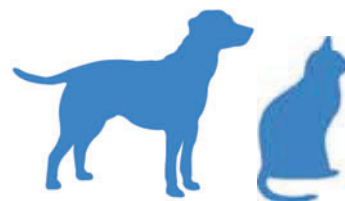


Infezioni da dermatofiti nel cane e nel gatto: vecchie e nuove tecniche diagnostiche



I funghi dermatofiti sono importanti agenti di infezione cutanea nell'uomo e negli animali. Nel cane e nel gatto le dermatofitosi sono associate a molteplici tipologie di lesioni cutanee e possono originare quadri clinici molto simili a quelli causati da altre malattie dermatologiche. Per giungere ad una diagnosi è pertanto necessario ricorrere ad esami collaterali specifici che, soprattutto in considerazione del potenziale zoonosico di questi patogeni, possano fornire risposte il più tempestivamente possibile. È stato recentemente (2017) pubblicato un articolo contenente linee guida per la diagnosi di dermatofitosi del cane e del gatto, derivanti da un'analisi sistematica e critica della letteratura. Prendendo spunto dalle suddette linee guida e integrandole con dati ottenuti da altri studi, la presente review vuole fornire una aggiornata e completa visione delle tecniche diagnostiche utilizzabili nelle infezioni da dermatofiti nel cane e nel gatto. Le tecniche diagnostiche oggetto della review sono: esame con lampada di Wood, esame con dermoscopio, esame diretto, esame colturale, PCR ed esame istologico.



Andrea Peano*,
Med Vet, PhD

INTRODUZIONE

I dermatofiti sono funghi filamentosi in grado di utilizzare come fonte di nutrimento la cheratina, principale costituente di peli, unghie e strato corneo dell'epidermide.¹ Sebbene solitamente causino infezioni limitate agli strati più superficiali della cute e ai suoi annessi, in qualche caso possono dare origine anche a localizzazioni cutanee più profonde.²

In base all'habitat naturale possono essere divisi in tre gruppi.³ I geofili o cheratinofili del suolo sono prevalenti nei terreni ricchi di materiale cheratinico (derivato da peli, piume, zoccoli ecc.) e vengono considerati principalmente come saprofiti, anche se occasionalmente possono essere causa di problemi dermatologici negli animali e nell'uomo.^{1,2} I dermatofiti zoofili sono adattati a vivere e riprodursi sugli animali, con le

varie specie fungine che riconoscono ospiti "serbatoio" preferenziali (es. *Trichophyton verrucosum*/bovino; *Microsporum canis*/gatto ecc.).² Rivestono una notevole importanza per la salute pubblica dato che sono trasmissibili all'uomo, in cui causano forme cliniche caratterizzate da una forte componente infiammatoria.^{1,4} Infine, i dermatofiti antropofili includono numerose specie strettamente adattate al parassitismo umano.¹ Nel cane e nel gatto le dermatofitosi devono essere poste in diagnosi differenziale in presenza di molteplici tipologie di lesioni cutanee e possono originare quadri clinici molto simili a quelli causati da altre malattie

I dermatofiti possono essere geofili (saprofiti del suolo), antropofili (parassiti stretti dell'uomo) o zoofili (associati agli animali, ogni specie fungina con ospiti preferenziali). Gli zoofili sono trasmissibili all'uomo.

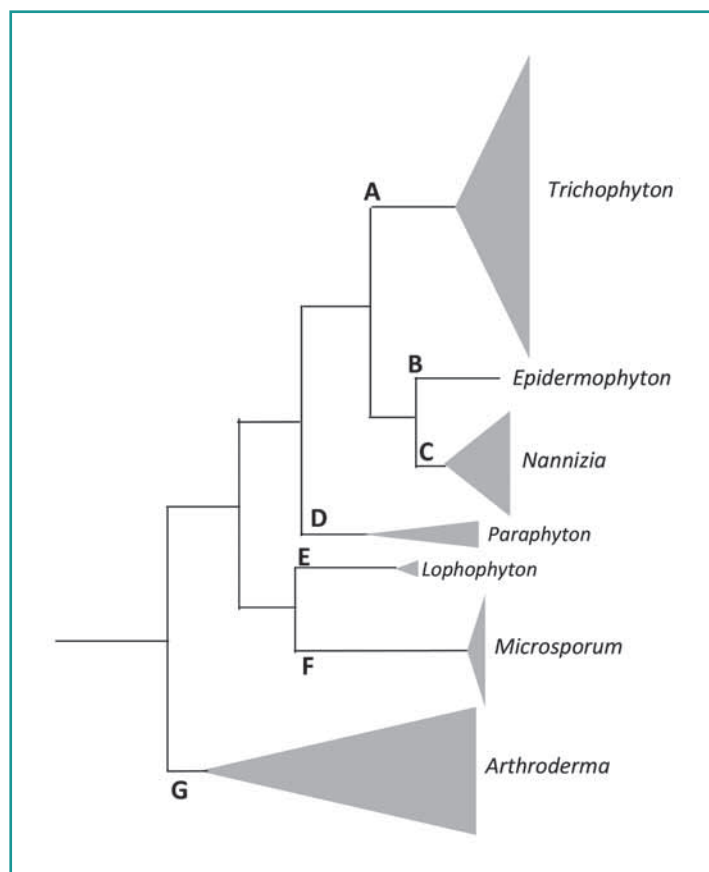


Figura 1 - Suddivisione dei generi nella famiglia Arthrodermataceae (dermatofiti). Albero filogenetico basato sulle sequenze di regione ITS, parziale LSU, tubulina e proteina ribosomiale L10 (modificato da De Hoog et al.⁹).

dermatologiche.² È dunque importante ricorrere ad esami collaterali per arrivare ad una diagnosi corretta. Il valore e i limiti dei vari test diagnostici disponibili sono stati recentemente oggetto di una rivalutazione critica attraverso una revisione sistematica della letteratura, grazie alla quale sono state proposte linee guida aggiornate per la diagnosi di dermatofitosi del cane e del gatto.⁵ Prendendo spunto dalle suddette linee guida e integrandole con dati ottenuti da altri studi, la presente review vuole fornire una aggiornata e completa panoramica delle tecniche diagnostiche utilizzabili nelle infezioni da dermatofiti nel cane e nel gatto.

INQUADRAMENTO TASSONOMICO E NOMENCLATURA - WORK IN PROGRESS

Una trattazione esaustiva della classificazione dei dermatofiti va oltre lo scopo di questa review, che intende riassumerne solo gli aspetti essenziali. Si rimanda pertanto alla consultazione di altri articoli per approfondimenti sul tema, considerando la continua evoluzione dell'argomento e la possibilità che si verifichino cambiamenti anche nell'immediato futuro.^{6,7} Sulla base delle forme riproduttive riscontrabili in col-

tura i dermatofiti venivano classicamente ascritti ai generi anamorfi *Microsporium*, *Trichophyton* ed *Epidermophyton*.^{1,2} Il termine "anamorfo" fa riferimento al fatto che le forme riproduttive sopra menzionate sono esito di una riproduzione di tipo asessuato (sono i macro- e microconidi osservabili nelle primo-colture effettuate per la diagnosi). L'esito della riproduzione di tipo sessuato è invece il c.d. "teleomorfo" che è, di solito, ottenibile con esperimenti controllati *in vitro*, mentre è quasi impossibile da rilevare, per la maggior parte dei dermatofiti, "in natura". Tenendo in considerazione il teleomorfo, i dermatofiti risultavano far parte del genere *Arthroderma* (ad es. *Microsporium canis* [anamorfo] - *Arthroderma otae* [teleomorfo]).¹ L'utilizzo di un doppio nome può originare una certa confusione, cosicché la tendenza attuale - in generale per tutti i funghi - è quella di rivedere la nomenclatura assegnando un nome univoco "ufficiale" ad ogni specie fungina. Si tratta del c.d. approccio "one fungus-one name", proposto dalla "dichiarazione di Amsterdam" del 2011.⁸

La tassonomia e la nomenclatura dei funghi dermatofiti sono in corso di revisione sulla base di analisi di sequenze di DNA.

Per i dermatofiti è stata recentemente proposta una revisione della classificazione e nomenclatura basata sull'analisi combinata di sequenze di diversi geni e su esperimenti di "mating" (riproduzione sessuata).⁶ Tale revisione mira prima di tutto a semplificare la classificazione tradizionale applicando il concetto di "nome unico" accennato sopra. Inoltre, essendo basata su criteri più oggettivi e discriminanti come il confronto di sequenze di DNA (rispetto a criteri morfologici), mira a definire con più precisione le suddivisioni tra specie e a validare le specie descritte. In Figura 1 è schematizzata la nuova proposta di suddivisione dei dermatofiti (famiglia *Arthrodermataceae*)⁶ mentre in Tabella 1 vengono riassunte le principali specie di dermatofiti implicate in infezioni nel cane e nel gatto, con informazioni su aspetti biologici ed ecologici.

L'intento ultimo della nuova proposta⁶ è quello di fornire una suddivisione più coerente con le caratteristiche ecologiche e biologiche dei dermatofiti, soprattutto nell'ottica di separare più nettamente le specie con riconosciuto potere patogeno. Per esempio, secondo la vecchia classificazione, nei generi *Trichophyton* e *Microsporium* erano incluse specie patogene (es. *Trichophyton mentagrophytes*) e specie saprofiti del suolo (es. *Trichophyton ajelloi*), mentre ora si ritrovano solo più specie clinicamente rilevanti, sia antropofile che zoofile. I generi *Arthroderma* e *Nannizzia* (Fig. 1) contengono invece per la maggior parte specie geofile/cheratinofile del

Tabella 1 - Principali dermatofiti agenti di patologia nel cane e nel gatto

Nomi utilizzati in passato	Nuovo nome proposto		Importanza come patogeno per cane e gatto	Fonte di contagio ("serbatoio principale")	Potenziale zoonosico ^a
<i>Microsporum canis</i> / <i>Arthroderma otae</i>	<i>Microsporum canis</i>	zoofilo	Gatto +++ Cane ++	Soprattutto il gatto	Sì
<i>Microsporum persicolor</i>	<i>Nannizia persicolor</i>	zoofilo	Cane +	Piccoli roditori (arvicole, talpe)	Sì, ma raro
<i>Microsporum gypseum</i>	<i>Nannizia gypsea</i>	geofilo	Cane +++ Gatto +	Suolo	Sì, ma molto raro
<i>Trichophyton mentagrophytes</i> var. <i>asteroides</i> , <i>Trichophyton interdigitale</i> zoofilico ecc.	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> ^{b,c}	zoofilo	Cane +++ Gatto +	Roditori e lagomorfi	Sì
<i>Arthroderma benhamiae</i>	<i>Trichophyton benhamiae</i> ^c	zoofilo	Cane +	Cavia	Sì
<i>Trichophyton mentagrophytes</i> var. <i>erinacei</i>	<i>Trichophyton erinacei</i>	zoofilo	Cane +	Riccio	Sì, ma raro

La tabella tiene in considerazione la nuova proposta di classificazione, accanto ai nomi "classici", per cercare di fare un po' di ordine nell'argomento.

^a Anche se in linea teorica tutte le dermatofitosi (da specie zoofile) sono da considerare contagiose per l'uomo, sono probabilmente le combinazioni "fungo/ospite animale principale" le più rischiose. Dunque *M. canis* è più contagioso a partire da un gatto, *T. erinacei* da un riccio, *T. mentagrophytes* da un coniglio ecc.

^b Geneticamente molto vicino a *T. interdigitale*, antropofilo.

^c Molto difficile la loro distinzione su base morfologica, necessaria PCR.

suolo tra le quali l'unica con riconosciuto valore patogeno, è *Nannizia gypsea* (più nota come *Microsporum gypseum*)^{5,9}, mentre per altre specie esistono solo segnalazioni sporadiche come causa di infezioni cutanee negli animali o nell'uomo.^{2,10,11}

Per la specie tradizionalmente conosciuta come *Trichophyton mentagrophytes* è difficile orientarsi nei cambi di nomenclatura che si sono succeduti nel tempo. In passato si riconoscevano alcune varietà (*T. mentagrophytes* var. *granulosum*, *T. mentagrophytes* var. *interdigitale*, *T. mentagrophytes* var. *erinacei* ecc.) basandosi su considerazioni legate all'ospite di provenienza e su variazioni morfologiche culturali. Si è poi arrivati a descrivere più specie distinte, facenti parte di un "complex", discriminabili sulla base di analisi del DNA e di risultati di prove di "mating".^{12,13}

Due specie di questo complex che dimostrano una quasi completa identità genetica^{14,15} ma che sembrano avere caratteristiche eco-patologiche diverse sono *Trichophyton interdigitale* (antropofilo, nell'uomo è associato a forme cutanee croniche, prevalentemente a localizzazione ungueale e del piede, non di derivazione animale, quindi con contagio inter-umano) e *Trichophyton mentagrophytes* (*sensu stricto*) (zoofilico, avente come ospiti preferenziali roditori e lagomorfi, nell'uomo origina lesioni infiammatorie, con localizzazioni variabili

Il fungo tradizionalmente conosciuto come *Trichophyton mentagrophytes* è in realtà un complesso di specie distinguibili su base molecolare.

[corpo, braccia, barba ecc.], dovute ad un contatto animale). Un'altra specie è *Trichophyton benhamiae*, zoofilico, prevalentemente associato alla cavia, con un trend in aumento di infezioni nell'uomo.¹⁶

Per quanto riguarda cane e gatto, nella maggior parte degli studi passati l'identificazione era solo su base morfologica^{17,18}, che permette, come detto, solo di identificare *T. mentagrophytes* in senso lato. Due recenti lavori che invece utilizzavano tecniche molecolari riportano dati opposti, maggior prevalenza di *T. mentagrophytes* in un caso¹², di *T. benhamiae* in un altro.¹⁹ Sono necessari ulteriori lavori per verificare, da un lato, quali siano le specie del complex più prevalenti in cane e gatto, ma soprattutto, se a queste specie differenti possano associarsi caratteristiche di importanza clinica (diverse forme cliniche, diversa patogenicità ecc.). Questo, in ultima analisi, per capire se la tipizzazione su base molecolare debba diventare parte del processo diagnostico di routine o se sia sufficiente utilizzare solo l'esame morfologico delle colture per identificare gli isolati come *T. mentagrophytes* *sensu lato*.

Nella nuova classificazione⁶ compaiono anche due generi nuovi, *Lophophyton* e *Paraphyton*, che includono poche specie di scarso interesse per la pratica clinica del cane e del gatto.

DERMATOFITI ED ECOSISTEMA CUTANEO

I dermatofiti non fanno parte del microbioma cutaneo di cane e gatto.

Studi sulla presenza di elementi fungini su cute e pelo di cani e gatti sani, sia con tecniche colturali²⁰⁻²² che molecolari (Next Generation Sequencing)²³⁻²⁵, sembrano indicare la non appartenenza di *M. canis* al microbioma cutaneo dei piccoli animali. Questa affermazione può sembrare in conflitto con l'elevata frequenza di "portatori sani" del fungo riscontrabile nelle comunità feline.⁵ In realtà, in questi contesti, lo "stato colturale" del mantello riflette l'ambiente in cui l'animale vive e la positività colturale indica molto spesso solo una "veicolazione meccanica" del fungo da parte dell'animale. Questo può sviluppare successivamente un'infezione "vera", oppure, se viene allontanato dall'ambiente contaminato, diventare rapidamente coltura-negativo.

Dal punto di vista clinico, soprattutto nel gatto, non è facile differenziare i veri infetti dai cosiddetti "veicolatori". In queste situazioni il conteggio delle colonie fungine nelle piastre di coltura potrebbe rappresentare un valido aiuto.⁵

Secondo i summenzionati studi, cani e gatti sani possono invece albergare numerose specie di "muffe non dermatofitiche". I generi più rappresentati sono *Aspergillus*, *Alternaria*, *Penicillium* e *Cladosporium*.²⁰⁻²⁵ Questi funghi non costituiscono una vera e propria "flora di superficie" residente, come invece avviene per i batteri. La loro presenza dovrebbe essere interpretata più come il risultato dell'intrappolamento nel pelo e sulla cute di propaguli fungini di derivazione ambientale.⁵ Queste muffe vengono occasionalmente associate a infezioni di strato corneo e unghie, soprattutto in medicina umana²⁶⁻²⁸, ma tale evenienza è considerata piuttosto rara, specialmente se paragonata con le dermatofitosi.

Se isolati nelle colture per dermatofiti, tali muffe debbono quindi, nella quasi totalità dei casi, essere interpretate come "contaminanti".²⁹ In caso di isolamenti abbondanti e ripetuti si potrebbe sospettarne un ruolo patogeno, ma in quel caso la conferma dovrebbe avvenire utilizzando criteri simili a quelli stabiliti per la diagnosi di onicomicosi da muffe non dermatofitiche nell'uomo.²⁶

FATTORI DI RISCHIO

I fattori che intervengono nella diffusione delle infezioni da dermatofiti possono variare in base alle specie fungine coinvolte. Nel caso di *M. canis*, per esempio, una delle specie di maggior riscontro, riveste grande importanza il sovraffollamento, che crea le condizioni ideali per permettere al fungo di diffondersi con facilità e rapidità. Questo spiega la maggior presenza e diffusione del fungo in raggruppamenti animali.² È opportuno a questo proposito fare però una distinzione che permette di sottolineare il maggior adattamento di *M. canis* al gatto rispetto al cane. Nel caso di comunità feline, soprattutto gattili, l'infezione si mantiene spesso indefinitamente, mentre in canili o allevamenti di cani, si possono riscontrare forme epidemiche ma è difficile che ci sia persistenza del problema.³⁰

***M. canis* si diffonde facilmente in comunità animali, creando situazioni endemiche di difficile eradicazione nei gattili. L'infezione da altre specie (*T. mentagrophytes*, *M. gypseum*) deriva dal contatto con roditori o terreno.**

Le attività "all'aperto", specialmente se a contatto con il terreno (scavo, rotolamento ecc.) espongono gli animali (specialmente il cane) ad infezioni da specie geofile, *T. mentagrophytes* e *M. persicolor* (ora *Nannizzia persicolor*).² Nei gatti cacciatori di topi è stata descritta una maggior prevalenza di *T. mentagrophytes* come agente eziologico rispetto al "classico" *M. canis*.¹²

In generale le dermatofitosi sono più comuni nei climi caldo-umidi, che favorirebbero lo sviluppo fungino, e nei cuccioli e gattini.⁵ La sola esposizione agli elementi fungini non sembra sufficiente, ma si pensa che siano necessari microtraumi cutanei per permettere la penetrazione dei funghi.⁵ Come per tutte le patologie infettive, malattie debilitanti e condizioni di stress possono rendere cani e gatti maggiormente predisposti a sviluppare una infezione da dermatofiti, sebbene la positività ad infezioni da FIV e FELV e l'uso di farmaci immunosoppressivi non siano stati identificati come fattori predisponenti.⁵

Per ciò che concerne la predisposizione di razza, diverse casistiche riportano un numero elevato di Persiani tra i gatti e di Yorkshire Terrier tra i cani.⁵ Oltre ad essere più colpite, queste razze dimostrano una predisposizione a sviluppare forme croniche, a volte con gravi segni clinici. A sostegno della predisposizione del Persiano vi è il fatto che molti dei casi di pseudomicetoma descritti riguardano gatti di questa razza.²

Riquadro 1 - Punti chiave della patogenesi delle dermatofitosi di cane e gatto^{5,9,18,31-45}

- Il primo passo dell'invasione è rappresentato dall'adesione di artroconidi ai cheratinociti interfollicolari. È necessario che l'animale sia esposto a una "massa critica" di elementi infettanti, che deve sfuggire ai meccanismi protettivi dell'organismo, che includono il pelo, l'attività di grooming e il sistema immunitario cutaneo. Microtraumi cutanei di una qualche origine sono necessari per l'impianto dell'infezione.
- Gli artroconidi producono ife che invadono lo strato corneo e "attaccano" i peli, proliferando verso la radice. Quando il fungo è giunto a questo livello si può verificare una situazione di "equilibrio" con la produzione continua di cheratina che avviene dalla parte profonda del pelo verso l'alto e la moltiplicazione fungina che tende a progredire dall'alto verso il basso.
- Il fungo in moltiplicazione invade in parte meccanicamente, in parte tramite l'attività di specifiche proteasi secrete nel microambiente circostante. Oltre a favorire l'invasione dei tessuti ospiti e il reperimento di nutrienti, alcuni enzimi sembrano essere anche coinvolti nel determinismo della risposta immunitaria.
- Man mano che la massa fungina viene "spostata" verso l'esterno del follicolo dalla crescita del pelo, il fusto pilifero diviene sempre più fragile. Questo genera la sintomatologia primaria clinicamente percepibile, cioè aree circoscritte caratterizzate da diradamento e rottura dei peli.
- Nel corso dell'invasione le ife fungine tendono progressivamente a frammentarsi originando nuovi artroconidi. Per i dermatofiti zoofili viene riconosciuta di solito una modalità di invasione di tipo "ectothrix", in cui, cioè, le ife invadono il fusto pilifero e gli artroconidi si ritrovano in posizione periferica (Figura 2, Foto 7.). Secondo studi con microscopio elettronico effettuati in corso di infezioni umane (in capelli) da *M. canis* gli artroconidi si formerebbero a partire da ife che perforano la cuticola del pelo dopo averlo invaso, secondo altri gli artroconidi potrebbero derivare anche da ife che già in origine decorrevano all'esterno della cuticola. Alcuni dermatofiti antropofili presentano (nelle infezioni umane) un tipo di invasione "endothrix", con la presenza di ife e artroconidi all'interno del pelo, con la cuticola che resta intatta.
- Per ciò che concerne *M. gypseum*, nonostante vi siano studi su serie di casi nel cane e nel gatto, è difficile trovare in letteratura descrizioni sulla modalità di invasione. In un caso descritto in un uomo l'invasione era di tipo ectothrix mentre in un caso in un cane era definito "endo-ectothrix" con "megaspore". In alcuni casi clinici visti dall'autore (dati non pubblicati) l'invasione era invece di tipo endothrix, con artroconidi di grandi dimensioni (Foto 8-9).
- L'attività di invasione del fungo dermatofita porta a distruzione del pelo con invasione del follicolo pilifero. A questa azione si contrappone la reattività dell'ospite, con una risposta immunitaria che si realizza come processo infiammatorio perifollicolare e aumentato turnover epidermico. L'alopecia si allarga in senso centrifugo, e la possibile risoluzione spontanea fa sì che il pelo ricresca a partire dal centro della lesione. Queste sono le c.d lesioni "tipiche".
- Il tempo di incubazione per la comparsa di lesioni cutanee visibili è stato valutato, in corso di infezioni sperimentali da *M. canis*, in 8-15 giorni nel gatto e 10-12 giorni nel cane.
- Manifestazioni cliniche "non tipiche" sono dovute alla risposta infiammatoria (eritema, esfoliazione, croste ecc.). La direzione che prenderà la forma patologica (più o meno infiammatoria) dipende in primis dalla combinazione ospite (cane o gatto) vs. specie fungina.
- Nel gatto *M. canis* ha raggiunto un elevato grado di adattamento e può provocare infezioni subcliniche/croniche con sintomatologia poco evidente. A livello istopatologico, si hanno quadri scarsamente infiammatori, con marcata partecipazione di mastcellule. Le lesioni sono in questo caso lievi, in confronto con quelle ritrovate nei soggetti con infezione acuta caratterizzata da una perifollicolite piogranulomatosa. Di solito il numero di elementi fungini presenti è inversamente proporzionale al grado di infiammazione riscontrato.
- Nel cane è più frequente assistere a lesioni con carattere infiammatorio, fino ad arrivare a forme di foruncolosi nodulare (kerion), causate dalla localizzazione profonda di elementi fungini che, a seguito della rottura della parete follicolare, invadono il derma ed evocano una reazione piogranulomatosa. È molto più raro che il cane presenti infezioni croniche/subcliniche.
- Fattori di ordine locale (microtraumi, macerazione strato corneo ecc.) o generale (razza, giovane età, malattie concomitanti, terapie immunosoppressive ecc.) possono condizionare l'andamento e la gravità dell'infezione.
- La risposta anticorpale non è protettiva, mentre è la presenza di una risposta infiammatoria cellulo-mediata che può portare a guarigione e a un certo grado di protezione.

PATOGENESI

Alcuni dei punti chiave della patogenesi delle dermatofitosi di cane e gatto sono elencati nel riquadro 1 (riferimenti bibliografici^{5,9,18,31-45}). Nella Figura 2 viene esemplificato, in modo schematico, il processo di invasione di strato corneo e peli.

SEGNI CLINICI

I segni clinici delle dermatofitosi riflettono quella che è la patogenesi descritta e si caratterizzano per la pre-

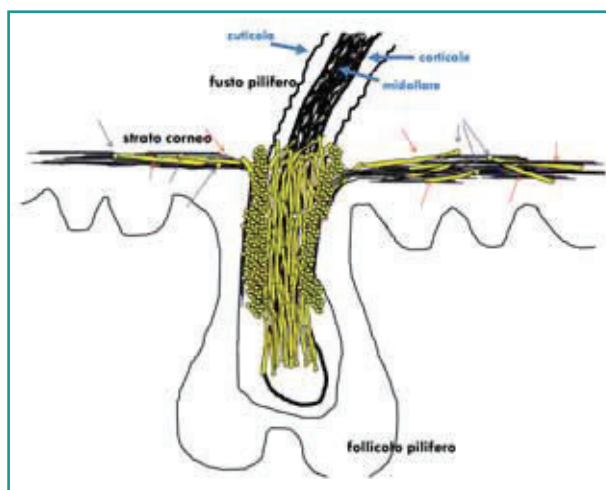


Figura 2 - Schema di invasione del pelo da parte di un fungo dermatofita (*M. canis*). Freccette sottili grigie: artroconidi che aderiscono ai cheratinociti; freccette sottili rosse: ife che invadono lo strato corneo.

senza di aree alopeciche totali o parziali e una risposta infiammatoria di intensità variabile.⁵

Aree alopeciche singole o multiple associate alla presenza di scaglie rappresentano il segno clinico più co-

I segni clinici riflettono la patogenesi dell'infezione fungina. Al segno clinico principale (diradamento del pelo/alopecia) si associano le manifestazioni conseguenti alla risposta infiammatoria (eritema, esfoliazione, croste).

munemente riscontrato nei gatti affetti da dermatofitosi, soprattutto nei soggetti di razza Comune Europeo (Foto 1). Meno frequentemente si osservano forme cliniche caratterizzate dalla presenza di papulocroste (dermatite miliare) distribuite prevalentemente su testa, collo e dorso e, preferenzialmente nei gatti razza Persiano, forme croniche associate ad estese aree alopeciche. In alcuni casi solo a seguito di un'attenta ispezione è possibile evidenziare sulla cute aree erite-

matose di piccole dimensioni con scaglie che possono restare intrappolate nel folto mantello per via della presenza di manicotti cheratinici (Foto 2) oppure esfoliare in gruppi di peli e scaglie (Foto 3).⁴⁶

Nel Persiano, e con minor frequenza anche in gatti di altre razze, è descritta una dermatite e pannicolite gra-



Foto 3 - Manicotti di cheratina perifollicolari. Pelo estirpato da gatto con infezione da *M. canis*.



Foto 1 - Lesione alopecica esfoliativa da *M. canis* in un gatto.



Foto 2 - Piccole aree eritematose ricoperte da scaglie fini rivelate dopo la rasatura di un gatto Persiano (infezione da *M. canis*).



Foto 4 - Lesione alopecica infiammatoria tondeggianti, con moderata desquamazione. Infezione da *M. gypsum* in un cane.

nulomatosa sostenuta da *M. canis* (c.d. pseudomicetoma dermatofitico)^{2,5} Questa lesione, causata probabilmente dall'impianto del dermatofita nel sottocute, è caratterizzata da noduli localizzati solitamente sul collo, sul dorso o alla base della coda, singoli o multipli, talvolta ulcerati e gementi un essudato che contiene granuli. Lo pseudomicetoma è stato descritto anche in sede intra-addominale.^{47-49,50,51}

Anche nel cane le lesioni più riscontrate sono rappresentate da aree di alopecia con pelo diradato/spezzato con grado variabile di infiammazione (Foto 4). Non è infrequente anche lo sviluppo di lesioni nodulari a sede dermica, il c.d. kerion dermatofitico.⁵ Si tratta di noduli singoli o multipli, alopecici, talvolta essudativi e localizzati più frequentemente alla testa o agli arti. In molti testi si legge che tale forma clinica è più comunemente dovuta a funghi "silvestri", come *T. mentagrophytes* o *M. gypsum*, ma questa affermazione sembra smentita da una casistica pubblicata in cui *M. canis* era l'agente più prevalente.³¹ Nel cane è più raro osservare forme croniche con andamento subclinico. In cani da caccia o con attitudine a scavare si possono osservare quadri clinici a localizzazione facciale (dorso del naso) sostenuti da *M. persicolor*, *T. mentagrophytes*, *M. gypsum*. La presenza di alopecia, esfoliazione, croste e papule e pustole follicolari fa sì che questa particolare presentazione possa essere confusa con il pemfigo fogliaceo. *T. erinacei* può causare forme molto infiammatorie con coinvolgimento di muso e arti² (Foto 5).

TECNICHE DIAGNOSTICHE

Dato che le dermatofitosi sono patologie infettive e (quasi tutte) contagiose, è essenziale ottenere una rapida conferma della presenza dell'infezione, per poter iniziare un trattamento specifico e limitare le possibilità di contagio per altri animali e uomo. La conferma dell'infezione fungina è complicata da due fattori. Il primo è la difficoltà di visualizzazione delle lesioni al di sotto del mantello (Foto 2), soprattutto nel caso in cui i peli infetti rimangano adesi alla cute per via della presenza di scaglie e manicotti di cheratina (Foto 3).⁵ La seconda complicazione deriva dal fatto che l'esposizione ad un ambiente contaminato da conidi, situazione comune soprattutto nei gattili (infezione da *M. canis*), potrebbe determinare una falsa positività in un soggetto che da semplice portatore meccanico, potrebbe quindi essere considerato come infetto. Secondo le linee guida⁵ nessun test diagnostico dovrebbe essere considerato come "gold standard". Infatti, in base alla situazione clinica (fase di infezione, tipo di lesioni, terapia già in corso oppure no, esperienza del clinico ecc.) la scelta del tipo di test potrebbe variare. In pratica, la vera domanda non dovrebbe essere "quale è il test gold standard", ma piuttosto⁵:



Foto 5 - Dermatofitosi da *T. erinacei* in un cane (foto Dott.ssa Alessandra Fondati).

- quale/i test può/possono confermare la presenza di un'infezione attiva per poter prendere una decisione sull'approccio gestionale (trattare o non trattare, mettere l'animale in quarantena ecc.)?
- quale/i test può/possono confermare l'assenza di un'infezione attiva (ad es. animale che deve essere introdotto in una nuova famiglia, l'animale è micologicamente guarito dopo terapia ecc.)?

Esame con lampada di Wood

La lampada di Wood ha la caratteristica di emettere delle radiazioni ultraviolette ad onda lunga, comprese tra i 320 ed i 400 nm, attraverso un filtro di nichel o di cobalto. Quando vengono irradiati con questa luce, i peli invasi da *M. canis* emettono una caratteristica fluorescenza color verde-mela, determinata dalla produzione di un metabolita del triptofano, la pteridina, contenuto nella corteccia e nella midollare del pelo.⁴¹ La fluorescenza è dovuta ad un'interazione chimica che avviene come risultato dell'infezione e non è associata alle spore fungine o materiale infettante.⁵ Altri dermatofiti che colpiscono cane e gatto non originano mai questa fluorescenza.^{5,41}

A differenza di quanto comunemente affermato, è probabile che la maggior parte dei casi di infezione da *M. canis* presentino fluorescenza alla lampada di Wood.

L'esame è considerato un mezzo di screening utilizzabile per una individuazione rapida, su campo, di animali infetti, per individuare con più facilità piccole lesioni, per indirizzare la scelta delle aree da campionare per altri esami e per monitorare l'andamento della

Riquadro 2 - Risultati riportati nella revisione critica della letteratura⁵ riguardante l'utilizzo della lampada di Wood per la diagnosi di dermatofitosi nel cane e nel gatto

Informazione aneddotica	Risultati della revisione critica della letteratura
Meno del 50% dei casi di infezione da <i>M. canis</i> è fluorescente	Questa affermazione risulta derivare da pochi studi retrospettivi. Invece, in numerosi studi su casi di infezione spontanea, sperimentale e con la partecipazione di personale esperto nell'uso della lampada, le percentuali di positività arrivavano a superare il 90%. La fluorescenza può essere più difficilmente reperibile nei gatti già in terapia.
Lo stesso ceppo fungino non causa fluorescenza su tutti i gatti	Sono stati trovati riscontri che supportano l'esatto contrario (uno stesso ceppo utilizzato per infezioni sperimentali in più animali produceva sempre fluorescenza).
La terapia topica inibisce la fluorescenza	In diversi studi - sia di campo che controllati - gli esami condotti per monitorare l'andamento dell'infezione non segnalavano perdita di fluorescenza in corso di terapia con prodotti topici (shampoo, lavaggi con enilconazolo).
La falsa fluorescenza è un problema	Il problema di una falsa fluorescenza è stato riconosciuto già nei primi articoli sull'utilizzo della lampada. Questa è dovuta a prodotti topici, materiale seborroico, scaglie ecc. In realtà, però, la fluorescenza "vera" dovuta a <i>M. canis</i> si distingue abbastanza facilmente perché è molto brillante, verde chiaro e coinvolge la parte peri-intrafollicolare dei fusti. L'esperienza e l'abilità dell'operatore sono importanti nell'evitare errori interpretativi.
Non tutti i peli fluorescenti sono positivi in coltura	L'analisi della letteratura conferma questa possibilità. Specialmente dopo terapia, i peli (non la parte prossimale che è stata "sterilizzata" dalla terapia, ma la porzione più distale) può rimanere positiva per un certo tempo anche se l'infezione è stata eradicata. Alcuni peli conservati in laboratorio erano ancora fluorescenti dopo 18 anni di conservazione

terapia.⁵ La lampada può anche essere utilizzata sui peli estirpati. Nell'articolo contenente le linee guida⁵, sono state analizzate in modo critico alcune informazioni che vengono di solito riportate a riguardo dell'utilizzo della lampada di Wood. I risultati di questa analisi sono riportati nel riquadro 2. In generale, si può affermare che i risultati falsi positivi e falsi negativi sono maggiormente dovuti ad equipaggiamento inadeguato, lampade che non hanno lente di ingrandimento, difficoltà nel contenimento del paziente, scarsa preparazione dell'operatore.

Esame con dermoscopia

L'esame con dermoscopia è stato oggetto di recenti studi che ne hanno sottolineato l'utilità come test di screening per la dermatofitosi del gatto^{52,53} similmente a quanto descritto per l'uomo.⁵ Una caratteristica che sembra indicativa è la presenza di peli opachi, parzialmente curvati o rotti con un inspessimento omogeneo (peli "a virgola"). Le aree affette presentano spesso anche quantità variabili di croste giallo brunastre.⁵ Osservazioni preliminari sembrano suggerire una possibile applicazione anche per il cane.⁵⁴

Esame diretto del pelo e delle scaglie

Viene attuato per cercare di visualizzare l'invasione dei tessuti cheratinizzati da parte degli elementi fungini. Il materiale può essere raccolto con diverse modalità. Il metodo più utilizzato consiste nell'estirpare i peli⁵, ma esistono anche altre possibilità. In uno studio che ha confrontato due metodi di campionamento⁵⁵, l'utilizzo di un raschiato superficiale delle lesioni sembrava dare

L'esame diretto permette di confermare un'infezione attiva (presenza di elementi fungini, ife e artroconidi, che invadono peli e strato corneo).

risultati migliori rispetto al pinzettamento del pelo. A prescindere da questi risultati, vale l'idea che non esista un campionamento "gold standard", ma che, in base al tipo di lesioni presenti - che possono essere molto diverse a seconda della risposta infiammatoria -, una modalità di prelievo possa dare risultati più soddisfacenti di un'altra.

Peli, scaglie, frammenti di croste possono essere campionati per strappamento e/o raschiato superficiale. Lesioni molto esfoliative possono essere campionate con la tecnica del nastro adesivo trasparente, mentre lesioni nodulari (possibili kerion o pseudomicetomi) vengono campionate generalmente tramite agoinfissione. Per queste forme può anche essere utile campionare la superficie del nodulo tramite raschiato superficiale o nastro adesivo trasparente.

Il materiale raccolto può essere montato in olio di vaselina. Si possono anche utilizzare coloranti come il blu lattofenolo o la soluzione a base di tiazina delle colorazioni rapide (tipo Hemacolor®). Nel caso di campioni citologici ottenuti tramite ago aspirato di una lesione nodulare o apposizione su gemizio si utilizzeranno le colorazioni rapide senza nessuna modifica del protocollo di colorazione. Nel caso di prelievo tramite nastro adesivo sarà invece possibile procedere mettendo una goccia di colorante (soluzione a base di tia-



Foto 6 - Materiale cutaneo immerso in NaOH. Digestione per ammorbidire il materiale e migliorare la visualizzazione di elementi fungini inglobati dentro le scaglie/croste.

zina delle colorazioni rapide o blu lattofenolo) su vetrino e appoggiandovi il nastro, che funge così da vetrino coprioggetto.

Nel caso di presenza di abbondante materiale cheratinico, l'utilizzo di NaOH o KOH al 10% permette di ammorbidire il materiale e di chiarificarlo mettendo così meglio in evidenza gli elementi fungini. Conviene utilizzare pochi ml di NaOH o KOH (Foto 6) per permettere di recuperare facilmente il materiale digerito,

che può essere trasferito, con una pipetta o con l'aiuto di una lama da bisturi, su un vetrino coprioggetto. Su questo possono essere aggiunte alcune gocce d'acqua o di un colorante a base acquosa (es. blu lattofenolo). Con questo tipo di preparati, di solito, gli elementi fungini non si colorano molto bene, ma il colorante può aiutare dando un po' di contrasto. Il tempo di digestione necessario per ottenere un preparato "leggibile" varia in base alla quantità e compattezza del materiale, con tempi tra mezz'ora e un'ora generalmente sufficienti. Bisogna anche sottolineare che se si aspetta troppo a lungo il materiale viene digerito completamente o tende a seccarsi. I vetrini preparati con idrossido non possono essere conservati e occorre prestare attenzione anche al fatto che questi liquidi sono corrosivi e possono dunque rappresentare un rischio alla manipolazione per l'operatore e sono inoltre molto dannosi per il microscopio.⁵

Ci sono pochi studi in letteratura che hanno confrontato il "valore" dell'esame diretto rispetto a coltura o lampada di Wood.⁵ Dati derivanti da diverse indagini su infezioni spontanee riportano un numero di positivi pari al 61,5% (210/341). Sono dati riferiti principalmente al gatto con infezione da *M. canis*.⁵ Non ci sono studi in letteratura veterinaria che confrontano la preparazione dei vetrini in olio di vaselina con le preparazioni in idrossido.⁵

Riquadro 3 - L'esame diretto per la diagnosi di dermatofitosi nel cane e nel gatto

Come si presentano i dermatofiti all'esame diretto

- Le ife presentano diametro uniforme di circa 2 - 3 µm, sono settate e variabili in lunghezza e grado di ramificazione. Decorrono internamente al pelo, lungo il suo asse (Foto 7, Foto 8). Possono anche essere ritrovate nelle scaglie (Foto 11). Sono trasparenti (molti funghi saprofiti sono scuri).
- Gli artroconidi generati dalla frammentazione delle ife possono essere in catena o raggruppati, rotondeggianti o quadrangolari (Foto 7-10). Sono trasparenti in olio o idrossido, colorati in blu/viola se si utilizzano coloranti rapidi.
- Per *M. canis* e *T. mentagrophytes* si parla di solito di invasione "ectothrix" (= artroconidi a grappolo o in catena nella parte esterna del fusto pilifero).
- Per *M. gypsum*, anche se in letteratura vi sono informazioni contrastanti, è esperienza dell'autore che sia endothrix (Foto 8-9) (grandi artroconidi all'interno del pelo).
- In caso di forme di dermatofitosi nodulare si possono visualizzare ife fungine disperse tra le cellule infiammatorie. In caso di pseudo-micetoma si può apprezzare il materiale amorfo che costituisce i granuli con frammisti elementi fungini (Foto 13).
- In micologia dermatologica umana, esistono regole codificate per l'identificazione dei dermatofiti al diretto, basandosi su pattern di invasione, grandezza e morfologia degli artroconidi. Per il cane e il gatto, anche se si possono fare delle ipotesi, è sempre opportuno ricorrere all'esame colturale per l'identificazione della specie fungina coinvolta.
- In rari casi è possibile mettere in evidenza quadri "atipici", ad esempio peli con ife e "tragitti" ifali riempiti d'aria (aspetto "favico" descritto in medicina umana) (Foto 12).

Di cosa "dubitare" (artefatti)

- Filamenti con diametro variabile, senza setti (fibre sintetiche, materiale vegetale...).
- Ife verde scuro/marrone (ife di funghi "contaminanti" che colonizzano pelo ed epidermide, tipo *Alternaria spp.*) (Foto 14).
- Strutture rotondeggianti disomogenee, di grandezza diversa (bolle d'aria, cellule epiteliali o infiammatorie, altro) (Foto 15).
- Tutto ciò che assomiglia a macroconidi (sono prodotti dai dermatofiti *solo* in coltura) (Foto 14).
- Qualunque tipo di forma riproduttiva (che non siano gli artroconidi). Es. teste aspergillari (*Aspergillus spp.* è considerabile come un contaminante se isolato da pelo/scaglie).

Una considerazione importante, a prescindere dai dati “ufficiali” è che il potenziale diagnostico dell’esame diretto dipende da diversi fattori, in primis l’esperienza e l’abilità dell’operatore. Inoltre, come descritto precedentemente, l’infezione da dermatofiti può decorrere in modo molto diverso, originando situazioni in cui la diagnosi diretta può essere semplice o molto complicata. Come esempi estremi possiamo citare, da un lato il caso di un gattino, ancora non in terapia, con lesione “tipica” (zona alopecica con scarsa infiammazione). In questo caso è probabile che vi siano molti peli infetti facili da campionare e da visualizzare. Dall’altra possiamo ipotizzare un cane con un’infezione “silvestre”, per esempio da *T. erinacei*. In questo caso l’imponente infiammazione (Foto 5) fa sì che i preparati siano di più difficile lettura, con scarsi elementi fungini e moltissima componente cellulare. Per questo secondo caso l’utilizzo di preparazioni in idrossido potrebbe aumentare le possibilità di visualizzare gli ele-

menti fungini. In generale queste considerazioni permettono di affermare come sia scorretto parlare genericamente di “valore dell’esame diretto per la diagnosi di dermatofitosi”, ma che occorra separare le situazioni considerando quale è il fungo coinvolto e quale è l’animale infettato. Nel riquadro 3 vengono presentati alcuni suggerimenti per la valutazione degli esami diretti, mentre nelle Foto 7-15 vengono riportati alcuni esempi di esami diretti positivi e di artefatti.

Esame culturale

Si parla spesso di questo esame come del “gold standard” per la diagnosi di dermatofitosi, probabilmente perché è l’esame che presenta la maggiore sensibilità, potendo mettere in evidenza anche la presenza di pochi elementi fungini in un campione cutaneo.^{41,46} Nelle linee guida⁵ si invita però a considerarlo solo come uno degli esami possibili che può essere o meno il più indicato in base alle diverse situazioni cliniche. Nel ri-



Foto 7 - Pelo invaso da *M. canis* (ife nastriformi intrapilari e manicotti di piccoli artroconidi). Preparazione in olio di vaselina (40 x).



Foto 9 - Altro punto dello stesso pelo di cui alla foto 8. Molto evidenti gli artroconidi intra-pilari.

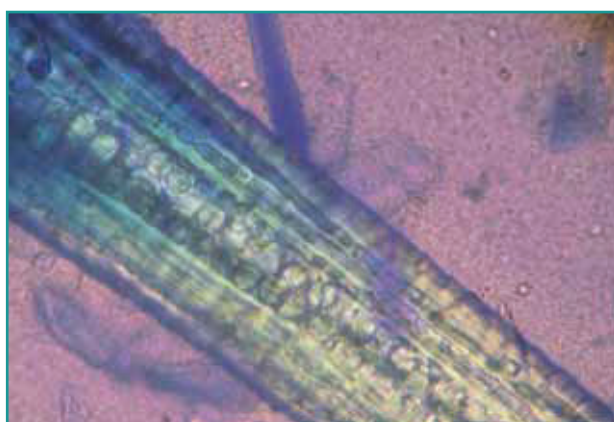


Foto 8 - Pelo invaso da *M. gypseum* (*N. gypsea*). Ife e grossi artroconidi all’interno del pelo (cuticola risparmiata = invasione tipo Endothrix). Preparazione con nastro adesivo trasparente appoggiato su una goccia di soluzione a base di tiazina (il colorante “blu”) della colorazione rapida Hemacolor® (40 x). La lesione campionata è quella riportata in Foto 4.

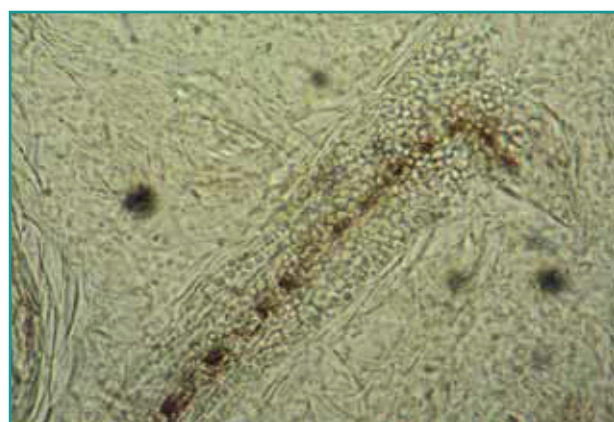


Foto 10 - Pelo di gatto con infezione da *T. mentagrophytes*. La digestione in NaOH 10% per 30 minuti (Foto 6) permette di individuare il pelo infetto inglobato nel materiale cheratinico.

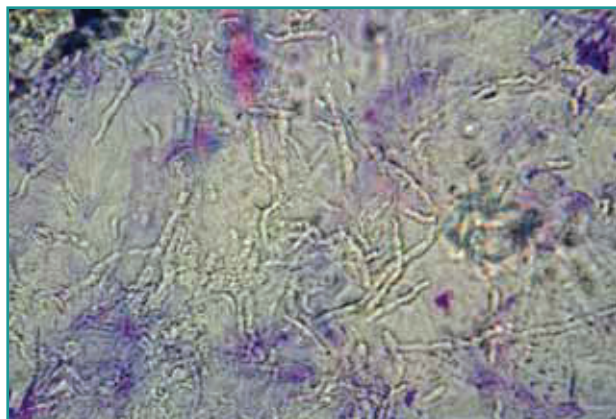


Foto 11 - Abbondanti ife trasparenti nelle scaglie di un gatto con infezione da *M. gypseum* (*N. gypsea*). Preparazione con nastro adesivo trasparente appoggiato su una goccia di soluzione a base di tiazina (il colorante “blu”) della colorazione rapida Hemacolor® (40 x). La lesione campionata era molto esfoliativa.

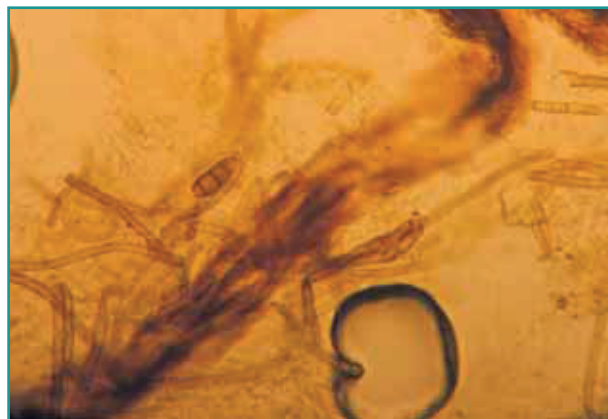


Foto 14 - Esempio di un artefatto all'esame diretto. Abbondanti ife verdastre e una spora (probabile *Alternaria* spp.). Preparazione con NaOH 10%.



Foto 12 - Rara presentazione di un pelo infetto. Aspetto simile a quanto nell'uomo indicato come infezione di tipo “favico” (rare ife intrapilari e tragitti ifali vuoti riempiti d'aria). Infezione da *T. mentagrophytes* in un cane.



Foto 15 - Esempio di un artefatto all'esame diretto. Conglomerato di elementi rotondeggianti simil-artroconidi (probabili cellule infiammatorie). Preparazione con NaOH 10%.

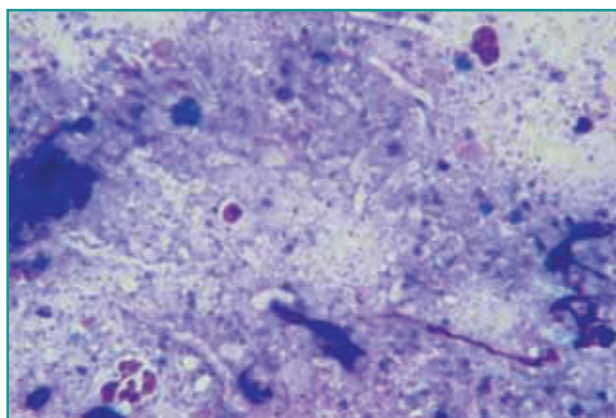


Foto 13 - Esame citologico di uno pseudomicetoma dermatofitico. Ife trasparenti, visualizzate “in negativo” sullo sfondo del materiale amorfo corrispondente ai granuli tipici contenuti nel nodulo. (Hemacolor®, 40 x).

Esame colturale e PCR sono le metodiche che possiedono la maggior sensibilità. Nel gatto positività a questi test possono indicare sia infezione attiva che uno status di portatore meccanico.

quadro 4 vengono riassunte alcune informazioni inerenti l'esecuzione e l'interpretazione dell'esame colturale.^{5,29,41,46,56,57}

PCR

Esistono numerose pubblicazioni dedicate all'identificazione tramite PCR di colonie di dermatofiti ottenute in coltura. Questi studi hanno un interesse più per fini di ricerca (come accennato, è su base molecolare che si sta rivedendo la tassonomia e la nomenclatura dei dermatofiti⁶) che diagnostici in senso stretto. La PCR può certamente essere utilizzata per identificare colonie di

Riquadro 4 - L'esame culturale nella diagnosi di dermatofitosi del cane e del gatto^{5,29,41,46,56,57}**Tecniche di campionamento**

- A seconda della tipologia e localizzazione delle lesioni vari materiali (frammenti di peli, croste, scaglie, frammenti di unghie, biopsie) possono essere inoculati nel terreno di coltura. Il materiale può anche essere raccolto tramite frammento di nastro adesivo trasparente. Una tecnica di comune utilizzo prevede l'uso di uno spazzolino da denti (considerato sterile dal punto di vista micologico quando è ancora nella sua confezione) strisciato per 2-3 minuti sulle lesioni o sul mantello. Questo risulta l'unico metodo possibile per animali senza lesioni (animali subclinici, carriers asintomatici, animali in follow up dopo guarigione clinica).

Semina del materiale

- Convienne seminare piccoli frammenti di materiale evitando di ammassare peli e croste. Scegliere le porzioni di pelo più vicine al follicolo. Non usare i peli interi. Si può anche seminare materiale semi-liquido recuperato da ago aspirato, frammenti di scotch (vengono appoggiati sul terreno), gemizio di lesioni ulcerate. Se si usa la tecnica con spazzolino, "picchiettarlo" sul terreno di coltura, effettuandovi delle impronte, per trasferire il materiale raccolto (frammenti di pelo, scaglie, spore libere ecc.). Trasferire sul terreno i peli rimasti intrappolati tra le setole è dannoso perché porta ad una maggior presenza di funghi saprofiti che possono nascondere/impedire la crescita dei dermatofiti.

Terreno di coltura e condizioni di incubazione

- Il terreno di più comune utilizzo è l'Agar Sabouraud destrosio con aggiunta di inibenti per limitare i contaminanti. Nella pratica clinica si utilizzano kit preparati con l'aggiunta di un indicatore di pH, i c.d. DTM (Dermatophyte Test Medium), prodotti con diverse tipologie di confezionamento (botticini, piastre, piastre doppie, micropiastre ecc.). Questi presentano un viraggio di colore indotto dall'alcalinizzazione del mezzo provocato dai dermatofiti in crescita.
- La temperatura di incubazione ottimale è tra i 25 e i 30°C.
- In molti testi si indica la necessità di incubare le piastre al buio, ma è stato dimostrato che l'esposizione alla luce non influenza tempi di crescita o sporulazione dei dermatofiti.

- Tempo di incubazione. I dermatofiti sono funghi a lenta crescita. Sono di solito necessari tra 5 e 10 gg per avere una buona crescita di colonie che sia possibile campionare per esame microscopico. Per quanto riguarda *M. canis* è stato recentemente dimostrato che - a partire da animali non trattati - le piastre si possono considerare negative se a 14 gg non si evidenzia crescita.

Interpretazione dei risultati

- Il semplice viraggio del terreno è puramente indicativo e da solo non garantisce una diagnosi definitiva (anche perché al limite evidenzia la presenza di un dermatofita, ma non indica la specie).
- Nella maggior parte dei casi è comunque probabile che, a lungo andare, si possa avere anche la crescita di funghi saprofiti del pelo che possono, dopo alcuni giorni, produrre un analogo viraggio del terreno. Un criterio interpretativo utile deriva quindi dalla valutazione del tempo di viraggio, che deve essere anticipato o contemporaneo allo sviluppo di colonie visibili.
- In seconda battuta è importante il colore delle colonie: i dermatofiti non possono mai essere di colore scuro (verde, bluastrò, grigio, nero ecc.). Nel caso in cui i parametri prima citati siano rispettati (crescita di colonia contemporanea allo sviluppo di colore rosso del terreno; colonie cresciute "non scure") le colonie originatesi risultano fortemente "sospette".
- È opportuno effettuare a questo punto un'analisi microscopica delle stesse, per poter osservare le strutture (macro e microconidi) che permettono un'identificazione dei ceppi ottenuti. C'è sempre, infatti, la possibilità che il pelo sia contaminato da funghi saprofiti "chiari". NB i geofili o cheratinofili del suolo su DTM si comportano in modo identico ad un dermatofita patogeno (= crescita di colonie bianche con contemporaneo viraggio di colore).
- Spesso ceppi di *M. canis* - cresciuti su DTM o su altri terreni - possono essere "sterili" (solo ife indifferenziate) o disgonici (conidi "distorti" e non identificabili).
- Per *M. canis* in caso di coltura da spazzolino sarebbe meglio non limitarsi a refertare la piastra come "positiva", ma indicare anche il numero di UFC (unità formanti colonia). Questa stima semi-quantitativa può essere utile per monitorare la terapia e per discriminare veri infetti da portatori meccanici.

aspetto atipico (o, ad esempio, colonie di *M. canis* con assenza di macroconidi) ma a livello applicativo fornisce risposte che sono spesso tardive rispetto alle necessità del clinico (occorre attendere la crescita delle colonie + tempi tecnici della PCR). Non sembra necessario al momento neanche applicare la PCR per discriminare le diverse specie del *T. mentagrophytes* complex.

Molto più interessante per il clinico è la possibilità di utilizzo di una PCR per individuare, direttamente in peli/croste, il DNA di diverse specie di funghi dermatofiti. Diverse sono le tecniche sviluppate primariamente in medicina umana. Tra le procedure descritte la c.d. real-time PCR (rt-PCR) è tra quelle di maggior utilizzo.⁵⁸ C'è un'aumentata disponibilità di tali tecniche anche in veterinaria (servizi offerti da laboratori commerciali o da Istituti di ricerca).

Nel riquadro 5 vengono presentate alcune informazioni e considerazioni in merito all'utilizzo della PCR per

la diagnosi di dermatofitosi, basate sulla letteratura disponibile, che al momento riguarda soprattutto le infezioni da *M. canis* nel gatto.⁵⁹⁻⁶¹ Si ricorda, comunque, che i servizi commercialmente disponibili permettono di rilevare la presenza anche di altri dermatofiti.

Esame istologico

L'esame istopatologico è una metodica poco utilizzata dal momento che la diagnosi si ottiene nella maggior parte dei casi con le altre diagnostiche finora discusse. Ciononostante si può ricorrere all'esame istologico nei casi in cui non si riescono ad individuare elementi fungini o si ottengono colture negative, in corso di lesioni ulcerative e crostose (che rendono difficile l'individuazione e la raccolta dei funghi), in presenza di kerion o quando si vuole confermare la presenza del pattern istopatologico caratteristico di uno pseudomicetoma.⁵

Riquadro 5 - PCR per la diagnosi diretta (da pelo e croste) di dermatofitosi nel cane e nel gatto⁵⁹⁻⁶¹

- Il vantaggio più concreto della PCR rispetto a coltura è la rapidità (1-3 giorni vs 7-21 gg). Dunque può permettere uno screening molto più rapido, per esempio di animali che debbano essere introdotti in una nuova famiglia.
- La PCR possiede senza dubbio sensibilità più elevata dell'esame diretto, ma in molte situazioni cliniche un corretto approccio all'esame diretto (ottimizzazione del prelievo e della processazione, training dell'operatore) può portare a limare questa differenza. A tal proposito si fa notare come l'esame diretto dia comunque risposte più rapide della PCR, e - in un certo senso - più complete (permette di verificare l'invasione del pelo/squame confermando la presenza di una vera e propria infezione).
- La PCR indica "genericamente" la presenza di DNA di un dermatofita patogeno. L'animale potrebbe essere un "vero infetto" o un carrier meccanico.
- Anche se la PCR è intrinsecamente superiore a esame diretto e coltura, rimane cruciale il campionamento: se non adeguato anche la PCR può fallire.
- L'elevata sensibilità della PCR la rende un ottimo metodo per escludere quasi con certezza la presenza dell'infezione.
- La stessa elevata sensibilità può rappresentare un problema in situazioni con elevata carica fungina ambientale perché animali positivi potrebbero semplicemente essere frutto di una contaminazione e non essere veri infetti. Questo può comportare problemi nei protocolli decisionali (animale da separare o meno, tipo di terapia da impostare ecc.).
- Diversi animali giudicati micologicamente guariti (più colture negative) possono risultare positivi alla PCR. Questo è stato attribuito all'abilità della PCR nel rilevare piccolissime cariche fungine che potrebbero essere in quantità troppo bassa per causare infezione; alla contaminazione del mantello; alla contaminazione del campione raccolto in un contesto di contaminazione ambientale; alla presenza di elementi fungini morti per il trattamento antimicotico. Questi ritrovamenti suggeriscono che certamente una PCR negativa durante il trattamento è un dato molto affidabile sulla guarigione dell'animale, ma potrebbe portare a terapie e periodi di isolamento più prolungati. Negli studi consultati si conclude che, in attesa di nuovi dati, il criterio per giudicare una guarigione micologica debba essere mantenuto su base colturale (2 colture negative). Si potrebbe affermare che l'utilizzo della PCR è raccomandabile per animali per cui debbo avere una certezza assoluta di negativizzazione (animali destinati ad adozione, a contatto con persone immunodepresse, a contatto con bambini ecc.).

CONCLUSIONI

La diagnosi di dermatofitosi nel cane e nel gatto può essere effettuata con una serie di esami complementari. Nessun test è considerabile come un "gold stan-

dard" ma di volta in volta, in base allo scenario clinico, ciascuna delle possibili tecniche potrebbe risultare più adatta delle altre ad individuare (o a escludere) la presenza dell'infezione fungina.

PUNTI CHIAVE

- Nessun esame per la diagnosi di dermatofitosi può essere considerato come "gold standard".
- La diagnosi si ottiene con una combinazione di esami: lampada di Wood; esame diretto che può documentare un'infezione attiva; esame colturale che permette di identificare la specie fungina responsabile e di monitorare la risposta alla terapia; esame istopatologico con colorazioni speciali (PAS e Grocott) in caso di forme nodulari o presentazioni atipiche.
- L'esame diretto può permettere una diagnosi molto rapida e diversi fattori ne condizionano il risultato: abilità ed esperienza dell'operatore; combinazione fungo/ospite (se infezioni con dermatofita "adattato" di solito vi sono molti elementi fungini con scarsa reattività infiammatoria); quantità di materiale campionato; processazione del materiale (se campione con abbondante materiale cheratinico la digestione in idrossido facilita la visualizzazione di peli invasi da ife e artroconidi e di ife "libere" nelle scaglie).
- L'uso del dermoscopio - con o senza l'ausilio della lampada di Wood - può essere un utile esame clinico per identificare peli da sottoporre ad esame diretto/coltura.
- L'esame con PCR (infezioni da *M. canis*) può essere di una certa utilità. Tuttavia, una positività non indica necessariamente un'infezione attiva, dato che elementi fungini morti in corso di un'infezione trattata con successo potrebbero essere rilevati dalla metodica, così come elementi fungini derivanti da una contaminazione ambientale.
- Contrariamente a quanto si crede, è probabile che l'esame con lampada di Wood sia positivo nella maggior parte dei casi di infezione da *M. canis*. La fluorescenza potrebbe essere più difficile da rilevare in gatti in corso di terapia.
- Il monitoraggio della terapia può essere effettuato valutando la risposta clinica, con la lampada di Wood e con colture. Il numero di colonie fungine (*M. canis*) è utile per il monitoraggio.
- Una PCR negativa in un gatto trattato indica con elevata probabilità una guarigione micologica (animale curato).

Dermatophytosis of the dog and cat: old and new diagnostic tools

Summary

Dermatophytes are important fungal pathogens that cause superficial infections in people and animals. In cats and dogs, the clinical signs are variable and similar to those produced by other dermatological diseases. The presence of infection must thus be confirmed by diagnostic tests. A timely diagnosis is necessary to reduce the risk of transmission to other animals and humans. Recently (2017) a systematic literature review has been used as basis for the publication of updated guidelines for the diagnosis of dermatophytosis of cats and dogs. The present article draws lessons from these guidelines and other studies in the literature, to provide an updated overview on the diagnostic tests used by the veterinary. These tests include: Wood's lamp examination; dermoscopy; direct examination of hair and scales; culture; PCR; histopathology.

BIBLIOGRAFIA

- Weitzman I, Summerbell RC. The dermatophytes. Clinical Microbiology Reviews 8(2):240-259, 1995.
- Chermette R, Ferreiro L, Guillot J. Dermatophytoses in Animals. Mycopathologia 166(5-6):385-405, 2008.
- Ajello L. Present day concepts of the dermatophytes. Mycopathologia et Mycologia Applicata 17(4):315-324, 1962.
- Pasquetti M, Molinar Min AR, Scacchetti S, et al. Infection by *Microsporum canis* in Paediatric Patients: A Veterinary Perspective. Veterinary Sciences 4(3):46, 2017.
- Moriello KA, Coyner K, Paterson S, et al. Diagnosis and treatment of dermatophytosis in dogs and cats. Veterinary Dermatology 28(3):266-e68, 2017.
- de Hoog GS, Dukik K, Monod M, et al. Toward a Novel Multilocus Phylogenetic Taxonomy for the Dermatophytes. Mycopathologia 182(1-2):5-31, 2017.
- Dukik K, de Hoog GS, Stielow JB, et al. Molecular and Phenotypic Characterization of *Nannizgia* (Arthrodermataceae). Mycopathologia. 2019 In press.
- Hawksworth DL, Crous PW, Redhead SA, et al. The Amsterdam Declaration on Fungal Nomenclature. IMA Fungus 2(1):105-112, 2011.
- Nardoni S, Mugnaini L, Papini R, et al. Canine and feline dermatophytosis due to *Microsporum gypsum*. A retrospective study of clinical data and therapy outcome with griseofulvin. Journal de Mycologie Medicale 23(3):164-167, 2013.
- Uhrhlaß S, Mayser P, Schwarz R, et al. Dermatormycoses Due to *Nannizgia praecox* (Formerly *Microsporum praecox*) in Germany: Case Reports and Review of the Literature. Mycopathologia 183(2):391-398, 2018.
- Hubka V, Dobiášová S, Dobiáš R, et al. *Microsporum aenigmaticum* sp. nov. from *M. gypsum* complex, isolated as a cause of tinea corporis. Medical Mycology 52(4):387-396, 2014.
- Drouot S, Mignon B, Fratti M, et al. Pets as the main source of two zoonotic species of the *Trichophyton mentagrophytes* complex in Switzerland, *Arthroderma vanbreuseghemii* and *Arthroderma benhamiae*. Veterinary Dermatology. 20(1):13-18, 2009.
- Heidemann S, Monod M, Gräser Y. Signature polymorphisms in the internal transcribed spacer region relevant for the differentiation of zoophilic and anthropophilic strains of *Trichophyton interdigitale* and other species of *T. mentagrophytes sensu lato*. British Journal of Dermatology 162(2):282-295, 2010.
- Dhib I, Khammari I, Yaacoub A, et al. Relationship Between Phenotypic and Genotypic Characteristics of *Trichophyton mentagrophytes* Strains Isolated from Patients with Dermatophytosis. Mycopathologia 182(5-6):487-493, 2017.
- Pchelin IM, Azarov D V, Churina MA, et al. Species boundaries in the *Trichophyton mentagrophytes* / *T. interdigitale* species complex. Medical Mycology. In Press 2018.
- Tekin HG, Sigsgaard V, Zachariae C, et al. Would you like to purchase a rodent with dermatophytes? Mycoses. In press, 2019.
- Debnath C, Mitra T, Kumar A, et al. Detection of dermatophytes in healthy companion dogs and cats in eastern India. Iran Journal of Veterinary Research. 17(1):20-24, 2016.
- Moriello KA, Stuntebeck R, Mullen L. *Trichophyton* species and *Microsporum gypsum* infection and fomite carriage in cats from three animal shelters: a retrospective case series. Journal of Feline Medicine and Surgery. In press, 2019.
- Sieklicki U, Oh S-H, Hoyer LL. Frequent isolation of *Arthroderma benhamiae* from dogs with dermatophytosis. Veterinary Dermatology. 4;25(1):39-e14, 2014.
- Moriello KA, DeBoer DJ. Fungal flora of the coat of pet cats. American Journal of Veterinary Research 52(4):602-606, 1991.
- Moriello KA, DeBoer DJ. Fungal flora of the haircoat of cats with and without dermatophytosis. Journal of Medical and Veterinary Mycology 29(5):285-292, 1991.
- Philpot CM, Berry AP. The normal fungal flora of dogs. A preliminary report. Mycopathologia 87(3):155-157, 1984.
- Meason-Smith C, Diesel A, Patterson AP, et al. Characterization of the cutaneous mycobiota in healthy and allergic cats using next generation sequencing. Veterinary Dermatology 28(1):71-e17, 2017.
- Meason-Smith C, Diesel A, Patterson AP, et al. What is living on your dog's skin? Characterization of the canine cutaneous mycobiota and fungal dysbiosis in canine allergic dermatitis. FEMS Microbiology Ecology 91(12):fiv139, 2015.
- Rodrigues Hoffmann A, Patterson AP, Diesel A, et al. The Skin Microbiome in Healthy and Allergic Dogs. PLoS One 9(1):e83197, 2014.
- Bombace F, Iovene MR, Galdiero M, et al. Non-dermatophytic onychomycosis diagnostic criteria: an unresolved question. Mycoses 59(9):558-565, 2016.
- Calado NB, Sousa F Jr, Gomes NO, et al. Fusarium Nail and Skin Infection: A Report of Eight Cases from Natal, Brazil. Mycopathologia 161(1):27-31, 2006.
- Arrese JE, Piérard-Franchimont C, Piérard GE. Unusual mould infection of the human stratum corneum. Journal of Medical and Veterinary Mycology 35(3):225-227, 1997.
- Di Mattia D, Fondati A, Monaco M, et al. Comparison of two inoculation methods for *Microsporum canis* culture using the toothbrush sampling technique. Veterinary Dermatology 30(1):60-e17, 2019.
- Wright AI. Ringworm in dogs and cats. Journal of Small Animal Practice. 30(4):242-249, 1989.
- Albanese F, Caruso C. Il kerion dermatofitico. Aspetti eziologici, clinici, diagnostici e terapeutici in 39 cani. Veterinaria 21 (5): 9-18, 2007.
- Aljabre SH, Richardson MD, Scott EM, et al. Adherence of arthroconidia and germlings of anthropophilic and zoophilic varieties of *Trichophyton mentagrophytes* to human corneocytes as an early event in the pathogenesis of dermatophytosis. Clinical and Experimental Dermatology 18(3):231-235, 1993.
- Baldo A, Monod M, Mathy A, et al. Mechanisms of skin adherence and invasion by dermatophytes. Mycoses 55(3):218-223, 2012.
- Bourezane Y, Bourezane Y. Analysis of trichoscopic signs observed in 24 patients presenting tinea capitis: Hypotheses based on physiopathology and proposed new classification. Annales de Dermatologie et de Venerologie 144(8-9):490-496, 2017.
- Carlotti B. Dermatophytosis due to *Microsporum persicolor* (13 cases) or *Microsporum gypsum* (20 cases) in dog. Veterinary Dermatology 10: 17-27, 1999.
- DeBoer D, Moriello K. Investigations of a killed dermatophyte cell-wall vaccine against infection with *Microsporum canis* in cats. Research in Veterinary Science 59(2):110-113, 1995.
- García-Agudo L, Espinosa-Ruiz JJ. Tinea capitis por *Microsporum gypsum*, una especie infrecuente. Archivos Argentinos de Pediatría 116(2):e296-e299, 2018.
- Khosla R, Rai P GP. Experimental *Microsporum canis* infection in dogs. Indian Journal of Animal Science 59:221-225, 1989.
- Lund A, DeBoer DJ. Immunophylaxis of Dermatophytosis in Animals. Mycopathologia 166(5-6):407-424, 2008.
- Mignon BR, Coignoul F, Leclipteux T, et al. Histopathological pattern and

- humoral immune response to a crude exo-antigen and purified keratinase of *Microsporium canis* in symptomatic and asymptomatic infected cats. Medical Mycology 37(1):1-9, 1999.
41. Moriello KA. Diagnostic techniques for dermatophytosis. Clinical Techniques in Small Animal Practice 16(4):219-224, 2001.
 42. Okuda C, Ito M, Sato Y, et al. Fungus invasion of human hair tissue in tinea capitis caused by *Microsporium canis*: light and electron microscopic study. Archives of Dermatological Research 281(4):238-246, 1989.
 43. Sparkes AH, Gruffydd-Jones TJ, Stokes CR. Acquired immunity in experimental feline *Microsporium canis* infection. Research in Veterinary Science 61(2):165-168, 1996.
 44. Vismar HF. *Microsporium canis* scalp ringworm: its primary or secondary ectothrix character. Scanning Microscopy 7(2):671-676, 1993.
 45. Woodfolk JA, Platts-Mills TA. The immune response to dermatophytes. Research in Immunology 149(4-5):436-445, 1998.
 46. Moriello K. Feline dermatophytosis: aspects pertinent to disease management in single and multiple cat situations. Journal of Feline Medicine and Surgery. 16(5):419-431, 2014.
 47. Bianchi M V, Laisse CJM, Vargas TP, et al. Intra-abdominal fungal pseudomycetoma in two cats. Revista Iberoamericana de Micología. 34(2):112-115, 2017.
 48. Black SS, Abernethy TE, Tyler JW, et al. Intra-abdominal dermatophytic pseudomycetoma in a Persian cat. Journal of Veterinary Internal Medicine. 15(3):245-248, 2008.
 49. Zafrany A, Ben-Oz J, Segev G, et al. Successful treatment of an intra-pelvic fungal pseudomycetoma causing constipation and hypercalcaemia in a Persian cat. Journal of Feline Medicine and Surgery. 16(4):369-372, 2014.
 50. Miller RI. Nodular granulomatous fungal skin diseases of cats in the United Kingdom: a retrospective review. Veterinary Dermatology 21(2):130-135, 2010.
 51. Ferro S, Vasconi E, Castagnaro M. Un caso di pseudomycetoma intradominale in un gatto comune Europeo. Veterinaria 22 (2): 39-42, 2008.
 52. Dong C, Angus J, Scarampella F, et al. Veterinary Dermatology 27 (4): 275-e65, 2016.
 53. Scarampella F, Zanna G, Peano A, et al. Dermoscopic features in 12 cats with dermatophytosis and in 12 cats with self-induced alopecia due to other causes: an observational descriptive study. Veterinary Dermatology 26(4):282-e63, 2015.
 54. Scarampella F, Zanna G, Peano A. Dermoscopic features in canine dermatophytosis: some preliminary observations. Veterinary Dermatology 28(2):255-256, 2017.
 55. Colombo S, Cornegiani L, Beccati M, et al. Comparazione di due metodiche di prelievo per l'esame microscopico diretto nella diagnosi della dermatofitosi del cane e nel gatto. Veterinaria 24 (3): 27-33, 2010.
 56. Moriello KA. Effects of temperature variations and light exposure on the time to growth of dermatophytes using six different fungal culture media inoculated with laboratory strains and samples obtained from infected cats. Journal of Feline Medicine and Surgery 12 (12): 988-990, 2010.
 57. Stuntebeck R, Moriello KA, Verbrugge M. Evaluation of incubation time for *Microsporium canis* dermatophyte cultures. Journal of Feline Medicine and Surgery 20 (10): 997-1000, 2018.
 58. Arabatzis M, Bruijnesteijn van Coppenraet LE, Kuijper EJ, et al. Diagnosis of common dermatophyte infections by a novel multiplex real-time polymerase chain reaction detection/identification scheme. The British Journal of Dermatology 157(4):681-689, 2007.
 59. Moriello KA, Leutenegger CM. Use of a commercial qPCR assay in 52 high risk shelter cats for disease identification of dermatophytosis and mycological cure. Veterinary Dermatology 29(1):66-e26, 2018.
 60. Jacobson LS, McIntyre L, Mykusz J. Comparison of real-time PCR with fungal culture for the diagnosis of *Microsporium canis* dermatophytosis in shelter cats: a field study. Journal of Feline Medicine and Surgery 20(2):103-107, 2018.
 61. Jacobson LS, McIntyre L, Mykusz J. Assessment of real-time PCR cycle threshold values in *Microsporium canis* culture-positive and culture-negative cats in an animal shelter: a field study. Journal of Feline Medicine and Surgery 20(2):108-113, 2018.



Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie
Alma Mater Studiorum - Università di Bologna



XVI
Edizione

Endoscopia Flessibile e Rigida dell'Apparato Digerente, Respiratorio, Urinario e Genitale nei Piccoli Animali

17 - 18 Dicembre 2019 - Ozzano dell'Emilia (BO)

Presidente del Corso Prof. Marco Pietra



SEGRETERIA ORGANIZZATIVA
HT Eventi e Formazione srl
Via D'Azeglio 39 - 40123 Bologna
Tel. 051 473911 - Fax 051 331272
E-mail: fabiola@htcongressi.it
www.htcongressi.it

Si ringrazia

ALCYON
ITALIA

STORZ
KARL STORZ - ENDOSKOPE



3trebifarma

