

PIANO REGIONALE DI MONITORAGGIO DELLA LEISHMANIOSI CANINA IN LOMBARDIA

PREMESSA

La leishmaniosi è una zoonosi trasmessa da insetti ematofagi trasmessa da insetti ematofagi appartenenti alla famiglia *Psychodidae* ed al genere *Phlebotomus* e causata da protozoi parassiti appartenenti a oltre 20 specie del genere *Leishmania*. Numerose specie animali domestiche e selvatiche fungono da ospite per *Leishmania* spp., ad esempio i roditori ed il cane che ne è il principale serbatoio. L'uomo può essere ospite definitivo per il patogeno ed in taluni casi può essere anche serbatoio. La leishmaniosi è una malattia endemica in 88 Paesi dei 5 continenti per la quale l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) ha predisposto specifiche linee guida per gestirne il controllo.

La strategia dell'OMS per l'Europa prevede il rafforzamento della sorveglianza epidemiologica, l'integrazione della sorveglianza dei casi umani con quella canina e la valutazione dell'efficacia degli interventi di controllo.

Secondo la valutazione dell'*European Center for Disease Control* (ECDC), i cambiamenti climatici e ambientali potrebbero aumentare il rischio di malattie trasmesse da vettori in Europa.

In Italia, i vettori della leishmaniosi sono *Phlebotomus perniciosus*, *P. perfiliewi*, *P. neglectus* e *P. ariasi*, diffusi su gran parte del territorio nazionale. Si tratta di insetti molto piccoli (2-4 mm), con attività crepuscolare e notturna, che si muovono silenziosamente con voli corti e successivi, simili a saltelli. Solo le femmine effettuano un pasto di sangue necessario per far maturare le uova. Il periodo di attività dei flebotomi si colloca, alle nostre latitudini, tra giugno e ottobre.

In tutta l'area mediterranea la leishmaniosi nell'uomo è considerata una patologia riemergente, con un aumento dei casi a partire dagli anni '90. In Italia, secondo dati dell'Istituto Superiore di Sanità (ISS), l'incidenza annuale da inizio degli anni 2000 è di circa 200 casi, anche se molto probabilmente sono dati per difetto.

La leishmaniosi canina è malattia soggetta a segnalazione a norma dell'art. 5, c.3 del Regolamento di Polizia Veterinaria di cui al DPR n. 320 del 08/02/1954.

La leishmaniosi cutanea e la leishmaniosi viscerale umane sono malattie a notifica obbligatoria (Classe II, D.M. 15/12/1990).

RIFERIMENTI NORMATIVI PER LA LEISHMANIOSI CANINA

- D.P.R. 8 febbraio 1954, n. 320 Regolamento di Polizia Veterinaria;
- Direttiva 92/65/CEE del Consiglio del 13 luglio 1992;
- D.lgs. 4 aprile 2006, n. 191 "Attuazione della Direttiva 2003/99/CE sulle misure di sorveglianza delle zoonosi e degli agenti zoonotici";
- Linee guida per il controllo del serbatoio canino della leishmaniosi viscerale zoonotica in Italia (Rapporto ISTSAN 04/12);
- Linee Guida relative alla movimentazione e registrazione nell'anagrafe degli animali d'affezione ai sensi dell'Accordo 24 gennaio 2013 tra il Governo, le regioni e le province autonome di Trento e Bolzano, le province, i comuni e le comunità montane in materia di identificazione e registrazione degli animali d'affezione.

LEISHMANIOSI NELL'UOMO

Nell'uomo, la leishmaniosi può manifestarsi con quattro forme, con diversi sintomi ma sempre con effetti potenzialmente devastanti:

- F. cutanea (LC): è la forma più diffusa ed è causata dalla moltiplicazione dei protozoi nei fagociti cutanei. Si manifesta con la produzione di numerose lesioni, anche oltre 200 in un solo malato, sulle parti esposte del corpo, dalle braccia alle gambe fino al viso, lasciando cicatrici permanenti.
- F. cutanea diffusa: simile alla precedente ma con lesioni molto più estese sul corpo. In questa forma, non c'è possibilità di guarigione delle lesioni senza trattamento e in ogni caso c'è una tendenza alla recidività.
- F. mucocutanea: si manifesta sotto forma di lesioni distruttive, anche molto estese, delle mucose del naso, della bocca e della cavità orale.
- F. viscerale (LV): è la forma più grave, conosciuta anche come *kala-azar*. Se non trattata, può raggiungere una mortalità praticamente del 100 per cento. Si manifesta con febbri irregolari e improvvise, perdita di peso, ingrossamento del fegato e della milza, anemia.

LEISHMANIOSI NEL CANE

Nel cane la leishmaniosi può manifestarsi in due forme:

- F. cutanea: che colpisce principalmente la cute e gli annessi cutanei. Le lesioni cutanee si caratterizzano per desquamazione e sviluppo di ulcerazioni, presenza di forfora, ipercheratosi, onicogriposi. Può essere presente anche linfadenomegalia.
- F. viscerale: che coinvolge più organi interni con segni clinici vari che spesso comprendono vomito e diarrea, inappetenza, perdita di peso, apatia, anemia, poliuria, polidipsia, letargia ed epistassi.

Nel cane la malattia procede con una evoluzione tendenzialmente cronica e progressivo deperimento organico. La forma cutanea, essendo caratterizzata da alterazioni più palesi, spesso viene diagnosticata in una fase più precoce della patologia. In assenza di terapia l'esito è infausto.

DIFFUSIONE IN ITALIA/LOMBARDIA

La leishmaniosi canina è presente storicamente in tutti i territori costieri e collinari del versante tirrenico, ionico e basso-adriatico dell'Italia continentale e delle isole. Recentemente sono stati rilevati casi in Emilia-Romagna, Piemonte, Valle d'Aosta, Lombardia, Veneto, Trentino e Friuli. È possibile pertanto ipotizzare che l'infestazione sia presente in forma endemica su tutto il territorio italiano, pur con differenti valori di prevalenza ed incidenza. Non si conosce la reale diffusione della leishmaniosi canina in Lombardia. Nel 2020 è stato avviato dalla UO Veterinaria il Piano "Controlli sulla leishmaniosi canina" che prevede la raccolta della seguente documentazione:

- segnalazioni di cui all'art. 5 del RPV relativamente a leishmaniosi;
- modelli A con indicazioni di prove sierologiche positive per leishmaniosi;
- notifiche di certificazioni TRACES con positività per leishmaniosi;
- schede anagrafiche/cliniche di cani transitati in canili sanitari risultati positivi/malati di leishmaniosi.

Tale documentazione verrà trasmessa dalle AA.TT.SS. alla UO Veterinaria entro il 28 febbraio 2021 e verrà successivamente analizzata per le finalità di cui al presente Piano.

Nell'uomo la leishmaniosi, nelle forme cutanee e viscerali sostenute da *Leishmania infantum*, è considerata endemica in gran parte delle aree del nostro Paese. Nel 2018 è stato pubblicato dall'OMS il primo rapporto sulla situazione epidemiologica dell'Italia rispetto a leishmaniosi viscerale e leishmaniosi cutanea riferita al 2016 (Figura 1).

In un recente lavoro condotto in Regione Emilia-Romagna, sono stati analizzati 31 ceppi (28 cani e 3 uomo) provenienti dall'Emilia Romagna e 9 ceppi umani provenienti da altre 5 regioni italiane, tra cui la Lombardia. Lo studio ha dimostrato che in Emilia-Romagna circolano due diversi ceppi di *Leishmania infantum*, uno di questi, più diffuso, è simile al ceppo lombardo (Rugna et al, 2017*).

*Distinct *Leishmania infantum* Strains Circulate in Humans and Dogs in the Emilia-Romagna Region, Northeastern Italy. Gianluca Rugna, Elena Carra, Francesco Corpus, Mattia Calzolari, Daniela Salvatore, Romeo Bellini, Antonietta Di Francesco, Erica Franceschini, Antonella Bruno, Giovanni Poglajen, Stefania Varani, Fabrizio Vitale, and Giuseppe Meriardi. Vector-Borne and Zoonotic Diseases volume 17, Number 6, 2017¹

LEISHMANIOSI VISCERALE



LEISHMANIOSI CUTANEA



Figura 1: distribuzione geografica dei casi umani di Leishmaniosi cutanea e viscerale nel 2016 (www.who.int/leishmaniasis/Map-CL-Ita-2016.png)

DEFINIZIONI

Ai fini del presente Piano valgono le seguenti definizioni:

Caso sospetto di leishmaniosi canina

- soggetto clinicamente sano con ELISA dubbia o un titolo di Immunofluorescenza indiretta (IFI) compreso tra 1:40 e 1:80. Da ricontrollare dopo almeno 6 mesi
- soggetto clinicamente sano con positività alla PCR. Da ricontrollare senza indebito ritardo con tecnica sierologica

Caso infetto da leishmaniosi canina

- soggetto con Elisa positiva o un titolo IFI uguale o maggiore di 1:160, anche in assenza di evidenti segni clinici di leishmaniosi
- soggetto che presenta uno o più segni clinici caratteristici di leishmaniosi con positività alla PCR o ad altra metodica diagnostica diretta (esame microscopico e/o colturale)

Anagrafe Animali d'Affezione

- banca dati informatizzata regionale, per la registrazione di cani, gatti e furetti presenti sul territorio regionale, che assicura l'aggiornamento della Banca Dati Nazionale

Canile sanitario

- struttura comunale destinata al ricovero temporaneo di cani morsicatori, cani vaganti catturati, rinvenuti o consegnati direttamente o tramite la forza pubblica

Rifugio

- struttura di cui uno o più comuni o comunità montane dispongono per il ricovero di:
 - a) cani e gatti che hanno superato il periodo di controllo presso il ricovero sanitario;
 - b) cani e gatti ceduti definitivamente dal proprietario, sequestrati dall'autorità giudiziaria o amministrativa

Cani Pubblici

- Cani iscritti in Anagrafe Animali d'Affezione come di proprietà di un Comune

Caso incidente di Leishmaniosi canina

- soggetto infetto da Leishmaniosi canina per il quale la diagnosi di infezione/malattia viene effettuata per la prima volta

Caso autoctono di Leishmaniosi canina

- soggetto che si ritiene essersi infettato nel luogo di residenza (Regione Lombardia)

Caso non autoctono di Leishmaniosi canina

- soggetto che si reputa essersi infettato in un'area diversa dalla Lombardia

Area endemica di leishmaniosi

- area geografica in cui si registrano casi ricorrenti di Leishmaniosi Viscerale Umana, individuata dalla Regione Lombardia

ACCERTAMENTI DIAGNOSTICI

Di seguito si elencano gli esami di laboratorio impiegati a fini diagnostici, per la prognosi, il monitoraggio delle terapie e la conferma dei casi clinici.

- **esame sierologico**
 - a) ELISA: è il test di screening di riferimento per il presente Piano, in accordo con il Manuale Diagnostico OIE, e consente la rilevazione degli anticorpi anti-leishmania nel sangue. Il campione di sangue viene raccolto in provette sterili e l'esame viene effettuato sul siero conservato ad una temperatura compresa tra +4 e +8° C. In caso di esito dubbio la conferma può essere eseguita mediante Immunofluorescenza Indiretta (IFI)
 - b) Immunofluorescenza Indiretta (IFI): test sierologico caratterizzato da elevata specificità utilizzabile per la conferma di esiti dubbi o casi sospetti

- **esame parassitologico**

Gli strisci di materiale bioptico (linfonodale e midollare) possono essere colorati col metodo di Giemsa (preceduto dalla fissazione di May-Grünwald o con metanolo) che permette un'agevole evidenziazione degli amastigoti

- **isolamento colturale**

L'isolamento può essere ottenuto nell'animale in vita dal puntato midollare, dall'ago aspirato linfonodale, dal raschiato cutaneo, dal liquido sinoviale, dal sangue o dagli stessi organi

Ai fini diagnostici rappresenta il test d'eccellenza, perché consente di ottenere la certezza assoluta della presenza del protozoo nell'ospite

- **esame biomolecolare tramite PCR (PCR qualitativa, PCR quantitativa)**

La PCR, ricercando il DNA del parassita nell'organismo ospite, è indipendente dalla risposta immunitaria di quest'ultimo e può essere condotta su campioni di sangue intero, midollo osseo, puntato linfonodale e raschiato cutaneo. Può essere impiegata per approfondimenti diagnostici in caso di soggetti con segni clinici manifesti

OBIETTIVI DEL PIANO REGIONALE

Il presente Piano di monitoraggio per la leishmaniosi ha i seguenti obiettivi:

- acquisire dati sulla diffusione della leishmaniosi canina in Lombardia tramite un'attività di monitoraggio sierologico sui cani presenti nei rifugi;
- acquisire dati sulla presenza e sulla distribuzione dei vettori in Lombardia tramite monitoraggio entomologico nei rifugi;
- acquisire dati sull'eventuale coinvolgimento dei gatti nell'epidemiologia dell'infestazione effettuando un'attività di monitoraggio sierologico su un campione di gatti di colonia in concomitanza con le attività di sterilizzazione.

I dati raccolti dalle attività di monitoraggio consentiranno di delineare una distribuzione dei casi di leishmaniosi sul territorio regionale. Il monitoraggio sierologico ed entomologico su strutture rifugio consentirà di attribuire a queste un livello di rischio basato sulla presenza/assenza di casi e sulla presenza/assenza dei vettori. Con i dati raccolti, già al termine del primo anno sarà possibile valutare, con il supporto tecnico di IZSLER, eventuali misure da adottare per contrastare la diffusione della patologia all'interno delle strutture coinvolte, riducendo al contempo l'esposizione dell'uomo al patogeno.

DURATA DEL PIANO

Il presente Piano avrà una durata triennale, dal 1° maggio 2021 al 30 aprile 2024.

I dati raccolti verranno analizzati, almeno annualmente da OEVR e UO Veterinaria per definire eventuali azioni regionali di sorveglianza e controllo.

ATTIVITÀ DI MONITORAGGIO

Le attività di monitoraggio verranno svolte da personale dei Dipartimenti Veterinari delle AA.TT.SS.

I campioni verranno conferiti alla Sede Centrale di Brescia di IZSLER per il tramite delle Sedi Territoriali.

Le modalità di conferimento dei campioni verranno concordate con IZSLER e trasmesse ai Dipartimenti Veterinari tramite specifiche indicazioni operative entro l'inizio delle attività.

Di seguito vengono dettagliati gli ambiti in cui si articolerà l'attività di monitoraggio.

Monitoraggio sui cani pubblici

In Anagrafe Animali d’Affezione, risultano attivi e con cani 64 rifugi e 26 canili sanitari con la distribuzione schematizzata in Figura 2.

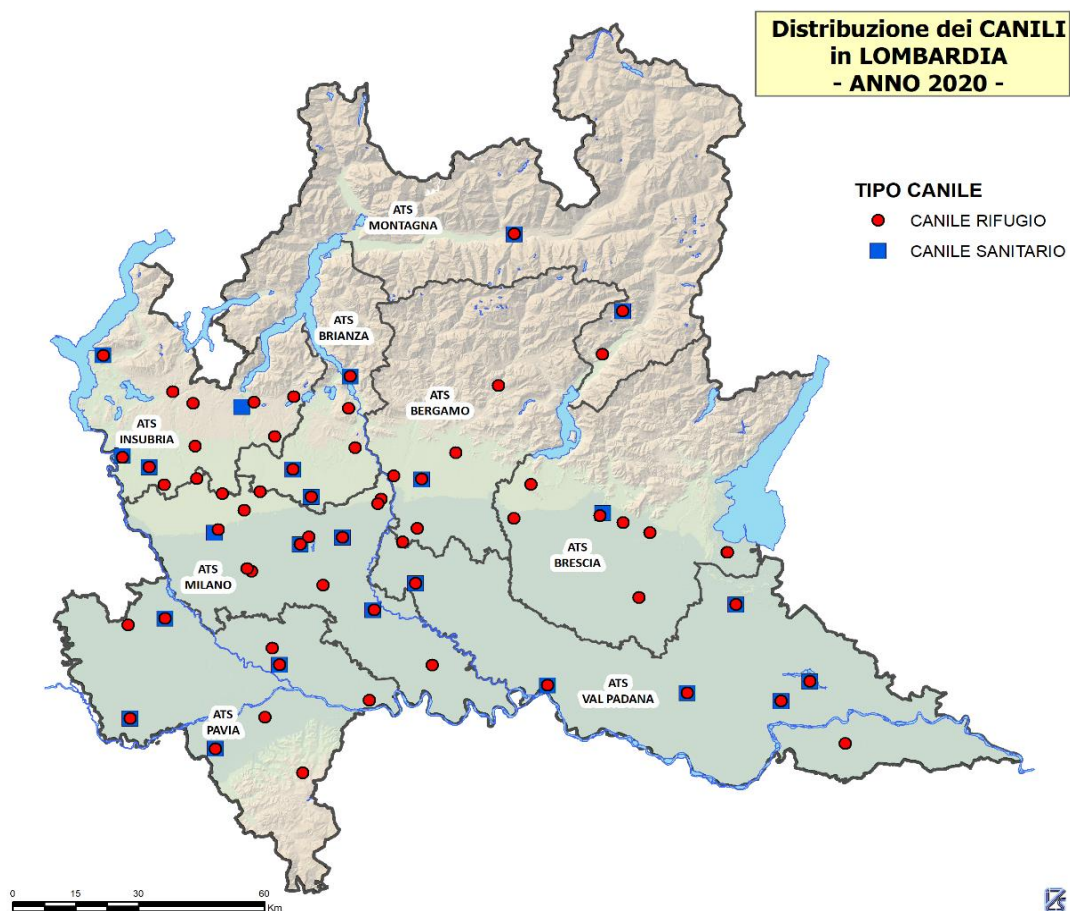


Figura 2: Distribuzione dei canili sanitari e canili rifugio in Lombardia al 13/10/2020

- a partire dal 1° maggio 2021 e per tutta la durata del Piano, verranno effettuati accertamenti sierologici sui soggetti entrati non identificati nei canili sanitari, con età stimata superiore ai 6 mesi, al termine del periodo di osservazione per la rabbia e al momento del trasferimento nei rifugi; andranno inoltre esclusi dal monitoraggio i soggetti di difficile gestione;
- dal 1° maggio 2022 al 30 aprile 2024 –dovranno essere sottoposti a monitoraggio tutti i rifugi di pertinenza territoriale, previa verifica delle consistenze ed eventuale aggiornamento dei dati presenti in Anagrafe Animali d’Affezione. L’accertamento sierologico riguarderà i soggetti che non siano già stati testati nei 6 mesi precedenti e/o identificati come casi. Andranno inoltre esclusi dal monitoraggio i soggetti di difficile gestione, gli animali di proprietà sequestrati dall’autorità giudiziaria o amministrativa o temporaneamente ospitati su disposizione del Sindaco. Valutato anche il numero dei soggetti presenti nelle singole strutture, le operazioni di campionamento dovranno essere programmate in modo da concludersi entro un massimo di 60 giorni dall’inizio. Nel periodo indicato, ciascun rifugio dovrà essere testato una sola volta.

Gli accertamenti sierologici in Elisa e/o IFI verranno eseguiti anche sulla base delle indicazioni del Manuale Diagnostico OIE e tenendo conto delle indicazioni anamnestiche dei soggetti.

Monitoraggio sierologico su gatti di colonia

Per tutto il periodo di vigenza del presente Piano devono essere condotti accertamenti sierologici su un campione di gatti di colonia. I prelievi verranno effettuati su soggetti adulti, 50% maschi e 50% femmine, al momento della sterilizzazione da parte del personale del Dipartimento Veterinario o da veterinari LP incaricati della sterilizzazione. In Tabella 1 viene indicata la numerosità campionaria proporzionale per ciascuna ATS per anno, calcolata sulla base dei dati del contesto (numero massimo di gatti sterilizzati, con un livello di confidenza dell'1% e prevalenza attesa del 2%) nel quadriennio 2016-2019.

ATS	N° gatti da testare per anno
Bergamo	18
Brescia	22
Brianza	26
Città Metropolitana di Milano	50
Insubria	21
Montagna	39
Pavia	14
Val Padana	40
TOTALE	230

Tabella 1: numero di gatti da prelevare per anno per ATS

Monitoraggio entomologico

Il monitoraggio entomologico, per la rilevazione e la quantificazione dei flebotomi vettori, è effettuato da personale dei Dipartimenti Veterinari per ciascun anno di validità del Piano attraverso il posizionamento di trappole all'interno dei rifugi come di seguito individuati.

Dovranno essere sottoposti a monitoraggio tutti i rifugi nelle strutture in cui coesistono canili sanitari e rifugi.

Inoltre, ciascuna ATS individua, se presenti, almeno altri 3 rifugi da sottoporre a monitoraggio, comunicandone i riferimenti all'UO Veterinaria e ad OEVR. Di questi, i rifugi che rimangono negativi per due anni dovranno, laddove possibile, essere sostituiti con altre strutture.

Le trappole saranno messe a disposizione da IZSLER attraverso le Sezioni territoriali e previa adeguata attività di formazione. Le catture verranno effettuate almeno ogni 21 giorni nel periodo compreso tra 15 giugno e 15 settembre. Nei rifugi dove verrà accertata la presenza del vettore, sarà sospeso il monitoraggio entomologico e dovrà essere attivato in un'altra struttura.

GESTIONE DEGLI ESITI

Gli esiti degli accertamenti dovranno essere trasmessi dai Dipartimenti Veterinari ai rifugi (responsabile della struttura e veterinario responsabile sanitario della struttura) per l'eventuale seguito di competenza.

Gli affidatari di cani sottoposti a monitoraggio dovranno essere informati degli accertamenti effettuati ai sensi del presente Piano e dei conseguenti esiti.

Per la gestione della casistica, si rimanda alle *Linee guida per il controllo del serbatoio canino della leishmaniosi viscerale zoonotica in Italia* (Rapporti ISTISAN 04/12).

I rapporti di prova relativi al monitoraggio sierologico ed eventuale documentazione clinica dovranno essere caricati in formato digitale in Anagrafe Animali d'Affezione, nell'anagrafica degli animali.

FLUSSO INFORMATIVO E RENDICONTAZIONE

I casi di leishmaniosi canina devono essere prontamente segnalati dai Dipartimenti Veterinari ai Dipartimenti di Igiene e Prevenzione Sanitaria delle AA.TT.SS.

A partire dal secondo anno (2022) di applicazione del presente Piano, entro il 31 maggio di ogni anno, i Dipartimenti Veterinari dovranno trasmettere all'UO Veterinaria una relazione sulle attività ed i risultati ottenuti.

L'IZSLER provvede alla trasmissione dei dati derivanti dalla attività di monitoraggio al C.Re.Na.L.