

**UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PISA**

**DIPARTIMENTO DI SCIENZE MEDICO-VETERINARIE**

**SCUOLA DI SPECIALIZZAZIONE IN PATOLOGIA E CLINICA  
DEGLI ANIMALI D'AFFEZIONE**

**DERMATOFITOSI NEL CONIGLIO E RODITORI DA  
COMPAGNIA**

**DERMATOPHYTOSIS IN PET RABBIT AND RODENTS**

**RELATORE:**

Chiar.ma Prof.ssa Francesca Mancianti

**TESI DI SPECIALIZZAZIONE DI:**

Dott.ssa Sonia Canovi

**CORRELATORI:**

Dott.Igor Pelizzone

Dott.ssa Simona Nardoni

**ANNO ACCADEMICO 2015/2016**

# ABSTRACT

Keratinophilic fungi are common inhabitants of the soil, where they process the hairs and skin cells shed by animals, as well as all types of keratin products that fall from animals and humans during the natural and continuous cycle of skin and coat shedding. The group of keratinophilic fungi is very large, but only three genera, known as dermatophytes, are known to cause disease in animals and humans <sup>(9)</sup>.

Dermatophytosis is caused by fungi in the genera *Microsporum*, *Lophophyton*, *Trichophyton* and *Epidermophyton* and their teleomorph *Arthroderma* (sin. *Nannizzia*) <sup>(35)</sup>.

It is a common disease in pet Guinea Pigs, rabbits and rodents and it is characterized by alopecia, scaling and crusting. *Trichophyton mentagrophytes* is the dermatophyte most commonly isolated from rabbits and rodents, but *Microsporum canis* has been reported to be present on these animals as well.

Apart from case reports, only limited data is available regarding dermatophytosis in pet rabbits and rodents as most studies refer to laboratory animals or animals kept for breeding or meat production. Some dermatophytes are also important zoonotic agents <sup>(25)</sup>.

The aim of this thesis is to expose main features of dermatophytes and clinical disease they cause in pet rabbits and rodents, with some references to diagnostic laboratory of dermatophytosis and zoonotic disease.

# INDICE

INTRODUZIONE AI DERMATOFITI	pag. 6
CAPITOLO 1	
CLASSIFICAZIONE DEI DERMATOFITI	pag. 7
1.1. <i>Arthroderma</i>	pag. 7
1.1.1. <i>Arthroderma benhamiae</i>	pag. 7
1.1.2. <i>Arthroderma insingulare</i>	pag. 10
1.1.3. <i>Arthroderma uncinatum</i>	pag. 11
1.2. <i>Epidermophyton uncinatum</i>	pag. 12
1.3. <i>Microsporum</i>	pag. 13
1.3.1. <i>Microsporum audouini</i>	pag. 14
1.3.2. <i>Microsporum canis</i>	pag. 16
1.3.3. <i>Microsporum ferrugineum</i>	pag. 19
1.4. <i>Nannizzia</i>	pag. 20
1.4.1. <i>Nannizzia gypsea</i>	pag. 20
1.4.2. <i>Nannizzia nana</i>	pag. 21
1.4.3. <i>Nannizzia persicolor</i>	pag. 22
1.5. <i>Trichophyton</i>	pag. 23
1.5.1. <i>Trichophyton concentricum</i>	pag. 24
1.5.2. <i>Trichophyton equinum</i>	pag. 25
1.5.3. <i>Trichophyton eriotrephon</i>	pag. 27
1.5.4. <i>Trichophyton interdigitale</i>	pag. 28
1.5.5. <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	pag. 30
1.5.6. <i>Trichophyton quinckeanum</i>	pag. 33
1.5.7. <i>Trichophyton rubrum</i>	pag. 35
1.5.8. <i>Trichophyton schoenleinii</i>	pag. 38
1.5.9. <i>Trichophyton soudanense</i>	pag. 39
1.5.10. <i>Trichophyton tonsurans</i>	pag. 40
1.5.11. <i>Trichophyton verrucosum</i>	pag. 42
1.5.12. <i>Trichophyton violaceum</i>	pag. 44
CAPITOLO 2	
DERMATOFITOSI NEL CONIGLIO	pag. 46
2.1. Segnalamento	pag. 46
2.2. Eziopatogenesi	pag. 46
2.3. Segni Clinici	pag. 46
2.4. Diagnosi Differenziali	pag. 48
2.5. Diagnosi	pag. 48
2.6. Trattamento	pag. 48

CAPITOLO 3	
DERMATOFITOSI NELLA CAVIA PERUVIANA ( <i>Cavia porcellus</i> )	pag. 50
3.1. Segnalamento	pag. 50
3.2. Segni Clinici	pag. 50
3.3. Diagnosi Differenziali	pag. 51
3.4. Diagnosi	pag. 51
3.5. Trattamento	pag. 51
CAPITOLO 4	
DERMATOFITOSI NEI PICCOLI RODITORI DA COMPAGNIA	pag. 52
4.1. Cincillà	pag. 52
4.2. Ratto e Topo	pag. 52
4.3. Criceto	pag. 52
4.4. Gerbillo	pag. 53
CAPITOLO 5	
DIAGNOSI e PROTOCOLLI TERAPEUTICI delle DERMATOFITOSI: dalla clinica al laboratorio	pag. 54
5.1. DIAGNOSI	pag. 54
5.1.1. Lampada di Wood	pag. 54
5.1.2. Esame diretto al microscopio	pag. 54
5.1.3. Esame Colturale	pag. 55
5.1.4. Identificazione e Caratterizzazione Dermatofiti	pag. 58
5.2. PROTOCOLLI TERAPEUTICI delle DERMATOFITOSI	pag. 59
CAPITOLO 6	
ASPETTI ZOONOSICI delle DERMATOFITOSI	pag. 60
6.1. Manifestazioni cliniche	pag. 60
6.1.1. <i>Tinea pedis</i>	pag. 61
6.1.2. <i>Tinea cruris</i>	pag. 62
6.1.3. <i>Tinea unguium</i>	pag. 63
6.1.4. <i>Tinea corporis</i>	pag. 64
6.1.5. <i>Tinea capitis</i>	pag. 65
6.1.6. Infezione da <i>A. benhamiae</i> nell'uomo	pag. 67
6.2. Diagnosi di laboratorio	pag. 69
6.2.1. Materiale clinico	pag. 69
6.2.2. Microscopia diretta	pag. 70
6.2.3. Coltura	pag. 70
6.2.4. Sierologia	pag. 71
6.2.5. Identificazione	pag. 71

6.3. Agenti Causali	pag. 71
6.4. Management	pag. 72

## CAPITOLO 7

STUDIO di PREVALENZA DERMATOFITI nel CONIGLIO e RODITORI DA  
COMPAGNIA a REGGIO EMILIA rilevati in Ambulatorio  
nel periodo tra Gennaio e Agosto 2016

pag. 73

7.1. INTRODUZIONE

pag. 73

7.2. MATERIALE E METODI

pag. 73

7.3. DISCUSSIONE e RISULTATI

pag. 73

## CAPITOLO 8

BIBLIOGRAFIA

pag. 75

# INTRODUZIONE AI DERMATOFITI

I funghi cheratinofilici sono comuni abitanti del terreno, dove utilizzano peli e cellule della pelle eliminate dagli animali, così come tutti i tipi di prodotti cheratinici che cadono da animali e persone durante il ciclo naturale e continuo della pelle e del mantello. Il gruppo dei funghi cheratinofilici è molto ampio, ma prevalentemente tre generi, conosciuti come dermatofiti, causano malattia negli animali e nell'uomo <sup>(9)</sup>.

La dermatofitosi è causata da funghi appartenenti al genere *Microsporum*, *Trichophyton*, *Epidermophyton* e *Lophophyton*, ed il loro teleomorfo *Arthroderma* (sin. *Nannizzia*) <sup>(35)</sup>. Esistono tre gruppi ecologici di dermatofiti: antropofili (la maggior parte associati all'uomo), zoofili (associati agli animali) e geofili (riscontrati nel terreno). Alcune specie antropofile sono in grado di causare infezioni negli animali <sup>(34,37)</sup>. È risaputo che virtualmente tutti i dermatofiti sono originati da un progenitore geofilo e che, durante l'evoluzione, alcuni di essi si sono adattati alla cheratina vivente umana (antropofili) o animale (geofili) perdendo la capacità di colonizzare esche cheratiniche presenti nell'ambiente (caratteristica propria delle specie geofile propriamente dette) <sup>(37)</sup>.

*Microsporum* e *Trichophyton* sono i generi più frequentemente riscontrati negli animali, mentre *Epidermophyton* causa problemi principalmente nelle persone <sup>(9,27)</sup>.

La dermatofitosi è una patologia comune nelle cavie peruviane, nei conigli e nei roditori da compagnia (Donnelly et al., 2000), causata da questi funghi che vivono nei tessuti cheratinizzati come peli, unghie e cellule epiteliali dello strato corneo. La patologia si caratterizza per alopecia, desquamazione e croste. *Trichophyton mentagrophytes* è il dermatofita più comunemente isolato, ma anche *Microsporum canis* si riscontra su questi animali (Donnelly et al., 2000).

Altri dermatofiti isolati dalla cute dei conigli sono *Trichophyton verrucosum*, *Nannizzia nana*, *Nannizzia gypsea*, *Nannizzia persicolor* e *Microsporum distortum* (Alishtayeh et al., 1988; Efuntoye e Fashanu, 2002; Khosravi e Mahmoudi, 2003; Weisbroth, 1971).

Oltre ai case reports, sono disponibili scarsissimi dati sulle dermatofitosi del coniglio e roditori da compagnia, dato che molti studi si riferiscono ad animali da laboratorio o allevati ai fini alimentari (Banks e Clarkson, 1967; Hironaga et al., 1981; McAleer, 1980; Pombier e Kim, 1975; Torres-Rodriguez et al., 1992; Vogtsberger et al., 1986) <sup>(25)</sup>.

Va inoltre ricordato che alcuni dermatofiti sono importanti agenti zoonosici (Alteras, 1965; Pier et al., 1994).

# CAPITOLO 1

## CLASSIFICAZIONE DEI DERMATOFITI

Basandosi su un recente studio filogenetico su più loci, la tassonomia dei dermatofiti è stata revisionata. Trichophyton ora comprende 15 specie, Epidermophyton una specie, Nannizzia 7 specie, Microsporum 3 specie, Lophophyton 5 specie, e Arthroderma 20 specie (de Hoog et al. 2016).

### *1.1. Arthroderma*

Il nome del genere *Arthroderma* viene utilizzato per le specie di dermatofiti in cui si riesce ad ottenere una forma sessuale (teleomorfa). Nel complesso di *Trichophyton mentagrophytes*, questo cambiamento di nomenclatura riguarda tre specie zoofile: *A. benhamiae*, *A. vanbreuseghemii* e *A. simii* <sup>(10)</sup>.

*Arthroderma benhamiae*  
*Arthroderma insingulare*  
*Arthroderma uncinatum*

#### *1.1.1. Arthroderma benhamiae*

*Arthroderma benhamiae* è un dermatofita zoofilo che solo negli ultimi anni ha acquisito importanza come causa di tinea nell'uomo. Si osservano un numero sempre maggiore di infezioni in vari paesi, spesso severe e infiammatorie. In molti casi le cavie peruviane fungono da reservoir, ma anche altri animali come cani, conigli e cavalli possono ospitare questo dermatofita <sup>(4,32,40,42,43)</sup>.

#### DESCRIZIONE MORFOLOGICA:

Macroscopicamente le colonie appaiono piatte, hanno una superficie leggermente solcata e biancastra, con un tocco di bianco e bordi sfrangiati. La pigmentazione è gialla al rovescio. Microscopicamente, si possono ritrovare pochi microconidi, piccoli, arrotondati e organizzati in piccoli cluster a grappolo. Le ife quando presenti sono a forma di spirale. Non si riscontrano invece macroconidi. Una caratteristica di questo dermatofita è che il micelio forma giunzioni a cerchio.



Foto 1.1 Colonie di *A. benhamiae* su Agar Sabouraud glucosio: a sinistra, colonia con superficie sfrangiata, micelio giallastro; a destra, colonia al rovescio con pigmentazione gialla (fonte: Brasch J., Wodarg S. Morphological and physiological features of *Arthroderma benhamiae* anamorphs isolated in northern Germany. In: *Mycoses*, 2014, 58:93-98).

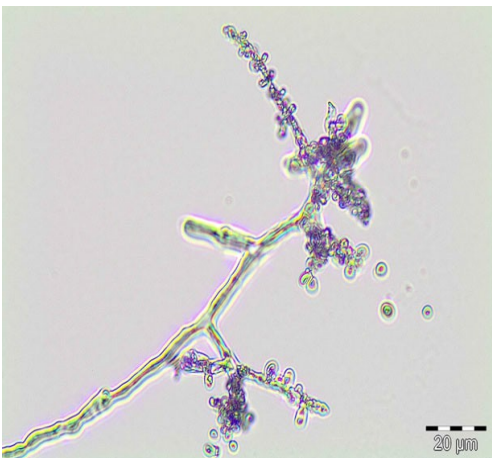


Foto 1.2 Microconidi di *A. benhamiae* organizzati a grappolo (fonte: Brasch J., Wodarg S. Morphological and physiological features of *Arthroderma benhamiae* anamorphs isolated in northern Germany. In: *Mycoses*, 2014, 58:93-98).

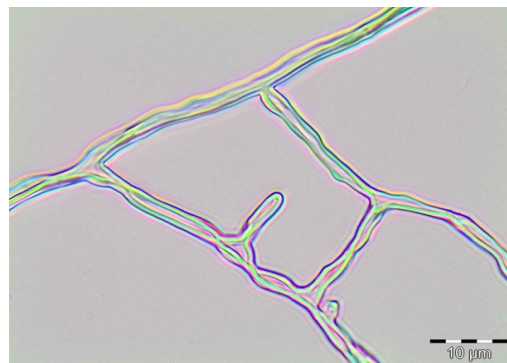
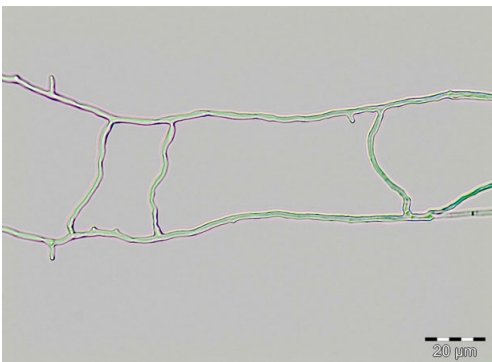


Foto 1.3 A sinistra, le giunzioni del micelio che connettono le ife tra di loro, formando una sorta di circuito; a destra, particolare delle connessioni fra le ife (fonte: Brasch J., Wodarg S. Morphological and physiological features of *Arthroderma benhamiae* anamorphs isolated in northern Germany. In: *Mycoses*, 2014, 58:93-98).

#### TEST DI CONFERMA:

Agar Sabouraud glucosio e agar patata destrosio: crescita di una colonia piatta, dai bordi sfrangiati,



biancastra con un tocco di giallo e pigmentazione gialla al rovescio.

Bromocresol purple casein agar: crescita di colonia piatta e sottile di colore giallo, più intenso al rovescio; presenza di un alone esterno lucido dovuto al processo di alcalinizzazione da proteolisi dell'agar.

Trichophyton agar No 3 e 4: ottima crescita, che sta ad indicare forte dipendenza da presenza di tiamina nel terreno.

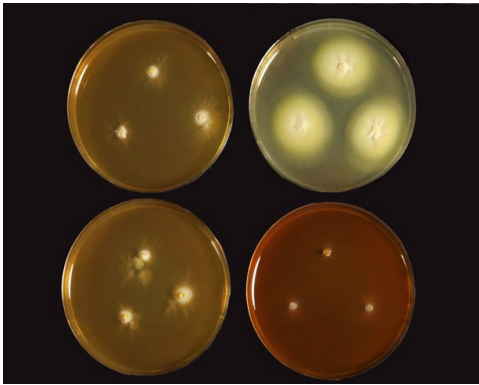


Foto 1.4 Crescita su Trichophyton agar No 1, 4, 7 e 5 in senso orario: si osserva crescita su Trichophyton agar No 4 grazie alla tiamina, nessuna crescita su Trichophyton agar No 7 (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

Test dell'ureasi: risultati incostanti, può dare o meno positività.

Test di perforazione del pelo: positivo.

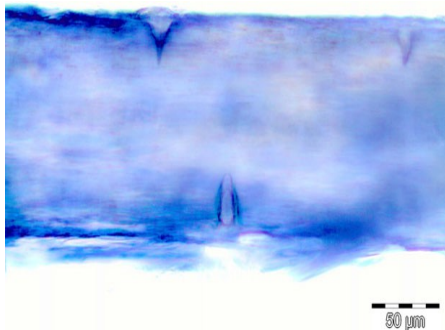


Foto 1.5 Test di perforazione positivo: colorazione blu di lattofenolo<sup>(4)</sup> (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

## 1.1.2. *Arthroderma insingulare*

Detto anche *Trichophyton terrestre*.

*Arthroderma insingulare* è un fungo geofilo a distribuzione mondiale che può comportarsi da contaminante saprofita su uomo e animali. Durie e Frey (1957) hanno descritto per la prima volta questo fungo del suolo come *Trichophyton terrestre* dal New South Wales, Australia. Da allora *T. terrestre* è stato descritto come anamorfe di tre specie differenti di *Arthroderma*: *A. insingulare*, *A. lenticulare* e *A. quadrifidum* (Padhye e Carmichael, 1972). Ad ogni modo, il sequenziamento ITS e D1/D2 degli isolati originali ottenuti dal Laboratorio di Micologia dell'Ospedale Royal North Shore, Sydney, ha identificato questo fungo come *Arthroderma insingulare*.

### DESCRIZIONE MORFOLOGICA:

Le colonie sono solitamente da piatte a lanuginose, sino ad assumere una tessitura granulosa, simile a *T. mentagrophytes*. Il colore può variare dal bianco al crema, giallo o giallo-verdastro. La pigmentazione al rovescio è di solito marrone-giallastra sebbene alcune varianti siano rosa scuro-rosso. I microconidi sono larghi, clavati e pedicellati, solitamente mostrano forme transitorie verso i macroconidi. I macroconidi sono di forma clavata o cilindrica con terminazioni arrotondate, parete liscia e sottile, contengono da due a sei celle. Possono esserci clamidospore, ife a spirale, micelio a racchetta e ife ramificate. Non cresce a 37C.

IDENTIFICAZIONE MOLECOLARE: per l'identificazione definitiva degli isolati è raccomandato il sequenziamento ITS e D1/D2.

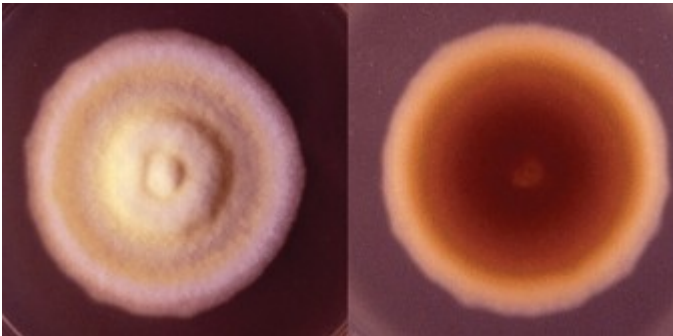


Foto 1.6 Coltura di *Arthroderma insingulare* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

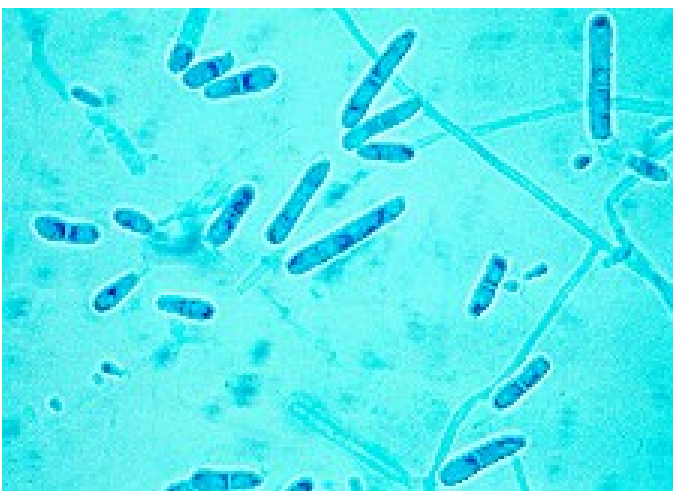


Foto 1.7 Macroconidi di *Arthroderma insingulare* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

### 1.1.3. *Arthroderma uncinatum*

Detto anche *Trichophyton ajelloi*.

*Arthroderma uncinatum* è un fungo geofilo a distribuzione mondiale che può capitare come un contaminante saprofita su uomo ed animali, ma viene messo in dubbio sia causa di infezione. Non si conosce se sia in grado di invadere il pelo in vivo, ma ne produce la perforazione in vitro.

#### DESCRIZIONE MORFOLOGICA:

Le colonie sono solitamente piatte, polverose, cremose, pallide o arancio chiaro, color nero-porpora sui bordi frastagliati e al rovescio. I macroconidi sono numerosi, lisci, a parete spessa, allungati, a forma di sigaro, 29-65 x 5-10 µm, multisetati fino a nove o dieci setti. I microconidi sono generalmente assenti, ma quando sono presenti hanno forma dall'ovale al piriforme.

**CARATTERISTICHE CHIAVE:** caratteristiche colturali, morfologia dei macroconidi, positività all'ureasi e buona crescita su Agar Sabouraud al 5% di sale.

**IDENTIFICAZIONE MOLECOLARE:** raccomandato sequenziamento ITS (Graser et al. 2008).



Foto 1.8 Cultura di *Arthroderma uncinatum* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

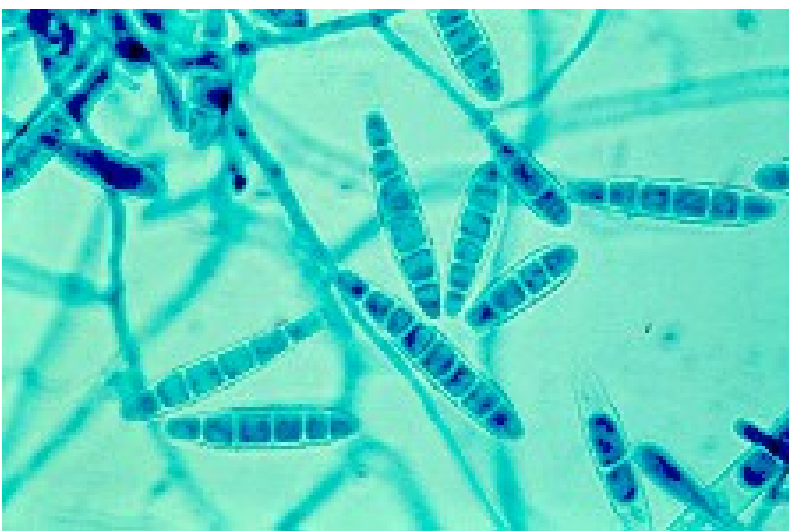


Foto 1.9 Macroconidi di *Arthroderma uncinatum* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

## 1.2. *Epidermophyton floccosum*

*Epidermophyton floccosum* è un dermatofita antropofilo con distribuzione mondiale che spesso causa tinea pedis, tinea cruris, tinea corporis e onicomicosi. Non si sa se è in grado di invadere il pelo in vivo e non vengono riportati specifici fabbisogni per la crescita.

### DESCRIZIONE MORFOLOGICA:

Le colonie sono solitamente a crescita lenta, di colore verde-marrone al kaki, con una superficie vellutata, sollevata e piegata al centro ed una periferia piatta, con i bordi di crescita rilevati. Le colture più vecchie possono sviluppare ciuffi bianchi pleomorfici del micelio. Solitamente è presente al rovescio un pigmento marrone-giallo scuro. La morfologia al microscopio mostra macroconidi a parete sottile e liscia, che vengono spesso prodotti in cluster, a crescita diretta dalle ife. Nelle colture vecchie si formano molte clamidospore. I microconidi non vengono formati.

CARATTERISTICHE CHIAVE: caratteristiche colturali, morfologia al microscopio e malattia clinica.



Foto 1.10 Coltura di *Epidermophyton floccosum* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016) .



Foto 1.11 Macroconidi di *E. floccosum* e clamidoconidi di *E. floccosum* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016) .

Tabella 1 Valori di MIC di *Epidermophyton* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

Antifungino	MIC µg/mL		Antifungino	MIC µg/mL	
	Range	MIC90		Range	MIC90
Giseofulvina	0,06-2	1	Amfotericina B	0,03-0,5	0,25
Itraconazolo	0,01-8	0,13	Fluconazolo	0,5->64	>64
Terbinafina	0,01-1	0,06	Voriconazolo	0,01-8	0,13

### 1.3. *Microsporum*

*Microsporum* è un genere, parassita degli animali e dell'uomo, che aderisce alle cellule epiteliali (pelle, capelli, peli, unghie) causando diverse forme di tigna.

Questo genere è lo stadio anamorfo, mentre la fase teleomorfa ricade nel genere *Arthroderma*. Fu descritto nel 1843 da Gruby come agente patogeno della microsporiosi umana. L'autore illustrò la specie osservata che *M. audouinii*, che ancora oggi rimane quella tipo del genere.

Il genere *Microsporum* è oggi limitato a sole tre specie:

- *Microsporum audouinii*, antropofilo, causa tigna microsporica di origine umana
- *Microsporum canis*, zoofilo, causa la tigna microsporica di origine animale
- *Microsporum ferrugineum*, antropofilo

Le rimanenti specie geofile e zoofile, in precedenza considerate specie di *Microsporum*, sono state trasferite ai generi *Lophophyton* e *Nannizzia*.

Le specie di *Microsporum* possono formare sia micro che macroconidi, sebbene non è detto che siano sempre presenti. Le colture appaiono di aspetto dal granuloso al cotonoso, giallastre o marroncine, mentre al rovescio dal giallo crema al marrone.

I microconidi sono unicellulari, ovali o clavati, lisci, ialini, con parete sottile.

I macroconidi sono ialini, echinulati o verrucosi, con parete spessa, di solito fusiformi, pluricellulari (2-15 cellule), hanno spesso un arricciamento anulare.

I filamenti di *M.canis* a volte non producono microconidi e/o macroconidi sui primi media di isolamento; per questa ragione è raccomandato effettuare subcolture sui chicchi di riso soffiato o su gel agar lactritmel per stimolare la sporulazione. Questi filamenti che non sporulano di *M.canis* vengono spesso attribuiti erroneamente a *M. audouinii* e molti laboratori hanno una certa difficoltà nel distinguerli.

IDENTIFICAZIONE MOLECOLARE: sequenziamento mediante ITS (Grasër et al. 1998, 2000, Brillowska-Dabrowska et al. 2013).

Tabella 2 Valori di MIC di *Microsporum* (fonte: [mycology.adelaide.edu.au](http://mycology.adelaide.edu.au), 2016).

Antifungino	MIC µg/mL		Antifungino	MIC µg/mL	
	Range	MIC90		Range	MIC90
Griseofulvina	0,125-2	1	Amfotericina B	0,03-8	1,0-2,0
Itraconazolo	0,01-4	0,13	Fluconazolo	0,05->64	>64
Terbinafina	0,01-16	0,06	Voriconazolo	0,007-1	0,5

### 1.3.1. *Microsporum audouinii*

*Microsporum audouinii* è un fungo antropofilo in grado di causare infezioni non infiammatorie del cuoio capelluto e della pelle, specialmente nei bambini. Causa di epidemie di tinea capitis in Europa e Nord America in passato, oggi è meno comune. Invade i capelli con infezione di tipo ectotrix e solitamente dà una fluorescenza giallo-verde brillante sotto la lampada ultravioletta di Wood.

#### DESCRIZIONE MORFOLOGICA:

Le colonie sono piatte, dal bianco-grigiastro al bianco pallido, con una superficie densa dal lanuginoso a simil-camoscio, che ricorda il mantello di un topo nella sua tessitura. La colonia al rovescio può essere dal giallo-marrone al rosso-marrone. Alcuni ceppi possono mostrare mancanza di pigmento al rovescio. I macroconidi e i microconidi vengono prodotti raramente, molte colture sono sterili o producono soltanto occasionali clamidospore dalla parete terminale spessa, terminali o intercalari. Quando sono presenti, i macroconidi possono assomigliare a quelli di *M. canis*, ma solitamente sono più lunghi, lisci e irregolarmente fusiformi nella forma; i microconidi, quando presenti, sono clavati o piriformi e appaiono simili a quelli visti in altre specie di *Microsporum*, *Lophophyton* e *Nannizzia*. Possono essere presenti solo ife pettinate (simil-pettine) e ife a racchetta (una serie di segmenti ifali gonfi ad un capo).



Foto 1.12 Coltura di *Microsporum audouinii* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016) .



Foto 1.13 Clamidoconidio di *M. audouinii* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).



Foto 1.14 A sinistra scarsa crescita di *Microsporium audouinii* sui chicchi di riso, visibile solitamente come una discolorazione marrone; a destra *Microsporium canis* che mostra una buona crescita sui chicchi di riso, con sporulazione e pigmentazione gialla (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

#### TEST DI CONFERMA:

Crescita sui chicchi di riso: scarsa o assente, di solito visibile solo come una colorazione marrone. Questa caratteristica lo distingue da *M. canis*.

Pigmento al rovescio su Agar destrosio e patata: colorazione dal salmone al rosa-marrone (*M. canis* è giallo brillante).

BCP milk solids glucose agar: entrambi *M. canis* e *M. audouinii* mostrano crescita profusa, ma solo *M. audouinii* mostra un rapido cambiamento di pH verso l'alcalino (colore porpora).

Agar senza vitamine (Trichophyton Agar No.1): buona crescita che sta ad indicare che non sono richiesti particolari fabbisogni nutrizionali. Le colture sono piatte, bianche, lanuginose, con una colorazione giallo-marrone al rovescio. La crescita di alcuni ceppi di *M. audouinii* è favorita dalla presenza di tiamina (Trichophyton Agar No.4).

Test di perforazione del pelo: negativo dopo 28 giorni.

**CARATTERISTICHE CHIAVE:** assenza di conidi, scarsa o mancata crescita sui chicchi di riso, incapacità di perforare il pelo in vitro, caratteristiche colturali.

### 1.3.2. *Microsporum canis*

*Microsporum canis* è un dermatofita zoofilo, presente in tutto il mondo, frequente causa di tricofitosi (tigna) negli esseri umani, specialmente nei bambini.

Invade pelle, capelli e raramente le unghie. I peli invasi mostrano un'infezione di tipo ectotrix e presentano fluorescenza gialla-verdastra alla luce ultravioletta.

I cani e i gatti sono le principali fonti d'infezione.

#### DESCRIZIONE MORFOLOGICA:

In Sabouraud agar destrosio le colonie si presentano piane, dal bianco al color crema, con una superficie densamente cotonosa, granulosa o polverulenta, che può mostrare alcune scanalature radiali. Le colonie hanno solitamente un colore che va dal giallo-dorato chiaro al giallo-brunastro, ma può capitare di trovare anche ceppi incolori.

*M. canis* si distingue da *M. audouinii* perchè perfora i peli e cresce sui grani di riso, sui quali produce un tipico pigmento giallo-cupo.

#### Microscopia:

Macroconidi abbondanti, generalmente fusiformi, poliloculati (con 5-15 cellule), verrucosi, a pareti spesse e spesso presentano una sorta di opercolo terminale; misurano 35-110 X 12-25 µm.

Microconidi: scarsi, piriformi o clavati.

Macroconidi e/o microconidi spesso non vengono prodotti nei media di primo isolamento, per cui è raccomandato effettuare subcolture in agar di lactritmel e/o di chicchi di riso soffiato bollito per stimolare la sporulazione.

#### TEST DI CONFERMA:

Crescita sui chicchi di riso: buona crescita di un micelio aereo bianco con produzione di pigmento giallo. La microscopia rivela numerosi macroconidi e microconidi.

Pigmento sul rovescio su Agar destrosio e patata: giallo acceso (sia *M. audouinii* e *M. canis var equinum* mostrano una colorazione dal color salmone al rosa-marrone).

Agar senza vitamine (Trichophyton Agar No.1): crescita buona ad indicare l'assenza di fabbisogni nutrizionali specifici. Le colture appaiono piatte, bianche, dall'aspetto simile al camoscio al lanuginoso, con la parte al rovescio dal giallo al giallino-marrone.

Test di perforazione del pelo: positivo in 14 giorni.

CARATTERISTICHE CHIAVE: macroconidi caratteristici e caratteristiche colturali. Crescita abbondante e sporulazione sui chicchi di riso e in vitro perforazione del pelo.



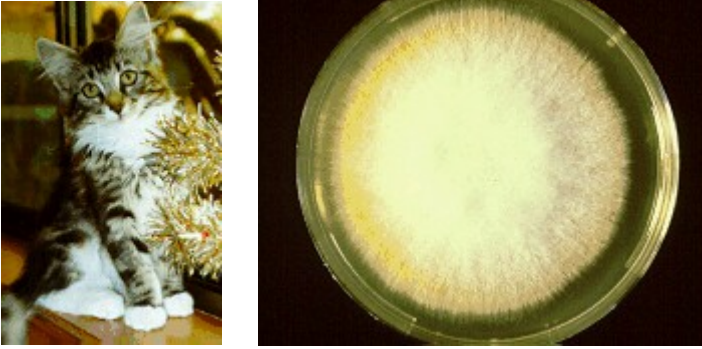


Foto 1.15 Coltura di *Microsporium canis* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).



Foto 1.16 I macroconidi di *Microsporium canis* sono tipicamente di forma allungata, con 5-15 celle, verrucosi, a parete spessa ed hanno spesso dei peduncoli terminali. Sono presenti anche scarsi microconidi da piriformi a clavati (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).



Foto 1.17 I macroconidi e/o i microconidi di *Microsporium canis* spesso non vengono prodotti sul primo terreno di isolamento ed è quindi raccomandato fare subcolture su chicchi di riso bollito per stimolarne la sporulazione (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).



Foto 1.18 I ceppi disgonici di *Microsporium canis* sono rari ma possono essere ritrovati. Questi ceppi hanno tipicamente un tallo ripieno e ricoperto, giallo-marrone e i macroconidi sono solitamente assenti. In ogni caso, le colonie tipiche e i macroconidi di *M. canis* sono solitamente prodotti da questa variante quando vengono effettuate subcolture sui chicchi di riso. La colonia disgonica di *M. canis* è simile a quella di *Microsporium ferrugineum* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

***Microsporium canis* var. *distortum***

Variante disgonica di *M. canis* con macroconidi caratteristici dalla forma distorta. Cresce e sporula in maniera abbondante su riso.

Si tratta di un fungo zoofilico conosciuto per causare infezione nei gatti, cani e altri animali. E' causa rara di tinea capitis in Nuova Zelanda, Australia e Nord America. La patologia clinica è simile a *M. canis*. Invade i peli con infezione di tipo ectotrix e dà fluorescenza gialla-verde alla lampada ultravioletta di Wood.

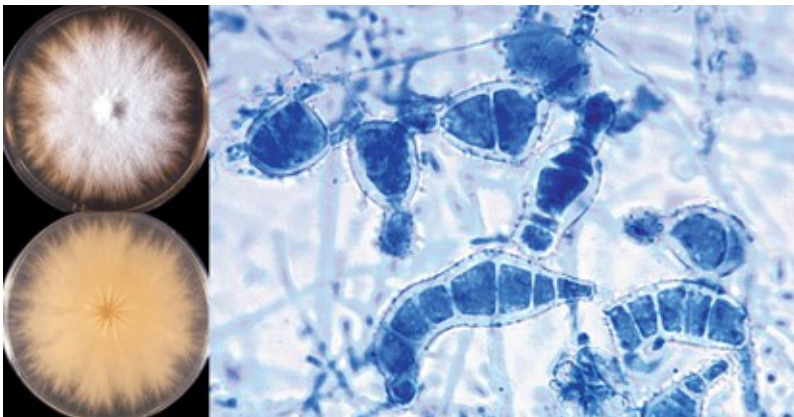


Foto 1.19 Coltura di *Microsporium canis* var. *distortum* e macroconidi distorti (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

***Microsporium canis* var. *equinum*** viene oggi considerato un sinonimo genotipico di *Microsporium canis* (de Hoog et al. 2000). Questa variante è causa rara di micosi nel cavallo. I peli invasi mostrano un'infezione di tipo ectotrix e una fluorescenza verde sotto la lampada di Wood. Raramente infetta l'uomo o altre specie. Riportata in Europa, Nord America e Australia.

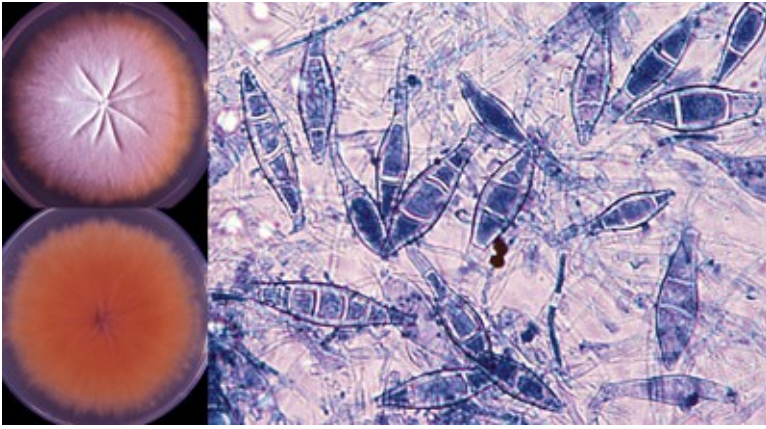


Foto 1.20 Le colonie di *Microsporium canis* var. *equinum* sono di colore da marrone chiaro a salmone pallido, rosa giallo-marrone al rovescio. I macroconidi sono piccoli, irregolari, fusati, da 18-60 x 5-15  $\mu\text{m}$ , con pareti spesse e rugose e piccoli setti. I microconidi sono di forma da piriforme a clavata, 3-9 x 1.5-3.5  $\mu\text{m}$ , ma vengono raramente prodotti (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

### 1.3.3. *Microsporium ferrugineum*

*Microsporium ferrugineum* è un fungo antropofilo in grado di causare epidemie di tinea capitis giovanile nell'uomo. Le caratteristiche cliniche sono simili a quelle causate da infezioni da *M. audouinii*. I peli invasi mostrano infezione di tipo ectotrix e fluorescenza giallo-verdastra sotto la lampada di Wood. Riportato da Asia (incluso Cina e Giappone), Russia, Europa dell'Est e Africa.

#### DESCRIZIONE MORFOLOGICA:

Le colonie sono a crescita lenta, formano un tallo dall'aspetto cereo, glabro e convoluto, con una superficie di colore dal crema al beige e assenza di pigmento al rovescio. La pigmentazione di superficie può variare dal crema al giallo al rosso e talvolta può esserci una forma piatta e bianca. Le colture rapidamente diventano lanuginose e pleomorfe. La morfologia microscopica è negativa, i macroconidi o i microconidi non sono prodotti. Ad ogni modo, si possono riscontrare ife con ramificazioni irregolari e pareti trasversali prominenti (“ife a bamboo”) e clamidospore. Le “ife a bamboo” sono una caratteristica di questa specie.

CARATTERISTICHE CHIAVE: storia clinica, caratteristiche colturali e “ife a bamboo”.



Foto 1.21 Coltura di *Microsporium ferrugineum* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).



Foto 1.22 “Ife a bamboo” di *M. ferrugineum* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

## 1.4. *Nannizzia*

*Nannizzia gypsea*

*Nannizzia nana*

*Nannizzia persicolor*

### 1.4.1. *Nannizzia gypsea*

Detta anche *Microsporium gypseum*.

*Nannizzia gypsea* è un fungo geofilo con distribuzione mondiale che può provocare infezione negli animali e nell'uomo, in particolare nei bambini e nei lavoratori rurali in ambienti caldi-umidi. Di solito produce una lesione singola infiammatoria sulla pelle. I peli invasi mostrano infezione di tipo ectotrix, ma non danno fluorescenza sotto la lampada di Wood.

#### DESCRIZIONE MORFOLOGICA:

Le colonie sono solitamente piatte, vellutate o granulose, di colore crema o cannella in superficie. Molte colture sviluppano una sorta di cupola centrale, e bordi periferici biancastri. Al rovescio è presente un colore giallo-marrone, con una colorazione centrale più scura. Le colture producono abbondanti macroconidi, simmetrici, a parete sottile, ellissoidali, verrucosi, contenenti da quattro a sei celle. Sono presenti anche numerosi microconidi clavati, ma quest'ultimi non sono diagnostici.

CARATTERISTICHE CHIAVE: macroconidi e caratteristiche colturali.

IDENTIFICAZIONE MOLECOLARE: sequenziamento ITS.



Foto 1.23 Coltura di *Nannizzia gypsea* e macroconidi di *Nannizzia gypsea* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

## 1.4.2. *Nannizzia nana*

Detta anche *Microsporium nanum*.

*Nannizzia nana* è un fungo geofilo e zoofilo causa frequente di lesioni croniche non infiammatorie nei maiali e causa rara di tinea nell'uomo. E' presente nel suolo dove si trovano i maiali. L'infezione nell'uomo avviene per contatto diretto con maiali o fomite. I peli invasi possono mostrare infezione ectotrix o endotrix e non danno fluorescenza sotto la lampada di Wood. La distribuzione geografica è mondiale.

### DESCRIZIONE MORFOLOGICA:

Le colonie sono piatte, color crema, di aspetto vellutato. Le colonie più giovani hanno colorazione arancio-marrone, che tende a divenire più scura con il tempo. Producono numerosi macroconidi, piccoli, ovoidali, contenenti da una a tre cellette e pareti sottili, rugose. Occasionalmente sono presenti microconidi clavati.

CARATTERISTICHE CHIAVE: macroconidi e caratteristiche colturali.

IDENTIFICAZIONE MOLECOLARE: sequenziamento ITS.



Foto 1.24 Infezione da *Nannizzia nana* nel maiale (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

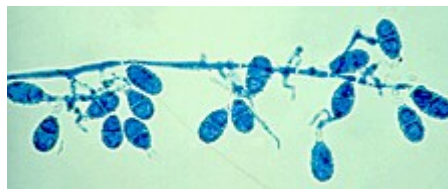


Foto 1.25 Coltura di *Nannizzia nana* e macroconidi di *Nannizzia nana* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

### 1.4.3. *Nannizzia persicolor*

Detta anche *Microsporium persicolor*.

*Nannizzia persicolor* è un fungo zoofilo spesso riscontrato come saprofita su volatili e pipistrelli. Può essere causa rara di tinea corporis sull'uomo. Non si conosce la sua capacità di invadere il pelo in vivo, ma ne produce la perforazione in vitro. Distribuzione: Africa, Australia, Europa e Nord America.

#### DESCRIZIONE MORFOLOGICA:

Le colonie sono generalmente piatte, da bianche a rosate, con aspetto dal vellutato al granuloso e sfrangiature periferiche. La pigmentazione al rovescio va dall'arancione al rosso. I macroconidi hanno parete sottile, forma a sigaro, da quattro a sette cellette, 40-60 x 6-8  $\mu\text{m}$ , ma vengono prodotti di rado. I microconidi sono abbondanti, da sferici a piriformi.

CARATTERISTICHE CHIAVE: morfologia al microscopio e caratteristiche colturali.

IDENTIFICAZIONE MOLECOLARE: sequenziamento ITS.



Foto 1.26 Coltura di *Nannizzia persicolor* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).



Foto 1.27 Microconidi di *Nannizzia persicolor* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

## 1.5. *Trichophyton*

Rippon (1988) determinò 22 specie e quattro varietà nel genere *Trichophyton* basandosi sulla morfologia. Le sequenze di DNA giocano oggi un ruolo preminente nel delineare le relazioni filogenetiche, per cui ad oggi vengono incluse nel genere *Trichophyton* quindici specie. Le descrizioni e i concetti di specie riportati si basano su una combinazione di criteri morfologici tradizionali e specie filogenetiche riconosciute attualmente (de Hoog et al. 2016).

Il genere *Trichophyton* si caratterizza dal punto di vista morfologico dallo sviluppo sia di macro che microconidi dalla parete liscia. I macroconidi si sviluppano per la maggior parte direttamente sulla parte laterale delle ife, oppure su pedicelli corti e sono a parete sottile o spessa, clavati o fusiformi e misurano dai 4-8 x 8-50 µm. In molte specie sono pochi o assenti. I microconidi sono sferici, piriformi o clavati o di forma irregolare, dai 2-3 x 2-4 µm. La presenza di microconidi differenzia questo genere da *Epidermophyton*, e i macroconidi a parete liscia, per la maggior parte sessili, lo differenzia da *Lophophyton*, *Microsporium* e *Nannizzia*.

In pratica, alla microscopia diretta si riconoscono due gruppi:

1. Le specie che solitamente producono microconidi; i macroconidi possono o non possono essere presenti: *T. rubrum*, *T. interdigitale*, *T. mentagrophytes*, *T. equinum*, *T. eriotrephon*, *T. tonsuran*, e in minor parte *T. verrucosum*, che produce conidi su alcuni media. In queste specie la caratteristica più importante è la forma, la dimensione e la disposizione dei microconidi. Sono utili anche le caratteristiche colturali.

2. Le specie che solitamente non producono conidi. Possono essere presenti clamidospore o altre strutture ifali, ma la microscopia non è generalmente diagnostica: *T. verrucosum*, *T. violaceum*, *T. concentricum*, *T. schoenleinii* e *T. sudanense*. Le caratteristiche colturali e le informazioni cliniche come il sito, aspetto della lesione, localizzazione geografica, anamnesi di viaggi, contatto con animali sono i fattori più importanti.

Molti laboratori si avvalgono di crescita su ulteriori media e/o test di conferma per differenziare le diverse specie di *Trichophyton*, specialmente gli isolati di *T. rubrum*, *T. interdigitale*, *T. mentagrophytes* e *T. tonsurans*. Questi includono caratteristiche di crescita su media come Littman oxgall agar, lactritmel agar, patata destrosio agar, agar Sabouraud con 5% di sale, agar 1% peptone, bromocresol purple-milk solids glucose agar (BCP), *Trichophyton* agar No. 1-5, idrolisi dell'urea e test di perforazione del pelo.

IDENTIFICAZIONE MOLECOLARE: raccomandato sequenziamento ITS e EF-1α per un'accurata identificazione di specie (Graser et al. 1998, 1999b, 2000a, 2008; Irinyi et al. 2015; Mirhendi et al, 2015).

*Trichophyton concentricum*  
*Trichophyton equinum*  
*Trichophyton eriotrephon*  
*Trichophyton interdigitale*  
*Trichophyton mentagrophytes*  
*Trichophyton quinckeanum*  
*Trichophyton rubrum*  
*Trichophyton schoenleinii*  
*Trichophyton soudanense*

*Trichophyton tonsurans*  
*Trichophyton verrucosum*  
*Trichophyton violaceum*

Tabella 3 Valori di MIC di *Trichophyton* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

Antifungino	MIC µg/mL			MIC µg/mL	
	Range	MIC90		Range	MIC90
Griseofulvina	0,06-4	1,0-2,0	Amfotericina B	0,03-16	0,5-1
Itraconazolo	0,01-8	0,25-0,5	Fluconazolo	0,05->64	32
Terbinafina	0,01-16	0,06	Voriconazolo	0,007-8	0,25

### 1.5.1. *Trichophyton concentricum*

*Trichophyton concentricum* è un fungo antropofilo che provoca una forma di tinea corporis cronica, non infiammatoria, diffusa, conosciuta come tinea imbricata, per gli anelli concentrici che produce. Non si conosce se sia in grado di invadere il pelo. Le infezioni in Europa sono rare. La sua distribuzione è limitata alle Isole del Pacifico dell'Oceania, Sud Est Asiatico e America Centrale e del Sud.

#### DESCRIZIONE MORFOLOGICA:

Le colonie sono a crescita lenta, sollevate e ripiegate, glabre, tendenti al vellutato, colorate di bianco-crema, a volte arancioni-marroni, spesso ripiegate all'interno dell'agar che può creare dei punti di scissione del medium stesso. Al rovescio è giallo-marrone o marrone. Le colture consistono di ampie, spesso ramificate, irregolari e segmentate ife settate, che possono presentare ramificazioni simili a *T. schoenleinii*. Nelle colture vecchie le clamidospore sono spesso presenti. I microconidi e i macroconidi non vengono generalmente prodotti, sebbene alcuni isolati producano in modo occasionale microconidi clavati o piriformi. I segmenti ifali possono assomigliare ai macroconidi.

#### TEST DI CONFERMA:

Idrolisi dell'Urea: negativo dopo 7 giorni.

Agar senza vitamina (*Trichophyton* Agar No.1): è in grado di crescere su agar senza vitamina (T1), ma cresce meglio su terreni contenenti tiamina: T3 = T1 + tiamina e inositolo e T4 = T1 + tiamina. Il piccolo potenziamento nella crescita con aggiunta di tiamina serve per distinguere *T. concentricum* da *T. schoenleinii*, anche se questo non accade in tutti i ceppi.

Test di perforazione del pelo: negativo a 28 giorni.

CARATTERISTICHE CHIAVE: malattia clinica, distribuzione geografica e caratteristiche colturali.





Foto 1.28 Coltura di *T. concentricum* che mostra la tipica colonia a crescita lenta, ripiegata e vellutata (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

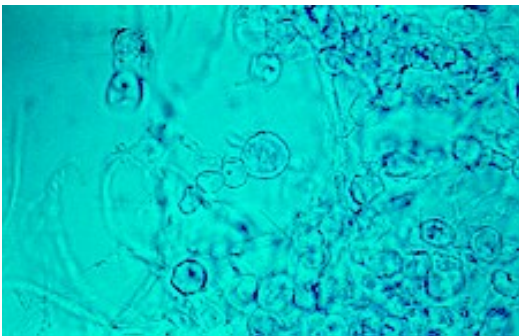


Foto 1.29 *T. concentricum* formante le tipiche clamidospore a palloncino (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

### 1.5.2. *Trichophyton equinum*

Detto anche *Trichophyton equinum* var. *autotrophicum*.

*T. equinum* è un fungo zoofilo in grado di causare malattia nei cavalli e raramente nell'uomo. Ha una distribuzione mondiale ad eccezione del ceppo autotrofo che è ristretto ad Australia e Nuova Zelanda. Invade il pelo con infezione ectotrix, ma non dà fluorescenza sotto la lampada di Wood.

#### DESCRIZIONE MORFOLOGICA:

Le colonie sono solitamente piatte, ma alcune possono sviluppare delle pieghe o scanalature radiali, bianche e dalla tessitura da vellutata a lanuginosa, simili a quelle di *T. mentagrophytes*. I bordi sono giallo scuro come al rovescio, che generalmente col tempo diventa rosso scuro al centro.

Microscopicamente: abbondanti microconidi si formano lateralmente lungo le ife e possono essere clavati, piriformi e sessili o sferici. I macroconidi sono prodotti solo di rado, ma quando presenti sono clavati, lisci, a parete sottile e di dimensione variabile. Possono essere presenti organi nodulari occasionali e i microconidi spesso si trasformano per produrre clamidospore nelle colture più vecchie.

#### TEST DI CONFERMA:

Lactritmel Agar: crescita piatta, colore bianco o crema, superficie da polverosa a granulare, con una papilla lanuginosa centrale e marrone-rosso al rovescio.

Idrolisi dell'Urea: positiva in 4-5 giorni.



Foto 1.30 *T. equinum* mostrante assenza di crescita su T1 ma buona crescita su T5 (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).



Foto 1.31 Ceppo autotrofico di *T. equinum* mostrante buona crescita sia su T1 che su T5 (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

Test nutrizionali su Trichophyton Agar: molti ceppi hanno bisogno di acido nicotinico per la crescita ad eccezione di quelli australiani e della Nuova Zelanda, che sono autotrofi.

Test di perforazione del pelo: negativo, ma positivo per i ceppi autotrofi.

DIAGNOSTICA MOLECOLARE: identificazione delle specie tramite sequenziamento ITS (Graser et al. 1999A; Chen et al. 2011).

CARATTERISTICHE CHIAVE: morfologia al microscopio, caratteristiche culturali, richiesta di acido nicotinico (tranne ceppi autotrofi) e lesioni cliniche nei cavalli.



Foto 1.32 Infezione di un cavallo e coltura di *T. equinum* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

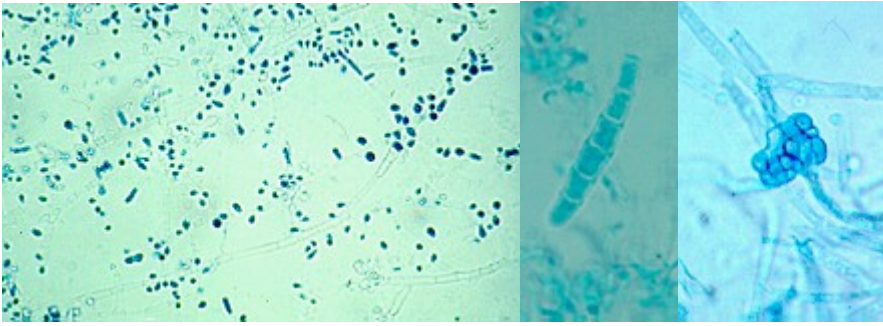


Foto 1.33 Microconidi, macroconidi e organi nodulari di *T. equinum* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

### 1.5.3. *Trichophyton eriotrephon*

Detto anche *Trichophyton mentagrophytes* var. *erinacei*.  
*Trichophyton erinacei*.

*Trichophyton eriotrephon* è un fungo zoofilo associato ai ricci e gli acari dell'epidermide che infestano questi animali. Le infezioni nell'uomo avvengono più di frequente nelle parti del corpo esposte, ma può interessare anche unghie e cuoio capelluto. I capelli invasi mostrano un'infezione di tipo ectotrix, ma non danno fluorescenza sotto la lampada di Wood. Questo fungo è presente in Europa e Nuova Zelanda.

#### DESCRIZIONE MORFOLOGICA:

Le colonie sono bianche, piatte, polverose, a volte lanuginose, con un colore giallo limone al rovescio. Ai lati delle ife si sviluppano numerosi microconidi grandi e clavati. I macroconidi sono a parete liscia, divisi in due - sei cellette, clavati, di dimensione variabile e possono presentare appendici terminali. I macroconidi sono più corti che quelli di *T. mentagrophytes*.

#### TEST DI CONFERMA:

Lactritmel Agar: colonia bianca di aspetto da vellutato a polveroso, giallo brillante al rovescio. Sono presenti numerosi e grossi microconidi clavati.

Idrolisi dell'Urea: negativa a 7 giorni.

Agar senza vitamina (Trichophyton Agar No.1): buona crescita che sta ad indicare nessun fabbisogno nutrizionale specifico. Le colonie sono bianche, vellutate, senza pigmento al rovescio.

Test di perforazione del pelo: positivo.

CARATTERISTICHE CHIAVE: includono la morfologia al microscopio e le caratteristiche colturali; i microconidi snelli e clavati, e pigmento giallo limone al rovescio su SDA; idrolisi dell'urea negativa.



Foto 1.34 Coltura di *T.erinacei* che mostra il pigmento giallo limone al rovescio (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

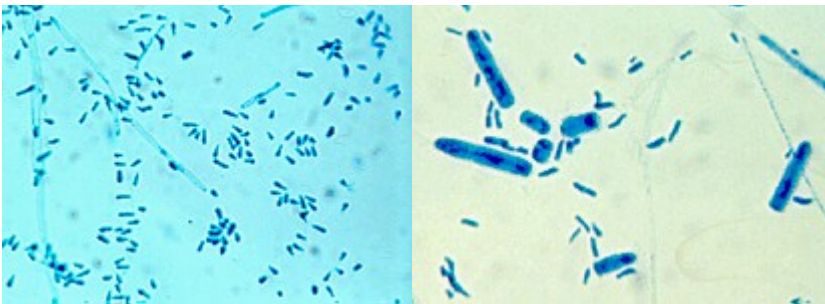


Foto 1.35 Microconidi e macroconidi di *T. erinacei* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

*Trichophyton eriotrephon* si distingue da *Trichophyton mentagrophytes* per: (a) la sua morfologia al microscopio, che mostra numerosi microconidi, larghi e clavati, nascere ai lati delle ife e ai suoi macroconidi, lisci, a parete sottile e clavati; (b) il pigmento giallo brillante al rovescio su SDA e lactrimel agar; (c) la mancanza di pigmento al rovescio su agar sale Sabouraud; e (d) la negatività all'idrolisi dell'urea.

#### 1.5.4. *Trichophyton interdigitale*

Detto anche *Trichophyton interdigitale* var. *interdigitale*.

*Trichophyton interdigitale* è un fungo antropofilo, causa comune di tinea pedis, in particolare il tipo vescicolare, tinea corporis e a volte invasione del letto ungueale superficiale nell'uomo. Non si sa se è in grado di invadere il pelo in vivo, ma è capace di provocarne la perforazione in vitro. La sua distribuzione è mondiale. Questa specie può essere considerata come un clone del zoofilo *T. mentagrophytes* (de Hoog et al. 2016).

##### DESCRIZIONE MORFOLOGICA:

Le colonie sono piatte, bianche o color crema, polverose o vellutate in superficie e gialle o rosa-marroni al rovescio, con tendenza a divenire più scure con il passare del tempo. Sono presenti numerosi microconidi piriformi o sferici, ife a spirale occasionali e clamidospore sferiche, le ultime più abbondanti nelle colture più datate. In alcune colture sono presenti macroconidi clavati, a parete liscia e multisettati.

## TEST DI CONFERMA:

Littman Oxgall Agar: colonia bianca lanuginosa senza pigmento al rovescio.

Lacritmel Agar: caratteristiche macro e microscopiche come descritto sopra.

Sabouraud destrosio Agar con 5% di sale: colonia con ripiegamenti, color marrone, vellutata in superficie con un bordo rosso scuro-marrone e marrone al rovescio.

Peptone Agar all'1%: piatta, bianca o color crema, dalla superficie vellutata con centro bianco. Nessuna pigmentazione al rovescio.

Agar senza vitamina (Trichophyton Agar No.1): buona crescita ad indicare nessun fabbisogno nutrizionale specifico, superficie piatta e bianca con ciuffo centrale. Rosa pallido-marrone al rovescio.

Idrolisi dell'Urea: positivo in 7 giorni (di solito dai 3 ai 5).

Test di perforazione del pelo: positivo.

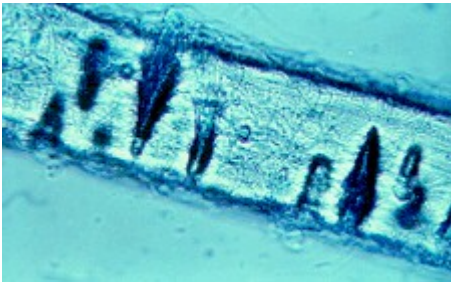


Foto 1.36 Test di perforazione del pelo positivo (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

**CARATTERISTICHE CHIAVE:** caratteristiche colturali, morfologia al microscopio e perforazione del capello umano in vitro.

*Trichophyton interdigitale* si distingue da *T. rubrum* e *T. mentagrophytes* tramite: (a) le sue caratteristiche colturali e la morfologia al microscopio su SDA e/o lacritmel agar; (b) la sua crescita e la morfologia della colonia su Sabouraud's salt agar (le colonie di *T. interdigitale* e di *T. mentagrophytes*, a differenza di *T. rubrum*, crescono molto bene su questo terreno e producono un pigmento al rovescio di colore rosso scuro-marrone, che li distingue); (c) test dell'ureasi positivo (in 7 giorni), test di perforazione del capello positivo e la produzione di un pigmento giallo-marrone o rosa-marrone al rovescio su terreni come agar lacritmel e Tichophyton No.1; (d) *T. interdigitale* mostra crescita profusa e alcalinità su BCP milk solids agar; (e) su agar all'1% di peptone *T. interdigitale* ha una superficie vellutata, mentre *T. mentagrophytes* granulosa.

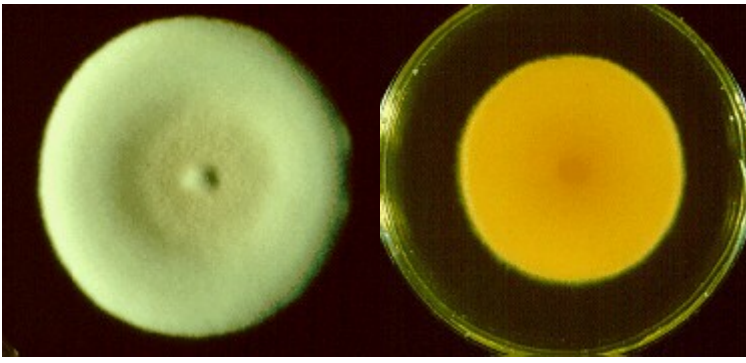


Foto 1.37 Coltura di *Trichophyton interdigitale* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

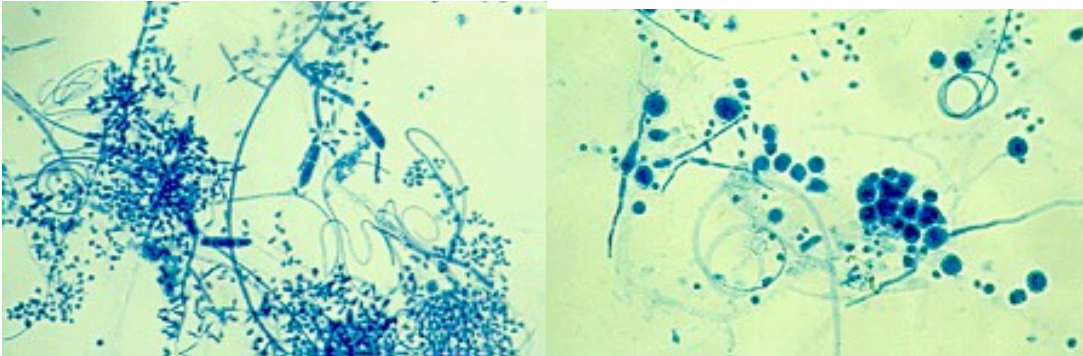


Foto 1.38 Microconidi, macroconidi, clamidoconidi e ife a spirale di *T. interdigitale* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

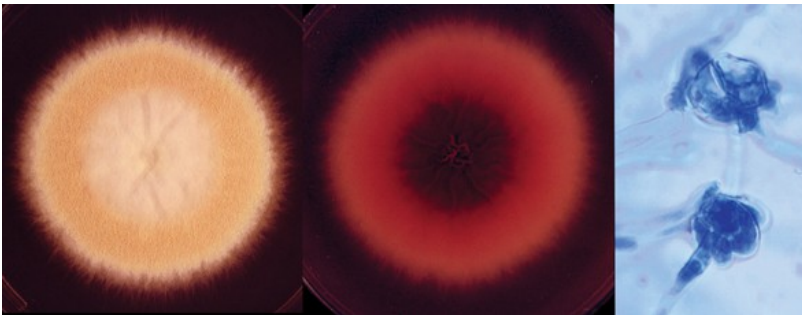


Foto 1.39 Variante disgonica di *T. interdigitale* (precedentemente detta var. *nodulare*); coltura che mostra il pigmento tipico giallo brillante o albicocca, con superficie vellutata e colore dal giallo-marrone all'arancio al rovescio; al microscopio si possono riscontrare sulle ife vegetative degli organi nodulari caratteristici. Solitamente non si osservano conidi, ma in alcuni isolati, specialmente dopo subcoltura, si possono trovare microconidi piriformi simili a quelli di *T. interdigitale* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

### 1.5.5. *Trichophyton mentagrophytes*

Detto anche *T. mentagrophytes* var. *mentagrophytes*.

*Trichophyton mentagrophytes* è un fungo zoofilo con distribuzione mondiale ed un ampio range di ospiti animali tra cui il topo, cavia peruviana, canguro, gatto, cavallo, pecora e coniglio. Produce lesioni infiammatorie sulla pelle o cuoio capelluto dell'uomo. Si può verificare anche kerion del cuoio capelluto e della barba. I peli invasi mostrano infezione di tipo ectotrix ma non danno fluorescenza sotto la lampada di Wood <sup>(13)</sup>.

Il nome *mentagrophytes* deriva dal nome francese “mentagre”, creato nel 1842 da Gruby quando per primo descrisse una dermatofitosi non favica su una barba <sup>(16)</sup>. “Mentagrofita” significa letteralmente “pianta del mento” con etimologia greca e latina ( “mentum” per mento,  $\alpha\rho\rho\alpha$  per arrampicare e  $\phi\upsilon\tau\omicron\nu$  per pianta). Nella sua descrizione succinta, Gruby riportò un fungo in grado di causare infezione non favica dove gli elementi fungini formavano una guaina continua attorno al pelo (parassitismo ectotrix). Il fungo fu chiamato *Microsporon mentagrophytes* 11 anni dopo da Robin <sup>(38)</sup>, che per primo utilizzò il termine *mentagrophytes* come nome di una specie. Come Gruby, Robin diede solo una descrizione clinica dell'infezione, senza dettagli aggiuntivi riguardo la descrizione morfologica del fungo. Il trasferimento di *Microsporon mentagrophytes* nel genere *Trichophyton* (Malmsten, 1845) fu fatto da Blanchard <sup>(2)</sup>. Questo autore descrisse un fungo con una “estrema vitalità” in coltura. La coltura era bianca ed era “ricoperta da una polvere bianca fatta di conidi”. La descrizione fatta da Gruby fu soppiantata da quella di Sabouraud nel suo trattato <sup>(39)</sup>, “Le tigne”. Per Sabouraud, il fungo descritto da Gruby era un *Trichophyton* di tipo ectotrix, appartenente ai “*Trichophyton* microidi” e i “*Trichophyton* megaspore”, che si differenziavano in base alle dimensioni e arrangiamenti delle artrospore parassitarie attorno al pelo durante l'esame micologico diretto di campioni clinici. Il “*Trichophyton* microide” conteneva varie specie incluse in *T. mentagrophytes* da Emmons nel 1934, mentre il “*Trichophyton* megaspore” conteneva varie specie considerate come un sinonimo di *T. verrucosum* <sup>(10)</sup>.

#### DESCRIZIONE MORFOLOGICA:

Le colonie sono generalmente piatte, bianche o crema, con una superficie da polverosa a granulosa. Alcune mostrano un ripiegamento centrale o sviluppano ciuffi centrali o aree pleomorfe di aspetto vellutato-lanuginoso. La pigmentazione al rovescio è giallo-marrone o rosso-marrone. Si formano numerosi microconidi a singola cella, spesso organizzati in cluster. I microconidi sono ialini, a parete liscia, di forma sferica, a volte clavati o piriformi. Possono essere presenti un numero variabile di clamidospore, ife a spirale e macroconidi a più cellette, parete sottile e di forma clavata.

#### TEST DI CONFERMA:

Littman Oxgall Agar: colonia grigio -bianca, vellutata o lanuginosa. Alcune colture mostrano un pigmento da giallo a marrone.

Lactritmel Agar: le colture sono piatte, bianche o color crema, con superficie granulosa. Alcune sviluppano ciuffi centrali o aree lanuginose pleomorfe. La pigmentazione al rovescio è giallo-marrone o marrone-rosa o rosso-marrone. La morfologia al microscopio è simile a quella descritta sopra, con microconidi in predominanza sferici, organizzati in cluster ed un numero variabile di clamidospore sferiche, ife a spirale e macroconidi multisettati, a parete liscia e clavati.

Sabouraud Agar Destrosio con 5% di Sale: le colture hanno dei ripiegamenti, da marrone scuro a chiaro, con una tessitura in superficie vellutata e dei bordi caratteristici rosso scuri-marroni e pigmentazione al rovescio.

Agar Peptone all'1%: bianca, color crema, da polverosa a granulare senza pigmento al rovescio.

Idrolisi dell'Urea: positivo in 7 giorni (di solito da 3 a 5 giorni).

Agar senza vitamina (Trichophyton Agar No.1): buona crescita che sta ad indicare nessun fabbisogno nutrizionale specifico. Le colture sono piatte, color crema, con una superficie da polverosa a vellutata ed hanno un pigmento rosso-marrone al rovescio.

Test di perforazione del pelo: positivo in 14 giorni.

CARATTERISTICHE CHIAVE: caratteristiche colturali, morfologia al microscopio e malattia clinica con contatto con animali. *T. mentagrophytes* si distingue da *T. interdigitale* per: (a) il suo aspetto granuloso su Agar all'1% di peptone; (b) la sua morfologia al microscopio, caratterizzata da microconidi più sferici e un gran numero di macroconidi; e (c) un pigmento diffuso da giallo a marrone su Agar Littman Oxgall. Sia *T. interdigitale* che *T. mentagrophytes* mostrano una crescita profusa e alcalinità su Agar BCP solids milk.

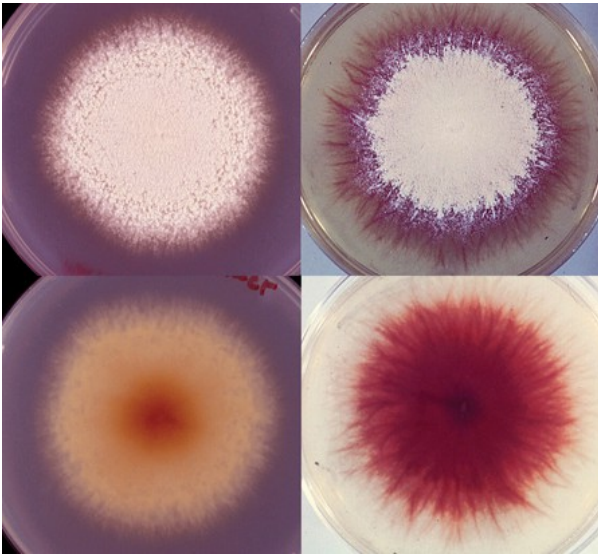


Foto 1.40 Colture di *T. mentagrophytes* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

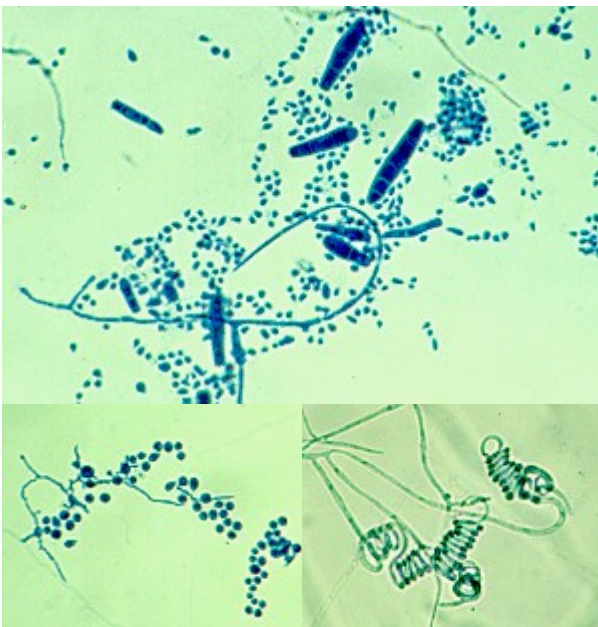


Foto 1.41 Microconidi, macroconidi, clamidoconidi e ife a spirale di *T. mentagrophytes* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).





Foto 1.42 Infezione da *T. mentagrophytes* in un canguro (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

### 1.5.6. *Trichophyton quinckeanum*

Detto anche *Trichophyton mentagrophytes* var. *quinckeanum*.

*Trichophyton quinckeanum* causa il “favo del topo” su questo roditore, vista come una lesione spessa, giallastra, crostosa, di 1 cm di diametro. Raramente si possono riscontrare peli invasi, se ciò avviene mostrano infezione di tipo ectotrix o endotrix. I peli umani infetti non mostrano fluorescenza sotto la lampada di Wood, ma occasionalmente i peli di cavie con lesioni sperimentali mostrano fluorescenza gialla pallida. La distribuzione geografica di questo dermatofita è difficile da stabilire, ma è ad ogni probabilità ubiquitario.

#### DESCRIZIONE MORFOLOGICA:

Le colonie sono generalmente piatte, di colore dal bianco al crema, con una superficie da granulosa a polverosa. Alcune colture mostrano dei ripiegamenti centrali o sviluppano dei ciuffi centrali o aree pleomorfe vellutate o lanuginose. La pigmentazione al rovescio è solitamente giallo-marrone o rosso-marrone. Ai lati delle ife si sviluppano numerosi microconidi, che quando sono giovani hanno forma clavata e snella. Con il passare del tempo diventano più larghi e piriformi o sferici. Possono essere presenti un numero modesto di macroconidi, di forma a sigaro o clavati, di parete sottile e liscia, multisettati. Può essere presente un numero variabile di clamidospore o ife a spirale.

#### TEST DI CONFERMA:

Littman Oxgall Agar: colonia sollevata a cupola, di colore grigio -blu, con bordo stretto e piatto, di colore grigio-bianco. Non è presente pigmento al rovescio.

Lactritmel Agar: colonia bianca e piatta, vellutata, senza pigmento al rovescio. Sono presenti numerosi microconidi snelli, clavati o piriformi (a seconda dell'età della sottocoltura) e un numero da occasionale a modesto di macroconidi, clavati, a parete sottile e liscia.

Sabouraud Agar Destrosio con 5% di sale: colonia con ripiegamenti, di colore bianco, con pigmento giallo pallido-marrone al rovescio. Non sono presenti bordi evidenti.

Agar all'1% di Peptone: colonia sollevata a cupola, bianca, vellutata, senza pigmento al rovescio.

Idrolisi dell'Urea: positiva in 7 giorni (di solito molto rapido in 2-3 giorni).

Agar Senza Vitamina (Trichophyton Agar No. 1): piatta, bianca o crema, di aspetto vellutato senza pigmento al rovescio o un pigmento giallo pallido-marrone; non sono richiesti fabbisogni nutrizionali specifici.

Test di perforazione del pelo: positivo in 7-10 giorni.

CARATTERISTICHE CHIAVE: caratteristiche colturali, morfologia al microscopio, test rapido dell'ureasi.

*Trichophyton quinckeanum* può essere distinto da *Trichophyton mentagrophytes* tramite: (a) il suo aspetto caratteristico in coltura su Littman Oxgall Agar (colonia dall'aspetto colmo, a cupola, di colore blu-grigio, vellutata, con bordo stretto, piatto, grigio-bianco e senza pigmento al rovescio) e su Sabouraud Agar al 5% di sale (colonia con ripiegamenti, ma senza bordi distintivi di colore rosso scuro - marrone e pigmento al rovescio come in *Trichophyton mentagrophytes*); (b) morfologia al microscopio che mostra numerosi microconidi piriformi, clavati e snelli e un numero modesto di macroconidi clavati, a parete sottile e liscia; (c) il test rapido dell'ureasi, positivo in 2-3 giorni.



Foto 1.43 Infezione di un topo (con lesione tipica) da *Trichophyton quinckeanum* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).



Foto 1.44 Coltura di *Trichophyton quinckeanum* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

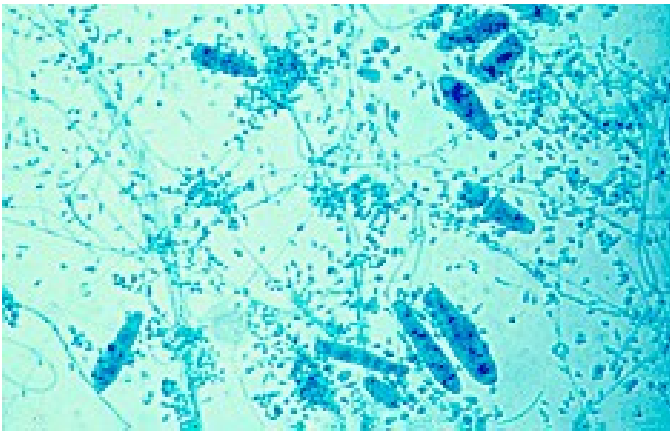


Foto 1.45 Microconidi e macroconidi di *Trichophyton quinckeanum* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

### 1.5.7. *Trichophyton rubrum*

Sinonimi:

*Trichophyton fischeri*

*Trichophyton raubitschekii*

*Trichophyton kanei*

Tutte varietà di *T. rubrum*.

*Trichophyton rubrum* è un fungo antropofilo che è diventato il più diffuso dermatofita dell'uomo. Causa di frequente infezioni croniche della pelle, unghie e raramente del cuoio capelluto. Possono formarsi talvolta lesioni granulomatose. Il pelo infetto non dà fluorescenza sotto la lampada di Wood e al microscopio può mostrare infezione di tipo ectotrix o endotrix.

Morfologicamente *T. rubrum* mostra un ampio spettro di caratteristiche; per esempio la superficie può avere aspetto da vellutato a lanuginoso; la pigmentazione può andare dal bianco al crema al rosso scuro; la pigmentazione al rovescio varia da assenza di colore a giallo, giallo-marrone, a rosso vino; i microconidi possono essere scarsi o numerosi; la loro forma è snella, clavata o piriforme; il numero dei macroconidi varia da nessuno a pochi a molti e possono non presentare le proiezioni terminali. Questa è la ragione per cui in passato sono state descritte così tante varietà e sinonimi. Esistono a livello molecolare piccole variazioni (Graser et al. 199b) che differenziano i ceppi di *T. rubrum*.

La maggior parte degli isolati, specialmente quelli che causano tinea pedis e onicomicosi, sono caratterizzate dalla produzione di scarse o moderate quantità di microconidi clavati e nessun macroconide (ufficialmente il “ceppo lanuginoso”). Alcuni isolati, solitamente da casi di tinea corporis, sono caratterizzati dalla produzione di un numero abbondante di microconidi piriformi o clavati e un numero moderato di macroconidi a parete sottile e forma di sigaro (ufficialmente il “ceppo granuloso”).

Si possono riscontrare ceppi intermedi, così come talvolta certe caratteristiche culturali e morfologiche non compaiono.



Foto 1.46 Morfologia di coltura di *Trichophyton rubrum*; “ceppo lanuginoso” con colore tipico rosso-vino al rovescio; “varietà ad Y” con pigmentazione gialla e rossa; “varietà flava” con pigmentazione gialla; “ceppo granuloso” con superficie rossa e pigmentazione al rovescio (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

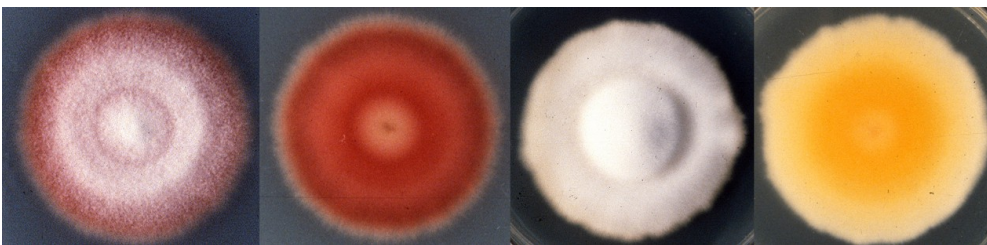


Foto 1.47 Nota: *Trichophyton rubrum* produce pigmenti gialli e rossi. I colori delle colture variano dal bianco al rosso scuro al giallo scuro, con tutte le combinazioni possibili. Le immagini sopra mostrano la crescita di uno stesso ceppo su lactrimel agar che promuove la pigmentazione rossa e su mycobiotic agar che mostra una pigmentazione gialla (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

#### DESCRIZIONE MORFOLOGICA:

Le colonie sono per la maggior parte piatte o leggermente sollevate, bianche o color crema, dall'aspetto vellutato o lanuginoso, senza pigmento al rovescio oppure con una colorazione dal giallo-marrone al rosso-vino. La maggior parte delle colture mostra un numero modesto di microconidi clavati o piriformi. I macroconidi sono solitamente assenti, ma quando presenti sono lisci, multisettati a parete sottile, cilindrici o a forma di sigaro. Nelle colture più vecchie si possono sviluppare clamidospore con pochi microconidi clavati o piriformi.

Nota: al primo isolamento alcune colture possono mancare di pigmentazione al rovescio e microconidi. Queste hanno bisogno di sottocolture su terreni come lactrimel agar o potato dextrose agar, che stimolano la pigmentazione e la sporulazione. Se la sporulazione fallisce anche in questo caso utilizzare Trichophyton agar No.1.

#### TEST DI CONFERMA:

Littman Oxgall Agar: colonia sollevata, bianco-grigia, vellutata o lanuginosa senza pigmento al rovescio. Alcune colture mostrano un pigmento diffuso verde-giallo.

Lactrimel Agar: piatta, da bianca a rosa, granulosa, con pigmento rosso-vino al rovescio.

Sabouraud agar destrosio con 5% di sale: colonia raggrinzita, bianca o color crema, glabra con un

pigmento giallo-pallido al rovescio.

Agar 1% peptone: piatta, bianca o color crema, glabra, senza pigmento al rovescio.

BCP Agar: crescita ristretta e pH neutro (invariato). Le colonie tipicamente mostrano pigmento rosso al rovescio.

Idrolisi dell'urea: negativo a 7 giorni (alcuni possono essere positivi).

Agar senza vitamina (Trichophyton Agar No.1): buona crescita che sta ad indicare nessun fabbisogno nutrizionale specifico. Le colonie sono piatte, bianche o color crema, vellutate o lanuginose, con pigmento rosso-vino al rovescio.

Test di perforazione del pelo: negativo a 28 giorni.

CARATTERISTICHE CHIAVE: include storia clinica, caratteristiche colturali, morfologia al microscopio e assenza di perforazione del pelo in vitro.



Foto 1.48 *Trichophyton rubrum* che mostra i microconidi tipici clavati (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

Microscopicamente, il tipo granuloso è caratterizzato dalla produzione di un numero da moderato ad abbondante di microconidi clavati o piriformi e da macroconidi a parete sottile, a forma di sigaro. I macroconidi possono presentare o meno appendici terminali.



Foto 1.49 *Trichopyton rubrum* che mostra microconidi clavati e macroconidi a forma di sigaro, alcuni con appendici terminali (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

### 1.5.8. *Trichophyton schoenleinii*

*Trichophyton schoenleinii* è un fungo antropofilo causa di favo nell'uomo. Il favo è una forma cronica di tinea capitis caratterizzata da lesioni crostose e piatte e perdita permanente dei capelli. I capelli invasi rimangono intatti e danno una fluorescenza verde pallido-giallastra alla lampada di Wood. Il favo era una volta comune in Eurasia e Nord America, oggi la sua incidenza è in declino.

#### DESCRIZIONE MORFOLOGICA:

Le colonie sono a crescita lenta, di aspetto vellutato o cereo con un tallo ripiegato a nido d'ape. Il tallo è color crema o giallo o arancio-marrone. Le colture sono difficili da mantenere nella loro tipica forma convoluta e rapidamente diventano piatte e lanuginose. Non è presente pigmento al rovescio. Nelle colture di routine non si riscontrano macro e microconidi, mentre in colture più datate possono essere presenti numerose clamidospore. Si possono osservare le ramificazioni caratteristiche a “cappella” delle ife, chiamate anche “favi a lampadario”. Alcuni isolati possono formare pochi microconidi clavati quando fatti crescere su riso soffiato.

**CARATTERISTICHE CHIAVE:** storia clinica, caratteristiche colturali e morfologia al microscopio (“favi a lampadario”).



Foto 1.50 Coltura di *Trichophyton schoenleinii* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

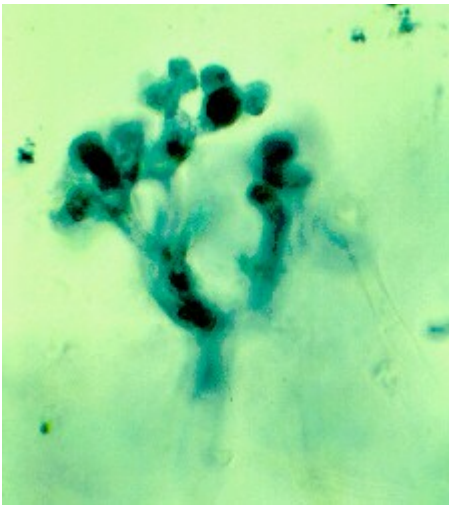


Foto 1.51 “Favo a lampadario” di *T. schoenleinii* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

### 1.5.9. *Trichophyton soudanense*

*Trichophyton soudanense* è un fungo antropofilo frequente causa di tinea capitis in Africa. I capelli invasi mostrano un'infezione di tipo endotrix, ma non danno fluorescenza sotto la lampada di Wood. La sua distribuzione è principalmente in Africa, con casi importati in Europa, Brasile, Australia e USA.

#### DESCRIZIONE MORFOLOGICA:

Le colonie sono a crescita lenta, con superficie da piatta a ripiegata, vellutata. Spesso è presente un bordo di crescita ampio. Il micelio di superficie e il pigmento al rovescio sono tipicamente di un colore albicocca scuro-arancio. Microscopicamente, le ife mostrano ramificazioni ad angolo retto. Possono essere presenti microconidi piriformi e nelle colture più vecchie clamidospore.

NOTA: *T. soudanense* mostra crescita profusa e alcalinità su BCP milk solids agar. Solitamente compare un alone di schiarimento attorno alla colonia su questo terreno, a 7-10 giorni.

CARATTERISTICHE CHIAVE: storia clinica, caratteristiche colturali e morfologia al microscopio

che mostra le diramazioni delle ife e l'invasione del capello di tipo endotrix.



Foto 1.52 Coltura di *T. sudanense* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

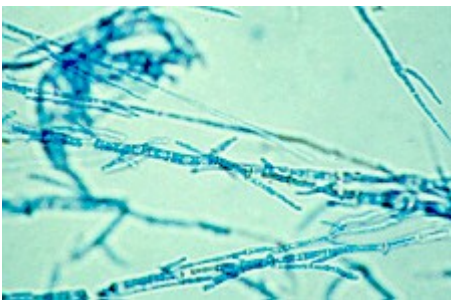


Foto 1.53 Diramazioni tipiche delle ife in *T. sudanense* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

### 1.5.10. *Trichophyton tonsurans*

*Trichophyton tonsurans* è un fungo antropofilo con distribuzione mondiale che causa lesioni crostose infiammatorie o non infiammatorie croniche della pelle, unghie e cuoio capelluto. E' una causa comune di tinea capitis negli Aborigeni Australiani e Afro Americani. I peli invasi mostrano un'infezione di tipo endotrix e non danno fluorescenza sotto la lampada di Wood.

#### DESCRIZIONE MORFOLOGICA:

Le colonie mostrano una variazione considerevole nel colore e tessitura. Possono essere vellutate o polverose, piatte con centro sollevato o ripiegate, spesso con scanalature radiali. Il colore può variare dal marrone pallido al giallo, al marrone scuro. Il pigmento al rovescio varia dal giallo-marrone al rosso-marrone al mogano. Le ife sono relativamente larghe, irregolari, ramificate con numerosi setti. Ad angolo retto rispetto alle ife, che spesso rimangono non colorate dal blu lattofenolo, nascono numerosi microconidi di varie dimensioni e forma clavata o piriforme. Possono essere presenti occasionali macroconidi a parete liscia e sottile, irregolari e clavati. Nelle colture più vecchie sono prodotti molti microconidi giganti e clamidospore.

#### TEST DI CONFERMA:

Mycosel Agar: Produzione in 5 giorni di strutture simili alle clamidospore è caratteristico di *T. tonsurans* (Mochizuki et al. 2013).

Idrolisi dell'urea: positivo a 5 giorni.





Foto 1.54 *T. tonsurans* che mostra una buona crescita su T4 agar ad indicare la richiesta di tiamina (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

Test nutrizionali su Trichophyton Agar: i risultati dimostrano una richiesta parziale di (a) tiamina. T1 = agar senza vitamina, (b) T4 = agar senza vitamina + tiamina.

Test di perforazione del pelo: positivo in 14 giorni.

CARATTERISTICHE CHIAVE: morfologia al microscopio, caratteristiche culturali, invasione del pelo di tipo endotrix e richiesta parziale di tiamina.

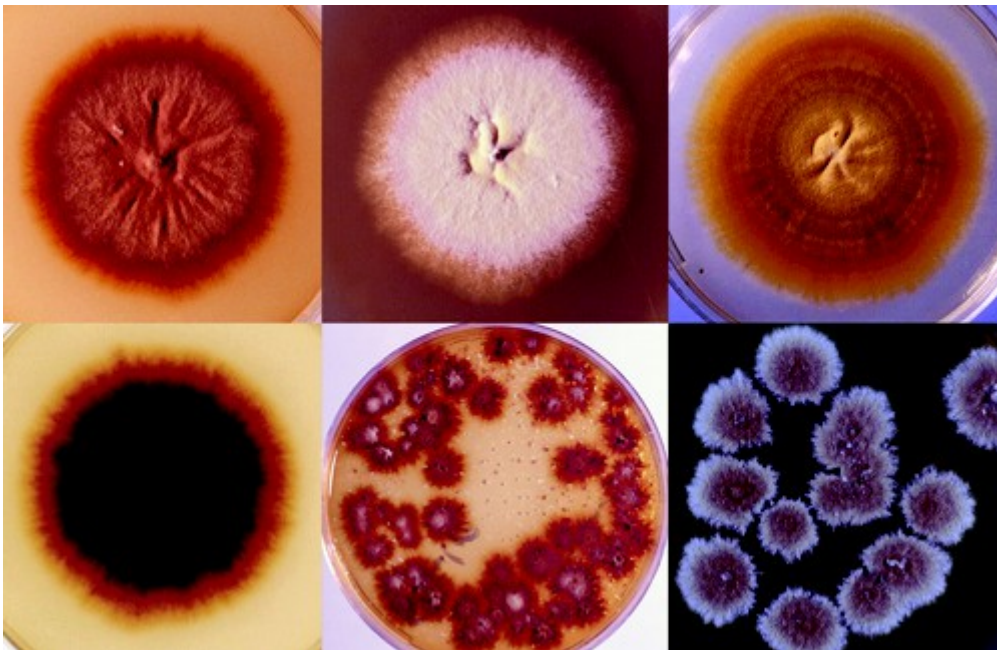


Foto 1.55 Le colture di *T. tonsurans* mostrano una considerevole variazione nella tessitura e nel colore. Il colore può variare dal marrone pallido al marrone scuro. Il colore al rovescio varia dal giallo-marrone al rosso-marrone al mogano (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

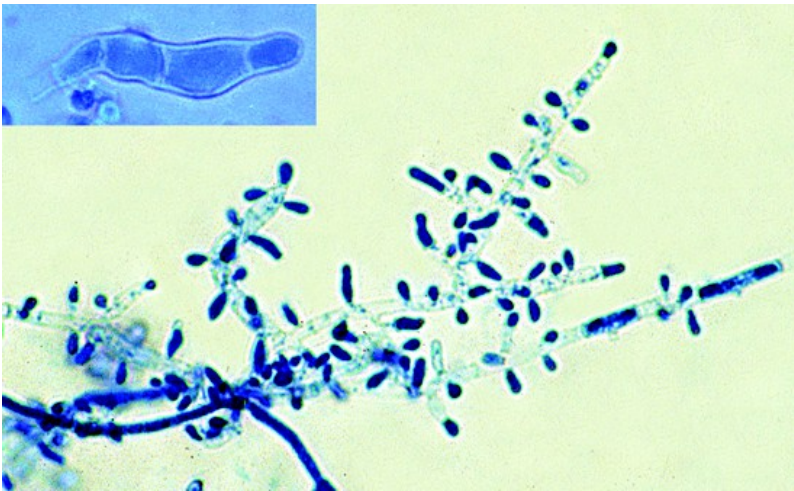


Foto 1.56 Ife, macroconidi e microconidi di *Trichophyton tonsurans* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

### 1.5.11. *Trichophyton verrucosum*

*Trichophyton verrucosum* è un fungo zoofilo in grado di causare tigna nei bovini. Le infezioni nell'uomo sono il risultato di contatto diretto con bovini o fomite infetti e sono solitamente altamente infiammatorie, con coinvolgimento del cuoio capelluto, barba o altre parti esposte del corpo. I peli invasi mostrano un'infezione di tipo ectotrix e danno fluorescenza sotto la lampada di Wood nei bovini, ma non nell'uomo. La sua distribuzione è mondiale.

#### DESCRIZIONE MORFOLOGICA:

Le colonie sono a crescita lenta, piccole, a forma di bottone o disco, bianche o crema, con una superficie vellutata, centro sollevato e periferia piatta. Il pigmento al rovescio può variare da assenza di colore al giallo. Sono presenti ife larghe ed irregolari, con molte clamidospore terminali ed intercalari. Le clamidospore sono spesso organizzate in catene. La punta di alcune ife è più larga e a volte divisa, conferendo un effetto ramificato. Quando coltivato su terreno con tiamina, alcuni ceppi producono microconidi clavati o piriformi, che nascono singolarmente lungo le ife. I macroconidi vengono prodotti solo di rado, ma quando sono presenti hanno una caratteristica forma a coda o fagiolino.

#### TEST DI CONFERMA:

Crescita a 37° C: a differenza di altri dermatofiti, la crescita è potenziata a 37°C.

FABBISOGNI NUTRIZIONALI: tutti i ceppi hanno bisogno di tiamina e circa l'80% ha bisogno di tiamina e inositolo. Non c'è crescita su agar senza vitamina e caseina (T1), minima crescita su T1 + inositolo (T2), buona crescita su T1 + inositolo e tiamina (T3) e buona crescita su T1 + tiamina (T4).

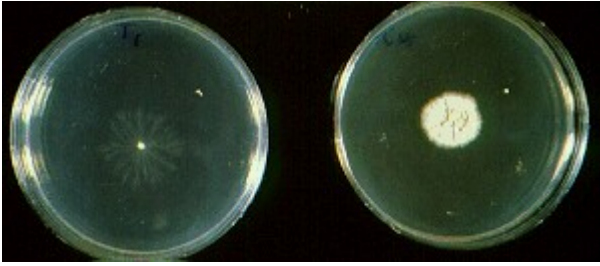


Foto 1.57 Crescita su T1 agar senza vitamina vs T3 con inositolo e tiamina (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

Tutti i ceppi producono catene tipiche di clamidospore, spesso definite “catene di perle”, specialmente quando coltivata su BCP milk solids glucose agar a 37°C. Quando viene coltivata a 25°C su milk solids glucose agar compare un alone di schiarimento di colore periferico in 7 giorni.

L'esame al microscopio di colonie giovani (di 4-5 giorni), cresciute da un inoculum piccolo, su Sabouraud agar destrosio con 0,5 % di estratto di lievito e incubato a 30°C, mostra caratteristiche vescicole terminali (non clamidospore) sulla punta delle ife. Il numero di vescicole prodotte è maggiore da inoculi primari di lesioni della pelle o da peli, piuttosto che da subcolture.

**CARATTERISTICHE CHIAVE:** caratteristiche colturali e richiesta di tiamina e inositolo, ampia invasione ectotrix del pelo, lesioni e storia clinica.



Foto 1.58 Infezione nel bovino provocata da *Trichophyton verrucosum* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

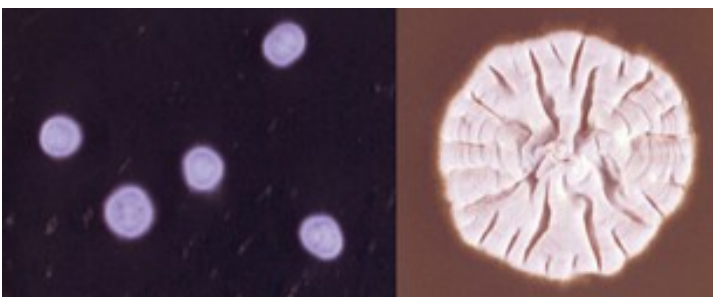


Foto 1.59 Colonie giovani bottonute di *T. verrucosum* e colonia matura (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

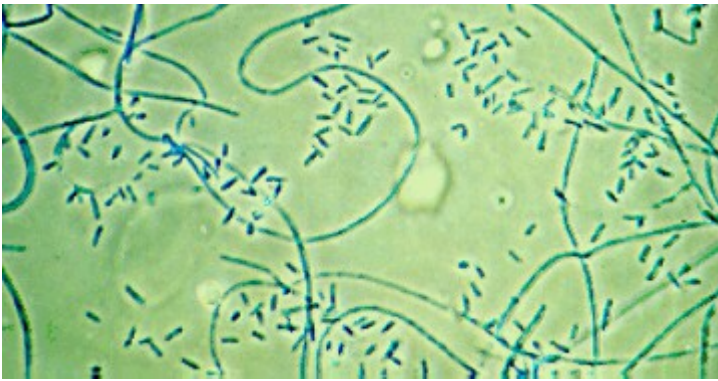


Foto 1.60 Microconidi piriformi o clavati di *T. verrucosum* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

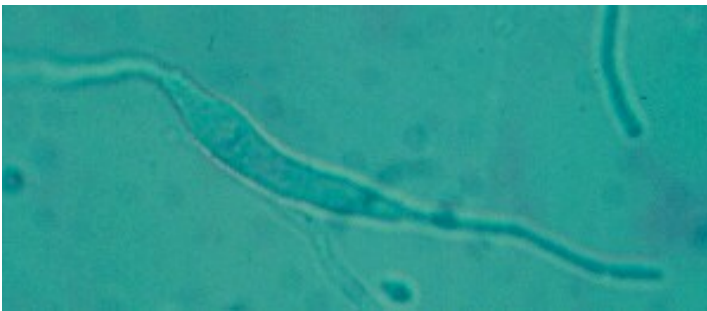


Foto 1.61 Macroconidi con forma a fagiolino o coda di ratto (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

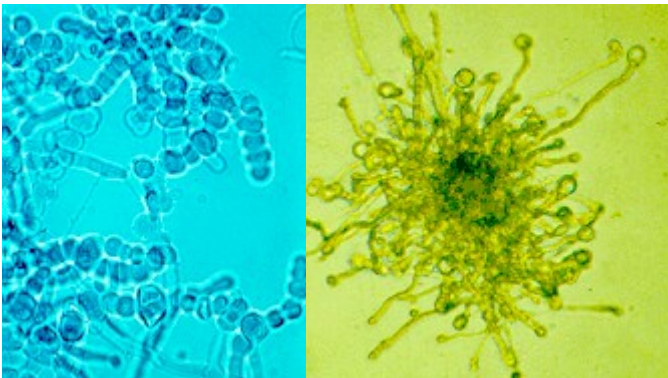


Foto 1.62 Catene caratteristiche di clamidoconidi a sinistra e vescicole terminali sulla punta delle ife di *T. verrucosum* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

### 1.5.12. *Trichophyton violaceum*

Detto anche *Trichophyton yaoundei*.

Comprende tutte le varietà di *T. violaceum*.

*Trichophyton violaceum* è un fungo antropofilo in grado di causare lesioni della pelle, unghie, barba e cuoio capelluto, di tipo infiammatorio e non infiammatorio cronico, producendo la tinea capitis detta “punto nero”. La distribuzione è mondiale, in particolare nell'Europa dell'Est, Russia e Nord Africa. I peli invasi mostrano un' infezione di tipo endotrix e non danno fluorescenza sotto la lampada di Wood.

#### DESCRIZIONE MORFOLOGICA:

Le colonie hanno una crescita molto lenta, glabre o dall'aspetto cereo, con ripiegamenti e di colore viola scuro. Spesso divengono pleomorfe, formando settori bianchi. Possono capitare ceppi non colorati. Le ife sono relativamente larghe e tortuose, con ramificazioni e distorte. Le ife più giovani solitamente si colorano bene con il blu di lattofenolo, mentre le più vecchie si colorano poco e presentano piccoli granuli e globuli di grasso centrali. Tipicamente non sono presenti conidi, anche se microconidi piriformi si possono trovare su terreni arricchiti. Sono presenti numerose clamidospore, specialmente nelle colture più vecchie.

**FABBISOGNI NUTRIZIONALI:** *T.violaceum* ha un fabbisogno parziale in tiamina. C'è una crescita minima su agar senza vitamina e caseina (T1) e una miglior crescita su agar senza vitamina più tiamina (T4). La parziale richiesta di tiamina separa questo organismo da *Trichophyton rubrum* e altre specie in grado di produrre pigmento viola.

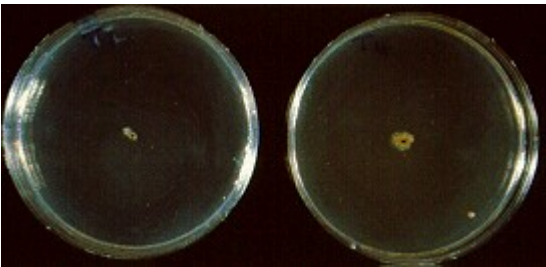


Foto 1.63 Crescita di *T. violaceum* su agar T4 che mostra una parziale richiesta di tiamina (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

**CARATTERISTICHE CHIAVE:** caratteristiche colturali, richiesta parziale di tiamina e invasione di tipo endotrix del pelo <sup>(13)</sup>.

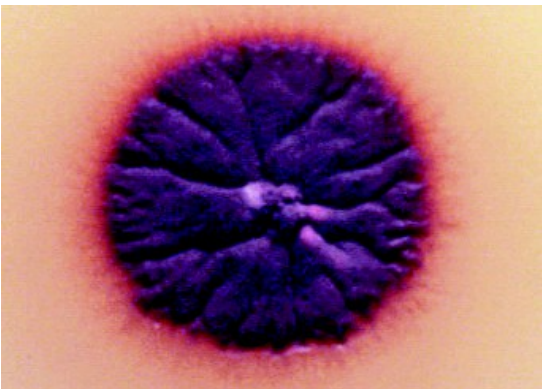


Foto 1.64 Coltura di *Trichophyton violaceum* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

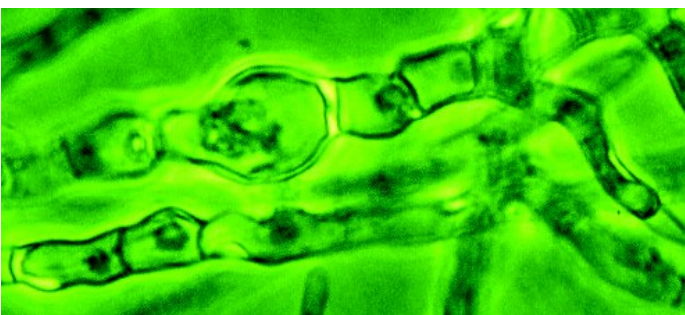


Foto 1.65 Clamidoconidi di *Trichophyton violaceum* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

## CAPITOLO 2

# DERMATOFITOSI NEL CONIGLIO

La dermatofitosi, o tigna, è un' infezione della cute del coniglio, spesso asintomatica e potenzialmente zoonosica più comunemente causata da *Trichophyton mentagrophytes*. Nel coniglio è meno frequente l'infezione da *Microsporum*, ma può avvenire, in particolare nel coniglio da compagnia.

### 2.1. SEGNALAMENTO

La dermatofitosi è più frequente nei conigli giovani, probabilmente a causa dell'incompleto sviluppo del sistema immunitario e bassi livelli di acidi grassi fungistatici nel sebo <sup>(20)</sup>. Inoltre i conigli giovani mostrano segni clinici più severi (Franklin et al., 1991). Sono frequenti i portatori asintomatici <sup>(25)</sup>.

### 2.2. EZIOPATOGENESI

I conigli possono acquisire l'infezione da altri animali o dall'uomo, ma nella maggior parte dei casi sono portatori sani. In quest'ultimi le lesioni si possono sviluppare a seguito di malnutrizione, sovraffollamento, infezioni secondarie, scarsa igiene <sup>(20)</sup>.

La dermatofitosi è una zoonosi; si trasmette più facilmente ai bambini e ai soggetti immunodepressi.

Il coniglio infetto può contagiare gli altri animali della casa. Uno dei motivi di fallimento della terapia è rappresentato dalla presenza di portatori sani, a cui non viene somministrato il trattamento <sup>(1)</sup>.

### 2.3. SEGNI CLINICI

I dermatofiti causano lesioni alla pelle di tipo alopecico su testa, arti, piedi, letto ungueale, che si presentano asciutte, crostose, eritematose o pruriginose <sup>(20)</sup>. La componente eritematosa dovuta all'infiammazione è molto variabile: può essere assente o marcata, con leggero sanguinamento alla rimozione delle croste. La classica lesione tondeggiante, con il centro in via di guarigione e la progressiva espansione periferica, è inusuale nel coniglio <sup>(1)</sup>.

L'esame istopatologico mette in evidenza un'epidermide acantolitica e ipercheratosica, con un infiltrato cellulare infiammatorio cronico o acuto nel derma sottostante <sup>(20)</sup>.



Foto 2.1 Dermatofitosi nel coniglio da *T. mentagrophytes* (fonte: Gaguère E. Diagnosi differenziali delle dermatiti pruriginose nei piccoli mammiferi. Quaderni di dermatologia, anno 6, n. 1, 2001) .



Foto 2.2 Lesioni crostose sulla base dell'unghia (immagine a sinistra) e sul dorso (immagine a destra).



Foto 2.3 Lesione crostosa sul padiglione auricolare di coniglio infetto.

## 2.4. DIAGNOSI DIFFERENZIALI

In diagnosi differenziale si deve considerare principalmente la rogna sarcoptica, che presenta una distribuzione delle lesioni simile, soprattutto nelle sue fasi iniziali. In corso di rogna, le croste tendono con il tempo a diventare molto più spesse e il prurito è più intenso <sup>(1)</sup>.

## 2.5. DIAGNOSI

La diagnosi si basa sull'esame colturale di campioni di pelle o peli infetti su terreni per dermatofiti <sup>(20)</sup>. L'infezione tende a spezzare il fusto, per cui è preferibile raccogliere i peli più corti <sup>(1)</sup>. La tipizzazione del dermatofita è utile per determinare l'origine dell'infezione. Il micelio fungino e le artrospore che si vedono sui peli in coltura si possono riscontrare anche su raschiati cutanei o peli prelevati e montati su vetrino con 10% di KOH, oppure in campioni di biopsie di cute colorate con la colorazione acido periodico di Schiff, la colorazione fungina Gridley, o la colorazione argentea di Gomori. L'utilizzo della fluorescenza del micelio sotto la lampada di Wood non è un buon metodo per diagnosticare dermatofitosi nel coniglio perchè le infezioni più frequenti sono provocate da *Trichophyton mentagrophytes*, che non dà fluorescenza e la presenza di detriti, batteri e cheratina può dare falsi positivi con fluorescenza bianco-blu <sup>(6,20)</sup>.

## 2.6. TRATTAMENTO

Molte infezioni da dermatofiti nel coniglio sono autolimitanti, ma il trattamento viene comunque raccomandato per il potenziale zoonosico. Si possono impiegare diversi metodi ai fini del trattamento.

La terapia locale topica non è consigliabile in quanto i dermatofiti possono essere presenti anche in



aree senza lesioni apparenti <sup>(20)</sup>.

Non esistono prodotti registrati specificamente per il coniglio; i dosaggi sono estrapolati da quelli per cani e gatti, ma mancano quasi sempre studi sulla sicurezza di impiego, per cui occorre ogni volta avvertire il proprietario di possibili effetti tossici o idiosincrasici non prevedibili a priori <sup>(1)</sup>. Il trattamento efficace per la dermatofitosi include immersioni in soluzione di zolfo diluita 1:32 con acqua, due volte a settimana, o allo 0,2% di enilconazolo, due volte a settimana <sup>(20)</sup>, econazolo shampoo, miconazolo soluzione, prodotti topici a base di clorexidina al 4% <sup>(1)</sup>. Sono riportati casi di morte indotta dallo stress dovuto al bagno nel coniglio; per questa ragione è consigliabile effettuare una sedazione prima di maneggiarlo <sup>(20)</sup>. Discuterne con il proprietario in base all'indole dell'animale e alla eventuale abitudine ad essere lavato. Soprattutto nei soggetti più piccoli si deve inoltre prevenire l'ipotermia <sup>(1)</sup>.

Trattare animali con lesioni multiple sistemicamente con griseofulvina (15-25 mg/kg PO q24h o diviso q12h per 30 giorni). Se la griseofulvina è in forma ultramicronizzata, ridurre la dose del 50% e somministrarla con un pasto più grasso per migliorarne l'assorbimento. La griseofulvina va usata con cautela dato che alte dosi possono causare soppressione midollare e panleucopenia. Inoltre la griseofulvina è teratogena e non può essere somministrata alle coniglie in gravidanza. I proprietari che la utilizzano devono indossare guanti protettivi <sup>(3,21,26,46)</sup>.

Altri farmaci più comunemente utilizzati oggi per la terapia delle dermatofitosi includono itraconazolo a 5-10 mg/kg PO q24h e terbinafina a 10 mg/kg PO q24h <sup>(20)</sup>. L'itraconazolo è molto ben tollerato e si può utilizzare anche nei soggetti giovani e gravidi. Va somministrato con il cibo <sup>(1)</sup>. È riportato l'utilizzo ai fini del trattamento del lufenuron, un regolatore della crescita degli insetti che inibisce la sintesi di chitina nella parete cellulare fungina <sup>(6)</sup>. In ogni caso l'impiego del lufenuron nel coniglio è improprio; non esistono ad oggi studi controllati su questo farmaco nel coniglio e questo trattamento non è considerato efficace nel management delle dermatofitosi in altri animali.

La procedura di togliere le croste o altro materiale dalle lesioni prima di applicare farmaci ad uso topico è controverso. Alcuni ritengono che questa procedura possa aiutare a penetrare meglio il farmaco nella pelle; altri sottolineano il fatto che può essere pericolosa nel provocare ulteriori lesioni che facilitino la generalizzazione dell'infezione. Se il pelo deve essere prelevato, prendere quello ai margini della lesione e disporne con cautela.

Il trattamento sistemico antifungino va continuato fino a che non risultano negativi due esami colturali effettuati a distanza di un mese l'uno dall'altro <sup>(11,22,23)</sup>. Molti trattamenti hanno durata minima dai 3 ai 4 mesi.

È essenziale effettuare una buona disinfezione dell'ambiente con soluzione di ipoclorito di sodio diluita 1:10 con acqua <sup>(20)</sup> o enilconazolo allo 0,2% <sup>(1)</sup>.

Le comuni lavatrici ad uso domestico spesso non raggiungono temperature tali da eliminare le spore infettanti.

Le dermatofitosi possono essere difficili da eliminare in grosse colonie di conigli. Ci sono scarsi dati in letteratura su possibili trattamenti e molti si riferiscono a sostanze ormai inutilizzate per gli effetti tossici. Ad esempio si può tentare trattamento spruzzando soluzione di zolfo al 2-3% direttamente sui conigli, tutte le settimane per 4 settimane. Un trattamento alternativo consiste nell'impiego di antifungino ad uso sistemico nel mangime, come griseofulvina a 0,825 gr per kg di mangime <sup>(20,26)</sup>.

# CAPITOLO 3

## DERMATOFITOSI NELLA CAVIA PERUVIANA (*Cavia porcellus*)

Le cavie, come molti animali, sono suscettibili a infezioni fungine provocate dai dermatofiti. Sebbene siano stati isolati sia *Trichophyton mentagrophytes* che *Microsporium canis*, la maggior parte dei casi clinici sono provocati da *Trichophyton mentagrophytes* <sup>(18)</sup>. Altri dermatofiti isolati sono *Microsporium audouinii*, *Microsporium equinum* e *Trichophyton rubrum* <sup>(25)</sup>.

### 3.1. SEGNALAMENTO

Gli animali giovani e immunodepressi sono i più suscettibili. I Teddy di razza pura e i Teddy Satin sono i più sensibili alle infezioni fungine. Non c'è prevalenza di sesso <sup>(14,18)</sup>. Molto frequenti sono i portatori asintomatici <sup>(25)</sup>.



Foto 3.1 Cavia di razza Teddy a sinistra e con mutazione Satin a destra (fonte:web).

### 3.2. SEGNI CLINICI

La dermatofitosi si presenta con lesioni squamose, a chiazze, su faccia, piedi e dorso. Le lesioni cutanee sono solitamente aree circolari alopeciche con infiammazione e bordi a volte crostosi. Può essere presente prurito <sup>(18,36)</sup>. Iniziano con perdita del pelo sulla faccia, attorno agli occhi, sulle tempie o sulle orecchie. Nei casi più severi può coinvolgere anche dorso e arti. In caso di onicomicosi le unghie si presentano fragili e irregolari, il colore è anomalo ed opaco <sup>(12)</sup>.



Foto 3.2 Dermatofitosi da *T. mentagrophytes* (fonte: Gaguère E. Diagnosi differenziali delle dermatiti pruriginose nei piccoli mammiferi. Quaderni di dermatologia, anno 6, n. 1, 2001).

### 3.3. DIAGNOSI DIFFERENZIALI

Infestazione da *Trixacarus caviae* o *Chirodiscoides caviae*: acari in grado di provocare lesioni crostose e forforose con prurito intenso sulla testa e sul corpo; la diagnosi si effettua mediante visualizzazione degli acari o delle rispettive uova da raschiati cutanei superficiali o scotch test.

Infestazioni da pidocchi (*Gliricola porcelli* e *Gyropus ovalis*): infezione caratterizzata da prurito e/o scaglie; talvolta nessun segno clinico; diagnosi mediante visualizzazione diretta dei pidocchi sul mantello.

Cisti ovariche: si caratterizza per un'alopecia non pruriginosa, che inizia solitamente sul tronco per espandersi progressivamente; la diagnosi si effettua mediante ultrasonografia e/o esame istopatologico<sup>(48)</sup>.

### 3.4. DIAGNOSI

La diagnosi si basa sui segni clinici, l'eventuale valutazione diretta del pelo con la lampada di Wood per verificare presenza di fluorescenza, l'esame citologico del pelo, e l'esame colturale.

E' bene ricordare che *T. mentagrophytes* non dà fluorescenza sotto la lampada di Wood; per questa ragione questo test risulta essere quasi sempre negativo.

La coltura fungina è l'esame necessario per un'accurata diagnosi.

### 3.5 TRATTAMENTO

Il trattamento è simile a quello utilizzato nel coniglio. Si possono usare prodotti ad uso topico come shampoo antifungini (ketoconazolo/clorexidina), lozioni antifungine o spray (miconazolo, enilconazolo, butenafina), o prodotti sistemici da usare per via orale (itraconazolo, 5 mg/kg ogni 24 ore; griseofulvina, 25 mg/kg ogni 24 ore per 14-28 giorni; fluconazolo, 16 mg/kg ogni 24 ore per 14 giorni)<sup>(14,18,36)</sup>.

## CAPITOLO 4

# DERMATOFITOSI NEI PICCOLI RODITORI DA COMPAGNIA

### 4.1. CINCILLA'

La dermatofitosi nel cincillà è più comunemente causata da *Trichophyton mentagrophytes*, anche se *Microsporum canis* e *Microsporum gypseum* possono essere responsabili di tigna in questa specie. I cincillà infetti possono presentare piccole chiazze squamose, alopeciche, sul naso, dietro le orecchie, sugli arti anteriori. Le lesioni possono comparire su ogni parte del corpo; in casi avanzati è tipica un'area larga circoscritta di infiammazione, con formazione di croste tipiche.

Molti studi micologici sul cincillà si basano su animali con segni clinici, ma *Trichophyton mentagrophytes* è stato isolato dal 5% del mantello di animali clinicamente sani e il 30% di quelli con lesioni evidenti al mantello <sup>(11)</sup>. Dato che *Trichophyton mentagrophytes* non dà fluorescenza, questo esame è poco utile ai fini della diagnosi. Per ottenere una diagnosi corretta occorre effettuare un esame microscopico diretto del pelo e di campioni di cute e l'esame colturale.

La terapia possono essere utilizzati prodotti ad uso topico, più o meno in associazione a prodotti antifungini sistemici. Il trattamento topico rimuove le spore dal fusto del capello, il trattamento sistemico agisce sui follicoli piliferi. Per la terapia topica sono efficaci shampoo con miconazolo e clorexidina al 2%, o bagni con enilconazolo allo 0,2%. I farmaci utilizzabili per il trattamento sistemico sono terbinafina (20-40 mg/kg PO ogni 24 ore), itraconazolo (5-10 mg/kg PO ogni 24 ore), o ketoconazolo (10-15 mg/kg PO ogni 24 ore). La terbinafina è più efficace dell'itraconazolo contro le specie di *Trichophyton* nei roditori. La terapia va continuata fino ad ottenere due esami culturali negativi a distanza di un mese l'uno dall'altro <sup>(29,31)</sup>.

### 4.2. RATTO E TOPO

La dermatofitosi, provocata da *Trichophyton mentagrophytes* è non è molto comune nei topi e ratti da compagnia. Le lesioni quando sono presenti, sono più comuni sulla faccia, testa, collo e coda. Le lesioni hanno un aspetto forforoso, con aree crostose alopeciche ed eritema e croste di grado variabile. Il prurito è solitamente minimo o assente e le lesioni non danno fluorescenza sotto la lampada di Wood. La diagnosi e il trattamento sono sovrapponibili a quelli descritti per gli altri roditori <sup>(11)</sup>.

### 4.3. CRICETO

La dermatofitosi è di raro riscontro nei criceti, ma i portatori asintomatici sembrano essere comuni. I segni clinici sono caratterizzati da alopecia, eritema, scaglie, croste sulla faccia o sul tronco. *Trichophyton mentagrophytes* è la causa principale di dermatofitosi <sup>(15)</sup>.

La diagnosi si effettua mediante esame microscopico diretto di pelo e raschiati cutanei superficiali ed esame colturale.

Per la terapia è consigliabile effettuare trattamento antifungino sistemico per la scarsa praticità del trattamento ad uso topico; è possibile utilizzare itraconazolo 5-10 mg /kg PO ogni 24 ore per 3-4 settimane, griseofulvina 25 mg/kg PO ogni 24 ore, terbinafina 10-30 mg/kg PO ogni 24 ore per 4-6 settimane, ketoconazolo 10-40 mg/kg PO ogni 24 ore per 14 giorni <sup>(7)</sup>.

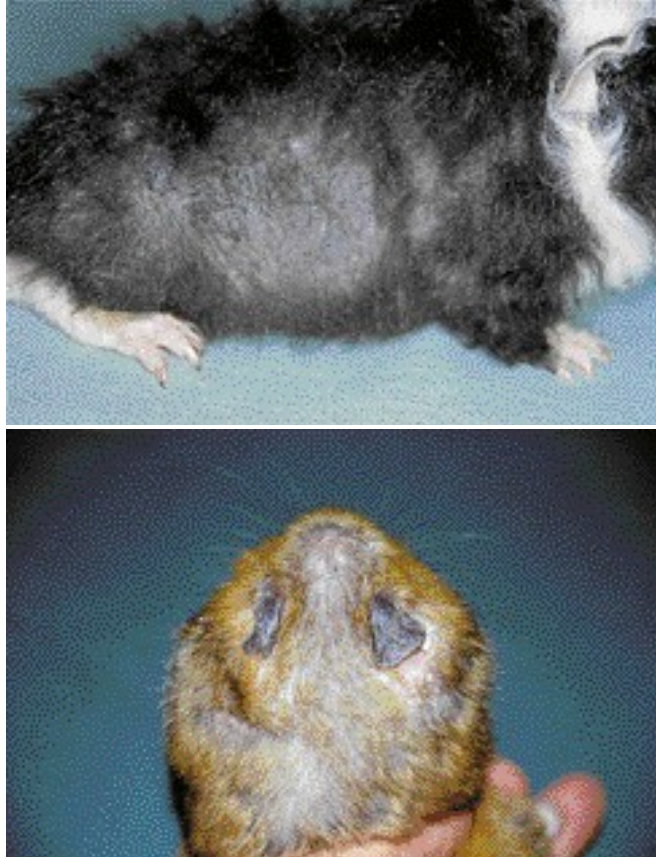


Foto 4.1 Dermatofitosi nel criceto da *T.mentagrophytes* (fonte: Gaguère E. Diagnosi differenziali delle dermatiti pruriginose nei piccoli mammiferi. Quaderni di dermatologia, anno 6, n. 1, 2001).

#### 4.4. GERBILLO

I dermatofiti sono di raro riscontro nei gerbilli. Il principale agente causale è *Trichophyton mentagrophytes*. I segni clinici sono sovrapponibili a quelli descritte per le altre specie. La diagnosi si effettua sempre mediante esame microscopico diretto del pelo e/o esame colturale di pelo infetto o raschiati cutanei superficiali. La terapia si effettua mediante antifungini sistemici o topici <sup>(15)</sup>.

# CAPITOLO 5

## DIAGNOSI e PROTOCOLLI TERAPEUTICI delle DERMATOFITOSI: dalla clinica al laboratorio

### 5.1. DIAGNOSI

#### 5.1.1. Lampada di Wood

La lampada di Wood emette raggi ultravioletti ad una lunghezza d'onda di 330-365 nm e viene utilizzata in stanze oscurate per esaminare il pelo da certi dermatofiti puntando direttamente la sua luce sul campione da esaminare. *Microsporum canis* e *Microsporum equinum* mostrano una fluorescenza giallo-verdastra dovuta alla pteridina, sostanza secreta da questi funghi. L'uso della lampada di Wood è uno strumento utile nella pratica clinica dei piccoli animali, ma presenta diversi limiti dato che non tutti i ceppi di *M. canis* mostrano fluorescenza; alcune preparazioni topiche possono inoltre mascherarla. Inoltre se la cute viene sfregata con alcool la fluorescenza potrebbe essere meno intensa o può non essere specifica. Quando si utilizza, una fluorescenza verde brillante può essere considerata come un'indicazione di dermatofitosi, ma in sua assenza non è possibile escludere tale infezione, in quanto alcuni funghi producono scarsa o nulla fluorescenza<sup>(9,30,44)</sup>. *Trichophyton mentagrophytes* ad esempio solitamente non emette fluorescenza sotto la lampada di Wood, motivo per cui questo esame è poco indicato nella diagnosi di dermatofitosi nel coniglio e roditori. Si possono avere false positività a seguito della presenza sul pelo di cluster di cheratina e batteri.

#### 5.1.2. Metodi di campionamento:

I raschiati cutanei o il prelievo diretto dall'animale di ciuffi di peli sono i metodi più comuni utilizzati. I campioni di cute dovrebbero essere prelevati ai margini della lesione con una lama da bisturi. I raschiati dovrebbero essere molto superficiali per evitare il sanguinamento. I campioni dovrebbero essere posti in un contenitore di carta o in un foglio di carta nera – è più semplice vedere il materiale del raschiato su una superficie nera – e alcuni peli debbono essere presi strappandoli con un paio di pinze. Non ha valore tagliare il pelo con le forbici perchè le strutture parassitarie fungine (artroconidi) stanno alla base del pelo.

Una tecnica alternativa è quella di Mackenzie<sup>(28)</sup>. Consiste nello spazzolare il pelo dell'animale con uno spazzolino da denti o una spazzola da barbiere sterili, per poi in seminarle direttamente sul terreno adeguato. E' una buona tecnica dove sia necessario campionare molti animali o dove sia difficile contenerli.

#### 5.1.3. Esame Diretto al Microscopio:

La forma parassitaria dei dermatofiti sui tessuti animali appare come filamenti verdastri, snelli nei raschiati cutanei o come artroconidi attorno o all'interno del pelo, creando uno strato di spore<sup>(19,17)</sup>. Per visualizzare queste strutture è necessario diafanizzare il campione utilizzando una soluzione alcalina forte come KOH, NaOH o Ca(OH)<sub>2</sub>; KOH è la soluzione più comunemente utilizzata dai micologi e i clinici.

E' possibile colorare i preparati con metodiche semplici (blu di metilene, inchiostro di china, arancio di acridina) o differenziali (ematossilina-eosina).

Una tecnica differente è utilizzata per visualizzare le strutture dei dermatofiti. Il metodo utilizza una miscela di potassio idrossido e calcofluor bianco (CFW). CFW lega la chitina della parete cellulare fungina e conferisce fluorescenza dal verde brillante al blu sotto la luce ultravioletta, usando il microscopio a fluorescenza. Con questa tecnica ci si può aspettare una buona quantità di fluorescenza non specifica, proveniente da materiale cellulare animale, o da fibre sintetiche o naturali. CFW mette in evidenza strutture sospette; in ogni caso l'interpretazione si basa sul riconoscimento delle caratteristiche morfologiche tradizionali del fungo <sup>(9,17)</sup>.

### **CALCOFLUOR BIANCO CON 10% KOH**

Tecnica per l'esame microscopico diretto da raschiati cutanei, peli, unghie e altri campioni clinici di elementi fungini.

Calcofluor bianco o Blankophor BA sono usati come agenti sbiancanti nell'industria della carta e si legano selettivamente alla chitina e cellulosa. La tinta emette fluorescenza quando esposta ai raggi ultravioletti. Questo è un metodo molto sensibile e necessita di un microscopio a fluorescenza con filtri ultravioletti corretti.

#### **METODO**

-Soluzione A di reagente KOH:

dissolvere KOH in acqua e aggiungere glicerolo.

KOH 10 gr;

glicerina 10 ml;

acqua distillata 90 ml.

-Soluzione B di reagente Calcofluor bianco:

dissolvere la polvere di Calcofluor bianco nell'acqua distillata riscaldandola lentamente.

Calcofluor bianco 0,1 gr;

acqua distillata 100 ml.

-Metodo per le preparazioni al microscopio:

1 mescolare una goccia di ogni soluzione al centro di un vetrino portaoggetti.

2 mettere il campione nella soluzione e coprire con vetrino coprioggetto,

3 riscaldare il vetrino moderatamente ed esaminare al microscopio per la presenza di elementi fungini che emettono fluorescenza verde mela o bianca gessosa, a seconda del filtro utilizzato.

Questo è un metodo molto rapido e sensibile, ma necessita di microscopio a fluorescenza dotato di filtri che diano un'eccitazione con luce ultravioletta sotto i 400 nm di lunghezza d'onda <sup>(13)</sup>.

### **5.1.4. Esame Colturale:**

Il mantello degli animali è generalmente molto contaminato, specialmente da conidi fungini, spore e batteri. E' richiesta molta pazienza per ottenere un isolato da dermatofiti a crescita lenta, ed è necessario usare terreni che aiutino a prevenire la crescita di funghi saprofiti o batteri. I micologi spesso hanno la loro ricetta personale per la messa in coltura di dermatofiti, ma sono comunque presenti in commercio molti terreni che includono gli ingredienti base. Questi includono glucosio 4%, peptone 1%, agar 2% (Sabouraud agar destrosio, SDA), associati ad agenti antibatterici come penicillina, streptomycin e cicloesamide (una sostanza che aiuta a rallentare la crescita dei funghi che si svilupperebbero velocemente), o una combinazione di questi.

Il genere di dermatofiti riportati nel coniglio e roditori (*Trichophyton* e *Microsporum*) si sviluppano in 4-7 giorni a 25-28°C<sup>(9)</sup>.

## TERRENI DI COLTURA

### Dermatophyte Test Media (DTM)

L'uso del DTM è di aiuto nel confermare l'isolamento di un dermatofita. DTM è disponibile in commercio e può essere usato direttamente dal clinico come ausilio diagnostico della tigna. DTM presenta un indicatore di pH (rosso fenolo) che fa virare dal color ambra iniziale al rosso quando un dermatofita cresce su questo terreno. Sfortunatamente vi sono diversi funghi e batteri che possono crescere e produrre un cambiamento di pH, tale da ottenere false positività. Lo studio della coltura a quel punto è l'unico mezzo per confermare la natura della crescita<sup>(9,37)</sup>.

### Sabouraud Agar Destrosio per Dermatofiti

Terreno per primo isolamento e coltura di dermatofiti. Contiene cicloesamide, cloramfenicolo, gentamicina ed estratto di lievito.

Tabella 4 Composizione Sabouraud Agar Destrosio

Sabouraud Agar Destrosio (Oxoid CM41)	65 gr
Cicloesamide (Actidione)	0,5 gr
Cloramfenicolo	1 capsula x 250 mg
Estratto di lievito	5 gr
Gentamicina (40 mg/ml)	0,65 ml
Acqua distillata	1000 ml

### Potato Dextrose Agar

Per la coltura e identificazione di routine dei funghi.

Contiene:

-Potato dextrose agar (Oxoid CM139) 39 gr

-acqua distillata 1000 ml

### Lactrimel Agar per dermatofiti

Per la produzione di pigmento da *Trichophyton rubrum*.

Tabella 5 Composizione Lactrimel Agar per dermatofiti

Latte scremato in polvere	7 gr
Miele	10 gr
Agar di mais (BD)	17 gr
Cloramfenicolo	1 capsula x 250 mg
Acqua distillata	1000 ml



### **Test di Perforazione del Pelo per Dermatofiti**

Per distinguere tra gli isolati di dermatofiti, in particolare *Trichophyton mentagrophytes* e le sue varianti.

Contiene:

- peli autoclavati e tagliati in piccoli pezzi (1 cm);
- acqua distillata in fiale da 5 ml.

Metodica:

- 1 mettere il pelo nelle fiale di acqua distillata;
- 2 inoculare con piccoli frammenti del fungo da testare;
- 3 rimuovere ad intervalli di 4 settimane i peli singolarmente ed esaminarli al microscopio in lactophenol cotton blue. Gli isolati di *T. mentagrophytes* producono aree localizzate di erosione mentre *T. rubrum* no.

### **Agar Ureasi con 0,5% di glucosio**

Composizione:

- urea, brodo base (Oxoid CM71) 0,9 gr;
- acqua distillata 91 ml;
- Bacto Agar (BD) 1,5 gr.

### **Agar Trichophyton N 2-7**

Per la differenziazione delle specie di *Trichophyton*.

Composizione:

- Agar Trichophyton (BD) 5,9 gr;
- acqua distillata 1000 ml.

### **Terreno con chicchi di riso**

Per indurre la sporulazione e differenziazione di *M. audouinii*, *M. canis* e *M. distortum*.

Composizione:

- 1/2 cucchiaino di chicchi di riso;
- fiale da 20 ml;
- acqua distillata 8 ml.

### **Littman Oxgall Agar**

Per l'inoculazione di routine di campioni di pelle, unghie, peli ecc.

Composizione:

- Littman Oxgall Agar (BD) 27,5 gr;
- acqua distillata 500 ml.

### **Agar Destrosio Sabouraud con 5 % NaCl**

Per la coltura e differenziazione di dermatofiti, in particolare *T. rubrum* da *T. mentagrophytes*.

Composizione:

- Agar Sabouraud Destrosio (Oxoid CM41) 32,5 gr;
- sodio cloruro NaCl 25 gr;
- acqua distillata.

## Agar Senza Vitamina (Trichophyton Agar No 1)

Per la differenziazione delle specie di *Trichophyton*.

Composizione:

- Trichophyton Agar No.1 (BD) 11,8 gr;
- acqua distillata 200 ml.

## Agar Peptone all'1%

Per la coltura e differenziazione dei funghi.

Composizione:

- Bacto Peptone (BD) 5 gr;
- Bacto-Agar (BD) 10 gr;
- acqua distillata 500 ml <sup>(13)</sup>.

### 5.1.5. Identificazione e caratterizzazione dei dermatofiti

Dopo il primo isolamento di un dermatofita sospetto è necessario identificare genere e specie. Il metodo tradizionale prevede di fare una “coltura su vetrino”. Sebbene siano descritte molte varianti di questa tecnica, la più semplice è descritta da Herris <sup>(17)</sup>. I componenti del sistema consistono di una piastra Petri, un supporto in vetro a forma di V, un vetrino portaoggetto e un coprioggetto, tutti sterilizzati in autoclave. Il sistema è preparato appoggiando il vetrino portaoggetti sul supporto in vetro sulla piastra. Un blocco quadrato di 1 cm<sup>2</sup> viene tagliato da una piastra di SDA in maniera sterile e trasferita al centro del vetrino. Il terreno solido viene quindi inoculato mettendo una piccola quantità di dermatofita sospetto sui quattro lati del blocco, con un vetrino coprioggetto sopra. Si deve aggiungere una miscela di acqua-glicerina alla base della piastra di Petri, per evitare la disidratazione del mezzo.

Dopo l'inoculo, la piastra di Petri viene messa ad incubare a 25-28°C. La crescita dei funghi si può osservare nel punto di inoculo e può coprire la superficie della piastra. Le strutture riproduttive (macroconidi, microconidi, ife a spirale, ecc) sono di aiuto nell'identificazione del tipo di fungo. Togliere il vetrino coprioggetto e montarlo su un vetrino pulito assieme ad una goccia di Lactophenol Cotton Blue (LPCB). Cercare di evitare la formazione di bolle, in quanto impediscono una corretta visualizzazione delle strutture fungine. Togliere il resto della coltura dalla piastra di Petri, eliminare l'agar con una soluzione disinfettante, cercando di conservare il preparato in modo intatto. Mettere una goccia di LPCB e un vetrino coprioggetto. Quindi esaminare i vetrini a ingrandimento basso e medio. L'uso di un manuale per l'identificazione è necessario per arrivare a genere e specie del fungo <sup>(9)</sup>.

## Lactophenol Cotton Blue

Per la colorazione e identificazione al microscopio dei funghi.

Tabella 6 Composizione Lactophenol Cotton Blue

Cotton Blue (Aniline Blue)	0,05 gr
Phenol Crystals (C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> O <sub>4</sub> )	20 gr
Glicerolo	40 ml
Acido lattico (CH <sub>3</sub> CHOH COOH)	20 ml
Acqua distillata	20 ml

Metodica:

Questa colorazione si effettua su 2 giorni;

1 Il primo giorno, dissolvere Cotton Blue in acqua distillata. Lasciare agire tutta la notte per eliminare colorante insolubile.

2 Il secondo giorno, indossare guanti e aggiungere phenol crystal all'acido lattico in una tanica di beaker di vetro. Mettere su centrifuga magnetica sino a che il fenolo non si è dissolto.

3 Aggiungere il glicerolo.

4 Filtrare la soluzione di Cotton Blue e acqua distillata nella soluzione fenolo/glicerolo/acido lattico. Mescolare e conservare a temperatura ambiente <sup>(13)</sup>.

## 5.2. PROTOCOLLI TERAPEUTICI delle DERMATOFITOSI

**Tabella 7 Agenti antifungini comunemente/occasionalmente utilizzati nel coniglio e roditori da compagnia** <sup>(5,7,8,18,20,29,44)</sup>

Agente	Coniglio	Cavia peruviana (p)/ Cincillà (c)	Gerbillo / Criceto (c)	Ratto (r)/ Topo (t)
Amfotericina B	-	-	1 mg/kg SC q24h 5 giorni/settimana per 3 settimane (c)	0,11 mg/kg SC; 0,43 mg/kg PO (t)
Enilconazolo	-	-	-	Immersioni in soluzione 0,2% q7giorni (t)
Fluconazolo	38 mg/kg PO q12h	16 mg/kg PO q24h per 14giorni	-	-
Griseofulvina	12,5-25 mg/kg PO q12-24h per 30-45 giorni	15-50 mg/kg PO q24h per 14-28 giorni (p); 25 mg/kg PO q 24h (c)	25 mg/kg PO q24h	25 mg/kg PO q24h
Itraconazolo	5-10 mg/kg PO q24h	2,5-10 mg/kg PO q24h (p)	-	2,5-10 mg/kg PO q24h (r); 50 mg/kg PO q24h (t)
Ketoconazolo	10-40 mg/kg PO q24h per 14 giorni	10-40 mg/kg PO q24h per 14 giorni	10-40 mg/kg PO q24h per 14 giorni	10-40 mg/kg PO q24h per 14 giorni
Miconazolo	Applicazione topica q24h per 14-28 giorni	-	-	-
Miconazolo/shampoo alla clorexidina	Bagni giornalieri	-	-	-
Immersioni in soluzione 2,5% di calce di zolfo	Immersioni q7 giorni per 4 trattamenti	Immersioni q7 giorni (p); immersioni q7 giorni per 4 trattamenti (c)	Applicare topicamente q7giorni per 4 trattamenti	Applicare topicamente q7giorni per 4 trattamenti
Terbinafina	100 mg/kg PO q12-24h per 21 giorni	10-30 mg/kg PO q24h per 4-6 settimane	10-30 mg/kg PO q24h per 4-6 settimane	10-30 mg/kg PO q24h per 4-6 settimane
Preparazione topica all'ozono	0,12 gr topicamente, 1 volta al giorno per 28 giorni	-	-	-
Lufenuron (Program, Novartis)	-	100 mg/kg PO per 3 trattamenti (c)	-	-

# CAPITOLO 6

## ASPETTI ZOONOSICI delle DERMATOFITOSI

Le dermatofitosi (tinea o tigna) del cuoio capelluto, della pelle glabra e delle unghie è provocata da un stretto gruppo di funghi conosciuti come dermatofiti, che hanno la capacità di utilizzare la cheratina come fonte nutritiva, possedendo una capacità enzimatica unica (cheratinasi).

Il processo patologico nelle dermatofitosi è unico per due ragioni: primo, nessuno tessuto vivente è invaso, lo strato corneo cheratinico è semplicemente colonizzato. Ad ogni modo, la presenza del fungo e i suoi prodotti metabolici inducono una risposta infiammatoria ed eczematosa nell'ospite.

Il tipo e la severità della risposta dell'ospite è spesso in relazione alla specie e al ceppo di dermatofita che ha causato l'infezione. Secondo, i dermatofiti sono gli unici funghi che si sono evoluti in dipendenza dall'infezione umana e animale per la sopravvivenza e la disseminazione delle loro specie.

### 6.1. Manifestazioni cliniche:

Le specie antropofile comuni sono primariamente parassiti dell'uomo (Tabella 8). Non sono in grado di colonizzare altri animali e non hanno altre risorse ambientali. Dall'altro lato, le specie geofile solitamente vivono nel suolo dove decompongono detriti cheratinici.

Alcune specie possono causare infezioni negli animali e nell'uomo dopo contatto con il suolo. Le specie zoofile primariamente parassiti degli animali e le infezioni possono essere trasmesse all'uomo a seguito del contatto con l'animale ospite. (Tabella 8).

Le infezioni da funghi zoofili solitamente provocano una forte risposta dell'ospite e sulle aree della pelle dov'è avvenuto il contatto con l'animale, ad esempio braccia, gambe, corpo o faccia.

**Tabella 8 Ecologia delle Specie di Dermatofiti dell'Uomo più comuni.**

<b>Specie</b>	<b>Habitat naturale</b>	<b>Incidenza</b>
<i>Epidermophyton floccosum</i>	uomo	comune
<i>Trichophyton rubrum</i>	uomo	Molto comune
<i>Trichophyton interdigitale</i>	uomo	Molto comune
<i>Trichophyton tonsurans</i>	uomo	comune
<i>Trichophyton violaceum</i>	uomo	Meno comune
<i>Trichophyton concentricum</i>	uomo	rara*
<i>Trichophyton schoenleinii</i>	uomo	rara*
<i>Trichophyton soudanense</i>	uomo	rara*
<i>Microsporum audouinii</i>	uomo	Meno comune*

<i>Microsporum ferrugineum</i>	uomo	Meno comune*
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	Topo, roditori	comune
<i>Trichophyton equinum</i>	cavallo	rara
<i>Trichophyton eriotrephon</i>	riccio	rara*
<i>Trichophyton verrucosum</i>	bovino	rara
<i>Microsporum canis</i>	gatto	comune
<i>Nannizzia gypsea</i>	suolo	comune
<i>Nannizzia nana</i>	Suolo/maiale	rara
<i>Lophophyton cookei</i>	suolo	rara

\* restrizione geografica.

### 6.1.1. Tinea pedis

Le infezioni da dermatofiti antropofili sono causate generalmente dalla diffusione di scaglie di pelle contenenti elementi ifali infettivi (artroconidi) del fungo. Le scaglie di pelle desquamata possono rimanere infettanti nell'ambiente per mesi o anni. Per questa ragione la trasmissione può avvenire per contatto indiretto molto tempo dopo che il detrito infettivo è stato eliminato.

Substrati come tappeti e similari, che trattengono le scaglie di pelle, sono ottimi vettori. Per questo motivo, la trasmissione di dermatofiti come *Trichophyton rubrum*, *T. interdigitale* ed *Epidermophyton floccosum* avviene solitamente tramite i piedi. In questo sito le infezioni sono spesso croniche e possono rimanere subcliniche per molti anni per dare sintomi solo quando si diffondono ad altri siti, come la pelle o l'inguine.

E' importante sapere che lo spazio fra le dita dei piedi è il maggio reservoir del corpo umano per questi funghi e perciò non è efficace trattare infezioni in altre parti del corpo senza un trattamento concomitante di queste parti. E' essenziale se si vuole ottenere una buona guarigione. Dovrebbe essere inoltre riconosciuto che gli individui con infezioni subcliniche agli spazi tra le dita dei piedi sono portatori e rappresentano un rischio per la salute pubblica, dato che eliminano costantemente scaglie di pelle.

Tinea pedis causata da *T. rubrum*. Infezione subclinica (a sinistra) che mostra una lesione modesta sotto il dito del piede più piccolo e un'infezione più severa che mostra un' intensa macerazione di tutti gli spazi interdigitali.



Foto 6.1 “Tipo a mocassino” di Tinea pedis provocato da *E. floccosum* (sinistra) e tipo vescicolare di Tinea pedis causato da *T. interdigitale* (destra) (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).



Foto 6.2 “Tinea incognito” o Tinea pedis modificata dagli steroidi, provocata da *T. rubrum* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).



Foto 6.3 Tinea viene trasmessa tramite i piedi da scaglie di pelle desquamata in substrati come tappeti e moquette (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

### 6.1.2. Tinea cruris

Tinea cruris si riferisce alle dermatofitosi delle cosce prossimali e mediali, inguine e natiche. Colpisce più di frequente il maschio ed è solitamente provocata dalla diffusione del fungo da i piedi. L'agente causale principale è *T. rubrum*, *T. interdigitale* e *T. floccosum*.



Foto 6.4 Tinea sull'inguine che mostra le tipiche lesioni eritematose fra le cosce (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).



Foto 6.5 Tinea delle natiche provocata dal ceppo lanuginoso di *T. rubrum* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

### 6.1.3. Tinea unguium (onicomicosi da dermatofita)

*Trichophyton rubrum* e *T. interdigitale* sono le specie di dermatofita dominanti coinvolte. In paesi come l'Australia, UK e Stati Uniti l'incidenza delle onicomicosi da dermatofiti si è stimata essere al 3% della popolazione, con picchi fino al 5% negli anziani e fino al 20% in sottogruppi come minatori, militari, sportivi, a causa del utilizzo in comune di docce e spogliatoi.

E' importante sapere che solo il 50% delle unghie distrofiche ha un'eziologia fungina, perciò è importante stabilire una corretta diagnosi di laboratorio tramite microscopia e/o coltura, prima di trattare il paziente con un agente antifungino sistemico.



Foto 6.6 Tinea delle unghie provocata da *T. rubrum* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

L'onicomicosi da dermatofita può essere classificata in due tipi principali: (1) onicomicosi superficiale bianca; l'invasione è confinata alla superficie dell'unghia; e (2) invasiva, dermatofitosi subungueale, dove i bordi prossimali, distali e laterali dell'unghia vengono coinvolti primariamente, seguiti dallo stabilirsi dell'infezione sul letto ungueale. L'onicomicosi distale subungueale è la forma più comune di onicomicosi da dermatofita. Il fungo invade il letto ungueale distale causando ipercheratosi, onicolisi e ispessimento dell'unghia.

Come il nome suggerisce, l'onicomicosi subungueale laterale inizia ai bordi laterali dell'unghia e spesso si diffonde a coinvolgere l'intero letto e piatto ungueale. Nell'onicomicosi subungueale prossimale, il fungo invade l'area sotto la cuticola e infetta il letto ungueale prossimale piuttosto che quello distale, causando macchie gialle-biancastre, che lentamente invadono la lanula e il piatto ungueale.

## 6.1.4 Tinea corporis

Tinea corporis si riferisce alle dermatofitosi della pelle glabra e possono essere provocate da specie antropofile come *T. rubrum* per diffusione da un altro sito del corpo o da specie geofiliche o zoofile come *M. gypseum* e *M. canis*, a seguito del contatto con il suolo contaminato o ospiti animali <sup>(13)</sup>. Sono riportati casi di tinea corporis da contatto con conigli infetti da *A. benhamiae* <sup>(24)</sup>.



Foto 6.7 Tinea corporis provocata da *T. rubrum* in Aborigeni Australiani che vivono vicino a Darwin nel Northern Territory (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).





Foto 6.8 Tinea corporis causata da *M. canis* a seguito del contatto con gattini infetti (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

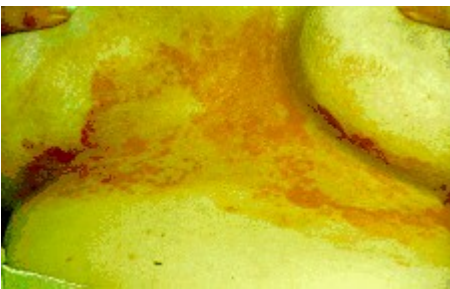


Foto 6.9 Tinea corporis sub-mammaria provocata da *E. floccosum* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).



Foto 6.10 Tinea della barba causata da *T. rubrum* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

### 6.1.5. Tinea capitis

Tinea capitis si riferisce alle dermatofitosi del cuoio capelluto. Si riconoscono in vivo tre tipi di invasioni del cuoio capelluto:

1. L'invasione di tipo ectotrix è caratterizzata dallo sviluppo di artroconidi sulla parte esterna del fusto del capello. La cuticola del capello è distrutta e i capelli infetti solitamente danno fluorescenza verde giallastra sotto la lampada di Wood. Gli agenti comuni includono *Microsporum canis*,

*Nannizzia gypsea*, *Trichophyton equinum* e *Trichophyton verrucosum*.

2.L'invasione del capello di tipo endotrix è caratterizzata dallo sviluppo di artroconidi all'interno del fusto del capello. La cuticola del capello rimane intatta e i capelli infetti non danno fluorescenza sotto la lampada di Wood. Tutti gli agenti in grado di causare infezione di tipo endotrix sono antropofili (ad esempio *Trichophyton tonsurans* e *Trichophyton violaceum*).

3.Favo, solitamente causato da *Trichophyton schoenleinii*, che produce croste simili al favo e perdita dei capelli <sup>(13)</sup>.

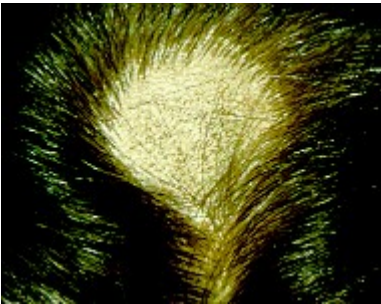


Foto 6.11 Tinea capitis che mostra perdita di capelli provocata da *M. canis* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).



Foto 6.12 "Cherion" provocato da *M. canis* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).



Foto 6.13 Lesione a cherion provocata da *T. verrucosum* a seguito di contatto con bovino infetto (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).



Foto 6.14 Tinea capitis di tipo endotrix (sinistra) provocata da *T. tonsurans* e tinea capitis a “punto nero” causata da *T. violaceum* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

### 6.1.6. Infezione da *A. benhamiae* nell'uomo

*A. benhamiae* è un patogeno emergente appartenente al complesso di *Trichophyton mentagrophytes*, in grado di provocare tinea corporis e tinea capitis altamente infiammatorie nell'uomo. Il reservoir naturale di questa specie è la cavia peruviana <sup>(4)</sup>.

Oggigiorno si assume che tra le specie di *Trichophyton* sia un patogeno molto comune in grado di causare dermatofitosi, in particolare nei bambini e adolescenti.

Le forme cliniche provocate oltre a tinea corporis e tinea capitis sono tinea faciei e cherion. Sono riportati anche rari casi di onicomicosi.

I siti prediletti sono il tronco e le braccia (tinea corporis), la faccia (tinea faciei) e il cuoio capelluto (tinea capitis e cherion).

Alla presentazione clinica, a seconda del sito di infezione, le lesioni mostrano aree alopeciche, circolari, a crescita centrifuga, squamose, eritematose, con ipercheratosi centrale, o talvolta con vescicole, con o senza prurito.

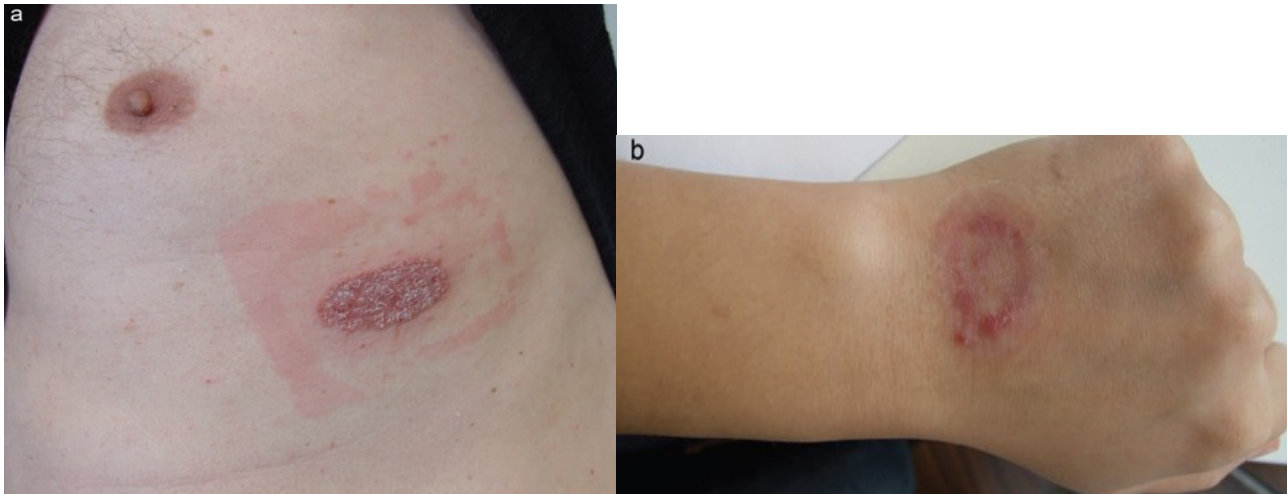


Foto 6.15 Tinea corporis (a) e tinea mannis (b) causate da *A. benhamiae* (fonte: Nenoff et al. *Trichophyton* species of *Arthroderma benhamiae* – a new infection agent in dermatology. *JDDJ*, 2014:571-581).



Foto 6.16 Tinea capitis provocata da *A. benhamiae* (fonte: Nenoff et al. Trichophyton species of *Arthroderma benhamiae* – a new infection agent in dermatology. JDDJ, 2014:571-581).

Le cavie peruviane sono la fonte di infezione più importante, ma anche conigli e altri piccoli roditori, possono fungere da potenziali carriers.



Foto 6.17 Dermatofitosi da *A. benhamiae* in una cavia, con lesione alopecica, ipercheratosica sul dorso (fonte: Nenoff et al. Trichophyton species of *Arthroderma benhamiae* – a new infection agent in dermatology. JDDJ, 2014:571-581).

A differenza di altri dermatofiti antropofili, ad es. *T. tonsurans*, *A. benhamiae* causa frequente di infezioni altamente infiammatorie, che sostengono l'ormai noto pattern di citokine prodotte dai cheratinociti. Queste infezioni risultano infatti nella produzione di numerose citochine proinfiammatorie e immunomodulanti, come IL1 $\beta$ , IL2, IL4, IL6, IL10, IL13, IL15, IL16, IL17 e gamma interferone.

La diagnosi si avvale delle caratteristiche colturali e metodiche di biologia molecolare (es. PCR).

Il trattamento topico può essere effettuato utilizzando qualsiasi antimicotico efficace contro i dermatofiti, ad es. imidazoli (clotrimazolo, bifonazolo), ciclopirox o terbinafina.

Per le forme estese, specialmente di tinea capitis, è consigliabile effettuare un trattamento orale. In questo caso la terbinafina è il farmaco di prima scelta, efficace e molto ben tollerata, con fluconazolo e itraconazolo come valide alternative. L'eccellente efficacia della terbinafina su *A. benhamiae* è rispecchiata dal valore della sua MIC di 0,0156 µg/ml osservata negli studi in vitro <sup>(33)</sup>.

## 6.2. Diagnosi di laboratorio

### 6.2.1. Materiale Clinico

Raschiati cutanei, frammenti d'unghia e peli strappati. Per una diagnosi di laboratorio, il clinico deve essere a conoscenza del fatto che è necessario procurare una quantità adeguata di materiale clinico. Sfortunatamente molti campioni sottoposti a indagine sono scarsi o inappropriati per emettere una diagnosi definitiva. Il laboratorio ha bisogno di quantità sufficienti di materiale per effettuare una coltura e la microscopia. L'esame microscopico necessita di meno di 24 ore, mentre per l'esame colturale sono necessarie diverse settimane.

In pazienti con sospetto di dermatofitosi della pelle (tinea o tigna) ogni lozione o sostanza applicata localmente dovrebbe prima essere rimossa con un batuffolo di cotone. Usando una lama da bisturi smussata, pinzetta o un altro strumento per curettare, raschiare bene la lesione, in particolare ai bordi. In casi di tinea pedis vescicolare, la superficie di ogni vescicola fresca dovrebbe essere rimossa, in quanto il fungo si trova nella parete della stessa.

In pazienti con sospetto di dermatofitosi delle unghie (onicomicosi) l'unghia dovrebbe essere pareggiata e raschiata con lama da bisturi smussa, sino a che non viene raggiunta la parte bianca degenerata. Dovrebbe essere prelevato anche ogni detrito bianco di cheratina che si trova sotto il margine libero dell'unghia.

Campioni di pelle o unghia possono essere raschiati direttamente e posti su contenitori di carta neri, in modo che sia più semplice valutare quanto materiale è stato prelevato e mantenere le corrette condizioni per il trasporto al laboratorio.

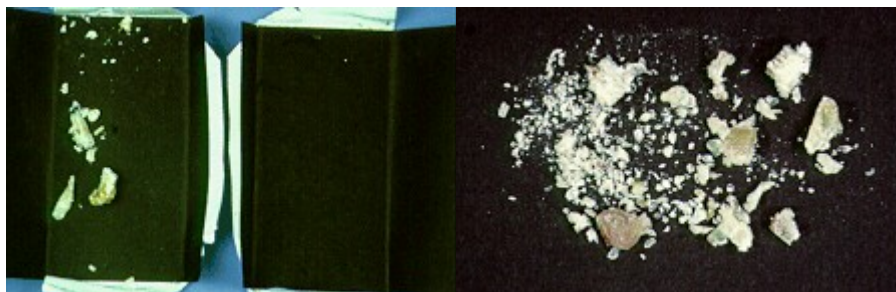


Foto 6.18 Contenitori di carta neri che mostrano una buona quantità di materiale prelevato da unghie come esempio di ottimo campionamento (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

Bisogna sottolineare che fino al 30% del materiale sospetto prelevato da unghie può risultare negativo sia alla microscopia diretta che all'esame colturale. Una microscopia positiva che metta in

evidenza ife fungine e/o artroconidi è generalmente sufficiente per la diagnosi di dermatofitosi, ma non dà indicazioni sulla specie di fungo coinvolto. La coltura è molto più affidabile e permette l'identificazione di specie. In caso di sospetto di dermatofitosi negativo agli esami di laboratorio bisogna considerare di effettuare campioni ripetuti.

### 6.2.2. Microscopia Diretta

Raschiati cutanei, dell'unghia e capelli strappati si devono esaminare usando 10% KOH e Parker Ink o calcofluor white.

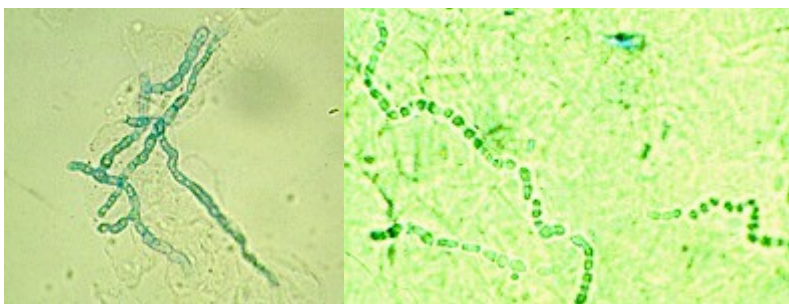


Foto 6.19 KOH utilizzato su scaglie di pelle infetta (sinistra) e unghia (destra) che mostra le tipiche ife di dermatofita che si stanno rompendo in artroconidi (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

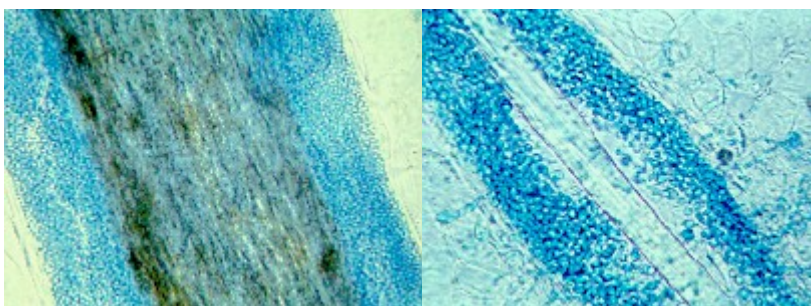


Foto 6.20 KOH utilizzato su capelli infetti che mostra l'invasione di tipo ectotrix a “piccole spore” di *M. canis* e a “grosse spore” di *M. gypseum* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

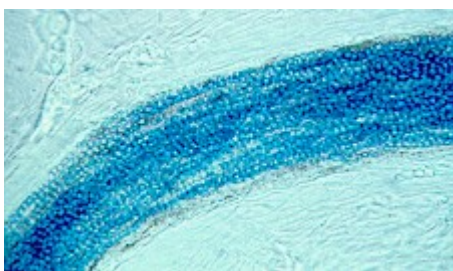


Foto 6.21 KOH utilizzato su apello infetto che mostra un'invasione di tipo endotrix da *T. tonsurans* (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

### 6.2.3. Coltura

i campioni dovrebbero essere inoculati su un primoterreno d'isolamento, come agar destrosio Sabouraud contenente cicloesamide (actidione) e incubati a 26-28C per 4 settimane. La crescita di qualsiasi dermatofita è significativa.



Foto 6.22 Colture con *T. violaceum* e *T. tonsurans* da un caso di Tinea capitis (fonte: mycology.adelaide.edu.au, 2016).

#### 6.2.4. Sierologia

non richiesta per la diagnosi.

#### 6.2.5. Identificazione

Caratteristiche cliniche, microscopiche e colturali.

### 6.3. Agenti causali

*Epidermophyton floccosum*

*Lophophyton cookei* (precedentemente *Microsporum cookei*)

*Lophophyton gallinae* (precedentemente *Microsporum gallinae*)

*Microsporum audouinii*

*Microsporum canis*

*Microsporum ferrugineum*

*Nannizzia fulva* (precedentemente *Microsporum fulvum*)

*Nannizzia gypsea* (precedentemente *Microsporum gypseum*)

*Nannizzia nana* (precedentemente *Microsporum nanum*)

*Nannizzia persicolor* (precedentemente *Microsporum persicolor*)

*Trichophyton concentricum*

*Trichophyton equinum*

*Trichophyton eriotrephon* (precedentemente *Trichophyton erinacei*)

*Trichophyton interdigitale*

*Trichophyton mentagrophytes*

*Trichophyton quinckeanum*

*Trichophyton rubrum*

*Trichophyton schoenleinii*

*Trichophyton soudanense*

*Trichophyton tonsurans*

## 6.4. Management

Il trattamento delle dermatofitosi dipende molto dai segni clinici. Singole lesioni cutanee non complicate possono essere trattate adeguatamente con un agente antifungino topico, anche se per infezioni del cuoio capelluto e delle unghie è spesso insufficiente, per cui è necessaria una terapia sistemica per risolvere queste infezioni. Le infezioni da dermatofiti ubiquitarie o croniche, la tinea acuta infiammatoria e l'infezione da *T. rubrum* “a mocassino”, che coinvolge la pianta e il dorso del piede, richiedono solitamente terapia sistemica. Idealmente, la conferma micologica alla diagnosi clinica dovrebbe essere ottenuta prima di partire con la terapia sistemica. Sotto sono elencate le opzioni per il trattamento orale per le dermatofitosi (Tabella 9) <sup>(13)</sup>.

**Tabella 9 Opzioni per il trattamento orale delle infezioni cutanee da funghi.**

<b>Infezione</b>	<b>Raccomandato</b>	<b>Alternativa</b>
<b>Tinea unguium (Onicomicosi)</b>	Terbinafina 250 mg/die 6 settimane per le unghie delle mani 12 settimane per le unghie dei piedi.	Itraconazolo 200 mg/die/3-5 mesi o 400 mg/die per una settimana al mese, per 3-4 mesi consecutivi. Fluconazolo 150-300 mg/settimana fino a negativizzazione (6-12 mesi). Griseofulvina 500-1000 mg/die fino a negativizzazione (12-18 mesi).
<b>Tinea capitis</b>	Griseofulvina 500 mg/die (non meno di 10 mg/kg/die) fino a negativizzazione (6-8 settimane).	Terbinafina 250 mg/die/4 settimane. Itraconazolo 100 mg/die/4 settimane. Fluconazolo 100 mg/die/4 settimane.
<b>Tinea corporis</b>	Griseofulvina 500 mg/die fino a negativizzazione (4-6 settimane), spesso in combinazione con un agente topico imidazolico.	Terbinafina 250 mg/die per 2-4 settimane. Itraconazolo 100 mg/die per 15 giorni o 200 mg/die per 1 settimana. Fluconazolo 150-300 mg/settimana per 4 settimane.
<b>Tinea cruris</b>	Griseofulvina 500 mg/die fino a negativizzazione (4-6 settimane).	Terbinafina 250 mg/die per 2-4 settimane. Itraconazolo 100 mg/die per 15 giorni o 200 mg/die per 1 settimana. Fluconazolo 150-300 mg/settimana per 4 settimane.
<b>Tinea pedis</b>	Griseofulvina 500 mg/die fino a negativizzazione (4-6 settimane).	Terbinafina 250 mg/die per 2-4 settimane. Itraconazolo 100 mg/die per 15 giorni o 200 mg/die per 1 settimana. Fluconazolo 150-300 mg/settimana per 4 settimane.
<b>Tinea cronica e/o non responsiva ubiquitaria</b>	Terbinafina 250 mg/die per 4-6 settimane.	Itraconazolo 200 mg/die per 4-6 settimane. Griseofulvina 500-1000 mg/die fino a negativizzazione (3-6 mesi).



# CAPITOLO 7

## STUDIO di PREVALENZA DERMATOFITI nel CONIGLIO e RODITORI DA COMPAGNIA A REGGIO EMILIA rilevati in Ambulatorio nel periodo tra Gennaio e Agosto 2016

### 7.1. INTRODUZIONE

Le micosi superficiali sia nell'uomo che negli animali sono provocate per la maggior parte da dermatofiti <sup>(41,47)</sup>. Questi funghi hanno la capacità di invadere i tessuti cheratinizzati per produrre infezioni che sono generalmente confinate allo strato corneo della pelle, peli e unghie. Tre larghi gruppi ecologici di specie di dermatofiti sono ad oggi riconosciuti, denominati antropofili, zoofili e geofili. In generale, le specie zoofile e geofile provocano lesioni nell'uomo che sono più infiammatorie che quelle provocate dalle antropofile <sup>(12,47)</sup>.

Negli animali i generi coinvolti più di frequente sono *Microsporum* e *Trichophyton* <sup>(9)</sup>.

L'obiettivo di questo studio era valutare la prevalenza di questi dermatofiti da un campione di animali composto da conigli e roditori da compagnia e quindi osservare se vi era rilevanza per la sanità pubblica.

### 7.2. MATERIALI E METODI

Nel periodo tra Gennaio 2016 ed Agosto 2016, quarantacinque animali di diverse specie tra coniglio e roditori da compagnia, sono stati campionati utilizzando la metodica McKenzie, a Reggio Emilia, per valutare la prevalenza di dermatofiti e la relativa importanza ai fini della salute pubblica.

La raccolta dei campioni è stata effettuata presso l'Ambulatorio Veterinario Belvedere di Reggio Emilia, scegliendo in modo casuale fra gli animali delle suddette specie che arrivavano alla visita clinica.

Sono stati campionati 35 fra conigli di razza nana e ariete, di cui 17 sani e 19 patologici (6 con lesioni sospette da dermatofitosi, 13 con patologie non dermatologiche), 32 provenienti da privati, 3 da allevamenti, con età media alla presentazione clinica di 2 anni e 9 roditori, di cui 8 cavie e un ratto. Di ogni animale si è registrato proprietario, specie, razza, età, sesso, tipo di stabulazione, stato di salute e descrizione di eventuali lesioni sospette per dermatofitosi, nonché eventuali trattamenti ed esami collaterali eseguiti.

Il campionamento è stato eseguito mediante tecnica McKenzie, ovvero con spazzole in plastica sterilizzate, passate sul mantello degli animali, previa decontaminazione di quest'ultimo con alcool. Le spazzole sono poi state seminate su terreno selettivo per dermatofiti presso il laboratorio di Micologia, del Dipartimento di Scienze Veterinarie dell'Università di Pisa e lasciate ad incubare per due settimane a 30°C.

### 7.3. RISULTATI e DISCUSSIONE

Dal seguente studio solo due campioni sono risultati positivi. Questi appartenevano a due cavie, dello stesso proprietario, stabulate assieme. Una di circa tre mesi, maschio, presentatasi alla visita per lesione alopecica crostosa perioculare nell'occhio destro; L'altro animale di età e sesso

sconosciuti, avente lesioni crostose sui padiglioni auricolari. Entrambe le cavie non mostravano sintomi di prurito. Raschiati cutanei di esito negativo erano stati eseguiti per escludere la presenza di ectoparassiti. Il dermatofita isolato è stato identificato come *Arthroderma benhamiae*.

L'identificazione è stata confermata da diagnosi molecolare (PCR) condotta presso il Centraalbureau voor Schimmelcultures CBS di Utrecht.

La prevalenza di positività sul numero totale di animali esaminati è risultata dello 0,04%, mentre sulle cavie dello 0,25%. Questo dato mette in evidenza la scarsità numerica degli animali infetti arrivati alla visita clinica in ambulatorio, nell'area di Reggio Emilia. Ai fini della sanità pubblica questo dato si traduce come irrilevanza di un potenziale rischio zoonosico nella detenzione di conigli e roditori come animali da compagnia.

Il dato interessante che emerge dalla presente indagine consiste nell'isolamento di *A. benhamiae* da cavie in Italia. Come riportato nella parte generale si tratta di un fungo emergente in particolare nell'Europa centrale <sup>(12)</sup>.

Alla luce della recente completa revisione della tassonomia dei dermatofiti risulta complesso confrontare i dati presenti in letteratura con quanto è emerso dalla presente indagine. *T. mentagrophytes* è il dermatofita più citato come agente di dermatofitosi dei roditori. Molti dermatofiti che producono microconidi numerosi rotondi o piriformi, ma differenti per le preferenze ecologiche, sono stati raggruppati sotto il nome di *T. mentagrophytes*. Tra questi, esperimenti di accoppiamenti e sequenziamento di DNA ribosomiale hanno rivelato diverse specie zoofile teleomorfe, fra i quali vi rientrano *Arthroderma benhamiae*, *Arthroderma vanbreuseghemii* e *Arthroderma simii*, e altre specie per le quali è conosciuta solo la forma anamorfe, come *Trichophyton interdigitale* (antropofilo), *Trichophyton erinacei* e *Trichophyton quinckeanum* (zoofilo). *T. mentagrophytes* viene ancora usato di frequente nei laboratori e dai clinici per nominare questi dermatofiti <sup>(10)</sup>.

L'isolamento di *A. benhamiae*, a tutt'oggi sembra la prima segnalazione di tale dermatofita in Italia.

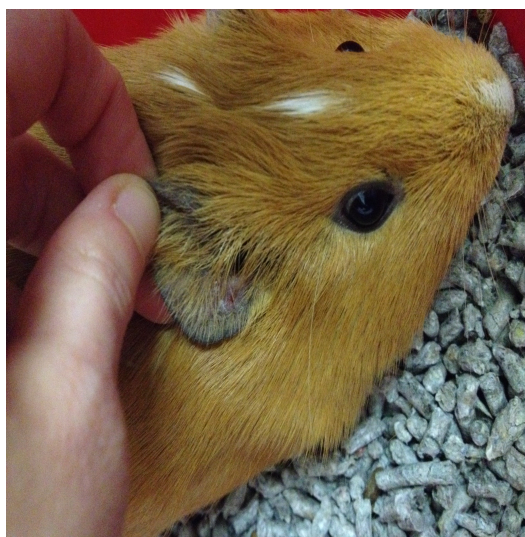


Foto 7.1 Lesioni crostose, alopeciche sui padiglioni auricolari di una cavia risultata infetta da *Arthroderma benhamiae*.

# CAPITOLO 8

## BIBLIOGRAFIA

1. Avanzi M., Crosta L., Peccati C., Selleri P. Patologie dermatologiche. In: Diagnosi e terapia delle malattie degli animali esotici. Elsevier, Masson 2008; cap 1, pp 82-85
2. Blanchard R. Parasites animaux et parasites végétaux à l'exclusion des bactéries. In: Bouchard C., editor. Traité de pathologie générale. Paris; Masson 1896, pp 811-926
3. Bourdeau PJ. Dermatology of small mammals. In: Parasitic and infectious skin diseases in rodents and rabbits. Proceedings Fourth World Cong Vet Derm. 2000:195-200
4. Brasch J., Wodarg S. Morphological and physiological features of *Arthroderma benhamiae* anamorphs isolated in northern Germany. In: Mycoses, 2014, 58:93-98
5. Brow C., Donnelly TM. Disease problems of small rodents. In: Quesenberry KE., Carpenter JW. Ferrets, rabbits and rodents clinical medicine and surgery. Second edition, Saunders, 2004; cap 27, pp 358-369
6. Canny CJ., Gamble CS. Fungal diseases. Vet Clin North Am Exot Anim Pract. 2003; 6:429-433
7. Carpenter JW. Exotic Animal Formulary. Elsevier, Fourth edition, 2013, cap 8, pp 477-482
8. Carpenter JW. Exotic Animal Formulary. Elsevier, Fourth edition, 2013, cap 9, pp 523
9. Cervantes Olivares RA., Ringworm infection in dogs and cats. In: Recent advances in canine infectious diseases. International Veterinary Information Service ([www.ivis.org](http://www.ivis.org)), 2003.
10. Chollet A., Cattin V., Fratti M., Mignon B., Monod M. Which fungus originally was *Trichophyton mentagrophytes*? Historical review and illustration by a clinical case. Mycopathologia, 2015; 180:1-5
11. Donnelly TM., Rush EM., Lackner PA. Ringworm in small exotic pets. Semin Avian Exot Pet Med. 2000; 9:82-93
12. Drouot S., Mignon B., Fratti M., Roosje P., Monod M. Pets as the main source of two zoonotic species of the *Trichophyton mentagrophytes* complex in Switzerland, *Arthroderma vanbreuseghemii* and *Arthroderma benhamiae*. Vet Dermatol. 2009; 20(1):13-8
13. Ellis D. Fungal descriptions and antifungal susceptibility. In: Mycology Online, The University of Adelaide ([www.mycology.adelaide.edu.au](http://www.mycology.adelaide.edu.au)), 2016
14. Flecknell P. Guinea pigs. In: Meredith A., Redrobe S, eds. BSAVA manual of exotic pets. 4<sup>th</sup> ed. Quedgeley: BSAVA; 2002:52-64
15. Gaguère E. Diagnosi differenziali delle dermatiti pruriginose nei piccoli mammiferi. Quaderni di dermatologia, 2001; 6(1):9-20
16. Gruby D. Sur une espèce de mentagre contagieuse résultant du développement d'un nouveau cryptogame dans la racine des poils de la barbe de l'homme. C. R. Acad. Sci. 1842;15:512-4
17. Harris JL. Modified method for fungal slide culture. J Clin Microbiol, 1986; 24:460-461
18. Hawkins MG., Bishop CR. Disease problems of guinea pigs. In: Quesenberry KE., Carpenter JW. Ferrets, rabbits and rodents clinical medicine and surgery. Second edition, Saunders, 2004; cap 23, pp 303-310
19. Hendrikson DA., Krenz MM. Reagents and strains. In: Balows et al., Manual of Clinical Microbiology, 5<sup>th</sup> ed. Washington DC: American Society for Microbiology, 1991; 1303
20. Hess L., Tater K., Dermatologic Disease. In: Quesenberry KE., Carpenter JW. Ferrets, rabbits and rodents clinical medicine and surgery. Second edition, Saunders, 2004; cap 18, pp 232-244
21. Hillyer EV. Dermatologic diseases. In: Hillyer EV., Quesenberry KE., eds. Ferrets, rabbits, and rodents: clinical medicine and surgery. Philadelphia: WB Saunders Co; 1997:212-219

22. Hillyer EV. Pet rabbits. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 1994;24:25-65
23. Jenkins JR. Skin disorders of the rabbit. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract*, 2001;4:543-563
24. Kawasaki M., Aso M., Inoue T., Ohsawa T., Ishioka S., Mochizuki T., Ishikazi H. Two cases of tinea corporis by infection from a rabbit with *Arthroderma benhamiae*. *Jpn J Med Mycol*, 2000;41:263-267
25. Kraemer A., Mueller RS., Werckenthin C., Straubinger RK., Hein J. Dermatophytes in pet guinea pigs and rabbits. *Vet Microbiol*, 2012;157:208-213
26. Kraus AL., Weisbroth SH., Flatt RE., et al. Biology and diseases of rabbits. In: Fox JG., Cohen BJ., Loew FM., eds. *Laboratory animal medicine*. San Diego: Academy Press, 1984:207-240
27. Lewis DT., Foil CS., Hosgood G. Epidemiology and Clinical Features of Dermatophytosis in Dogs and Cats at Louisiana State University, 1981-1990. *Vet Dermatol*, 1991;2:53-58
28. Mackenzie DWR. "Hairbrush Diagnosis" in detection and eradication of non-florescent scalp ringworm. *Brit Med J*, 1963;2:363-365
29. Mans C., Donnelly TM. Disease problems of chinchillas. In: Quesenberry KE., Carpenter JW. *Ferrets, rabbits and rodents clinical medicine and surgery*. Second edition, Saunders, 2004; cap 24, pp 317-325
30. Medlau L., Ristic Z. Dignosing dermatophytosis in dogs and cats. *Vet Med*, 1992;87:1086-1092
31. Mieth H., Leitner I., Meingassner JG. The efficacy of orally applied terbinafine, itraconazole and fluconazole in models of experimental trichophytoses. *J Med Vet Mycol*, 1994;32:181-188
32. Nakamura Y., Kano R., Nakamura E., Saito K., Watanabe S., Hasegawa A. First report on human ringworm caused by *Arthroderma benhamiae* in Japan transmitted from a rabbit. *Mycoses*, 2002;45:129-131
33. Nenoff et al. Trichophyton species of *Arthroderma benhamiae* – a new infetion agent in dermatology. *JDDJ*, 2014:571-581
34. Nweze EI. Dermatophytosis in domesticated animals. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*, 2011;53(2):95-99
35. Nweze EI. Dermatophytosis in Western Africa: a review. *Pakistan J Biol Sci*, 2010; 13:649-656
36. O'Rourke DP. Disease problems of guinea pigs. In: Quesenberry KE., Carpenter JW., eds. *Ferrets, rabbits, and rodents: clinical medicine an surgery*. 2<sup>nd</sup> ed. St. Louis: WB Saunders, 2004:245-254
37. Rebell G., Taplin D. *Dermatophytes: their recognition and identification*. Miami. University of Miami Press, 1974
38. Robin C., editor. *Microsporon mentagrophytes*. In: *Hisoire naturelle des végétaux parasites qui croissent sur l'homme et les animaux vivants*. Paris. Baillière, 1853:430-436
39. Sabouraud R. *Les teignes*. Paris. Masson, 1910
40. Saito K., Kano R., Nakamura Y., Watanabe S., Hasegawa A. *Arthroderma benhamiae* infection in a rabbit. *J Vet Med Sci*, 2001;63(8):929-931
41. Scott DW., Miller WH., Griffin CE. *Muller and Kirk's Small Animal Dermatology*. 6<sup>th</sup> edn. Philadelphia: WB Saunders Co, 2000:339-361
42. Shiraki Y., Hiruma M., Matsuba Y., et al. A case of tinea corporis caused by *Arthroderma benhamiae* (teleomorph of tinea mentagrophytes) in a pet shop employee. *J Am Acad Dermatol*, 2006;55:153-154
43. Sieklucki U., Oh SH., Hoyer LL. Frequent isolation of *Arthroderma benhamiae* from dogs with dermatophytosis. *Vet Dermatol* 2013, 2014;39-e14
44. Sparkes AH., Gruffydd-Jones TJ. Epidemiological and diagnostic features of canine and

- feline dermatophytosis in United Kingdom from 1956 to 1991. *Vet Rec*, 1993;133:57-61
45. Vasquez Daud F., et al. The use of ozonized oil in the treatment of dermatophytosis caused by *Microsporum canis* in rabbits. *Brazilian J Microbiol*, 2011;42:274-281
  46. Vennen KM., Mitchell M. Rabbits. In: Mitchell M., Tully T., eds. *Manual of exotic pet practice*. St. Louis: Saunders-Elsevier, 2009:375-405
  47. Weitzman I., Summerbell RC. The dermatophytes. *Clinical Microbiology Reviews*, 1995;8:240-259
  48. White SD., Sanchez-Migallon Guzman D., Paul-Murphy J., Hawkins MG. Skin diseases in companion guinea pigs (*Cavia porcellus*): a retrospective study of 293 cases seen at the Veterinary Medical Teaching Hospital, University of California at Davis (1990-2015). *Vet Dermatol*, 2016:1-8