

Linee guida suggerite per l'utilizzo degli antibiotici sistemici nelle infezioni batteriche della cute: prima parte - Diagnosi basata su presentazione clinica, citologia e coltura

RIASSUNTO

L'utilizzo degli antibiotici sistemici riveste un'importanza cruciale nella pratica clinica veterinaria, e l'antibiotico-resistenza è un problema considerevole. Una gestione responsabile degli antibiotici risulterà importante nel mantenere l'efficacia clinica riducendo l'insorgenza e la diffusione dell'antibiotico-resistenza. Le infezioni batteriche della cute sono una delle ragioni più comuni di utilizzo di antibiotici sistemici nei cani e nei gatti. Una gestione appropriata di queste infezioni è pertanto fondamentale nell'ottica di un utilizzo responsabile degli antibiotici. Gli scopi della terapia sono quelli di confermare la presenza dell'infezione, identificare i batteri responsabili, selezionare l'antibiotico più adatto, accertarsi che l'infezione venga trattata correttamente e identificare, nonché gestire, ogni malattia sottostante. Questo è il primo di due articoli volti a fornire linee guida basate sull'evidenza per aiutare i clinici ad affrontare questo problema. Questo articolo tratta la diagnosi, comprese le differenti presentazioni cliniche delle piodermiti di superficie, superficiali e profonde, come eseguire ed interpretare l'esame citologico e come utilizzare al meglio la coltura batterica e i test di sensibilità. La seconda parte riguarderà la terapia, compresa la scelta del farmaco e i regimi terapeutici.

L. Beco

DVM, Dip ECVD, Cabinet Vétérinaire - Spa, Belgium

E. Guaguère

DVM, Dip ECVD, DESV D, Clinique Vétérinaire Saint-Bernard Lomme, France

C. Lorente Méndez

DVM, PhD, Dip ECVD, Centro de Dermatología Veterinaria ADERVET, Madrid, Spain

C. Noli

DVM, DipECVD, Servizi Dermatologici Veterinari, Peveragno (CN), Italy

T. Nuttall

BSc, BVSc, CertVD, PhD, CBiol, MSB, MRCVS, The University of Liverpool, School of Veterinary Science, United Kingdom

M. Vroom

DVM, DipECVD, Veterinaire Specialisten Oisterwijk, The Netherlands

INTRODUZIONE

L'utilizzo di antibiotici nella pratica clinica dei piccoli animali è diventato un problema importante e controverso. La gente è più consapevole che l'antibiotico-resistenza sia un problema in aumento nella pratica clinica medica e veterinaria, e che gli antibiotici dovrebbero essere usati solo quando è necessario. Il nostro obiettivo come veterinari è quello di prevenire l'uso improprio degli antibiotici, in maniera tale da conservare la loro efficacia e minimizzare lo sviluppo e la diffusione di resistenze. Esistono tuttavia poche linee guida pratiche e dettagliate per un utilizzo responsabile degli antibiotici nella clinica dei piccoli animali. Le malattie della cute costituiscono il 20-25% delle visite non specialistiche e sono probabilmente la causa dell'utilizzo della maggior parte degli antibiotici nella pratica clinica. Lo scopo di questi articoli è quindi quello di delineare un insieme di regole per l'utilizzo responsabile degli antibiotici nella gestione delle malattie della cute e dei tessuti molli.

I punti chiave per un corretto trattamento delle infezioni cutanee sono:

- Diagnosi corretta di piodermite
- Scelta dell'antibiotico appropriato
- Assicurarsi che l'antibiotico venga somministrato nella dose e nei tempi corretti, fino alla completa risoluzione clinica
- Diagnosi e trattamento di ogni malattia sottostante.

Questi articoli esamineranno l'evidenza che supporta questi principi. Nella parte 1 verrà trattata la diagnosi di piodermite mediante i segni clinici, la citologia, la coltura batterica e i test di sensibilità antimicrobica. La parte 2 tratterà la scelta degli antibiotici, evidenziando l'importanza dell'utilizzo di antibiotici di prima, seconda e terza linea, come anche i regimi terapeutici includendo dose, frequenza, durata, compliance ed effetti indesiderati. Saranno trattati brevemente anche le piodermiti ricorrenti e l'igiene nella clinica.

CORRETTA DIAGNOSI DI PIODERMITE

Identificazione dei segni clinici

Le piodermiti sono state tradizionalmente classificate in base alla profondità dell'infezione batterica (di superficie, superficiale e profonda)¹. La piodermite di superficie e la piodermite superficiale interessano solo l'epidermide e non si estendono oltre la membrana basale. Queste piodermiti sono prettamente essudative e le lesioni includono papule, pustole, collaretti epidermici, scaglie e croste. Il prurito è spesso pre-

Tradotto con autorizzazione da "Veterinary Record" Volume 172, Issue 3.



FIGURA 1 - Parte ventrale del corpo di un West Highland white terrier affetto da sindrome da sovracrescita batterica. Si notano alopecia diffusa, lichenificazione, eritema e iperpigmentazione. La cute colpita era anche untuosa e maleodorante. La causa primaria in questo caso era una dermatite atopica.



FIGURA 2 - Intertrigine in un Bulldog inglese con coda a cavaturacciolo. Le pliche cutanee attorno e alla base della coda sono erose, untuose ed eritematose. La terapia topica ha avuto successo solo in parte e per questo cane si è dovuti ricorrere alla chirurgia per eliminare le pieghe.

sente. Le piodermiti profonde si estendono oltre la membrana basale e diffondono al derma e ai tessuti profondi. Le lesioni consistono in bolle emorragiche, noduli, ulcere, tragitti fistolosi drenanti essudati emorragici o purulenti e croste. Le lesioni spesso sono dolenti ma il prurito è meno frequente. Tuttavia, sebbene questa classificazione sia utile per determinare prognosi e durata prevista della terapia, non lo è per la diagnosi. Per aiutare il clinico nella diagnosi e nel trattamento della piodermite è stata proposta una classificazione basata sulla presentazione clinica delle lesioni².

1. Piodermite seborroica: eritema, erosioni, essudazione senza pustole e collaretti.
2. Papule, pustole, scaglie, alopecia focale.
3. Erosioni e/o ulcere.
4. Ulcere e tragitti fistolosi drenanti.
5. Noduli e/o tumefazioni a livello regionale.

Piodermiti seborroiche: eritema, erosione, essudazione senza pustole e collaretti

Sindrome da sovracrescita batterica

Recentemente è stata identificata nel cane una condizione definita "sindrome da sovracrescita batterica"³ (Fig. 1). È caratterizzata da eritema diffuso, scaglie e dalla presenza di un essudato untuoso, cheratoseborroico. I cani colpiti spesso presentano prurito ed emanano cattivo odore. Vengono più comunemente colpite la parte ventrale del corpo, la cute interdigitale e le orecchie. Malattie allergiche ed endocrine sono frequenti cause primarie sottostanti. L'esame citologico della cute colpita mostra un numero eccessivo di batteri con neutrofili scarsi o assenti.

Intertrigine

L'intertrigine è l'infezione delle pliche cutanee causata da irritazione e mancata ventilazione. È comune nelle pliche facciali, specialmente in cani e gatti appartenenti a razze brachicefale, nelle pliche caudali dei Bulldog, nelle pliche vulvari delle femmine obese, e nelle pliche cutanee degli Shar-pei (Fig. 2). Ogni plica cutanea può comunque essere interessata. La cute colpita è umida, untuosa ed eritematosa e può presentare un essudato biancastro e maleodorante.

Papule, pustole, scaglie, alopecia focale

Impetigine

L'impetigine è caratterizzata dalla comparsa sull'epidermide di pustole non follicolari (Fig. 3). Colpisce principalmente i soggetti giovani, specialmente se debilitati (per esempio, malnutriti, con endoparassitosi o affetti da malattie virali). Soggetti anziani immunodepressi possono presentare lesioni simili, sotto forma di grandi pustole di consistenza flaccida o dura (impetigine bollosa).

Follicolite batterica

La follicolite batterica è la forma più comune di piodermite nel cane (Fig. 4).

Si presenta con piccole macule eritematose associate ai follicoli piliferi, papule, pustole, collaretti epidermici e aree di pelo disomogeneo del mantello seguite da alopecia focale o multifocale (particolarmente evidente negli animali a pelo corto). La follicolite batterica è una causa poco comune di dermatite miliare nel gatto.

Piodermite superficiale diffusiva

La piodermite superficiale diffusiva è caratterizzata da grossi collaretti epidermici diffusivi e coalescenti, eritema ed esfoliazione (Fig. 5).

Un lieve essudato può essere evidente a livello del margine dei collaretti.

Questa presentazione clinica è poco frequente e interessa prevalentemente la porzione ventrale del corpo.

Erosioni e/o ulcere

Dermatite piotraumatica

La dermatite piotraumatica è un'infezione batterica di superficie, essudativa, altamente pruriginosa e spesso dolorosa causata da un autotraumatismo ripetuto (Fig. 6).

La presentazione clinica più lieve è caratterizzata da lesioni circoscritte umide, con pelo arruffato e una leggera erosione superficiale.

Questo tipo di lesione può evolvere in una follicolite superficiale o in una foruncolosi profonda con alopecia, eritema, papule, erosione, essudazione e ulcerazione.

La cute colpita diventa ispessita e dolente. Può essere difficile differenziare le forme superficiali da quelle profonde, perché alcuni casi che clinicamente appaiono essere superficiali mostrano tuttavia lesioni profonde all'esame istopatologico⁴. In aggiunta, lesioni erosive clinicamente lievi possono essere associate ad una follicolite superficiale nelle aree di cute adiacenti ("lesioni satellite").

Intertrigine

In gravi casi di piodermite delle pieghe cutanee, la cute può presentarsi erosa o ulcerata e molto dolente.

Piodermite mucocutanea

La piodermite mucocutanea è caratterizzata da croste ed erosioni localizzate ad una o più giunzioni mucocutanee tra cui labbra, palpebre, vulva, prepuzio e ano (Fig. 7).

I cani di razza pastore tedesco sembrano essere predisposti. Questa forma di piodermite può essere scambiata clinicamente e dal punto di vista istopatologico per una malattia immunomediata o neoplastica, ma può esserne differenziata con la completa risoluzione in seguito ad una corretta terapia antibiotica.



FIGURA 3 - Impetigine bollosa con grande pustola, flaccida, non follicolare in uno Yorkshire terrier con iperadrenocorticismo.



FIGURA 4 - Follicolite superficiale sull'addome di uno Staffordshire bull terrier affetto da dermatite atopica. Si notano esteso eritema a chiazze, papule, pustole e collaretti epidermici. Le papule e le pustole sono piccole, associate ai singoli follicoli piliferi.



FIGURA 5 - Piodermite superficiale diffusiva in un cocker spaniel con un difetto primario di cheratinizzazione. È presente eritema diffuso con grossi collaretti epidermici e desquamazione.

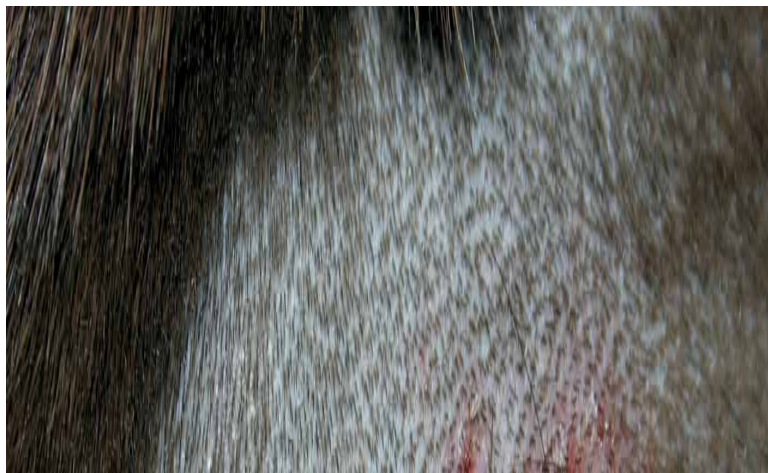


FIGURA 6 - Dermatite piotraumatica in un cane con infestazione da zecche. Il pelo è stato tosato per evidenziare l'estensione delle lesioni. È presente un'area ben delimitata eritematosa, umida ed erosa. Si noti la zecca nella parte sinistra della figura.



FIGURA 7 - Piodermite mucocutanea con eritema, erosioni e ulcerazione a carico delle labbra e del muso in un cane di razza Pastore tedesco. Queste lesioni sono molto simili a quelle presenti in corso di lupus eritematoso sistemico o linfoma epiteliotropo a cellule T con la stessa localizzazione.



FIGURA 8 - Piodermite/foruncolosi delle aree callose con alopecia, lichenificazione, gonfiore, tragitti fistolosi drenanti ed essudato sieropurulento.

Ulcere e tragitti fistolosi drenanti Foruncolosi (piodermite profonda)

La foruncolosi è associata alla rottura dei follicoli piliferi e alla fuoriuscita del loro contenuto nel derma, creando una reazione da corpo estraneo e un'infezione nel derma o nel sottocute. I segni clinici includono eritema, bolle emorragiche, tragitti fistolosi drenanti, ulcere e croste. L'essudato può essere da purulento a emorragico. La cute può essere tumefatta e dolente. Le lesioni croniche diventano fibrose e dure.

Alcune forme di piodermite profonda rimangono localizzate e rappresentano sindromi specifiche: piodermite dei calli d'appoggio (Fig. 8), fistole da corpo estraneo, foruncolosi del muso o acne canina e foruncolosi interdigitale (Fig. 9). L'acne felina del mento è un disturbo di cheratinizzazione associato a comedoni e alla formazione di foruncoli (Fig. 10).

Esistono forme diffuse di piodermite profonda che possono causare malessere e sintomi sistemici. La piodermite profonda del Pastore tedesco è una forma tipica e caratteristica della razza e dei suoi incroci (Fig. 11). Le lesioni includono ulcerazioni, tragitti fistolosi drenanti e croste localizzate sulla faccia laterale delle cosce, sul tronco e a livello inguinale, con una caratteristica necrosi cutanea. I cani colpiti sono solitamente di mezza età. Questa particolare forma di piodermite ha probabilmente una patogenesi multifattoriale associata a predisposizione genetica, allergie, endocrinopatie, malattie parassitarie e alterazioni della risposta immunitaria cellulo-mediata¹.

La foruncolosi da *Pseudomonas* (Fig. 12) è una malattia rara, descritta recentemente e caratterizzata dalla presenza di papule eritematose dolenti, pustole, bolle emorragiche, ulcere e croste su dorso e parte dorsale dei fianchi. È stata associata a bagni e toelettature⁵.

Nodulo e/o tumefazioni a livello regionale

Ascesso

Gli ascessi sono accumuli singoli, tumefatti e circoscritti di pus e tessuto necrotico. Spesso fistolizzano e da essi fuoriesce del liquido purulento che diffonde e forma croste sul pelo circostante. Possono essere dolenti. Sono più frequenti nei gatti a causa dei loro scontri, ma possono insorgere in seguito a qualunque ferita penetrante.

Cellulite

La cellulite si riferisce ad un'infezione e infiammazione diffuse lungo i piani tissutali. Frequentemente si localizza a livello regionale, ma può essere scarsamente circoscritta. La cute è solitamente integra, sebbene possano essere presenti ferite penetranti. Dalle ferite può fuoriuscire un liquido da siero-emorragico a purulento. L'area interessata è generalmente dolente (Fig. 13).

La fascite necrotizzante è una rara ma grave forma di cellulite associata alla disseminazione di tossine batteriche⁶. Progredisce rapidamente in cellulite grave, tumefazioni, necrosi, infezione dei tessuti profondi e setticemia, quest'ultima spesso fatale. I cani colpiti sono solitamente apatici o abbattuti e febbricitanti.

PROCEDURE DIAGNOSTICHE SECONDARIE

I segni clinici sono spesso altamente suggestivi di piodermite, ma la diagnosi deve essere confermata usando la citologia e, quando necessario, una coltura batterica e antibiogramma. Gli antimicrobici non dovrebbero essere usati basandosi solo sui segni clinici⁷⁻¹⁰.

Citologia

La citologia è una tecnica semplice, veloce e minimamente invasiva, che può essere utilizzata su cani completamente svegli con rischio minimo e nessun danno conseguente.

Tecniche citologiche

Esistono numerosi metodi differenti, alcuni dei quali si adattano meglio a certe condizioni e situazioni rispetto ad altri^{11,12}. Le tecniche includono:

1. Citologia con nastro adesivo
2. Apposizione diretta dei vetrini
3. Apposizione indiretta dei vetrini
4. Agofissione e agoaspirazione

Citologia con nastro adesivo

Il nastro adesivo può essere usato per rimuovere gli strati più esterni dello stato corneo e i microrganismi adesi. La citologia mediante nastro adesivo è un metodo eccellente per campionare lesioni secche, umide o erosive. È particolarmente utile per superfici irregolari e spazi ristretti come la cute interdigitale. I nastri adesivi sono meno utili con lesioni umide, come pustole, essudati, erosioni o ulcere, poiché il materiale potrebbe non aderire.

Apposizione diretta ed indiretta dei vetrini

L'apposizione dei vetrini è particolarmente utile per lesioni umide o seborroiche, che non aderirebbero al nastro adesivo. L'apposizione diretta dei vetrini viene effettuata applicando il vetrino porta-oggetto direttamente sulla lesione, quali un'erosione, la faccia inferiore di una crosta o una pustola rotta. Potrebbe essere necessario scarificare delicatamente la superficie per ottenere cellule significative. L'apposizione indiretta dei vetrini viene utilizzata quando il vetrino porta-oggetto non può essere apposto alla cute e il nastro adesivo non è utilizzabile. Il materiale può essere raccolto e trasferito sui vetrini porta-oggetto usando bastoncini cotonati, spatole, lame da bisturi e così via.



FIGURA 9 - Foruncolosi interdigitale con nodulo alopecico, eritematoso e dolente. Questi noduli frequentemente vanno incontro a rottura e drenano un essudato purulento e/o emorragico. Le lesioni singole possono essere causate da corpi estranei penetranti, ma lesioni ricorrenti sono spesso associate a dermatite atopica e/o problemi di conformazione anatomica.



FIGURA 10 - Acne felina del mento con numerosi comedoni, foruncoli, alopecia, essudato e croste.



FIGURA 11 - Piodermite del pastore tedesco. È presente grave ulcerazione della parte ventrale dell'addome con eritema, papule e noduli, necrosi ed essudato purulento.



FIGURA 12 - Piodermite profonda sul dorso di un cane causata da *Pseudomonas* spp. Sono presenti papule eritematose dolenti, pustole e croste sul dorso e sulla parte latero-superiore del fianco. Il mantello è stato tosato per una migliore visualizzazione delle lesioni.



FIGURA 13 - Grave cellulite dell'ascella e della zampa anteriore di un cane con tumefazione diffusa, eritema, porpora emorragica e necrosi.

Agofissione e agoaspirazione

L'agofissione (che significa inserzione di un ago, rotazione e/o riposizionamento) è utile per masse cutanee e linfonodi aumentati di volume. Può essere difficile ottenere materiale mediante semplice agofissione da lesioni molto dure o piene di fluido. Queste potrebbero necessitare di aspirazione mediante siringa, in questo modo è possibile raccogliere più materiale o cellule, ma anche causare maggior trauma, danneggiamento delle cellule ed emorragia. Quest'ultima potrebbe rendere difficile l'interpretazione dei campioni.

Colorazione dei campioni citologici

Le colorazioni di Wright-Giemsa modificate, come anche la Rapi-Diff o la Diff-Quik, sono molto utili nella pratica quotidiana. Queste colorazioni sono veloci e facili da usare, e possono essere utilizzate per identificare in modo affidabile cellule infiammatorie e microrganismi. La fissazione con il calore prima della colorazione non è necessaria¹³. Alcuni nastri adesivi si sciolgono o diventano opachi nel liquido fissativo, per cui dovrebbero essere intinti unicamente nei coloranti eosinofilo e basofilo. Un metodo alternativo consiste nel posizionare solamente una goccia del colorante basofilo sul preparato e poi coprirlo con il nastro adesivo o con il copri-oggetto. Il risultato è un'intensa colorazione dei microrganismi. Tuttavia con questa colorazione monocromatica potrebbe essere più difficile identificare le cellule infiammatorie¹³. Altre colorazioni come Gram e Ziehl-Neelsen possono essere utilizzate per una più precisa colorazione dei batteri, ma richiedono più tempo, sono complicate e difficilmente vengono utilizzate negli ambulatori.

Interpretazione dei preparati citologici

Cellule infiammatorie

In molti casi di piodermite predominano i neutrofili¹¹. I neutrofili degenerati o tossici sono buoni indicatori di infezione (Fig. 14). Essi appaiono rigonfi ed hanno nuclei indistinti con cromatina libera e disorganizzata (carioressi). La fuoriuscita di materiale nucleare è comune, poiché le cellule sono fragili e vulnerabili ai traumi. I neutrofili non degenerati appaiono più piccoli, con nuclei scuri e raggrinziti (picnosi), la fuoriuscita di materiale nucleare è meno frequente. Più comunemente i nuclei picnotici sono associati ad infiammazione sterile, ma non c'è una esatta differenziazione tra neutrofili degenerati e non degenerati - è possibile ritrovare entrambi nello stesso vetrino - e non ci si dovrebbe affidare sulla loro presenza o assenza per escludere la possibilità di un'infezione.

I macrofagi, che contengono microrganismi fagocitati, cellule degenerate ed altri detriti, si osservano spesso nella piodermite cronica e/o profonda (Fig. 15). Le cellule giganti multinucleate hanno dimensioni maggiori rispetto ad altri tipi cellulari osservati in citologia, hanno nuclei multipli, da due a tre a dieci o più in cellule multi grandi. Grandi numeri di macrofagi e/o cellule giganti (cioè in corso di infiammazione granulomatosa o piogranulomatosa) potrebbero essere compatibili con infezioni da micobatteri o fungine. Un numero basso o moderato di linfociti, plasmacellule ed eosinofili sono presenti in molte reazioni infiammatorie e sono di scarso significato diagnostico.

Batteri

Tutti i batteri che assorbono le colorazioni Wright-Giemsa modificate sono basofili, cioè si colorano di blu-viola. Questo non indica se siano

Gram-positivi o Gram-negativi. La loro natura può, pertanto, essere suggerita solo dalla morfologia e dalla conoscenza di quanto sia probabile la loro presenza nella maggioranza dei preparati citologici. L'identificazione completa richiederà ulteriori test e colture.

La sindrome da sovracrescita batterica è caratterizzata da un alto numero di batteri, spesso di forme differenti, con cellule infiammatorie in numero basso o assenti (Fig. 16). I batteri vengono osservati comunemente anche in infezioni di superficie e superficiali (Fig. 14). Al contrario, essi possono essere difficili da trovare nelle piodermiti profonde, in particolare se c'è molta fibrosi e cicatrici. La presenza di batteri intracitoplasmatici è un chiaro indicatore di infezione (Fig. 14)¹⁴. Batteri extracellulari, comunque, in particolare se in basso numero, possono semplicemente essere contaminanti dalla superficie cutanea.

Gli stafilococchi sono cocchi relativamente grandi che spesso formano aggregati diploidi o irregolari di 2-8 organismi^{1,11,14}.

Gli streptococchi sono più piccoli e spesso formano catene. Anche i micrococchi e gli enterococchi sono piccoli, ma formano gruppi irregolari. I batteri bastoncellari (bacilli) sono facilmente differenziabili dai cocchi; specie di comune rilevamento sulla cute includono *Pseudomonas*, *Proteus* e coliformi. I micobatteri ed alcune forme correlate non assorbono le colorazioni Wright-Giemsa, ma l'infiammazione piogranulomatosa e la presenza di vacuoli piccoli, chiari, di forma bastoncellare nei macrofagi è suggestiva. Forme simil-bastoncellari chiare potrebbero anche essere evidenziate sullo sfondo adese a detriti colorati.

Possibili errori nell'interpretazione dei campioni citologici

È importante che i campioni siano presi da lesioni rappresentative. Inoltre, la diagnosi non dovrebbe essere basata su un singolo rilevamento, ed è importante ricercare alterazioni e quadri diagnostici che siano presenti sull'intero preparato. Le preparazioni citologiche forniscono relativamente poche cellule, e mentre i riscontri positivi sono utili, i risultati negativi dovrebbero essere interpretati con attenzione. Gli operatori dovrebbero quindi avere familiarità con cellule, organismi e quadri infiammatori in modo da poterli riconoscere nei campioni provenienti da cute e strutture associate. Essi dovrebbero inoltre essere a conoscenza dei limiti di queste tecniche ed usare la citologia come supporto in aggiunta, e non in alternativa, alla coltura batterica e all'istopatologia.

Coltura batterica e test di sensibilità antimicrobica

Quando fare una coltura

La coltura batterica e il test di sensibilità antimicrobica non sono necessari in tutte le occasioni.

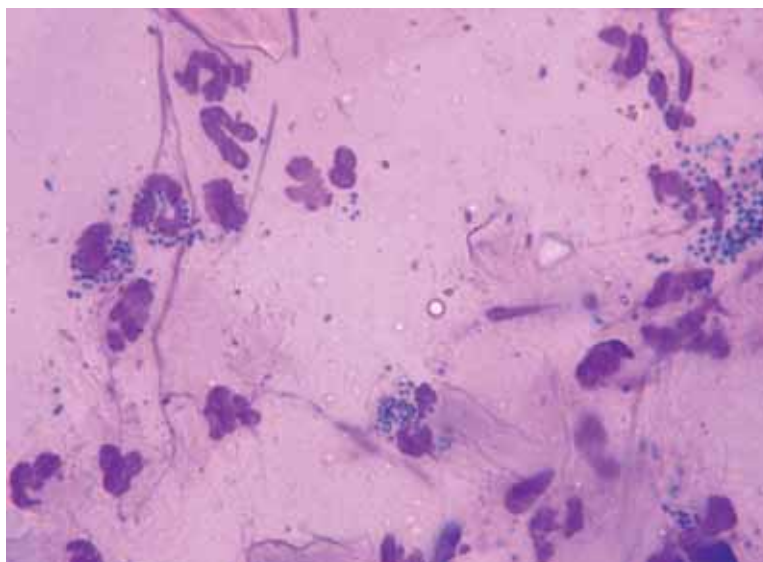


FIGURA 14 - Citologia con nastro adesivo di una piodermite cutanea in un cane, colorata con colorazione Wright-Giemsa modificata (1000x). Ci sono diversi neutrofilo degenerati con nuclei rigonfi, pallidi e frammentati, con fuoriuscita di nuclei dalle cellule danneggiate. Ci sono numerosi batteri coccacei colorati in blu. È probabile che questi siano stafilococchi - sono la causa più comune delle infezioni cutanee, e formano tipicamente coppie o piccoli gruppi in citologia. Batteri extracellulari potrebbero essere semplicemente contaminanti, mentre la presenza di batteri intracellulari fagocitati conferma la diagnosi di infezione.

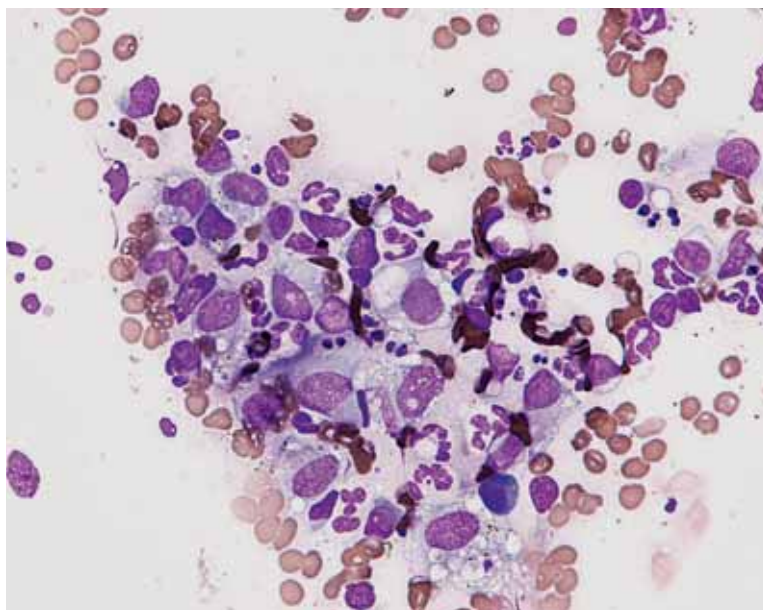


FIGURA 15 - Vetrino per impressione indiretta di materiale fuoriuscito da un foruncolo, colorato con colorazione Wright-Giemsa modificata (1000x). La citologia è dominata da macrofagi grandi e attivati con citoplasma pallido e schiumoso. Numerose cellule hanno fagocitato detriti, inclusi neutrofilo che stanno morendo o morti. Altre cellule includono neutrofilo degenerati, linfociti, plasmacellule ed eritrociti. In contrasto con la Figura 14, i batteri sono pochi e difficili da trovare.

La citologia può essere un modo veloce, facile e conveniente per rilevare la presenza di infezione ed identificare i probabili microrganismi. Alcuni microbi, come gli stafilococchi, hanno un quadro di sensibilità antimicrobica relativamente prevedibile, e la scelta empirica del trattamento è spesso

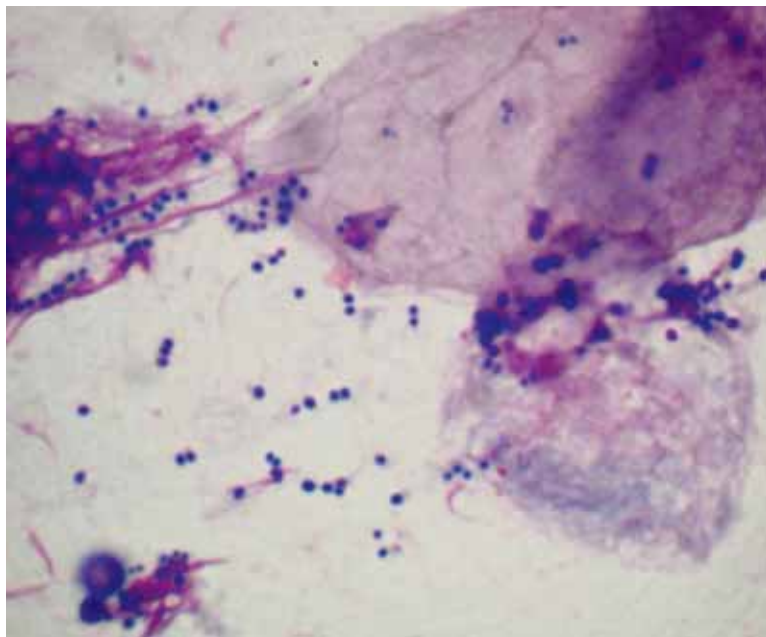


FIGURA 16 - Citologia con nastro adesivo di una sindrome da sovracrescita batterica canina, colorata con Haemacolor (1000x, olio ad immersione). C'è un alto numero di batteri (in gran parte cocchi che formano coppie e gruppi) e un lievito *Malassezia* rotondo e gemmante (in basso a sinistra). (Per gentile concessione del Dr. Stefano Toma).

efficace^{7,10}. La terapia antibiotica empirica è appropriata quando vengono rispettate le seguenti condizioni^{7-10,15}:

1. Infezione non rischiosa per la vita dell'animale
2. Primo episodio di infezione cutanea
3. Lesioni cliniche compatibili con una piodermite di superficie o superficiale
4. La citologia è compatibile con una infezione stafilococcica
5. Nessuna ragione per sospettare una resistenza agli antibiotici

La coltura batterica e il test di sensibilità antimicrobica sono comunque necessari quando viene riscontrata anche una sola delle seguenti condizioni^{7-10,15}:

1. Infezioni che mettono a rischio la vita dell'animale, nelle quali l'antibiotico deve essere efficace
2. Lesioni cliniche compatibili con piodermite profonda
3. I segni clinici e la citologia sono discordanti
4. Presenti batteri bastoncellari in citologia, poiché la loro sensibilità antibiotica non è prevedibile e potrebbe essere limitata
5. La terapia antibiotica empirica non sta risolvendo l'infezione come ci si sarebbe aspettato
6. Quando l'antibiotico resistenza è probabile:
 - A. Dopo uno o più cicli con antibiotici ad ampio spettro
 - B. Ferite che non cicatrizzano
 - C. Infezioni postoperatorie e altre infezioni nosocomiali
 - D. Il proprietario o l'animale hanno avuto contatti recenti con il servizio sanitario

Citologia o coltura batterica?

Effettuare la citologia e raccogliere materiale per la coltura sono utili allo stesso modo. La maggioranza delle colture sono qualitative piuttosto che quantitative. Gli organismi isolati possono essere o non essere coinvolti nell'infezione, in particolare quando si tratta di normali organismi commensali. La citologia invece fornisce dati quantitativi includendo il numero di organismi coinvolti, se sono stati fagocitati, e la loro relazione con cellule e strutture cutanee. Un numero relativo dei differenti organismi osservati con la citologia possono essere utili quando la coltura rileva diverse specie con differenti quadri di sensibilità antimicrobica.

Coltura batterica e terapia antibiotica precedente

Il trattamento antibiotico potrebbe causare colture falsamente negative¹. Se possibile, i campioni dovrebbero essere presi almeno 48 ore dopo l'ultima dose di antibiotici orali o oltre l'appropriato intervallo di somministrazione per gli antibiotici parenterali. Se gli appropriati intervalli di sospensione non sono possibili, ma la citologia indica la presenza di batteri, potrebbero essere necessarie colture prolungate o arricchite, per ridurre la possibilità di risultati falsamente negativi. È di particolare importanza annotare le terapie antibiotiche recenti o in corso sulla scheda di invio al laboratorio di microbiologia.

Come ottenere materiale per la coltura

Il materiale per la coltura può essere ottenuto con metodiche diverse, a seconda delle lesioni coinvolte. È importante ottenere campioni rappresentativi ed evitare contaminazioni superficiali che potrebbero non avere rilevanza. Quando possibile, dovrebbero essere selezionate le lesioni primarie, come le pustole intatte, foruncoli e noduli, e il margine delle ulcere⁽¹⁾. Potrebbe essere necessario alzare delicatamente le croste per esporre le lesioni più profonde. Può essere utile prendere numerosi campioni se ci sono lesioni multiple, specialmente se i rilevamenti citologici differiscono fra le lesioni.

Tamponi batteriologici

Sono disponibili numerosi strumenti per ottenere campioni per batteriologia, ma per l'utilizzo clinico di routine i migliori sono i tamponi standard con estremità in cotone e terreno di trasporto per coltura aerobica ed anaerobica. I tamponi senza terreno di trasporto sono realmente utili solo per quei laboratori in cui i campioni vengono posizionati nel mezzo di coltura subito dopo il prelievo. Si possono utilizzare tamponi speciali per anaerobi o altri microrganismi insidiosi se si sospetta la presenza di queste specie.

I campioni possono essere presi direttamente dalla superficie cutanea, sebbene ci sia il rischio che

questi possano semplicemente rivelare la presenza di commensali o germi opportunistici secondari. Questo può essere evitato pulendo la cute con alcool prima di campionare pustole e foruncoli, sebbene l'alcool possa penetrare il fine strato corneo delle pustole superficiali¹. Si dovrebbe aspettare che l'alcool evapori prima di raccogliere il campione, per evitare di inibire la crescita batterica. Le pustole intatte possono essere aperte con un ago sterile per fare fuoriuscire il pus fresco che può quindi essere raccolto usando un tampone. Può essere difficile trovare pustole intatte nel cane e nel gatto, e pertanto rendersi necessario prendere i campioni dal margine di un collareto epidermico di una pustola rotta recentemente o dalla parte inferiore di una crosta. In caso di dermatite papulo-pustolosa eritematosa, si possono ottenere buoni risultati tamponando il materiale da una papula cruentata con un ago sterile. Si può ottenere materiale fresco da tragitti drenanti e foruncoli intatti premendo delicatamente le lesioni con le dita. Inumidire il tampone con soluzione salina sterile potrebbe favorire la crescita degli organismi. Il prelievo dalle narici e dal perineo per la ricerca di animali portatori di stafilococchi riduce la possibilità di colture falsamente negative¹⁶.

Biopsia

È preferibile effettuare biopsie da lesioni profonde, poiché i batteri della superficie potrebbero non essere rappresentativi delle lesioni campionate. La superficie cutanea dovrebbe essere preparata con alcool prima della biopsia, per ridurre la contaminazione, e dovrebbero essere utilizzati strumenti e guanti sterili. Anestetici locali potrebbero avere attività battericida¹⁷, sebbene i farmaci anestetici locali non abbiano inibito la crescita stafilococcica in un modello di ferita chirurgica¹⁸. Tuttavia, potrebbe essere meglio usare un blocco ad anello, un blocco dei nervi locali o un'anestesia generale piuttosto che infiltrare il sito della biopsia. Biopsie con punch di 4-6 mm sono utilizzabili per lesioni che coinvolgono epidermide e derma, ma biopsie a cuneo a tutto spessore sono necessarie per lesioni profonde nel sottocute o tessuti sottostanti.

Tecniche colturali

Test di diffusione con dischetti di Kirby-Bauer

Per i test di diffusione con dischetti di Kirby-Bauer si usano dischi di carta impregnati di antibiotico^{19,20}. Una quantità nota di batteri viene coltivata in piastre contenenti agar in presenza di questi dischetti. Se i batteri sono sensibili ad un antibiotico, si sviluppa un alone chiaro intorno al dischetto, dove i batteri non possono crescere (la zona di inibizione) (Fig. 17). Il diametro della zona di inibizione è confrontato con standard riconosciuti (Clinical Laboratory and Standards Institute [CLSI], www.clsi.org; British Society for Antimicrobial Chemotherapy [BSAC], www.BSAC.org.uk; Europe-



FIGURA 17 - Test di diffusione con dischetti di Kirby Bauer. Un isolato di *Escherichia coli* è stato incubato con diversi dischi impregnati di antibiotico. Le zone di inibizione intorno ad ogni disco vengono misurate e confrontate con standard riconosciuti per determinare se l'isolato sia sensibile o resistente verso ogni antibiotico. (Per gentile concessione della Dr.ssa Dorina Timofte e del Dr. Andrew Wattret, da University of Liverpool School of Veterinary Science)

an Committee on Antimicrobial Susceptibility [EUCAST], www.eucast.org), per determinare se i batteri siano sensibili o resistenti verso un particolare antibiotico. I campioni potrebbero anche avere sensibilità intermedia, ma questi nella pratica andrebbero considerati come resistenti. La sola determinazione della dimensione della zona di inibizione non ha grande significato e non può essere usata per determinare quanto un batterio sia sensibile o resistente verso un antibiotico. I test di diffusione con dischi potrebbero anche dare risultati fuorvianti - per esempio, la sensibilità o la resistenza *in vitro* nei confronti della cefoxitina e dell'amoxicillina-clavulanato è scarsamente predittiva della presenza di uno stafilococco coagulasi-positivo *mecA*-positivo (meticillino-resistente)^{7,9,21}.

Concentrazioni minime inibenti

La concentrazione minima inibente (MIC) è la più bassa concentrazione di un antibiotico che inibisce completamente la crescita di un microrganismo. Ci sono diversi metodi per determinare la MIC, la metodica più comune si basa su concentrazioni crescenti di antibiotico in colture in brodo con quantità note di batteri²⁰. Le *E-strips* (E-test; bioMérieux UK Limited, Basingstoke, UK) sono strisce di carta impregnate con antibiotici a differenti concentrazioni lungo la striscia. Essi sono usati in modo simile ai dischi Kirby-Bauer, ma producono una zona ellittica di inibizione, la MIC viene determinata dal punto in cui la punta della zona di inibizione tocca la striscia (Fig. 18)¹⁹.

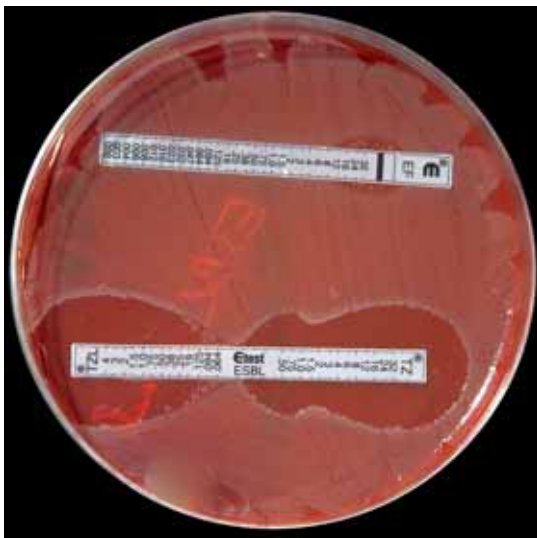


FIGURA 18 - Esame E-strip per la minima concentrazione inibente (MIC). Un isolato di *Escherichia coli* è stato incubato con due E-strip, un impregnato con enrofloxacina (EF), e uno con ceftazidime da solo (TZ) e ceftazidime in combinazione con acido clavulanico (TZL). La MIC per EF è 8-12 µg/ml. Al contrario, l'isolato appare essere sensibile anche verso basse concentrazioni di ceftazidime +/- acido clavulanico. (Per gentile concessione della Dr.ssa Dorina Timofte e Andrew Wattret, da University of Liverpool School of Veterinary Science)

Le MIC vengono solitamente testate e riportate in intervalli espressi in µg/ml, poiché si suppone che gli antibiotici vengano somministrati per via sistemica. L'isolato sarà indicato come sensibile, intermedio o resistente in base ad intervalli conosciuti. Questi intervalli sono stabiliti per specifici antibiotici, organismi e condizioni di malattia. I veterinari clinici non dovrebbero utilizzare le MIC ottenute da studi epidemiologici per determinare se un isolato è suscettibile o resistente²⁰. Se l'isolato è riportato come sensibile allora è probabile che il trattamento sistemico supererà la MIC nel tessuto bersaglio.

L'efficacia dei farmaci concentrazione-dipendenti con effetti post-antibiotico (PAE) (farmaci di tipo 1, ad esempio fluorochinoloni ed aminoglicosidi) dipende dal picco di concentrazione nel tessuto target che supera la MIC²². Maggiore è il rapporto tra picco di concentrazione e MIC, migliore sarà l'efficacia: questo rapporto è quindi un importante predittore dell'efficacia dell'antibiotico (correntemente 8-10:1 è considerato ottimale). L'efficacia degli antibiotici tempo-dipendenti senza alcun PAE (farmaci di tipo 2, ad esempio penicilline, cefalosporine e macrolidi) dipende dalla durata dell'esposizione, pertanto la concentrazione tissutale dovrebbe superare la MIC per almeno il 70% dell'intervallo di somministrazione²². Aumentare il dosaggio e il picco di concentrazione potrebbe aumentare il tempo >MIC, ma non aumenterà da solo l'efficacia. Gli antibiotici di tipo 3 (ad esempio tetracicline ed alcuni lincosamidi) hanno proprietà miste mostrando capacità battericide tempo dipendenti e con moderato PAE²². Il regime

di dosaggio ideale massimizza la quantità di farmaco assorbita. A seconda dell'organismo, del tessuto e del dosaggio, è appropriata una somministrazione mono- o bigiornaliera. Gli antibiotici nei quali le sensibilità batteriche sono vicine al punto di riferimento dovrebbero essere trattati con attenzione, poiché potrebbero non raggiungere le concentrazioni terapeutiche nei tessuti target^{19,20,22,23}. Gli isolati con sensibilità intermedia dovrebbero essere considerati come resistenti, poiché è improbabile che la MIC sarà superata nel tessuto bersaglio²³. Comunque, se la distribuzione nei tessuti target è conosciuta, si può calcolare se un aumento del dosaggio possa rivelarsi efficace. Usare una terapia topica, la cui concentrazione di antibiotico si misura in mg/ml, può anche superare una apparente resistenza *in vitro*²³.

Altri test

Ulteriori esami potrebbero essere necessari per confermare l'identità, le caratteristiche e la sensibilità antimicrobica degli isolati batterici dove la semplice coltura e metodi biochimici potrebbero essere inadeguati o fuorvianti²⁴. Questi potrebbero includere test di agglutinazione su lattice per PBP2a, la PCR per *mecA* e SCCmec per gli stafilococchi meticillino-resistenti (MRS), e la PCR per la beta-lattamasi a spettro esteso (ESBL) negli *Escherichia coli*. I risultati di questi test possono essere presi in considerazione per la scelta della terapia - per esempio i MRS e gli *E. coli* ESBL sono resistenti alle penicilline e alle cefalosporine, anche se i test *in vitro* suggeriscono che saranno sensibili^{7,9}. Molti MRS, inoltre, mostrano resistenza inducibile alla clindamicina *in vivo* nonostante l'apparente sensibilità *in vitro*. La resistenza inducibile alla clindamicina dovrebbe, oltretutto, essere valutata usando test D-zone o PCR²⁵. In caso di dubbio, i veterinari clinici dovrebbero valutare con un microbiologo i risultati di laboratorio.

RINGRAZIAMENTI

Gli autori sono riconoscenti al Professor Ralf S Mueller per il suo contributo a questo lavoro, e alla Pfizer Animal Health per il supporto economico a questo progetto, mediante la sponsorizzazione dei viaggi e del soggiorno degli autori. La Pfizer ha inoltre sponsorizzato la pubblicazione *open access* su Veterinary Record di questo articolo l'acquisto dei diritti di traduzione e ripubblicazione in Italia. Si ringraziano anche il Dr. Stefano Borio e il Dr. Christian Ortalda per la traduzione italiana di questo articolo.

CONFLITTI D'INTERESSE

Gli autori sono tutti specialisti riconosciuti in dermatologia veterinaria, che hanno dato un'imposta-

zione indipendente per lo sviluppo di una guida comprensibile sull'uso degli antibiotici sistemici nelle infezioni batteriche della cute.

Le riunioni degli autori per produrre queste linee guida sono state gentilmente sponsorizzate da Pfizer Animal Health (PAH).

Comunque le linee guida sono esclusivamente un'opinione degli autori. Le opzioni terapeutiche potrebbero includere farmaci non registrati nei piccoli animali in Italia.

Gli autori credono che qualunque decisione sui protocolli terapeutici per un particolare caso debba restare di completa responsabilità del veterinario prescrittore, e non si assumono alcuna responsabilità per le sue scelte.

Parole chiave

Cute, cane, gatto, piddermite, antibiotici, batteri, infezione.

Suggested guidelines for using systemic antimicrobials in bacterial skin infections: part I - Diagnosis based on clinical presentation, cytology and culture

Summary

Systemic antimicrobials are critically important in veterinary healthcare and resistance is a major concern. Antimicrobial stewardship will be important in maintaining clinical efficacy by reducing the development and spread of antimicrobial resistance. Bacterial skin infections are one of the most common reasons for using systemic antimicrobials in dogs and cats. Appropriate management of these infections is therefore crucial in any policy for responsible antimicrobial use. The goals of therapy are to confirm that an infection is present, identify the causative bacteria, select the most appropriate antimicrobial, ensure that the infection is treated correctly, and to identify and manage any underlying conditions. This is the first of two articles that will provide evidence-based guidelines to help practitioners address these issues. This article covers diagnosis, including descriptions of the different clinical presentations of surface, superficial and deep bacterial skin infections, how to perform and interpret cytology, and how to best use bacterial culture and sensitivity testing. Part two will discuss therapy, including choice of drug and treatment regimens.

Key words

Skin, dog, cat, pyoderma, antibiotics, bacteria, infection.

BIBLIOGRAFIA

1. Scott, D.W., Miller, W.H., Griffin, C.E. Diagnostic Methods. In: Muller and Kirks Small Animal Dermatology 6 th edn W. B. Saunders, Philadelphia, USA., 2001, pp. 71-206.
2. Noli, C. Staphylococcal Pyoderma. In: BSAVA Manual of Small Animal Dermatology, 2th edn. Eds A. Foster and C. Foil C., Quedgeley, UK., 2003, pp. 159-168.
3. Pin, D., Carlotti, D. N., Jasmin, P., Deboer, D. J. et al. Prospective study of bacterial overgrowth syndrome in eight dogs. *Vet Rec* 158, 437-441, 2006.
4. Holm, B. R., Rest, J. R. & Seewald, V. A prospective study of the clinical findings, treatment and histopathology of 44 cases of pyotraumatic dermatitis. *Vet Dermatol* 15, 369-376, 2004.
5. Hillier, A., Alcorn, J. R., Cole, L. K. & Kowalski, J.J. Pyoderma caused by *Pseudomonas aeruginosa* infection in dogs: 20 cases. *Vet Dermatol* 17, 432-439, 2006.
6. Naidoo, S. L., Campbell, D. L., Miller, L. M. & Nicastro A. Necrotizing fasciitis: a review. *Jf Am Anim Hosp Assoc* 41, 104-109, 2005.
7. Weese, J. S. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: an emerging pathogen in small animals. *J Am Anim Hosp Assoc* 41, 150-157, 2005.
8. May, E. R. Bacterial skin diseases: Current thoughts on pathogenesis and management. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 36, 185-198, 2006.
9. Nuttall, T. J., Williams, N. J., Saunders, R. & Dawson, S. Meticillin resistant staphylococci in companion animals. *Eur J Comp Anim Pract* 18, 280-287, 2008.
10. Guardabassi, L. & Fondati, A. Prudent and rational use of antibiotics for treatment of canine and feline pyoderma. *Veterinaria* 23, 11-22, 2009.
11. Mendelsohn, C., Rosenkrantz, V. & Griffin, C. E. Practical Cytology For Inflammatory Skin Diseases. *Clin Techn Sm Anim Pract* 21, 117-127, 2006.
12. Mueller, R. S. Dermatodiagnosics yesterday and today - an overview. *Prakt Tierarzt* 90, 822-828, 2009.
13. Toma, S., Corneigliani, L., Persico, P. & Noli, C. Comparison of 4 fixation and staining methods for the cytologic evaluation of ear canals with clinical evidence of ceruminous otitis externa. *Vet Clin Pathol* 35, 194-198, 2006.
14. Pappalardo, E., Martino, P. A. & Noli, C. Macroscopic, cytological and bacteriological evaluation of anal sac content in normal dogs and in dogs with selected dermatological diseases. *Vet Dermatol* 13, 315-322, 2002.
15. Loeffler, A., Boag, A. K., Sung, J., Lindsay, J. A., et al. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among staff and pets in a small animal referral hospital in the UK. *J Antimicrob Chemother* 56, 692-697, 2005.
16. Fazakerley, J., Nuttall, T., Sales, D., Schmidt, D., et al. Staphylococcal colonization of mucosal and lesional skin sites in atopic and healthy dogs. *Vet Dermatol* 20, 179-184, 2009.
17. Sakuragi, T., Ishino, H., Dan, K. Bactericidal activity of clinically used local anesthetics on *Staphylococcus aureus*. *Reg Anesth* 21, 239-242, 1996.
18. Kose, A. A., Karabaglli, Y., Kiremitci, A., Kocman, E. et al. Do local anesthetics have antibacterial effect on *Staphylococcus aureus* under in vivo conditions? An Experimental Study. *Dermatol Surg* 36, 848-852, 2010.
19. Jorgensen, J. H. & Turnidge, J.D. Susceptibility test methods: dilution and disk diffusion methods. In: Manual of clinical microbiology. 9th edn. Eds Murray PR, Baron EJ and others, American Society of Microbiology, Washington DC, USA., 2007, pp. 1152-1172.
20. Schwarz, S., Silley, P., Simjee, S., Woodford, N., et al. Assessing the antimicrobial susceptibility of bacteria obtained from animals. *Vet Microbiol* 141, 1-4, 2010.
21. Bemis, D. A., Jones, R. D., Hiatt, L. E., Ofori, E. D., et al. Comparison of tests to detect oxacillin resistance in *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus schleiferi*, and *Staphylococcus aureus* isolates from canine hosts. *J Clin Microbiol* 44, 3374-3376, 2006.
22. Mckinnon, P. S. & Davis, S. L. Pharmacokinetic and pharmacodynamic issues in the treatment of bacterial infectious diseases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 23, 271-288, 2004.
23. Cole, L. K., Papich, M.G., Kwochka, K.W., Hillier, A., et al. Plasma and ear tissue concentrations of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin in dogs with chronic end-stage otitis externa after intravenous administration of enrofloxacin. *Vet Dermatol* 20, 51-59, 2009.
24. Abraham, J. L., Morris, D. O., Griffeth, G. C., Shofer, F.S. et al. Surveillance of healthy cats and cats with inflammatory skin disease for colonization of the skin by methicillin-resistant coagulase-positive staphylococci and *Staphylococcus schleiferi* ssp *schleiferi*. *Vet Dermatol* 18, 252-259, 2007.
25. Rich, M., Deighton, L. & Roberts, L. Clindamycin-resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from animals. *Vet Microbiol* 111, 237-240, 2005.