



SOCIETÀ ITALIANA DI DIAGNOSTICA
DI LABORATORIO VETERINARIA

IX Congresso Nazionale S.I.Di.L.V.

Roma

Fondazione Santa Lucia

14-16 Novembre 2007

**VOLUME
DEGLI ATTI**



LEISHMANIOSI CANINA: DISTRIBUZIONE, FATTORI DI RISCHIO E VETTORI IN UMBRIA

Maresca C.¹, Scoccia E.¹, Catalano A.², Mancini S.², Pagliacci T.², Porrini M.², Moretta I.³, Principato M.³, Barizzone F.⁴, Boto S.¹, Venditti G.¹, Grelloni V.¹¹IZS dell'Umbria e delle Marche; ²Servizio veterinario ASL2 Perugia; ³Facoltà di medicina veterinaria, Perugia; ⁴European Food Safety Authority, Parma

Key words: leishmaniosi canina, vettori, Umbria

SUMMARY

Zoonotic Visceral Leishmaniasis (ZVL) is a vector transmitted zoonoses caused by the parasitic protozoan *Leishmania infantum*. Bloodsucking mosquitoes of the subfamily *Phlebotominae* are the obligatory insects hosts and the dog represents the only domestic reservoir.

In this study data on the surveillance of the canine infection and on the Sand fly captures throughout the Perugia province in the central Italy are reported. A total of 100 dogs (have been tested, 8 were found positive. A total of 5.698 sandflies were collected.

INTRODUZIONE

La leishmaniosi viscerale è una delle più importanti malattie parassitarie nel mondo.

Il cane, unico serbatoio domestico della *Leishmania infantum*, si infetta tramite la puntura di flebotomi (1). Alcuni cani sviluppano i sintomi clinici della malattia altri rimangono portatori asintomatici entrambi possono trasmettere l'infezione ad altri cani o all'uomo.

In Italia sono considerate tradizionalmente aree endemiche per leishmaniosi canina le zone costiere tirreniche e ioniche, le isole ed il versante centro-meridionale dell'Adriatico.

In Umbria non è nota l'effettiva distribuzione dell'infezione (2). I vettori riconosciuti della trasmissione di *Leishmania infantum* sono *Phlebotomus perniciosus* e *Phlebotomus perfiliewi* (3). Lo scopo di questo studio è stato quello di determinare la sieroprevalenza per leishmania tra la popolazione canina del territorio dell'ASL2 dell'Umbria, evidenziare eventuali fattori di rischio e la presenza di insetti vettori.

MATERIALI E METODI

Lo studio è stato condotto da agosto 2005 fino a febbraio 2007. Sono stati estratti in maniera casuale 100 cani (L.C.: 95%, prevalenza attesa 50%, precisione 10%) di età superiore a due anni, iscritti all'anagrafe canina dell'Umbria e stratificati proporzionalmente alla popolazione canina presente nei 4 distretti in cui è suddivisa l'ASL2. I sieri di sangue di tali animali sono stati saggiati per evidenziare la presenza di anticorpi anti-*Leishmania* con la tecnica dell'immunofluorescenza indiretta (IFI). Sono stati considerati positivi i campioni con un titolo $\geq 1:80$. Inoltre sono stati raccolti dati relativi agli animali, mediante un questionario-intervista, somministrato ai proprietari al momento del prelievo di sangue. Le informazioni raccolte hanno riguardato l'età, il sesso, la razza (meticcio, razza pura), l'attitudine (da guardia, da caccia, da compagnia), il distretto di residenza, gli spostamenti fuori regione effettuati nei due anni precedenti l'intervista, la convivenza con altri cani, il dormire e soggiornare all'aperto o in casa e l'uso di misure antivettoriali. I dati sull'uso di collari antiparassitari hanno riguardato la durata e la continuità di utilizzo. I dati sono stati analizzati con l'analisi univariata e multivariata. Sono state considerate statisticamente significative le variabili con valori di $p \leq 0.05$. L'analisi multivariata è stata effettuata con la tecnica *backward elimination*, rimuovendo, dall'iniziale modello completo, tutte le variabili non significative per valori di $p > 0.05$. Tutte le analisi sono state effettuate con il software Stata versione 9.1.

Il monitoraggio entomologico ha comportato l'individuazione di 5 siti in cui sono state piazzate trappole luminose ad aspirazione (*Onderstepoort-type blacklight traps*). Una trappola (sito 1) è stata piazzata in un giardino privato in area urbana, un'altra (sito 2) in un canile, una in un pollaio (sito 3), il sito 4 era costituito da un canile-pollaio mentre il sito 5 era costituito da una stalla di bovini.

Gli insetti catturati sono stati esaminati allo stereomicroscopio; i flebotomi isolati sono stati contati e conservati in alcool a 80° prima di essere identificati (4).

RISULTATI

Dei 100 cani esaminati, 8 sono risultati positivi (prevalenza: 8% I.C. 95% 3,77-15,61). Esaminando i risultati dell'analisi univariata, riassunti in tabella 1, non risultano statisticamente significative le differenze: tra maschi e femmine, tra cani meticci e cani di razza pura, tra cani che dormono o soggiornano all'esterno rispetto a quelli che dormono o soggiornano in casa. Non sono state riscontrate differenze neppure relativamente alle diverse attitudini del cane e alla eventuale convivenza con altri cani.

Tabella 1: Risultati analisi univariata

Variabili	OR	p	Lim. Inf. 95%	Lim. Sup. 95%
Area territoriale	3,0510	0,037	1,069	8,7076
Razza (meticcio vs razza pura)	1,1613	0,845	0,2603	5,1815
Sesso (femmina vs maschio)	1,0909	0,906	0,2572	4,6275
Età (anni)	1,3174	0,033	1,0220	1,6982
Vive (casa vs aperto)	2,2222	0,360	0,4013	12,3042
Dorme (aperto vs casa)	1,4737	0,725	0,1694	12,8237
Adibito	1,3894	0,572	0,4443	4,3441
Convive con altri cani (si vs no)	1,7879	0,432	0,4194	7,6213
Utilizzo antiparassitari	0,5294	0,224	0,2308	1,2147

Risultano correlate in maniera statisticamente significativa l'età ed il distretto di provenienza degli animali. Tutti i cani risultati sieropositivi non hanno soggiornato fuori regione nei due anni precedenti l'intervista. Il modello finale dell'analisi multivariata, tabella 2, mostra una correlazione statisticamente significativa tra l'età dell'animale e il distretto di origine.

Tabella 2: Risultati analisi multivariata

Variabili	Odds Ratio	Lim. Inf. 95%	Lim. sup. 95%	p
Area	2.878866	1.225457	6.763084	0.015
Età	1.374557	1.035945	1.823849	0.027

Il numero di insetti catturato per sito specifico suddivisi per sesso sono indicati nella tabella 3.

Sito	Totale insetti	Totale flebotomi	Totale flebotomi femmine	Totale flebotomi maschi
1	4.446	16	7	9
2	12.604	5.329	2.814	2.515
3	3.561	168	62	106
4	3.568	185	78	107
5	11.931	0	0	0

Tabella 3: Risultato delle catture di insetti

Le specie di flebotomi identificati sono stati: *Plebotomus perniciosus* e *Phlebotomus perfiliewi*

CONCLUSIONI

Pur essendo già ampiamente documentata la sieropositività per leishmaniosi nella popolazione canina italiana (5, 6), il nostro studio riporta, per la prima volta, dati relativi alla sieroprevalenza nella popolazione canina umbra-territorio ASL2.

L'analisi dei fattori di rischio individuati ha dato risultati simili a quelli di altre indagini. Infatti il sesso non sembra essere un fattore di rischio associato all'infezione (7), così come il fattore razza pura rispetto al fattore razza meticcia. In effetti tutte le razze sono teoricamente suscettibili in ugual misura all'infezione (8). Nella nostra indagine non abbiamo riscontrato differenze significative relativamente all'attitudine del cane e al soggiornare all'aperto anche se i cani che soggiornano e/o dormono all'esterno, come quelli da caccia o da guardia, hanno maggiori probabilità di essere punti da flebotomi.

L'età è un buon indicatore del grado di infezione, la prevalenza aumenta nei cani di 10 anni ed oltre.

E' da notare che il distretto di Castiglione del Lago, quale luogo di origine degli animali, differisce in maniera statisticamente significativa dagli altri tre distretti che costituiscono l'ASL2 di Perugia. Inoltre la maggior parte dei flebotomi catturati provengono dalla trappola posta nello stesso distretto (sito 2).

L'utilizzo di trappole luminose, di norma impiegate per la cattura di *Culicoides* (9), si è rivelato più pratico rispetto all'impiego delle trappole meccaniche che normalmente sono preferite nella cattura dei flebotomi. Le specie di flebotomi catturate sono tra quelle identificate, in Italia, come vettori della *Leishmania Infantum*, responsabile della Leishmaniosi Viscerale Zoonotica (LVZ), patologia riemergente in tutta l'area mediterranea. I risultati di questo studio, confermano la presenza, sul territorio, di flebotomi e di animali infetti. Visto che tali animali non sono mai usciti dalla regione, è plausibile una trasmissione autoctona dell'infezione.

BIBLIOGRAFIA

1. Killick-Kendrick, R., 1999: The biology of phlebotomine sand flies. Clin. Dermatol. 17, 279-289.
2. Gradoni L., M. Gramoccia, C. Khoury, M. Maroli, 2004: Linee guida per il controllo del serbatoio canino della leishmaniosi viscerale zoonotica in Italia – Rapporti ISTISAN 04/12.
3. Maroli, M., M. Gramoccia, L. Gradoni, M. Troiani, R. Ascione, 1994: Natural infection of *Phlebotomus perniciosus* with an enzymatic variant of *Leishmania infantum* in the Campania region of Italy. Acta Trop. 57, 333-335.

4. Léger, N., B. Pesson, G. Madulo-Leblond, E. Abonnenc, 1983: Sur la différenciation des femelles du sous-genre *Larrousius* *Nitzulescu*, 1931 (Diptera-Phlebotomidae) de la région méditerranéenne. Ann. Parasit. Hum. Comp. 58, 611-623.
5. Pozio, E., L. Gradoni, M. Gramoccia, 1985: La leishmaniosi canina in Italia de 1910 a 1983 m. Ann. Parasitol. Hum. Comp. 60, 543-553.
6. Romagnoli, P., G. Macri, L. Gradoni, M. Maroli, 2002: Serological survey on canine leishmaniasis and first record of phlebotomine sand flies in the southeast Italian focus of leishmaniasis: Lampedusa island, Sicily. Parassitologia 44, 154.
7. França-Silva, J.C., da Costa, R.T., Siqueira, A.M., Machado-Coelho, G.L., da Costa, C.A., Mayrink, W., Vieira, E.P., Costa, J.S., Genaro, O., Nascimento, E., 2003. Epidemiology of canine visceral leishmaniosis in the endemic area of Montes Claros municipality, Minas Gerais State, Brazil. Vet. Parasitol. 111, 161-173.
8. Sanchez-Robert, E., L. Altet, A. Sanchez, O. Francino, 2005: Polymorphism of *Slc11a1* (*Nramp1*) gene and canine leishmaniasis in a case-control study. J. Hered. 96, 755-758.
9. Torina, A., S. Caracappa, P.S. Mellor, M. Baylis, B.V. Purse, 2004: Spatial distribution of bluetongue virus and its *Culicoides* vectors in Sicily. Med. Vet. Entomol. 18, 81-89.