpeklerden izole edilen *S. pseudintermedius* suşlarının biyofilm oluşturma yeteneği, biyofilmle ilişkili genler (*icaA* ve *icaD*) ve metisilin direnci arasındaki ilişki incelenmiştir (Singh ve diğerleri, 2013; Han ve diğerleri, 2015). Her iki çalışma da *S. pseudintermedius* izolatlarının dirençten bağımsız olarak *icaA* ve *icaD* genlerini taşıdığını ve metisiline duyarlı *S. pseudintermedius* ile MRSP suşları arasında biyofilm oluşturma yeteneği açısından fark olmadığını göstermiştir (Singh ve diğerleri, 2013; Han ve diğerleri, 2015). Robinson ve diğerleri (2019), köpeklerde OE' den izole edilen *Pseudomonas* spp. suşlarının biyofilm üretim kapasitesi üç farklı besiyeri ortamında değerlendirmiştir. Çeşitli antibiyotik tedavilerine maruz

kalmış bu izolatların %90' ından fazlasının biyofilm ürettiği belirlenmiştir. Bu durum, *Pseudomonas* spp. türlerinin OE olgularında tedaviye direnç göstermesini ve ilk değerlendirmeden sonra tedaviyi neden bu kadar zorlaştırdığını açıklamaktadır (Paterson ve diğerleri, 2021).

*Malassezia* türleri gibi mayaların biyofilm oluşturma yetenekleri, bakterilerdeki kadar yaygın olarak fark edilmemektedir (Figueredo ve diğerleri, 2013; Brilhante ve diğerleri, 2018). Figueredo ve diğerleri (2013), *Malassezia* türlerinin biyofilm oluşturdudan sonra topikal ajanlara karşı direnç kazandığını göstermiştir. Bu nedenle, *Malassezia* spp. kaynaklı enfeksiyonların biyofilm oluşmadan önce hızlı ve etkili bir şekilde tedavi edilmesi önemlidir. Biyofilm oluştuktan sonra, bu tür enfeksiyonlar topikal antimikotiklere dirençli hale gelmekte ve ciddi klinik zorluklara yol açmaktadır (Paterson ve diğerleri, 2021). Bir çalışmada, *Malassezia* kaynaklı kronik otitis olgularında, biyofilm oluşturan *Malassezia* türlerinin topikal antimikotikler (mikonazol, klotrimazol, nistatin veya terbinafin) ile tedavisinin başarısız olduğu gösterilmiştir (Steen ve Paterson, 2020).

### 2.2.2. Tedaviye Uyum

Otitis eksterna tedavisinde başarısızlıkların önemli bir nedeni de mikroorganizmaların antimikrobiyal dirençliliği, çoklu ilaca dirençliliği ve biyofilm üretimi gibi patolojik faktörlerin yanı sıra tedaviye uyumun sağlanamamasıdır. Köpeklerde tedavinin uygulanabilirliği tamamen sahiplerinin eylemlerine bağlıdır. Tedaviye iyi uyum sağlayan bir hasta sahibi, ilaçları doğru aralıklarla ve uygun dozlarda uygulayarak tedavi süresini tamamlar. Ancak, tam uyum sağlayamayan bir hasta sahibi ilacın uygulama aralıklarını kaçırabilir, tedavi süresini erken bitirebilir ve/veya yanlış ilaç dozları uygulayabilir. Özellikle, başlangıçta iyi bir yanıt alınan hastalarda tedavi süresinin tamamlanmaması riski daha yüksektir. Yanlış zamanda ilaç verilmesi, özellikle kortikosteroidlerin uygulanmasında ek bir sorun olarak ortaya çıkmaktadır (Paterson ve diğerleri, 2021).

Dirençli hastalarda kulak temizleme solüsyonlarının ve ilaçların uygulanması her zaman kolay değildir. Bu durum, hasta ve sahibi için uzun süreli strese yol açarak tedavinin başarısız olmasına neden olabilmektedir (Boda ve diğerleri, 2011). Ayrıca, zaman alıcı, yorucu veya zorlayıcı tedavilerin hastaların ve sahiplerinin yaşam kalitesini olumsuz etkileyebileceği bildirilmektedir (Favrot ve diğerleri, 2010; Noli ve diğerleri, 2011a). Jamet ve diğerleri (2016),

OE ile ilişkili stres ve rahatsızlık nedeniyle hem köpeklerin hem de sahiplerinin yaşam kalitesinin önemli ölçüde olumsuz etkilendiğini göstermişlerdir.

Otitis eksternanın mevcut tedavisindeki sınırlamalar nedeniyle, sürdürülebilir tedavi seçeneklerinin geliştirilmesi giderek daha önemli hale gelmektedir. Soğuk atmosferik plazma (SAP) antibiyotik dirençli bakteriyel ile viral ve fungal etkenlerden kaynaklanan hastalıkların tedavisinde etkili olduğu son yıllarda gösterilmiştir (Koban ve diğerleri, 2010; Sun ve diğerleri, 2011; Daeschlein ve diğerleri, 2014; Hüfner ve diğerleri, 2017; Kondeti ve diğerleri, 2018).

Ayrıca *in vitro* çalışmalar, SAP' ın köpeklerde OE' ye neden olan patojenlere karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir (Jin ve diğerleri, 2021; Kim ve diğerleri, 2022). Bu tez çalışmasının yayınlanmış ön sonuçlarında (Ek 1), SAP' ın köpeklerde AOE tedavisinde klinik uygulanabilirliği ve olumlu tedavi etkinliği de ortaya konulmuştur (Bakır ve diğerleri, 2024).

### **2.3. Soğuk Atmosferik Plazma**

Plazma, gazların bir elektrik alanından geçerek iyonize olması sonucunda oluşan ve maddenin dördüncü hali olarak tanımlanan bir yapıdır (Eliezer ve Eliezer, 2001; Fridman ve Kennedy, 2004). İyonize gaz, yüklü parçacıklar, serbest elektronlar, elektriksel olarak uyarılmış atom ve moleküller ile UV fotonlarından oluşmaktadır (Lieberman ve Lichtenberg, 2005). Plazma biliminin temelleri, 1879 yılında Sir William Crookes' un iyonize gazları laboratuvar ortamında üretmesiyle atılmıştır (Eliezer ve Eliezer, 2001). Daha sonra, 1928 yılında Irving Langmuir, plazma terimini kullanarak bu maddenin fiziksel özelliklerini detaylandırmış ve literatüre kazandırmıştır (Langmuir, 1928). Başlangıçta endüstriyel uygulamalarda kullanılan plazma teknolojisi, 20. yüzyılın sonlarına doğru Soğuk atmosferik plazma (SAP) teknolojilerinin geliştirilmesiyle tıbbi uygulamalarda çalışılmaya başlanmıştır (Kazemi ve diğerleri, 2024).

Plazma içerisindeki elektronlar yüksek sıcaklığa sahipken gazın genel sıcaklığının oda sıcaklığına yakın olduğu durumlar SAP olarak adlandırılmaktadır (Friedman, 2020). SAP, düşük sıcaklığı sayesinde termal hasar oluşturmaksızın canlı dokular üzerinde güvenle uygulanabilmektedir (Nicol ve diğerleri, 2020; Kazemi ve diğerleri, 2024).

Klinik olarak kullanılan ve deneysel olarak test edilen SAP cihazları üç ana kategoriye ayrılmaktadır (Tablo 8): Direkt (doğrudan) plazma temelli, indirek (dolaylı) plazma temelli ve hibrit plazma temelli cihazlar (Braný ve diğerkleri, 2020). Direkt plazma, yüksek voltajlı ve topraklanmış iki elektrot arasında oluşmaktadır (Brandenburg, 2017). Bu prensiple çalışan cihazlar arasında tıbbi uygulamalar için en pratik ve uygun olanı Yüzer Elektrot Dielektrik Bariyer Deşarj plazmalarıdır. Bu tür plazmalar, uygulanan biyolojik materyal veya canlı dokuyu topraklanmış elektrot olarak kullanmaktadır (Zhang ve diğerkleri, 2019). DBD plazmalar, daha yüksek yoğunlukta, uyarlanabilir ve kontrollü bir deşarj sağlamaktadır (Brandenburg, 2017; Zhang ve diğerkleri, 2019). Bu cihazlar, taşıyıcı gazlara ihtiyaç duymaksızın yalnızca havayı kullanarak plazma üretebilme özelliğine sahiptir (Hoffmann ve diğerkleri, 2013; Isbary ve diğerkleri, 2013).

İndirek plazma genellikle plazma jetleri, plazma kalemleri veya plazma torçları olarak bilinen cihazlar tarafından üretilmektedir (Braný ve diğerkleri, 2020). Bu cihazlar, karşılıklı iki elektrot arasında plazma deşarjı oluşturur ve taşıyıcı gaz, bu deşarjı yönlendiren bir araç görevi görür. Taşıyıcı gazın varlığı nedeniyle, plazma deşarjı yalnızca gaz akış yönünde ilerler ve iki elektrot arasındaki uygulama alanını doğrudan etkileyemez. Bu tasarım, uygulama alanının cihazın dışında kalmasına olanak tanır ve uygulama alanı kolaylıkla ayarlanabilir. Ancak, bu yöntemde daha düşük miktarda Reaktif Oksijen ve Azot Türleri (ROAT) üretilmekte ve deşarjın kontrol edilmesi, DBD plazmalarına kıyasla daha zor olmaktadır (Isbary ve diğerkleri, 2013; Braný ve diğerkleri, 2020).

Hibrit plazma cihazları, direkt ve indirek plazma prensiplerinin bir kombinasyonu ile çalışmaktadır. Ancak bu cihazlar günümüzde yalnızca deneysel düzeyde uygulanmaktadır (Bernhardt ve diğerkleri, 2019).

**Tablo 8:** Soğuk atmosferik plazma tipleri (Emmert ve diğerleri, 2013; Friedman, 2020)

| Plazma tipi                                | Direk Plazma                                                                                           | İndirek Plazma                                                                            | Hibrit Plazma                                                                 |
|--------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|
| Kaynak                                     | Dielektrik Bariyer Deşarj Plazma                                                                       | Plazma jeti, plazma kalemi, plazma torçu                                                  | Bariyer Koronal Deşarj Plazma                                                 |
| Oluşum prensibi                            | Biyolojik materyal veya canlı doku bir elektrot olarak kullanılır. Üretilen plazma doğrudan etki eder. | Plazma üretimi iki elektrot arasında gerçekleşir; hedef bölgeye taşıyıcı gaz ile taşınır. | Topraklanmış bir ağ elektrot üzerinde mikro-deşarjların birleşimi ile oluşur. |
| Gaz                                        | Hava                                                                                                   | Soygaz veya hava                                                                          | Hava                                                                          |
| Uygulama alanı ile cihaz arasındaki mesafe | mm                                                                                                     | mm, cm                                                                                    | mm                                                                            |
| Reaktif türler                             | Plazma deşarjında üretilir.                                                                            | Plazma deşarjı ve gaz karışımı içerisinde üretilir.                                       | Plazma üretimi önceliklidir.                                                  |
| UV fotonlar                                | Nispeten zayıf                                                                                         | Nispeten güçlü                                                                            | Nispeten zayıf                                                                |
| Gaz sıcaklığı                              | Oda sıcaklığında                                                                                       | Üretildiği an ve yerde sıcaktır.                                                          | Oda sıcaklığında                                                              |
| Maruz bırakılan yüzeydeki plazma yoğunluğu | Yüksek                                                                                                 | Düşük                                                                                     | Nispeten yüksek                                                               |
| Geniş alanlarda kullanımı                  | Zordur.                                                                                                | Nispeten kolaydır.                                                                        | Nispeten zordur.                                                              |
| Düz olmayan yüzeylerde kullanımı           | Zordur.                                                                                                | Nispeten kolaydır.                                                                        | Nispeten zordur.                                                              |

Soğuk Atmosferik Plazma tedavisinin etkinliğinden sorumlu ana bileşenlerin, plazma deşarjında üretilen ROAT olduğu düşünülmektedir (Nicol ve diğerleri, 2020; Dharini ve diğerleri, 2023). SAP kaynağı, hedeflenen bir dokuya uygulandığında plazma deşarjında ROAT ve yüklü parçacıklar üretilir. Bu türler, uygulandıkları dokuyla etkileşime girerek biyokimyasal reaksiyonlara neden olmaktadır. Kısa ömürlü türler arasında singlet oksijen, hidroksit ve nitrik oksit bulunmaktadır. Bu türler dokuyla reaksiyona girerek hidrojen peroksit ve nitrit/nitrat gibi daha kararlı türlere dönüşmektedir. Hem kısa ömürlü hem de daha kararlı türler, tedavi edilen doku ile etkileşime girerek hücresel yanıtları tetiklemekte ve biyokimyasal süreçleri başlatmaktadır (Kondeti ve diğerleri, 2018; Kazemi, 2024). Tedavi sırasında dokulardaki hücreler tarafından üretilen endojen ROAT de plazmanın tedavi etkinliğine katkı sağlayabilmektedir (Chauvin ve diğerleri, 2017).

Reaktif oksijen ve azot türleri, genellikle hücresel hasar ve tedavi etkinliği ile ilişkili olan oksidatif stresin ana etken maddeleri olarak bilinmektedir (Sies ve Jones, 2020). Bununla birlikte, ROAT aynı zamanda normal hücresel işlevlerin ve sinyalleşmenin sürdürülmesi için de önemli roller üstlenmektedir. Hücre çoğalmasını artırarak ya da enfekte veya hasar görmüş hücrelerde hücre ölümünü indükleyerek iyileşme süreçlerine katkıda bulunmaktadır (Sies ve Jones, 2020).

Soğuk atmosferik plazma tedavisinde kullanılan parametreler (örneğin elektrik alanının yoğunluğu, frekans, ortam koşulları, tedavi mesafesi) ile plazma kimyası arasındaki ilişki hakkında kapsamlı bir bilgi mevcut olmamasına rağmen, elektrik alanının yoğunluğunun artırılmasının daha yüksek konsantrasyonda ve enerjili ROAT üretimini teşvik ettiği genel olarak kabul edilen bir anlayıştır (Kazemi ve diğerleri, 2024). Benzer şekilde, elektrik alanının frekansındaki artış iyonizasyon oranını yükseltebilir ancak bu durum güç aktarım verimliliğinde bir azalmaya yol açabilmektedir. Bununla birlikte, elektrik alanı ve plazma tarafından üretilen UV fotonlarının hücre zarlarında elektroporasyon oluşumunu tetiklediği, apoptoz veya nekrozu indüklediği ve deoksiribonükleik asit (DNA) hasarına yol açabileceği de düşünülmektedir (Nicol ve diğerleri, 2020; Kazemi ve diğerleri, 2024).

Ortamdaki hava bileşimi ve nem seviyeleri gibi koşullar da ROAT üretim oranını ve plazma deşarj yoğunluğunu önemli ölçüde etkileyebilmektedir. Plazma kaynağına bağlı olarak, tedavi mesafesinin artması, tedavi edilen yüzeydeki ROAT konsantrasyonunun azalmasına neden olabilmektedir. Giriş parametreleri, deşarj kimyası ve biyolojik hedeflerin tedaviye verdiği yanıt arasındaki korelasyonun tam olarak anlaşılması SAP tedavisinin etkinliğini artırmak ve bu teknolojinin tıbbi uygulamalarda yaygın kullanımını sağlamak için kritik öneme sahiptir (Kazemi ve diğerleri, 2024).

İnsan ve veteriner hekimliğinde plazma tıbbının, dermatoloji, onkoloji, fizyoterapi, ortopedi ve diş hekimliği gibi alanlarda endikasyonları mevcuttur (Braný ve diğerleri, 2020).

Soğuk atmosferik plazma, onkoloji alanında özellikle ROAT' nin üretimini artırarak kanser hücrelerinde ölümcül etkilere neden olmaktadır. Kanser hücreleri, sağlıklı hücrelerden farklı olarak daha yüksek düzeyde ROAT üretirler ve bu türlerin artışı hücre ölümünü tetikleyebilir. Bu süreç, kanser hücrelerinin antioksidan savunma mekanizmalarının bozulması ve hücresel yapılarının zarar görmesiyle sonuçlanır (Aggarwal ve diğerleri, 2019). Yapılan çalışmalar, SAP tedavisinin farklı tümör hücre hatlarında apoptoz, büyüme inhibisyonu ve DNA hasarına yol açtığını göstermektedir (Keidar ve diğerleri, 2018). Fare modellerinde

yapılan deneylerde, SAP' ın küçük tümörleri tamamen ortadan kaldırdığı ve daha büyük tümörlerin boyutlarını önemli ölçüde küçülttüğü gözlemlenmiştir. Ayrıca, SAP tedavisi gören glioblastoma ve meme kanseri hücre hatlarında hayatta kalma oranlarının azaldığı, apoptozun arttığı ve tümör büyümesinin baskılandığı rapor edilmiştir (Köritzer ve diğerleri, 2013). Bu doğrultuda, SAP' ın onkoloji alanında hem doğrudan hücresel düzeyde etkili olabileceğini hem de klinik uygulamalarda potansiyel faydalar sağlayabileceği belirtilmektedir (Kazemi ve diğerleri, 2024).

Ortopedide kullanımı üzerine yapılan araştırmalar, bu teknolojinin kemik ve yumuşak doku iyileşmesini desteklemede potansiyel faydalarını ortaya koymaktadır (Nonnenmacher ve diğerleri, 2023). SAP uygulamaları, özellikle enfeksiyon kontrolü, doku rejenerasyonu ve biyomateryal yüzey modifikasyonlarında umut vadeden sonuçlar göstermektedir (;Hui ve diğerleri, 2020; Benčina ve diğerleri, 2021). Özellikle, SAP' ın antimikrobiyal özellikleri sayesinde ortopedik implantların yüzeylerinde biyofilm oluşumunu engelleyerek enfeksiyon riskini azaltabileceği belirtilmektedir (Zimmerli ve Moser, 2012). SAP' ın hücresel proliferasyon ve farklılaşmayı teşvik ederek kemik iyileşmesini hızlandırabileceği ve implantların osteointegrasyonunu artırabileceği vurgulanmaktadır (Zhang ve diğerleri, 2014). Ayrıca, SAP tedavisinin iskelet sarkomlarında önemli anti-onkojenik etkiler gösterdiği de bildirilmektedir (Nonnenmacher ve diğerleri, 2023).

Fizyoterapide, SAP' ın hücre yenilenmesi, doku onarımını hızlandırması ve anti-inflamatuar özelliklerinden yararlanılmaktadır (Nonnenmacher ve diğerleri, 2023). Özellikle de operatif işlemler sonrası rehabilitasyon sürecinde yara iyileşmesini hızlandırmak, kan dolaşımını uyarmak, kas gerginlikleri ve spazmların giderilmesi için fayda sağladığı belirtilmektedir. Ayrıca desmit, tendinit, hematoma, skar ve yara iyileşme problemleri gibi durumlarda kullanılabilirliği vurgulanmaktadır (Amini ve diğerleri, 2021).

Diş hekimliğinde özellikle enfeksiyon kontrolü ve dezenfeksiyon alanında umut vadeden bir uygulama olarak değerlendirilmektedir (Vandana, 2014). Geleneksel yöntemlerle yapılan mekanik temizlik veya lazer kullanımı, dokuya zarar verme riskini taşıırken, SAP bu riski önemli ölçüde azaltmaktadır (Ranjan ve diğerleri, 2017). SAP uygulaması, dental biyofilmde bulunan *Candida albicans* ve *Staphylococcus aureus* gibi mikroorganizmalar üzerinde belirgin antimikrobiyal etki göstermektedir (Delben ve diğerleri, 2016). Ayrıca, dental kanalların derinliklerinde yer alan bakteriyel enfeksiyonlarda da etkili olduğu, 1 mm derinliğe kadar biyofilm oluşumunu ortadan kaldırdığı gösterilmiştir (Jiang ve diğerleri, 2009). SAP' ın yüzey düzensizliklerinde dahi etkili olması ve bakterilere karşı direnç oluşturma eğiliminde

olmamasının diş hekimliğinde enfeksiyon kontrolünde önemli avantajlar sağladığı vurgulanmaktadır (Yavirach ve diğerleri, 2009).

### **2.3.1. Soğuk Atmosferik Plazma ve Dermatoloji**

Plazma tıbbında en çok araştırılan klinik uygulama alanlarından biri dermatolojik hastalıkların tedavisidir. Derinin hem insanlarda hem de hayvanlarda vücudun en dış kısmında yer alması ve kolay erişilebilir bir organ olması SAP tedavisi için önemli bir avantaj sağlamaktadır (Kazemi ve diğerleri, 2024).

Soğuk atmosferik plazmanın insan ve veteriner hekimliğinde yara tedavisi ve iyileşme sürecini hızlandırma (Klinger, 2021; Guo ve diğerleri, 2022), sterilizasyon (Plattfaut ve diğerleri, 2021), atopik dermatit tedavisi (Kim ve diğerleri, 2021), kırışıklıkların giderilmesi (Kongpanichakul ve diğerleri, 2021), yara izi tedavisi (Wang ve diğerleri, 2020) gibi birçok alanda kullanımına yönelik araştırmalar mevcuttur. Bu çalışmalarda elde edilen sonuçlar umut verici olarak değerlendirilmektedir (Tan ve diğerleri, 2022) ve Tablo 9’ da gösterilmiştir.

**Tablo 9 . İnsan ve veteriner hekimliğinde dermatolojide SAP’ ın kullanıldığı hastalıklar ve ilgili çalışmalar.**

| Hastalıklar             | Kaynaklar                                                                                                                        |
|-------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Akne vulgaris           | Mariachiara ve diğerleri, 2020.                                                                                                  |
| Aktinik keratoz         | Friedman ve diğerleri, 2017; Wirtz ve diğerleri, 2018; Koch ve diğerleri, 2020.                                                  |
| Akut ve kronik yaralar  | Braný ve diğerleri, 2020; Klinger, 2021.                                                                                         |
| Alopesi                 | Babossalam ve diğerleri, 2020.                                                                                                   |
| Atopik dermatit         | Choi ve diğerleri, 2016; Kim ve diğerleri, 2021.                                                                                 |
| Deri tümörleri          | Weishaupt ve Emmert, 2018; Semmler ve diğerleri, 2020.                                                                           |
| Fungal dermatitler      | Rahimi-Verki ve diğerleri, 2016; Wiegand ve diğerleri, 2017                                                                      |
| Hailey-Hailey hastalığı | Gan ve diğerleri, 2017.                                                                                                          |
| İktiyozis               | Bernhardt ve diğerleri, 2019.                                                                                                    |
| Kutanöz leishmaniasis   | Gan ve diğerleri, 2017; Klinger, 2021.                                                                                           |
| Otitis eksterna/media   | Isbary ve diğerleri, 2013; Jin ve diğerleri, 2021; Sun ve diğerleri, 2021; Kim ve diğerleri, 2022; Taghizade ve diğerleri, 2024. |
| Paraziter dermatitler   | Daeschlein ve diğerleri, 2010; Bosch ve diğerleri, 2019.                                                                         |
| Piyoderma               | Klinger ve diğerleri, 2018; Bae ve diğerleri, 2020; Jin ve diğerleri, 2021.                                                      |
| Psoriasis               | Klebes ve diğerleri, 2014; Gan ve diğerleri, 2017; Bernhardt ve diğerleri, 2019.                                                 |

Veteriner hekimlikte SAP uygulamaları henüz yaygın olarak raporlanmamıştır (Friedman, 2020). Bununla birlikte SAP’ ın nispeten sedasyon gerektirmeyen, ağrısız bir prosedür olması nedeniyle klinik uygulamalarda giderek daha fazla kabul gördüğü bildirilmektedir (Daeschlein ve diğerleri, 2012; Klinger, 2021). SAP’ ın yara iyileşmesini hızlandırıcı etkileri ve güçlü antimikrobiyal özellikleri nedeniyle yara tedavisinde kullanımına ilişkin çeşitli raporlar bulunmaktadır (Hasse ve diğerleri, 2016; Schmidt ve diğerleri, 2017; Klinger, 2021). Ayrıca bu tez projesinin yayınlanan ön çalışma sonuçları, SAP’ ın köpeklerde AOE tedavisinde klinik uygulanabilirliğini ve olumlu tedavi etkinliğini göstermektedir (Bakır ve diğerleri, 2024).

SAP uygulamalarının her biri farklı etki mekanizmalarına dayanmaktadır. Soğuk atmosferik plazma cihazları tarafından oluşturulan elektromanyetik alanların, hedef bölgede anjiyogenezi uyarak dermatolojik hastalıkların tedavisinde önemli bir rol oynayabileceği bildirilmektedir (Busco ve diğerleri, 2020). Mekanistik *in vitro* çalışmalar, SAP uygulamasının keratinositler ve fibroblastlar üzerinde hareketliliği ve aynı zamanda hücre çoğalmasını artırdığını göstermiştir (Liu ve diğerleri, 2017; Bernhardt ve diğerleri, 2019; Nicol ve diğerleri, 2020). Özellikle de antibakteriyel etkinliği ile birçok dermatolojik hastalığın tedavisinde önemli bir yere sahip olduğu bildirilmektedir (Jin ve diğerleri, 2021; Kim ve diğerleri, 2022). Hayvanlarda Gram-pozitif ve Gram-negatif patojen bakteriler üzerindeki antibakteriyel etkinliğine ilişkin çalışmalar Tablo 10’ da sunulmuştur.

**Tablo 10.** Soğuk plazmanın hayvanlarda Gram-pozitif ve Gram-negatif patojen bakteriler üzerindeki etkisine ilişkin çalışmalar (Mohseni ve diğerleri, 2023).

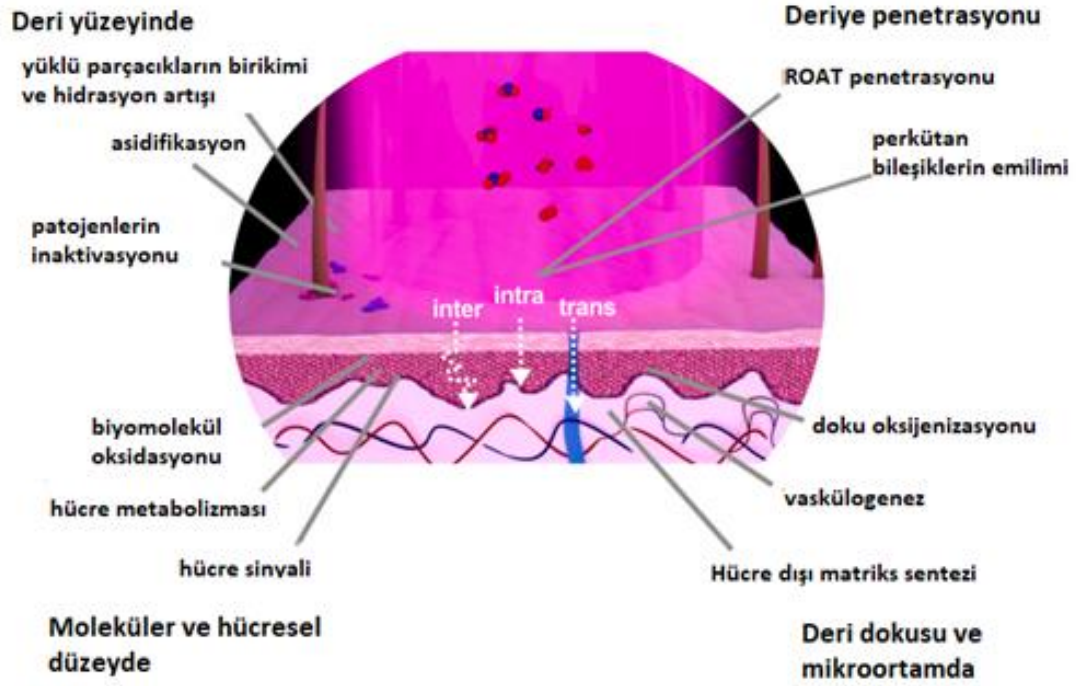
| Bakteri                        | SP tipi | Sonuçlar                                                                                                                                                                                                            | Kaynaklar                          |
|--------------------------------|---------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|
| <i>Staphylococcus aureus</i>   | PAS     | <i>S. aureus</i> , 10 dakikalık tedaviden sonra önemli ölçüde baskılandı ve bunun sonucunda CFU/mL' de 6 log bir azalma meydana geldi.                                                                              | Zhang ve diğerleri, 2013           |
| <i>Escherichia coli</i>        | YVASP   | <i>E. coli</i> ve <i>L. monocytogenes</i> suşları, ASP' ye 30 saniye maruz bırakılarak inaktive edildi.                                                                                                             | Lu ve diğerleri, 2014              |
| <i>Listeria monocytogenes</i>  |         |                                                                                                                                                                                                                     |                                    |
| <i>S. aureus</i>               | DBD     | <i>S. aureus</i> hücrelerinde, 25 dakika tedavi sonrası CFU/mL' de 6,5 log azalma deneyimlendi.                                                                                                                     | Laurita ve diğerleri, 2015         |
| <i>S. aureus</i>               | DBP     | <i>B. subtilis</i> , helyum plazma tedavisinin 2 dakikası içinde bir azalma gösterirken, <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> ve <i>P. fluorescens</i> ise tedavinin 5 ve 10 dakikalarından sonra azalmalar sergiledi. | Ulbin-Figlewicz ve diğerleri, 2015 |
| <i>E. coli</i>                 |         |                                                                                                                                                                                                                     |                                    |
| <i>Pseudomonas fluorescens</i> |         |                                                                                                                                                                                                                     |                                    |
| <i>Bacillus subtilis</i>       |         |                                                                                                                                                                                                                     |                                    |
| <i>E. coli</i>                 | YVASP   | <i>E. coli</i> , hücre sızıntısı ve düşük seviyeli DNA hasarı yoluyla inaktive edilirken, <i>S. aureus</i> hücre içi hasar ile inaktive edilmektedir.                                                               | Han ve diğerleri, 2016             |
| <i>S. aureus</i>               |         |                                                                                                                                                                                                                     |                                    |
| <i>S. aureus</i>               | SAP     | SAP, antibiyotiklere duyarlılıkta genel olarak ihmal edilebilir düzeyde bir etkiye sahipti. Ancak, iki suş için özellikle $\beta$ -laktam antibiyotiklere karşı duyarlılıkta önemli bir azalma vardı.               | Lührmann ve diğerleri, 2016        |

**Tablo 10.** Soğuk plazmanın hayvanlarda Gram-pozitif ve Gram-negatif patojen bakteriler üzerindeki etkisine ilişkin çalışmalar (Mohseni ve diğerleri, 2023) (devam).

|                               |       |                                                                                                                                                                                                               |                                |
|-------------------------------|-------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|
| <i>Salmonella enteritidis</i> | YVASP | Yumurta yüzeylerinin 15 dakikalık tedavisi sonrasında 5,53 log CFU/yumurta azalması.                                                                                                                          | Wan ve diğerleri, 2017         |
| <i>L. monocytogenes</i>       | SAP   | Hem vahşi tip hem de nakavt mutantlar, SAP' s 1 dakikalık maruz kalma sonrasında benzer etkiler gösterdi.                                                                                                     | Patange ve diğerleri, 2019     |
| <i>Enterococcus faecalis</i>  | SAP   | SAP, agar plakasındaki koloni oluşturan birim (CFU) sayısını >7 log10 düzeyinde azalttı.                                                                                                                      | Theinkom ve diğerleri, 2019    |
| <i>E. faecalis</i>            | SP    | SAP' a 2 dakikalık <i>in vitro</i> maruziyet bakterilerin tamamen eliminasyonuna eden oldu.                                                                                                                   | Dijksteel ve diğerleri, 2020   |
| <i>S. aureus</i>              | DSP   | <i>S. aureus</i> ' un 30 saniyede azalan üremesi ve <i>E. coli</i> ' nin DSP' ye 60 saniye maruz kalmasıyla azalan üremesi.                                                                                   | Nicol ve diğerleri, 2020       |
| <i>E. coli</i>                |       |                                                                                                                                                                                                               |                                |
| <i>Enterobacter aerogenes</i> | SP    | 3,5 kHz' de $4,3 \pm 0,5$ log CFU/yüzey, 2 kHz' de $5,1 \pm 0,09$ log CFU/yüzey ve 1 kHz' de $5,1 \pm 0,05$ log CFU/yüzey azalması sırasıyla 2, 3 ve 6 dakika içinde elde edildi.                             | Arserim ve diğerleri, 2021     |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | SAMP  | Gram-negatif bakteriler ( <i>P. aeruginosa</i> ve <i>E. coli</i> ) 60 saniyelik maruziyet içinde tamamen öldü. Gram-pozitif bakterilerden ( <i>S. aureus</i> ve <i>S. pseudintermedius</i> ) daha duyarlıydı. | Jin ve diğerleri, 2021         |
| <i>E. coli</i>                |       |                                                                                                                                                                                                               |                                |
| <i>S. aureus</i>              |       |                                                                                                                                                                                                               |                                |
| <i>S. pseudintermedius</i>    |       |                                                                                                                                                                                                               |                                |
| <i>P. aeruginosa</i>          | SAMP  | <i>P. aeruginosa</i> , 50 W' ta 120 saniyede tamamen yok edildi.                                                                                                                                              | Kim ve diğerleri, 2022         |
| <i>S. aureus</i>              | SP    | $1,5 \times 10^3$ CFU/mL koloni sayısına sahip <i>S. aureus</i> içeren plaka, 10 dakika boyunca uygulanan işlemlle tamamen dekontamine edildi.                                                                | Mazandarani ve diğerleri, 2022 |

ASP, atmosferik soğuk plazma; DBD, dielektrik bariyer deşarj; DBP, düşük basınçlı plazma; DSP, düşük sıcaklıklı plazma; PAS, plazma ile aktive edilmiş su; SAMP, soğuk atmosferik mikrodalga plazma; SAP, soğuk atmosferik plazma; SP, soğuk plazma; YVASP, yüksek voltaj atmosferik soğuk plazma.

Soğuk atmosferik plazma uygulamalarında, tedavi etkinliğinin büyük ölçüde ROAT ile ilişkili olduğu bilinmektedir. ROAT, dermatolojik hastalıklarda farklı düzeylerde etkiler göstermektedir (Şekil 1).



**Şekil 1.** Soğuk atmosferik plazmanın deriye etki düzeyleri (Busco ve diğerleri, 2020)

Yüzeysel düzeyde, *stratum corneum* hidrasyonu, asitleşmesi ve dekontaminasyonu sağlanmaktadır. ROAT, deri içerisine intersellüler, intrasellüler veya transappendageal yollarla nüfuz ederek deri bariyerini gevşetmekte ve ilaçlar gibi moleküllerin emilimini desteklemektedir. Moleküler düzeyde ROAT, biyomoleküllerin oksidasyonu üzerinde doğrudan bir etki gösterirken hücre metabolizmasını ve sinyal yollarını da aktive edebilmektedir. Doku düzeyinde, deri oksijenasyonunda artış, vaskülogenez ve hücre dışı matriksin yeniden şekillenmesi gibi olumlu etkileri rapor edilmiştir (Busco ve diğerleri, 2020). SAP, derideki çok yönlü bu etki düzeyleri ile deride birtakım değişiklikler meydana getirerek hem insan hem de veteriner hekimlikte dermatolojik hastalıkların tedavisinde geniş bir kullanım potansiyeli sunmaktadır (Friedman, 2020). SAP' ın hayvanlarda deride oluşturduğu etkileri inceleyen çalışmalar ve sonuçları Tablo 11' de sunulmuştur.

**Tablo 11.** SAP’ ın hayvanlarda derideki etkilerine ilişkin çalışmalar (Mohseni ve diğerleri, 2023).

| Hastalık/ Patojen                                                                       | Hayvan | SP tipi | Sonuçlar                                                                                                                                                                                                                                      | Kaynak                             |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|--------|---------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|
| Kutanöz yara                                                                            | Fare   | SAP     | SAP tedavisi, IL-6, IL-8, MCP-1, TGF-β1, TGF-β2, kolajen tip I ve alfa-SMA dahil olmak üzere yara iyileşme sürecinde yer alan anahtar genlerin ekspresyonunu indükler.                                                                        | Arndt ve diğerleri, 2013           |
| Kutanöz yara                                                                            | Fare   | ABPJ    | Su damlatılmış plazma tedavisi, tek başına yapılan plazma tedavisinden daha önemli bir etkiye sahipti.                                                                                                                                        | Nasruddin ve diğerleri, 2015       |
| Kutanöz yara                                                                            | Murin  | ABPJ    | Üç ve dokuzuncu günler arasında yaranın yeniden epitelizasyonunun önemli ölçüde hızlandığı gösterildi.                                                                                                                                        | Schmidt ve diğerleri, 2017         |
| Kutanöz yara                                                                            | Sıçan  | SP      | Kan pıhtılaşmasını ve yaraların iyileşme sürecini hızlandırır.                                                                                                                                                                                | Ale-Ebrahim ve diğerleri, 2018     |
| Kutanöz yara                                                                            | Sıçan  | SAP     | SAP grubunda yara alanının boyutunda azalma ve düz kas aktin protein seviyesinde önemli bir artış görüldü.                                                                                                                                    | Zhang ve diğerleri, 2019           |
| Bütünlüğü bozulmamış deri                                                               | Murin  | SP      | Stratum korneumdaki hücrelerin ayrışması ve doku oksijenasyonu artar.                                                                                                                                                                         | Schmidt ve diğerleri, 2020         |
| <i>Escherichia coli</i><br><i>Staphylococcus aureus</i><br><i>Pasteurella multocida</i> | Köpek  | SAMP    | SAMP tedavisi, <i>in vitro</i> koşullarda tüm bakteri türleri için tatmin edici düzeyde dekontaminasyon oranlarına (%98,9- %99,9) ulaştı. Dekontaminasyon oranı, öncelikle ilk bakteri konsantrasyonu ve tedavi süresi tarafından belirlendi. | Winter ve diğerleri, 2020          |
| <i>Staphylococcus aureus</i>                                                            | Tavşan | ABPJ    | Sitokin salgılanmasının düzenlenmesi, inflamasyonun sınırlandırılması, yara iyileşmesinin hızlandırılması ve bakteri inaktivasyonu                                                                                                            | Li ve diğerleri, 2021              |
| Bütünlüğü bozulmamış deri                                                               | Köpek  | SAMP    | İyi tolere edilmiştir ve derinin biyofiziksel parametrelerinde önemli değişikliğe neden olmamıştır.                                                                                                                                           | Lee ve diğerleri, 2022             |
| Keratinositler                                                                          | Köpek  | SAMP    | Gen ekspresyonu: hücre döngüsü, proliferasyon, anjiyogenez, adezyon, yara iyileşmesi.                                                                                                                                                         | Lertpatipanpong ve diğerleri, 2023 |

ABPJ, atmosferik basınç plazma jeti; IL, interlökin; MCP, monosit kemotaktik proteini; SAMP, soğuk atmosferik mikrodalga plazma; SAP, soğuk atmosferik plazma; SMA, düz kas aktini; SP, soğuk plazma; TGF, dönüştürücü büyüme faktörü.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 27/10/2021 tarihli 64583101/2021/145 karar numarası ile onaylanmıştır (Ek 2).

#### 3.1. Gereç

##### 3.1.1. Hayvan Materyali

Çalışmaya dahil edilen olgular, Ocak 2022 - Temmuz 2024 tarihleri arasında Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi' ne bilateral AOE ile ilişkili şikayetlerle getirilen köpekler arasından seçildi. Bu şikayetler arasında kafa sürtme, kulak kaşıma, baş sallama, kötü kokulu otik akıntı, kulak çevresinde şişlik ve kızarıklık gibi belirtiler yer almaktadır. Her hastada öncelikle klinik muayene, ardından video-otoskopik muayene ve otik eksudatın sitolojik ve mikrobiyolojik değerlendirilmesi gerçekleştirildi. Bu değerlendirmeler sonucunda bilateral AOE tanısı konulan ve aşağıdaki kriterleri karşılayan köpekler çalışmaya dahil edildi:

- (1) Dış kulak kanalında inflamasyon, akıntı, kaşıntı veya ağrı belirtilerinin bulunması,
- (2) Kulak zarının bütünlüğünün bozulmamış olması,
- (3) Sistemik hastalık belirtileri göstermemesi,
- (4) Sitolojik incelemede patolojik bakteri ve maya sayısının yüksek güçlü (x100) objektifte saha başına >4 maya ve/veya >24 bakteri olması (Ginel ve diğerleri, 2002; Angus, 2004),
- (5) Nuttall ve Bensignor (2014) tarafından rapor edilen ve eritem, ödem/şişlik, eksudat varlığı ile erozyon/ülserasyon bulgularını 0 ile 3 arasında puanlayan Otitis İndeks Skor-3' e (OTIS-3) göre toplamda 5 ve üzeri puana sahip olma.

Yukarıdaki kriterleri sağlamasına rağmen, kulakta ektoparaziter enfestasyon, yabancı cisim veya neoplazi belirlenen köpekler çalışma dışı bırakıldı. Ayrıca, antibiyotik, antifungal, antihistaminik veya nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlarla topikal (10 gün içinde) ve/veya

sistemik tedavi (14 gün içinde) uygulanmış olan köpekler ile steroid (14 gün içinde) veya uzun etkili steroid (60 gün içinde) ilaç kullanmış olan köpekler çalışmaya dahil edilmedi.

Tüm değerlendirmeler sonucunda araştırma kriterlerini karşılayan farklı ırk, yaş ve cinsiyette toplam 22 adet köpek (44 adet kulak) çalışma grubunu oluşturdu. Araştırmaya dahil edilen köpeklerin sahiplerine çalışmanın konusu ve kapsamı hakkında bilgilendirme yapıldı ve onayları alınarak aydınlatılmış onam formu imzalatıldı (Ek 3).

### **3.1.2. Ekipman**

Çalışma kapsamında Firefly marka kablosuz veteriner video-otoskop cihazı, Olympus CX21 model binoküler mikroskop, Olympus EP50 model mikroskop kamera sistemi, Nüve EN500 model etüv ve PetCellpen® isimli Soğuk atmosferik plazma (SAP) cihazı kullanıldı.

#### **3.1.2.1. Soğuk Atmosferik Plazma Cihazı ve Teknik Özellikleri**

Araştırmada, küçük hayvan hekimliğinde kullanım için özel olarak geliştirilen İsviçre menşeli PetCellpen® (ActivCell Group; Lenzburg, Switzerland) isimli Dielektrik Bariyer Deşarj (DBD) tip SAP cihazı kullanıldı (Resim 1). Cihazın, tıbbi plazma kaynaklarına uygunluğu Leibniz Plazma Araştırma ve Teknolojisi Enstitüsü (Leibniz-Institut für Plasmaforschung und Technologie e.V.) tarafından DIN SPEC 91315 standardı, *Tıbbi Plazma Kaynakları için Genel Şartlar* kapsamında test edilmiş ve onaylanmıştır.

Cihazda plazma, direk DBD deşarjı ile üretilmektedir. Kablosuz ve kalem benzeri kompakt bir tasarıma sahip olması kullanımını oldukça kolaylaştırmaktadır. Güç kaynağı olarak cihazın arka kısmında yer alan değiştirilebilir bir batarya bulunmaktadır. Cihazın döner impuls/saniye ayarı sayesinde tedavi kılavuzundaki önerilere ve uygulama endikasyonuna göre darbe frekansı 10 ile 100 Hertz arasında ayarlanabilmektedir (Resim 1b). Cihazın maksimum çıkış gücü 25 kVolt' tur. Döner amplitüd ile hem cihazın açılıp kapanması hem de cihazın çıkış gücü belirlenerek tedavinin yoğunluğu ayarlanabilmektedir (Resim 1c).

Cihaza uyumlu dört farklı cam elektrot bulunmaktadır. Araştırmada kullanılan elektrot, kulak içi uygulamalar için özel olarak tasarlanmıştır (Resim 1a). Bu elektrot, köpeğin dış kulak

kanalına hafifçe yerleştirilerek uygulama yapılmaktadır (Resim 2). Elektrot ile deri arasında duyulabilir bir plazma oluşmaktadır. Uygulama sırasında kılların kesilmesine veya bir kontakt ajan kullanılmasına gerek yoktur.



**Resim 1.** Soğuk atmosferik plazma cihazı (PetCellpen®); (a) Cam elektrot, (b) Darbe frekansı, (c) Amplitüd.



**Resim 2.** Soğuk atmosferik plazma cihazı (PetCellpen®)' nın farklı ırk köpeklerde kulak uygulamaları: (a) Cocker spaniel, (b, c) Poodle, (d) Staffordshire bull terrier, (e, f) Golden retriever.

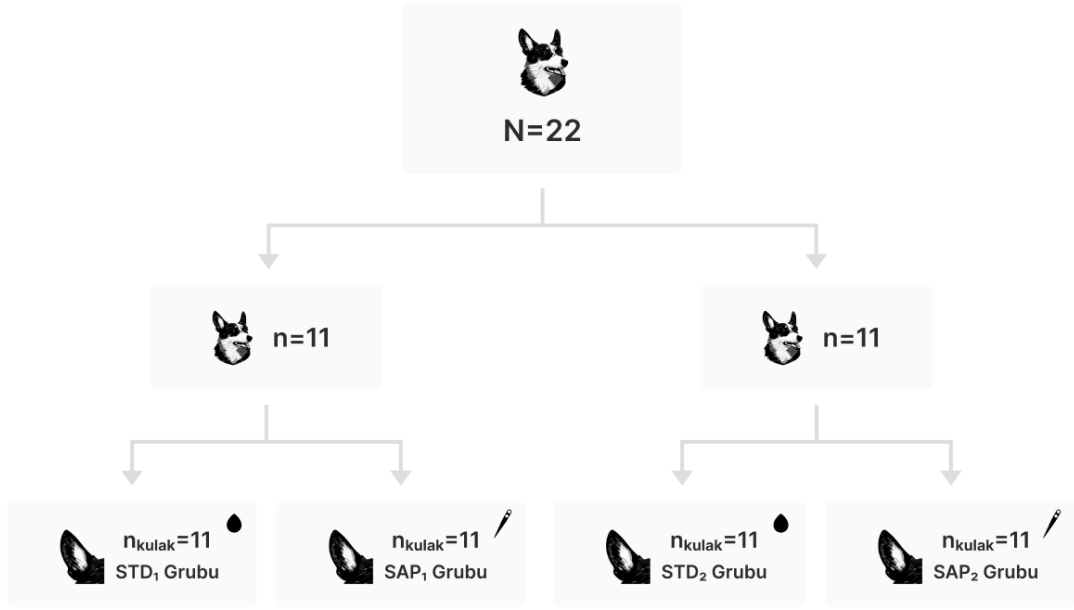
## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Klinik Çalışma Dizaynı

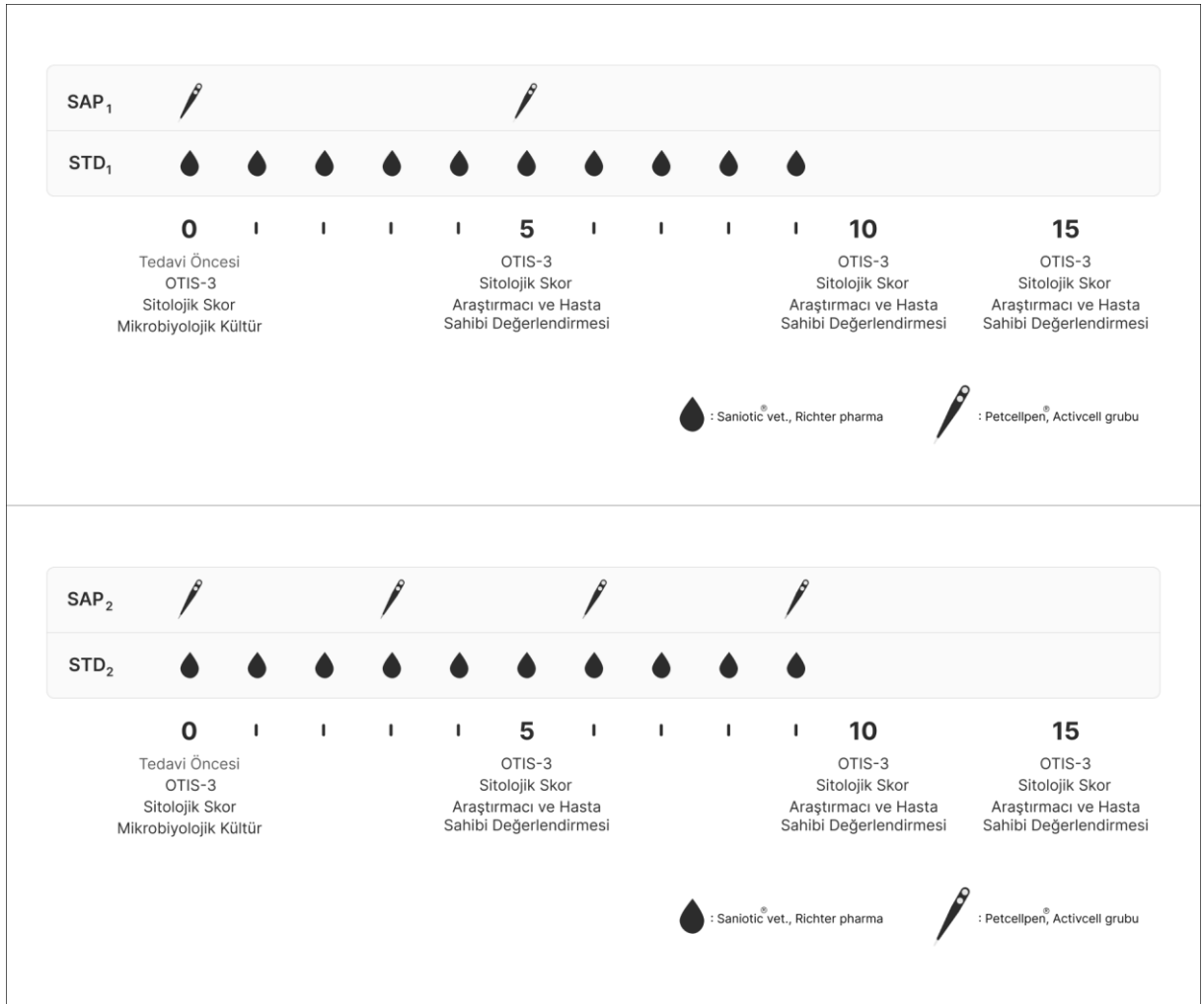
Bu randomize kontrollü klinik çalışmada bilateral AOE teşhisi konulan 22 adet köpek çalışmaya dahil edildi. Köpekler basit randomizasyon yöntemi ile eşit sayıda olacak şekilde iki gruba (11 adet köpek) ayrıldı. İki grupta da köpeklerin sağ ve sol kulakları arasında SAP ve Standart Tedavi Grupları (STD) olmak üzere eşit dağılım sağlandı. Gruplar içerisinde köpeklerin sağ ve sol kulaklarının SAP gruplarına ve STD' ye dağılımı için çaprazlama randomizasyon yöntemi kullanıldı. Bu doğrultuda:

- **Birinci Grup (STD<sub>1</sub> ve SAP<sub>1</sub>):** 11 köpeğin bir kulağı 0. ve 5. günlerde kulak losyonu (DOUXO® S3 CARE Auricular Lotion; Ceva, UK) ile temizlenerek ardından kulağa toplamda iki kez SAP (PetCellpen®, ActivCell Group; Lenzburg, Switzerland) uygulanırken (SAP<sub>1</sub>) diğer kulağı aynı günlerde kulak losyonu (DOUXO® S3 CARE Auricular Lotion; Ceva, UK) ile temizlenerek ardından kulağa günde iki kez 10 gün boyunca antibiyotik/antifungal/kortikosteroid kombinasyonu (Saniotic®, Richterpharma; Ankara, Türkiye) içeren standart tedavi uygulandı (STD<sub>1</sub>)
- **İkinci Grup (STD<sub>2</sub> ve SAP<sub>2</sub>):** Diğer 11 köpeğin bir kulağı 0., 3., 6. ve 9. günlerde kulak losyonu (DOUXO® S3 CARE Auricular Lotion; Ceva, UK) ile temizlenerek ardından kulağa toplamda dört kez SAP (PetCellpen®, ActivCell Group; Lenzburg, Switzerland) uygulanırken (SAP<sub>2</sub>), diğer kulağı aynı günlerde kulak losyonu (DOUXO® S3 CARE Auricular Lotion; Ceva, UK) ile temizlenerek ardından kulağa günde iki kez 10 gün boyunca antibiyotik/antifungal/kortikosteroid kombinasyonu (Saniotic®, Richterpharma; Ankara, Türkiye) içeren standart tedavi uygulandı (STD<sub>2</sub>).

Bu çalışma dizaynı, SAP uygulamasının iki farklı protokoldeki terapötik etkinliğinin değerlendirilmesi ve her köpeğin kendi kontrolünü sağlaması amacıyla tasarlandı. Çalışma grupları Şekil 2' de; köpeklere 0., 5., 10. ve 15. günlerde yapılan uygulamalar ve değerlendirmeler ise Şekil 3' te detaylı olarak gösterilmiştir.



Şekil 2. Çalışma grupları.



Şekil 3. Klinik çalışma dizaynı.

### 3.2.2. Tedavi Protokolü

Standart gruplardaki kulaklara, her mililitrede 23 mg mikonazol nitrat, 5,500 IU polimiksin B sülfat ve 5 mg prednizolon asetat içeren Saniotic® (Richterpharma; Ankara, Türkiye) isimli solüsyon uygulandı. Saniotic® kulak damlası, etiket ve prospektüs bilgilerine uygun olarak günde iki kez 10 gün boyunca hasta sahipleri tarafından minimum 0,25 ml (yaklaşık 5 damla) olacak şekilde uygulandı.

Kulak temizleme işlemi, hem STD hem de SAP gruplarında tedavi öncesinde fitosfingozin içeren bir kulak losyonu (DOUXO® S3 CARE Auricular Lotion; Ceva, UK) kullanılarak gerçekleştirildi. SAP gruplarında, cihazın kulak içerisine uygulanmasını kolaylaştırmak ve plazmanın daha iyi nüfuz etmesini sağlamak amacıyla her tedavi öncesinde kulakların temizlenmesi gerekmekteydi. Bu işlem, veteriner hekim tarafından gerçekleştirildi. Ayrıca STD ve SAP gruplarındaki kulak temizliği sıklığı arasında farklılık oluşmaması için, STD gruplarındaki kulaklara da SAP tedavisi uygulanan kulakların temizlendiği günlerde aynı prosedür uygulandı. Böylece kulak temizliği kaynaklı sapmaların önüne geçilmesi sağlandı.

Plazma gruplarındaki kulaklara (SAP<sub>1</sub> ve SAP<sub>2</sub>), soğuk atmosferik plazma (PetCellpen®, ActivCell Group; Lenzburg, Switzerland) uygulandı. Tedavi öncesinde kulaklar DOUXO® S3 CARE Auricular Lotion ile temizlendi ve kulak içi uygulama için özel olarak tasarlanmış cam elektrot kullanıldı (Resim 1a). SAP uygulaması sırasında köpeklerin immobilizasyonunu sağlamak amacıyla intramüsküler olarak 0,2 mg/kg butorfanol (Butomidor; Interhas) ve 10 µg/kg medetomidin (Domitor; Zoetis) uygulanarak sedasyon sağlandı (Ko ve diğerleri, 1996; Ko ve diğerleri, 2000). Köpekler sağ lateral yatış pozisyonuna getirilerek, üretici firmanın etkinlik araştırmaları sonucunda belirlediği SAP darbe frekansı (100 Hertz) ve amplitüd (6 Volt) ayarlandı. Elektrot 2 dakika boyunca kulağa sabit olarak uygulandı (Resim 2). Cihazın güç ayarları ve maruz kalma süresi, DIN SPEC 91315 standardına (Tıbbi Plazma Kaynakları için Genel Gereklilikler) uygun olarak belirlendi. SAP uygulamasının ardından sedatif etkilerin tersine çevrilmesi için köpeklere 5000 mcg/m<sup>2</sup> atipamezol hidroklorür (Antisedan; Zoetis) intramüsküler olarak uygulandı.

Plazma grupları, SAP tedavisinin sıklığına göre SAP<sub>1</sub> ve SAP<sub>2</sub> olmak üzere iki alt gruba ayrıldı. SAP<sub>1</sub>' de 0. ve 5. günlerde olmak üzere beş günde bir kez toplam iki kere, SAP<sub>2</sub>' de ise 0., 3., 6. ve 9. günlerde olmak üzere üç günde bir kez toplam dört kez SAP uygulaması gerçekleştirildi.

### 3.2.3. Muayene ve Değerlendirme Protokolü

Araştırma kapsamındaki köpeklerin tedavi öncesi sistemik klinik muayeneleri, Hasta Kayıt ve Muayene Formunda (Ek 4) belirtilen kriterler doğrultusunda gerçekleştirildi. Video-otoskopik ve sitolojik muayeneler 5., 10. ve 15. günlerde tekrarlandı ve aynı günlerde araştırmacı ve hasta sahiplerinin genel değerlendirmeleri de kaydedildi. Hastaların video-otoskopik ve sitolojik muayeneleri, araştırmacı ve hasta sahiplerinin tedaviye yanıtı değerlendirmeleri ile mikrobiyolojik muayene sonuçları, Hasta Kayıt ve Muayene Formu (Ek 4) aracılığıyla kayıt altına alındı.

Klinik muayene sırasında, kafa sürme, baş sallama, kulaklarda kaşıntı, akıntı ve koku varlığı ile kulak kepçesinde alopesi ve eritem olup olmadığı kaydedildi. Sitolojik ve mikrobiyolojik muayene için örnek alımı ve video-otoskopik muayene sırasında oluşabilecek ağrı nedeniyle hastalara sedasyon uygulandı. Öncelikle SAP uygulanacak kulaktan sitolojik ve mikrobiyolojik muayene için steril pamuklu sıvap ile örnek alındı. Alınan örneklerden sürme preparatlar hazırlanarak Giemsa boyası ile boyandı. Sitolojik skorlamanın yapılabilmesi için, mikroskop kamerası kullanılarak her preparattan rastgele seçilen 10 sahanın görüntüleri alındı. Sitolojik skorlama dört kriter temel alınarak değerlendirildi: kokoid bakteriler, çubuk şekilli bakteriler, mayalar ve nötrofiller (Kelley ve diğerleri, 201; Tambella ve diğerleri, 2020).

Kokoid ve çubuk şekilli bakteriler ile mayalar, çözünürlüğü yüksek/yüksek güçlü objektifte (100x objektif, 1000x büyütme) 10 mikroskobik sahadaki ortalama sayımlar üzerinden değerlendirildi. 0-5 adet mikroorganizma skor 0, 6-10 adet mikroorganizma skor 1, 11-15 adet mikroorganizma skor 2, 16-20 adet mikroorganizma skor 3, >21 adet mikroorganizma ise skor 4 olarak kaydedildi (Kelley ve diğerleri, 2010). Nötrofiller 400x büyütmede yine 10 mikroskobik sahadaki ortalama sayımlara göre değerlendirildi. Nötrofillerin görülmediği durumlarda skor 0, <10 için 1, 11-20 için 2 ve >20 için 3 puan olarak kaydedildi (Tambella ve diğerleri, 2020). Her kriter için verilen puanların toplamı, 0 ila 15 arasında değişen toplam sitolojik skor olarak değerlendirildi (Tablo 12).

**Tablo 12.** Sitolojik skarlama (Kelley ve diğlereri, 2010; Tambella ve diğlereri, 2020)

| SOL KULAK |           |           |           |                       |                |
|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------------------|----------------|
| Günler    | Kok*      | Basil*    | Maya*     | Nötrofil <sup>#</sup> | Sitolojik skor |
| 0         | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3               |                |
| 5         | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3               |                |
| 10        | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3               |                |
| 15        | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3               |                |
| SAĞ KULAK |           |           |           |                       |                |
| Günler    | Kok*      | Basil*    | Maya*     | Nötrofil <sup>#</sup> | Sitolojik skor |
| 0         | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3               |                |
| 5         | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3               |                |
| 10        | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3               |                |
| 15        | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3               |                |

\*Skor 0: 0-5 adet mikroorganizma; skor 1: 6-10 adet mikroorganizma; skor 2: 11-15 adet mikroorganizma, skor 3: 16-20 adet mikroorganizma, skor 4: >21 adet mikroorganizma. <sup>#</sup>Skor 0: nötrofil yok; skor 1: <10; skor 2: 11-20; skor 3: >20.

Mikrobiyolojik muayene için AOE' li 11 adet köpekten alınan 22 adet kulak svap örneğı steril koşullarda işleme alındı. Örneklerin bakteriyel ve fungal patojenler açısından değlendirilmesi için çeşitli besiyerlerine ekim yapıldı. Sitolojik değlendirmede yalnızca bakterilerin gözlemlendiğı örnekler, bakteriyel etkenlerin izolasyonu ve identifikasyonu için Kanlı Agar (Himedia M073), MacConkey Agar (Himedia MH081), Tryptic Soy Agar (Himedia GMH290) ve Edward' s Medium (Himedia M748) besiyerlerine ekildi. Ekim işlemleri sonrası petri kapları, aerobik ortamda 37°C' de 24-72 saat inkübe edildi. Mantar ve maya izolasyonu için Sabouraud Dekstroz Agar (Himedia GMH063) kullanıldı. Bu besiyerinde yapılan paralel ekimler, 25- 30°C' de 3-10 gün süreyle inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda üreyen kolonilerin makroskopik özellikleri (renk, şekil, yüzey yapısı), hemolitik reaksiyonlar ve besiyeri türüne bağı büyüme özellikleri kaydedildi. Kolonilerin morfolojik özelliklerinin incelenmesini takiben, Gram boyama uygulanarak mikroskopik inceleme yapıldı. İzole edilen mikroorganizmalar, saf kültürler üzerinden klasik yöntemlerle identifiye edildi (Holt ve diğlereri, 1994). Mantar ve mayalarda ise kolonilerin makroskopik görünümü, üreme özellikleri

ve mikroskopik yapıları değerlendirildi. Miselyum oluşumu ve diğer yapısal özellikler detaylı bir şekilde analiz edildi. Bütün bu işlemler, kontaminasyon riskini önlemek için standartlara uygun ve steril koşullarda gerçekleştirildi.

Video-otoskopik muayene sırasında kulak kanalındaki bulgular ve lezyonlar derecelendirilerek OTIS-3 ile kayıt altına alındı (Tablo 13). OTIS-3, kulak kanalında eritem, ödem/şişlik, erozyon/ülserasyon ve eksudat varlığını her bir kriter için 0 ile 3 arasında puanlayarak toplam bir skor elde etmeyi amaçlayan bir değerlendirme yöntemidir (Nuttall ve Bensignor, 2014).

**Tablo 13.** OTIS-3 (Nuttall ve Bensignor, 2014)

| <b>SOL KULAK</b> |               |             |                |                |               |
|------------------|---------------|-------------|----------------|----------------|---------------|
| <b>Günler</b>    | <b>Eritem</b> | <b>Ödem</b> | <b>Erozyon</b> | <b>Eksudat</b> | <b>OTIS-3</b> |
| <b>0</b>         | 0 1 2 3       | 0 1 2 3     | 0 1 2 3        | 0 1 2 3        |               |
| <b>5</b>         | 0 1 2 3       | 0 1 2 3     | 0 1 2 3        | 0 1 2 3        |               |
| <b>10</b>        | 0 1 2 3       | 0 1 2 3     | 0 1 2 3        | 0 1 2 3        |               |
| <b>15</b>        | 0 1 2 3       | 0 1 2 3     | 0 1 2 3        | 0 1 2 3        |               |
| <b>SAĞ KULAK</b> |               |             |                |                |               |
| <b>Günler</b>    | <b>Eritem</b> | <b>Ödem</b> | <b>Erozyon</b> | <b>Eksudat</b> | <b>OTIS-3</b> |
| <b>0</b>         | 0 1 2 3       | 0 1 2 3     | 0 1 2 3        | 0 1 2 3        |               |
| <b>5</b>         | 0 1 2 3       | 0 1 2 3     | 0 1 2 3        | 0 1 2 3        |               |
| <b>10</b>        | 0 1 2 3       | 0 1 2 3     | 0 1 2 3        | 0 1 2 3        |               |
| <b>15</b>        | 0 1 2 3       | 0 1 2 3     | 0 1 2 3        | 0 1 2 3        |               |

0: Yok; 1: Hafif; 2: Orta; 3: Şiddetli.

Araştırmacı ve hasta sahibi tarafından tedaviye verilen yanıt, King ve diğerleri (2018) tarafından geliştirilen skalaya göre 5., 10. ve 15. günlerde değerlendirildi (Tablo 14).

**Tablo 14.** Araştırmacı ve hasta sahibinin tedaviye verilen yanıtı değerlendirme ölçekleri (King ve diğerleri, 2018)

|                | <b>Araştırmacı</b>                                                                        | <b>Hasta Sahibi</b>                                                   |
|----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| <b>Çok iyi</b> | Kulağın ilk muayenede değerlendirilen klinik bulguları tamamen ortadan kalktı.            | Köpeğimin kulağı tedavi öncesine kıyasla tamamen iyileşti.            |
| <b>İyi</b>     | Kulağın klinik belirtileri ilk muayeneye kıyasla belirgin şekilde iyileşti.               | Köpeğimin kulağı tedavi öncesine göre belirgin bir şekilde iyileşti.  |
| <b>Orta</b>    | Kulağın klinik belirtileri ilk muayeneye kıyasla hafif şekilde iyileşti.                  | Köpeğimin kulağı tedaviye çok az yanıt verdi.                         |
| <b>Zayıf</b>   | Kulağın klinik belirtilerinde ilk muayeneye kıyasla değişiklik olmadı/ artış gözlemlendi. | Köpeğimin kulağının durumu tedavi öncesine göre değişmedi/ kötüleşti. |

Soğuk atmosferik plazma tedavisinin lokal tolere edilebilirliğini değerlendirmek amacıyla her iki SAP grubunda tüm uygulamaların hemen ardından kulak kepçesi ve dış kulak kanalındaki eritem varlığı sistematik olarak incelendi. Lee ve diğerleri (2021) tarafından tanımlanan yöntem doğrultusunda, eritem olmaması “0”, kısmi hafif dereceli eritem “1”, kısmi orta dereceli eritem “2” ve tam orta dereceli eritem “3” olarak puanlandı. SAP uygulamalarının genel tolere edilebilirliği geleneksel Melbourne Ağrı Ölçeği (Reid ve diğerleri, 2007) ile değerlendirilemedi çünkü hastalar uygulama sırasında sedasyondaydı. Ek olarak, lokal tolere edilebilirliği değerlendirmek için SAP uygulamasının hemen ardından kulakların palpe edilmesiyle hastaların reaksiyon verip vermediği ve kaşıntının mevcut olup olmadığı da hastaların sedasyonda olması nedeniyle değerlendirilemedi. Bu doğrultuda, SAP tedavisinin lokal tolere edilebilirliği yalnızca gözlemsel verilere dayanarak değerlendirildi.

### 3.2.4. İstatistiksel Değerlendirme

Araştırma kapsamında elde edilen verilerin istatistiksel analizleri SPSS 29.0.2 istatistik programı (Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) kullanılarak gerçekleştirildi. Çalışmaya dahil edilen 22 adet köpeğin gruplara dağılımı, basit randomizasyon yöntemiyle 1:1 oranında yapıldı. Köpeklerin sağ ve sol kulaklarının SAP ve STD gruplarına dağılımı ise çaprazlama randomizasyon yöntemiyle sağlandı.

Her bir çalışma grubundaki sayısal verilerin dağılımları, Kolmogorov-Smirnov veya Shapiro-Wilk testleri kullanılarak normallik açısından kontrol edildi. Normal dağılım göstermeyen değişkenler, analiz öncesinde logaritmik dönüşüme tabi tutuldu. Normal dağılım gösteren parametreler (cinsiyet, yaş) parametrik testlerle, dönüşüm sonrasında da normal dağılım göstermeyen parametreler (vücut ağırlığı, OTIS-3, sitolojik skor) ise non-parametrik testlerle analiz edildi. Bu kapsamda  $STD_1$  ve  $SAP_1$  grubunu oluşturan köpekler ile  $STD_2$  ve  $SAP_2$  grubunu oluşturan köpekler arasındaki cinsiyet farklılıkları Ki-kare testi (Pearson veya Fisher' s exact test), yaş verileri Mann-Withney U testi ve vücut ağırlığı için bağımsız örneklem t-testi ile değerlendirildi. Cinsiyet verileri yüzde dağılım, yaş verileri ortanca (çeyrekler aralığı) ve vücut ağırlığı ise ortalama±standart hata olarak ifade edildi.  $STD_1$  ile  $SAP_1$  ve  $STD_2$  ile  $SAP_2$  gruplarının tedavi öncesi ve kontrol günlerindeki OTIS-3 ve sitolojik skor karşılaştırmaları için Mann-Whitney U testi kullanıldı. Bu parametreler ortanca (çeyrekler aralığı) olarak sunuldu. Tüm çalışma gruplarında zaman içerisinde gözlemlenen OTIS-3 ve sitolojik skor değişimleri için Friedman testi kullanıldı. Her bir kontrol gününde,  $STD_1$  ile  $SAP_1$  ve  $STD_2$  ile  $SAP_2$  araştırmacı ve hasta sahibinin tedaviye verilen yanıtı değerlendirmeleri Ki-kare testi ile karşılaştırıldı. Bu değerlendirmeler yüzde dağılım olarak ifade edildi. Yapılan tüm analizlerde  $p < 0,05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Demografik Bulgular

Çalışmaya dahil edilen 22 adet köpeğin 16' sını (%73) saf, 6' sını (%27) melez ırklar oluşurdu. 16 saf ırkın; 8' i (%50) golden retriever, 3' ü (%19) standart poodle, 1' i (%6) labrador retriever, 1' i (%6) cocker spaniel, 1' i (%6) staphordshire bull teriyer, 1' i (%6) alman çoban köpeği ve 1' i (%6) de pug olarak belirlendi.

Çalışmadaki köpeklerin gruplar bazında cinsiyet, yaş ve vücut ağırlığı gibi demografik özellikleri değerlendirilerek Tablo 15' te özetlendi.

**Tablo 15.** Köpeklerin demografik özellikleri.

| Demografik özellikler                                 | STD <sub>1</sub> /SAP <sub>1</sub> | STD <sub>2</sub> /SAP <sub>2</sub> | <i>p</i> değeri |
|-------------------------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|-----------------|
| Yaş (ortanca [çeyrekler aralığı])                     | 3,0 (6,0)                          | 4,0 (4,0)                          | 0,193           |
| Cinsiyet (Dişi/erkek [%])                             | 18/82                              | 45/55                              | 0,361           |
| Vücut ağırlığı (kg)<br>(ortalama $\pm$ standart hata) | 19,54 $\pm$ 4,15                   | 26,43 $\pm$ 4,04                   | 0,249           |

STD<sub>1</sub> ve SAP<sub>1</sub> grubunu oluşturan köpeklerden 2' si dişi ve 9' u erkek, STD<sub>2</sub> ve SAP<sub>2</sub> grubunu oluşturan köpeklerden ise 5' i dişi ve 6' sı erkekti. STD<sub>1</sub>/SAP<sub>1</sub> ve STD<sub>2</sub>/SAP<sub>2</sub> arasında cinsiyet dağılımı açısından anlamlı bir fark bulunmadı ( $p= 0,361$ ). Yaş değişkenine ilişkin analizler ortanca (çeyrekler aralığı) değerleri olarak STD<sub>1</sub>/SAP<sub>1</sub> grubu için 3,0 (6,0) yıl, STD<sub>2</sub>/SAP<sub>2</sub> grubu için ise 4,0 (4,0) yıl olduğu belirlendi; anlamlı bir fark görülmedi ( $p=0,193$ ). Vücut ağırlığı STD<sub>1</sub>/SAP<sub>1</sub> grubunda 19,54  $\pm$  4,15 kg iken STD<sub>2</sub>/SAP<sub>2</sub> grubunda 26,43  $\pm$  4,04 kg; ortalama  $\pm$  standart hata şeklinde ifade edildi. Anlamlı bir fark belirlenmedi ( $p=0,249$ ).

STD<sub>1</sub> ile SAP<sub>1</sub> grubunu oluşturan ve STD<sub>2</sub> ile SAP<sub>2</sub> grubunu oluşturan köpekler arasında demografik özellikler açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.

#### 4.2. Klinik Muayene Bulguları

Çalışmada değerlendirilen 22 adet olgunun klinik bulgularının dağılımı Tablo 16’da ve bazı görselleri Resim 3-7’de gösterildi.

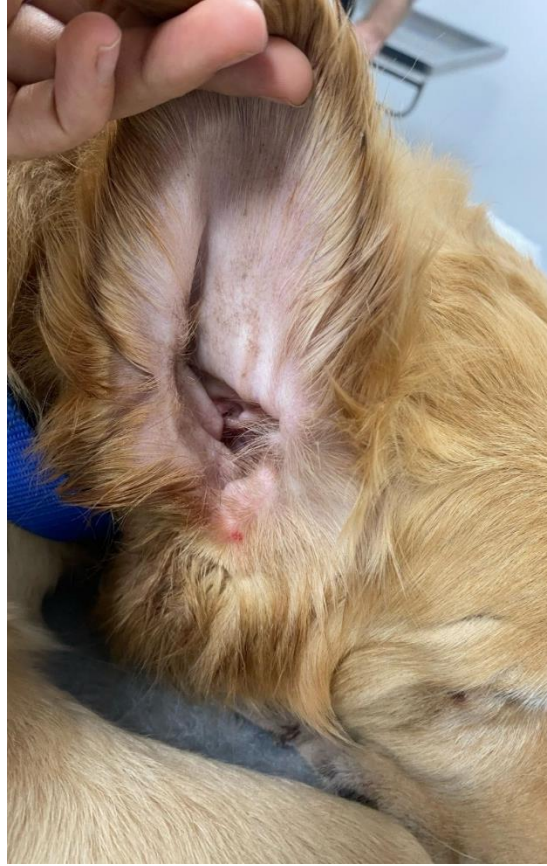
**Tablo 16.** Klinik bulguların dağılımı [n (%)]

| Klinik bulgular          | n (%)     |
|--------------------------|-----------|
| Kulaklarda kaşıntı       | 22 (%100) |
| Kulaklarda akıntı        | 22 (%100) |
| Kulaklarda koku          | 22 (%100) |
| Kulak kepçesinde eritem  | 18 (%82)  |
| Kafa sürtme              | 15 (%68)  |
| Baş sallama              | 15 (%68)  |
| Kulak kepçesinde alopesi | 6 (%27)   |

En yaygın klinik bulguların kulakta kaşıntı (%100), koku (%100) ve akıntı (%100) olduğu görüldü.



**Resim 3:** Melez ırk köpekte sol kulak kepçesinde şiddetli eritem (a); sağ kulak kepçesinde eritem ve kahverengi renkli akıntı (b).



**Resim 4:** Golden retriever ırkı köpekte sağ kulak kepçesinde eritem ve olası kaşıntı ilişkili preaurikular bölgede ekskoriasyon.



**Resim 5:** Cocker spaniel ırkı köpekte sağ kulak kepçesinde ve dış kulak kanalı girişinde eritem (a) ve sarı renkte akıntı (b).



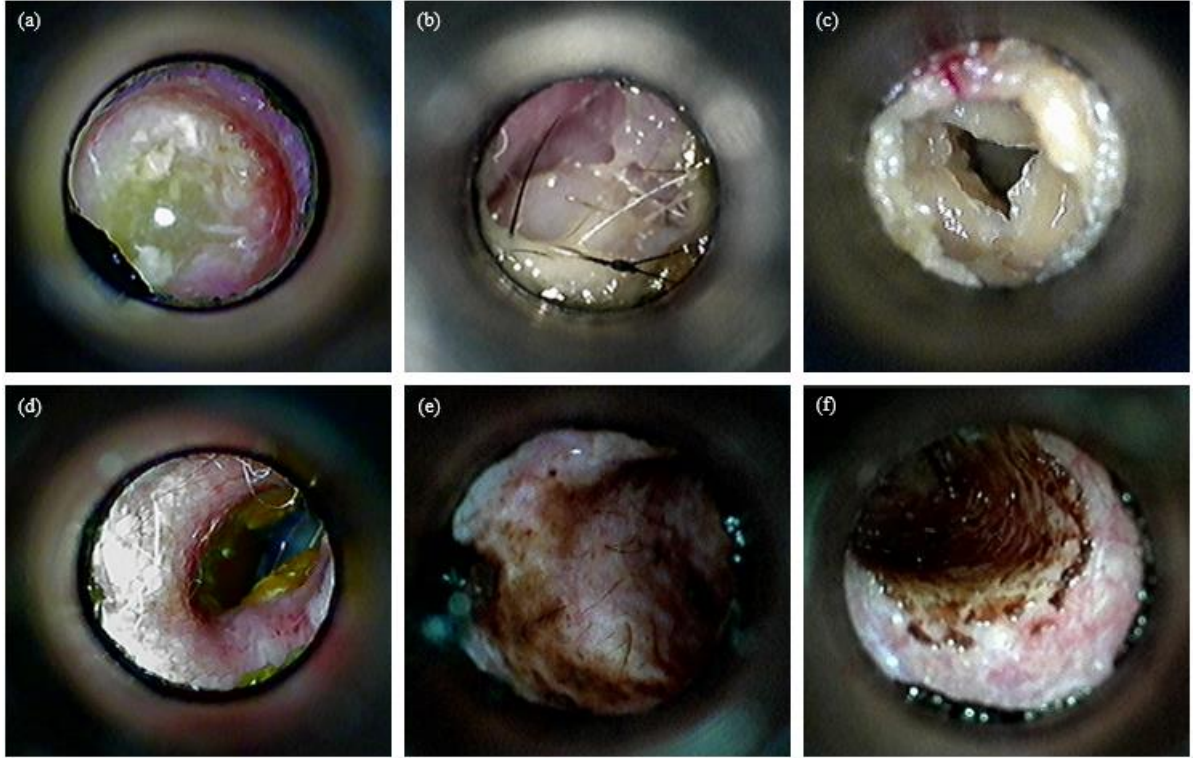
**Resim 6:** Poodle ırkı köpeğin sağ kulağında eritem.



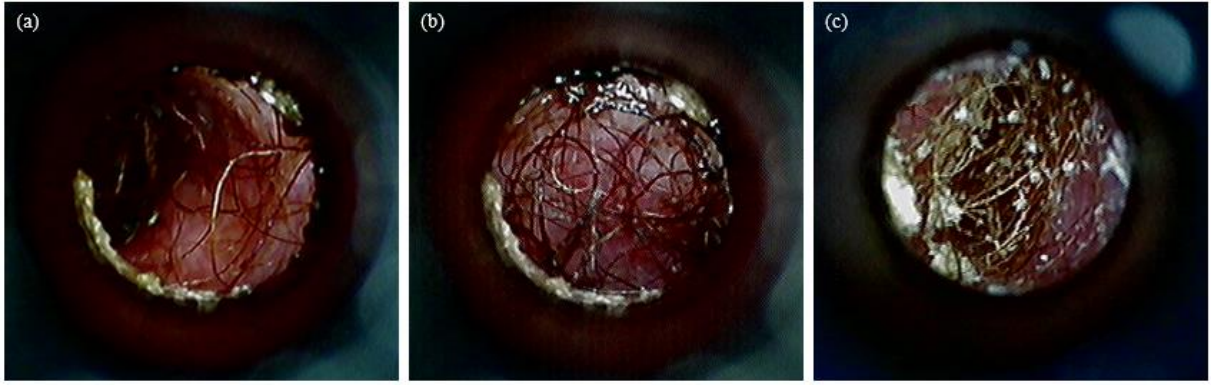
**Resim 7:** Golden retriever ırkı köpekte sol kulak kepçesinde şiddetli eritem (a); sağ kulakta kahverengi renkli akıntı.

#### 4.3. Video- Otoskopik Muayene Bulguları

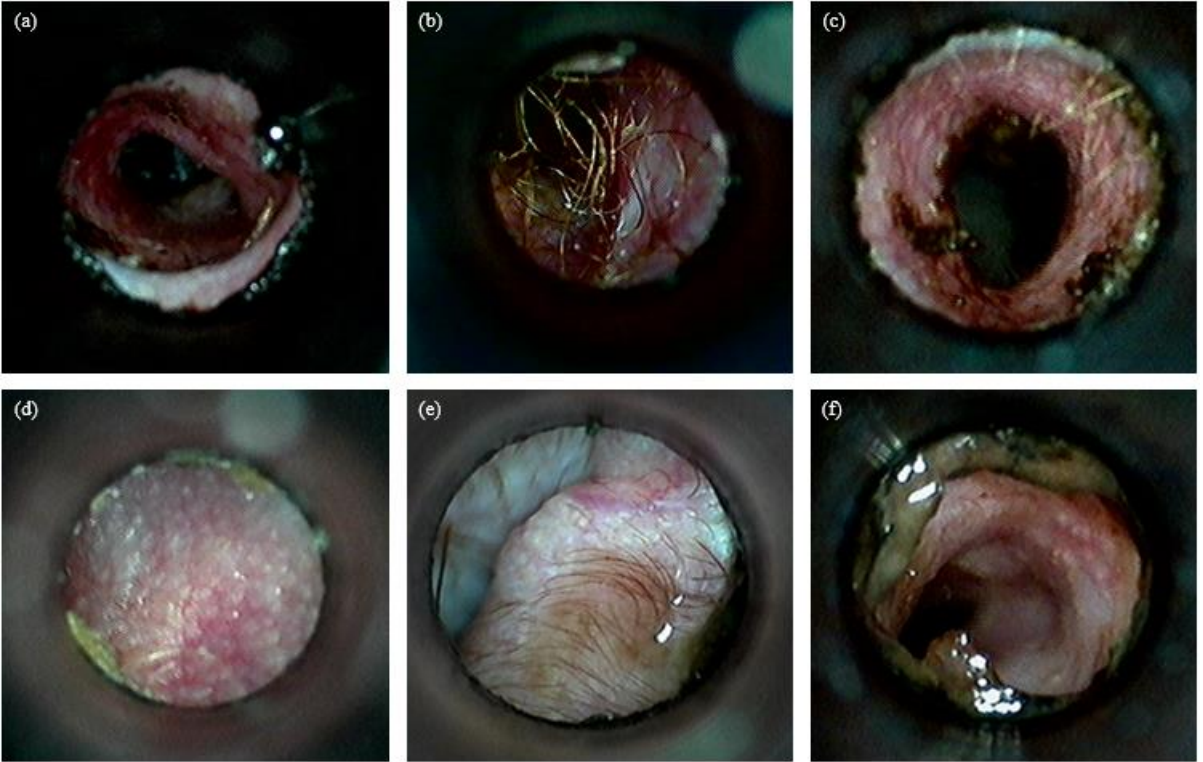
Çalışma kapsamında değerlendirilen 22 adet köpeğin video otoskopik muayenesinde dış kulak kanalında tespit edilen eritem, erozyon, ödem ve eksudat gibi bulguları Resim 8-10' da gösterildi.



**Resim 8:** Dış kulak kanalında görülen farklı tip eksudat örnekleri. (a) Purulent, nemli eksudat. (b) Mukopurulent eksudat. (c,d) Ten renkli kremsi/balmumsu eksudat. (e,f) Kahverengi mumsu eksudat.

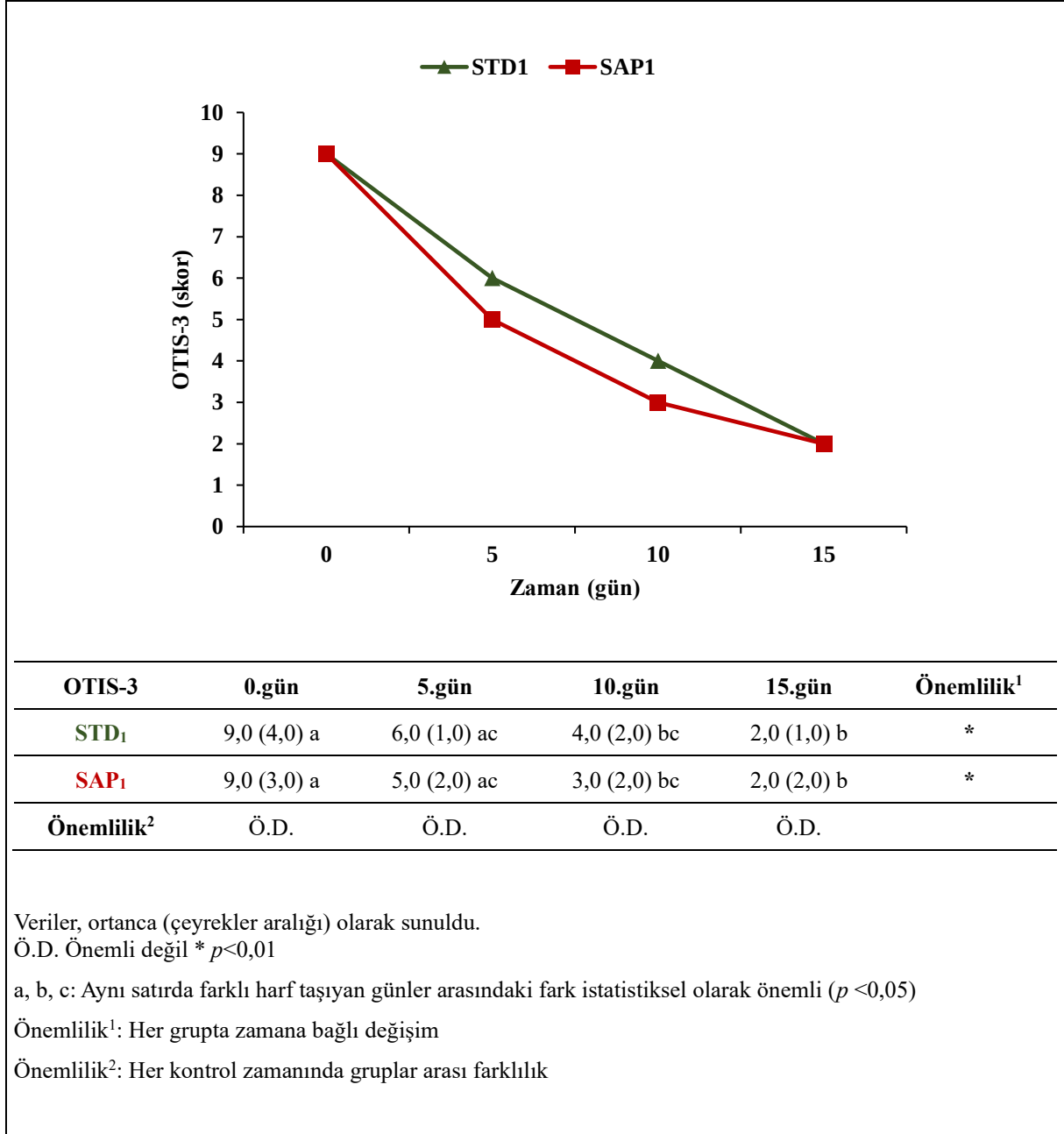


**Resim 9:** (a,b) Dış kulak kanalında eritem ve kıllar. (c) Dış kulak kanalında kıllar ve üzerine dökülmüş mumsu kalıntılar.



**Resim 10:** Dış kulak kanalında farklı bulguların bir arada görünümü. (a) Şiddetli erozyon ve kahverengi mumsu eksudat. (b) Eritem, erozyon ve kıllar. (c) Eritem ve kahverengi mumsu kalıntılar. (d) Kulcal damarlarda belirginleşme ve sarı renkli kremi eksudat. (e) Ödem, kulcal damarlarda belirginleşme ve kıllar. (f) Eritem, sebasöz bezlerde hipetrofi ve mukopurulent eksudat.

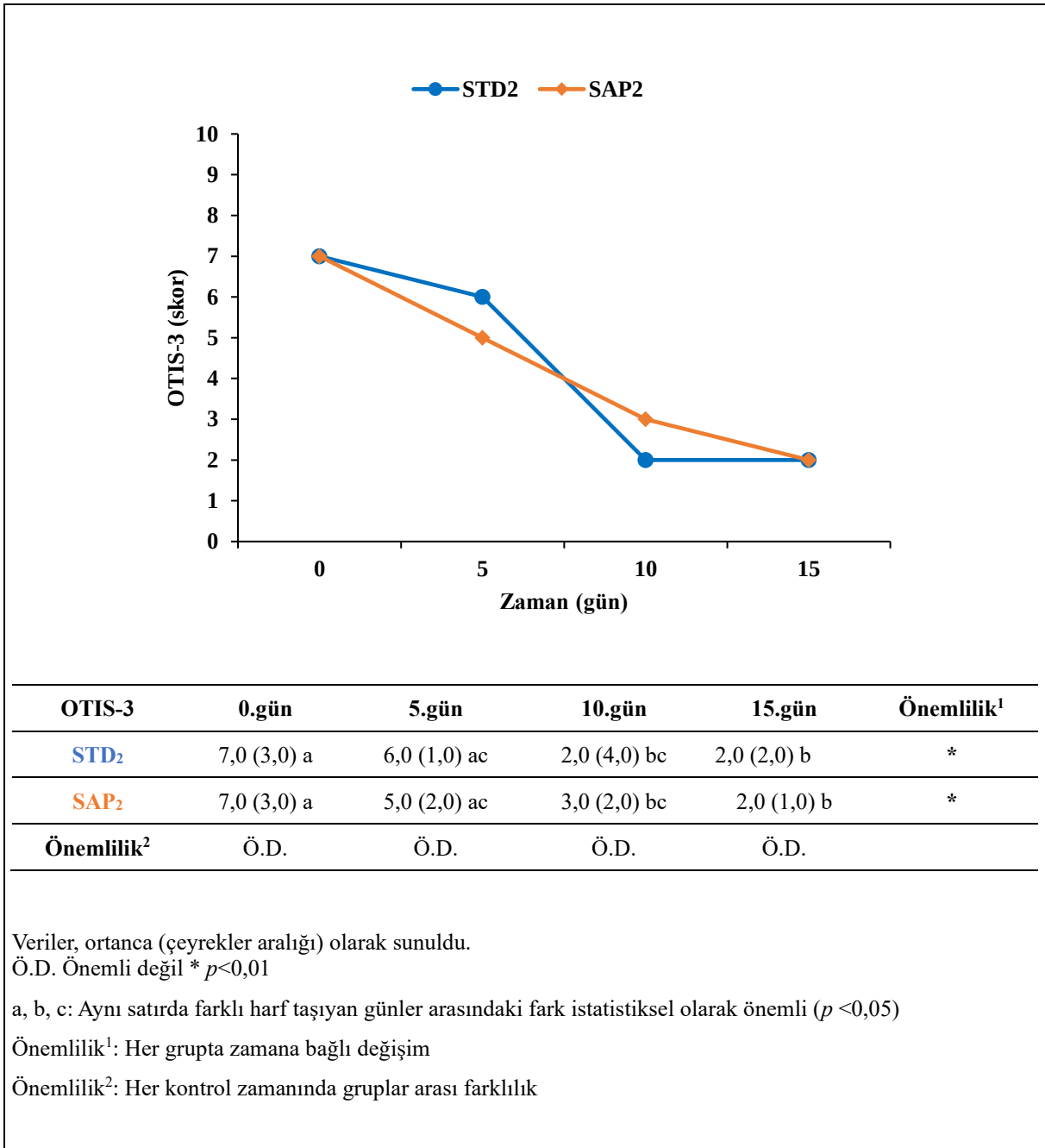
OTIS-3' ün zamana bağlı değişimi ve gruplar arası farklılığı STD<sub>1</sub> ve SAP<sub>1</sub> grupları için Şekil 4' te, STD<sub>2</sub> ve SAP<sub>2</sub> grupları için Şekil 5' te sunuldu.



Şekil 4. STD<sub>1</sub> ve SAP<sub>1</sub> gruplarında OTIS-3' ün zamana bağlı değişimi.

Hem STD<sub>1</sub> hem de SAP<sub>1</sub> grubunda tedavi süresince OTIS-3 değerinde azalma gözlemlendi. Tedavi öncesi, 0. gün OTIS-3 ortanca (çeyrekler aralığı) değeri STD<sub>1</sub> grupta 9.0 (4.0), SAP<sub>1</sub> grupta 9.0 (3.0) olarak tespit edildi. İki grup arasında başlangıçta istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. 5. gün itibariyle her iki grupta da OTIS-3 değerlerinde belirgin bir

azalma gözlenerek STD<sub>1</sub> grubunda 6.0 (1.0) ve SAP<sub>1</sub> grubunda ise 5.0 (2.0) olarak kaydedildi. 10. ve 15. günlerde de OTIS-3 değerindeki azalma devam etti. SAP<sub>1</sub> grubunun OTIS-3 değerlerinin, STD<sub>1</sub> gruba göre 10. ve 15. günlerde daha düşük bir değere sahip olduğu görülse de tedavi öncesi ve tedavi süresince aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi. 15. günde SAP<sub>1</sub> grubunda OTIS-3 değeri 2.0 (1.0) iken benzer şekilde STD<sub>1</sub> grubunda da bu skor 2.0 (1.0) olarak bulundu. Tedavi süresince her iki grupta zamanla OTIS-3 değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gösterdiği kaydedildi ( $p<0.01$ ) (Şekil 4).

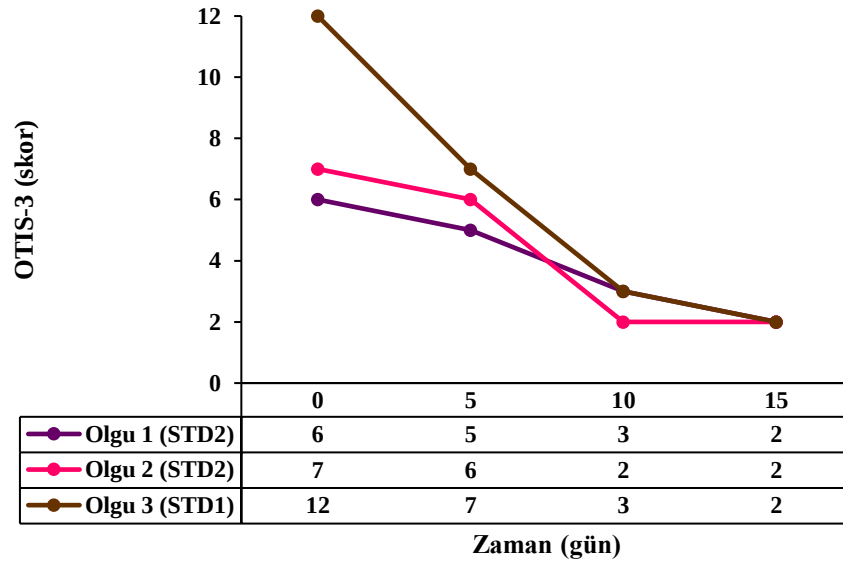


Şekil 5. STD<sub>2</sub> ve SAP<sub>2</sub> gruplarında OTIS-3' ün zamana bağlı değişimi.

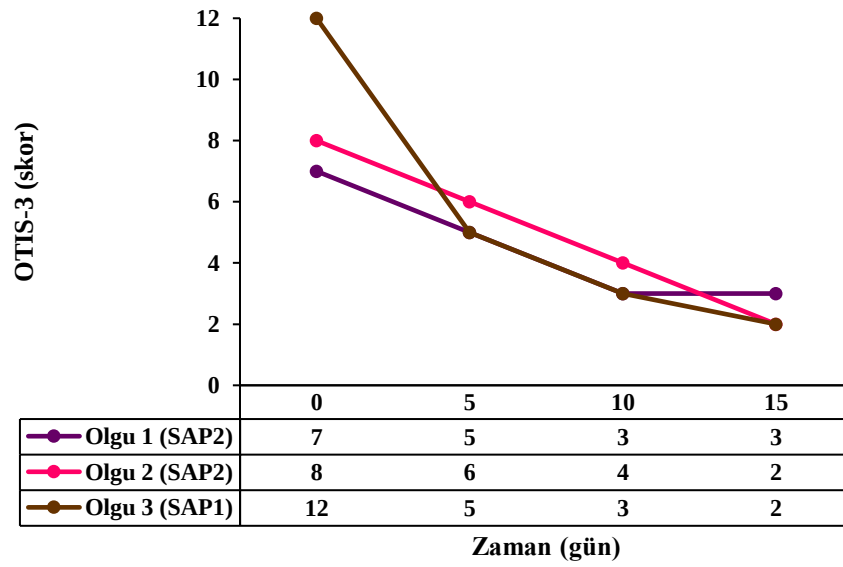
STD<sub>2</sub> ve SAP<sub>2</sub> gruplarındaki köpeklerin OTIS-3 değerleri de tedavi süresince takip edilerek her iki grupta da zamanla OTIS-3 puanlarının belirgin bir şekilde azaldığı gözlemlendi. Tedavi öncesi 0. günde, her iki gruptaki köpeklerin OTIS-3 ortanca (çeyrekler aralığı) değerleri benzer olup, STD<sub>2</sub> grupta 7,0 (3,0), SAP<sub>2</sub> grupta 7,0 (3,0) olarak tespit edildi. Bu değerler başlangıçta her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını gösterdi. Tedavi başladıktan sonra, 5. gün itibarıyla OTIS-3 değerleri her iki grupta da azalmaya başladı. Bu azalma 10. ve 15. günlerde de kaydedildi. Her iki grupta da tedavi süresince zamanla gözlemlenen OTIS-3 değerindeki bu azalmalar istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,01$ ) (Şekil 5).

Değerlendirilen 22 adet köpekten 3'ünde otik eksudat örneklerinin sitolojik incelemesinde biyofilm varlığı tespit edildi. Bu olgular, tedavi süresince gruplar içerisinde değerlendirilmelerinin yanı sıra bireysel bazda hem standart tedavi hem de SAP tedavisi açısından değerlendirildi. Şekil 6' da OTIS-3 değerlerinin olgu bazında zaman içerisindeki değişimleri gösterildi.

(a)



(b)



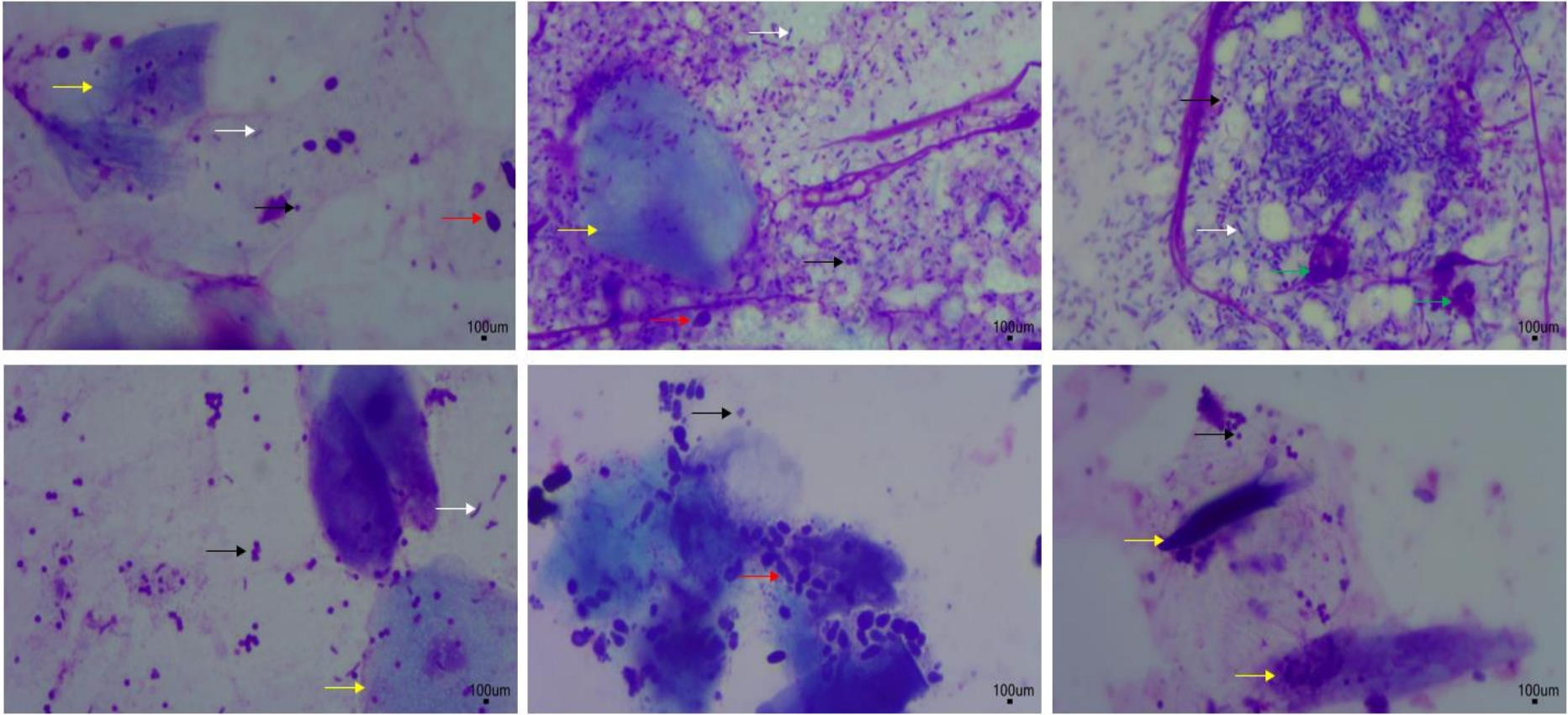
**Şekil 6.** (a) Biyofilm tespit edilen standart tedavi uygulanan olgularda OTIS-3' ün zamana bağlı değişimi. (b) Biyofilm tespit edilen SAP uygulanan olgularda OTIS-3' ün zamana bağlı değişimi.

Bireysel olgular incelendiğinde standart tedavi uygulanan üç kulakta OTIS-3 değerleri arasında 0. günde önemli farklılıklar görüldü. Özellikle Olgu 3'te başlangıçta OTIS-3 12 iken, diğer iki olguda bu skorlar sırasıyla 6 ve 7 olarak tespit edildi. Bu durum, Olgu 3'ün tedavi öncesinde daha şiddetli bir hastalık tablosuna sahip olduğunu göstermektedir. Tedavi sürecinde, 5. gün itibarıyla her üç olgunun da OTIS-3 değerlerinde 10. ve 15.gün de dahil olmak üzere bir azalma gözlemlendi. 15. gün sonunda her üç olgunun da OTIS-3 değerlerinin 2' ye kadar düştüğü ve bu da tedavinin etkili olduğunu göstermektedir.

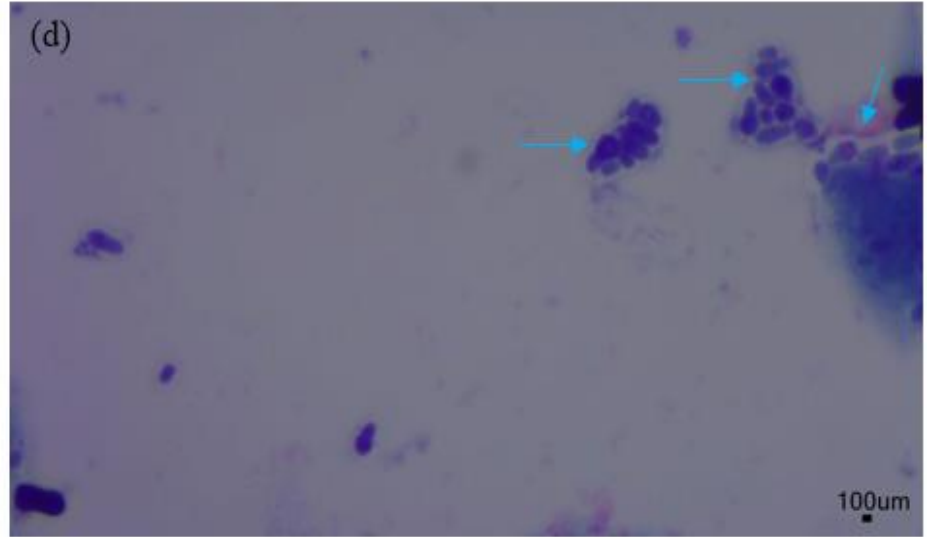
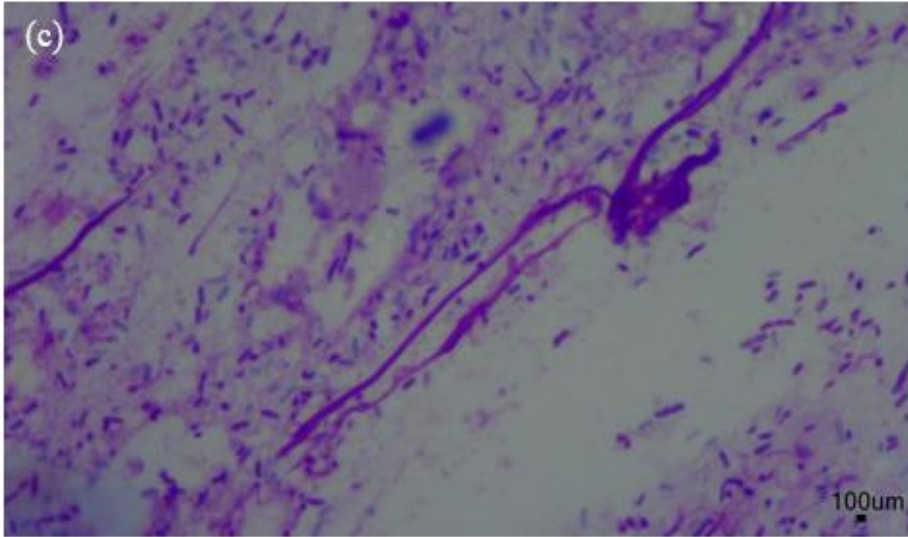
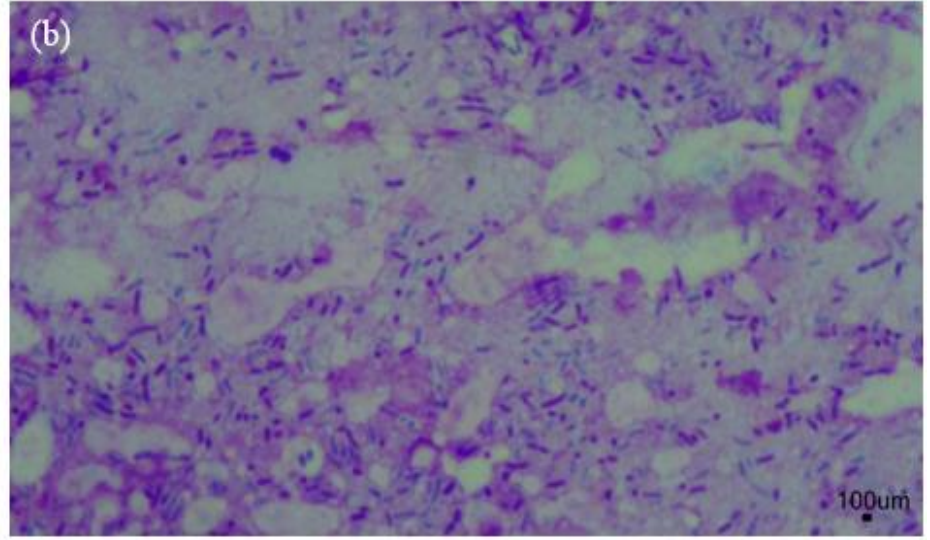
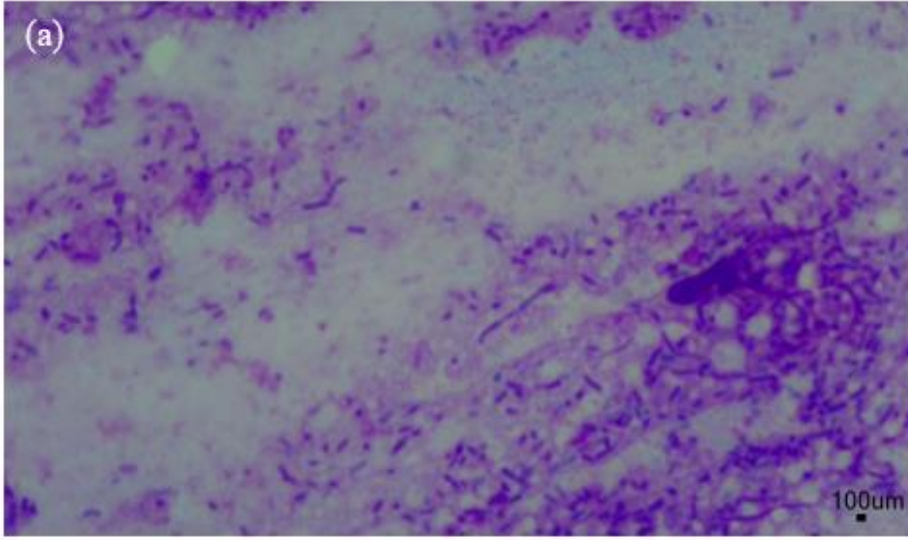
Soğuk atmosferik plazma tedavisi uygulanan olgular incelendiğinde tedavi öncesinde, standart tedavi uygulanan olgulara benzer bir tablo gözlemlendi. Olgu 1 ve Olgu 2' de OTIS-3 değerleri sırasıyla 7 ve 8 olarak tespit edilirken, Olgu 3' te ise skor 12 olarak kaydedildi. Bu bulgu, Olgu 3'ün her iki kulağında da hastalık şiddetinin 0. günde daha yüksek olduğunu göstermektedir. Tedavi süresince 3 gün arayla 4 kez SAP tedavisi uygulanan Olgu 1 ile Olgu 2' de ve 5 gün arayla 2 kez SAP tedavisi uygulanan Olgu 3' te OTIS-3 değerlerinde azalma gözlemlendi. Bununla birlikte yalnızca 2 kez SAP tedavisi uygulanan Olgu 3' te 5. günde OTIS-3 değerindeki belirgin düşüş ve iyileşme sürecinin daha hızlı olduğu kaydedildi. Ancak bireysel bazda yapılan bu değerlendirmede istatistiksel analiz yapılmamıştır. Bu kapsamda tüm bu bulgular tedavi süreçlerinin etkinliğini bireysel bazda gözlemlemek amacıyla kaydedildi.

#### **4.4. Sitolojik Muayene Bulguları**

Tedavi öncesi hastalardan alınan otik eksudat örneklerinin sitolojik incelemesinde %36,36' sında kok ve maya, %27,27' sinde yalnızca kok, %22,72' sinde kok, maya ve basil, %9,09' unda kok ve basil, %4,54' ünde ise yalnızca maya tespit edildi. Nötrofillere hastaların %22,72' sinde rastlandı. Ayrıca hastaların %13,63' ünde biyofilm oluşumu tespit edildi. Kok, basil, maya, keratinosit ve olası biyofilmleri içeren görseller Resim 11 ve 12'de gösterildi

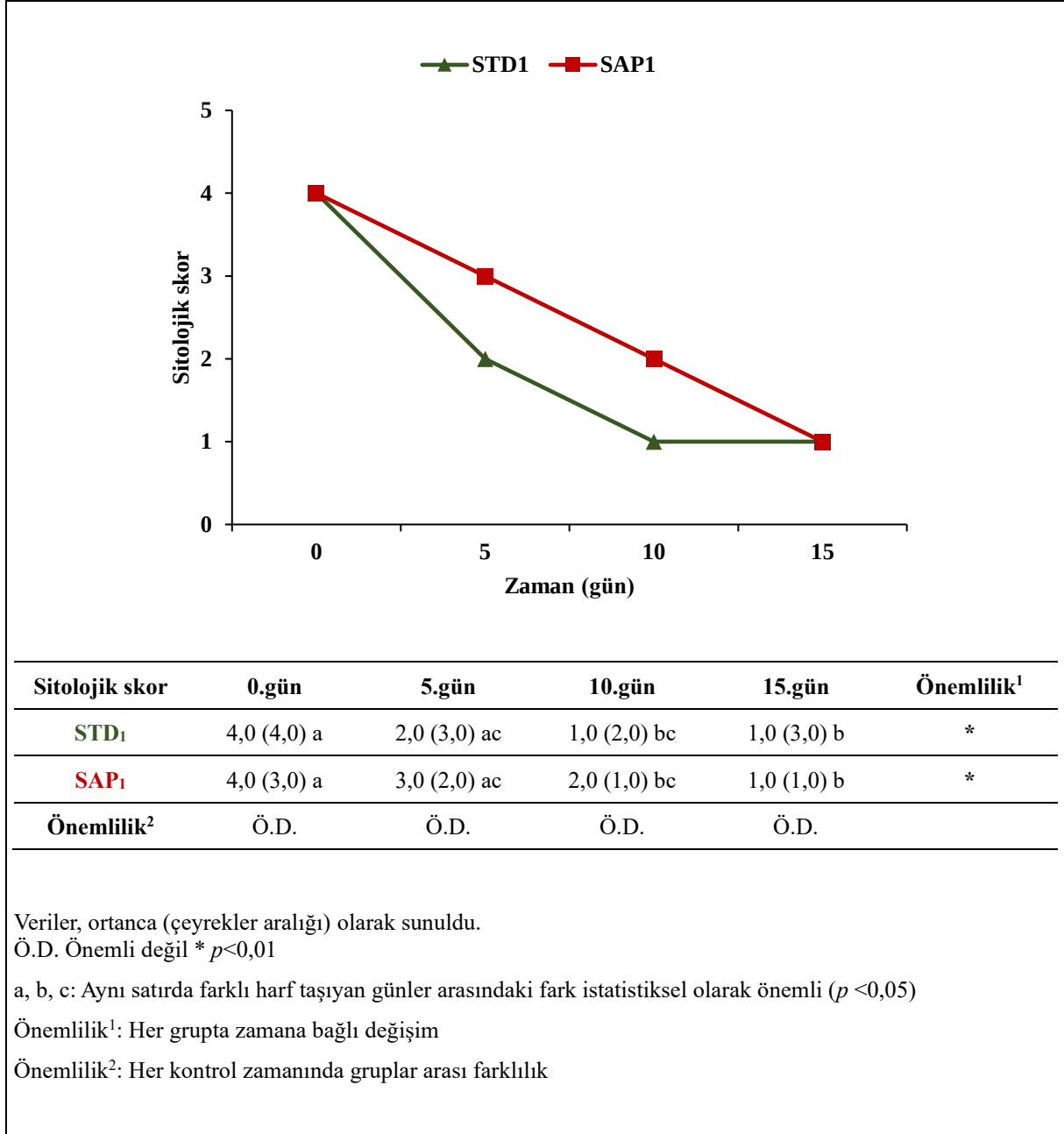


**Resim 11:** Otik eksudat örneklerine ait sitolojik muayene bulguları (100x objektif, 1000x büyütme). (a,b) Kok (siyah ok), basil (beyaz ok), maya (kırmızı ok) ve keratinositler (sarı ok). (c) Kok, basil ve dejenere nötrofiller (yeşil ok). (d) Kok, basil ve keratinositler. (e) Maya ve koklar. (f) Kok ve keratinositler.



**Resim 12:** Olası biyofilm oluşumunu gösteren kok ve basiller (a,b,c) ile mayaları (d) çevreleyen dantel benzeri mor filamentli yapılar.

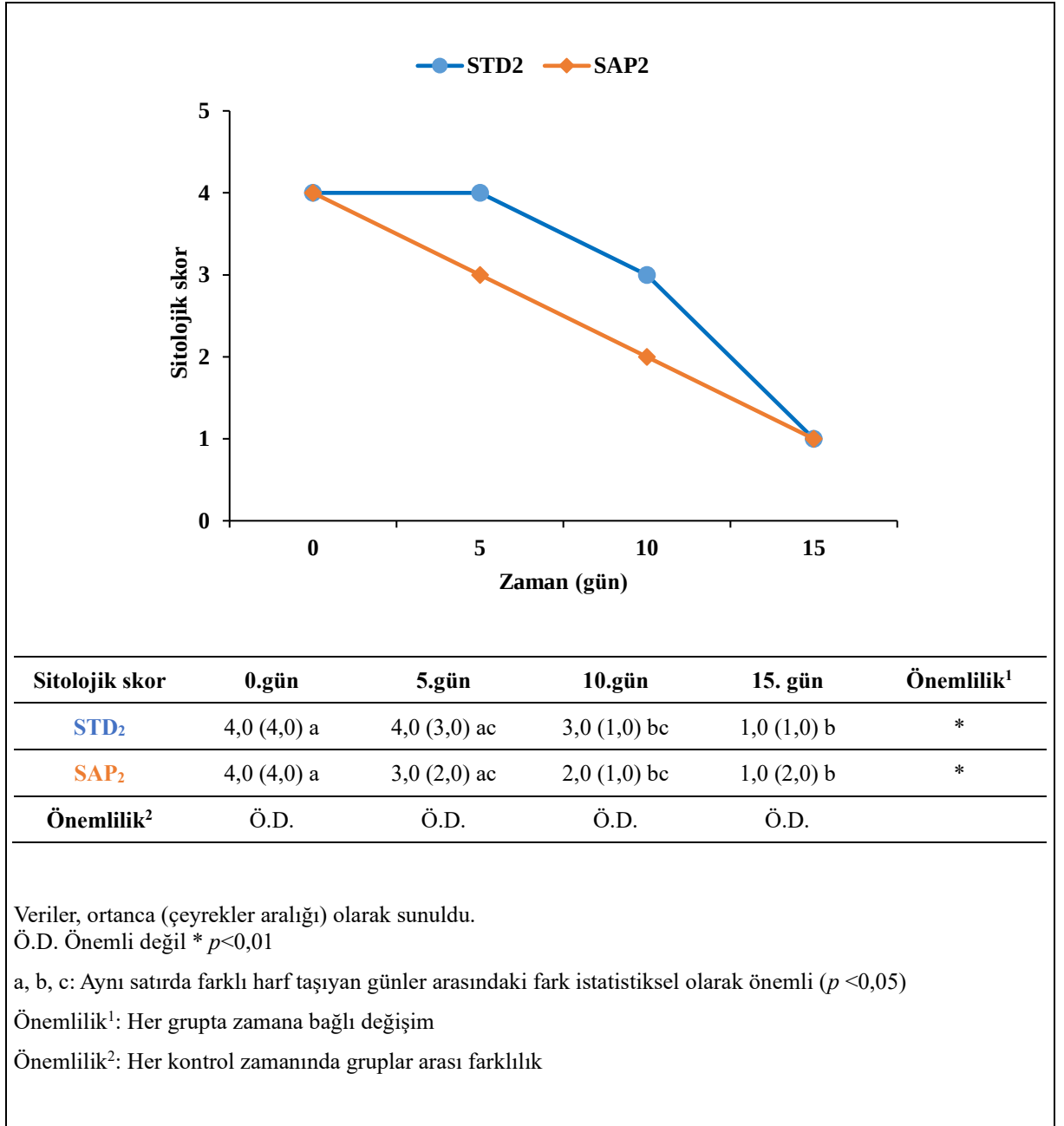
Sitolojik skorun zamana bağlı değişimi ve gruplar arası farklılığı STD<sub>1</sub> ve SAP<sub>1</sub> grupları için Şekil 7’ de, STD<sub>2</sub> ve SAP<sub>2</sub> grupları için ise Şekil 8’ de sunuldu.



**Şekil 7.** STD<sub>1</sub> ve SAP<sub>1</sub> gruplarında sitolojik skorun zamana bağlı değişimi.

Çalışmada, STD<sub>1</sub> ve SAP<sub>1</sub> gruplarının tedavi öncesinde sitolojik skorların ortanca (çeyrekler aralığı) değerleri benzer olup, STD<sub>1</sub> grupta 4,0 (4,0), SAP<sub>1</sub> grupta ise 4,0 (3,0) olarak kaydedildi. İki grup arasında anlamlı bir fark bulunmadı. 5. günde her iki grupta da sitolojik skorlar düşmeye başladı. 10. günde her iki grup arasında skorlar benzer seviyede kalmaya

devam etti. 15. günde STD<sub>1</sub> grubunda sitolojik skor 1,0 (3,0) tespit edilirken, SAP<sub>1</sub> grubunda bu skor 1,0 (1,0) olarak kaydedildi. Tedavi süresince, tedavi öncesine benzer şekilde gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmadı. Ancak her iki grupta da zaman içerisinde sitolojik skorda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu kaydedildi ( $p<0,01$ ). İstatistiksel olarak anlam ifade etmese de STD<sub>1</sub> grubunda, SAP<sub>1</sub> grubuna kıyasla sitolojik skorda daha hızlı bir düşüş olduğu görüldü (Şekil 7).

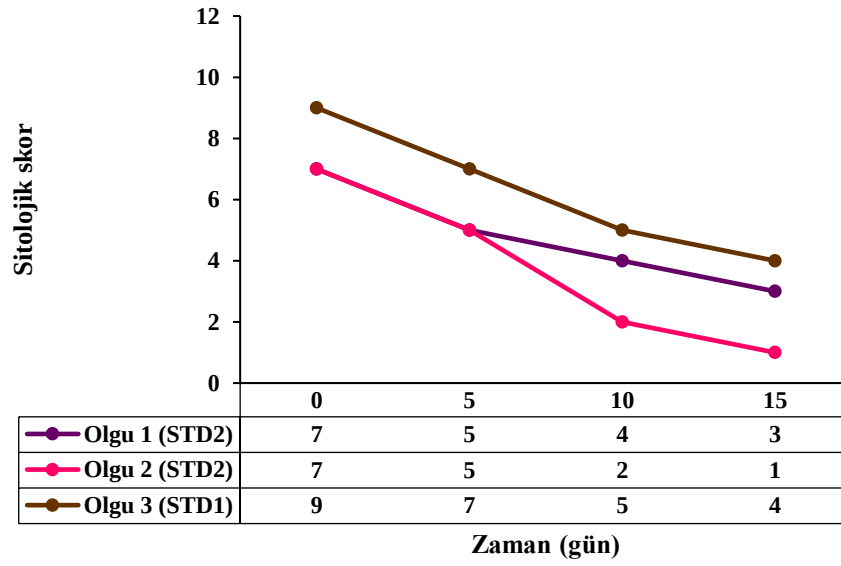


**Şekil 8.** STD<sub>2</sub> ve SAP<sub>2</sub> gruplarında sitolojik skorun zamana bağlı değişimi.

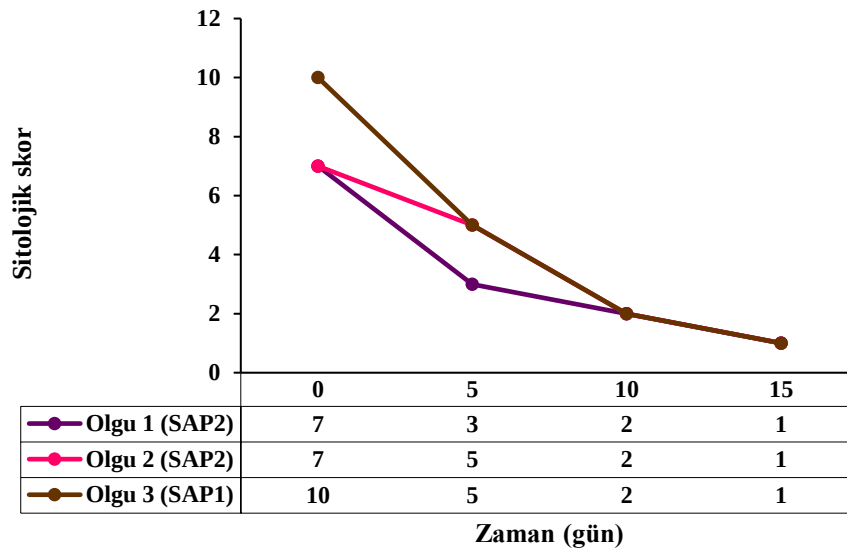
STD<sub>2</sub> ve SAP<sub>2</sub> gruplarındaki köpeklerin tedavi öncesinde sitolojik skorları benzer olmakla birlikte aralarında anlamlı bir farklılık yoktu. 5., 10. ve 15. günlerde her iki grupta da sitolojik skorda belirgin bir azalma tespit edildi. Tedavi süresince sitolojik skorda meydana gelen bu azalmanın istatistiksel anlam taşıdığı görüldü ( $p<0,01$ ). Ancak gruplar arasında tedavi süresince anlamlı bir farklılık saptanmadı. Bununla birlikte 15. günde her iki gruptaki sitolojik skorlar benzer seviyelere ulaşmış olsa da SAP<sub>2</sub> grubunda sitolojik skordaki azalmanın daha hızlı seyrederek 5. günde gözlendiği dikkate değerdı (Şekil 8).

Sitolojik muayenede biyofilm tespit edilen 3 adet köpeğin standart tedavi ve SAP tedavisi uygulanan kulaklarının sitolojik skorları olgu bazında Şekil 9' da gösterildi. Standart tedavi uygulanan tüm olgularda sitolojik skorda belirgin bir düşüş izlendi. Ancak 15. günde standart tedavi uygulanan olgulardan yalnızca Olgu 2' de sitolojik skor 1' e düşerken SAP tedavisi uygulanan olguların tümünde 15. günde sitolojik skor 1 olarak kaydedildi. Bu değerlendirmeler istatistiksel olarak anlam ifade etmese de SAP tedavisinin standart tedaviye kıyasla bu olgularda daha etkili olduğunu gösterdi.

(a)



(b)



**Şekil 9.** (a) Biyofilm tespit edilen standart tedavi uygulanan olgularda sitolojik skorun zamana bağlı değişimi. (b) Biyofilm tespit edilen SAP uygulanan olgularda sitolojik skorun zamana bağlı değişimi.

#### 4.5. Mikrobiyolojik Muayene Bulguları

Tedavi öncesi alınan otik eksudat örneklerine yapılan mikrobiyolojik kültür sonuçlarının, %6,81' i bakteri ve mantar, %61,36' sı yalnızca bakteri ve %20,45' i yalnızca mantar için pozitif; %11,36' sında ise üreme yoktu. Mikrobiyolojik kültürde tespit edilen etkenler ve yüzde dağılımları Tablo 17' de gösterildi.

**Tablo 17.** Mikrobiyolojik kültürde tespit edilen etkenlerin dağılımı (%).

| Patojenler                                  | (%)    |
|---------------------------------------------|--------|
| Koagulaz pozitif <i>Staphylococcus</i> spp. | %21,15 |
| <i>Candida</i> spp.                         | %21,15 |
| Koagulaz negatif <i>Staphylococcus</i> spp. | %17,3  |
| <i>Pseudomonas</i> spp.                     | %11,53 |
| <i>Proteus</i> spp.                         | %9,61  |
| <i>Streptococcus</i> spp.                   | %5,76  |
| <i>Aspergillus</i> spp.                     | %5,76  |
| <i>Enterococcus</i> spp.                    | %3,84  |
| <i>Bacillus</i> spp.                        | %1,92  |
| <i>Actinomyces</i> spp.                     | %1,92  |

#### 4.6. Araştırmacı ve Hasta Sahibinin Tedaviye Verilen Yanıtı Değerlendirmesi

Araştırmacı ve hasta sahibinin tedaviye verilen yanıtı değerlendirmesine dair veriler yüzdelik dağılım şeklinde STD<sub>1</sub> ve SAP<sub>1</sub> grubuplarını içeren bir tablo (Tablo 18) ve STD<sub>2</sub> ile SAP<sub>2</sub> gruplarını içeren bir tablo (Tablo 19) olarak ortaya konuldu.

**Tablo 18.** STD<sub>1</sub> ve SAP<sub>1</sub> gruplarında araştırmacının (hasta sahibinin) tedaviye verilen yanıtı genel değerlendirmesi (%).

|                  | 5.gün            |                  | 10.gün           |                  | 15.gün           |                  |
|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| Tedavi etkinliği | STD <sub>1</sub> | SAP <sub>1</sub> | STD <sub>1</sub> | SAP <sub>1</sub> | STD <sub>1</sub> | SAP <sub>1</sub> |
| <b>Çok iyi</b>   | 0 (36,36)        | 0 (18,18)        | 0 (63,64)        | 18,18 (72,73)    | 45,45 (90,91)    | 63,64 (63,64)    |
| <b>İyi</b>       | 45,45 (45,45)    | 45,45 (54,55)    | 72,73 (36,36)    | 63,64 (27,27)    | 45,45 (9,09)     | 27,27 (36,36)    |
| <b>Orta</b>      | 45,45 (18,18)    | 36,36 (27,27)    | 27,27 (0)        | 18,18 (0)        | 9,09 (0)         | 9,09 (0)         |
| <b>Zayıf</b>     | 9,09 (0)         | 18,18 (0)        | 0 (0)            | 0 (0)            | 0 (0)            | 0 (0)            |
| <b>p değeri</b>  | 0,801 (0,738)    |                  | 0,635 (0,647)    |                  | 0,817 (0,311)    |                  |

STD<sub>1</sub> ve SAP<sub>1</sub> grupları arasında 5., 10. ve 15. günlerde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi. Ancak grup bazında değerlendirildiğinde 10. günde, STD<sub>1</sub> grubunda araştırmacı tarafından yapılan "çok iyi" ve "iyi" değerlendirmelerinin toplamı %72,73 olarak kaydedilirken, hasta sahiplerinin aynı gruptaki toplam olumlu değerlendirme oranının %100' e ulaştığı gözlemlendi. SAP<sub>1</sub> grubunda ise, araştırmacıların toplam "çok iyi" ve "iyi" değerlendirmeleri %81,82 olurken, hasta sahiplerinin değerlendirmesi %100' e ulaştı. Bu noktada, her iki grupta da 10. günde olumlu değerlendirmeler yüksek seviyelerdedir. 15. günde, her iki grupta da aynı şekilde araştırmacı tarafından verilen toplam "çok iyi" ve "iyi" yanıtlarının artarak %90,91 olduğu gözlemlendi.

Hem STD<sub>1</sub> hem de SAP<sub>1</sub> gruplarında 10. ve 15. günlerde, hasta sahiplerinin tedaviye yönelik "zayıf" ve "orta" değerlendirmelerinde bulunmamış olmadığı da dikkat çekti. Hasta sahiplerinin tedavi sürecine ilişkin bu olumlu geri bildirimleri 10. ve 15. günde "çok iyi" ve "iyi" değerlendirmelerinin her iki grupta da toplamda %100' e ulaşmasıyla desteklendi.

**Tablo 19.** STD<sub>2</sub> ve SAP<sub>2</sub> gruplarında araştırmacının (hasta sahibinin) tedaviye verilen yanıtı genel değerlendirmesi (%)

|                  | 5.gün            |                  | 10.gün           |                  | 15.gün           |                  |
|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| Tedavi etkinliği | STD <sub>2</sub> | SAP <sub>2</sub> | STD <sub>2</sub> | SAP <sub>2</sub> | STD <sub>2</sub> | SAP <sub>2</sub> |
| Çok iyi          | 0 (27,27)        | 0 (0)            | 18,18 (36,36)    | 9,09 (9,09)      | 36,36 (45,45)    | 27,27 (45,45)    |
| İyi              | 45,45 (45,45)    | 45,45 (45,45)    | 54,55 (54,55)    | 63,64 (81,82)    | 54,55 (45,45)    | 63,64 (45,45)    |
| Orta             | 36,36 (18,18)    | 45,45 (36,36)    | 27,27 (9,09)     | 27,27 (0)        | 9,09 (9,09)      | 9,09 (9,09)      |
| Zayıf            | 18,18 (9,09)     | 9,09 (18,18)     | 0 (0)            | 0 (9,09)         | 0 (0)            | 0 (0)            |
| <i>p</i> değeri  | 0,801 (0,39)     |                  | 0,815 (0,22)     |                  | 0,896 (1,0)      |                  |

STD<sub>2</sub> ve SAP<sub>2</sub> grupları arasında yapılan değerlendirmelerde, 5., 10. ve 15. günlerde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Ancak, gruplar içinde tedaviye verilen yanıtların zamanla değişimi dikkat çekti. 5. gün değerlendirmelerinde hem STD<sub>2</sub> hem de SAP<sub>2</sub> gruplarında araştırmacı ve hasta sahibi tarafından "çok iyi" olarak değerlendirilen olgu yoktu. Bununla birlikte her iki grupta da olguların neredeyse yarısı hem araştırmacı hem de hasta sahibi tarafından "iyi" olarak değerlendirildi. Hem STD<sub>2</sub> hem SAP<sub>2</sub> grubunda araştırmacı ve hasta sahibi tarafından "zayıf" olarak değerlendirilen olgular göz önünde bulundurulduğunda her iki grupta da tedavinin erken evrede sınırlı bir iyileşme sağladığı görüldü.

10. gün itibarıyla her iki grupta "çok iyi" değerlendirme oranlarında bir artış fark edildi. Araştırmacıların değerlendirmelerinde STD<sub>2</sub> grubunda "çok iyi" ve "iyi" oranlarının toplamı %72,73 iken, SAP<sub>2</sub> grubunda %72,73 olarak benzer seviyelerde bulundu. Hasta sahiplerinin toplamdaki %90,91 düzeyindeki "çok iyi" ve "iyi" değerlendirmeleri ise her iki grupta da tedaviye daha olumlu bakıldığını gösterir şekildeydi. 15. gün değerlendirmelerinde ise, her iki grupta hem araştırmacı hem de hasta sahiplerinin "çok iyi" ve "iyi" değerlendirmelerinin toplam oranlarının %90' ın üzerine çıktığı gözlemlendi.

#### **4.7. Lokal Tolere Edilebilirlik Değerlendirmesi**

Soğuk atmosferik plazma uygulamalarının hemen ardından yapılan değerlendirmelerde her iki SAP grubunda da kulaklarda uygulama kaynaklı eritem artışı gözlenmedi. Tüm hastalarda lokal tolere edilebilirlik skoru “0” olarak kaydedildi. Ayrıca, hastaların 5., 10. ve 15. günlerde yapılan OTIS-3 puanlamalarında eritem skorunda artış gözlenmemesi SAP uygulamasının lokal tolere edilebilirliğini destekleyen önemli bir gösterge olarak değerlendirilebilir.

## 5. TARTIŞMA

Veteriner hekimlikte SAP uygulamaları henüz yaygın olarak raporlanmamış olmakla birlikte (Friedman, 2020), non-invaziv ve ağrısız bir prosedür olarak uygulanabilirliği sayesinde özellikle veteriner dermatoloji alanında giderek daha fazla kabul görmektedir (Klinger, 2021). Taghizade ve diğerleri (2024) tarafından gerçekleştirilen deneysel bir çalışmada, DBD tipi SAP cihazı ile SAP uygulamasının otitis eksterna tedavisinde tek başına veya antibiyotikle kombinasyon halinde kullanıldığında inflamasyonu ve bakteriyel yükü önemli ölçüde azalttığı bildirilmektedir. Benzer şekilde, mik plazma jet dizisi kullanılarak yapılan ex vivo bir çalışmada, otitis media tedavisinde *P. aeruginosa* biofilmlerinin uzun ömürlü reaktif moleküler türlerle etkili bir şekilde inaktive edildiği ve SAP'ın otitis media enfeksiyonları için umut verici bir tedavi paradigması sunduğu belirtilmektedir (Sun ve diğerleri, 2021). Bu çalışmalar, SAP'ın hem insan hem de hayvan sağlığında otitis enfeksiyonlarının kontrolünde devrim niteliğinde bir potansiyele sahip olabileceğini ortaya koymaktadır. Ancak, her iki çalışmada da, SAP'ın hayvan modellerindeki klinik kullanımını değerlendiren sistematik bir yaklaşıma ihtiyaç duyulduğu da vurgulanmaktadır. Çalışmadan elde edilen bulgular, önceden raporlanmış ex vivo otit çalışmaları (Sun ve diğerleri, 2021) ve hayvan modeli deneyleri (Taghizade ve diğerleri, 2024) ile birlikte, köpeklerde AOE tedavisinde SAP uygulamasının klinik uygulanabilirliğini ve olumlu tedavi etkinliğini desteklemektedir. Ayrıca bu sonuçlar, ön çalışma bulguları (Bakır ve diğerleri, 2024) ile de uyum göstermektedir. Bu bağlamda, hayvanlarda AOE tedavisinde SAP'ın klinik etkinliğini ve güvenilirliğini değerlendiren ilk randomize kontrollü klinik çalışma olarak bu araştırma literatüre önemli bir katkı sağlamaktadır.

Hem anatomik hem de alerjik yatkınlıklarına bağlı olarak Golden Retriever ırkının otitis eksterna gelişiminde yüksek risk taşıdığı vurgulanmaktadır. Sarkık ve "V" şeklindeki kulak yapıları, kulak kanalında hava sirkülasyonunu azaltarak nem birikimine yol açmakta ve mikroorganizmaların çoğalması için uygun bir ortam oluşturmaktadır (O'Neill ve diğerleri, 2021). Bu anatomik özelliklerin yanı sıra, otitis eksterna olgularının %75'ine kadarında atopik dermatit ve kutanöz gıda reaksiyonları gibi alerjik nedenlerin etkili olduğu bilinmektedir (Gotthelf, 2017; Paterson, 2017; Paterson ve diğerleri, 2021). O'Neill ve diğerleri (2021) Golden Retriever'ların melez ırklara kıyasla otitis eksterna geliştirme riskinin 2,23 kat daha fazla olduğunu ortaya koymuştur. Benzer şekilde, Kuzeybatı Çin' de gerçekleştirilen bir

çalışmada, analiz edilen otitis eksterna olgularının %10,41' inin Golden Retriever ırkına ait olduğu rapor edilmiştir (Thang ve diğerleri, 2019). Bu çalışmada da otitis eksterna tanısı alan köpeklerin %50' sinin Golden Retriever olduğu tespit edildi. Bu bulgu, bazı yazarların (Thang ve diğerleri, 2019; O'Neill ve diğerleri, 2021; Lecru ve diğerleri, 2022) belirttiği gibi Golden Retriever ırkının hem anatomik ve fizyolojik özellikleri hem de alerjik yatkınlıkları nedeniyle otitis eksterna gelişiminde belirgin bir risk taşıdığını destekler niteliktedir.

STD<sub>1</sub> ile SAP<sub>1</sub> grubunu ve STD<sub>2</sub> ile SAP<sub>2</sub> grubunu oluşturan köpekler arasında cinsiyet ( $p=0,361$ ), yaş ( $p=0,193$ ) ve vücut ağırlığı ( $p=0,249$ ) yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Bu durum, çalışma gruplarının demografik özellikler açısından dengeli bir şekilde dağıldığını göstermektedir. Elde edilen bu bulgu, tedavi etkinliğine ilişkin sonuçların cinsiyet, yaş ve vücut ağırlığı gibi değişkenlerden etkilenmediğini ortaya koymakta ve sonuçların güvenilir bir şekilde değerlendirildiğini desteklemektedir.

Yaş, otitis eksterna gelişiminde literatürde önemli bir faktör olarak tanımlanmaktadır (Qekwana ve diğerleri, 2017). 6-12 aylık erken yaşların yanı sıra, 1-13 yaş arasında başlayan olumsuz gıda reaksiyonlarının da otitis eksterna gelişimine katkıda bulunabileceği belirtilmektedir (Olivry ve Mueller, 2019). Qekwana ve diğerleri, (2017), özellikle 2-8 yaş arasındaki köpeklerin otitis eksternanın yaygın nedenlerinden biri olan *S. pseudintermedius* enfeksiyonlarına daha duyarlı olduğunu rapor etmektedir. Bu çalışmada STD<sub>1</sub> ile SAP<sub>1</sub> grubunu oluşturan köpeklerin yaş ortancası 3,0 (6,0), STD<sub>2</sub> ile SAP<sub>2</sub> grubunu oluşturanların ise 4,0 (4,0) olarak bulundu.

Tüm köpeklerin yaş ortancalarının 2-8 yaş aralığında olması, otitis eksterna gelişimine duyarlılığı destekler niteliktedir. Otitis eksterna gelişiminde yaşın önemini vurgulayan diğer faktör de mikrobiyolojik muayene bulgularıdır. Bu çalışmada tedavi öncesi alınan otik eksudat örneklerinin mikrobiyolojik kültür sonuçlarında en sık tespit edilen etkenler koagülaz pozitif *Staphylococcus* spp. (%21,15) ve *Candida* spp. (%21,15) olarak belirlendi. *Staphylococcus* spp.'nin bu yüksek oranı, bazı yazarların (Yoshida ve diğerleri, 2002; Bouassiba ve diğerleri, 2013; Oliveira ve diğerleri, 2008; Qekwana ve diğerleri, 2017) belirttiği gibi 2-8 yaş grubundaki köpeklerin otitis eksterna yatkınlığı ile örtüşmektedir. Bu durum yaş faktörünün özellikle otitin yaygın sebeplerinden biri olan koagülaz pozitif *Staphylococcus* spp. ile ilişkisini vurgulamaktadır.

Bazı yazarlar (Yoshida ve diğerleri, 2002; Oliveira ve diğerleri, 2008) otitis eksterna olgularında *Pseudomonas* spp.'nin az sıklıkla görüldüğünü bildirirken, bazıları (Hariharan ve

diğerleri, 2006; Bugden, 2013) daha yaygın olduğu belirtmişlerdir. Bu çalışmada *Pseudomonas* spp. ile enfekte köpeklerin daha az sayıda olduğu beleirlendi. Bu durumun muhtemelen hastaların kliniğe erken başvuruları ve otitis eksterna olgularının akut başlangıçlı olması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.

O'Neill ve diğerleri (2021), otitis eksterna olgularında kaşıntı, akıntı ve kötü kokunun yüksek prevalansa sahip olduğunu ve bu belirtilerin hastalığın tanısında önemli göstergeler olarak kabul edildiğini vurgulamaktadır. Ayrıca, kaşıntı ve akıntının kulak kanalındaki inflamasyon ve mikrobiyal yükün göstergesi olduğu belirtilmektedir (De Martino ve diğerleri, 2016). Özellikle *S. pseudintermedius* ve *M. pachydermatis* gibi patojenlerin bu klinik bulguların şiddetlenmesine neden olduğu bildirilmektedir (De Martino ve diğerleri, 2016). Bu çalışmada da en yaygın görülen klinik bulguların O'Neill ve diğerleri (2021) bulgularıyla uyumlu olarak tüm köpeklerde kaşıntı, akıntı ve kötü koku olduğu tespit edildi. Bu bulgular, otitis eksterna olgularında tanımlanan önceki gözlemleri destekler nitelikte olup klinik belirtilerin patogenezdaki önemini bir kez daha vurguladığı düşünülmektedir.

Bir tedavi yöntemi olarak, antibakteriyel (polimiksin B sülfat), antifungal (mikonazol nitrat) ve antiinflamatuvar (prednizolon asetat) bileşenleri ile enfeksiyon ve inflamasyonu kontrol altına almak amacıyla kullanılan Saniotic®' in otitis eksternanın tedavisindeki etkinliği bildirilmektedir (Studdert ve Hughes, 1991; Rougier ve diğerleri, 2005; Engelen ve diğerleri, 2010). Polimiksin B, geniş spektrumlu bir antibiyotik olarak Gram-negatif bakterilere karşı güçlü bakterisidal etkinliğe sahipken (Hariharan ve diğerleri, 1995; Hariharan ve diğerleri, 2006) uzun süreli kullanımlarda ise ototoksisite riski oluşturduğu bilinmektedir (Brummet ve diğerleri, 1976; Kucers ve diğerleri, 1998). Mikonazol, yüksek antifungal ve güçlü antibakteriyel etkinliği ile *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* ve *M. pachydermatis* gibi patojenlere karşı polimiksin B ile sinerjistik bir etki göstermektedir (Cornelissen ve Van den Bossche, 1983; Pietschmann ve diğerleri, 2009). Prednizolon ise karbonhidrat ve mineral metabolizması üzerinde minimal etkiler gösterirken güçlü bir antiinflamatuvar aktivite sergilemektedir (Bolinder ve diğerleri, 2006). Bu çalışmada, Saniotic®' in içerdiği bileşenlerin bu etkin özellikleri ve uzun yıllardır otitis eksterna tedavisindeki yaygın kullanımı nedeniyle standart tedavi olarak tercih edildi. Standart tedaviye kıyasla belirli aralıklarla uygulanan SAP' ın ise otitis eksternalı köpeklerde standart tedaviye benzer bir teropötik etkinlik göstererek tedavide alternatif olabileceği ortaya kondu.

Otitis eksterna tedavisinde kulak temizliği, tedavinin etkinliğini arttırmada kritik bir adım olarak kabul edilmektedir (Paterson, 2016). Kulak temizliğinin tedavi etkinliğini artırdığı ve

lokal ilaçların biyoyararlanımını yükselttiği rapor edilmiştir (Paterson, 2024). Bu çalışmada da standart tedavide kulak temizliği eksudatın temizlenmesine, antibiyotiğin emiliminin artmasına ve dolayısıyla standart tedavi etkinliğine katkı sağlarken, SAP gruplarında da eksudatın temizlenmesi dolayısıyla SAP uygulamasının etkinliğini artırdığı ve plazmanın deri yüzeyine daha iyi nüfuz etmesini sağladığı düşünülmektedir.

STD<sub>1</sub> ile SAP<sub>1</sub> ve STD<sub>2</sub> ile SAP<sub>2</sub> gruplarındaki OTIS-3 ve sitolojik skor değerleri tedavi öncesi ve tedavi süresince incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Bununla birlikte, dört grupta da zamana bağlı OTIS-3 ve sitolojik skor düşüşlerinin anlamlı olduğu belirlendi ( $p<0,01$ ). Özellikle SAP<sub>1</sub> ve SAP<sub>2</sub> gruplarında OTIS-3 değerleri incelendiğinde iyileşme eğiliminin daha hızlı olduğu dikkati çekti. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. SAP' ın daha hızlı bir iyileşme eğilimine katkıda bulunmasının, Nicol ve diğerlerinin (2020) bildirdiği gibi plazma tarafından üretilen ROAT' ın hücre içi sinyal yollarını etkileyerek inflamasyonu azaltması ve geniş spektrumlu antimikrobiyal aktivite göstermesi ile olduğu düşünülmektedir. Ek olarak, SAP' ın oluşturduğu elektromanyetik alanların hücre proliferasyonunu teşvik ettiği ve angiogenezi artırarak yara iyileşmesini hızlandığı da bildirilmektedir (Busco ve diğerleri, 2020). Ayrıca SAP<sub>1</sub> ve SAP<sub>2</sub> gruplarının uygulama sıklığındaki farklılıklar nedeniyle birbirleriyle doğrudan karşılaştırılması yapılamamasına rağmen her grup kendi içerisinde değerlendirildiğinde, OTIS-3 ve sitolojik skorlarındaki düşüşlerin zamanla anlamlı olduğu da gözlemlendi ( $p<0,01$ ). Bu bulgular, SAP tedavisinin her iki uygulama protokolünde de standart tedaviye kıyasla benzer düzeyde etkili bir terapötik yanıt sunduğunu ve standart tedavi kadar etkin bir seçenek olabileceğini göstermektedir. Bu sonuçlar SAP' ın veteriner hekimlikte, özellikle deri ve yara enfeksiyonlarının tedavisinde giderek artan bir kullanım alanı bulacağını düşündürmektedir.

Köpeklerde deri ve kulak enfeksiyonlarına neden olan bakteriler üzerinde SAP' ın *in vitro* antimikrobiyal etkisini inceleyen bir çalışmada, SAP' ın bu enfeksiyonlara yol açan ana bakteriyel suşlara karşı yeterli antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bildirilmektedir (Jin ve diğerleri, 2021). Aynı çalışmada Jin ve diğerleri (2021), Gram-negatif bakterilerin Gram-pozitif bakterilere kıyasla SAP' a daha duyarlı olduğunu da vurgulamışlardır. Köpeklerde deri ve kulak enfeksiyonlarına neden olan ana patojenlerden biri olan *Pseudomonas aeruginosa* üzerinde yapılan *in vitro* çalışmada, SAP' ın hem antibakteriyel hem de antibiyofilm etkinliği gösterilmektedir (Kim ve diğerleri, 2022). Lee ve diğerleri (2022) SAP' ın antifungal etkinliğini araştırdıkları *in vitro* çalışmada, *Malassezia pachydermatis*'e karşı güçlü antifungal aktivite sergilediğini rapor ederken Koban ve diğerleri (2010), SAP' ın *Candida albicans* biyofilmlerine

karşı da güçlü bir antifungal ve antibiyofilm aktivitesine sahip olduğunu bildirmektedirler. Bu çalışmada sitolojik skor değerlendirmelerinde bakteri ve maya sayılarındaki azalma SAP' ın *in vitro* çalışmalarda gösterilen antimikrobiyal aktivitesi ile uyumlu bir etki sağlaması Nicol ve diğerlerinin (2020) belirttiği ROAT oluşumu sırasında ortaya çıkan yüksek oksidatif stresin bakteri ve maya hücre duvarına zarar vermesiyle ve bazı araştırmacıların (Scholtz ve diğerleri, 2015; Marsit ve diğerleri, 2016) da bildirdiği gibi SAP' ın bakteriyel DNA ile etkileşime girerek bakteriyel ölümle sonuçlanan bir mekanizma oluşturmasıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir. *In vitro* çalışmalarda kullanılan SAP cihazları ile bu çalışmada kullanılan PetcellPen® SAP cihazı arasında teknik farklılıkların bulunması tedavi etkinliğini etkileyebileceği için sonuçların değerlendirilmesinde bu durumun göz önünde bulundurulmasının önemli olduğu düşünülmektedir.

Daeschlein ve diğerleri (2014), DBD tipi SAP teknolojilerinin *S. aureus*, *P. aeruginosa* ve *Enterococcus faecium* gibi çoklu ilaca dirençli bakterilere karşı yüksek antimikrobiyal etkinlik sergilediğini bildirmektedir. Bu çalışmada SAP<sub>2</sub> grubunda zamanla STD<sub>2</sub>' ye kıyasla sitolojik skorda istatistiksel anlamlılık göstermese de daha belirgin bir düşüş gözlemlenmesi; antibiyotik duyarlılık testleri yapılmamış olmasına rağmen ilaçlara dirençli patojenlerin SAP' a karşı duyarlılık gösterebileceğini düşündürmektedir. Bu bulgu, geleneksel antibiyotiklere direnç geliştirmiş patojenlerin neden olduğu dermatolojik hastalıkların tedavisinde PetcellPen® gibi DBD tipi SAP cihazlarının klinik uygulamalarda önemli bir potansiyele sahip olabileceğini güçlendirmektedir.

Kim ve diğerleri (2022) tarafından gerçekleştirilen bir *in vitro* çalışmada, SAP' ın *Pseudomonas aeruginosa* biyofilmlerini etkili bir şekilde yok ettiği rapor edilmiştir. İnsanlarda *Malassezia* türlerine karşı SAP' ın hem planktonik hem de biyofilm formları üzerinde güçlü bir antifungal etki gösterdiği belirtilmiştir (Lee ve diğerleri, 2022). Bu çalışmada biyofilm varlığı tespit edilen üç köpeğin kulaklarının sitolojik skorları olgu bazında incelendiğinde, 15. günde yalnızca bir standart tedavi olgusunda skor 1' e düşerken, SAP tedavisi uygulanan tüm olgularda skor 1 olarak kaydedildi. Bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı olmasa da biyofilm tespit edilen olguların mikrobiyolojik kültürlerinde *P. aeruginosa* izole edilmesi, SAP' ın biyofilmlere karşı etkili olabileceğini ve veteriner hekimlikte biyofilm oluşumuna bağlı dirençli enfeksiyonların tedavisinde yenilikçi bir seçenek olarak öne çıkabileceğini düşündürmektedir.

Bu çalışmada araştırmacı ve hasta sahibinin tedaviye verdiği yanıtı değerlendirmek amacıyla, King ve diğerleri (2018) tarafından köpeklerde otitis eksterna tedavisiyle ilişkili yapılan klinik çalışmada kullanılan ölçek tercih edildi. Bu ölçek, hasta sahibinin gözlemlerine

dayalı olarak tedavi sürecini daha objektif hale getirirken araştırmacının klinik değerlendirmesi ile de desteklendi. King ve diğerleri (2018), tedavi etkinliğini 28. ve 56. günlerde değerlendirilirken, bu çalışmada ölçek 5., 10. ve 15. günlerdeki tedavi etkinliğini değerlendirmek için kullanıldı. Dört grupta da araştırmacı ve hasta sahiplerinin tedavi etkinliği değerlendirmeleri birbiriyle uyumluluk gösterdi. 15. günde, STD<sub>1</sub> ve SAP<sub>1</sub> gruplarında hasta sahiplerinin tamamı, STD<sub>2</sub> ve SAP<sub>2</sub> gruplarında ise neredeyse tamamı tedaviye ilişkin "çok iyi" ve "iyi" yanıtlar bildirdi. Hasta sahipleri, SAP tedavisinin günlük uygulama ve evde müdahale gerektirmeksizin otitis eksterna tedavisini etkin bir şekilde sağlamasından büyük memnuniyet duyduklarını belirttiler. Bu özellik, SAP' ın yalnızca pratikliğiyle değil, aynı zamanda hasta ve sahiplerinin yaşam kalitesini artırmadaki potansiyeli açısından da pozitif etkiye sahip olabileceğini gösterdi.

Soğuk atmosferik plazma tedavisinin genel tolere edilebilirliğinin geleneksel Melbourne Ağrı Ölçeği (Reid ve diğerleri, 2007) kullanılarak kulakların palpasyonu sırasında hastaların buna verdiği reaksiyonların ve kaşıntı gibi semptomların değerlendirilmesi, hastaların sedasyona alınması nedeniyle gerçekleştirilemedi. Bu sebeple, SAP tedavisinin eşgal lokal tolere edilebilirliği yalnızca gözlemsel verilere dayalı olarak incelendi ve SAP tedavisi uygulanan hastaların hiçbirinde uygulamaya bağlı eritem artışı gözlenmedi. Bu durum tedavi süresince yapılan OTIS-3 puanlamalarında eritem skorunun artış göstermemesi ile SAP tedavisinin lokal tolere edilebilirliğini destekledi. SAP tedavisi klinik olarak önemli bir yan etki olmaksızın tüm hastalar tarafından iyi tolere edildi.

Lee ve diğerleri (2022), köpeklerde Soğuk Atmosferik Mikrodalga Plazma (SAMP) tedavisinin deri uygulamalarının genellikle iyi tolere edildiğini ancak bazı köpeklerde 4 dakikalık tedavi süresinde ısı artışı ve hafif eritem gözlemlendiğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde SAMP ile kedi ve köpeklerde yara iyileşmesini inceleyen bir başka çalışmada, hastaların %25,93' ünde hafif düzeyde eritem gözlenmiş ve bu etkinin bir saat içerisinde kaybolduğu belirtilmiştir (Yoo ve diğerleri, 2023). İnsan derisi üzerindeki DBD tipi SAP cihazları ile yapılan uygulamaların hafif eritem gibi minimal yan etkilerinin nadiren gözlemlendiği rapor edilmiştir (Daeschlein ve diğerleri, 2012). Mikrodalga plazmaların genellikle daha yüksek enerji seviyelerine sahip olduğu ve bunun deride daha güçlü etkiler yarattığı bilinmektedir (Jin ve diğerleri, 2021). SAMP' ın aracı gazı olarak kullanılan argon gazının, plazmanın homojenliğini artırarak yan etki riskini azaltabilse de dikkatli bir şekilde uygulanması gerektiği vurgulanmaktadır. Ayrıca, SAMP uygulamalarında plazma oluşumu sırasında meydana gelen basınç ve hız nedeniyle kulak içi uygulamalarda timpanik membranda

hasar gibi olumsuz etkilerin görülebileceğine dikkat çekilmiştir (Jin ve diğerleri, 2021). Bu çalışmada kullanılan PetcellPen® gibi DBD tipi SAP cihazları, düşük sıcaklıkta çalışmaları ve hassas kontrol edilebilirlikleri sayesinde hem deri uygulamalarında (Daeschlein ve diğerleri, 2014) hem de otolojik tedavilerde (Bakır ve diğerleri, 2024) daha güvenli bir alternatif olarak öne çıkmaktadır. Ayrıca, bu cihazların küçük ve taşınabilir yapısı, klinik ortamda kullanım kolaylığı sağlamaktadır.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Soğuk atmosferik plazmanın köpeklerde AOE tedavisindeki terapötik etkinliğinin, tolere edilebilirliğinin ve güvenilirliğinin iki farklı uygulama protokolü ile değerlendirildiği bu tezde;

- STD<sub>1</sub> ile SAP<sub>1</sub> ve STD<sub>2</sub> ile SAP<sub>2</sub> gruplarındaki OTIS-3 ve sitolojik skor değerlerinde tedavi öncesi ve süresince gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı ve SAP tedavisinin her iki uygulama protokolünde de standart tedaviye benzer düzeyde etkili bir terapötik yanıt gösterdiği,
- Antibiyotiklere direnç geliştirmiş ve biyofilm oluşturan patojenlere karşı SAP uygulamalarının önemli bir potansiyele sahip olabileceği,
- Soğuk atmosferik plazma tedavisinin hasta ve sahiplerinin yaşam kalitesini artırabileceği,
- Soğuk atmosferik plazma tedavisinin iyi tolere edildiği belirlendi.

Sonuç olarak, SAP' ın otitis eksterna semptomlarını hafifletmek hatta tamamen ortadan kaldırmak için standart tedavi kadar etkili olduğu ve yenilikçi bir tedavi seçeneği olarak kullanılabileceği sonucuna varıldı. Veteriner hekimlikte daha yaygın ve etkin bir tedavi olarak kullanımı ve daha fazla literatür desteğini sağlamak amacıyla çok merkezli ve uzun vadeli çalışmalar yapılması gerekmektedir. Bu kapsamda;

- Soğuk atmosferik plazmanın kronik OE ve çoklu ilaca dirençli bakterilerin neden olduğu dermatolojik hastalıklardaki etkinliğinin araştırılması,
- Biyofilm varlığının mikrobiyolojik ve moleküler yöntemlerle tespit edilerek SAP'ın biyofilm oluşumunu önlemedeki mekanizmalarının açıklığa kavuşturulması,
- Soğuk atmosferik plazmanın kulak içi uygulamaları için farklı tip plazma cihazları ile etkinliğinin değerlendirilmesi önerilmektedir.

## KAYNAKLAR

- Abraham, G., Gottschalk, J., Ungemach, F. R. (2005). Evidence for ototopical glucocorticoid-induced decrease in hypothalamic pituitary adrenal axis response and liver function. *Endocrinology*, 146, 3163–3171. doi:10.1210/en.2005-0080
- Aggarwal, V., Tuli, H. S., Varol, A., Thakral, F., Yerer, M. B., Sak, K., ...Sethi, G. (2019). Role of reactive oxygen species in cancer progression: Molecular mechanisms and recent advancements. *Biomolecules*, 9, 735. doi:10.3390/biom9110735
- Alakomi, H. L., Skyttä, E., Saarela, M., Mattila-Sandholm, T., Latva-Kala, K., Helander, I. M. (2000). Lactic acid permeabilizes gram-negative bacteria by disrupting the outer membrane. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(5), 2001–2005. doi:10.1128/AEM.66.5.2001-2005.2000
- Ale-Ebrahim, M., Janani, E., Mortazavi, P. (2018). The effect of cold argon plasma in atmospheric pressure on increasing blood coagulation speed and full-thickness cutaneous wound healing in rats. *Veterinary Clinical Pathology Quarterly Scientific Journal*, 4(4), 323–336.
- Allison, R., Hale, G., Williams, G. (2011). *Fusidic acid and framycetin show synergistic antimicrobial activity in vitro*. Twenty-fifth Annual Congress of the ESVD/ECVD, Brussels, Belgium.
- Amini, M., Momeni, M., Jahandideh, A., Ghoranneviss, M., Soudmand, S., Yousefi, P., ... Amini, M. (2021). Tendon repair by plasma jet treatment. *Journal of Diabetes and Metabolic Disorders*, 20(1), 621–626. doi:10.1007/s40200-021-00789-0
- Andersson, D. I., Hughes, D. (2014). Microbiological effects of sublethal levels of antibiotics. *Nature Reviews Microbiology*, 12, 465–78. doi: 10.1038/nrmicro3270
- Angus, J. C. (2004). Otic cytology in health and disease. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 34(2), 411-424. doi:10.1016/j.cvsm.2003.10.005
- Arais, L. R., Barbosa, A. V., Carvalho, C. A., Cerqueira, A. M. (2016). Antimicrobial resistance, integron carriage, and *gyrA* and *gyrB* mutations in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from dogs with otitis externa and pyoderma in Brazil. *Veterinary Dermatology*, 27(2), 113-131. doi: 10.1111/vde.12290

- Arndt, S., Unger, P., Wacker, E., Shimizu, T., Heinlin, J., Li, Y.-F., ... Karrer, S. (2013). Cold Atmospheric Plasma (CAP) Changes Gene Expression of Key Molecules of the Wound Healing Machinery and Improves Wound Healing In Vitro and In Vivo. *PLoS ONE*, 8(11), 79325. doi:10.1371/journal.pone.0079325
- Arserim, E. H., Salvi, D., Fridman, G., Schaffner, D. W., Karwe, M. V. (2021). Microbial inactivation by non-equilibrium short-pulsed atmospheric pressure dielectric barrier discharge (cold plasma): Numerical and experimental studies. *Food Engineering Reviews*, 13, 136–147. doi: 10.1007/s12393-020-09256-7
- August, J. R. (1988). Otitis externa. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 18(4), 731–742. doi:10.1016/s0195-5616(88)50076-1
- Babossalam, S., Abdollahimajd, F., Aghighi, M., Mahdikia, H., Dilmaghanian, A., Toossi, P., Shokri, B. (2020). The effect of nitrogen plasma on the skin and hair follicles: a possible promising future for the treatment of alopecia. *Archives of Dermatological Research*, 312(5), 361–371. doi: 10.1007/s00403-019-02020-w.
- Bae, S., Lim, D., Kim, D., Jeon, J., Oh, T. (2020). In vitro antibacterial effects of non-thermal atmospheric plasma irradiation on *Staphylococcus pseudintermedius* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 23(1), 13-19. doi: 10.24425/pjvs.2019.131414
- Bajwa, J. (2019). Canine otitis externa: Treatment and complications. *Canadian Veterinary Journal*, 60(1), 97–99.
- Bakır, A., Nett-Mettler, C. S., Ulutas, B. (2024). Therapeutic efficacy of cold atmospheric plasma in four golden retrievers with acute otitis externa. *Veterinary Dermatology*, 35, 745–749. doi:10.1111/vde.13287
- Banovic, F., Reno, L., Lawhon, SD., Wu, J., Hoffmann, A. R. (2023). Tolerability and the effect on skin *Staphylococcus pseudintermedius* density of repeated diluted sodium hypochlorite (bleach) baths at 0.005% in healthy dogs. *Veterinary Dermatology*, 34, 489–494. doi: 10.1111/vde.13186
- Bassett, R. J., Burton, G. G., Robson, D. C., Hepworthet, G. (2004). Efficacy of an acetic acid/boric acid ear cleaning solution for treatment and prophylaxis of *Malassezia* spp. Otitis externa. *Australian Veterinary Journal*, 34(2), 79–81.
- Beck, K. M., Waisglass, S. E., Dick, H. L., Weese, J. S. (2012). Prevalence of meticillin-

- resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) from skin and carriage sites of dogs after treatment of their meticillin-resistant or meticillin-sensitive staphylococcal pyoderma. *Veterinary dermatology*, 23(4), 369–e67. doi:10.1111/j.1365-3164.2012.01035.x
- Benčina, M., Resnik, M., Starič, P., Junkar, I. (2021). Use of plasma technologies for antibacterial surface properties of metals. *Molecules*, 26. doi:10.3390/molecules26051418
- Benigni, L., Lamb, C. (2006). Diagnostic imaging of the ear disease in the dog and cat. *In Practice*, 28(3), 122–130. doi: 10.1136/inpract.28.3.122
- Bensignor, E. (2003). An approach to otitis externa and otitis media. In A. Foster, C. Foil (Eds.), *BSAVA Manual of Small Animal Dermatology* (pp. 104–111). British Small Animal Veterinary Association. doi:10.22233/9781905319886.15
- Bensignor, E., Pattyn, J., Reme, C. A. (2012). Reduction of relapse of recurrent otitis externa in atopic dogs with twice-weekly topical application of 0.0584% hydrocortisone aceponate in the ear canal. *Veterinary Dermatology*, 23(1), 9.
- Bernhardt, T., Semmler, M. L., Schäfer, M., Bekeschus, S., Emmert, S., Boeckmann, L. (2019). Plasma medicine: Applications of cold atmospheric pressure plasma in dermatology. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, 1–10. doi:10.1155/2019/3873928
- Blaskovich, M. A. (2019). The diminished antimicrobial pipeline. *Microbiology Australia*, 40(2), 92-96. doi:10.1071/MA19025
- Blue, J. L., Wooley, R. E., Eagon, R. G. (1974). Treatment of experimentally induced *Pseudomonas aeruginosa* otitis externa in the dog by lavage with EDTA-tromethamine-lysozyme. *American Journal of Veterinary Research*, 35, 1221–1223.
- Boda, C., Liege, P., Reme, C. A. (2011). Evaluation of owner compliance with topical treatment of acute otitis externa in dogs: A comparative study of two auricular formulations. *The International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*, 9, 157–165.
- Bolinder, A., Cameron, K., Faubert, L., Wilson, J., Aramini, J., Hare, J. (2006). In vivo efficacy study of the anti-inflammatory properties of Surolan. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 70(3), 234–236.
- Bosch, L., Habedank, B., Siebert, D., Mrotzek, J., Viöl, W. Cold Atmospheric Pressure Plasma Comb-A Physical Approach for Pediculosis Treatment. (2019). *International Journal of*

- Bouassiba, C., Osthold, W., Mueller, R. S. (2013). Comparison of four different staining methods for ear cytology of dogs with otitis externa. *Tierärztliche Praxis Ausgabe K: Kleintiere/Heimtiere*, 41(1), 7-15.
- Bourelly, C., Cazeau, G., Jarrige, N., Leblond, A., Madec, J. Y., Haenni, M., Gay, E. (2019). Antimicrobial resistance patterns of bacteria isolated from dogs with otitis. *Epidemiology and Infection*, 147, 121. doi:10.1017/S0950268818003278
- Boyen, F., Verstappen, K. M., De Bock, M., Duim, B., Weese, J. S., Schwarz, S., ... Wagenaar, J. A. (2012). In vitro antimicrobial activity of miconazole and polymyxin B against canine methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolates. *Veterinary Dermatology*, 23(4), 381. doi:10.1111/j.1365-3164.2012.01040.x
- Brandenburg, R. (2017). Dielectric barrier discharges: Progress on plasma sources and on the understanding of regimes and single filaments. *Plasma Sources Science and Technology*, 26. doi:10.1088/1361-6595/aa6426
- Braný, D., Dvorská, D., Halašová, E., Škovierová, H. (2020). Cold Atmospheric Plasma: A Powerful Tool for Modern Medicine. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(8), 2932. doi: 10.3390/ijms21082932.
- Buckley, L. M., McEwan, N. A., Nuttall, T. (2013). Tris-EDTA significantly enhances antibiotic efficacy against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in vitro. *Veterinary Dermatology*, 24(5), 519–e122. doi:10.1111/vde.12071
- Bugden, D. L. (2013). Identification and antibiotic susceptibility of bacterial isolates from dogs with otitis externa in Australia. *Australian Veterinary Journal*, 91(1-2), 43-46. doi:10.1111/avj.12007
- Busco, G., Robert, E., Chettouh-Hammas, N., Pouvesle, J. M., Grillon, C. (2020). The emerging potential of cold atmospheric plasma in skin biology. *Free Radical Biology and Medicine*. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2020.10.004
- Bussieras, J., Barlerin, L., Polack, B. (1998). Acetic acid and otitis due to *Pseudomonas aeruginosa* in dogs. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 149, 339–341.
- Caffier, P. P., Harth, W., Mayelzadeh, B., Haupt, H., Sedlmaier, B. (2007). Tacrolimus: a new option in therapy-resistant chronic external otitis. *The Laryngoscope*, 117(6), 1046–1052.

doi:10.1097/MLG.0b013e31804b1aad

- Chan, W. Y., Khazandi, M., Hickey, E. E., Page, S. W., Trott, D. J., Hill, P. B. (2019). In vitro antimicrobial activity of seven adjuvants against common pathogens associated with canine otitis externa. *Veterinary Dermatology*, 30(2), 133–e38. doi:10.1111/vde.12712
- Chauvin, J., Judée, F., Yousfi, M., Vicendo, P., Merbahi, N. (2017). Analysis of reactive oxygen and nitrogen species generated in three liquid media by low temperature helium plasma jet. *Scientific Reports*, 7, 1–15. doi:10.1038/s41598-017-04650-4
- Chickering, W. R. (1988). Cytologic evaluation of otic exudates. *Veterinary Clinics of North America*, 18, 773–782. doi:10.1016/s0195-5616(88)50080-3
- Choi, J. H., Song, Y. S., Lee, H. J., Hong, J. W., Kim, G. C. (2016). *Inhibition of inflammatory reactions in 2,4-Dinitrochlorobenzene induced Nc/Nga atopic dermatitis mice by non-thermal plasma*. *Scientific Reports*, 6(1). doi:10.1038/srep27376.
- Ciocan, O., Carp-Cărare, M., Rîmbu, C., Cozma, A., Carp-Cărare, C., Guguianu, E., Panzaru, C. (2015). The incidence of dog recurrent otitis caused by strains of multidrug-resistant (MDR) *Pseudomonas aeruginosa*. *Lucrari Stiintifice-Universitatea de Stiinte Agricole a Banatului Timisoara, Medicina Veterinara*, 48(3), 26-31. doi:10.13140/RG.2.1.2797.0084
- Clutterbuck, A. L., Woods, E. J., Knottenbelt, D. C., Clegg, P. D., Cochrane, C. A., Percival, S. L. (2007). Biofilms and their relevance to veterinary medicine. *Veterinary Microbiology*, 121(1), 1-17. doi:10.1016/j.vetmic.2006.12.029
- Cochat-Aubert, L. N. (1998). *Une methode simplifiee de traitement des otites externes suppuratives du chien Pseudomonas aeruginosa* (Doctoral thesis, Ecole Veterinaire D'Alfort, Paris, France).
- Cole, L. K. (2013, February 17–21). *Topical and systemic medications for otitis externa & otitis media*. Western Veterinary Conference Session Notes, Las Vegas, Nevada.
- Cole, L. K., Kwochka, K. W., Kowalski, J. J., Hillier, A. (1998). Microbial flora and antimicrobial susceptibility patterns of isolated pathogens from the horizontal ear canal and middle ear in dogs with otitis media. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 212(4), 534–538.
- Cole, L. K., Kwochka, K. W., Kowalski, J. J., Hillier, A., Hoshaw-Woodard, S. L. (2003). Evaluation of an ear cleanser for the treatment of infectious otitis externa in

- dogs. *Veterinary Therapeutics: Research in Applied Veterinary Medicine*, 4(1), 12–23.
- Colombo, S., Hill, P. B., Shaw, D. J., Thoday, K. L. (2007). Requirement for additional treatment for dogs with atopic dermatitis undergoing allergen-specific immunotherapy. *Veterinary Record*, 160, 861–864. doi: 10.1136/vr.160.25.861
- Comelissen, F., Van den Bossche, H. (1983). Synergism of the antimicrobial agents miconazole, hacitracin and polymyxin B. *Chemotherapy*, 29, 419-427.
- Costerton, J. W., Stewart, P. S., Greenberg, E. P. (1999). Bacterial biofilms: A common cause of persistent infections. *Science*, 284(5418), 1318-1322. doi:10.1126/science.284.5418.1318
- Daeschlein, G., Napp, M., von Podewils, S., Lutze, S., Emmert, S., Lange, A., ... Jünger, M. (2014). In Vitro Susceptibility of Multidrug Resistant Skin and Wound Pathogens Against Low Temperature Atmospheric Pressure Plasma Jet (APPJ) and Dielectric Barrier Discharge Plasma (DBD). *Plasma Processes and Polymers*, 11(2), 175-183. doi:10.1002/ppap.201300070
- Daeschlein, G., Scholz, S., Ahmed, R., Majumdar, A., von Woedtke, T., Haase, H., ... Jünger, M. (2012). Cold plasma is well-tolerated and does not disturb skin barrier or reduce skin moisture. *JDDG: Journal Der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*, 10(7), 509–515. doi:10.1111/j.1610-0387.2012.07857.x
- Daeschlein, G., Scholz, S., Arnold, A., Woedtke, T., Kindel, E., Niggemeier, M., ... Jünger, M. (2010). In Vitro Activity of Atmospheric Pressure Plasma Jet (APPJ) Plasma Against Clinical Isolates of *Demodex Folliculorum*. *IEEE Transactions on Plasma Science*. doi: 10.1109/TPS.2010.2061870
- De Bellis, F. (2011). *Endocrinopathies in dogs: How to recognise and treat cases*. Vet Times.
- De Martino, L., Nocera, F. P., Mallardo, K., Nizza, S., Masturzo, E., Fiorito, F., Catalanotti, P. (2016). An update on microbiological causes of canine otitis externa in Campania Region, Italy. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(5), 384–389. doi:10.1016/j.apjtb.2015.11.012
- Degi, J., Imre, K., Cătană, N., Morar, A., Sala, C., Herman, V. (2013). Frequency of isolation and antibiotic resistance of staphylococcal flora from external otitis of dogs. *Veterinary Record*, 173(2), 42. doi:10.1136/vr.101426
- Dharini, M., Jaspin, S., Mahendran, R. (2023). Cold plasma reactive species: Generation,

- properties, and interaction with food biomolecules. *Food Chemistry*, 405, 134746. doi:10.1016/j.foodchem.2022.134746
- Dijksteel, G. S., Ulrich, M. M. W., Vlig, M., Sobota, A., Middelkoop, E., Boekema, B. K. H. L. (2020). Safety and bactericidal efficacy of cold atmospheric plasma generated by a flexible surface dielectric barrier discharge device against *Pseudomonas aeruginosa* in vitro and in vivo. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 19, 37. doi: 10.1186/s12941-020-00381-z
- Eliezer, S., Eliezer, Y. (2001). *The fourth state of matter: An introduction to plasma Science* (2nd ed.). Boca Raton: CRC Press. doi:10.1201/NOE0750307406
- Emmert, S., Brehmer, F., Hänßle, H., Helmke, A., Mertens, N., Ahmed, R., ... Viöl, W. (2013). Atmospheric pressure plasma in dermatology: Ulcus treatment and much more. *Clinical Plasma Medicine*, 1(1), 24–29. doi:10.1016/j.cpme.2012.11.002
- Engelen, M., Bock, M.D., Hare, J., Goossens, L. (2010). Effectiveness of an otic product containing miconazole, polymyxin B and prednisolone in the treatment of canine otitis externa: multi-site field trial in the US and Canada. *International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*, 8, 21-30.
- Farca, A. M., Nebbia, P., Re, G. (1991). Potentiation of the in vitro activity of some antimicrobial agents against selected gram-negative bacteria by EDTA tromethamine. *Veterinary Research Communications*, 17, 77–84. doi:10.1007/BF01839235
- Farca, A. M., Piromalli, G., Maffei, F., Re, G. (1997). Potentiating effect of EDTA-Tris on the activity of antibiotics against resistant bacteria associated with otitis, dermatitis and cystitis. *The Journal of Small Animal Practice*, 38(6), 243–245. doi:10.1111/j.1748-5827.1997.tb03356.x
- Favrot, C., Linek, M., Mueller, R., Zini, E. (2010). Development of a questionnaire to assess the impact of atopic dermatitis on health-related quality of life of affected dogs and their owners. *Veterinary Dermatology*, 21(1), 64–70. doi:10.1111/j.1365-3164.2009.00781.x
- Foster, A. P., Deboer, D. J. (1998). The role of *Pseudomonas* in canine ear disease. *Compendium of Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, 20(12), 909–918.
- Fridman, A., Kennedy, L. A. (2004). *Plasma physics and engineering* (1st ed.). Boca Raton: CRC Press. doi:10.1201/9781482293630
- Friedman, P. C. (2020). Cold atmospheric pressure (physical) plasma in dermatology: Where

are we today? *International Journal of Dermatology*, 59(10), 1171–1184. doi:10.1111/ijd.15110

- Friedman, P. C., Miller, V., Fridman, G., Lin, A., Fridman, A. (2017). Successful treatment of actinic keratoses using nonthermal atmospheric pressure plasma: A case series. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 76(2), 349–350. doi: 10.1016/j.jaad.2016.09.004.
- Gales, A. C., Jones, R. N., Sader, H. S. (2006). Global assessment of the antimicrobial activity of polymyxin B against 54,731 clinical isolates of Gram-negative bacilli: Report from the SENTRY antimicrobial surveillance programme (2001–2004). *Clinical Microbiology and Infection*, 12(4), 315–321. doi:10.1111/j.1469-0691.2005.01351.x
- Gales, A. C., Jones, R. N., Sader, H. S. (2011). Contemporary activity of colistin and polymyxin B against a worldwide collection of Gram-negative pathogens: Results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2006–09). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 66(9), 2070–2074. doi:10.1093/jac/dkr239
- Gan, L., Zhang, S., Poorun, D., Liu, D., Lu, X., He, M., ... Chen, H. (2017). Medical applications of non-thermal atmospheric pressure plasma in dermatology. *Deutsche Dermatologische Gesellschaft*. doi: 10.1111/ddg.13373
- Garosi, L. S., Dennis, R., Schwarz, T. (2003). Review of diagnostic imaging of ear diseases in the dog and cat. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 44(2), 137–146. doi:10.1111/j.1740-8261.2003.tb01262.x
- Ghibaud, G., Cornegliani, L., Martino, P. (2004). Evaluation of in vivo effects of tris EDTA and chlorhexidine gluconate 0.15% solution in chronic bacterial otitis externa: 11 cases. *Veterinary Dermatology*, 15(2), 65. doi:10.1111/j.1365-3164.2004.00414\_74.x
- Ghubash, R., Marsella, R., Kunkle, G. (2004). Evaluation of adrenal function in small-breed dogs receiving otic glucocorticoids. *Veterinary Dermatology*, 15(5), 363–368. doi:10.1111/j.1365-3164.2004.00416.x
- Gibbs, C. (1978). Radiological refresher. II. The head – part III. Ear disease. *Journal of Small Animal Practice*, 19(11), 539–545.
- Ginel, P. J., Lucena, R., Rodriguez, J. C., Ortega, J. (2002). A semiquantitative cytological evaluation of normal and pathological samples from the external ear canal of dogs and cats. *Veterinary Dermatology*, 13(3), 151–156. doi:10.1046/j.1365-3164.2002.00288.x

- Gotthelf, L. N. (2005). Examination of the external ear canal. In L. N. Gotthelf (Ed.), *Small Animal Ear Diseases: An Illustrated Guide* (2nd ed., pp. 23–39). Elsevier.
- Gotthelf, L. N. (2017). Efficacy of APOQUEL® for the control of otitis externa secondary to allergic skin disease in client-owned dogs. *International Journal of Veterinary Health Science & Research*, 5(7), 208–212. doi:10.19070/2332-2748-1700041
- Gottschalk, J., Einspanier, A., Ungemach, F. R., Abraham, G. (2011). Influence of topical dexamethasone applications on insulin, glucose, thyroid hormone and cortisol levels in dogs. *Research in Veterinary Science*, 90(3), 491–497. doi:10.1016/j.rvsc.2010.06.026
- Grable, S. (2017). Otitis externa: Inflammation of the ear canal. *Today's Veterinary Nurse*.
- Greek, J. (2004). Canine otitis externa identification & treatment. *NAVC Clinician's Update, July 2004 Supplement*, 1–4.
- Griffin, C. (2010). Classifying cases of otitis externa: The PPSP system. *Proceedings of ESVD Workshop on Otitis*, St Helens, UK.
- Griffin, C. E. (1993). Otitis externa and otitis media. In C. E. Griffin, K. W. Kwochka, J. M. MacDonald (Eds.), *Current Veterinary Dermatology* (pp. 245–262). St. Louis: Mosby.
- Guardabassi, L., Ghibaud, G., Damborg, P. (2010). In vitro antimicrobial activity of a commercial ear antiseptic containing chlorhexidine and Tris-EDTA. *Veterinary Dermatology*, 21(3), 282–286. doi:10.1111/j.1365-3164.2009.00812.x
- Guo, J., Huang, Y., Xu, B., Yang, J. (2022). Efficacy of cold atmospheric plasma therapy on chronic wounds: An updated systematic review and meta-analysis of RCTs. *Computational and Mathematical Methods in Medicine*, 5798857. doi:10.1155/2022/5798857
- Han, J. I., Yang, C. H., Park, H. M. (2015). Emergence of biofilm-producing *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from healthy dogs in South Korea. *Veterinary Quarterly*, 35(4), 207–210. doi:10.1080/01652176.2015.1096429
- Han, L., Patil, S., Daniela Boehm, V., Milosavljević, P. J. C., Bourke, P. (2016). Mechanisms of inactivation by high-voltage atmospheric cold plasma differ for *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(2), 450–458. doi: 10.1128/ AEM.02660-15
- Hariharan, H., Coles, M., Poole, D., Lund, L., Page, R. (2006). Update on antimicrobial

- susceptibilities of bacterial isolates from canine and feline otitis externa. *The Canadian veterinary journal = La revue veterinaire canadienne*, 47(3), 253–255
- Hariharan, H., McPhee, L., Heaney, S., Bryenton, J. (1995). Antimicrobial drug susceptibility of clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Canadian Veterinary Journal*, 36, 166-167.
- Harth, W., Caffier, P. P., Mayelzadeh, B., Haupt, H., Sedlmaier, B., Richard, G. (2007). Topical tacrolimus treatment for chronic dermatitis of the ear. *European Journal of Dermatology*, 17(5), 405–411. doi: 10.1684/ejd.2007.0238
- Harvey, R. G., Paterson, S. (2014). *Otitis Externa: An Essential Guide to Diagnosis and Treatment*. Boca Raton: CRC Press.
- Hasse, S., Duong Tran, T., Hahn, O., Kindler, S., Metelmann, H. R., von Woedtke, T., Masur, K. (2016). Induction of proliferation of basal epidermal keratinocytes by cold atmospheric-pressure plasma. *Clinical and Experimental Dermatology*, 41(2), 202–209. doi:10.1111/ced.12735
- Henneveld, K., Rosychuk, R. A., Olea-Popelka, F. J., Hyatt, D. R., Zabel, S. (2012). *Corynebacterium* spp. in dogs and cats with otitis externa and/or media: a retrospective study. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 48(5), 320–326. doi:10.5326/JAAHA-MS-5791
- Hidalgo, E., Bartolome, R., Dominguez, C. (2002). Cytotoxicity mechanisms of sodium hypochlorite in cultured human dermal fibroblasts and its bactericidal effectiveness. *Chemico-Biological Interactions*, 139(3), 265–282. doi: 10.1016/s0009-2797(02)00003-0
- Hnilica, K. A., Patterson, A. P. (2019). *Small animal dermatology: A color atlas and therapeutic guide* (4th ed.). Elsevier.
- Hoffmann, C., Berganza, C., Zhang, J. (2013). Cold atmospheric plasma: Methods of production and application in dentistry and oncology. *Medical Gas Research*, 3(1), 21. doi:10.1186/2045-9912-3-21
- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T., Williams, S. T. (1994). *Bergey's manual of determinative bacteriology* (9<sup>th</sup> ed.). Baltimore: Williams and Wilkins.
- Huang, H. P. (1993). *Studies of the microenvironment and microflora of the canine external ear canal* (Doctoral dissertation, Glasgow University).

- Huang, H. P., Little, C. J. L., McNeil, P. E. (2009). Histological changes in the external ear canal of dogs with otitis externa. *Veterinary Dermatology*, 20(5–6), 422–428. doi:10.1111/j.1365-3164.2009.00853.x
- Hui, W. L., Perrotti, V., Iaculli, F., Piattelli, A., Quaranta, A. (2020). The emerging role of cold atmospheric plasma in implantology: A review of the literature. *Nanomaterials (Basel)*, 10. doi:10.3390/nano10081505
- Hüfner, A., Steffen, H., Holtfreter, B., Schlüter, R., Duske, K., Matthes, R., ...Jablonowski, L. (2017). Effects of Non-Thermal Atmospheric Pressure Plasma and Sodium Hypochlorite Solution on *Enterococcus faecalis* Biofilm: An Investigation in Extracted Teeth. *Plasma Processes and Polymers*, 14(3), 1600064. doi:10.1002/ppap.201600064
- Isbary, G., Shimizu, T., Li, Y. F., Stolz, W., Thomas, H. M., Morfill, G. E., Zimmermann, J. L. (2013). Cold atmospheric plasma devices for medical issues. *Expert Review of Medical Devices*, 10(3), 367–377. doi: 10.1586/erd.13.4.
- Jamet, J. F., Marignac, G., Petit, J. Y. (2016). Prospective study of the effect of otitis externa before and after treatment on 20 owners' assessment of their and their dog's quality of life. *Veterinary Dermatology*, 27(1), 45. [Abstract].
- Jiang, C., Chen, M. T., Gorur, A., Schaudinn, C., Jaramillo, D. E., Costerton, J. W., ...Gundersen, M. A. (2009). Nanosecond pulsed plasma dental probe. *Plasma Processes and Polymers*, 6(7), 479–483. doi:10.1002/ppap.200831067
- Jin, H. J., Hwang, C. Y., Kang, J. H., Baek, S. J., Hyun, J. E. (2021). In vitro antimicrobial activity of cold atmospheric microwave plasma against bacteria causing canine skin and ear infections. *Veterinary Dermatology*, 32(6), 462-e126. doi: 10.1111/vde.13012
- Jones, R. D., Kania, S. A., Rohrbach, B. W., Frank, L. A., Bemis, D. A. (2007). Prevalence of oxacillin- and multidrug-resistant staphylococci in clinical samples from dogs: 1,772 samples (2001–2005). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 230(2), 221-227. doi:10.2460/javma.230.2.221
- Judee, F., Wattieaux, G., Merbahi, N., Mansour, M., Castanié-Cornet, M. P. (2014). The antibacterial activity of a microwave argon plasma jet at atmospheric pressure relies mainly on UV-C radiations. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 47(40), 405201. doi:10.1088/0022-3727/47/40/405201
- Kang, J. H., Chung, T. H., Hwang, C. Y. (2017). Clonal distribution of methicillin-resistant

- Staphylococcus pseudintermedius* isolates from skin infection of dogs in Korea. *Veterinary Microbiology*, 210, 32–37. doi: 10.1016/j.vetmic.2017.08.017
- Kazemi, A., Nicol, M. J., Bilén, S. G., Kirimanjeswara, G. S., Knecht, S. D. (2024). Cold atmospheric plasma medicine: Applications, challenges, and opportunities for predictive control. *Plasma*, 7(1), 233–257. doi:10.3390/plasma7010014
- Keidar, M., Yan, D., Beilis, I. I., Trink, B., Sherman, J. H. (2018). Plasmas for treating cancer: Opportunities for adaptive and self-adaptive approaches. *Trends in Biotechnology*, 36, 586–593. doi:10.1016/j.tibtech.2018.01.007
- Kelley, L. S., Flynn-Lurie, A. K., House, R. A., Simpson, A. C., Marsella, R. (2010). Safety and tolerability of 0.1% tacrolimus solution applied to the external ear canals of atopic beagle dogs without otitis. *Veterinary Dermatology*, 21(6), 554–565. doi:10.1111/j.1365-3164.2009.00786.x
- Kim, E. J., Hyun, J. E., Kang, Y. H., Baek, S. J., Hwang, C. Y. (2022). In vitro antibacterial and antibiofilm effects of cold atmospheric microwave plasma against *Pseudomonas aeruginosa* causing canine skin and ear infections. *Veterinary Dermatology*, 33(1), 29–e10. doi: 10.1111/vde.13030
- Kim, Y. J., Lim, D. J., Lee, M. Y., Lee, W. J., Chang, S. E., Won, C. H. (2021). Prospective, comparative clinical pilot study of cold atmospheric plasma device in the treatment of atopic dermatitis. *Scientific Reports*, 11(1), 14461. doi: 10.1038/s41598-021-93941-y
- King, S. B., Doucette, K. P., Seewald, W., Forster, S. L. (2018). A randomized, controlled, single-blinded, multicenter evaluation of the efficacy and safety of a once weekly two-dose otic gel containing florfenicol, terbinafine, and betamethasone administered for the treatment of canine otitis externa. *BMC Veterinary Research*, 14(1). doi:10.1186/s12917-018-1627-5
- Kiss, G., Radvanyi, S., Szigeti, G. (1997). New combination for the therapy of canine otitis externa. I. Microbiology of otitis externa. *Journal of Small Animal Practice*, 38(1), 51–56. doi: 10.1111/j.1748-5827.1997.tb02987.x
- Klebes, M., Lademann, J., Philipp, S., Ulrich, C., Patzelt, A., Ulmer, M., ... Lange-Asschenfeldt, B. (2014). Effects of tissue-tolerable plasma on psoriasis vulgaris treatment compared to conventional local treatment: A pilot study. *Clinical Plasma Medicine*, 2(1), 22–27. doi:10.1016/j.cpme.2013.11.002

- Klinger, C. J. (2021). Wound management with cold plasma therapy. *Vet Focus*, 31(1), 45–49.
- Klinger, C.J., Dengler, B., Bauer, T., Mueller, R.S. (2018). Erfolgreiche Behandlung einer nekrotisierenden, multiresistenten bakteriellen Pyodermie bei einem Python mittels Kaltplasmatherapie. *Tierärztliche Praxis Ausgabe Kleintiere Heimtiere*, 46(1), 43-48. doi: 10.15654/TPK-170190
- Ko, J. C. H., Fox, S. M., Mandsager, R. E. (2000). Sedative and cardiorespiratory effects of medetomidine, medetomidine-butorphanol, and medetomidine-ketamine in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 216(10), 1578-1583. doi:10.2460/javma.2000.216.1578
- Ko, J. C., Bailey, J. E., Pablo, L. S., Heaton-Jones, T. G. (1996). Comparison of sedative and cardiorespiratory effects of medetomidine and medetomidine-butorphanol combination in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 57(4), 535-540.
- Koban, I., Matthes, R., Hübner, N. O., Welk, A., Meisel, P., Holtfreter, B., ...Kocher, T. (2010). Treatment of *Candida albicans* biofilms with low-temperature plasma induced by dielectric barrier discharge and atmospheric pressure plasma jet. *New Journal of Physics*, 12(7), 073039. doi:10.1088/1367-2630/12/7/073039
- Koch, F., Salva, K. A., Wirtz, M., Hadaschik, E., Varaljai, R., Schadendorf, D., Roesch, A. (2020). Efficacy of cold atmospheric plasma vs. diclofenac 3% gel in patients with actinic keratoses: a prospective, randomized and rater-blinded study (ACTICAP). *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV*, 34(12), e844–e846. doi: 10.1111/jdv.16735.
- Koch, S. N., Torres, S. M., Plumb, D. C. (2012). *Canine and feline dermatology drug handbook* (pp. 369-394). Wiley-Blackwell.
- Kondeti, V. S. S. K., Phan, C. Q., Wende, K., Jablonowski, H., Gangal, U., Granick, J. L., ...Bruggeman, P. J. (2018). Long-lived and short-lived reactive species produced by a cold atmospheric pressure plasma jet for the inactivation of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. *Free Radical Biology and Medicine*, 124, 275–287. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.05.083
- Kongpanichakul, L., Chuangsuwanich, A., Kongkunnawat, N., Tonaree, W. (2021). Efficacy of low-temperature plasma for treatment of facial rejuvenation in Asian population. *Plastic and Reconstructive Surgery– Global Open*, 9(6), e3812.

doi:10.1097/GOX.00000000000003812

- Kowalski, J. J. (1988). The microbial environment of the ear canal in health and disease. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 18(4), 743–754. doi: 10.1016/s0195-5616(88)50077-3
- Köritzer, J., Boxhammer, V., Schäfer, A., Shimizu, T., Klämpfl, T. G., Li, Y. F., ...Schlegel, J. (2013). Restoration of sensitivity in chemo-resistant glioma cells by cold atmospheric plasma. *PloS one*, 8(5), e64498. doi:10.1371/journal.pone.0064498
- Langmuir I. (1928). Oscillations in Ionized Gases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 14(8), 627–637. doi:10.1073/pnas.14.8.627
- Larson, E. L., Morton, H. E. (1991). Alcohols. In S. S. Block (Ed), *Disinfection, Sterilization, and Preservation* (4th ed, pp. 191–203). Lea and Febiger.
- Laurita, R., Barbieri, D., Gherardi, M., Colombo, V., Lukes, P. (2015). Chemical analysis of reactive species and antimicrobial activity of water treated by nanosecond pulsed DBD air plasma. *Clinical Plasma Medicine*, 3(2), 53–61. doi: 10.1016/j.cpme.2015.10.001
- Lecru, L. A.; Combarros, D.; Moog, F.; Marinovic, L.; Kondratjeva, J.; Amalric, N., ... Cadiergues, M.C. (2022). Multiplex Cytokine Analyses in Ear Canals of Dogs Suggest Involvement of IL-8 Chemokine in Atopic Otitis and Otodectic Mange—Preliminary Results. *Animals*, 12, 575. doi:10.3390/ani12050575
- Lee, N. E., Kang, Y. H., Song, S. Y., Baek, S. J., Hwang, C. Y. (2022). Evaluation of cold atmospheric microwave plasma on skin physiological parameters and tolerability in dogs. *Veterinary Dermatology*, 33(5), 363-370. doi:10.1111/vde.13080
- Lee, T. H., Hyun, J. E., Kang, Y. H., Baek, S. J., Hwang, C. Y. (2022). In vitro antifungal activity of cold atmospheric microwave plasma and synergistic activity against *Malassezia pachydermatis* when combined with chlorhexidine gluconate. *Veterinary medicine and science*, 8(2), 524–529. doi: 10.1002/vms3.719
- Lehner, G., Louis, C. S., Mueller, R. S. (2010). Reproducibility of ear cytology in dogs with otitis externa. *Veterinary Record*, 167(1), 23–26. doi: 10.1136/vr.c3523
- Lennon, P., Fenton, J. (2010). In reference to Tacrolimus: a new option in therapy-resistant chronic external otitis. *Laryngoscope*, 120(6), 1279-1281. doi: 10.1002/lary.20904.
- Lertpatipanpong, P., Sillapachaiyaporn, C., Oh, G., Kang, Y. H., Hwang, C. Y., & Baek, S. J.

- (2023). Effect of cold atmospheric microwave plasma (CAMP) on wound healing in canine keratinocytes. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 11, 1105692. doi: 10.3389/fcell.2023.1105692
- Li, G., Li, D., Li, J., Jia, Y. N., Zhu, C., Zhang, Y., Li, H. P. (2021) Promotion of the wound healing of in vivo rabbit wound infected with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* treated by a cold atmospheric plasma jet. *IEEE Transactions on Plasma Science*, 49, 2329–39. doi: 10.1109/TPS.2021.3092946
- Lieberman, M. A., Lichtenberg, A. J. (2005). *Principles of plasma discharges and materials processing* (1st ed.). John Wiley & Sons. doi:10.1002/0471724254
- Liu, J. R., Xu, G. M., Shi, X. M., Zhang, G. J. (2017). Low temperature plasma promoting fibroblast proliferation by activating the NF- $\kappa$ B pathway and increasing cyclinD1 expression. *Scientific Reports*, 7, 1–12. doi:10.1038/s41598-017-12043-w
- Lloyd, D. H., Bond, R., Lamport, I. (1998). Antimicrobial activity in vitro and in vivo of a canine ear cleanser. *Veterinary Record*, 143(4), 111–112. doi:10.1136/vr.143.4.111
- Lloyd, D. H., Lamport, A. I. (2000). Evaluation in vitro of the antimicrobial activity of two topical preparations used in the management of ear infections in the dog. *Veterinary Therapeutics*, 1(1), 43–47.
- Loeffler, A., Boag, A. K., Sung, J., Lindsay, J. A., Guardabassi, L., Dalsgaard, A.,... Lloyd, D. H. (2005). Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among staff and pets in a small animal referral hospital in the UK. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 56(4), 692–697. doi:10.1093/jac/dki312
- Loeffler, A., Linek, M., Moodley, A., Guardabassi, L., Sung, J. M. L., Winkler, M., Lloyd, D. H. (2007). First report of multiresistant, *mecA*-positive *Staphylococcus intermedius* in Europe: 12 cases from a veterinary dermatology referral clinic in Germany. *Veterinary Dermatology*, 18(6), 412–421. doi:10.1111/j.1365-3164.2007.00635.x
- Lu, H., Patil, S., Keener, K. M., Cullen, P. J., Bourke, P. (2014). Bacterial inactivation by high voltage atmospheric cold plasma: Influence of process parameters and effects on cell leakage and DNA. *Journal of Applied Microbiology*, 116(4), 784–794. doi: 10.1111/jam.12426
- Lund, E. M., Armstrong, P. J., Kirk, C. A., Kolar, L. M., Klausner, J. S. (1999). Health status and population characteristics of dogs and cats examined at private veterinary practices

in the United States. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 214(9), 1336–1341.

- Lührmann, A., Matthes, R., Kramer, A. (2016). Impact of cold atmospheric pressure argon plasma on antibiotic sensitivity of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains in vitro. *GMS Hygiene and Infection Control*, 11, 17. doi: 10.3205/dgkh000277
- Lyskova, P., Vydrzalova, M., Mazurova, J. (2007). Identification and antimicrobial susceptibility of bacteria and yeasts isolated from healthy dogs and dogs with otitis externa. *Journal of Veterinary Medicine. A, Physiology, Pathology, Clinical Medicine*, 54(10), 559–563. doi: 10.1111/j.1439-0442.2007.00996.x
- Mariachiara, A., Anna, V., Alessandra, G., Edoardo, G.P., Stefania, B., Mariateresa, R., Piergiacomo, C. (2020). Cold atmospheric plasma (CAP) as a promising therapeutic option for mild to moderate acne vulgaris: Clinical and non-invasive evaluation of two cases. *Clinical Plasma Medicine*, 100110.
- Marrero, E. J., Silva, F. A., Rosario, I., Déniz, S., Real, F., Padilla, D., ...Acosta-Hernández, B. (2017). Assessment of in vitro inhibitory activity of hydrogen peroxide on the growth of *Malassezia pachydermatis* and to compare its efficacy with commercial ear cleaners. *Mycoses*, 60(10), 645–650. doi:10.1111/myc.12637
- Marsit, N. M., Sidney, L. E., Branch, M. J., Wilson, S. L., & Hopkinson, A. (2016). Terminal sterilization: Conventional methods versus emerging cold atmospheric pressure plasma technology for non-viable biological tissues. *Plasma Processes and Polymers*, 14(7), 1600134. doi:10.1002/ppap.201600134
- Martin Barrasa, J., Lupiola Gomez, P., Gonzalez Lama, Z., Tejedor Junco, M. (2000). Antibacterial susceptibility patterns of *Pseudomonas* strains isolated from chronic canine otitis externa. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 47(3), 191-196. doi: 10.1046/j.1439-0450.2000.00336.x
- Mauldin, E. A., Ness, T. A., Goldschmidt, M. H. (2007). Proliferative and necrotizing otitis externa in four cats. *Veterinary Dermatology*, 18(5), 370–377. doi: 10.1111/j.1365-3164.2007.00614.x.
- Mazandarani, A., Goudarzi, S., Jafarabadi, M., Nekoo, E. A. (2022). Effects of cold plasma on *Staphylococcus aureus*. *Journal of Family & Reproductive Health*, 16(3), 212–216. doi: 10.18502/jfrh.v16i3.10583

- McKellar, Q. A. (1996). Clinical relevance of the pharmacological properties of fluoroquinolones. In *Proceedings of the 2nd International Veterinary Symposium on Fluoroquinolones* (pp. 14–21).
- McQuillan, B. B. (2005). Inside the ear. The first step in diagnosing and treating ear disease is to correctly perform the examination. *Banfield Journal*, 1(5), 17–26.
- Mekić, S., Matanović, K., Šeol, B. (2011). Antimicrobial susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* isolates from dogs with otitis externa. *Veterinary Record*, 169(5), 125. doi:10.1136/vr.d2393
- Meyer, D. J., Moriello, K. A., Feder, B. M., Fehrer-Sawyer, S. L., Maxwell, A. K. (1990). Effect of otic medications containing glucocorticoids on liver function test results in healthy dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 196(5), 743–744.
- Miller, W., Griffin, C., Campbell, K. (2013). Diseases of eyelids, claws, anal sacs, and ears. In *Muller and Kirk's Small Animal Dermatology* (7th ed., pp. 741–767). St. Louis: Elsevier Mosby.
- Moreira, C. A., Oliveira, L. C. d., Mendes, M. S., Santiago, T. d. M., Barros, E. B., Carvalho, C. B. M. d. (2012). Biofilm production by clinical Staphylococci strains from canine otitis. *Brazilian Journal of Microbiology*, 43(1), 371–374. doi: 10.1590/S1517-838220120001000044
- Moriello K. (2013). Overview of otitis externa. Ear disorders. In *MERCK veterinary manual*.
- Moriello, K. A., Fehrer-Sawyer, S. L., Meyer, D. J., Feder, B. (1988). Adrenocortical suppression associated with topical otic administration of glucocorticoids in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 193(3), 329–331.
- Morris, D. O. (2004). Medical therapy of otitis externa and otitis media. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 34(3), 541–555. doi: 10.1016/j.cvsm.2003.10.009
- Morris, D. O., Rook, K. A., Shofer, F. S., Rankin, S. C. (2006). Screening of *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, and *Staphylococcus schleiferi* isolates obtained from small companion animals for antimicrobial resistance: A retrospective review of 749 isolates (2003–04). *Veterinary Dermatology*, 17(5), 332–337. doi:10.1111/j.1365-3164.2006.00536.x
- Mueller, R. S., Baumann, K. N., Boehm, T., Dörfelt, S., Kasper, B., Udraite-Vovk, L. (2023).

- Evaluation of hypochlorous acid as an ear flush in dogs with chronic otitis externa. *Veterinary Dermatology*, 34(2), 134–141. doi:10.1111/vde.13142
- Mueller, R. S., Bettenay, S. V., Shipstone, M. (2001). Value of the pinna-pedal reflex in the diagnosis of canine scabies. *Veterinary Record*, 148(20), 621–623. doi:10.1136/vr.148.20.621
- Nasruddin, Nakajima, Y., Mukai, K., Komatsu, E., Rahayu, H. S. E., Nur, M., ... Nakatani, T. (2015). A Simple Technique to Improve Contractile Effect of Cold Plasma Jet on Acute Mouse Wound by Dropping Water. *Plasma Processes and Polymers*, 12(10), 1128–1138. doi:10.1002/ppap.201400236
- Nicol, M. J., Brubaker, T. R., Honish, B. J., Simmons, A. N., Kazemi, A., Geissel, M. A., ...Kirimanjeswara, G. S. (2020). Antibacterial effects of low-temperature plasma generated by atmospheric-pressure plasma jet are mediated by reactive oxygen species. *Scientific Reports*, 10(1). doi:10.1038/s41598-020-59652-6
- Nielloud, F., Reme, C. A., Fortune, R., Laget, J. P., Mestres, G., Gatto, H. (2004). P-75 Development of an in vitro test to evaluate cerumen-dissolving properties of veterinary ear cleansing solutions. *Veterinary Dermatology*, 15(1), 65–65. doi:10.1111/j.1365-3164.2004.00414\_75.x
- Noli, C., Colombo, S., Cornegliani, L., Ghibaud, G., Persico, P., Vercelli, A., Galzerano, M. (2011a). Quality of life of dogs with skin disease and of their owners. Part 2: administration of a questionnaire in various skin diseases and correlation to efficacy of therapy. *Veterinary Dermatology*, 22(4), 344–351. doi:10.1111/j.1365-3164.2011.00956.x
- Noli, C., Minafo, G., Galzerano, M. (2011b). Quality of life of dogs with skin disease and their owners – Part 1: Development and validation of a questionnaire. *Veterinary Dermatology*, 22(3), 335–343. doi:10.1111/j.1365-3164.2010.00954.x
- Noli, C., Sartori, R., Cena, T. (2017). Impact of a terbinafine-florfenicol-betamethasone acetate otic gel on the quality of life of dogs with acute otitis externa and their owners. *Veterinary Dermatology*.
- Nonnenmacher, L., Fischer, M., Haralambiev, L., Bekeschus, S., Schulze, F., Wassilew, G. I., ...Reichert, J. C. (2023). Orthopaedic applications of cold physical plasma. *EFORT Open Reviews*, 8(6), 409–423. doi:10.1530/EOR-22-0106

- Nuttall, T. (2016). Successful management of otitis externa. *In Practice*, 38(2), 17. doi:10.1136/inp.i1951
- Nuttall, T., Bensignor, E. (2014). A pilot study to develop an objective clinical score for canine otitis externa. *Veterinary Dermatology*, 25(6), 530-e92. doi:10.1111/vde.12163
- Nuttall, T., Cole, L. K. (2004). Ear cleaning: the UK and US perspective. *Veterinary Dermatology*, 15(2), 127–136. doi: 10.1111/j.1365-3164.2004.00375.x.
- Nuttall, T., Cole, L. K. (2007). Evidence-based veterinary dermatology: a systematic review of interventions for treatment of *Pseudomonas* otitis in dogs. *Veterinary Dermatology*, 18, 69–77.
- O'Neill, J. (2016). *Tackling drug-resistant infections globally: Final report and recommendations*. Review on antimicrobial resistance. London: HM Government and Wellcome Trust.
- Oliveira, L. C., Leite, C. A., Brilhante, R. S., Carvalho, C. B. (2008). Comparative study of the microbial profile from bilateral canine otitis externa. *The Canadian veterinary journal = La revue veterinaire canadienne*, 49(8), 785–788.
- Olivry, T., Mueller, R. (2019). Critically appraised topic on adverse food reactions of companion animals (7): signalment and cutaneous manifestations of dogs and cats with adverse food reactions. *BMC Veterinary Research*, 15. doi:10.1186/s12917-019-1880-2
- O'Neill, D. G., Volk, A. V., Soares, T., Church, D. B., Brodbelt, D. C., Pegram, C. (2021). Frequency and predisposing factors for canine otitis externa in the UK - a primary veterinary care epidemiological view. *Canine medicine and genetics*, 8(1), 7. doi:10.1186/s40575-021-00106-1
- Patange, A., O'Byrne, C., Daniela Boehm, P. J., Cullen, K. K., Bourke, P. (2019). The effect of atmospheric cold plasma on bacterial stress responses and virulence using *Listeria monocytogenes* knockout mutants. *Frontiers in Microbiology*, 10, 2841. doi:10.3389/fmicb.2019.02841
- Paterson, S. (2002). *A review of 200 cases of otitis externa in the dog*. Eighteenth ESVD/ECVD Veterinary Dermatology Congress, Nice, France.
- Paterson, S. (2012). *Pseudomonas* otitis infection – clinician on call. *NAVPClinician's Brief*, 10(7), 59–64.

- Paterson, S. (2016). Discovering the causes of otitis externa. *In Practice*, 38(2), 7–11. doi:10.1136/inp.i470
- Paterson, S. (2017). Allergic otitis externa in the dog. *The Veterinary Nurse*, 8(2), 92–96. doi:10.12968/vetn.2017.8.2.92
- Paterson, S. (2024). *Ear cleaning and therapy in otitis externa*. Tenth World Congress of Veterinary Dermatology, MA, Boston.
- Paterson, S., Nett, C., Neuber, A., Maddison, J., Ackerman, N., Fitzgerald, R., ...Warren, S. (2021). Otitis externa: A roundtable discussion. *Companion Animal*, 26(3), 1-16. doi:10.12968/coan.2021.26.3.s1
- Penna, B., Thomé, S., Martins, R., Martins, G., Lilenbaum, W. (2011). In vitro antimicrobial resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from canine otitis externa in Rio de Janeiro, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42(4), 1434-1436. doi:10.1590/S1517-83822011000400027
- Penna, B., Vargas, R., Medeiros, L., Martins, G. M., Martins, R. R., Lilenbaum, W. (2010). Species distribution and antimicrobial susceptibility of staphylococci isolated from canine otitis externa. *Veterinary Dermatology*, 21(3), 292-296. doi: 10.1111/j.1365-3164.2009.00842.x.
- Pietschmann, S., Hoffmann, K., Voget, M., Pinon, U. (2009). Synergistic effects of miconazole and polymyxin B on microbial pathogens. *Veterinary Research Communications*, 33(6), 489-505.
- Pietschmann, S., Meyer, M., Voget, M., Cieslicki, M. (2013). The joint in vitro action of polymyxin B and miconazole against pathogens associated with canine otitis externa from three European countries. *Veterinary Dermatology*, 24(4), 439–e97. doi: /10.1111/vde.12037
- Plant, J. D. (2009). Pursuing the causes of otitis externa. *Banfield Journal*, 5(1), 18-30.
- Plattfaut, I., Besser, M., Severing, A. L., Stürmer, E. K., Opländer, C. (2021). Plasma medicine and wound management: Evaluation of the antibacterial efficacy of a medically certified cold atmospheric argon plasma jet. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 57, 106319. doi:10.1016/j.ijantimicag.2021.106319
- Pye, C. C., Yu, A. A., Weese, J. S. (2013). Evaluation of biofilm production by *Pseudomonas aeruginosa* from canine ears and the impact of biofilm on antimicrobial susceptibility in

vitro. *Veterinary Dermatology*, 24(4), 446-e499. doi:10.1111/vde.12040

- Qekwana, D. N., Oguttu, J. W., Sithole, F., Odoi, A. (2017). Burden and predictors of *Staphylococcus aureus* and *S. pseudintermedius* infections among dogs presented at an academic veterinary hospital in South Africa (2007-2012). *PeerJ*, 5, e3198. doi:10.7717/peerj.3198
- Rahimi-Verki, N., Shapoorzadeh, A., Razzaghi-Abyaneh, M., Atyabi, S.-M., Shams-Ghahfarokhi, M., Jahanshiri, Z., & Gholami-Shabani, M. (2016). Cold atmospheric plasma inhibits the growth of *Candida albicans* by affecting ergosterol biosynthesis and suppresses the fungal virulence factors in vitro. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 13, 66–72. doi:10.1016/j.pdpdt.2015.12.007.
- Ranjan, R., Krishnamraju, P. V., Shankar, T., Gowd, S. (2017). Nonthermal plasma in dentistry: An update. *Journal of International Society of Preventive & Community Dentistry*, 7, 71–75. doi:10.4103/jispcd.JISPCD\_1\_17
- Reeder, C. J., Griffin, C. E., Polissar, N. L., Neradilek, B., Armstrong, R. D. (2008). Comparative adrenocortical suppression in dogs with otitis externa following topical otic administration of four different glucocorticoid-containing medications. *Veterinary therapeutics: research in applied veterinary medicine*, 9(2), 111–121.
- Reid J, Nolan AM, Hughes JML, Lascelles BDX, Pawson P, Scott EM. (2007). Development of the short- form Glasgow Composite Measure Pain Scale (CMPS- SF) and derivation of an analgesic intervention score. *Animal Welfare*, 16, 97– 104.
- Restrepo, C. (2013). Otitis Externa. *Clinical Knowledge Insights*. Zoetis, 11.1-11.8.
- Robinson, A. C., Hawke, M., MacKay, A., Ekem, J. K., Stratis, M. (1989). The mechanism of ceruminolysis. *The Journal of Otolaryngology*, 18(6), 268–273.
- Robinson, V. H., Paterson, S., Bennett, C., Steen, S. I. (2019). Biofilm production of *Pseudomonas* spp. isolates from canine otitis in three different enrichment broths. *Veterinary Dermatology*, 30(3), 218-e67. doi: 10.1111/vde.12738
- Robson, D. C., Morton, D., Burton, G. G., Bassett, R. (2009). In vitro ceruminolytic activity of 24 ear cleaners against a standardized synthetic canine cerumen. *Veterinary Dermatology*, 20(3), 228.
- Rose, W. R. (1977). Small animal clinical otology: Radiology. *Veterinary Medicine/Small Animal Clinician*, 72, 1508–1517.

- Rosser, E. J. (1988). Evaluation of the patient with otitis externa. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 18(4), 765–772. doi: 10.1016/s0195-5616(88)50079-7.
- Rosychuck, R. W. A. (1994). Management of otitis externa. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 24(5), 921–952. doi: 10.1016/s0195-5616(94)50109-8.
- Rougier, S., Borell, D., Pheulpin, S., Woehrlé, F., Boisramé, B. (2005). A comparative study of two antimicrobial/anti-inflammatory formulations in the treatment of canine otitis externa. *Veterinary Dermatology*, 16(5), 299–307. doi:10.1111/j.1365-3164.2005.00465.x
- Sanchez-Leal, J., Mayós, I., Homedes, J., Ferrer, L. (2006). In vitro investigation of ceruminolytic activity of various otic cleansers for veterinary use. *Veterinary dermatology*, 17(2), 121–127. doi:10.1111/j.1365-3164.2006.00504.x
- Sandegren L. (2014). Selection of antibiotic resistance at very low antibiotic concentrations. *Upsala Journal of Medical Sciences*, 119(2), 103–107. doi:10.3109/03009734.2014.904457
- Saputra, S., Jordan, D., Worthing, K. A., Norris, J. M., Wong, H. S., Abraham, R., Abraham, S. (2017). Antimicrobial resistance in coagulase-positive staphylococci isolated from companion animals in Australia: A one-year study. *PLoS ONE*, 12(4), e0176379. doi:10.1371/journal.pone.0176379
- Saridomichelakis, M. N., Farmaki, R., Leontides, L. S., Koutinas, A. F. (2007). Aetiology of canine otitis externa: a retrospective study of 100 cases. *Veterinary Dermatology*, 18(5), 341–347. doi:10.1111/j.1365-3164.2007.00619.x
- Scherer, C. B., Botoni, L. S., Coura, F. M., Silva, R. O., Santos, R. D., Heinemann, M. B., Costa-Val, A. P. (2018). Frequency and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus pseudintermedius* in dogs with otitis externa. *Ciência Rural*, 48(4), 1-7. doi:10.1590/0103-8478cr20170738
- Schick, A. E., Angus, J. C., Coyner, K. S. (2007). Variability of laboratory identification and antibiotic susceptibility reporting of *Pseudomonas* spp. isolates from dogs with chronic otitis externa. *Veterinary Dermatology*, 18(2), 120–126. doi:10.1111/j.1365-3164.2007.00581.x.
- Schmidt, A., Bekeschus, S., Wende, K., Vollmar, B., von Woedtke, T. (2017). A cold plasma jet accelerates wound healing in a murine model of full-thickness skin

- wounds. *Experimental dermatology*, 26(2), 156–162. doi:10.1111/exd.13156
- Schmidt, A., Liebelt, G., Striesow, J., Freund, E., von Woedtke, T., Wende, K., Bekeschus, S. (2020). *The molecular and physiological consequences of cold plasma treatment in murine skin and its barrier function. Free Radical Biology and Medicine*, 161, 32–49. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2020.09.
- Scholtz, V., Pazlarova, J., Souskova, H., Khun, J., & Julak, J. (2015). Nonthermal plasma--A tool for decontamination and disinfection. *Biotechnology Advances*, 33(6 Pt 2), 1108–1119. doi:10.1016/j.biotechadv.2015.01.002
- Semmler, Bekeschus, Schäfer, Bernhardt, Fischer, Witzke, ... Boeckmann. (2020). Molecular Mechanisms of the Efficacy of Cold Atmospheric Pressure Plasma (CAP) in Cancer Treatment. *Cancers*, 12(2), 269. doi:10.3390/cancers12020269.
- Shimizu, T., Steffes, B., Pompl, R., Jamitzky, F., Bunk, W., Ramrath, K., ... Morfill, G. E. (2008). Characterization of microwave plasma torch for decontamination. *Plasma Processes and Polymers*, 5(6), 577–582. doi:10.1002/ppap.200800021
- Sies, H., Jones, D. P. (2020). Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signaling agents. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 21, 363–383. doi:10.1038/s41580-020-0230-3
- Singh, A., Walker, M., Rousseau, J., Weese, J. S. (2013). Characterization of the biofilm-forming ability of *Staphylococcus pseudintermedius* from dogs. *BMC Veterinary Research*, 9(1), 93. doi:10.1186/1746-6148-9-93
- Sparks, T. A., Kemp, D. T., Wooley, R. E., Gibbs, P. S. (1994). Antimicrobial effect of combinations of EDTA-Tris and amikacin or neomycin on the microorganisms associated with otitis externa in dogs. *Veterinary Research Communications*, 18(4), 241–249. doi:10.1007/BF01839190
- Steen, S. I., Paterson, S. (2012). The susceptibility of *Pseudomonas* spp. isolated from dogs with otitis to topical ear cleaners. *Journal of Small Animal Practice*, 53(10), 599-603. doi: 10.1111/j.1748-5827.2012.01262.x
- Steen, S., Paterson, S. (2020). Evaluation of biofilm-forming capacity of canine otic isolates of *Malassezia pachydermatis* (MP). In *BSAVA Congress Proceedings 2020* (pp. 401-401). doi:10.22233/9781910443774.51.6
- Strauss, T. B., McKeever, T. M., McKeever, P. J. (2005). The efficacy of an acidified sodium

chlorite solution to treat cases of *Pseudomonas aeruginosa* otitis externa. *Veterinary Medicine*, 100(1), 53-63.

- Studdert, V. P., Hughes, K. L. (1991). A clinical trial of a topical preparation of miconazole, polymyxin, and prednisolone in the treatment of otitis externa in dogs. *Australian Veterinary Journal*, 68(6), 193-195. doi:10.1111/j.1751-0813.1991.tb03188.x
- Sun, P. P., Won, J., Choo-Kang, G., Li, S., Chen, W., Monroy, G. L., ... Nguyen, T. H. (2021). Inactivation and sensitization of *Pseudomonas aeruginosa* by microplasma jet array for treating otitis media. *NPJ biofilms and microbiomes*, 7(1), 48. doi:10.1038/s41522-021-00219-2
- Sun, P., Sun, Y., Wu, H., Zhu, W., Lopez, J. L., Liu, W., ... Fang, J. (2011). Atmospheric pressure cold plasma as an antifungal therapy. *Applied Physics Letters*, 98(2), 021501. doi:10.1063/1.3530434
- Swinney, A., Fazakerley, J., McEwan, N., Nuttall, T. (2008). Comparative in vitro antimicrobial efficacy of commercial ear cleaners. *Veterinary Dermatology*, 19(6), 373–379. doi:10.1111/j.1365-3164.2008.00713.x
- Taghizade, T., Akbarzadeh Baghban, A., Navab Safa, N. (2024). The effect of cold plasma on the treatment of external otitis: an experimental study in rats. *AMB Express*, 14, 101. doi:10.1186/s13568-024-01748-7
- Tambella, A. M., Attili, A. R., Beribè, F., Galosi, M., Marchegiani, A., Cerquetella, M., ...Fruganti, A. (2020). Management of otitis externa with an led-illuminated gel: a randomized controlled clinical trial in dogs. *BMC Veterinary Research*, 16(1). doi:10.1186/s12917-020-02311-9
- Tan, F., Wang, Y., Zhang, S., Shui, R., Chen, J. (2022). Plasma dermatology: Skin therapy using cold atmospheric plasma. *Frontiers in Oncology*, 12, 918484. doi:10.3389/fonc.2022.918484
- Thang, F. L., Yang, H. Q., Ma, X. W., Lu, D. Z. (2019). Epidemiological analysis of ear diseases in 221 dogs in Northwest China. *bioRxiv*. doi:10.1101/541516
- Theinkom, F., Singer, L., Cieplik, F., Cantzler, S., Weilemann, H., Cantzler, M., ... Zimmermann, J. L. (2019). Antibacterial efficacy of cold atmospheric plasma against *Enterococcus faecalis* planktonic cultures and biofilms in vitro. *PLOS ONE*, 14(11), e0223925. doi:10.1371/journal.pone.0223925

- Thorp, M. A., Kruger, J., Oliver, S., Nilssen, E. L., Prescott, C. A. (1998). The antibacterial activity of acetic acid and Burow's solution as topical otological preparations. *The Journal of Laryngology and Otology*, 112(10), 925–928. doi:10.1017/s0022215100142100
- Trower, N. D., Gregory, S. P., Renfrew, H., Lamb, C. R. (1998). Evaluation of the canine tympanic membrane by positive contrast ear canalography. *The Veterinary record*, 142(4), 78–81. doi:10.1136/vr.142.4.78
- Ulbin-Figlewicz, N., Jarmoluk, A., Marycz, K. (2015). Antimicrobial activity of low-pressure plasma treatment against selected foodborne bacteria and meat microbiota. *Annals of Microbiology*, 65(3), 1537–1546. doi: 10.1007/s13213-014-0992-y
- van Balen, F. A., Smit, W. M., Zuithoff, N. P., Verheij, T. J. (2003). Clinical efficacy of three common treatments in acute otitis externa in primary care: randomised controlled trial. *BMJ (Clinical research ed.)*, 327(7425), 1201–1205. doi:10.1136/bmj.327.7425.1201
- Vandana, B. L. (2014). From distant stars to dental chairs: An update on plasma needle. *International Journal of Dental Sciences Research*, 2(1), 19–20. doi:10.12691/ijdsr-2-1-5
- Venker-van Haagen, A. J. (2005). *Ear, nose, throat, and tracheobronchial diseases in dogs and cats* (1st ed.). Hannover: Schlütersche Verlagsgesellschaft mbH & Co.
- Vercelli, C., Pasquetti, M., Giovannetti, G., Visioni, S., Re, G., Giorgi, M., Peano, A. (2021). In vitro and in vivo evaluation of a new phytotherapeutic blend to treat acute otitis externa in dogs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 44(5), 910-918. doi: 10.1111/jvp.13000
- Vingopoulou, E. I., Delis, G. A., Batzias, G. C., Kaltsogianni, F., Koutinas, A., Kristo, I., Siarkou, V. I. (2018). Prevalence and mechanisms of resistance to fluoroquinolones in *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* isolates recovered from dogs suffering from otitis in Greece. *Veterinary Microbiology*, 213, 102-107. doi: 10.1016/j.vetmic.2017.11.024.
- Wan, Z., Chen, Y., Pankaj, S. K., Keener, K. M. (2017). High voltage atmospheric cold plasma treatment of refrigerated chicken eggs for control of *Salmonella enteritidis* contamination on egg shell. *LWT - Food Science and Technology*, 76, 124–130. doi:

- Wang, X. F., Fang, Q. Q., Jia, B., Hu, Y. Y., Wang, Z. C., Yan, K. P., ...Tan, W. Q. (2020). Potential effect of non-thermal plasma for the inhibition of scar formation: A preliminary report. *Scientific Reports*, 10(1), 1-10. doi: 10.1038/s41598-020-57703-6
- Weese, J. S., Page, S. W., Prescott, J. F. (2013). Antimicrobial stewardship in animals. In S. Giguère, J. F. Prescott, T. Dowling (Eds), *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine* (5th ed., pp. 117-132).
- Weese, J. S., van Duijkeren, E. (2010). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* in veterinary medicine. *Veterinary Microbiology*, 140(3-4), 418-429. doi:10.1016/j.vetmic.2009.01.039
- Weishaupt C., Emmert S. (2018). Connecting basic cold plasma technology to dermatology. *Clinical Plasma Medicine*, 10, 16–19. doi: 10.1016/j.cpme.2018.03.002.
- Wiegand, C., Fink, S., Hippler, U. C., Beier, O., Horn, K., Pfuch, A., ... Grünler, B. (2017). Cold atmospheric pressure plasmas exhibit antimicrobial properties against critical bacteria and yeast species. *Journal of Wound Care*, 26(8), 462-468. doi:10.12968/jowc.2017.26.8.462
- Wildermuth, B. E., Griffin, C. E., Rosenkrantz, W. S., Boord, M. J. (2007). Susceptibility of *Pseudomonas* isolates from the ears and skin of dogs to enrofloxacin, marbofloxacin, and ciprofloxacin. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 43(6), 337-341. doi:10.5326/0430337
- Winter, S., Meyer-Lindenberg, A., Wolf, G., Reese, S., Nolff, M. C. (2019). In vitro evaluation of the decontamination effect of cold atmospheric argon plasma on selected bacteria frequently encountered in small animal bite injuries. *Journal of Microbiological Methods*, 105728. doi:10.1016/j.mimet.2019.105728
- Wirtz, M., Stoffels, I., Dissemond, J., Schadendorf, D., Roesch, A. (2018). Actinic keratoses treated with cold atmospheric plasma. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV*, 32(1), e37–e39. doi: 10.1111/jdv.14465.
- Wooley, R. E., Jones, M. S. (1983). Action of EDTA-Tris and antimicrobial agent combinations on selected pathogenic bacteria. *Veterinary Microbiology*, 8(3), 271-280. doi: 10.1016/0378-1135(83)90079-2.
- World Health Organization (WHO). (2019). *Critically important antimicrobials for human*

*medicine, 6th revision.* Geneva: World Health Organization.

- Yavirach, P., Chaijareenont, P., Boonyawan, D., Pattamapun, K., Tunma, S., Takahashi, H., Arksornnukit, M. (2009). Effects of plasma treatment on the shear bond strength between fiber-reinforced composite posts and resin composite for core build-up. *Dental Materials Journal*, 28(6), 686–692. doi:10.4012/dmj.28.686
- Yoo, J. H., Yoon, J. W., Lee, S. Y., Park, H. M. (2010). High prevalence of fluoroquinolone- and methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolates from canine pyoderma and otitis externa in veterinary teaching hospital. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20(4), 798-802. doi:10.4014/JMB.0910.10044
- Yoo, J., Kang, Y. H., Baek, S. J., Hwang, C. Y. (2023). Application of cold atmospheric microwave plasma as an adjunct therapy for wound healing in dogs and cats. *Journal of veterinary science*, 24(4), e56. doi:10.4142/jvs.23067
- Yoon, J. W., Lee, K. J., Lee, S. Y., Chae, M. J., Park, J. K., Yoo, J. H., Park, H. M. (2010). Antibiotic resistance profiles of *Staphylococcus pseudintermedius* isolates from canine patients in Korea. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20(12), 1764-1768.
- Yoshida, N., Naito, F., Fukata, T. (2002). Studies of certain factors affecting the microenvironment and microflora of the external ear of the dog in health and disease. *Journal of Veterinary Medical Science*, 64(12), 1145-1147.
- Zamankhan Malayeri, H., Jamshidi, S., Zahraei Salehi, T. (2010). Identification and antimicrobial susceptibility patterns of bacteria causing otitis externa in dogs. *Veterinary Research Communications*, 34(5), 435-444. doi: 10.1007/s11259-010-9417-y
- Zhang, B. G., Myers, D. E., Wallace, G. G., Brandt, M., Choong, P. F. (2014). Bioactive coatings for orthopaedic implants—Recent trends in development of implant coatings. *International Journal of Molecular Sciences*, 15, 11878–11921. doi:10.3390/ijms150711878
- Zhang, J. P., Guo, L., Chen, Q. L., Zhang, K. Y., Wang, T., An, G. Z., ... Ding, G. R. (2018). *Effects and mechanisms of cold atmospheric plasma on skin wound healing of rats.* *Contributions to Plasma Physics*. doi:10.1002/ctpp.201800025
- Zhang, Q., Liang, Y., Feng, H., Ma, R., Tian, Y., Zhang, J., & Fang, J. (2013). A study of oxidative stress induced by non-thermal plasma-activated water for bacterial damage. *Applied Physics Letters*, 102(20), 203701. doi:10.1063/1.4807133

- Zhang, S., Chen, Z., Zhang, B., Chen, Y. (2019). Numerical investigation on the effects of dielectric barrier on a nanosecond pulsed surface dielectric barrier discharge. *Molecules*, 24(21), 3933. doi:10.3390/molecules24213933
- Zimmerli, W., Moser, C. (2012). Pathogenesis and treatment concepts of orthopaedic biofilm infections. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 65, 158–168. doi:10.1111/j.1574-695X.2012.00938.x
- Zur, G., Lifshitz, B., Bdolah-Abram, T. (2011). The association between the signalment, common causes of canine otitis externa and pathogens. *Journal of Small Animal Practice*, 52(5), 254-258. doi: 10.1111/j.1748-5827.2011.01058.x

# Ek 1 (Kısa Makale- Therapeutic Efficacy of Cold Atmospheric Plasma in Four Golden Retrievers with Acute Otitis Externa)



Received: 28 October 2023 | Accepted: 2 August 2024

DOI: 10.1111/vde.13287

## BRIEF COMMUNICATION

## Veterinary Dermatology

# Therapeutic efficacy of cold atmospheric plasma in four golden retrievers with acute otitis externa

Alanur Bakır<sup>1</sup> | Claudia Susanne Nett-Mettler<sup>2</sup> | Bulent Ulutas<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Internal Medicine, Veterinary Faculty, Adnan Menderes University, Aydın, Turkey

<sup>2</sup>Vetderm.ch – Dermatologie und Allergologie für Tiere, Hünenberg, Switzerland

### Correspondence

Claudia Susanne Nett-Mettler, Vetderm.ch – Dermatologie und Allergologie für Tiere, Hünenberg, Switzerland.  
Email: cnett@vetderm.ch

### Funding information

ActivCell Group AG, Wolfackerstrasse 49, 5600 Lanzburg, Switzerland; Scientific Research Projects Unit of Aydın Adnan Menderes University, Grant/Award Number: VTF-23014

### Abstract

**Background:** Cold atmospheric plasma (CAP) is a new therapeutic tool used to treat various skin diseases in humans and animals.

**Objective:** To evaluate the effect of CAP in the treatment of canine acute otitis externa (AOE).

**Animals:** Four client-owned golden retriever dogs with bilateral AOE.

**Methods and Materials:** After cleaning with a commercial ear cleanser, right ears (STANDARD group) were treated with an antibiotic/antifungal/corticosteroid combination and left ears (CAP group) were treated with CAP every three days for a total of four treatments. Cytological score and otitis index score (OTIS)3 were recorded for each ear on Day (D)0, D10 and D15. At D10 and D15, owners and investigators recorded an overall assessment.

**Results:** In both groups, OTIS3 and cytological score decreased over the study period. The overall assessment scale ranged from moderate to excellent in both groups.

**Conclusions and Clinical Relevance:** Cold atmospheric plasma treatment showed equal therapeutic effect compared with a commercial topical anti-inflammatory and antimicrobial ear treatment.

### KEYWORDS

acute otitis externa, canine, cold atmospheric plasma, dog, therapeutic

## INTRODUCTION

Acute otitis externa (AOE) is one of the most common clinical complaints in companion animal medicine.<sup>1</sup> Complicating factors such as increasing resistance of microbial organisms combined with the production of biofilm are a challenge in the treatment of otitis externa.<sup>2</sup> Furthermore, it is reported that expensive, time-consuming, tiring or difficult treatments can negatively affect the quality of life of dogs and owners.<sup>3</sup>

Plasma is the fourth state of matter formed when gases such as compressed air, argon, helium or nitrogen are ionised while passing through an electric field. Cold atmospheric plasma (CAP) comprises biologically active components such as reactive oxygen and nitrogen species (RONS), charged particles and ultraviolet radiation. Generally, RONS reduce inflammation, promote blood circulation and induce apoptosis, cell proliferation and collagen synthesis.<sup>4</sup> Cold atmospheric plasma has been used in human medicine for the treatment of various skin infections and especially to promote wound healing.<sup>4,5</sup> Clinical applications in veterinary medicine have not been widely published.<sup>4</sup>

In vitro studies have proven the antimicrobial activity of CAP against pathogens that cause canine ear infections.<sup>6,7</sup> This study aimed to evaluate CAP's safety, tolerability and therapeutic efficacy in a small group of dogs with AOE.

## MATERIALS AND METHODS

### Ethical approval

All study procedures were reviewed and approved by the Animal Research Ethics Committee of the Aydın Adnan Menderes University, under protocol number 64583101/2021/145. A signed informed consent form was obtained from the patient owners.

### Study population

The dogs were selected from patients admitted to the Adnan Menderes University, Faculty of Veterinary Medicine, Clinic of Internal Medicine with the complaint

of bilateral AOE. They underwent a general clinical and otoscopic examination, along with cytological evaluation of otic exudate of each ear. Dogs meeting the following criteria were included: (1) showing signs of otitis such as inflammation, discharge, itch or pain of the ear canal; (2) sufficiently visible tympanic membranes to assess integrity; (3) no signs of systemic disease; (4) >4 yeast or >16 bacteria per oil-immersion field ( $\times 1000$ ); and (5) otitis index score (OTIS)3 of  $\geq 4$ .<sup>8</sup> Dogs having received any of the following treatments were excluded: topical therapy (for the previous 10 days), systemic therapy with antibacterials, antifungals, antihistamines, nonsteroidal anti-inflammatories and oral corticosteroids (for the previous 14 days), or a systemic long-acting corticosteroid (for the previous 60 days). Patients with concomitant ear disease such as parasites, foreign bodies and neoplasia also were excluded.

### Study design

Each ear was assigned to one of two groups with each dog as its own control. Both ears were cleaned with a commercial ear cleanser (DOUXO Micellar Solution; Ceva) at Day (D)0 and before every treatment in both groups. The STANDARD group comprised the right ears which were treated with Saniotic (Richterpharma). Saniotic is a suspension containing 23mg of miconazole nitrate, 5500IU of polymyxin B sulphate and 5mg of prednisolone acetate per mL. Five drops were administered twice daily for 10 days according to the label instructions. The CAP group comprised the left ears which were treated with CAP every three days, for four treatments.

### Plasma device and treatment

The direct CAP device utilised was a cordless pen specifically developed for small animal medicine (PetCellpen; ActivCell Group) (Figure 1a). A glass electrode designed for in-ear application was used (Figure 1b). Dogs were sedated with butorphanol

0.2mg/kg (Butomidor; Interhas) and medetomidine 10µg/kg (Domitor; Zoetis) intramuscularly to allow CAP application while immobilised. Dogs were positioned in right lateral recumbency. The CAP pulse frequency was set to 100Hz, the amplitude was set to 6, and the electrode was applied by keeping it stationary in the ear for 2min. The power settings on the device and the exposure time were based on the performance test according to the German DIN specification 91,315 on the general requirements for medical plasma sources and the clinical experience of the key opinion leader.<sup>9</sup> At the end of CAP application, dogs were given 5000 mcg/m<sup>2</sup> atipamezole hydrochloride (Antisedan; Zoetis) i.m. to reverse the sedative effects of medetomidine.

### Analysis of therapeutic effect

The therapeutic effect was evaluated using the OTIS3, cytological score and owner and investigator evaluation. According to OTIS3, erythema, oedema/swelling, erosion/ulceration and exudate were scored between 0 and 3. The total OTIS3 was calculated on D0, D5, D10 and D15. The cytological score was calculated by using the mean yeast, cocci and bacillus counts in 10 microscopic fields on D0, D5, D10 and D15 (0=0–5 organisms, 1=6–10, 2=11–15, 3=16–20 and 4=>21 organisms).<sup>10</sup> The owner and investigator performed an overall assessment scale (excellent, good, moderate, poor) on D10 and D15.<sup>11</sup> The same investigator analysed all of the ears to avoid subjective variations depending on the observer.

### RESULTS

A total of four golden retrievers were included: a 10-month-old male, a three- and a four-year-old neutered female and a seven-year-old intact female with weights ranging from 20 to 50kg. Cytological results for the four cases revealed no neutrophils or rod-shaped bacteria in either group on D0, D5, D10 and D15. Coccoid bacteria were found in Cases 2 and 3,



FIGURE 1 (a) Direct cold atmospheric plasma (CAP) device. (b) CAP application in a dog's ear.

**TABLE 1** Four golden retriever's otitis index score (OTIS3) and cytological score on different numbers of days (D) after initiation (D0).

| Case | Group    | OTIS3 |    |     |     | Cytological score |    |     |     |
|------|----------|-------|----|-----|-----|-------------------|----|-----|-----|
|      |          | D0    | D5 | D10 | D15 | D0                | D5 | D10 | D15 |
| 1    | STANDARD | 9     | 6  | 2   | 2   | 4                 | 2  | 1   | 0   |
|      | CAP      | 8     | 6  | 3   | 1   | 2                 | 2  | 1   | 0   |
| 2    | STANDARD | 8     | 6  | 6   | 3   | 3                 | 2  | 2   | 1   |
|      | CAP      | 7     | 4  | 3   | 1   | 3                 | 1  | 0   | 0   |
| 3    | STANDARD | 4     | 3  | 2   | 1   | 2                 | 1  | 1   | 1   |
|      | CAP      | 6     | 4  | 3   | 1   | 3                 | 2  | 1   | 0   |
| 4    | STANDARD | 6     | 6  | 2   | 2   | 4                 | 4  | 3   | 2   |
|      | CAP      | 6     | 4  | 2   | 1   | 4                 | 2  | 1   | 0   |

while yeast were observed in Cases 1 and 4. In both groups, OTIS3 and the cytological score decreased throughout the trial (Table 1). The overall assessment scale ranged from moderate to excellent on D10 and D15 in both groups.

## DISCUSSION

The PetCellpen CAP device with a specific protocol was demonstrated to reduce otic inflammation and the number of micro-organisms in a group of four golden retrievers. CAP is specifically used to treat skin and wound infections in veterinary medicine.<sup>9</sup> It is reported to accelerate the wound healing process and eliminate even multiresistant infectious agents in wounds on the skin.<sup>12</sup> Especially in the face of multiresistant organisms, CAP may become an important new therapeutic option.

Although there are principal differences between the CAP devices used in the *in vitro* studies compared to the PetCellpen in this trial, the PetCellpen showed antimicrobial activity based on the reduction of the cytological score. This effect suggests that RONS were produced which cause bacterial cell wall damage. Additionally, the reduction in inflammation can be explained by the RONS effect. *In vitro* studies with canine skin and ear pathogens have proven CAP's antimicrobial and antibiofilm activities.<sup>6,7</sup>

In this trial, CAP was only applied to the ear canal in sedated animals, which might render its use rather impractical for daily clinical use especially for mild ear disease. However, CAP treatment might be considered in chronic ear disease and specifically after video-otoscopic examinations. However, because CAP application is expeditious and painless, it is stated that patients rarely require sedation or anaesthesia during its use.<sup>12</sup> As reported previously,<sup>9</sup> CAP treatment was well-tolerated by all four dogs with no clinically significant adverse effects.

This study had several limitations. First, this case series was conducted with a limited number of dogs of the same breed as a proof-of-concept study. Second, none of these dogs were investigated or treated for the underlying cause of AOE during this study. The influence of underlying disease on response to CAP

remains unknown. Thirdly, using the ear cleanser every day in the STANDARD group may have biased the results because the ears treated with CAP were only cleaned every third day before each CAP session. However, because Douxo Micellar Solution is a very mild cleanser, it is likely that it did not negatively impact the STANDARD group, and rather might have helped to improve the effect of polymyxin, the antibacterial compound in SANIOTIC, because polymyxin is inactivated in the presence of inflammatory exudate. Lastly, the main investigator was aware of which treatment groups participants were assigned to. This may have impacted the OTIS3 as well as the overall assessment. Larger controlled and double-blinded studies are needed to better understand CAP's usefulness and potential therapeutic effect in canine OE. Currently, a comprehensive-controlled research project is being conducted based on these preliminary results.

## CONCLUSIONS

Cold atmospheric plasma was well-tolerated and showed a positive therapeutic effect in terms of reduction of clinical signs and cytological scores in four golden retrievers with AOE. Larger controlled studies are needed to further evaluate the therapeutic potential of CAP treatment in otitis externa.

## AUTHOR CONTRIBUTIONS

**Alanur Bakır:** Investigation; data curation; writing – original draft; methodology; writing – review and editing; visualization; conceptualization. **Claudia Susanne Nett-Mettler:** Conceptualization; project administration; writing – review and editing; writing – original draft; methodology. **Bulent Ulutas:** Conceptualization; project administration; funding acquisition; resources; writing – original draft; methodology.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank ActivCell Group AG (Lenzburg, Switzerland) for the PetCellPen provided. Thanks to Dr. med. vet. Michael Hiestand for support with all the technical specifications. Also, thanks to charming golden retriever dogs with AOE and their thoughtful owners, who participated.

## FUNDING INFORMATION

This work was supported financially by the Scientific Research Projects Unit of Aydın Adnan Menderes University. ActivCell Group AG provided the CAP device (project no. VTF-23014).

## CONFLICT OF INTEREST STATEMENT

Claudia S. Nett-Mettler works on a consultancy basis for ActivCell Group AG.

## ORCID

Alanur Bakir  <https://orcid.org/0000-0001-7096-7100>  
 Claudia Susanne Nett-Mettler  <https://orcid.org/0000-0002-7739-3477>  
 Bulent Ulutas  <https://orcid.org/0000-0002-8399-7082>

## REFERENCES

1. Bajwa J. Canine otitis externa – treatment and complications. *Can Vet J*. 2019;60:97–9.
2. Kang J-H, Chung T-H, Hwang C-Y. Clonal distribution of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolates from skin infection of dogs in Korea. *Vet Microbiol*. 2017;210:32–7.
3. Jamet J-F, Marignac G, Petit JY. Prospective study of the effect of otitis externa before and after treatment on 20 owners' assessment of their and their dog's quality of life. *Vet Dermatol*. 2016;27(Suppl.1):45.
4. Friedman PC. Cold atmospheric pressure (physical) plasma in dermatology: where are we today? *Int J Dermatol*. 2020;59:1171–84.
5. Tan F, Wang Y, Zhang S, Shui R, Chen J. Plasma dermatology: skin therapy using cold atmospheric plasma. *Front Oncol*. 2022;12:918484.
6. Jin H-J, Hwang C-Y, Kang J-H, Baek S-J, Hyun J-E. In vitro antimicrobial activity of cold atmospheric microwave plasma against bacteria causing canine skin and ear infections. *Vet Dermatol*. 2021;32:462–e126.
7. Kim E-J, Hyun J-E, Kang Y-H, Baek S-J, Hwang C-Y. In vitro antibacterial and antibiofilm effects of cold atmospheric microwave plasma against *Pseudomonas aeruginosa* causing canine skin and ear infections. *Vet Dermatol*. 2022;33:29–e10.
8. Nuttall T, Bensignor E. A pilot study to develop an objective clinical score for canine otitis externa. *Vet Dermatol*. 2014;25(6):530–7. e91–2.
9. Lee N-E, Kang Y-H, Song S-Y, Baek S-J, Hwang C-Y. Evaluation of cold atmospheric microwave plasma on skin physiological parameters and tolerability in dogs. *Vet Dermatol*. 2022;33:363–70.
10. Angus JC. Otic cytology in health and disease. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 2004;34:411–24.
11. King SB, Doucette KP, Seewald W, Forster SL. A randomized, controlled, single-blinded, multicenter evaluation of the efficacy and safety of a once weekly two dose otic gel containing florfenicol, terbinafine and betamethasone administered for the treatment of canine otitis externa. *BMC Vet Res*. 2018;14:307.
12. Klinger CJ. Wound management with cold plasma therapy. *Vet Focus*. 2021;31:45–9.

**How to cite this article:** Bakir A, Nett-Mettler CS, Ulutas B. Therapeutic efficacy of cold atmospheric plasma in four golden retrievers with acute otitis externa. *Vet Dermatol*. 2024;00:1–4. <https://doi.org/10.1111/vde.13287>

## Résumé

XXXXXXXXXX.

## Resumen

XXXXXXXXXX.

## Zusammenfassung

XXXXXXXXXX.

## Ek 2 (ADÜ-HADYЕК Raporu)



T.C.  
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU  
(AYDIN ADÜ-HADYЕК)



Aydın, 27/10/2021

**Oturum** : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2021 Yılı X. Oturum  
**Sayı** : 64583101/2021/145  
**Proje Başlığı** : Akut Otitis Eksternalı Köpeklerde Soğuk Atmosferik Plazma Uygulamasının Terapötik Etkinliği.  
**Proje Yürütücüsü** : Bülent ULUTAŞ  
**Proje Ekibi** : Alanur BAKIR

**Bu çalışmanın hiçbir bölümünde:**

İnsan embriyosu ve fötüsü kullanılması  
İnsan embriyosu ve fötüsü dokularının kullanılması  
Diğer insan doku ve hücrelerinin kullanılması

**Hayvan Çalışması**

İnsanlarda araştırma  
İnsan olmayan primatların kullanılması  
Transgenik hayvanların kullanılması  
Hayvanlarda genetik modifikasyon öngörülmemiştir.

Bu çalışmanın yapılmasında etik açıdan bir sakınca bulunmamaktadır.

Prof. Dr. M. SARIERLER  
Başkan

Prof. Dr. M. Dinçer BULGIN  
Başkan Yardımcısı

Prof. Dr. T. DOĞAN  
Üye

Prof. Dr. İ. SONMEZ  
Üye

Prof. Dr. Serkan BAKIRCI  
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Solmaz KARAARSLAN  
Üye

Dr. Öğr. Üyesi A. Önder  
ÜSTÜNDAĞ  
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Aysun KOÇ  
Üye

Öğr. Gör. Dr. Asude Gülce GÜLER  
ORYAŞIN Sor. Vet. Hek.  
Üye

Hidayet YAMAN  
Sor. Vet. Hek. Üye

Şenay TEKİNBAŞ  
HAYTAP Üye

Bu rapor, sadece Adnan Menderes Üniversitesi'nde yapılacak çalışmalar için geçerlidir

### Ek 3 (Aydınlatma Onam Formu)

## AYDINLATMA ONAM FORMU

Sayın.....

Sahibi olduğunuz veya işletmenizde bulunan.....adlı, .....rındaki,.....yaşındaki,.....cinsiyetindeki köpeğinizin de içerisinde yer alacağı “Akut Otitis Eksternalı Köpeklerde Soğuk Atmosferik Plazma Uygulamasının Terapötik Etkinliği” başlıklı bir araştırma yapılması planlanmaktadır. Köpeğinizin çalışmaya dâhil olabilmesi için onayınız gerekmektedir. Vereceğiniz onay tamamen gönüllülük esasına dayalıdır. Onay vermeme durumunda ise köpeğinizin mevcut durumuyla ilgili tedavisinde herhangi bir aksama olması söz konusu değildir.

#### YAPILACAK ARAŞTIRMANIN:

A. SÜRESİ: 15 gün.

B. **YÖNTEMİ:** Hastamızın sağ veya sol kulağına standart tedavi protokolü uygulanırken; karşısındaki kulağına üç günde bir (toplam 4 uygulama) veya beş günde bir (toplam iki uygulama) Soğuk atmosferik plazma uygulanacaktır. Video otoskopik muayene ve plazma uygulamasının etkin ve güvenilir bir şekilde gerçekleştirilmesi için hastamız sedasyona alınacaktır. İşlemler süresince hastanın vital bulguları takip edilecektir. Video otoskopik muayene ve plazma uygulaması sonrası hastamıza antisedatif ilaç uygulanarak sedasyondan çıkışı sağlanacaktır. Takip için 0, 5, 10 ve 15. günlerde, hastamız genel bir klinik muayeneye, kulak kepçesi ve dış kulak kanallarının özel klinik muayenesine ve OTIS-3 puanlaması için etkilenen her kulağın video-otoskopisine tabi tutulacaktır.

#### C. HASTAMIZA SAĞLAYACAĞI OLASI FAYDALAR:

- o Geleneksel tedaviye kıyasla otitis eksterna enfeksiyonun daha kısa sürede kontrolünün sağlanması öngörülmektedir.
- o Video otoskopi, mikrobiyolojik kültür, kulak sitolojisi gibi özel muayeneler ile kapsamlı bir inceleme yapılması.

#### D. HASTAMIZDA MEYDANA GETİREBİLECEĞİ RAHATSIZLIKLAR:

- o Kulak kepçesi ve dış kulak kanalında dermal değişiklikler (eritem/kızarıklık).
- o Sedasyon sırası ve sonrasında oluşabilecek belirtiler.

Ben..... yukarıdaki metni okudum. Çalışmanın amacını, köpeğimin neden bu çalışmada yer alacağını, çalışmanın olası yarar ve risklerini, projeden elde edilecek verilerin eğitim amaçlı ve bilimsel makale olarak yayımlanabileceğini anladım. Bu koşullar altında, sahibi olduğum köpeğime belirtilen işlemler sırasında sedasyon uygulanmasına ve köpeğimin çalışmaya dâhil edilmesine onay veriyorum.

#### Hasta veya işletme sahibinin:

Adı-Soyadı:.....

Adresi:.....

Telefon Numarası:.....

.....

İmzası:.....

.....

#### Ek 4 (Hasta Kayıt ve Muayene Formu)



### HASTA KAYIT VE MUAYENE FORMU



Tarih:

Hasta Adı:

Hasta Sahibi Adı Soyadı:

İletişim No:

Adres:

#### Eşgal/Anamnez

|           |                   |                       |
|-----------|-------------------|-----------------------|
| Tür:      | İştah: N / A      | Kusma: E/ H           |
| İrk:      | Su alımı: N / A   | Öksürük: E / H        |
| Cinsiyet: | Dışkılama: N / A  | Hapşırma: E / H       |
| Yaş:      | Ürinyasyon: N / A | Burun akıntısı: E / H |

Kısır: Evet / Hayır

(N: Normal, A: Anormal, E: Evet, H: Hayır)

#### Fiziksel Muayene Bulguları

|                        |                               |
|------------------------|-------------------------------|
| Canlı Ağırlık (kg) :   | Nabız / dk:                   |
| Vücut Sıcaklığı (°C):  | Kapıllar Dolum Zamanı (sn):   |
| Kalp Frekansı / dk:    | Mukozalar:                    |
| Solunum sayısı / dk:   | Lenf Yumruları: N / A         |
| Genel görünüm: N/ A    | Kulaklar: N / A               |
| Gözler: N / A          | Ağız: N / A                   |
| Solunum sistemi: N / A | Kardiyovasküler sistem: N / A |
| Abdomen: N / A         | Deri: N / A                   |
| İskelet sistemi: N / A | Nörolojik: N / A              |
| Diğer bulgular:        |                               |

#### Yapılan Muayene/ Tanısal Testler:

Tanı:

Tedavi:

**MİKROBİYOLOJİK KÜLTÜR SONUÇLARI (Tedavi Öncesi-0. gün)****SOL KULAK****SAĞ KULAK****VIDEO OTOSKOPIK MUAYENE SONUÇLARI (OTIS-3)****SOL KULAK**

| Günler | Eritem  | Ödem    | Erozyon | Eksudat | OTIS-3 |
|--------|---------|---------|---------|---------|--------|
| 0      | 0 1 2 3 | 0 1 2 3 | 0 1 2 3 | 0 1 2 3 |        |
| 5      | 0 1 2 3 | 0 1 2 3 | 0 1 2 3 | 0 1 2 3 |        |
| 10     | 0 1 2 3 | 0 1 2 3 | 0 1 2 3 | 0 1 2 3 |        |
| 15     | 0 1 2 3 | 0 1 2 3 | 0 1 2 3 | 0 1 2 3 |        |

**SAĞ KULAK**

| Günler | Eritem  | Ödem    | Erozyon | Eksudat | OTIS-3 |
|--------|---------|---------|---------|---------|--------|
| 0      | 0 1 2 3 | 0 1 2 3 | 0 1 2 3 | 0 1 2 3 |        |
| 5      | 0 1 2 3 | 0 1 2 3 | 0 1 2 3 | 0 1 2 3 |        |
| 10     | 0 1 2 3 | 0 1 2 3 | 0 1 2 3 | 0 1 2 3 |        |
| 15     | 0 1 2 3 | 0 1 2 3 | 0 1 2 3 | 0 1 2 3 |        |

## SİTOLOJİK SKORLAMA SONUÇLARI

| SOL KULAK |           |           |           |          |                |
|-----------|-----------|-----------|-----------|----------|----------------|
| Günler    | Kok       | Basil     | Maya      | Nötrofil | Sitolojik skor |
| 0         | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3  |                |
| 5         | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3  |                |
| 10        | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3  |                |
| 15        | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3  |                |
| SAĞ KULAK |           |           |           |          |                |
| Günler    | Kok       | Basil     | Maya      | Nötrofil | Sitolojik skor |
| 0         | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3  |                |
| 5         | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3  |                |
| 10        | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3  |                |
| 15        | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3 4 | 0 1 2 3  |                |

### Sitolojik skora kriterleri

| Organizma                                               | Organizma sayısı | Skor |
|---------------------------------------------------------|------------------|------|
| Kok*<br>Basil*<br>Maya*                                 | 0-5              | 0    |
|                                                         | 6-10             | 1    |
|                                                         | 11-15            | 2    |
|                                                         | 16-20            | 3    |
|                                                         | >21              | 4    |
| Nötrofil**                                              | 0                | 0    |
|                                                         | <10              | 1    |
|                                                         | 11-20            | 2    |
|                                                         | >20              | 3    |
| *100x objektif, 1000x büyütmede ortalama 10 saha başına |                  |      |
| **40x objektif, 400x büyütmede ortalama 10 saha başına  |                  |      |

## ARAŞTIRMACI VE HASTA SAHİBİNİN GENEL DEĞERLENDİRME SONUÇLARI

| SOL KULAK   |         |         |              |         |         |
|-------------|---------|---------|--------------|---------|---------|
| ARAŞTIRMACI |         |         | HASTA SAHİBİ |         |         |
| 5. Gün      | 10. Gün | 15. Gün | 5. Gün       | 10. Gün | 15. Gün |
| Çok iyi     | Çok iyi | Çok iyi | Çok iyi      | Çok iyi | Çok iyi |
| İyi         | İyi     | İyi     | İyi          | İyi     | İyi     |
| Orta        | Orta    | Orta    | Orta         | Orta    | Orta    |
| Zayıf       | Zayıf   | Zayıf   | Zayıf        | Zayıf   | Zayıf   |

| SAĞ KULAK   |         |         |              |         |         |
|-------------|---------|---------|--------------|---------|---------|
| ARAŞTIRMACI |         |         | HASTA SAHİBİ |         |         |
| 5. Gün      | 10. Gün | 15. Gün | 5. Gün       | 10. Gün | 15. Gün |
| Çok iyi     | Çok iyi | Çok iyi | Çok iyi      | Çok iyi | Çok iyi |
| İyi         | İyi     | İyi     | İyi          | İyi     | İyi     |
| Orta        | Orta    | Orta    | Orta         | Orta    | Orta    |
| Zayıf       | Zayıf   | Zayıf   | Zayıf        | Zayıf   | Zayıf   |

|                | Araştırmacı                                                                              | Hasta Sahibi                                                         |
|----------------|------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| <b>Çok iyi</b> | Kulağın ilk muayenede değerlendirilen klinik bulguları tamamen ortadan kalktı            | Köpeğimin kulağı tedavi öncesine kıyasla tamamen iyileşti            |
| <b>İyi</b>     | Kulağın klinik belirtileri ilk muayeneye kıyasla belirgin şekilde iyileşti               | Köpeğimin kulağı tedavi öncesine göre belirgin bir şekilde iyileşti  |
| <b>Orta</b>    | Kulağın klinik belirtileri ilk muayeneye kıyasla hafif şekilde iyileşti                  | Köpeğimin kulağı tedaviye çok az yanıt verdi                         |
| <b>Zayıf</b>   | Kulağın klinik belirtilerinde ilk muayeneye kıyasla değişiklik olmadı/ artış gözlemlendi | Köpeğimin kulağının durumu tedavi öncesine göre değişmedi/ kötüleşti |

**T.C.**  
**AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİLİMSEL ETİK BEYANI**

“Akut Otitis Eksternalı Köpeklerde Soğuk Atmosferik Plazma Uygulamasının Terapötik Etkinliği” başlıklı doktora tezindeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiz atıf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Alanur BAKIR

24 / 01/ 2025

## ÖZ GEÇMİŞ

**Soyadı, Adı** : BAKIR Alanur  
**Uyruk** : T.C.  
**Doğum yeri ve tarihi** : Aydın/ 01.01.1997  
**Telefon** : 0 552 072 15 40  
**E-posta** : alanur.bakir@adu.edu.tr  
**Yabancı dil** : İngilizce (YÖKDİL: 82,5; YDS: 76,25)

## EĞİTİM

| Derece  | Kurum                                                                     | Mezuniyet tarihi |
|---------|---------------------------------------------------------------------------|------------------|
| Lisans  | Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi                                   | 03.06.2019       |
| Doktora | Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları ABD | 2019-Devam       |

## İŞ DENEYİMİ

| Yıl        | Yer/Kurum                                                                 | Ünvan             |
|------------|---------------------------------------------------------------------------|-------------------|
| 2022-Devam | Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları ABD | Öğretim Görevlisi |

## AKADEMİK FAALİYETLER

### 1. MAKALELER

**Bakır, A.**, Voyvoda, H. (2023). Successful Treatment with Dexamethasone of a Cat with Suspected Feline Atopic Skin Syndrome Not Responding to Prednisolone. *Animal Health Production and Hygiene*, 12(2), 63-68. doi:10.53913/aduveterinary.1289183

**Bakır, A.**, Dinler Ay, C., Ulutaş, B. (2023). Atlarda ehrlichiozis. Şahinduran Ş, editör. *Atların İç Hastalıkları*. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri; 2023. p.109-14.

**Bakır, A.**, Dinler Ay, C., Ulutaş, B. (2023). Davranış bozukluklarına neden olan faktörler. Dalğın D, editör. *Kedi ve Köpeklerde Psikiyatrik Hastalıklar ve Tedaviler*. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri, p.6-11.

**Bakır, A.**, Dinler Ay, C., Ulutaş, B. (2024). Mouse hepatitis virus. In: Şahinduran Ş, ed. *Common Internal Diseases of Laboratory Animals*. 1st ed. Ankara: Türkiye Klinikleri, p.88-91.

**Bakır, A.**, Nett-Mettler, C. S., Ulutas, B. (2024). Therapeutic efficacy of cold atmospheric plasma in four golden retrievers with acute otitis externa. *Veterinary Dermatology*, 35, 745–749. doi:10.1111/vde.13287

### 2. PROJELER

Doktora Tez Projesi- ADÜ BAP, VTF-23014- Akut Otitis Eksternalı Köpeklerde Soğuk Atmosferik Plazma Uygulamasının Terapötik Etkinliği. Danışman: Prof. Dr. Bülent ULUTAŞ, 2023-2024.

TÜBİTAK 1001- Canine Parvoviral Enteritis İlişkili Hipovolemik Şok Tedavisinde Centhaquine Sitrat'ın Klinik Etkinliğinin Araştırılması- **Araştırmacı** (Proje devam ediyor)

### 3. BİLDİRİLER

#### A) Uluslararası Kongrelerde Sunulan Bildiriler

**Bakır, A.,** Nett-Mettler, C. S., Ulutaş, B. (2024). Therapeutic efficacy of cold atmospheric plasma in dogs with acute otitis externa: A pilot study. 10th World Congress of Veterinary Dermatology, 35, 40-41. doi: 10.1111/vde.13259 (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)

### 3. KATILDIĞI BİLİMSEL TOPLANTILAR

#### A) Katıldığı Uluslararası Bilimsel Toplantılar

- 1) 14. Küçük Hayvan Veteriner Hekimleri Derneği Uluslararası Sürekli Eğitim Kongresi, 8-10 Kasım 2019/ İstanbul, TÜRKİYE
- 2) 15. Küçük Hayvan Veteriner Hekimleri Derneği Uluslararası Sürekli Eğitim Kongresi, 12-13 Kasım 2021/ İstanbul, TÜRKİYE.
- 3) 8th Ankara-Hannover Cooperation Symposium on the Advances in Veterinary Medicine, Kasım 2021/ (Online).
- 4) 10<sup>th</sup> World Congress of Veterinary Dermatology (WCVD10), July 25-29, 2024/ Boston, Massachusetts, USA.

#### B) Katıldığı Ulusal Bilimsel Toplantılar

- 1) Klinisyen Veteriner Hekimler Derneği, “DERMATOLOJİ- Nasıl Çözeriz?” Sempozyumu, 23 Şubat 2020, İzmir, TÜRKİYE.
- 2) Vettalks Dermatoloji Seyahatnamesi, 18 Haziran 2023, İzmir, TÜRKİYE.

### 4. SERTİFİKALAR

- 1) Radyoloji Sertifikası, Ankara Üniversitesi, 06.2019, ANKARA.
- 2) Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası, T.C. Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu, 02.06.2022, ANKARA