

Rinite micotica da *Scedosporium apiospermum* in un cane: prima segnalazione in Italia



Una femmina sterilizzata di Bull Terrier di 4 anni è stata riferita per scolo nasale monolaterale e starnuto inverso, refrattari alla terapia antibiotica. Le analisi istologiche delle biopsie nasali mostravano una grave rinite in presenza di ife settate e conidi unicellulari, ovali e pigmentati. All'esame micologico sono state ottenute colture pure di un fungo filamentoso identificato morfologicamente come *Scedosporium apiospermum*. L'identificazione è stata confermata tramite spettrometria di massa MALDI-TOF. L'isolato è stato sottoposto ad antimicogramma ed è risultato sensibile a Econazolo e Miconazolo, intermedio a Enilconazolo e Clotrimazolo e resistente ad Amfotericina B, Fluconazolo, Ketoconazolo e Itraconazolo. *S. apiospermum* è stato precedentemente segnalato come agente eziologico di patologie nasali nel cane in due casi in Spagna, uno in Nuova Zelanda e uno in Australia. A conoscenza degli autori, questa è la prima descrizione di rinite da *S. apiospermum* nel cane in Italia.

Giorgia Matteucci¹,
Biologo, PhD, MSc

Luca Lovari,
MedVet

Diana Binanti^{*1},
MedVet, PhD,
Dipl. ECVP

¹AbLab Srls,
Laboratorio di
Analisi Veterinarie
Sarzana (SP), Italy

INTRODUZIONE

Scedosporium apiospermum e la sua forma sessuata *Pseudallescheria apiosperma* (teleomorfo) sono Ascomiceti ubiquitari, ampiamente distribuiti nell'ambiente, soprattutto in suoli agricoli, fanghi e liquami¹. Questa specie di funghi filamentosi è un importante patogeno per l'uomo, soprattutto in individui immunocompromessi, dove causa un'ampia varietà di infezioni, localizzate o disseminate. Negli animali da compagnia, le micosi da *S. apiospermum* sono descritte raramente. Nel cane, la scedosporiosi più frequentemente riportata è la forma disseminata, con prognosi infausta e spesso fatale. È segnalata predisposizione nel Pastore Tedesco o suoi incroci, in linea con la nota predisposizione della razza

alle aspergillosi disseminate². Altre manifestazioni cliniche descritte nel cane sono il micetoma e la cheratomicosi³. Finora, *S. apiospermum* è stato riportato come agente eziologico di patologie respiratorie nel cane in soli due casi in Spagna^{4,5}, uno in Nuova Zelanda⁶ e uno in Australia⁷.

***Scedosporium apiospermum* è un importante fungo patogeno per l'uomo e per gli animali. Nel cane le segnalazioni di micosi sostenute da questi funghi sono rare, con prevalenza di forme disseminate.**

Tuttavia, è plausibile ipotizzare una sottostima dei casi di riniti e sinusiti da *S. apiospermum*, in quanto potrebbe facilmente essere confuso con *Aspergillus* spp., vista la somiglianza dei segni clinici.

A conoscenza degli autori, questa è la prima descrizione di rinite da *S. apiospermum* nel cane in Italia.

Il presente caso è stato presentato dagli autori, nella sessione Poster, al 45° Congresso Nazionale della Società Italiana di Microbiologia, tenutosi a Genova, dal 27 al 30 settembre 2017.

*Corresponding Author (diana.binanti@gmail.com)

Ricevuto: 14/09/2017 - Accettato: 13/12/2017

DESCRIZIONE DEL CASO

Una femmina di Bull Terrier di 4 anni veniva portata in visita per la presenza di scolo nasale monolaterale sinistro mucopurulento, o in minor misura emorragico, e starnuto inverso presenti da 20 giorni. In anamnesi si riferisce mancata risposta alla terapia antibiotica somministrata dal veterinario referente.

Il soggetto viene sottoposto a rinoscopia, che mette in evidenza, nella cavità nasale destra, turbinati moderatamente edematosi senza presenza di

muco. La cavità nasale di sinistra mostrava la presenza, nella porzione dorsale, di muco coloso in quantità moderata che originava dal meato dorsale dove si ritrova-

L'istologia ha evidenziato una grave rinite micotica in un Bull Terrier di 4 anni. All'esame micologico sono state isolate colonie cotonose, microscopicamente caratterizzate da ife ialine settate recanti singoli conidi unicellulari, ovali, pigmentati.

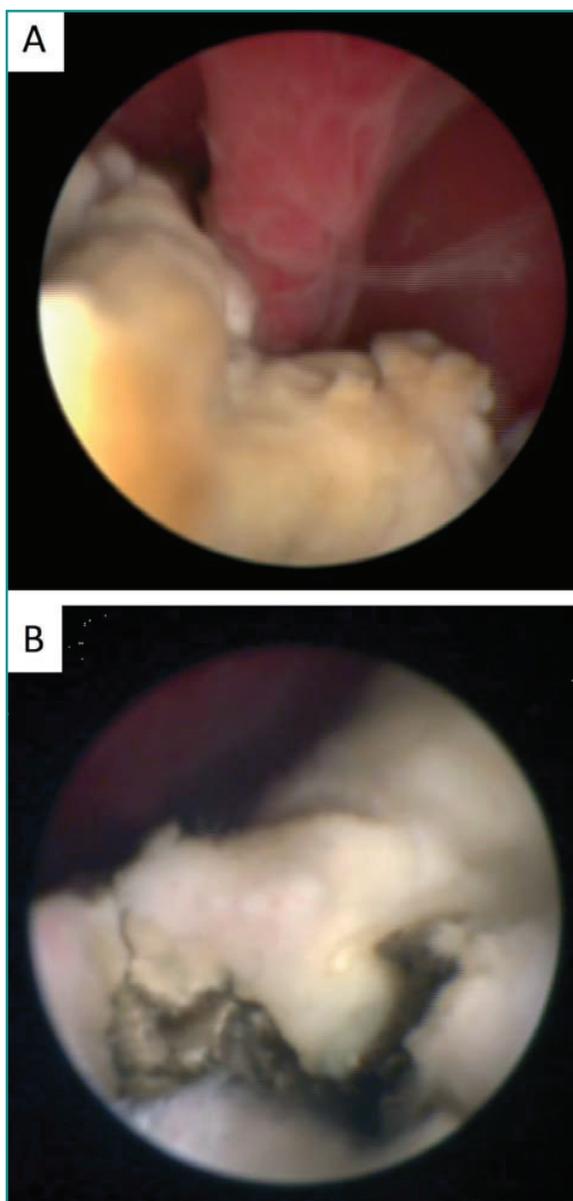


Figura 1 - Rinoscopia della cavità nasale sinistra. Si osserva materiale amorfo di colore bianco-giallastro/marrone, adeso alla mucosa nasale. Il materiale ha aspetto compatibile con una colonia fungina, di colore biancastro e aspetto cotonoso e aree di colore grigio/argenteo.

va materiale di colore bianco-giallastro/marrone di consistenza gommosa. Dopo parziale asportazione con pinza da biopsia, tale formazione risultava mobile, solo parzialmente adesa ai turbinati. L'aspetto era simile a una colonia fungina endonasale con tratti cotonosi (Fig. 1A) e altri a riflessi argentei (Fig. 1B). Dalle placche e dalla mucosa nasale si eseguivano biopsie multiple, fissate in formalina neutra tamponata al 10% e sottoposte all'esame istologico.

Sono state eseguite sezioni multiple delle biopsie con colorazione di routine Ematossilina-Eosina e reazione PAS (acido periodico - reattivo di Schiff). Nei campioni isto-

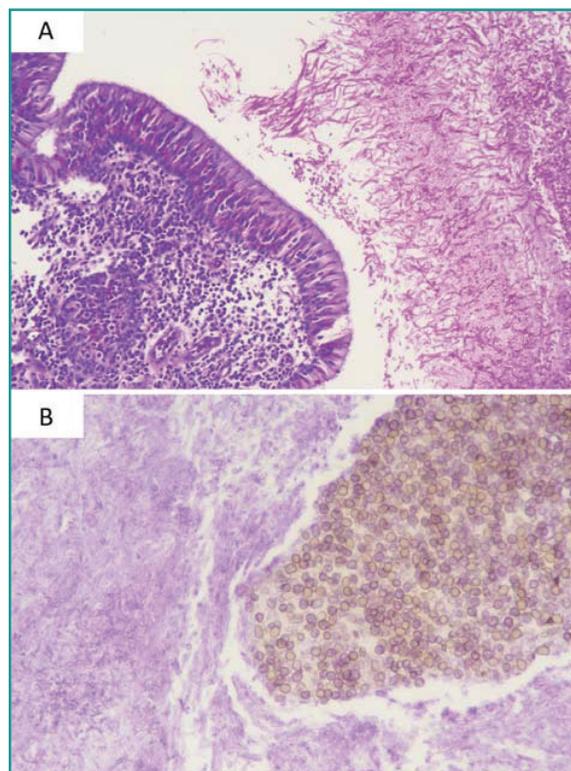


Figura 2 - Esame istologico di biopsie nasali. 2A: La mucosa mostra abbondante infiltrato infiammatorio e si osservano ampi ammassi di ife settate positive alla colorazione PAS (PAS, 20X). 2B: Dettaglio degli ampi ammassi micotici, dove sono evidenti aggregati di conidi pigmentati (Ematossilina-Eosina, 40X).

logici si osservavano porzioni di mucosa nasale colpita da un marcato processo flogistico piogranulomatoso. Sulla superficie mucosa erano evidenti ampi ammassi di ife micotiche (Fig. 2A), con pareti irregolarmente parallele, settate, e conidi ovalari, talvolta di colore bruno (Fig. 2B).

Gli ammassi mostravano aspetto intensamente eosinofilo, confluenti, ed erano circondati da granulociti neutrofilici degenerati e detrito necrotico.

Nella mucosa si osservava infiltrato infiammatorio denso, misto, costituito da granulociti neutrofilici, macrofagi, linfociti e plasmacellule.

Gli elementi fungini visibili all'esame istologico non apparivano morfologicamente compatibili con *Aspergillus* spp. Si è deciso, pertanto, di pro-

cedere a nuovi prelievi da sottoporre all'esame micologico colturale.

I campioni venivano messi in coltura su Agar Sabouraud destrosio, addizionato con 0,05 g/l di Cloramfenicolo e incubate per 7 giorni a 28 °C. Dopo 3 giorni, si osservava una coltura pura, con colonie a crescita rapida, dall'aspetto cotonoso. Le colonie apparivano marroni sul lato *verso* e inizialmente di colore bianco sul *recto* (Fig. 3A),

Il fungo, identificato come *Scedosporium apiospermum*, è risultato sensibile a Econazolo e Micconazolo, intermedio a Enilconazolo e Clotrimazolo e resistente ad Amfotericina B, Fluconazolo, Ketoconazolo e Itraconazolo.

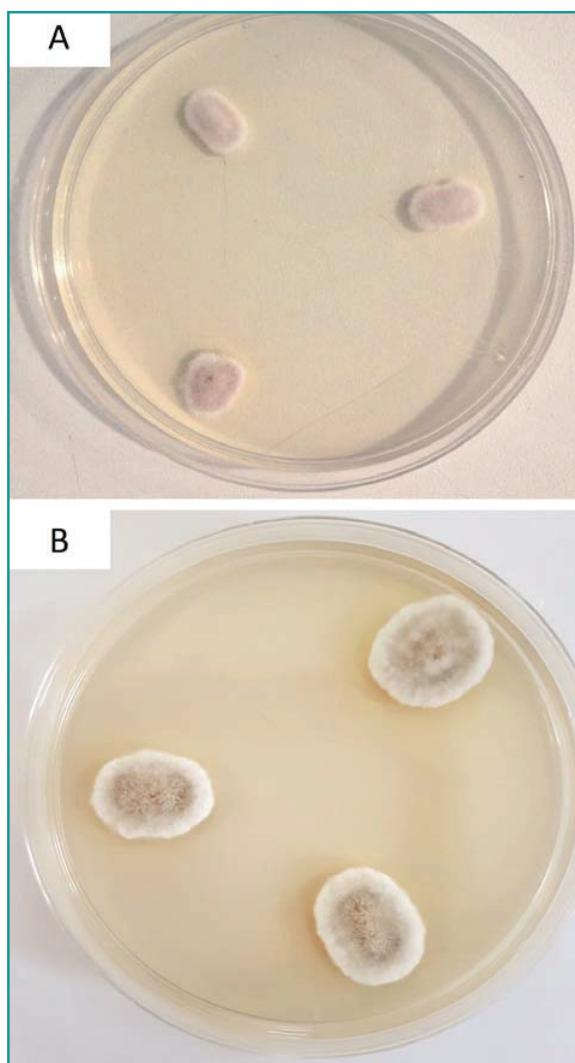


Figura 3 - Foto macroscopica delle colonie. 3A: *Scedosporium apiospermum* su terreno di coltura Sabouraud destrosio, al 3° giorno di incubazione. 3B: *Scedosporium apiospermum* su terreno di coltura Sabouraud destrosio al 7° giorno di incubazione. La pigmentazione del lato *recto* delle colonie vira al grigio scuro.

per poi virare al grigio scuro all'invecchiare della coltura (Fig. 3B).

Si procedeva all'osservazione microscopica del ceppo fungino isolato, prelevando una porzione del micelio aereo con del nastro adesivo e colorandolo con Blu di Latt-

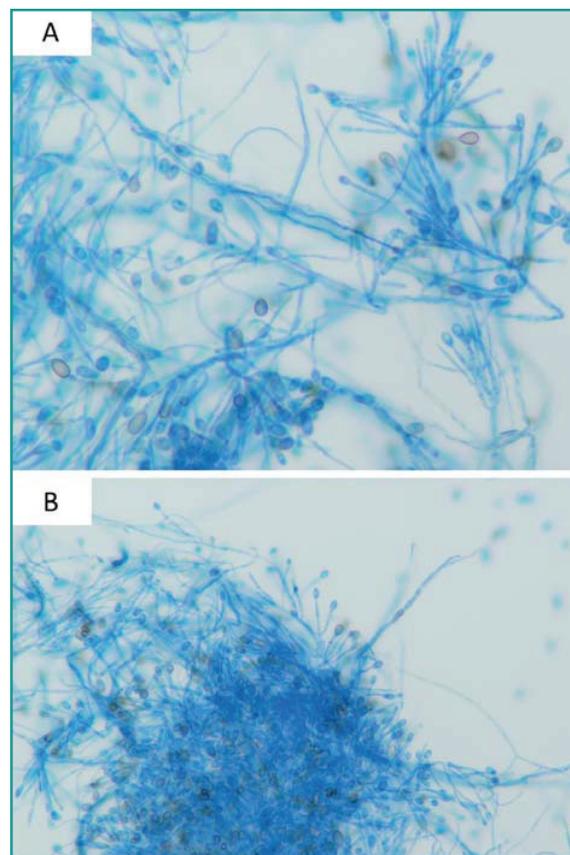


Figura 4 - Immagini microscopiche di *Scedosporium apiospermum* (Colorazione con Blu di Lattofenolo, 40x). 4A: Iife vegetative settate e ramificate. Fasci di conidiofori di varia lunghezza, recanti singoli conidi unicellulari, ovali, tronchi alla base. 4B: Iife, conidiofori e conidi. I conidi mostrano differenti gradi di pigmentazione.

fenolo. Microscopicamente, si notavano ife ialine settate, di diametro non costante, con ramificazioni. All'estremità di ogni ifa erano presenti conidiofori recanti singoli conidi unicellulari, ovali, tronchi nel lato basale, più o meno pigmentati (Fig. 4A; Fig. 4B).

In base alle caratteristiche macroscopiche e microscopiche, l'isolato è stato identificato come *S. apiospermum*, in quanto non presentava gli ascocarpi, strutture caratteristiche della forma sessuata teleomorfa. L'identificazione della specie è stata confermata tramite spettrometria di massa MALDI-TOF.

È stata eseguita una valutazione della sensibilità agli antimicotici del ceppo fungino ottenuto, secondo le linee guida redatte dal Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) per i funghi filamentosi non-dermatofiti⁸.

Il ceppo di *S. apiospermum* è risultato sensibile a Econazolo e Miconazolo, intermedio a Enilconazolo e Clotrimazolo e resistente ad Amfotericina B, Fluconazolo, Ketoconazolo e Itraconazolo.

Alla luce dei risultati ottenuti, si è proceduto ad allargamento delle cavità nasali con Miconazolo al 2% in soluzione fisiologica.

Alla visita di controllo, due settimane dopo la terapia antimicotica, il soggetto non presentava sintomatologia clinica riferibile a rinite. All'esame rinoscopico, nel tratto rostrale della cavità nasale sinistra i turbinati mostravano aspetto normale, mentre caudo-dorsalmente si notava la scomparsa dei turbinati secondaria all'effetto erosivo della patologia micotica. Non si notavano ulteriori lesioni riconducibili a micosi o mucosa nasale alterata in tale sede.

Questo è il primo report di micosi nasale da *Scedosporium apiospermum* nel cane in Italia. L'identificazione è essenziale per individuare la terapia, poiché la sensibilità agli antimicotici varia con la specie.

DISCUSSIONE

Il presente lavoro descrive il primo caso di rinite micotica nel cane sostenuta da *S. apiospermum* in Italia; questo fungo è raramente riportato come causa di rinite nel cane e, a conoscenza degli autori, casi analoghi riportati in bibliografia sono solo quattro^{4,5,6,7} essendo molto più comunemente associato a forme viscerali secondarie a traumi penetranti o a contaminazione di ferite.

La presentazione clinica e le lesioni associate a *S. apio-*

spermum non sono patognomoniche e sono simili a quelle causate da altri funghi filamentosi, in particolare da *Aspergillus* spp. Allo stesso modo, nelle sezioni istologiche, la morfologia delle ife può non essere utile a distinguere univocamente l'agente eziologico della micosi. Tuttavia, nel caso descritto, l'osservazione di conidi ovali nelle sezioni istologiche di biopsie nasali aveva permesso una identificazione presuntiva preliminare. Ad ogni modo, è stato necessario l'esame micologico colturale per discriminare definitivamente tra *Aspergillus* spp. e *Scedosporium* spp., permettendo un'identificazione morfologica accurata del ceppo fungino, pur essendo consigliabile confermare l'identificazione morfologica a livello di specie tramite metodi molecolari o spettrometria di massa. L'accurata identificazione dell'agente eziologico costituisce un requisito fondamentale per la scelta dell'antimicotico più efficace, essendo nota una certa variabilità nella sensibilità alle varie molecole delle diverse specie di *Scedosporium*⁹. Tuttavia, a tutt'oggi non c'è ancora una standardizzazione nei criteri interpretativi dei test di antimicotico-sensibilità per *Scedosporium* spp.

Il trattamento delle micosi da *S. apiospermum* è complesso a causa della resistenza di questa specie a numerosi farmaci antifungini. Un'elevata percentuale di pazienti con scedosporiosi non sopravvive. Infezioni localizzate come le cheratomicosi e le infezioni delle vie aeree superiori, hanno una prognosi migliore³.

Il caso descritto suggerisce l'importanza di considerare *Scedosporium* spp. come possibile agente patogeno emergente, responsabile di rinite e/o sinusite nel cane.

Anche se l'incidenza di scedosporiosi in ambito veterinario sembra essere minore rispetto alla medicina umana, è bene considerare che il numero reale di casi potrebbe essere maggiore. Molto spesso, infatti, i casi di scedosporiosi possono essere non diagnosticati o non correttamente interpretati e scambiati per aspergillosi. Per questo motivo, l'esame micologico colturale va eseguito preferenzialmente, anche quando il sospetto principale è una micosi da *Aspergillus* spp. Il metodo colturale rimane, infatti, il gold standard per la diagnosi di infezioni da *Scedosporium*¹⁰. Inoltre, una differenziazione univoca dell'agente fungino coinvolto nella lesione consente di scegliere la terapia antimicotica più appropriata.

RINGRAZIAMENTI

Gli autori ringraziano il Dott. Ugo Lotti, la Dott.ssa Federica Poli, la Dott.ssa Chiara Starita e la Sig.ra Marzia Mazzei, della clinica veterinaria "Valdinievole" di Monsummano Terme, ai quali è stato conferito il caso clinico.

Mycotic rhinitis caused by *Scedosporium apiospermum* in a dog: first report in Italy

Summary

4-year-old neutered female Bull Terrier was presented with a 20-day history of monolateral nasal discharge and reverse sneezing. The dog did not respond to antibiotics. Histological examination revealed a severe rhinitis with septate hyphae and smooth, one-celled, oval, pigmented conidia. Mycological cultures yielded pure colonies of a filamentous fungi, macroscopically and microscopically identified as *Scedosporium apiospermum*. Identification was confirmed by MALDI-TOF analysis. Susceptibility tests were performed. The isolate resulted susceptible in vitro to Econazole and Miconazole, intermediate to Enilconazole and Clotrimazole and resistant to Amphotericin B, Fluconazole, Ketoconazole and Itraconazole. *S. apiospermum* has been previously reported as an etiologic agent of nasal disease in dogs in two cases in Spain, one in New Zealand and one in Australia. To our knowledge, this report provides the first description of a rhinitis caused by *S. apiospermum* in a dog in Italy.

BIBLIOGRAFIA

- Gilgado F, Gené J, Cano J *et al.* Heterothallism in *Scedosporium apiospermum* and description of its telomorph *Pseudallescheria apiosperma* sp. nov. *Medical mycology* 48:122-128, 2010.
- Elad D, Perl S, Yamin D *et al.* Disseminated pseudallescheriosis in a dog, *Medical Mycology* 48: 635-638, 2010.
- Elad D. Infections caused by fungi of the *Scedosporium/Pseudallescheria* complex in veterinary species. *The Veterinary Journal* 187:33-41, 2011.
- Cabañes FJ, Roura X, García F, *et al.* Nasal granuloma caused by *Scedosporium apiospermum* in a dog. *Journal of Clinical Microbiology* 36:2755-2758, 1998.
- Caro-Vadillo A, García-Real I, Payá-Vicens MJ, *et al.* Fungal rhinitis caused by *Scedosporium apiospermum* in a labrador retriever. *Veterinary Record* 157:175-7, 2005.
- Coleman MG, Robson MC. Nasal infection with *Scedosporium apiospermum* in a dog. *New Zealand Veterinary Journal* 3:81-83, 2005.
- Paul AEH, Shiel R, Mansfield CS. Fungal rhinitis caused by *Scedosporium apiospermum* in a dog. *Australian Veterinary Practitioner*, 39:59-63, 2009.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of Nondermatophyte Filamentous Fungi. Approved guideline. 1st Edition. Document M51-A. Wayne, PA. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2010.
- Cortez KJ, Roilides E, Quiroz-Telles F, Meletiadiis J *et al.* Infections caused by *Scedosporium* spp. *Clinical Microbiological Reviews* 21:157-197, 2008.
- Tortorano AM, Richardson M, Roilides E *et al.* ESCMID and ECMJM joint guidelines on diagnosis and management of hyalohyphomycosis: *Fusarium* spp., *Scedosporium* spp. and others. *Clinical Microbiology and Infection* 20:27-46, 2014.

CASA EDITRICE E SOCIETÀ DI DISTRIBUZIONE

Editoria Scientifica



BURTON

Clinical atlas of small animal cytology

1° ed., 384 pagg., 600 ill., John Wiley & Sons, Ottobre 2017

Codice Articolo: CITO32 ISBN: 9781119215127

Listino euro 118,80

Scontato Soci ass. fed. ANMVI euro 101,00



POLI

Microbiologia e immunologia veterinaria

3° ed., 580 pagg., 400 ill., Edra, Ottobre 2017

Codice Articolo: MICRO85 ISBN: 9788821442278

Listino euro 49,00

Scontato Soci ass. fed. ANMVI euro 42,00



SHAW-MARTIN

Educazione e comportamento del cane e del gatto - Manuale teorico-pratico

1° ed., 400 pagg., 30 ill., Casa Editrice Ambrosiana, Settembre 2017

Codice Articolo: ETOLO100 ISBN: 9788808184276

Listino euro 52,50

Scontato Soci ass. fed. ANMVI euro 45,00



Per ordinare: www.ev srl.it/distribuzione - Fax 0372-457091 - E-mail: editoria@ev srl.it