

Prima segnalazione di isolamento di *Trichophyton erinacei* in un riccio europeo (*Erinaceus europaeus*) in Italia



Introduzione: *Trichophyton erinacei* è un dermatofita zoonotico agente eziologico di dermatofitosi negli animali e nell'uomo. Il riccio europeo (*Erinaceus europaeus*) è considerato un'importante fonte di infezione per l'uomo e per gli animali domestici, in particolare per i cani da caccia che più frequentemente possono venirne a diretto contatto. Sebbene la letteratura riporti questo dermatofita nel riccio europeo con una prevalenza del 25-50%, ad oggi in Italia non è stato segnalato nessun isolamento. Questo studio si propone di valutare la flora microbica cutanea di 30 ricci europei campionati presso il CRFS LIPU di Pontevecchio di Magenta (MI).

Materiali e metodi: I tamponi cutanei sono stati seminati entro 24-48 ore su Sabouraud Dextrose Agar per la ricerca di miceti, e su agar-sangue per la ricerca di batteri (dati non riportati).

Risultati: *Trichophyton erinacei* è stato isolato da un solo riccio, che non presentava un quadro clinico riconducibile a micosi.

Conclusioni: Considerando che il riccio è un animale sinantropo, questo segnalamento conferma il ruolo di portatore sano del riccio, sottolineando il rischio di infezione per l'uomo e per gli animali domestici.

Rosita Semenza
Esposito
Med Vet^{1,2,3,*}

Gabriele Meroni
PhD⁴

Emanuele Lubian
MedVet^{2,3,5}

Piera Anna Martino
DBS PhD⁶

INTRODUZIONE

Nei mammiferi sia domestici sia selvatici è possibile osservare affezioni analoghe alla tigna dell'uomo che sono, per la maggior parte, considerate potenziali zoonosi. Tra gli animali selvatici, il riccio europeo (*Erinaceus europaeus*) può svolgere un importante ruolo di serbatoio d'infezione (Fig. 1).

T. erinacei è un dermatofita zoofilo comunemente isolato dai ricci (considerati serbatoi naturali) ed è diffuso principalmente in Nuova Zelanda e in Europa¹. Nonostante tassonomicamente fosse classificato come *T. mentagrophytes* var. *erinacei*, recenti studi filogenetici lo hanno ri-classificato come nuova specie del genere *Trichophyton*^{2,3}. Macroscopicamente le colonie, su Sabouraud Dextrose Agar (SDA), presentano accrescimento rapido, sono di colore bianco, piatte e con un aspetto polveroso (a vol-

¹Ambulatorio veterinario dottori Ferlini e Millefanti via Galvani 42 Gaggiano.

²MypetClinic via Daniele Ranzoni 10, Milano.

³CRFS LIPU "La Fagiana" di Pontevecchio di Magenta.

⁴Dipartimento di Scienze Biomediche per la Salute, Università degli Studi di Milano.

⁵Università degli Studi di Messina.

⁶Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Milano.

***T. erinacei* è un dermatofita zoofilo comunemente isolato dai ricci europei, che possono rappresentare una fonte di contagio per l'uomo.**

*Corresponding Author (rosita.esposito91@gmail.com)

Ricevuto: 27/04/2020 - Accettato: 12/10/2020



Figura 1 - Esemplare di *Erinaceus europaeus* in natura.

te lanuginoso)³. Alla valutazione della morfologia microscopica, questo patogeno si distingue per una scarsa presenza di macroconidi e numerosi microconidi clavati posti ai lati delle ife (Figg. 2-3-4).

I ricercatori neozelandesi Smith e Marples furono i primi a parlare di *Trichophyton mentagrophytes* var. *erinacei* in uno studio pubblicato nel 1964 e finalizzato alla ricerca del

In Europa le percentuali di isolamento di *T. erinacei* nei ricci sono piuttosto basse.

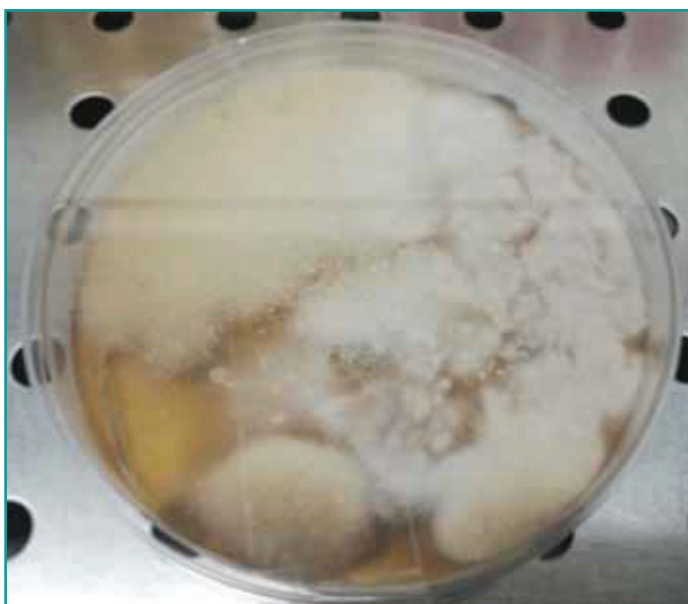


Figura 2 - Aspetto macroscopico di *T. erinacei* su Sabouraud Dextrose Agar (SDA): particolare dell'aspetto biancastro polveroso tipico delle colonie di questa specie.

dermatofita in ricci europei. Dei 114 soggetti studiati, il 44,7% risultò portatore di *T. mentagrophytes* var. *erinacei*. Inoltre, l'osservazione microscopica di raschiati cutanei di 40 animali ha permesso il riscontro di *Caparinia tripilis* (acaro comune di *Erinaceus europaeus*, considerato possibile vettore del micete)⁴.

L'incidenza di dermatofitosi ("ringworm") nel riccio europeo, in natura, è stata valutata in vari studi condotti in diversi Paesi: in Nuova Zelanda è del 44,7%, in Francia del 9,5%, mentre in Gran Bretagna la percentuale varia da 1,35% a 20-25%. Un ulteriore studio francese, condotto da Audonnet (1991), riporta che i tassi di infezione nei ricci europei in natura e negli esemplari tenuti in cattività sono rispettivamente pari al 13% e al 21%⁵. Tali risultati sono in contrasto con quanto riportato in uno studio, condotto in Spagna (Catalogna) da Molina-López (2012): nessuno dei 91 soggetti inclusi nell'indagine presentava segni di dermatofitosi e in nessuno di essi sono stati isolati né *T. erinacei* né più in generale dermatofiti. In tale studio i generi prevalentemente riscontrati erano *Cladosporium* (79,1%), *Penicillium* (74,7%), *Alternaria* (64,8%) e *Rhizopus* (63,7%); queste specie saprofiti sono frequentemente rilevate nell'ambiente (sul suolo o sulle piante) e la loro presenza può essere considerata come un indicatore di contaminazione transitoria della cute e dei suoi annessi. Secondo gli autori, l'alta prevalenza di contaminanti potrebbe aver interferito con la crescita di altre specie patogene come i dermatofiti. L'assenza di *T. mentagrophytes* è stata attribuita all'immediato campionamento degli animali all'arrivo presso il centro di recupero; in questo caso i ricci non avrebbero avuto tempo di sviluppare immunodepressione per lo stress associato alla cattura e, di conseguenza, infezioni subcliniche⁶. Il mancato isolamento di *T. erinacei* è in accordo con quanto riportato nel lavoro svolto presso l'Università di Pisa, durante il quale sono state eseguite indagini micologiche su 44 ricci (sia vivi sia cadaveri individuati ai lati delle strade)⁷ che non hanno portato all'isolamento del dermatofita in oggetto.

MATERIALI E METODI

Campionamento

Il campionamento è avvenuto tra i mesi di settembre 2017 e giugno 2018, presso il CRFS LIPU di Pontevecchio di Magenta.

Dei 30 ricci campionati, 5 (che si trovavano in condizioni estremamente critiche) provenivano da ambulatori veterinari che hanno fornito, in ottemperanza all'attuale legge vigente in Regione Lombardia riguardo alla cura di animali selvatici (L.157/92), le prime cure prima del trasferimento presso il CRFS; un riccio è stato campionato presso un giardino privato. Soggetti pervenuti morti o deceduti da oltre 24 ore sono stati esclusi dallo studio.

Al momento del ricovero presso il CRFS, per ogni riccio sono stati raccolti dati identificativi e rilevanti, quali codice CRFS, peso, sesso, data e luogo del ritrovamento, data di ricovero e di prelievo, causa di ricovero, eventuali trattamenti effettuati e successo della reintroduzione. Gli animali sono stati, inoltre, suddivisi in tre categorie a seconda del peso corporeo: lattanti (fino a un peso di 150 g), giovani (fino ai 400 g), adulti (dai 400 g). Per eseguire i tamponi cutanei a livello del dorso, dopo aver indossato adeguati dispositivi di protezione individuali, l'estremità del tampone è stata fatta passare tra gli aculei fino ad arrivare alla cute e qui ruotata per qualche secondo.

Su ogni tampone è stata, infine, indicata la data del prelievo e il codice identificativo (Fig. 5).

Dopo il prelievo, i campioni sono stati conservati in frigorifero fino alla consegna, eseguita entro 48 ore, presso il Laboratorio di Batteriologia del Dipartimento di Medicina Veterinaria (DiMEVET) dell'Università degli Studi di Milano, dove sono stati successivamente analizzati.

I tamponi sono stati eseguiti sulla cute del dorso tra gli aculei e seminati, entro 48h, su terreno di Sabouraud Dextrose Agar. L'incubazione è stata eseguita a 25° C in aerobiosi per almeno 5 giorni.

Isolamento fungino e identificazione

I campioni sono stati seminati su Sabouraud Dextrose Agar e le piastre incubate a 25° C in aerobiosi per 5 giorni. Per l'identificazione e la differenziazione delle specie fungine è stata utilizzata la valutazione macroscopica del *recto* e del *verso* delle piastre, coadiuvata dall'analisi microscopica, mediante colorazione con lattofenolo *cotton blue*, che ha evidenziato le ife, i conidiofori, le macroaleuriospore (macronidi) e le microaleuriospore (micronidi).

La determinazione definitiva della specie è stata eseguita con metodo molecolare. Due coppie di primer specie specifici per *T. erinacei* (ceppo CBS 511.73) sono state disegnate per amplificare le sequenze ITS1 e ITS2 (accession number in GenBank: EF078476 and EF078481, rispettivamente). I primer sono stati costruiti con Primer-BLAST (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primerblast/index.cgi>) e sintetizzati da Eurofins Genomics (Germania).

La reazione di amplificazione è stata effettuata usando i seguenti oligonucleotidi:

ITS1-Fw (5'-CATCAGGGGTGTGCAGATGT-3')

e ITS1-Rv (5'-TGCTTGCTAACGCTCAGACT-3')

per l'amplificazione di ITS1, mentre

ITS2-Fw (5'-CCGGCTTGTGTGATGGACG-3')

e ITS2-Rv (5'-AGAGAGATTGGGGGA-AGGC3')

per l'amplificazione di ITS2. Le dimensioni attese dei due frammenti sono 192 e 157 coppie di basi, rispettivamente. I prodotti di amplificazione sono stati analizzati tramite elettroforesi su gel di agarosio al 2% (w/v), colorato con Atlas ClearSight DNA Stain (Bioatlas, Tartu, Estonia) in TBE buffer (Tris-Borato-EDTA) 1X. Un ladder da 100 bp (ThermoFi-

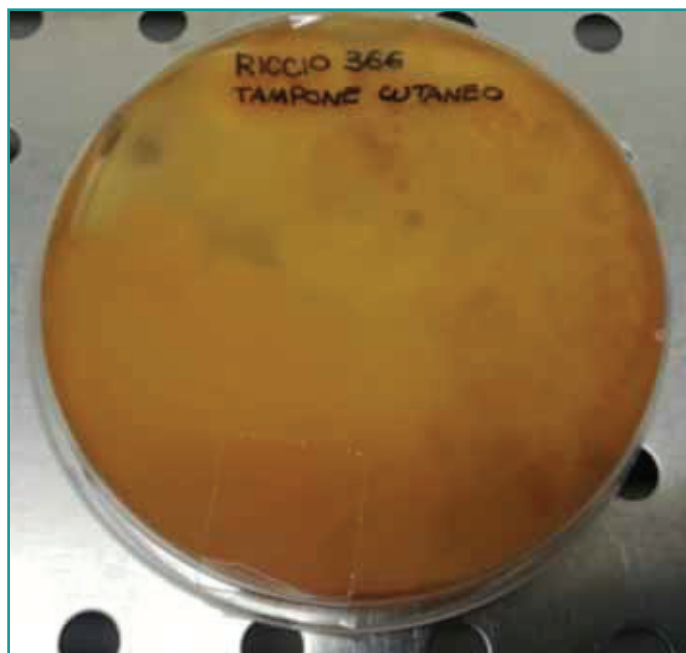


Figura 3 - Caratteristica sfumatura giallo limone del retro della piastra di SDA, indicativo della crescita di un micete del genere *Trichophyton*.

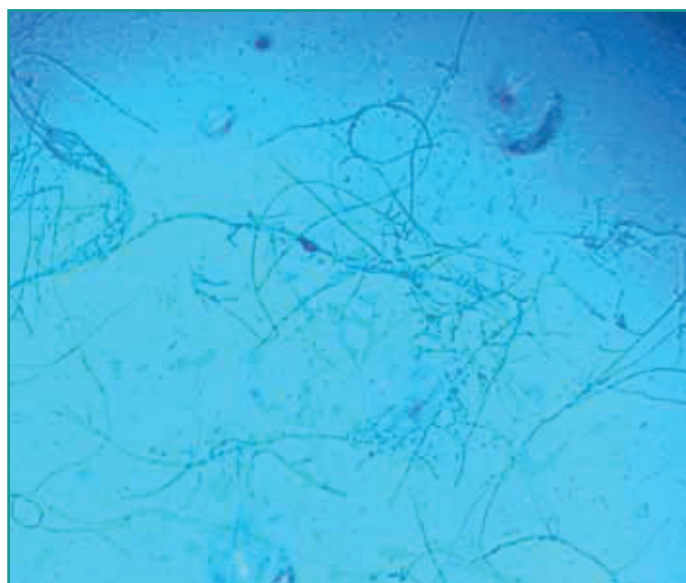


Figura 4 - Microconidi di *T. erinacei* (40X).



Figura 5 - Esempio di campionamento della cute del dorso tra gli aculei.

***Trichophyton erinacei* è stato isolato in un solo riccio sano senza segni di micosi.**

sher, Italia) è stato usato come marcatore di peso per verificare che i prodotti di amplificazione fossero della dimensione attesa. Dopo purificazione degli ampliconi con il kit di estrazione Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega, Italy), questi sono stati sequenziati (Macrogen Europe B.V., Amsterdam, the Netherlands). L'identificazione della specie è stata effettuata mediante la comparazione delle sequenze ottenute con quelle di riferimento (LN614531.1, IFM 51378) presenti nel database GenBank, usando l'algoritmo BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>) e lo strumento di identificazione micologica on line (<http://its.mycologylab.org/>).

Parallelamente alla ricerca della flora fungina, è stata anche eseguita l'analisi della flora batterica cutanea (questi dati non sono inclusi nel presente lavoro).

RISULTATI E DISCUSSIONE

Durante lo studio sono stati isolati miceti appartenenti per lo più a specie saprofite, frequentemente riscontrate nell'ambiente (ad es., *Alternaria* spp. e *Mucor* spp.). *Trichophyton erinacei* è stato isolato da un solo soggetto, portatore anche di un ceppo di *Staphylococcus aureus* meticillino resistente (MRSA). Si trattava di un riccio maschio adulto sano, proveniente da un giardino privato di Vigevano (PV), portato al CRFS perché considerato in pericolo per la presenza del cane di proprietà. Alla visita clinica non erano stati rilevati segni di micosi ma è stata evidenziata la presenza di ectoparassiti (zecche).

CONCLUSIONI

Il rischio di infezione nell'uomo da *T. erinacei* è abbastanza raro ed è secondario al contatto diretto con il riccio; altre possibili fonti sono rappresentate dal terreno (nelle tane dei ricci le spore possono sopravvivere fino ad un anno), persone infette e cani venuti a contatto con ricci selvatici^{8,1,3}.

In letteratura sono stati riportati soltanto pochi casi di *tinea corporis*, *tinea capitis*, *tinea manuum* e *tinea faciei* sostenuti da *T. erinacei*, e tutti erano dovuti al diretto contatto con ricci infetti. Il numero di casi aumenta soprattutto tra i proprietari di ricci domestici (in particolare, appartenenti alla specie *Atelerix albiventris*). Tra questi, un caso riguarda una paziente cilena di 21 anni che presentava sul naso un eritema squamoso pruriginoso comparso 2 mesi dopo esser stata morsa dal proprio riccio africano che non aveva mai mostrato lesioni cutanee e/o perdita di aculei⁹. Analogamente, un ulteriore caso, segnalato in Corea, riguardava una ragazza di 15 anni che presentava pustole ed eritema squamoso sulle dita della mano sinistra. Anche in questo caso vi era stato contatto diretto con il proprio riccio africano domestico che, sebbene presentasse una leggera desquamazione della cute, non mostrava segni evidenti di alopecia o mancanza di aculei¹⁰. Un solo caso, verificatosi in una donna di 26 anni di ritorno da una vacanza in Thailandia, ha riportato come causa di contagio il contatto con un elefante cavalcato durante la visita ad un parco nazionale. La donna ha negato il contatto con altri animali, ricci in particolare, e di possedere animali da compagnia (tra questi il cane, che può sviluppare questo tipo di infezione e rappresentare una potenziale fonte di contagio per il proprietario¹¹).

La diffusione, in questi ultimi anni, del riccio africano (*Atelerix albiventris*) come animale domestico ha portato molti autori a indagare il rischio zoonosico in questa specie, con particolare riguardo per le dermatofitosi. In uno studio condotto in Spagna, da Abarca (2016), sono stati esaminati 20 ricci domestici (19 *Atelerix albiventris* e 1 *Hemiechinus auritus*) con lesioni cutanee riconducibili a dermatofitosi. Gli autori hanno evidenziato una prevalenza del 50% per *T. erinacei*. Lavoro analogo è stato condotto da d'Ovidio (2015) in Sud Italia. Dall'esame di animali non convenzionali (conigli, ratti, cincillà, furetti e ricci africani) è emersa un'alta prevalenza di *T. men-*

Prima segnalazione di isolamento di *T. erinacei* in ricci europei in Italia. Necessari ulteriori studi per valutare il rischio zoonosico di *Atelerix albiventris* diffuso come pet.

tagrophytes (53,1%), ma in nessun riccio è stato riscontrato *T. erinacei*^{12,5}.

Il rischio zoonotico si estende anche agli animali domestici, in particolar modo ai cani da caccia che più frequentemente hanno contatto diretto e indiretto con la fauna selvatica. In questi soggetti, *T. erinacei* causa, a livello cutaneo, flogosi suppurative con lesioni squamose, focali o multifocali, rotondeggianti e alopeciche¹³. L'isolamento di questo agente zoonotico, in questo studio, rappresenta la prima segnalazione in ricci europei in Nord Italia, in quanto dalla revisione della letteratura disponibile, non vi sono studi conosciuti in cui sia stata segnalata la presenza di questo fungo in *E. europaeus*; la prevalenza del dermatofita è, pertanto, piuttosto bassa (3,33%).

In ogni caso, data la diffusione, soprattutto negli ultimi anni, del riccio africano (*Atelerix albiventris*) come animale

da compagnia, sarebbe interessante ampliare la ricerca di *T. erinacei* anche in questa specie che, dall'analisi della letteratura pertinente, sembra essere più predisposto a sviluppare dermatofitosi^{14,5}. A questo proposito, in Kenya e Costa d'Avorio studi condotti su esemplari autoctoni di *Atelerix albiventris* hanno rilevato tassi di positività del 22,2% e 37,5%, rispettivamente⁵. Inoltre, sarebbe da valutare anche l'eventuale relazione tra il dermatofita e la presenza di ectoparassiti (in particolare acari) che, come riportato da Smith e Marples, potrebbero ricoprire un ruolo determinante nel veicolare e diffondere *T. erinacei* tra gli esemplari⁴.

RINGRAZIAMENTI

Un ringraziamento sincero al CRFS LIPU "La Fagiana" di Pontevecchio di Magenta per la disponibilità e la collaborazione nella raccolta dei campioni.

PUNTI CHIAVE

- Il riccio europeo (*Erinaceus europaeus*), in quanto animale sinantropo che vive a stretto contatto con l'uomo, può avere un ruolo importante nella diffusione di agenti zoonotici.
- *Trichophyton erinacei* è un dermatofita comunemente isolato nei ricci e responsabile di dermatofitosi nell'uomo.
- La ricerca di *T. erinacei* può essere estesa anche al riccio africano (*Atelerix albiventris*), ormai sempre più frequente come pet.
- Gli ectoparassiti potrebbero avere un ruolo importante nella diffusione di agenti patogeni.

First isolation of *Trichophyton erinacei* from an european hedgehog (*Erinaceus europaeus*) in Italy

Summary

Introduction: *Trichophyton erinacei* is a zoonotic dermatophyte. It causes dermatophytosis in animals as well as in humans. The European hedgehog (*Erinaceus europaeus*) is considered an important reservoir of this infection for humans and domestic animals (e.g., hunting dogs, that can frequently come into direct contact with them). Although, the literature reported the presence of this dermatophyte in 25-50% of the European hedgehog. Until now, the prevalence of this pathogen in Italy remains unknown.

Materials and methods: Cutaneous swabs from 30 European hedgehogs were sampled. Samples were collected in the CRFS LIPU in Pontevecchio di Magenta (MI). The skin swabs were plated on Sabouraud Dextrose Agar for fungal isolation and blood agar for bacterial detection (data not shown).

Results: Only one strain of *Trichophyton erinacei* was obtained from one hedgehog, without the presence of any clinical symptom referable to mycosis.

Conclusion: Taking into account that the hedgehog is a synanthropic animal, this finding confirms the role of healthy carrier for this animal, underlying the risk of infection for humans and domestic animals.

BIBLIOGRAFIA

1. Mary P. English, P. Morris. *Trichophyton mentagrophytes* var. *erinacei* in hedgehog nests. *Sabouradia* 7(2):118-21, 1969.
2. Y. Gräser, A.F.A. Kuijpers, W. Presber *et al.* Molecular taxonomy of *Trichophyton mentagrophytes* and *T. tonsurans*. *Medical Mycology* 37, 315-330, 1999.
3. R. A. Quaife. Human infection due to the hedgehog fungus, *Trichophyton mentagrophytes* var. *erinacei*. *Journal of Clinical Pathology* 19, 177, 1966.
4. Smith J.M.B., Marples M.J. *Trichophyton mentagrophytes* var. *erinacei*. *Sabourandia* 3 (1), 1-8, 1964.
5. Abarca M.L., Castella' G., Martorell J. *et al.* *Trichophyton erinacei* in pet hedgehogs in Spain: Occurrence and revision of its taxonomic status. *International Society for Human and Animal Mycology* 55 (2), 164-172, 2016.
6. Molina-López R.A., Adelantado C., Arosemena E.L. *et al.* Integument Mycobiota of Wild European Hedgehogs (*Erinaceus europaeus*) from Catalonia, Spain. *ISRN Microbiology* 1-6, 2012.
7. Pallesi R. "Isolamento e tipizzazione di miceti cheratinofili da cani da seguito e da specie selvatiche cacciate". Tesi di laurea in Medicina Veterinaria, Dipartimento di Scienze Veterinarie. Università di Pisa, 2014.
8. I. Drira, S. Neji, I. Hadrich *et al.* *Tinea manum* due to *Trichophyton erinacei* from Tunisia. *Journal de Mycologie Médicale* 25, 200-203, 2015.
9. Concha M., Nicklas C., Balcells E. *et al.* The first case of tinea faciei caused by *Trichophyton mentagrophytes* var. *erinacei* isolated in Chile. *International Journal of Dermatology* 51 (3), 283-285, 2012.
10. Rhee D.Y., Kim M.S., Chang S.E. *et al.* A case of tinea manum caused by *Trichophyton mentagrophytes* var. *erinacei*: the first isolation in Korea. *Mycoses*, 52 (3), 287-290, 2009.
11. Borges-Costa J., Martins M.L. *Trichophyton erinacei* skin infection after recreational exposure to an elephant in Southeast Asia. *Pathogens and Global Health* 108 (1), 58-59, 2014.
12. D. d'Ovidio, D. Santoro. Survey of Zoonotic Dermatoses in Client-Owned Exotic Pet Mammals in Southern Italy. *Zoonoses and Public Health* 62, 100-104, 2015.
13. Kurtde A., Haydardedeoglu A.E., Alihosseini H. *et al.* Dermatophytosis caused by *Trichophyton mentagrophytes* var. *erinacei* in a dog: a case report. *Veterinari Medicina* 59 (7), 349-351, 2014.
14. Christian Kromer, Pietro Nenoff, Silke Uhrlaß *et al.* *Trichophyton erinacei* transmitted to a Pregnant Woman From Her Pet Hedgehogs. *JAMA Dermatology* 154(8), 967-968, 2018.

ARCHIVIO FAD

SI AGGIORNA ANCORA!

76
SPC



UN ARCHIVIO IN COSTANTE AGGIORNAMENTO
ACCREDITATO, GRATIS, ONLINE

76 VIDEO DISPONIBILI E VALORIZZATI SPC

SU WWW.SCIVAC.IT

CHIRURGIA ORTOPEDICA
DERMATOLOGIA
DIAGNOSTICA PER IMMAGINI
ENDOCRINOLOGIA
GASTROENTEROLOGIA
MALATTIE INFETTIVE

MALATTIE PARASSITARIE
MEDICINA COMPORTAMENTALE
MEDICINA INTERNA
NEFROLOGIA / UROLOGIA
OFTALMOLOGIA
OSTETRICIA E GINECOLOGIA
PATOLOGIA CLINICA

L'Archivio FAD è sul sito www.scivac.it nella sezione "video".
L'ACCESSO ALL'ARCHIVIO È RISERVATO AI SOCI SCIVAC E SIVAE