

17 gennaio 2020 – Università di Bologna

LA NOSTRA
ESPERIENZA.
LA VOSTRA
SICUREZZA.

Aggiornamenti epidemiologici sulla Leishmaniosi canina in Emilia-Romagna:

Annalisa Santi - Sorveglianza Epidemiologica Emilia-Romagna
Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna



Leishmaniosi - eziologia

- la **Leishmaniosi** è una malattia parassitaria sostenuta da protozoi del gen. *Leishmania*
- 30 specie di *Leishmania* colpiscono i mammiferi
- nelle aree mediterranee *Leishmania infantum* è agente di Leishmaniosi canina e di Leishmaniosi umana (viscerale, cutanea, ecc.)
- È una **zoonosi** (a livello mondiale viene considerata la sesta malattia in ordine di importanza per l'uomo) **trasmessa da vettori**

3



Leishmaniosi

La malattia è trasmessa dalla puntura di ditteri ematofagi

- Ordine Diptera
- Famiglia Psychodidae
- Sottofamiglia Phlebotominae
- genere *Phlebotomus* : piccoli, 2-3mm, giallo pallido o ruggine, con un volo simile alle zanzare
- le L. del Nuovo Mondo sono trasmesse prevalentemente da flebotomi del genere *Lutzomyia*



4



Leishmaniosi – ciclo nel cane

STADIO FLEBOTOMICO



▲ STADIO INFETTIVO
▲ STADIO DIAGNOSTICO

5



Azione dei presidi antivettoriali

Effetto No-feeding

84-96% viene respinto e non punge

Protezione individuale



Effetto insetticida

100% mortalità di chi ha punto

Protezione di massa





Definizione di caso (cane)



1a. Caso sospetto di Lcan

- soggetti clinicamente sani con **ELISA dubbio** o un titolo IFI compreso tra 1:40 e 1:80.
 - soggetti clinicamente sani con positività alla **PCR**.
- I sospetti devono essere ricontrollati dopo 6 mesi.

1b. Soggetto infetto di Lcan

- soggetti con **ELISA positivo** o un titolo IFI $\geq 1:160$, con o senza segni clinici.
- soggetti che presentano **uno o più segni clinici** caratteristici di leishmaniosi con positività alla **PCR**

Test di laboratorio di riferimento

- test sierologico **ELISA** o IFI.
- PCR**, su campioni di puntato linfonodale o sternale per approfondimenti.

7

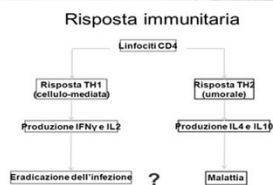


Predisposizione genetica?

Risposta immunitaria

2 possibili risposte:

- attivazione CD4-Th1: protezione
- attivazione CD4-Th2: malattia



Le sostanze prodotte dai Th2 richiamano macrofagi immaturi e favoriscono l'evoluzione della malattia, in quanto permettono una persistenza delle leishmanie all'interno dei macrofagi ed una loro diffusione sistemica.

Nei soggetti ammalati, infatti, la continua sollecitazione delle cellule immunocompetenti, indotta dai parassiti nei fagociti, comporta uno squilibrio del sistema immunitario, con iperfunzione della risposta umorale (non protettiva), ed anomalie in quella cellulo-mediata: immunodepressione e produzione di immunocomplessi circolanti, alla base di gran parte delle lesioni che si realizzano nei soggetti infetti: nefropatie, lesioni cutanee e oculari, oltre a predisposizione a patologie secondarie.

8



Serbatoio animale: cane

- Altri mammiferi si possono infettare:

- Altri canidi (lupo, volpe)
- Gatti
- Roditori (ratti, gerbilli, topi)
- Lepri
-

Il **piano selvatici regionale dal 2010** monitora volpi, lupi e svariati possibili serbatoi:

in 10 anni sono state rilevate solo 5 positività:

- 1 volpe nel 2015 a BO,
- 1 volpe nel 2018 a PC,
- 3 caprioli nel 2019 a BO.

SPECIE	ESAMINATI	POS
CAPRIOLO	253	3
CERVO	16	
CINGHIALE	11	
CIVETTA	1	
CONIGLIO	8	
DAINO	20	
FAINA	5	
GHIRO	9	
ISTRICE	35	
LEPRE	54	
LUPO	16	
PIPISTRELLO	22	
PUZZOLA	1	
RATTO	21	
RICCIO	130	
SCOIATTOLO	6	
TASSO	49	
VOLPE	430	
Totale selvatici esaminati nel 2019	1.087	3

9

Il progetto regionale

Regione Emilia-Romagna

- *Progetto regionale per la SORVEGLIANZA DELLE MALATTIE TRASMESSE DA VETTORI*
 - 2007-2010
 - 2011-2013
 - 2014 - 2015

Delibera RER 240/2015




10

Obiettivi del Piano: valutazione del rischio

Occorre raccogliere e organizzare le informazioni:

- Distribuzione e densità del vettore
- Dati sui casi nei cani (serbatoio)
- Dati sui casi negli uomini
- Casi autoctoni o importati?
- Dati sui casi nei selvatici ?



11

Attività del Piano Regionale di controllo della Leishmaniosi canina

- Sorveglianza entomologica
- Sorveglianza nei canili
- Sorveglianza passiva sui cani di proprietà
- Sorveglianza a seguito di casi umani autoctoni

12

C'è il vettore?



- Programma di monitoraggio entomologico
- Tipizzazione e numerazione degli insetti catturati

13



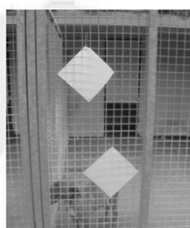
1 - Sorveglianza entomologica

Campionamento flebotomi

I campionamenti sono effettuati:

- Nei canili classe 2 (tutti gli anni)
- Nei canili di classe 4 (minimo ogni 2 anni)
- Nei dintorni dei casi umani

Con sticky-traps o trappole attrattive



- **Periodo di campionamento:** maggio – ottobre ogni 2 settimane
- In ogni canile 3 STAZIONI FISSE DI CAMPIONAMENTO
- ognuna contraddistinta da un numero, 8 FOGLI PER STAZIONE
- I fogli vanno posizionati la SERA e ritirati il MATTINO successivo.

14



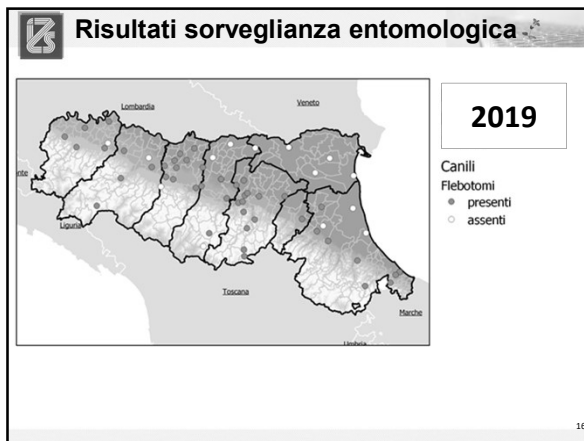
Risultati sorveglianza entomologica

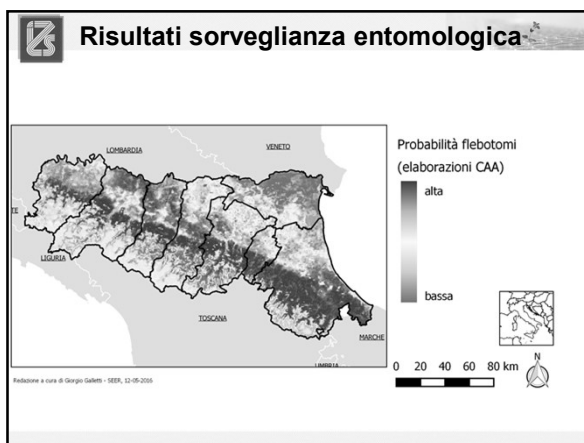
Nel 2019 il monitoraggio entomologico è stato svolto in **13 canili di classe 2 e 4** (assenza di vettore).

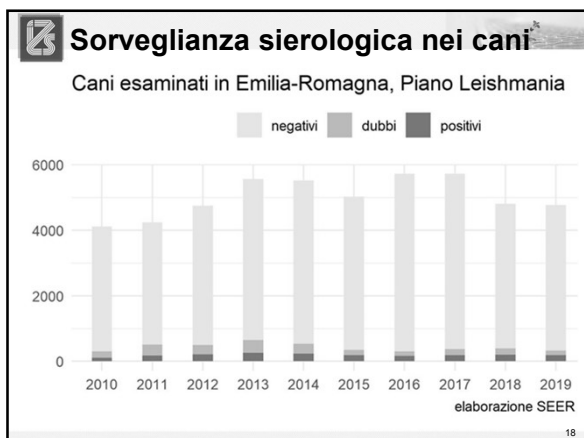
- E' stata rilevata la presenza di *Phlebotomus perfiliewii* in **1 canile, in provincia di FC.**



15









Canili: attività modulate in base al rischio

Classificazione canili		Presenza cani sieropositivi	
		SI'	NO
Presenza flebotomi vettori <i>Ph. perniciosus</i> <i>Ph. perfiliewi</i>	SI'	CLASSE 1 <ul style="list-style-type: none"> Sorveglianza clinica Monitoraggio nuove introduzioni Trattamento individuale dei cani positivi Trattamento con antivettoriali di tutti i cani Controllo su cani sentinella 	CLASSE 3 <ul style="list-style-type: none"> Sorveglianza clinica Monitoraggio nuove introduzioni Controllo su cani sentinella
	NO	CLASSE 2 <ul style="list-style-type: none"> Sorveglianza clinica Monitoraggio nuove introduzioni Trattamento individuale dei cani positivi Trattamento con antivettoriali dei cani pos e dubbi Sorveglianza entomologica 	CLASSE 4 <ul style="list-style-type: none"> Sorveglianza clinica Monitoraggio nuove introduzioni Sorveglianza entomologica

Sorveglianza sierologica nei canili

Monitoraggio iniziale:
Si controllano tutti i cani presenti nel canile appena arruolato nel piano.

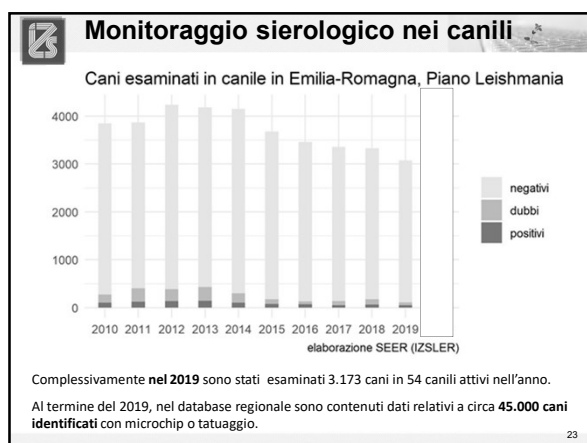
Monitoraggio sui cani di nuova introduzione:
Si controlla ogni cane che entra in canile.

Sospetti clinici / approfondimenti diagnostici

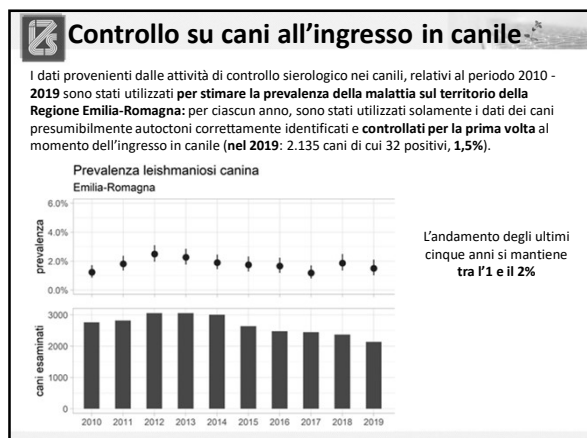
21

 ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA LOMBARDIA E DELL' EMILIA ROMAGNA SORVEGLIANZA EPIDEMIOLOGICA EMILIA ROMAGNA					
Anagrafi Sanità Animale Sicurezza Alimentare Documentazione Strumenti					
Sanità Animale > Malattie Trasmesse Da Vettori > Leishmania > Sorveglianza Nei Canili					
Piano Leishmania nei canili					
AUSL	Numero canili	Canili con prelievo	Campioni esaminati	Canili dubbi	Canili positivi
AUSL PIACENZA	6	6	304	1	5
AUSL PARMA	6	4	203	1	2
AUSL REGGIO EMILIA	11	9	571	10	17
AUSL MODENA	9	8	517	13	12
AUSL IMOLA	1	1	101	4	2
AUSL FERRARA	5	5	222	1	1
AUSL RAVENNA	5	4	227	3	2
AUSL FORLÌ	1	1	112	5	4
AUSL CESENA	1	1	59	0	0
AUSL RIMINI	4	3	199	2	4
AUSL BOLOGNA	12	12	677	27	19
Totale	61	54	3192	67	68

22



23





Controllo su cani sentinella

- Controllo a campione (vedi tabella) volto a evidenziare **sieroconversioni = circolazione della malattia nel canile**

- Nei canili in classe 1 e 3
(presenza di vettori)

- Nei mesi antecedenti la stagione di attività del vettore (**febbraio-maggio**)

- Sentinelle** : animali con controlli sierologici **sempre negativi**

Num. Cani presenti	Numero sentinelle da controllare
≤ 15	Tutti
16-20	16
21-25	18
26-30	19
31-50	22
51-70	24
71-90	25
91-100	26
101-200	27
201-300	28
>301	29

25



Controllo su cani sentinella nei canili

Anno	Canili in cui sono stati esaminati cani sentinella	N° di cani sentinella esaminati	N° di canili con siero conversioni	N° siero conversioni
2010	50	896	10	11
2011	48	825	7	13
2012	50	850	8	8
2013	50	921	9	13
2014	46	950	4	4
2015	48	900	2	4
2016	48	997	3	5
2017	41	847	0	0
2018	41	648	4	5
2019	38	832	2	3

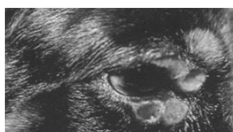
Se le sierconversioni sono avvenute nella stessa struttura: verificare la corretta applicazione delle misure di prevenzione per limitare la diffusione della malattia.

26



Sorveglianza clinica

Il 59% dei cani riscontrati positivi all'esame sierologico non manifestava sintomatologia.



Distribuzione dei sintomi nei cani con sintomatologia manifesta

Sintomo	%
Linfoadenomegalia	47,0%
Dermatite furfuracea	44,7%
Alopecia	26,5%
Ulcere	12,1%
Onicofrosi	17,4%
Epistassi	4,5%
Mucose pallide	15,2%
Lesioni oculari	15,2%
Splenomegalia	9,1%
Perdita di peso	38,6%
Senza sintomi	58,5%

Implicazioni epidemiologiche: 1. Anche cani clinicamente sani (ma sieropositivi !!!) possono essere infettanti per il vettore

Gruppo clinico	N. di cani	Titolo IFAT ¹	N. di cani infettanti	% di infezione
Asintomatico	8	80 - 2560	5 (62%)	12.5 - 79.2
Oligosintomatico	9	160 - 2560	8 (89%)	18.6 - 86.7
Polisintomatico	13	80 - 2560	13 (100%)	2.8 - 92.0

Da Gradoni: La leishmaniosi viscerale zoonotica in Italia: aspetti eziologici ed epidemiologici

28

ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA LOMBARDIA E DELL'EMILIA ROMAGNA
Via Sallustiana, 51 - 20124 Milano

RENZI M.¹
SANTI A.¹
PROCCIOLO A.²
CARRA E.¹
GALLETTI G.¹
PATERNOSTER G.¹
DI NARDO S.¹
SABATINO M.²
RUGNA G.¹
TAMBA M.¹

¹ Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna
² Servizio veterinario e igiene degli allevamenti Adendo SRL Bologna

E i gatti? Indagine nelle colonie feline di BO

SEROLOGICAL AND MOLECULAR SURVEY OF *LEISHMANIA INFANTUM* IN STRAY CATS IN BOLOGNA (ITALY)

BACKGROUND

Due to the importance of dogs as primary reservoir of *Leishmania* parasites, a canine leishmaniosis (CanL) surveillance program has been implemented since 2007 in Emilia-Romagna region (Italy), with the purpose of monitoring the presence of sandflies and infected dogs (Santi et al., 2014).

From 2012, a significant upsurge in human cases of visceral leishmaniosis was recorded in the province of Bologna, Emilia Romagna region (Varani et al., 2013), but the surveillance program demonstrated that the yearly prevalence of CanL in this area dropped from 3.1% in 2013 to 1.1% in 2015.

In order to verify the possible role of cats as CanL reservoir and to obtain information on the prevalence of the disease in this species, a survey program on stray cats living in the province of Bologna started in 2015-2016.

METHODS

562 sera samples and 566 conjunctival swabs were collected from 566 stray cats captured for the sterilization program in the urban areas of the Province of Bologna.

Each cat was clinically examined prior to sample collection.

Sera samples were tested using immunofluorescence technique (IFAT) according to the laboratory procedures described in the Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (OIE, 2014). Materials were provided by the National Reference Centre for Leishmaniosis (C.R.N.A.L., Sicily, Italy). Animals with IFAT titre \geq 2 of 1/80 were considered infected, as proposed by Pennisi et al. (2012).

Conjunctival swabs were analyzed using Real Time PCR (RT-PCR) (Galletti et al., 2011).

6th WORLD LEISH
14th - 20th MAY 2017
TOLEDO-SPAIN

29

ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA LOMBARDIA E DELL'EMILIA ROMAGNA
Via Sallustiana, 51 - 20124 Milano

RENZI M.¹
SANTI A.¹
PROCCIOLO A.²
CARRA E.¹
GALLETTI G.¹
PATERNOSTER G.¹
DI NARDO S.¹
SABATINO M.²
RUGNA G.¹
TAMBA M.¹

¹ Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna
² Servizio veterinario e igiene degli allevamenti Adendo SRL Bologna

Nelle colonie feline rilevata sieroprevalenza simile a quella dei cani, in assenza di sintomatologia clinica.

RESULTS

7 of 562 sampled cats (1.24%; IC95% 0.50-2.55) were IFAT positive (serum titers ranged from 1:80 to 1:320).

1 of 566 conjunctival swabs (0.17%; IC95% 0.004-0.98) was RT-PCR positive, but IFAT was negative.

Only one cat shown to be affected by ocular conjunctivitis, this cat was IFAT positive (1:320) but RT-PCR negative.

CONCLUSIONS

Our findings confirm the presence of CanL infection in stray cats living in the Province of Bologna. Despite the seroprevalence in dogs and cats living in the same endemic area seems to be similar, generally cats do not show any clinical symptom.

REFERENCES

Varani G. et al. Outbreak outbreak of visceral leishmaniosis in Bologna Province, Italy, November 2012 to May 2013. Euro Surveill. 18(29):20530, 2013.

Santi A. et al. A surveillance program on canine leishmaniosis in the public kennels of Emilia-Romagna Region, Northern Italy. Vector Borne Zoonotic Dis. Mar;24(3):205-211, 2014.

Pennisi E. et al. Serological and molecular prevalence of *Leishmania infantum* infection in cats from Southern Italy. J Feline Med Surg 012;24:656-7, 2012.

Galletti E. et al. Development of a minor groove binding probe based real-time PCR for the diagnosis and quantification of *Leishmania infantum* in dog specimens. Res Vet Sci 91-2: 243-246, 2011.

6th WORLD LEISH
14th - 20th MAY 2017
TOLEDO-SPAIN


30

CANI di PROPRIETÀ

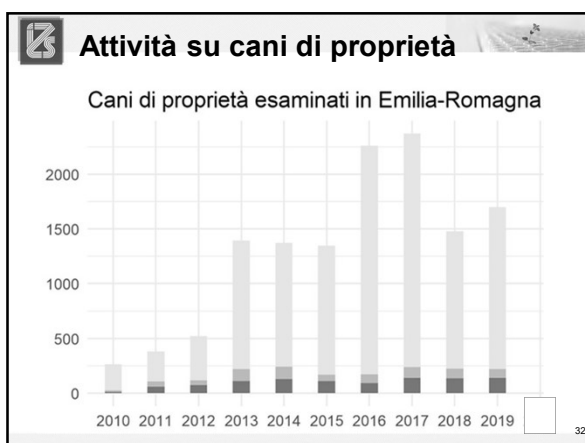
Attività previste:

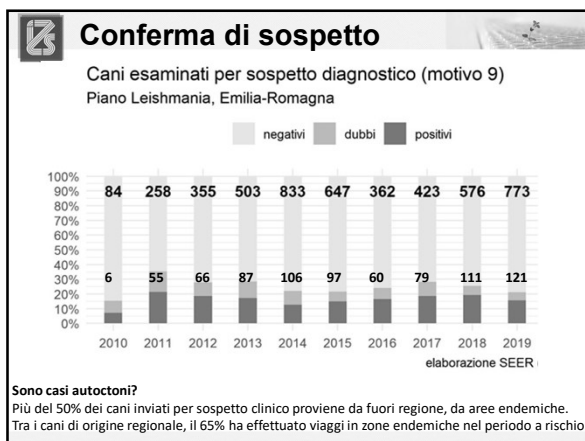
SORVEGLIANZA PASSIVA
Veterinari LLPP

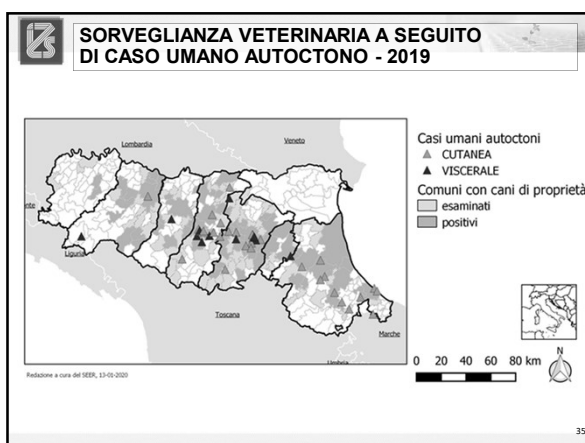
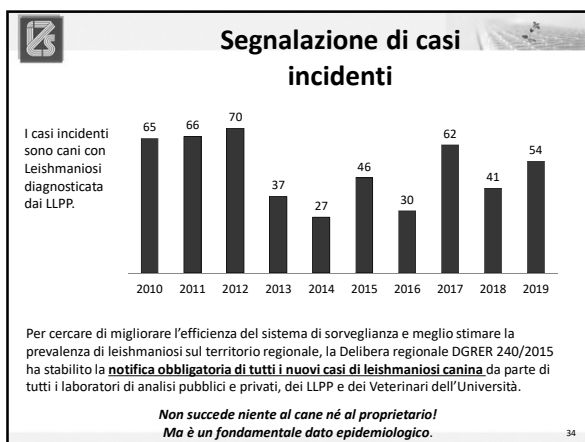
SORVEGLIANZA ATTIVA
in seguito a
caso umano autoctono
Vet. AUSL & LLPP



31







SORVEGLIANZA VETERINARIA A SEGUITO DI CASO UMANO AUTOCTONO
Cani controllati nel 2019 attorno al luogo di presunto contagio

id_umano	Comune	N	D	P	tot	id_umano	Comune	N	D	P	tot
2019-04	Forlì	10	1	0	11	2019-15	San Lazzaro di Savena	17	0	0	17
2019-34	Sassuolo	27	2	1	30	2019-16	San Lazzaro di Savena	26	0	0	26
2019-44	PRIGNANO SULLA SECCHIA	4	0	0	4	2019-17	Maranello	25	0	0	25
2019-47	Verigato	1	0	0	1	2019-18	Serramazzoni	9	0	1	10
2019-53	Dovadola	1	0	0	1	2019-19	Modena	4	0	0	4
2019-54	Fiorano Modenese	29	1	1	31	2019-20	Fiorano Modenese	4	0	0	4
2019-55	Fiorano Modenese	33	3	0	36	2019-21	Maranello	20	1	0	21
2019-60	Valsamoggia	2	1	0	3	2019-24	PALAGANO	10	0	0	10
2019-62	Fiorano Modenese	18	3	0	21	2019-25	CESENA	55	2	0	57
2019-66	Cortano	1	0	0	1	2019-27	Castelvetro di Modena	2	0	0	2
2019-68	Castellarano	9	0	0	9	2019-28	Pianoro	2	1	1	4
2019-69	Maranello	1	0	0	1	2019-29	Monte San Pietro	25	1	0	26
2019-71	Faenza	9	1	0	10	2019-30	PARMA	44	0	0	44
2019-74	Castelfranco Emilia	52	0	0	52	2019-31	CASTELFRANCO EMILIA	4	0	0	4
2019-77	San Lazzaro di Savena	6	0	0	6	2019-33	Imola	29	6	4	39
2019-81	Porti	6	0	0	6	2019-35	SASSO MARCONI	1	0	0	1
2019-89	Crevalcore	13	0	0	13	2019-36	VALSAMOGGIA	21	5	1	27
2019-95	Gemmano	2	0	0	2	2019-37	Bologna	16	0	0	16
2019-96	Fiorano Modenese	1	0	0	1	2019-39	Bologna	15	0	1	16
2019-97	Bologna	28	0	0	28	2019-40	Porti	35	0	0	35
2019-98	Savignano sul Panaro	11	0	0	11	2019-42	Nonafeltria	34	1	0	35
2019-100	Bologna	40	1	2	43	2019-43	Rimini	3	0	0	3
2019-100	Pianoro	55	6	2	63	2019-44	Verucchio	51	0	1	52
2019-13	Castelvetro di Modena	4	0	0	4	2019-46	Quattro Castella	12	0	0	12
2019-14	San Lazzaro di Savena	2	0	0	2	Totale	Emilia-Romagna	829	36	15	880

Nel 2019 sono stati notificati 47 casi umani presumibilmente autoctoni.
 Su 880 cani controllati nei pressi dei casi umani, sono stati rilevati 15 nuovi cani positivi (1,7%).
 I risultati di queste attività sembrano dimostrare che anche nei pressi dei casi umani la prevalenza di Lcan sia in linea con la prevalenza regionale (1,5%).

