

DIAGNOSTICA IN DERMATOLOGIA VETERINARIA

Approccio diagnostico alle dermatofitosi del cane e del gatto

Andrea Peano

Dipartimento di Produzioni Animali, Epidemiologia ed Ecologia, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Torino

RIASSUNTO

I funghi dermatofiti sono patogeni di notevole interesse pratico, in virtù del loro potenziale zoonotico e delle problematiche dermatologiche che possono causare negli animali da compagnia. Le dermatofitosi di cane e gatto sono già state ampiamente trattate in diversi testi e pubblicazioni. Il presente articolo si propone di ricapitolare quanto già descritto, con l'aggiunta di informazioni raccolte nel corso di esperienza personale e grazie alla collaborazione con numerosi colleghi che nel corso degli anni hanno voluto condividere con l'autore i casi clinici più interessanti. Lo scopo finale è quello di tradurre in un contesto applicativo le nozioni sul comportamento biologico dei funghi dermatofiti, onde fornire elementi utilizzabili per un migliore approccio diagnostico.

Parole chiave: dermatologia, micosi, dermatofiti, cane, gatto.

SUMMARY

Diagnostic approach to dermatophytosis in dogs and cats

Dermatophytes are significant pathogens in animal health due to their zoonotic potential and the distressing lesions they cause in small domestic pets. Dermatophytosis in the cat and dog has been widely described in many textbooks and publications. Aim of this paper is to summarize the main features of this pathology and to integrate them with some notions acquired through personal experience and the collaboration with many private practitioners. Accordingly, the biology of these fungal pathogens will be presented under a clinical perspective, in order to provide information for a more effective diagnostic approach.

Keywords: dermatology, mycosis, dermatophytes, dog, cat.

Breve ripasso tassonomico

I dermatofiti sono funghi filamentosi in grado di digerire la cheratina, principale costituente di peli, unghie e strato corneo dell'epidermide. Il loro elemento costitutivo base è rappresentato dall'ifa, filamentoso di diametro uniforme diviso in setti, con eventuali ramificazioni, visualizzabile sia nel corso dell'invasione tissutale – quindi nel pelo (foto 1) e nello strato corneo – sia nelle colture allestite in laboratorio a scopo diagnostico (foto 2). La riproduzione dei

dermatofiti avviene principalmente per via asessuata e origina strutture definite spore, o, più propriamente, conidi. Nei tessuti animali questi corrispondono a elementi in catena o a grappoli, rotondeggianti o quadrangolari, denominati artroconidi (foto 3). Nelle colture, vengono invece formati conidi che, viste le diverse dimensioni relative, sono definiti rispettivamente, macro- e micro conidi (foto 2). Ciascun dermatofita si presenta quindi con morfologia molto diversa, a seconda che venga visualizzato nei campioni dermatologici o nelle colture. La riproduzione di tipo sessuato può anche aver luogo, ma è considerata molto rara in natura, dato che deriva dall'incontro di due ceppi fungini. Viene di solito evidenziata in corso di esperimenti *in vitro* con condizioni di coltura controllate. Visto ciò, risulta di scarsa utilità descrivere le spore che ne originano, dato che molto difficilmente il veterinario potrà mai visualizzare in ambulatorio questo tipo di forme riproduttive. Quello che invece risulta utile ricordare è come, proprio considerando i due tipi di riproduzione, la nomenclatura fungina possa variare. Ad esempio il dermatofita che più frequentemente si ritrova nel gatto e nel cane è denominato *Microsporium canis* quando se ne identificano i macroconidi a forma di fuso in una coltura (foto 2), ma è *Arthroderma otae* quando se ne osservi la replicazione sessuata in

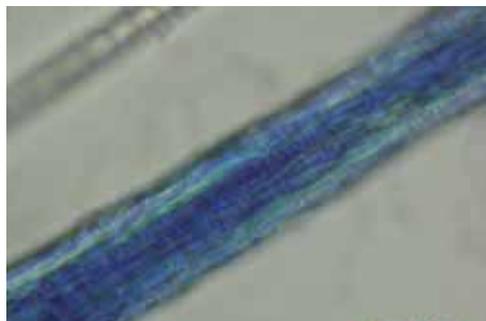


Foto 1. Elementi filiformi di diametro regolare, blu-violacei, settati (ife fungine) che invadono l'interno di un pelo prelevato dalle lesioni alopeciche esfoliative presenti su un cane. 3° colorante (viola) della colorazione rapida (Hemacolor®). Ingrandimento 40X. In coltura il fungo viene identificato come *ex-T. mentagrophytes*. La PCR lo identifica come *T. interdigitale zoofillo*.

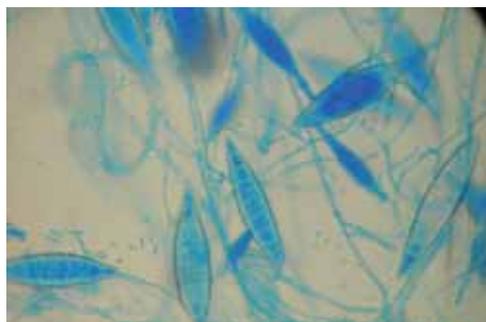


Foto 2. Ife, macroconidi e microconidi di *M. canis*. Preparazione in blu lattofenolo utilizzando frammento di scotch appoggiato sulle colonie. Ingrandimento 40X.



Foto 3. Artroconidi di *M. canis* in un pelo di gatto. Preparazione in olio minerale. Ingrandimento 40X.



Foto 4. Aspetto macroscopico di una coltura di *Trichophyton* spp. su un terreno non a viraggio di colore. Tramite PCR il fungo risulta essere *Trichophyton interdigitale* zoofilico.



Foto 5. Aspetto microscopico della coltura di fig. 4. Iife elicoidali, microconidi rotondi e macroconidi a forma di sigaro.

laboratorio. Il primo è il cosiddetto anamorfo del fungo, il secondo è il telomorfo. La questione classificativa si complica ulteriormente parlando del fungo storicamente identificato come *Trichophyton mentagrophytes*. Già in passato, si attribuiva a questa specie più un significato di “complex”, visto che si riconoscevano alcune varietà (*T. mentagrophytes* var. *granulosum*, *T. mentagrophytes* var. *interdigitale*, *T. mentagrophytes* var. *erinacei* ecc.), basandosi su considerazioni di ordine epidemiologico (ospite di provenienza) e su variazioni morfologiche colturali più o meno evidenti. Metodiche di identificazione molecolari hanno poi chiarito come questo complex comprenda 4 specie distinte, tre zoofiliche e una con ceppi antropofili e zoofili: i) *T. mentagrophytes sensu strictu*. Zoofilo. Tale fungo è molto raro in Europa. È associato ad alcuni roditori e al cammello; ii) *Trichophyton erinacei* e iii) *Trichophyton* spp., anamorfo di *Arthroderma benhamiae*. Entrambi zoofili; iv) *Trichophyton interdigitale*. Comprende ceppi antropofili e zoofili. Il suo telomorfo è *Arthroderma vanbreuseghemii*. La distinzione tra queste specie (e tra ceppi antropofili e zoofili di *T. interdigitale*) sta rivestendo un'importanza crescente negli studi epidemiologici, dato che sembra che ognuna possieda ospiti serbatoio, dinamiche di trasmissione e aspetti clinici diversi (questi ultimi soprattutto in medicina umana, per esempio ceppi zoofili di *T. interdigitale* originano forme più infiammatorie). È importante notare come non esistano chiavi identificative morfologiche utilizzabili per una precisa differenziazione tra queste specie. Nella pratica clinica, dunque, è realistico affermare come il veterinario che utilizza colture per diagnosi ambulatoriale non potrà che effettuare la “solita” identificazione dell'ex-*T. mentagrophytes* (colonie bianche con re-

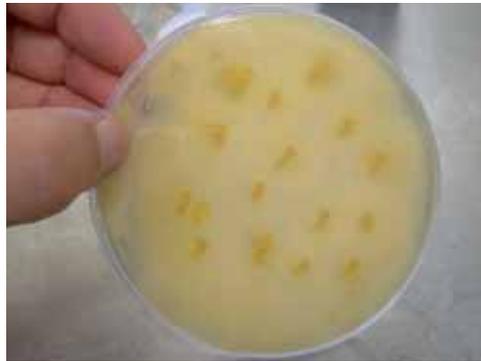


Foto 6. Aspetto macroscopico di una coltura di *T. erinacei* (retro piastra) su un terreno non a viraggio di colore. Si può notare il colore giallo pallido del retro delle colonie.

tro marrone scuro, con ife spirali, microconidi rotondi che vengono formati ad angolo retto - come “tralci d'uva” -, macroconidi a forma di sigaro) (foto 4 e 5), tenendo però presente che a questa potrebbe corrispondere una delle specie appena menzionate. In effetti, *T. erinacei* potrebbe essere distinguibile perché origina quasi sempre colonie con retro coltura giallo pallido (ma tale caratteristica è difficilmente visibile sui cosiddetti DTM - vedere oltre) (foto 6), con microconidi cilindrici/clavati e assenza di ife spirali. D'altra parte, l'anamorfo di *A. benhamiae* (*Trichophyton* spp.) spesso ha i caratteri “classici” (foto 4 e 5), ma in altre occasioni è invece giallo con microconidi piriformi (foto 7 e 8) (quindi simile proprio a *T. erinacei*). Non per niente *A. benhamiae* e *T. erinacei* sono considerate specie molto vicine. Tra l'altro, si può anche notare come le colonie di *T. erinacei* e le “varianti gialle” di *A. benhamiae* (foto 6 e 7) assomiglino molto a livello macroscopico a *M. canis* - per il colore giallastro e i margini a stella - (foto 9), e questo potrebbe essere un ulte-

Diagnosi e terapia



Foto 7. Aspetto macroscopico di una coltura di *Trichophyton* spp. Tramite PCR il fungo risulta essere l'anamorfo di *A. benhamiae*. Si tratta quindi di una "variante gialla". Terreno non a viraggio di colore.



Foto 8. Aspetto microscopico della coltura della foto 7. Microconidi piriformi. Preparazione in blu lattofenolo. Ingrandimento 10X.

riore elemento di difficoltà nel riconoscimento di specie.

Le specie fungine di cui si è discusso fino ad ora appartengono al gruppo dei cosiddetti dermatofiti zoofili, quindi strettamente legate al mondo animale. Ognuna è legata ad ospiti preferenziali, ma occasionalmente ci possono essere delle cross-infezioni. Esiste dunque una preferenza ma non una vera specificità d'ospite, e in molte occasioni nella catena di infezione entra anche l'uomo. È da ricordare infatti come *tutti* i dermatofiti zoofili siano agenti di zoonosi. *M. canis* è la specie più frequentemente ritrovata in gatto e cane. In entrambe le specie sono possibili anche casi sostenuti da *T. interdigitale* e *A. benhamiae* (nel gatto non sono poi così infrequenti come spesso si sostiene nei libri) che riconoscono come ospiti serbatoio conigli e roditori. Nel cane sono descritti casi sostenuti dal precedentemente citato *T. erinacei* e da *Microsporum persicolor*. Si parla anche di dermatofiti silvestri, in quanto dette specie sono veicolate rispettivamente da riccio e roditori selvatici (in questa accezione anche *T. interdigitale* e *A. benhamiae* sono silvestri se trasmessi da roditori selvatici). I dermatofiti zoofili sono trasmessi per contatto diretto con un animale infetto. Oltre a ciò, data l'elevata resistenza ambientale dei conidi (mesi o anni), è anche possibile il contagio indiretto, tramite l'ambiente contaminato. Esistono altri due gruppi "ecologici" di dermatofiti. Il primo è quello dei cosiddetti geofili, anche detti cheratinofili del suolo, che sono adattati a vivere e riprodursi nel terreno, specialmente se ricco di materiale cheratinico fornito da peli e squame cutanee dispersi da animali o dall'uomo. Tra questi, il solo ad avere un reale potere patogeno è *Microsporum gypseum*, che può parassitare uomo e ani-



Foto 9. Aspetto macroscopico di una coltura di *M. canis* su un terreno non a viraggio di colore.

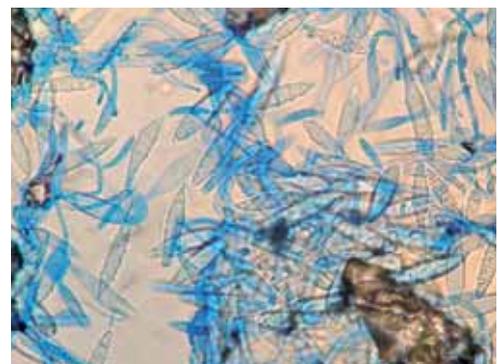


Foto 10. Aspetto microscopico di una coltura di *M. gypseum*. Macroconidi molto numerosi, a forma di seme di cocomero, con parete sottile e non più di 6 cellette. Preparazione in blu lattofenolo. Ingrandimento 40X.

mali (foto 10). Gli appartenenti a questo gruppo sono numerosissimi (per esempio *Microsporum cookei*, *Chrysosporium* spp. - foto 11 e 12 - *Trichophyton ajelloi*, *Trichophyton terrestre*, ecc.) e possono essere frequentemente ritrovati come "contaminanti" non patogeni del pelo degli anima-



Foto 11. Aspetto macroscopico di un fungo cheratinofilo del suolo (*Chrysosporium* spp.) su terreno a viraggio di colore. La foto è esemplificativa di come compare di solito un dermatofita su DTM (colonia chiara con evidente viraggio intorno). Si notano anche due colonie batteriche che non causano viraggio.

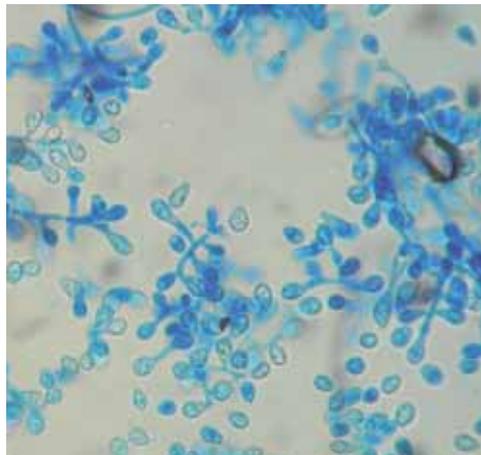


Foto 12. Aspetto microscopico di *Chrysosporium* spp. Microconidi piriformi. Preparazione in blu lattofenolo. Ingrandimento 40X.

li, soprattutto di quelli che passano molto tempo all'aperto (campagna, parchi, ecc.). L'ultimo gruppo è quello dei dermatofiti antropofili, parassiti dell'uomo. Le specie strettamente antropofile (*Trichophyton rubrum*, *Epidermophyton floccosum*, *Trichophyton tonsurans*, ecc.) hanno scarso interesse come patogeni veterinari, visto che la loro trasmissione ad animali – nello specifico al cane – è stata riportata molto raramente in letteratura.

L'invasione tissutale

Le dermatofitosi del cane e del gatto interessano il pelo e il follicolo pilifero (fa eccezione *M. persicolor*, i cui elementi si ritrovano solo nello strato corneo dell'epidermide). Il primo passo dell'invasione è rappresentato, però, dall'adesione di artroconidi e frammenti ifali – liberi o contenuti in residui cutanei disseminati da altri soggetti infetti – ai cheratinociti interfollicolari. È probabile che per l'attecchimento dell'infezione sia richiesta una certa quantità - non meglio definibile - di spore/ife. A partire dalle spore si produce un filamento germinativo che genera un'ifa, la quale invade l'epidermide e intacca il pelo nel punto della sua emergenza dalla cute. Le ife si ramificano e proliferano continuando l'invasione verso la radice del pelo. La moltiplicazione cellulare del fungo si arresta dove non c'è più cheratina, a livello del colletto del bulbo pilifero. Il limite tra le linee di avanzamento dei filamenti fungini e la parte non invasa (zona cheratogena) del pelo è chiamata "frangia di Adamson". Quando il fungo è giunto a que-

sto 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. 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 (aree circoscritte caratterizzate da diradamento e rottura dei peli). La porzione "più vecchia" delle ife (in pratica la loro "coda") viene progressivamente suddivisa da setti che si approfondiscono fino a frammentare l'ifa in una serie di elementi che rappresentano le spore di resistenza (artroconidi). Progressivamente, si può arrivare alla quasi completa sostituzione delle ife con ammassi di artroconidi. Il processo di invasione del pelo avviene di solito a partire dalla corticale verso l'interno (meccanismo cosiddetto ectotrix). Si generano in tal modo viluppi di ife e manicotti di artroconidi inizialmente all'esterno del fusto pilifero. Già a piccolo ingrandimento (10X) i peli appaiono disomogenei, deformati rispetto ai peli normali (foto 13). Per l'ex-*T. mentagrophytes* è possibile anche un meccanismo dall'interno del pelo (cioè l'ifa fungina "buca" la corticale e il pelo viene intaccato dalla midollare verso l'esterno). Tale meccanismo è detto endotrix e si manifesta come ife che si prolungano e diramano all'interno della midollare prima di intaccare la corticale pilifera (foto 1). Nell'insieme, si parla, per l'ex-*T. mentagrophytes*, di invasione ecto-endotrix. Indipendentemente dal meccanismo di invasione, all'esame microscopi-

Diagnosi e terapia



Foto 13. Esame diretto del pelo in olio minerale a basso ingrandimento (10X). Il pelo sulla sinistra presenta morfologia regolare, con corticale e midollare ben evidenziabili; quello sulla destra appare irregolare, deformato. Il pelo a sinistra è indenne, quello a destra è invaso dal fungo (*M. canis* in questo caso).



Foto 14. Preparazione in olio a 40X. I fusti piliferi appaiono deformati come quello visualizzato nella foto. 13. Il maggior ingrandimento permette di mettere in evidenza gli elementi fungini (artroconidi) di *M. canis*.

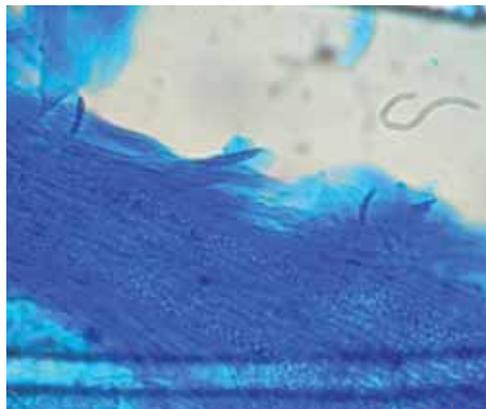


Foto 15. Esame diretto di un pelo invaso da *M. canis*. Preparazione in blu lattofenolo, 40X. Si evidenziano con maggior facilità gli artroconidi rotondeggianti disposti a grappolo. Nel fusto pilifero rimasto si intravedono anche le ife del fungo.

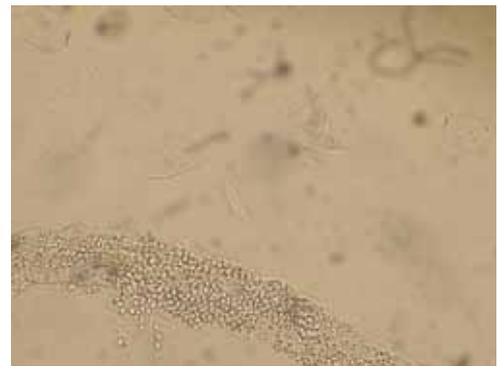


Foto 16. Fusto pilifero completamente sostituito da artroconidi di *M. canis*. Il materiale è stato digerito per 15 minuti in NaOH. Gli elementi fungini sono maggiormente visibili perché il preparato è chiarificato e gli artroconidi si rigonfiano aumentando di dimensione. Ingrandimento 40X.

co il fusto pilifero può risultare parzialmente o completamente sostituito dalla massa fungina (foto 14, 15, 16 e 17). Da quanto descritto, anche se gli elementi fungini sono incentrati sul follicolo pilifero, ife e spore possono essere presenti anche nelle squame (foto 18). Come già accennato, invece, le infezioni da *M. persicolor* coinvolgono *esclusivamente* lo strato corneo, risparmiando i peli. Se il pelo entra in fase telogen, la crescita fungina si arresta. Infatti, il fungo richiede produzione di cheratina per la sua sopravvivenza e in questo contesto anche la crescita fungina rallenta fino a fermarsi. Le spore fungine possono rimanere quiescenti fino alla ripresa della crescita pilifera; nel frattempo la reattività immunitaria dell'ospite e/o l'eventuale terapia possono portare all'eliminazione del fungo. La reazione immunitaria che



Foto 17. Pelo invaso da ex-*T. mentagrophytes* (*A. benhamiae*). Ife "artrosporizzate". Digestione in NaOH, 40X.

conseguente all'invasione dello strato corneo e del follicolo pilifero si configura come un'accorsa di cellule infiammatorie e un

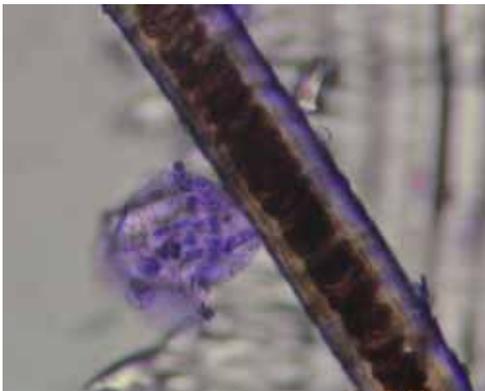


Foto 18. Iifa di ex-*T. mentagrophytes* (*T. interdigitale*) in una squama (vicino, un pelo non infetto). 3° colorante dell'Hemacolor®. 40X

aumentato turnover epidermico, traducendosi, in ultima analisi, nelle manifestazioni cliniche (eritema, esfoliazione, follicolite, prurito, noduli, ecc.) che “allontanano” la sintomatologia dal quadro, più “tipico”, di alopecia. In questo caso, gli elementi fungini possono essere “dispersi” tra le cellule infiammatorie (o da queste fagocitati) (foto 19).

L'effetto dell'invasione: l'interazione con l'ospite

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. Le lesioni che derivano sono quindi aree alopeciche focali o multifocali, di forma circolare o irregolare, con eritema ed esfoliazione variabile. 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 cosiddette lesioni “tipiche”, in pratica quelle che più spesso si evidenziano sugli animali colpiti. Sono possibili anche manifestazioni “non tipiche”, in cui la forma alopecica risulta più “mascherata” dal maggior eritema, esfoliazione, prurito. La “rotta” che prenderà la forma patologica dipende dalla combinazione ospite (cane o gatto) vs specie fungina. Inoltre, sulla già complessa interazione ospite/fungo si innesta tutta una serie di fattori predisponenti/condizionanti di ordine locale (microtraumi, macerazione strato corneo, ecc.) o generale (razza, giovane età o vecchiaia, malattie concomitanti, terapie immuno-

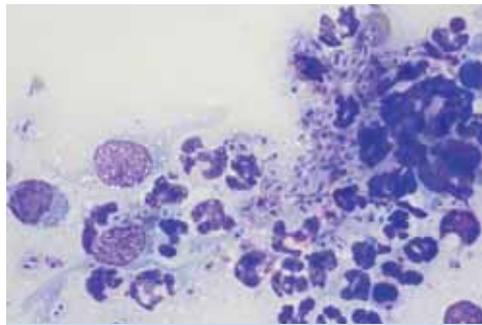


Foto 19. Citologia da agoaspirato di un kerion. Elementi fungini rotondeggianti con alone chiaro dispersi tra le cellule infiammatorie. In alto a destra alcuni elementi sono ancora concatenati in un'ifa. Hemacolor®, 40X. Il fungo, identificato in coltura, era *M. canis* (foto Francesco Albanese).

depressanti, ecc.) ognuno dei quali può “modellare” l'andamento e la gravità dell'infezione.

Nel gatto, la presentazione “tipica” sopra descritta si osserva frequentemente, soprattutto nei soggetti di razza Europea a pelo corto (foto 20), ma anche le manifestazioni cliniche “non tipiche”, sono facilmente incontrabili. Si possono osservare dermatite miliare, caratterizzata da piccole croste e prurito a carico della testa, del collo e del dorso, del tutto sovrapponibile alla dermatite miliare osservata nelle malattie allergiche, oppure aree di vera e propria follicolite, con alopecia, eritema, esfoliazione, papule follicolari e croste. Queste lesioni possono essere osservate in corrispondenza del mento (simili all'acne felina), degli arti o della coda. Un'altra presentazione poco frequente è rappresenta-



Foto 20. Lesioni alopeciche in un gatto Europeo, causate da *M. canis*.



Foto 21. Lesioni rotondeggianti esfoliative sull'addome di un gatto Persiano evidenziate dopo che il pelo è stato rasato per effettuare un esame ecografico. La coltura da raschiato superficiale ha permesso l'isolamento di *M. canis*.



Foto 22. Gatto Europeo con lesione crostosa presso l'angolo mediale dell'occhio. La crosta è risultata in coltura positiva per *M. canis*.

ta dell'onicomicosi, di solito asimmetrica, a carico di un dito o di più dita su una sola estremità, con onicodistrofia e infiammazione del letto ungueale. Alcune lesioni "non tipiche" sono correlate alla razza e alla lunghezza del mantello del gatto. Per esempio, nei gatti di razza Devon Rex, l'alopecia e l'esfoliazione si accompagnano frequentemente all'iperpigmentazione della cute. Nel gatto Persiano si possono osservare forme croniche e generalizzate di alopecia con esfoliazione (seborrea), otite esterna e lo pseudomicetoma dermatofitico (dermatite e pannicolite granulomatoso sostenuta da *M. canis*). Questa lesione, causata probabilmente dall'impianto del dermatofita nel sottocute, è caratterizzata da noduli sottocutanei 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 dermatofitico è stato descritto anche in sede intra-addominale. Il kerion dermatofitico (vedere oltre), benché citato nei libri di testo, non è segnalato in letteratura nella specie felina. È degno di nota come nel gatto le forme cliniche causate da *M. canis* sopra descritte assumano spesso un andamento "subdolo", a volte subclinico. Queste sono espressione di una sorta di "adattamento" del fungo a questo animale. L'evidenza clinica è in questo caso molto limitata, con lesioni che si percepiscono solo con un'accurata ispezione di cute e mantello (foto 21), o lesioni a cui si attribuisce scarsa importanza (è solo una "crosticina"...) (foto 22). Talora il massimo che si potrebbe dire è che il pelo appare "brutto", diradato (foto 23), ma non vi è proprio traccia delle lesioni "tipiche" menzionate in precedenza. Tutto ciò a fronte però di una presenza massiccia di spore



Foto 23. Gatto Europeo di circa 2 mesi, visitato per la comparsa di lesioni cutanee sui proprietari che l'avevano adottato due settimane prima. Il pelo sulle orecchie appare diradato, con materiale esfoliativo. Coltura positiva per *M. canis*.

evidenziabile sia all'esame diretto (foto 14, 15 e 16) sia all'esame colturale (foto 9), sia all'esame con lampada di Wood (in luce naturale l'animale ha scarsa evidenza clinica, con la lampada di Wood si illumina "come un albero di Natale" - foto 24). In effetti, di solito il numero di spore presenti è inversamente proporzionale al grado di infiammazione riscontrato. In questi casi, spesso, purtroppo anche la "prova biologica" (cioè la trasmissione all'uomo) è indice di questa abbondanza fungina. Questa situazione (poca evidenza clinica + molte spore) è una delle spiegazioni del perché il gatto è l'animale più spesso coinvolto nella trasmissione di *M. canis* all'uomo. In taluni casi, l'animale può essere un "carrier" meccanico (in pratica gli elementi fungini contaminano il mantello senza invadere il pelo). Questa condizione è frequente nei gatti di comunità a causa dell'elevata contaminazione fungina ambientale sostenuta dai soggetti con infezione "vera". In que-

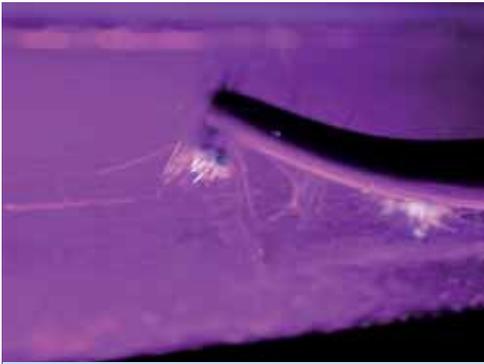


Foto 24. Esame con lampada di Wood di alcuni peli pinzettati. Lo sfondo presenta colore viola dovuto alla lampada. Alcuni fusti piliferi sono parassitati da *M. canis* e presentano fluorescenza intensa (foto Francesco Albanese).



Foto 25. Dermatofitosi da *M. canis* in un cane. Lesione "tipica".



Foto 26. Lesioni nodulari sul muso di un cane. A sinistra la lesione più grande appare ricoperta da crosta, a destra la crosta è stata rimossa. Coltura positiva per *M. canis* (foto Massimo Beccati).



Foto 27. Dermatofitosi cronica da *M. canis*, con alopecia ed esfoliazione, in uno Yorkshire Terrier.

sta situazione, spesso, si ha una positività colturale con minor numero di colonie. Nel cane, invece, la positività colturale per *M. canis* è molto più spesso accompagnata da lesioni evidenti. Anche nel cane la presentazione "tipica" è frequente, soprattutto nelle infezioni sostenute da *M. canis* e soprattutto nei cuccioli e nei cani trovati, o provenienti da canili o negozi di animali (foto 25). Lo stesso dermatofita, così come *M. gypseum* o l'ex-*T. mentagrophytes*, può causare una particolare lesione nodulare a sede dermica, il kerion dermatofitico. Si tratta di noduli singoli o multipli, alopecici, talvolta essudativi e localizzati più frequentemente alla testa o agli arti (foto 26). In cani da caccia o con attitudine a scavare si possono osservare quadri clinici di dermatofitosi a localizzazione facciale (dorso del naso, regione periorbitale, margini dei padiglioni auricolari) sostenute da *M. persicolor*, *T. mentagrophytes*, *M. gypseum*. La presenza di alopecia, esfoliazione, croste e papule e pustole follicolari in sede facciale fa sì che questa particolare presenta-

zione possa essere confusa con il pemfigo fogliaceo. *T. erinacei* può causare forme estremamente infiammatorie con coinvolgimento di muso e arti. Queste localizzazioni sono indicative di un contagio "dal basso" (riccio o terreno contaminato da materiale cutaneo infetto proveniente dal riccio) con le lesioni che si estendono dalle estremità in su. In generale, quindi, le dermatofitosi nel cane si caratterizzano con forme cliniche a sfondo maggiormente infiammatorio. Nel cane sono molto più rari i casi "subclinici"/"subdoli", invece così frequenti nel gatto. In ogni caso, di fronte a un proprietario con micosi è opportuno procedere sempre a esame colturale dell'eventuale cane presente anche se asintomatico. L'onicomicosi nel cane è rara, e la presentazione clinica è simile a quanto descritto per il gatto; lo pseudomicetoma dermatofitico è rarissimo nel cane. Lo Yorkshire Terrier, tra i cani, e il Persiano tra i gatti sembrano essere razze predisposte a contrarre forme croniche generalizzate molto gravi (foto 27). Al momen-

FINESTRA 1. Il primo prelievo da effettuare: alcune informazioni da "prendere con le pinze"

- *Proprietario con papule pruriginose sulle braccia. Un gattino randagio è stato adottato qualche giorno prima. È una micosi sicura.*

Il gatto è probabilmente il responsabile, ma ricordarsi anche di altre patologie trasmissibili, in primis *Cheyletiella* spp.

- *Uno dei proprietari si gratta, gli altri familiari no. Allora non può essere una patologia trasmissibile come la dermatofitosi*

Le dermatofitosi sono certo patologie contagiose, ma lo sviluppo delle forme cliniche dipende da molti fattori, in primis la sensibilità individuale. Inoltre, il fatto che la patologia si trasmetta dipende anche dal tempo di contatto tra persona e animale, ed è anche ipotizzata una diversa virulenza tra stipti diversi anche all'interno di una stessa specie fungina, ad es. *M. canis*. Capita quindi di avere presentazioni in cui non tutti i familiari sono coinvolti con la stessa gravità. Lo stesso discorso vale per gli animali conviventi: non necessariamente il gatto che vive con il cane portato a visita presenterà la stessa evidenza clinica.

- *Animale con lesioni ma nessun proprietario con problemi cutanei. Difficilmente è una micosi.*

A parte le considerazioni del punto precedente, l'infettività per l'uomo dipende anche dalla specie fungina incriminata e dalla forma clinica dell'animale. Funghi poco adattati a un ospite più difficilmente vengono ritrasmessi. È il caso sicuramente di *M. gypseum*, fungo geofilo, praticamente non contagioso a partire dall'animale colpito, ma anche, ad esempio, di *T. erinacei* nel cane. In linea generale, quindi, sono certe "combinazioni" ospite/fungo ad essere più "efficienti" nel contagio (per uomo o per animali): per esempio *M. canis*/gatto; ex-*T. mentagrophytes*/coniglio; *T. erinacei*/riccio, ecc. In questi casi, visto l'elevato adattamento, si combinano infatti il fattore "abbondanza di spore" e "minor evidenza di lesioni cliniche" (quest'ultimo punto è importante sola-

mente per la trasmissione all'uomo). Questo non deve, però, far sottovalutare il rischio per altre combinazioni, meno "efficienti" (per esempio *M. canis*/cane). In pratica, anche se certe combinazioni sono più "a rischio" considerare comunque sempre, a priori, infettante per l'uomo la dermatofitosi qualunque sia il fungo e l'ospite animale colpito.

- *A un proprietario è stata diagnosticata dal dermatologo una "micosi" cutanea. Il vettore dell'infezione è sicuramente un gatto*

Se dalle lesioni del paziente umano è stato isolato in coltura *M. canis*, allora questa affermazione corrisponde probabilmente a verità. A questo punto si dovrà comunque procedere ad esami collaterali per verificare se il gatto di casa sia il responsabile. La micosi umana può però avere altri agenti eziologici. Se è in causa una specie del *T. mentagrophytes-complex*, potrebbe essere coinvolto un coniglio, una cavia, un riccio o altri roditori. Se *M. gypseum*, gli animali non c'entrano niente, la fonte è il terreno. Se il dermatofita è di una specie strettamente antropofila, la fonte è, probabilmente, un altro uomo.

- *Un gatto è stato portato a visita perché ha prurito molto intenso. Non ha quindi una micosi*

Il prurito non è un sintomo tipico nelle dermatofitosi, ma può essere presente e anche di grado molto intenso sia nel gatto che nel cane

- *A un proprietario è stata diagnosticata dal dermatologo una "micosi" cutanea. Il vettore dell'infezione non può essere il suo gatto perché non ha lesioni evidenti. Al massimo si potrebbe dire che ha il pelo un po' "brutto", con un po' di forfora...*

Spesso la micosi viene trasmessa da gatto proprio perché questo animale può non dimostrare in modo evidente la presenza del fungo, soprattutto a un occhio poco esperto (foto 21, 22 e 23).

to non sono stati evidenziati fattori razziali definiti, cosicché la causa potrebbe dipendere dal tipo di mantello, lungo e soffice (ottimo substrato di crescita per il fungo, difficile da gestire con terapie topiche, ecc.) proprio di queste razze. Spesso, poi, la causa di mancate guarigioni o recidive dipende dall'applicazione di protocolli gestionali inadeguati (vedi articolo seguente) o dalla presenza di malattie concomitanti. D'altra

parte, la persistenza di positività colturali per lungo tempo a fronte di protocolli terapeutici corretti depone a favore, almeno in qualche caso, di un'ipotesi di deficit immunitario. A sostegno di ciò anche la maggior prevalenza di casi di pseudomicetoma nel gatto Persiano.

Quando il veterinario entra in gioco

Il veterinario che si occupa di animali da compagnia può trovarsi a dover fronteggiare il problema "dermatofitosi" a partire da situazioni reali molto diversificate. Anche se spesso il percorso ha inizio perché il proprietario ha notato che il cane o il gatto evidenziano qualche lesione a carico del mantello, capita che sia il proprietario a presentare primariamente lesioni cutanee, nel qual caso viene richiesto una visita per verificare la possibilità che l'animale rappresenti la fonte di infezione. A quel punto, un esame clinico può mettere in evidenza lesioni a cui il proprietario non aveva attribuito – fino a quel momento – troppa importanza, lesioni minimali che non erano state notate, o nessuna lesione evidente. Più raramente, l'occasione è la richiesta di valutare la possibile presenza di dermatofiti su un animale, frequentemente un cucciolo, appena adottato, magari perché in famiglia sono presenti persone con potenziali problemi di immunodepressione (per esempio anziani, bambini, pazienti in terapia cortisonica, ecc.). Quale che sia il punto di partenza, alcuni elementi anamnestici (più animali coinvolti, proprietari con lesioni, recente introduzione di animali, cane che gira libero nei boschi, ecc.) sono di indubbia utilità per cominciare a definire la probabilità che si tratti di dermatofitosi. I termini del problema possono però essere più sfaccettati e le informazioni raccolte fuorvianti se non inquadrare nella giusta prospettiva. Nella finestra 1 sono elencate le informazioni che più spesso portano il veterinario fuori strada. Altre situazioni "fuorvianti" – probabilmente molto più rare – possono poi avere luogo: è successo recentemente di visitare due cani (madre e figlio) portati a visita per la comparsa a pochi giorni di distanza di lesioni alopeciche circolari, non pruriginose, localizzate alla testa. La madre era stata sottoposta pochi giorni prima a intervento di chirurgia ortopedica con conseguente somministrazione di antibiotici e antiinfiammatori. Il figlio era un cucciolo di alcuni mesi d'età. La nostra fiduciosa, immediata, diagnosi clinica (a di-

spetto della cautela che predichiamo a studenti e colleghi) è stata però smentita dall'esame diretto del pelo (effettuato per strappamento) che ha evidenziato numerosi esemplari di *Demodex canis*. La coltura, eseguita per conferma, è risultata, in effetti, negativa.

A ogni lesione il suo prelievo

In base all'anamnesi e al segnalamento, la dermatofitosi viene inclusa nella lista dei sospetti diagnostici (in posizione più o meno preminente in base ai riscontri anamnestici e clinici), e si procede quindi al campionamento di materiale per l'esecuzione di test complementari per confermare/escludere il problema micotico. Prima di detti prelievi è possibile effettuare uno screening tramite la lampada di Wood (foto 24), il cui funzionamento è esemplificato nella finestra 2. In linea generale, conviene raccogliere materiale in abbondanza per permettere l'esecuzione di più vetrini e di esami colturali. La raccolta può avvenire con diversi approcci, adattabili di volta in volta alla presentazione clinica. Se sono presenti lesioni alopeciche (foto 20 e 25) si può procedere alla raccolta di peli con pinzetta o a mano (usare i guanti!). Per avere reperti più significativi conviene scegliere peli fluorescenti, cioè Wood positivi (se ci sono) e peli con il fusto spezzato. Vista la patogenesi descritta, è evidente che conviene evitare di esaminare (e tanto meno di mettere in coltura) parti apicali del pelo, concentrandosi sul primo centimetro di pelo che emerge dalla cute. D'altra parte, peli già infetti potrebbero apparire intatti (spesso questo capita alla periferia delle lesioni); conviene quindi avere l'accortezza di estirparli ed esaminarne la porzione intra-follicolare (utile strappare i peli nel senso della crescita per facilitare la fuoriuscita della radice). Può essere consigliabile raccogliere, tramite raschiato superficiale, anche croste e scaglie, che inglobano peli o contengono spore cadute dai peli stessi. Questo aumenta la quantità di materiale a disposizione per le successive analisi. La raccolta di scaglie/squame è fondamentale per individuare *M. persicolor*, che non si trova nei peli. Il raschiato è molto indicato per le forme esfoliative e crostose (foto 21). Se le croste sono molto spesse, si può rimuoverle direttamente a mano (utilizzando i guanti!). Un'ottima alternativa (sia per alopecia che esfoliazione) è rappresentata dalla tecnica cosiddetta dell'*hair-brush*. Tramite uno spazzolino da denti nuo-

vo si effettua una spazzolatura delle aree lesionate. Per effetto meccanico ed elettrostatico, frammenti di pelo, scaglie e anche spore libere vengono trattenute dalle setole. Nelle forme esfoliative, per l'esame diretto, si può utilizzare lo *scotch test*. Per forme nodulari (foto 26) è possibile effettuare agoaspirati o, in caso di ulcerazione/gemizio di materiale, anche prelievo per apposizione diretta di vetrino o di scotch. Lo scotch può anche essere poi utilizzato per colture facendo delle impronte direttamente sull'agar. Nel caso di lesioni nodulari con croste in superficie (foto 26) queste dovrebbero essere raccolte e utilizzate sia per esami diretti che per colture. Sempre in caso di lesioni nodulari (ma anche di altre forme atipiche) può essere indicato, ma in seconda battuta, utilizzare un prelievo bioptico. Nel caso di lesioni contenenti materiale granulare (possibili pseudomicetomi), proprio i granuli (raccolti dal gemizio se la lesione è ulcerata o tramite biopsia) possono essere utilizzati per gli esami.

In base a quanto discusso in precedenza, può capitare di dover campionare animali senza lesioni evidenti o con lesioni minime (altre occasioni sono rappresentate dalle verifiche durante terapia in animali con risoluzione clinica per cui si debba verificare la guarigione micologica o per verificare lo "status micologico" di un animale prima di introdurlo in famiglia). Il campionamento, in questi casi, può essere effettuato con la stessa tecnica dello spazzolino descritta precedentemente. In questo modo si aumenta la probabilità di trattenere frammenti di pelo e squame infette, e anche di spore libere nel mantello. Spesso, in effetti, il materiale che rimane intrap-

FINESTRA 2. Esame con lampada di Wood

- È un test di *screening* per le dermatofitosi.
- Può essere utilizzata direttamente sull'animale o sui singoli peli isolati (foto 24).
- Va preriscaldata prima dell'uso.
- L'esame va condotto per almeno 5-10 minuti, perché l'eventuale fluorescenza può richiedere del tempo per manifestarsi.
- I peli invasi da *M. canis* vengono evidenziati da una fluorescenza verde mela, raramente bluastro, dovuta a metaboliti del triptofano prodotti dal fungo che sta attivamente invadendo il pelo. Da ciò consegue che è il fusto pilifero che deve presen-

tarsi fluorescente (foto 24), mentre una fluorescenza diffusa è più probabilmente da attribuire a formulazioni ad uso topico utilizzate sull'animale (creme, potate, unguenti, ecc.)

- Solo *M. canis* presenta fluorescenza. Ceppi diversi del fungo possono essere "più o meno fluorescenti" in dipendenza delle quantità relative di metaboliti prodotte, e in effetti, a livello clinico si può affermare come la fluorescenza si evidenzia solo in circa la metà dei casi.
- *M. gypseum* e le specie del *T. interdigitale-complex* non causano mai fluorescenza nel pelo invaso.



polato è scarsamente percepibile a occhio nudo, ma quello che conta è che microframmenti ed eventuali artroconidi sono trattenuti sulle setole o sugli aghi e possono venire così trasferiti sul terreno di coltura (vedere oltre). Per animali privi di lesioni evidenti è assolutamente controindicato procedere a strappamento casuale di ciuffi di pelo (è come cercare un ago in un pagliaio!).

Il laboratorio in ambulatorio: l'esame diretto

Se a partire da un campione qualunque si mettono in evidenza elementi fungini attribuibili ai dermatofiti, la diagnosi è immediata e la terapia può iniziare rapida-

mente, a tutto vantaggio dell'animale e del padrone, visto che così si limita la possibilità di trasmissione fungina. Purtroppo, diverse trappole attendono l'operatore che si cimenti con detto esame (finestra 3) e non ci si può aspettare *mai* una sensibilità del 100%. In altre parole, alcuni animali con dermatofitosi non verranno individuati con il semplice esame diretto. "Quanti" dipenderà *in primis* dall'esperienza dell'operatore. Il dermatologo abituato a eseguire di *routine* l'esame diagnosticherà tutti i casi in cui sono presenti almeno alcuni elementi fungini, ma in certe occasioni il fungo proprio non si fa trovare. È il caso, per esempio delle lesioni dovute più alla reattività dell'organismo che alla presenza di "molto" fungo. Quindi, forme in cui spore e ife sono poche, mentre abbon-

FINESTRA 3. L'esame diretto: istruzioni per l'uso

► Come effettuare

Peli, frammenti di peli, scaglie, frammenti di croste possono essere montati in olio di vaselina, che permette una buona distensione del materiale. Oppure si possono utilizzare coloranti come il blu lattofenolo, il blu di metilene o il 3° colorante delle colorazioni rapide (tipo Hemacolor® o Diff Quick®) (in pratica si mettono alcune gocce di colorante sul vetrino e il pelo viene adagiato su di esso). È preferibile preparare più vetrini con meno materiale onde evitare preparazioni troppo spesse e poco leggibili. Che si utilizzino coloranti o olio, metterli sempre sul vetrino *prima* del pelo. In caso contrario c'è il rischio di contaminazione dei reagenti. Nel caso di campioni citologici (es. ago aspirato da nodulo o apposizione su gemizio) si utilizzano "per intero" le appena citate colorazioni rapide (in laboratori più attrezzati si può usare l'equivalente May-Grunwald Giemsa). Nel caso di prelievi molto "crostosi", un passaggio in NaOH o KOH al 10% per alcuni minuti permette di ammorbidire il materiale e di chiarificarlo, mettendo così meglio in evidenza gli (eventuali) elementi fungini. Se il prelievo consiste in un frammento di scotch (molto indicato per lesioni esfoliative) si procede mettendo una goccia di olio o di colorante su vetrino e vi si appoggia sopra lo scotch, che funge così da vetrino coprioggetto.

► Dove cercare

Il target dei dermatofiti è il pelo, dunque è opportuno orientarsi sulla valutazione dei fusti piliferi. Si cercano peli con cuticola "scompaginata", deformati, irregolari, "rigonfi" (utile confrontare con i peli sani). Questo si può fare già a basso ingrandimento (10X) (foto 13). Si passa poi a un ingrandimento maggiore (40X) per verificare la presenza degli elemen-

ti fungini. Bisogna comunque verificare anche le squame e zone a distanza dai peli visto che elementi fungini possono essere dispersi nel materiale cadendo dal pelo infetto, anche in seguito all'allestimento del preparato. Tenere presente che i peli con invasione endotrix iniziale, a basso ingrandimento, non presentano alterazioni tali da essere immediatamente distinguibili rispetto ai peli normali (non parassitati).

► Cosa cercare

Si cercano ife, strutture filamentose, e cellule rotondeggianti, artroconidi generati dalla frammentazione delle ife.

► Come sono fatti

Sia le ife che i conidi sono di per se non colorati, quindi appaiono trasparenti in olio o idrossido, oppure colorati in base alla preparazione utilizzata. Le ife presentano *diametro uniforme* di circa 2-3 µm, sono settate e variabili in lunghezza e grado di ramificazione (foto 1 e 17). *M. canis* presenta di solito una grande quantità di piccoli conidi a grappolo (foto 3, 14 e 15). L'ex-*T. mentagrophytes* si presenta frequentemente con "ife artrosporizzate". In pratica gli artroconidi sono ancora in catena. Sono anche di dimensioni leggermente maggiori (foto 17). Inoltre, può avere anche un'invasione endotrix, con ife che si diramano all'interno della midollare del pelo prima di intaccare e distruggere la corticale (foto 1). *M. gypseum* presenta spore di dimensioni decisamente maggiori. *Trichophyton verrucosum*, dermatofita del bovino (che potrebbe infettare cane e gatto, anche se in letteratura tale evenienza ha scarso riscontro) è il fungo con gli artroconidi più grandi (in effetti la diagnosi diretta nel bovino è molto semplice) (foto 29). Attenzione: l'idrossido ten-

de a far rigonfiare gli artroconidi, il che rende più facile la loro visualizzazione (foto 16), ma inficia evidentemente l'interpretazione della specie basata sulle dimensioni. In ogni caso, l'identificazione della specie fungina è da ritenersi definitiva solo dopo esame colturale (e, spesso, PCR). Elementi fungini (specialmente ife) possono essere presenti nelle squame (fig. 18). Quando si utilizzano colorazioni rapide gli artroconidi appaiono colorati di blu/viola con piccolo alone chiaro intorno (foto 19). Gli elementi fungini possono essere dispersi tra le cellule infiammatorie (per esempio kerion) (foto 19).

► Di cosa "dubitare"

- Filamenti con diametro variabile, senza setti (fibre sintetiche, materiale vegetale, ecc.) (foto 28).
- Ife verde scuro/marrone (ife di funghi non patogeni che colonizzano pelo ed epidermide, tipo *Alternaria spp.*) (foto 28).
- Strutture rotondeggianti disomogenee, di grandezza diversa (bolle d'aria, cellule epiteliali o infiammatorie, altro) (foto 28).
- Tutto ciò che assomiglia a macroconidi (foto 29). Queste forme di sporulazione sono formate dai dermatofiti *solo* in coltura. Nel pelo queste strutture possono essere riconducibili ad esempio a funghi tipo *Alternaria*, le cui spore somigliano a "bombe a mano", o ad altri funghi, *non patogeni in questo contesto* (foto 29).
- Qualunque tipo di sporulazione (che non siano gli artroconidi). Per esempio teste aspergillari (foto 29) (*Aspergillus spp.* non è patogeno nel contesto cutaneo).

A fronte e dei suggerimenti riportati, è molto frequente imbattersi in casi molto dubbi. Questo è un altro motivo che spiega la necessità di eseguire sempre un esame colturale.

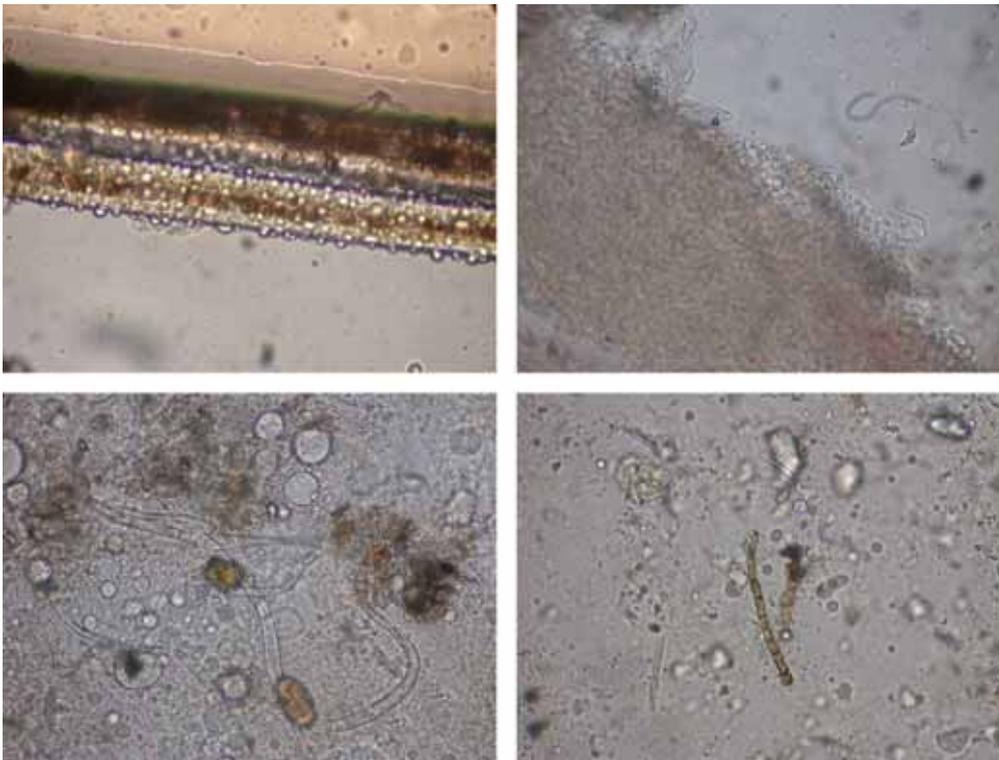


Foto 28. Esame diretto. Alcune immagini di strutture che potrebbero essere scambiate per elementi di dermatofiti. In alto a sinistra: bolle d'aria a manicotto intorno a un pelo (si noti la disomogeneità di struttura e dimensioni). Olio, 40X. In alto a destra: crosta con conglobate cellule infiammatorie. Olio, 40X. In basso a sinistra: filamenti di fibre o vegetali. Si noti, rispetto alle ife, la mancanza di setti e il diametro non uniforme. Si vedono anche bolle d'aria/olio. Olio, 40X. In basso a destra: filamenti settati verde-scuro. Sono ife di funghi non patogeni (tipo *Alternaria* spp.).

danti sono le cellule infiammatorie, i detriti cutanei, le croste, il sangue, ecc., che “diluiscono” gli elementi fungini disturbando la visualizzazione (specie all’occhio inesperto). L’esperienza personale porta l’autore a ritenere molto probabile il ritrovamento di artroconidi in un gatto con forma “tipica” (vedere il discorso precedente sul rapporto inverso infiammazione/numero di spore). Non così, per esempio, per i kerion del cane o per altre forme pustolose ed esfoliative meno “tipiche”. In ogni caso, il “lettore” sporadico può aspettarsi dei valori di sensibilità non superiori al 40-50%. Alla luce di queste considerazioni risulta utile, se non fondamentale, non fermarsi al primo vetrino negativo, ma provare a leggerne altri. E, soprattutto, in caso di negatività, evidentemente, procedere con l’esame colturale. La diagnosi diretta può presentare alcune criticità anche per ciò che concerne la specificità, visto che è molto frequente osservare nei preparati strutture molto simili agli elementi dei dermatofiti (foto 28 e 29). Il problema non è da meno visto che in tal modo si rischia di cominciare trattamenti antimicotici inutili (e potenzialmente tossici). In-

fine, si sottolinea come sia importante mantenere una prospettiva più ampia durante l’esecuzione dell’esame. Infatti, nei preparati è possibile trovare agenti patogeni diversi dai funghi che si stavano cercando (per esempio acari *Demodex*, batteri fagocitati) e che originano forme cliniche molto simili (demodicosi, follicolite batterica) a quelle riscontrate in corso di dermatofitosi.

Il laboratorio in ambulatorio: la coltura

L’esame colturale presenta una sensibilità superiore a quella dell’esame diretto perché le colonie fungine diventano progressivamente evidenti grazie alla replicazione del fungo nel terreno nutritivo. In pratica, le spore e le ife non osservate all’esame diretto (perché scarse, perché disperse nel materiale infiammatorio, per inesperienza dell’operatore, ecc.) vengono “amplificate” e si rendono così visibili. Anche in caso di esame diretto positivo, la coltura mantiene la sua importanza, perché permette la tipizzazione esatta del dermatofita, la



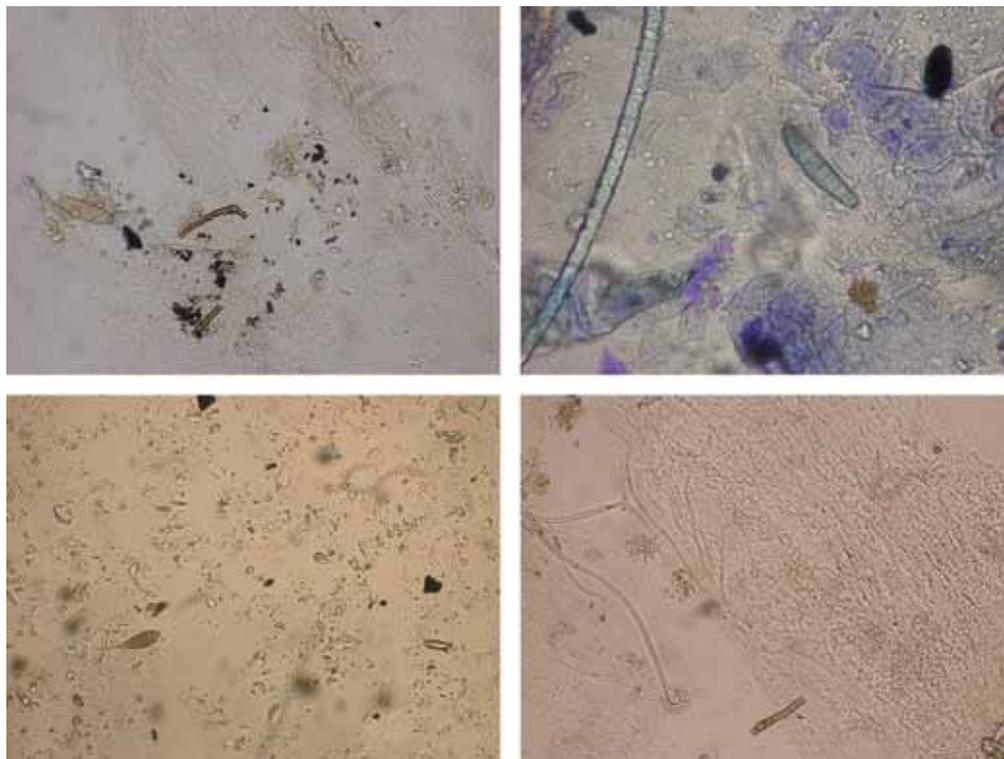


Foto 29. Esame diretto. Alcune immagini di strutture che potrebbero essere scambiate per elementi di dermatofiti. In alto a sinistra: filamenti settati marroni. Sono ife di funghi non patogeni (tipo *Alternaria* spp.). In più è presente una struttura bombata che somiglia a un macroconidio di dermatofita. È una spora di fungo non patogeno. NaOH, 40X. In alto a destra: spora di un fungo non patogeno (no macroconidio). Olio, 40X. In basso a sinistra: materiale amorfo disperso nel vetrino, si nota una struttura a forma di bomba a mano. È una porospora di *Alternaria* spp., non patogeno. NaOH, 40X. In basso a destra: esame diretto di pelo di bovino invaso da arthroconidi di *T. verrucosum* ancora in catena, che appaiono sulla destra della foto (elementi rotondeggianti non colorati). In basso sulla sinistra si vedono invece due ife che portano alla sommità teste aspergillari (non patogeno in questo contesto) e un'ifa scura ascrivibile probabilmente ad *Alternaria* spp. (non patogeno). NaOH, 10X. Nonostante il basso ingrandimento, gli arthroconidi sono ben evidenziabili in quanto molto grandi.

qual cosa non ha un semplice valore accademico, in quanto:

- 1) fornisce importanti informazioni circa la provenienza dell'infezione. Se viene isolato *M. canis*, la fonte è, probabilmente, un gatto. Se l'ex-*T. mentagrophytes*, un coniglio o un roditore. Se *M. gypseum*, il terreno;
- 2) permette un prognostico circa la possibilità che il proprietario possa contrarre la patologia (sempre che non l'abbia già contratta). Il rischio maggiore si ha per *M. canis*, praticamente non contagioso *M. gypseum*;
- 3) entro certi limiti, permette anche una migliore impostazione terapeutica/gestionale (vedere articolo a pagina 58 in questo stesso numero).

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 cosiddetti

DTM (*Dermatophyte Test Medium*), prodotti con alcune varianti nella composizione dei terreni e con diverse tipologie di confezionamento (botticini, piastre, piastre doppie, micropiastre, ecc.). Hanno però in comune il fatto di incorporare nell'agar anche un indicatore di pH e sostanze inibenti per permettere la crescita selettiva dei dermatofiti. L'indicatore di pH permette di evidenziare l'alcalinizzazione del terreno indotto dai dermatofiti in crescita (infatti questi tendono a utilizzare prima le proteine del mezzo, con conseguente diffusione di metaboliti alcalini che fanno aumentare il pH del terreno). Il risultato è un cambiamento di colore nel terreno sotto e vicino alla colonia in crescita, da giallo a rosso. Il colore tende poi a diffondersi in tutto il mezzo colturale.

Gli inibenti sono rappresentati da antibiotici – per limitare la crescita batterica – e da cicloeximide, molecola che inibisce la crescita di molti funghi ma non dei der-

FINESTRA 4. Colture: istruzioni per l'uso

- 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 possono anche seminare materiale semi-liquido recuperato da ago aspirato, frammenti di scotch (vengono appoggiati sul terreno e poi rimossi), 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.).
- Non tutto ciò che cresce è un patogeno. Peli e croste di cane e gatto non sono certo prelievi sterili e, anche se i terreni contengono inibitori per batteri e muffe non patogene, questi possono comunque crescere, di solito dopo un po' di tempo, a volte anche dopo poco.
- I dermatofiti impiegano dai 3 ai 10 giorni per crescere. Quindi se dopo 24 ore si evidenzia una crescita nel terreno, con tutta probabilità *non* si tratta di un dermatofiti.
- Il viraggio del terreno avviene di solito contemporaneamente allo sviluppo del fungo nel caso di un dermatofita; è più tardivo se si tratta di funghi saprofiti del pelo. Tuttavia *M. persicolor* fa virare tardivamente il terreno mentre i geofili/cheratinofili del suolo fanno virare il terreno esattamente come un dermatofita patogeno.
- 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).
- I dermatofiti non sono *mai* scuri (foto 30). In questa regola, è però necessario tenere presente che il colore delle colonie non è un elemento stabile e può variare nel tempo. Ad esempio, in alcuni casi *Alternaria* spp., fungo contaminante del pelo – che pure dovrebbe essere facilmente escludibile dato che è di colore verde scuro/marrone – nei primi giorni di coltura può essere chiaro, quasi bianco.
- Occorre quindi effettuare *sempre* un esame microscopico delle colonie cresciute. Si può allestire un vetrino toccando con un pezzo di scotch la coltura

e poi appoggiandolo su un vetrino portaoggetti con una goccia di blu lattofenolo o blu di metilene (utilizzare guanti: anche se i dermatofiti sono meno contagiosi da coltura che da pelo, è possibile la trasmissione all'operatore). Gli ingrandimenti da utilizzare sono il 10X e il 40X. Non è necessario utilizzare l'obiettivo ad immersione (100X).

- In coltura i dermatofiti (tutti i funghi, in realtà) tendono a formare strutture riproduttive più complesse e differenziate da specie a specie. Questo permette di identificarli in base a determinate chiavi morfologiche macro/microscopiche. Nella pratica, però, spesso l'interpretazione dei vetrini non è semplice.

- A livello macroscopico i dermatofiti sono tutti chiari, visti di fronte. Il retro coltura può, talvolta, essere scuro (alcune specie del *T. mentagrophytes*-complex).

- Gli elementi riproduttivi dei dermatofiti da cercare sono macro- e microconidi. Vengono formati a partire dall'estremità di un'ifa, che si rigonfia progressivamente, si divide in setti e poi si stacca. È possibile quindi osservare macro- e microconidi ancora in formazione (foto 8 e 31) o già liberi nel campo (foto 2 e 5). Per la morfologia vedere la finestra 5.

- Molto raramente i dermatofiti in coltura producono artroconidi, quindi se si trovano spore in catena con tutta probabilità si tratta di funghi contaminanti non patogeni.

- *M. gypseum* in coltura presenta *sempre* una grande abbondanza di macroconidi. Nelle colture più vecchie, si può osservarne un vero e proprio tappeto (foto 10).

- *M. canis* si presenta con macroconidi in numero inferiore (foto 2). È molto raro trovarne un "tappeto". Spesso bisogna osservare diversi campi microscopici prima di visualizzarne alcuni. In alcuni casi l'esame microscopico non mette in evidenza *nessuno*. In questo caso, occorre far riferimento ad un laboratorio specialistico che provvederà all'identificazione, effettuando trapianti su terreni che favoriscono la sporulazione, o con l'utilizzo di tecniche molecolari.

- Le specie del *T. mentagrophytes* complex presentano come elementi base ife elicoidali, microconidi rotondi disposti come "i tralci di una vite" e macroconidi a forma di sigaro (foto 4 e 5). In realtà, sono possibili molte varianti e l'identificazione definitiva è su base molecolare. In pratica, chi effettua colture ambulatoriali può "continuare" ad effettuare diagnosi di ex.-*T. mentagrophytes*, sapendo però che a questa identificazione potrebbe corrispondere una delle 4 specie del complex. L'unica specie che potrebbe essere riconoscibile già a livello morfologico è *T. erinacei* e, in alcuni casi, l'anamorfio di *A. benhamiae* (*Trichophyton* spp.) (vedere testo).

- *M. persicolor* ha caratteristiche microscopiche molto simili alle specie del *T. mentagrophytes* complex (ife elicoidali, conidi tondi, macroconidi a sigaro). Su terreni particolari, dovrebbe assumere colore rosato (difficile da evidenziare su DTM).

- I geofili/cheratinofili del suolo sono numerosi e spesso indistinguibili dai dermatofiti patogeni degli animali (foto 11 e 12). Spesso si hanno macroconidi molto simili a quelli dei dermatofiti patogeni. In casi dubbi far riferimento a laboratorio specialistico per l'identificazione definitiva.

- NB *Alternaria* spp., *Aspergillus* spp. e i (numerosi) altri possibili funghi non dermatofiti (per esempio *Penicillium* spp., *Scopulariopsis* spp., ecc.) potenzialmente presenti nel pelo (visibili quindi all'esame diretto ma soprattutto, isolabili in coltura) NON sono da considerarsi patogeni in questo contesto (salvo rarissime eccezioni). D'altra parte questi stessi funghi, isolati a partire da campioni "profondi" (nodulo, linfonodo, urina, ecc.) possono avere una valenza patologica. È opportuno ricordare che i DTM sono addizionati di inibenti (cicloeximide) proprio con l'intento di limitare la crescita di questi funghi considerati come "contaminanti" del pelo, quindi questi terreni commerciali NON sono adatti per effettuare colture fungine da prelievi profondi in cui, come appena ricordato, detti funghi potrebbero essere presenti in qualità di patogeni.

matofiti. Queste "aggiunte", rispetto al *Sabouraud* "base" sono fondamentali per permettere al fungo dermatofita di crescere a partire da un campione (pelo, croste, spazzolino) potenzialmente molto "inquinato" da batteri e altri funghi di scarso significato patogeno. È da tener presente, infatti, che detti inquinanti sono molto più rapidi a crescere dei dermatofiti. Nella maggior parte dei casi è comunque probabile che si possa avere anche la crescita di funghi "contaminanti" del pelo. Questi, ten-

denzialmente, utilizzano prima i carboidrati e solo in un secondo momento, le proteine del terreno. Ne consegue quindi *lo stesso* un viraggio, ma più tardivo. Un criterio interpretativo utile deriva quindi dalla valutazione del tempo di viraggio, che deve essere anticipato o contemporaneo allo sviluppo di colonie visibili (per questa valutazione serve quindi un monitoraggio almeno giornaliero dei terreni seminati). È poi fondamentale osservare il colore delle colonie: i dermatofiti non pos-

Diagnosi e terapia

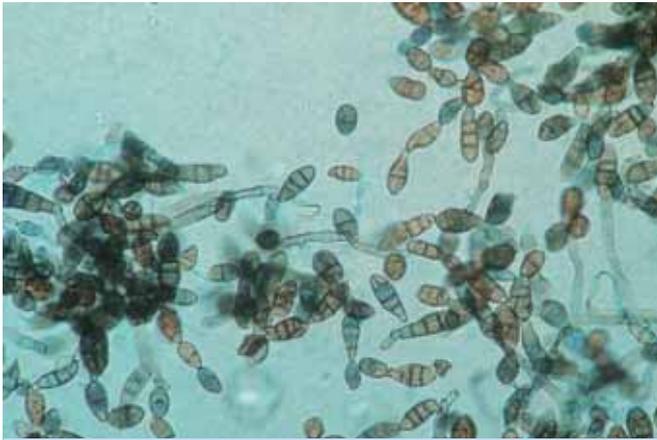


Foto 30. Aspetto microscopico di coltura di *Alternaria* spp., fungo che si ritrova spesso come “contaminante” del pelo. Le spore vengono definite porospore. Sono di colore scuro, possono presentare dei setti paralleli al loro asse maggiore (i macroconidi dei dermatofiti presentano solo setti trasversali) e si possono presentare in catena. Possono talvolta essere ritrovati all’esame diretto del pelo (vedere foto 29).



Foto 31. Esame microscopico di colonia giovane di *M. canis* che esemplifica il meccanismo di formazione di macro e microconidi. Le estremità di alcune ife si stanno rigonfiando, si formeranno poi dei setti e i conidi formati si staccheranno (vedere foto 2).

sono mai essere di colore scuro (verde, bluastro, 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 in ogni caso effettuare una valutazione morfologica delle colonie “chiarre” originatesi, perché il “meccanismo” del viraggio è un elemento che può essere molto incostante, dipendendo anche da parametri ambientali (temperatura di incubazione) e quantità di materiale infetto seminato. Inoltre, spesso, l’interpretazione visiva non è molto semplice (sfumature del viraggio, terreno più arancio che rosso, ecc.), specialmente per certi formati del kit culturale. Esistono poi due frangenti in cui è proprio il principio base del DTM a non funzionare:

1) come detto, questo si basa sull’assunto che i dermatofiti causino viraggio di colore precoce per l’utilizzo primario di proteine del mezzo (= alcalinizzazione del terreno e successivo viraggio dell’indicatore di pH). Purtroppo, come descritto in precedenza, sono numerose le specie di dermatofiti geofili non patogeni che possono ritrovarsi sul pelo di cane e gatto. Questi funghi causano un identico viraggio di colore del DTM;

2) all’opposto, è stato dimostrato come *M. persicolor* sfrutti del DTM prima i carboidrati, con un conseguente viraggio più tardivo.

Delle colonie bisognerebbe osservare già gli aspetti macroscopici, ovvero il colore

(fronte e retro colonia) e la conformazione (tessitura e margini). Questi sono caratteri già molto indicativi della specie fungina interessata, ma su DTM – visto il viraggio di colore e i formati dei contenitori – questi caratteri sono più difficili da visualizzare. Nella maggior parte dei casi, è quindi realistico pensare di riuscire a evidenziare al più la crescita di un fungo chiaro o scuro (foto 11). In laboratorio si utilizzano più frequentemente piastre “non-DTM” in cui è più facile osservare dette caratteristiche (foto 4, 6 e 7). Queste piastre vengono preparate, in pratica, con formulazioni del terreno molto simili a quelle in commercio (*Sabouraud* + inibenti), ma non viene incluso l’indicatore di pH (= no viraggio). Un kit commerciale simile esiste, ed è costituito da piastre doppie che contengono da un lato il DTM e dall’altro il non-DTM. In questo caso, però, nel non-DTM c’è solo il terreno base, ma *senza* inibenti. L’utilizzo proposto è quindi basato sulla semina di pelo sul DTM, e sul trapianto *successivo* di porzioni di fungo nel non-DTM, onde osservarne meglio colore e tessitura. Se si prova ad inoculare direttamente il non-DTM è molto probabile che si abbia un rapido inquinamento con batteri/muffe. Evidentemente, in tal modo, i tempi di identificazione sono più lunghi.

Viste tutte le considerazioni riportate, l’esame microscopico delle colonie cresciute dovrebbe essere considerato come l’unico conclusivo per l’identificazione. I dermatofiti in coltura producono formazioni che possono essere usate per l’identificazione.

È opportuno, comunque, considerare gli schemi interpretativi (che si ritrovano su molti manuali, ma anche quelli proposti nel presente articolo) con molta "cautela". Infatti, la morfologia nei vetrini - sia dei dermatofiti che dei saprofiti - è alquanto variabile. Se le "trappole interpretative"

erano frequenti negli esami diretti, sono all'ordine del giorno per le colture. Qualche regola base può comunque aiutare nell'interpretazione (finestra 4 e figura 1) e la regola aurea rimane: nel dubbio, far esaminare la coltura a un laboratorio specialistico.

Per saperne di più

- 1-Bond R. Superficial veterinary mycoses. Clinics in dermatology. 2010; vol. 28: pp. 226-236
- 2-Chermette R. et al. 2008; Dermatophytoses in animals. Mycopathologia. vol. 166, n. 5-6: pp. 385-405.
- 3-Drouot S. 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. 2009; vol. 20, n. 1: pp. pp. 13-18.
- 4-DeBoer DJ. Cutaneous fungal infections. Dermatophytosis. In: Infectious diseases of the dog and cat. St. Louis, Saunders Elsevier. 2006: pp. 550- 565
- 5-Miller WH, Scott DW, Griffin CE. Cap: 5. Fungal skin diseases. in :Muller & Kirk's Small animal dermatology (Saunders Company, ed.) Philadelphia. 2001: pp. 336-422.
- 6-Nenoff P. et al. *Trichophyton mentagrophytes* sive *interdigitale*? A dermatophyte in the course of time. J Dtsch Dermatol Ges. 2007; vol. 5, n. 3: pp. 198-202

FIGURA 1. Algoritmo semplificato per diagnosi colturale dermatofiti

