

IMPORTANCIA DE LA CONFIRMACIÓN DIAGNÓSTICA EN EL LABORATORIO DE LAS DERMATOFITOSIS EN CANINOS

IMPORTANCE OF LABORATORY CONFIRMATION OF DERMATOPHYTOSIS IN CANINE

Rosa, D.E.¹; Reynaldi, F.J.^{1,2}; Reinoso, E.H.¹

¹Cátedra de Micología Médica e Industrial “Prof. Dr. Pablo Negroni” Carrera de Microbiología. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. Argentina. ²CCT-CONICET La Plata. Argentina. Calle 60 y 118. La Plata (CP 1900). La Plata. Provincia de Buenos Aires. Argentina. Tel: 54-9-221-423-6663 interno 421.

Recibido: 16-05-2020

Aceptado: 02-10-2020

Correspondencia e-mail: Diana E. Rosa drosa@fcv.unlp.edu.ar

RESUMEN

Las dermatofitosis (tiñas) de los caninos (*Canis lupus familiaris*) son micosis superficiales de distribución cosmopolita. Los agentes causales más comunes son los hongos dermatofitos *Microsporum canis* y *Nannizzia gypsea*. La concordancia entre el diagnóstico clínico y de laboratorio origina controversias y varía entre el 10,2 % al 38,7 % de los casos informados. El objetivo de este trabajo fue confirmar, por técnicas convencionales del laboratorio de Micología, el diagnóstico clínico de dermatofitosis generado por Médicos Veterinarios. Entre 2011 y 2016 se estudiaron 106 muestras de piel de caninos de ambos sexos. Los caninos tenían entre 2 meses y 17 años de edad, con igual cantidad de machos y hembras. En el laboratorio de Micología se confirmó el 27,3 % de los diagnósticos clínicos. El 62 % de las dermatofitosis fueron causadas por *Nannizzia gypsea* y el 32 % por *Microsporum canis*. Un 7,5 % de los pacientes fueron positivos para *Demodex canis*, aunque el diagnóstico clínico fue dermatofitosis. Los errores en el diagnóstico clínico generan falsos positivos con la consiguiente sobreestimación de la incidencia además de la falla terapéutica.

Palabras clave: (dermatofitosis), (caninos), (*Microsporum canis*), (*Nannizzia gypsea*)

SUMMARY

Dermatophytosis (tinea) in canines (*Canis lupus familiaris*) is a superficial mycosis of cosmopolitan distribution. The most common causative agents are *Microsporum canis* and *Nannizzia gypsea*, these dermatophyte fungi are capable of parasitizing the keratinized tissues of man and animals. The agreement between the clinical diagnosis and the laboratory diagnosis of these superficial mycoses causes controversies, since according to other authors, it varies between 10.2 % and 38.7 % of the cases reported. The objective of this work was to confirm, by conventional techniques of the Mycology laboratory, the clinical diagnosis of dermatophytosis generated by Veterinarians. Between 2011 and 2016, 106 samples of canine skin of both sexes were studied. The canines were between 2 months to 17 years of age. In the laboratory of Mycology, 27.3 % of the clinical diagnoses were confirmed. 62 % of dermatophytosis were caused by *Nannizzia gypsea* and 32 % by *Microsporum canis*. 7.5 % of the patients were positive for *Demodex canis* although the clinical diagnosis was

dermatophytosis. The errors in the clinical diagnosis generate false positives with the consequent over estimation of the incidence in addition to the therapeutic failure.

Keywords: (dermatophytosis), (dogs), (*Microsporum canis*), (*Nannizzia gypsea*)

INTRODUCCIÓN

Las dermatofitosis (tiñas) de los caninos (*Canis lupus familiaris*), son micosis zoonóticas, de distribución cosmopolita con un importante impacto en salud humana y animal^{4, 8, 16, 18}. Sus agentes causales son hongos miceliales conocidos como dermatofitos con capacidad de utilizar a la queratina presente en el ambiente como nutriente o bien, a través de la infección de tejidos queratinizados del hombre y animales. Los agentes etiológicos aislados con mayor frecuencia en caninos son *Microsporum canis* y *Nannizzia gypsea*^{9, 20}. Las lesiones cutáneas suelen manifestarse como una alopecia circular, a veces en anillo, en general es escamosa con un borde eritematoso activo, el área central con tendencia a la curación y formación de costras. La mayoría de las lesiones se ubican en la cara y miembros anteriores, aunque pueden tener distribución multifocal¹⁷. El prurito, en general es poco común y suele presentarse cuando coexiste con infección bacteriana.

La confirmación del diagnóstico clínico de esta micosis mediante estudios de laboratorio genera controversias; dado que, según las series publicadas, el porcentaje de concordancia varía del 10,2 % al 38,7 %^{1,17}.

El objetivo de este trabajo fue confirmar, por técnicas convencionales del laboratorio de Micología Médica, el diagnóstico clínico de dermatofitosis generado por Médicos Veterinarios.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio prospectivo, desde enero de 2011 a septiembre de 2016 y contó con la participación de 45 Médicos Veterinarios, residentes en la Ciudad de La Plata, Buenos Aires, Argentina, y del Laboratorio de Micología Médica de la Carrera de Microbiología, Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Buenos Aires, Argentina (Laboratorio de Micología).

Se incluyeron en el estudio a caninos de ambos sexos y amplitud etaria con diagnóstico clínico de dermatofitosis. Los Médicos Veterinarios tomaron las muestras en sus consultorios mediante raspado, con bisturí y/o pinzas estériles de la periferia interna de las lesiones previa limpieza de la zona con una gasa estéril embebida en alcohol de 70°. Las muestras de escamas y/o pequeños trozos de la parte basal del pelo visualmente dañado fueron derivadas, para su confirmación diagnóstica al Laboratorio de Micología junto con el formulario de datos de cada paciente. Para la derivación de las muestras clínicas se procedió de acuerdo a las normas vigentes sobre bioseguridad y biocustodia^{6, 19}.

En el Laboratorio de Micología se le realizó a cada muestra la observación microscópica directa en fresco utilizando lentes objetivas de 10 y 40 aumentos, previo tratamiento en KOH al 40 % en caliente. Luego, de cada muestra se tomaron 10-12 submuestras con ansa, y se procedió a la siembra por puntura en tubos con medio agar Sabouraud glucosa (2 %) (ASG), de pH 6,9, con extracto de levadura (1 %) más cloranfenicol (0,05 g/L), con cicloheximida (0,5 g/L) y sin cicloheximida. Los tubos inoculados fueron incubados a 28 °C durante 20 días. La identificación de los aislados se basó en la descripción de las características macro y microscópicas según el protocolo propuesto por Forbes y colaboradores¹⁰.

La diferencia entre los diagnósticos presuntivos y confirmatorios, la incidencia de cada especie de dermatofitos y las diferencias entre especies de caninos afectados se analizó por chi-cuadrado.

RESULTADOS

El Laboratorio de Micología recibió 106 muestras de piel (escamas y pelos) de caninos; derivadas por los Médicos Veterinarios.

La distribución por sexo fue igual para machos y hembras (50 % cada género).

El rango etario estuvo comprendido entre los 2 meses hasta los 17 años, aunque resultaron más frecuentes las consultas de animales menores de un año (28%) y de entre 1 y 5 años (38%), completando entre ambos grupos el 65% de los casos (Tabla 1).

Tabla 1. Rango etario de los caninos estudiados.

| Rango etario** | | | | | |
|---------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| <1 año | 1-5 años | >5-10 años | >10 años | sin datos | Total |
| 30 (28,3) (H: 56,7; M: 43,3) | 39 (36,8) (H: 46,1; M: 53,8) | 19 (18) (H: 47,3; M: 52,6) | 8 (7,5) (H: 37,5; M: 62,5) | 10 (9,4) (H: 60; M: 40) | 106 (100) (H: 50; M: 50) |

** expresado en número de muestras y el porcentaje entre paréntesis. H: hembras. M: machos

La mayoría de los caninos fueron mestizos (38,6 %), seguidos por las razas puras, como Pitbull (7,5 %), Sharpei, Labrador y Boxer 6,6 % para cada uno, mientras que el 48,2 % restante se distribuyó entre otras 18 razas (Tabla 2).

De las 106 muestras procesadas, sólo el 27,3 % (n= 29) fueron positivas para hongos dermatofitos y confirmaron el diagnóstico presuntivo de los Médicos Veterinarios ($p<0.01$). Por otro lado, el 7,5 % (n=8) fueron positivas para *Demodex canis*, pero estos caninos que fueron positivos para *D. canis* no presentaban infección concomitante con dermatofitos (Tabla 3).

Tanto para las dermatofitosis como para las demodicosis comprobadas en el Laboratorio, el mayor porcentaje de casos se presentó en caninos menores de 1 año. (Tabla 4).

Los agentes etiológicos aislados de los casos con dermatofitosis fueron *N. gypsea* y *M. canis*, y la incidencia fue mayor en mestizos que en razas puras, aunque en ninguno de estos parámetros la diferencia fue significativa (Figura 1).

Tabla 2. Razas de caninos incluidos en el estudio.

| Raza | Total | % |
|------------------|--------------|------------|
| Mestizos | 41 | 38,6 |
| Pitbull | 8 | 7,5 |
| Boxer | 7 | 6,6 |
| Labrador | 7 | 6,6 |
| Sharpei | 7 | 6,6 |
| Bulldog | 4 | 3,7 |
| Golden Retriever | 4 | 3,7 |
| Yorkshire | 4 | 3,7 |
| Caniche | 3 | 2,8 |
| Doberman | 3 | 2,8 |
| Beagle | 2 | 1,8 |
| Bull terrier | 2 | 1,8 |
| Cocker spaniel | 2 | 1,8 |
| Dachshund | 2 | 1,8 |
| Pinscher | 2 | 1,8 |
| Rottweiler | 2 | 1,8 |
| Chihuahua | 1 | 0,9 |
| Dogo | 1 | 0,9 |
| Maltés | 1 | 0,9 |
| Ovejero alemán | 1 | 0,9 |
| Terrier | 1 | 0,9 |
| Setter | 1 | 0,9 |
| Shih Tzu | 1 | 0,9 |
| Total | 106 | 100 |

Tabla 3. Confirmación de laboratorio de los diagnósticos presuntivos de dermatofitosis propuestos por los Médicos Veterinarios.

| Total de muestras Cantidad (%) | Confirmaciones de laboratorio | | |
|-----------------------------------|-------------------------------|--------------------|-----------------|
| | <i>N. gypsea</i> ** | <i>M. canis</i> ** | <i>D. canis</i> |
| 106 (100%) | 18 (17,0 %) | 11 (10,3%) | 8 (7,5%) |

** Diagnóstico positivo tanto en la observación microscópica directa como en el cultivo. La diferencia entre *N. gypsea* y *M. canis* no fue significativa ($p= 0,29$)

Tabla 4. Rango de edades de los pacientes positivos para dermatofitos y *D. canis* confirmados por el Laboratorio de Micología.

| | Rango etario n (%) | | | | | Total |
|----------------|--------------------|----------|------------|----------|-----------|----------|
| | <1 año | 1-5 años | >5-10 años | >10 años | sin datos | |
| Dermatofitosis | 13 (44,8) | 6 (20,7) | 4 (13,8) | 2 (6,9) | 4 (13,8) | 29 (100) |
| Demodicosis | 7 (87,5) | 1 (12,5) | 0 | 0 | 0 | 8 (100) |

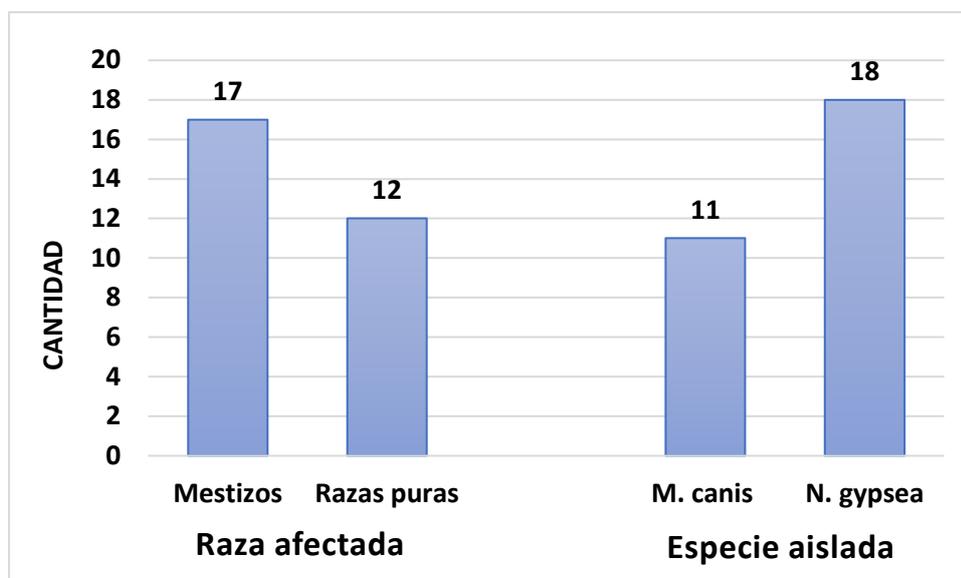


Figura 1: Frecuencia de dermatofitosis canina discriminada por agente y raza afectada, sobre un total de 106 animales.

DISCUSIÓN

El diagnóstico clínico de las dermatofitosis en los caninos suele presentar dificultades ya que comparte signos y síntomas con patologías de la piel de diferente etiología, como la dermatitis atópica, la demodicosis y la dermatitis alérgica (parche caliente).

Si bien el diagnóstico de las dermatofitosis en el laboratorio es sencillo, de costo accesible y de rápida realización, no es una práctica habitual que se realice en los consultorios de los Médicos Veterinarios, motivo por el que el porcentaje de concordancia entre el diagnóstico clínico y la confirmación de laboratorio es variable y permanece dentro de valores bajos (10,2-38,7 %)^{1,17,22}.

En nuestro trabajo, calculamos el porcentaje de concordancia entre el diagnóstico clínico realizado por Médicos Veterinarios, y el diagnóstico de laboratorio realizado en el Laboratorio de Micología. Asimismo, analizamos los datos epidemiológicos de los pacientes y la ocurrencia de las dermatofitosis. El porcentaje de concordancia fue 27,3 %, similar al presentado por Shokri²² (24,3 %), y fue mayor al comunicado por Nardoni *et al.*¹⁷ (10,2 %) en un trabajo realizado en Italia sobre 15.684 muestras con presunción diagnóstica de dermatofitosis. Mientras que Allizond *et al.*¹ obtuvieron un 38,5 % de concordancia en un estudio realizado en Turín, Italia sobre 111 caninos con presunción clínica de dermatofitosis. No existen, en conocimiento de los autores, trabajos locales que permitan comparar los porcentajes de concordancia, por lo cual se considera que siendo apenas del 27 % resulta necesario estimular su uso en el área de influencia de laboratorios locales. Estos porcentajes bajos de concordancia confirman la necesidad de incorporar técnicas de laboratorio básicas a la práctica diaria en el consultorio que permitan arribar a un diagnóstico certero de las micosis superficiales. En su mayoría, las dermatofitosis en caninos son zoonóticas, con impacto negativo en salud humana ya que los signos clínicos incluyen lesiones de distinta magnitud en los pacientes, con secuelas que muchas veces generan discapacidad social y trastornos psicológicos¹⁴.

El error diagnóstico de una micosis superficial conduce, no solo a una sobre dimensión de la incidencia, sino también, a la prescripción de tratamientos con drogas antifúngicas potencialmente tóxicas para los pacientes, con riesgo de generar fracaso terapéutico y además, fallas renales o hepáticas^{12,13,21,23}.

Con respecto a las especies causantes de dermatofitosis, los agentes aislados fueron *N. gypsea* y *M. canis*. El porcentaje de *M. canis* (38 %) fue menor al informado por Bernardo *et al.*²

(63,7 %), Cabañez⁵ (73,3 %), y Mancianti *et al.*¹⁵ (83 %) entre otros. Es posible que las diferencias se deban a condiciones culturales en el manejo y cuidado de las mascotas en otras regiones.

Por el contrario, *N. gypsea* fue el dermatofito aislado con mayor frecuencia (62 %), a diferencia de lo comunicado por Nardoni *et al.*¹⁷ (1,2 %), Bernardo *et al.*² (5,5 %), Mancianti *et al.*¹⁵ (13 %) y Khosravi & Mahmoudi¹¹ (25 %).

Las causas de las diferencias en frecuencia de aislamiento de los agentes etiológicos escapan al objetivo de este estudio. Podría especularse que el mayor porcentaje de casos por *N. gypsea* se explicaría posiblemente por el hábito de los animales de permanecer durante toda su vida en patios, en general no pavimentados, en estrecho contacto con el suelo. Además, el hojar y escarbar la tierra para enterrar el alimento es otro factor que influye en la mayor frecuencia de aislamiento de *N. gypsea* sobre otros dermatofitos.

Si bien las dermatofitosis por *N. gypsea* no son consideradas zoonóticas, es común la transmisión de animales al humano, principalmente en niños¹⁷, de allí la importancia en el diagnóstico de certeza de esta micosis.

Con respecto a los casos de demodicosis erróneamente diagnosticados como dermatofitosis, el porcentaje encontrado en nuestro estudio (7,5 %) fue similar a un trabajo realizado en Taiwan (7,2 %)²⁴. En nuestra serie no encontramos coinfección con dermatofitos a diferencia de lo comunicado por otros autores^{3, 24, 25}.

CONCLUSIONES

La realización de exámenes básicos de laboratorio en el consultorio influenciaría en forma positiva en la certeza del diagnóstico clínico. La derivación de muestras de piel de animales con sospecha de micosis superficiales a un Laboratorio de Micología es condición *sine qua nom* para un diagnóstico de certeza que permita la elección del tratamiento más eficaz y conveniente, contribuyendo así en la prevención de la ocurrencia de zoonosis fúngicas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Allizond, V.; Tullio, V.; Cuffini, A.M.; *et al.* Advances in Microbiology, Infectious Diseases and Public Health: Fungal Occurrence in the Hair and Skin of Symptomatic Pets in Turin, Italy. *Adv Exp Med Biol.* 2016;897:55-62. doi: 10.1007/5584_2015_5004.

2. Bernardo, F.; Lança, A.; Guerra, MM.; Marina Martins, H. *Dermatophytes* isolated from pet, dogs and cats, in Lisbon, Portugal (2000-2004). *RPCV*. 2005; 100 (553-554): 85-88.
3. Brillhante, RSN.; Cavalcante, CSP.; Soares-Junior, FA.; Cordeiro RA, Sidrim JJC.; Rocha, MFG. High rate of *Microsporium canis* feline and canine dermatophytoses in Northeast Brazil: Epidemiological and diagnostic features. *Mycopathologia*. 2003; 156(4): 303-308.
4. Brosh-Nissimov, T.; Ben-Ami, R.; Astman, N.; Malin, A.; Baruch, Y.; Galor, I. An Outbreak of *Microsporium canis* infection at a military base associated with stray cat exposure and person-to-person transmission. *Mycoses*. 2018; 61(7): 472-476.
5. Cabañez, FJ. Dermatofitosis animales. Recientes avances. *Rev Iberoam Micol*; 2000; 17: S8-S12.
6. Canadian Biosafety Handbook. 2nd Edition (2016). Public Health Agency of Canada. En: <https://www.canada.ca/en/public-health/services/canadian-biosafety-standards-guidelines/handbook-second-edition.html>. Consultado 6 de mayo de 2020.
7. Canadian Biosafety Standards and Guidelines (CBSG). 2nd Edition (2015). Public Health Agency of Canada. En: <https://www.canada.ca/en/public-health/services/canadian-biosafety-standards-guidelines/second-edition.html>. Consultado 6 de mayo de 2020.
8. da Silva Souza, B.; Sarzi Sartori, D.; de Andrade, C.; Weisheimer, E.; Kiszewski, AE. Dermatophytosis caused by *Microsporium gypsum* in infants: report of four cases and review of the literatures. *An Bras Dermatol*. 2016; 91(6):823-5.
9. de Hoog, GS.; Dukik, K.; Monod, M. *et al.* Towards a noval multilocus phylogenetic taxonomy for *dermatophytes*. *Mycopathologia*. 2017; 182(1-2):5-31.
10. Forbes, BA.; Sahm DF.; Weissfeld, AS. En Bailey & Scott. Diagnóstico Microbiológico. 12ª edición. Editorial Médica Panamericana. Madrid, España, 2009.
11. Khosravi, AR.; Mahmoudi, M.. *Dermatophytes* isolated from domestic animals in Iran. *Mycoses*. 2003; 46(5-6): 222-225.
12. Kyriakidis, I.; Tragiannidis, A.; Munchen, S.; Groll, A.H. Clinical hepatotoxicity associated with antifungal agents. *Expert Opinion on Drug Safety*. 2017; 16(2): 149-165.
13. Le Guern, A.; Kerrad, I.; Oehler, E. Severe cutaneous drug reactions to misused griseofulvin: 2 cases. *Ann Dermatol Venereol*. 2016;143(3):219-22.
14. Lim, H. W.; Collins, S.; Resneck, J. S.; *et al.* The burden of skin disease in the United States. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2017; 76(5), 958–972.e2.
15. Mancianti, F.; Nardoni, S.; Cecchi, S.; Corazza, M.; Taccini, F. *Dermatophytes* isolated from symptomatic dogs and cats in Tuscany, Italy during a 15-year-period. Environmental detection of *Microsporium canis arthrospores* in the households of infected cats and dogs. *Journal of Feline Medicine and Surgery*. 2003; 5(6): 323–328.
16. Murmu, S.; Debnath, C.; Pramanik, AK.; *et al.* Detection and characterization of zoonotic dermatophytes from dogs and cats in and around Kolkata. *Vet World*. 2015; 8(9):1078-1082.
17. Nardoni, S., Mugnaini, L.; Papini, R.; Fiaschi, M.; Mancianti, F. Canine and feline dermatophytosis due to *Microsporium gypsum*: a retrospective study of clinical data and therapy outcome with griseofulvin. *J Mycol Med*. 2013; 23(3):164-167.
18. Pasquetti M, Min ARM, Scacchetti S, Dogliero A, Peano A. Infection by *Microsporium canis* in Paediatric Patients: A Veterinary Perspective. *Vet Sci*. 2017, 19;4(3). pii: E46. doi: 10.3390/vetsci4030046.
19. Pérez Mellado, R. (2014). Bioseguridad y biocustodia en la investigación. Spanish Biotechnology. 2014; 190 (768). En: <http://arbor.revistas.csic.es/index.php/arbor/article/view/1952/2272>. Consultado 2 de abril de 2020.

20. Segundo, C.; Martínez, A.; Arenas, R.; Fernández, R.; Cervantes, RA. Dermatocosis por *Microsporum canis* en humanos y animales. *Rev Iberoam Micol.* 2004; 21: 39-41.
21. Seto, Y.; Onoue, S.; Yamada, S. *In vitro/in vivo* phototoxic risk assessments of griseofulvin based on photobiochemical and pharmacokinetic behaviors. *Eur J Pharm Sci.* 2009; 38(2):104-11.
22. Shokri, H.; Khosravi, AR. An epidemiological study of animals dermatomycoses in Iran. *J Mycol Méd.* 2016; 26(2):170-177.
23. Souza, P.F.N.; Lima, P.G.; Freitas, C.D.T.; *et al.* Antidermatophytic Activity of Synthetic Peptides: Action mechanisms and clinical application as adjuvants to enhance the activity and decrease the toxicity of Griseofulvin. *Mycoses.* 2020;63(9):979-992.
24. Tsai, Y-J.; Chung, W-C.; Wang, L-C.; *et al.* 2011. The dog mite, *Demodex canis*: Prevalence, fungal co-infection, reactions to light, and hair follicle apoptosis. *Journal of Insect Science.* 2011; 11:76. En: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3281427/>. Consultado 10 de abril 2020.
25. Tsai, YJ.; Chung, WC.; Wu, YI. Researching in the prevalence of dog's *Demodex* spp. in Taipei by using GIS. *Taiwan J Parasitol.* 2004; (15): 47-58.