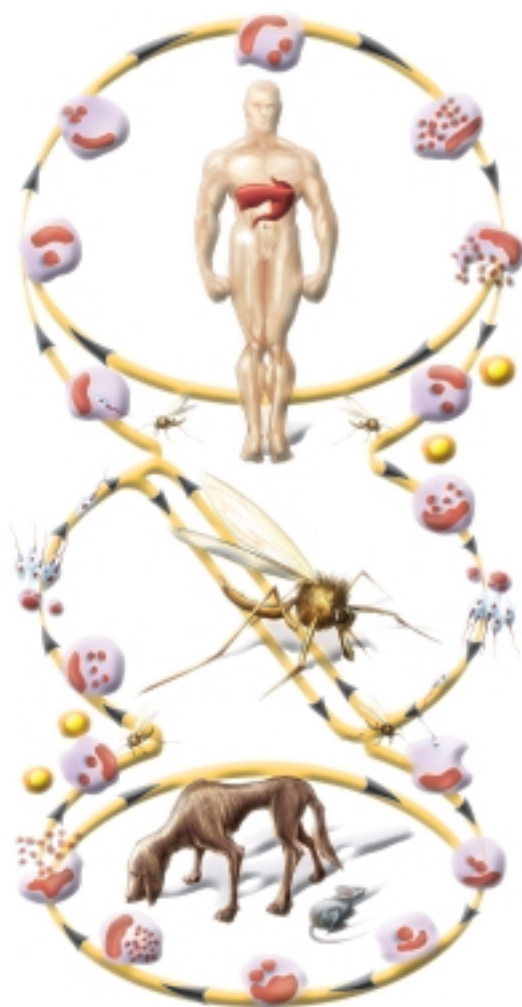


*Simposio*

# Controllo della Leishmaniosi: Veterinari e Medici a confronto

Sintesi delle presentazioni

Domenica, 25 Maggio 2003 • Roma



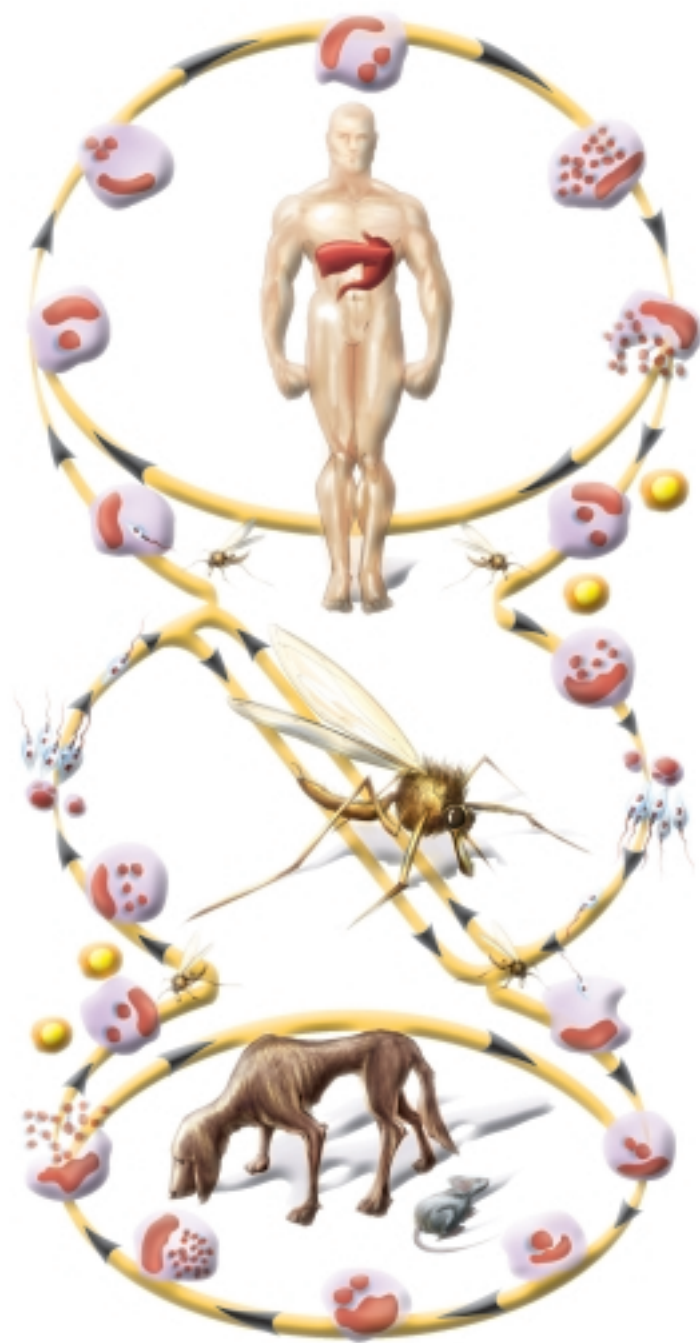
*Con il patrocinio di*  
Presidenza Regione Lazio  
Assessorato alla Sanità Regione Lazio  
Ordine dei Medici Veterinari della Provincia di Roma  
Ordine dei Medici Veterinari della Provincia di Latina  
Società Italiana di Parassitologia

The logo for Intervet, featuring the word "intervet" in a stylized, lowercase font. The letter "i" is green and has a curved line above it that extends to the right. The rest of the word is in a dark teal color.



## **Indice**

- 5** **Epidemiologia della leishmaniosi viscerale zoonotica nel Vecchio Mondo**  
Luigi Gradoni
  
- 6** **La leishmaniosi canina: situazione epidemiologica nella regione Lazio**  
Gladia Macrì
  
- 8** **Leishmaniosi viscerale in età pediatrica: casi clinici**  
Salvatore Catania
  
- 10** **Leishmaniosi dell'adulto e co-infezioni con HIV**  
Giovanni Battista Gaeta
  
- 11** **Controllo della leishmaniosi canina mediante l'uso di massa di una banda protettiva**  
Michele Maroli
  
- 12** **Effetto di una banda protettiva a base di deltametrina sull'incidenza di leishmaniosi viscerale zoonotica nei bambini**  
Clive R. Davies
  
- 15** **Aggiornamenti in terapia e profilassi della leishmaniosi canina**  
Gaetano Oliva



# Epidemiologia della leishmaniosi viscerale zoonotica nel Vecchio Mondo



**Luigi Gradoni**

Laboratorio di Parassitologia, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Le leishmaniosi costituiscono un ampio spettro di patologie causate da diverse specie e ceppi di *Leishmania* e trasmesse da numerose specie di flebotomi vettori. Le associazioni parassita-serbatoio-vettore e le rispettive malattie causate nell'uomo, distribuite in un determinato territorio, definiscono le cosiddette entità nosogeografiche. Nel Vecchio Mondo sono diffuse diverse entità della malattia; per alcune di queste l'uomo è l'unica fonte di infezione (leishmaniosi viscerale antroponotica, causata da *Leishmania donovani*; leishmaniosi cutanea antroponotica, causata da *Leishmania tropica*), mentre per altre il serbatoio è un animale (leishmaniosi viscerale zoonotica [LVZ], causata da *Leishmania infantum* con serbatoio principale il cane; leishmaniosi cutanea zoonotica, causata da *Leishmania major* e con serbatoio alcune specie di roditori gerbillidi).

La LVZ è diffusa prevalentemente in tutta l'area Mediterranea, ma focolai discontinui si ritrovano a macchia di leopardo in un vasto territorio che si estende dal Medio Oriente all'Asia centrale, Pakistan e Cina. Gli ambienti caratteristici di trasmissione sono costituiti da villaggi rurali e periferie urbane, molto spesso situati in zone collinari. L'analisi isoenzimatica di qualche migliaio di isolati di *L. infantum* dall'uomo, canidi e flebotomi vettori ha mostrato l'esistenza di uno zimodema principale (MON 1) presente in tutta l'area di diffusione. Numerosi zimodemi di *L. infantum* varianti per 1-3 enzimi sono stati dimostrati in individui co-infetti con HIV, e occasionalmente in pazienti immunocompetenti o in ospiti animali.

I casi di malattia acuta nell'uomo hanno andamento sporadico, con fenomeni di recrudescenza in alcune regioni. L'uso di antigene specifico intradermico (leishmanina) in popolazioni umane di aree endemiche mostra un'elevata incidenza di infezioni asintomatiche o semplici contatti uomo/parassita che raramente portano all'evoluzione clinica della malattia. Il rapporto tra casi clinici e infezioni asintomatiche è molto variabile, e ciò dipende principalmente dallo stato generale di salute e di nutrizione della popolazione. In particolari condizioni (per es. in Albania, Tunisia, Iran) il tasso di morbilità può essere particolarmente elevato, e in questo caso gli individui più colpiti sono i bambini. L'epidemia di HIV in sud Europa ha causato numerosi casi di co-infezione in età adulta; diversi casi sono segnalati anche tra pazienti organotrapiantati

sottoposti a terapie immunosoppressive.

Anche se varie specie di canidi possono essere infetti naturalmente da *L. infantum* (volpe, sciacallo, lupo), il cane domestico riveste il ruolo di serbatoio principale della LVZ. Numerosi studi di sieroprevalenza condotti in aree di diffusione della malattia umana hanno mostrato ovunque tassi significativi di leishmaniosi canina, con un range variabile dal 2 al 50%. Oltre il 60% degli animali sieropositivi può non manifestare sintomi della malattia, pur risultando infettante nei confronti del flebotomo vettore. Le terapie massive a base di antimONIO pentavalente praticate nei paesi industrializzati del sud Europa per la cura clinica della leishmaniosi canina, hanno portato a fenomeni di antimONIO resistenza a carico di ceppi di *L. infantum*.

La biologia dei vettori determina la spiccata stagionalità della trasmissione della LVZ, che in tutto l'areale di distribuzione avviene nei mesi caldi. Le femmine ematofaghe pungono nelle ore notturne, per cui solo un soggiorno prolungato in area endemica costituisce fattore di rischio. Fenomeni coevolutivi hanno portato ad una stretta associazione tra *L. infantum* e flebotomi del sottogenere *Phlebotomus* (*Larroussious*). Molte specie appartenenti a questo taxon trasmettono la LVZ in area Mediterranea, Medio Oriente e Asia centrale. Il parassita viene invece rapidamente distrutto quando viene assunto da altre specie di *Phlebotomus* comuni vettori di altre leishmanie, come *P. papatasi* (vettore di *L. major*) o *P. sergenti* (vettore di *L. tropica*).



# La leishmaniosi canina: situazione epidemiologica nella regione Lazio

Gladia Macrì

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana (IZS LT), sede di Roma

Le leishmaniosi sono infezioni protozoarie ampiamente diffuse nel Vecchio e Nuovo Mondo, sostenute da almeno 20 specie del genere *Leishmania* e trasmesse da ditteri ematofagi del genere *Phlebotomus* nel Vecchio Mondo e *Lutzomyia* nel Nuovo Mondo; le specie recettive includono animali domestici, selvatici ed anche l'uomo. In Italia e nei Paesi che si affacciano sul bacino del Mediterraneo è presente la forma zoonotica sostenuta da *Leishmania infantum* che interessa sia l'uomo che il cane.

La leishmaniosi canina è presente in forma endemica in molte zone della regione Lazio, soprattutto in ambienti rurali e periurbani della costa tirrenica, ma anche in zone collinari dell'entroterra.

## Epizootologia, ruolo di serbatoio e fattori di rischio

La distribuzione della malattia in una determinata area geografica può considerarsi stabile o instabile a seconda che nuovi casi autoctoni di malattia compaiano regolarmente dopo la stagione di attività del vettore, oppure si manifestino sporadicamente. La stabilità è legata a fattori di tipo biologico ed ecologico che prevedono la presenza del vettore, di popolazione canina recettiva, aree rurali o periurbane abbandonate, zone collinari verdi e scarsamente ventilate, clima mite e media altitudine (non superiore ai 900 mt.); focolai instabili di leishmaniosi si osservano in aree confinanti con i focolai stabili, ad un'altitudine che supera i 900 mt. e in zone che non offrono condizioni climatico-ambientali favorevoli allo sviluppo dei focolai larvali. In Italia negli ultimi anni si sono registrati focolai autoctoni di malattia anche in aree considerate indenni o a bassissimo rischio. La stagionalità dell'infezione è il dato comune, che in Italia inizia da maggio-giugno fino a settembre-ottobre. Casi di leishmaniosi si registrano anche in aree indenni, non come focolaio autoctono ma in conseguenza di spostamenti in aree endemiche dei cani a seguito dei proprietari.

Uno studio epidemiologico preciso sulla prevalenza e l'incidenza della leishmaniosi canina non è sempre facile, a causa del lungo periodo di incubazione e dell'evoluzione cronica della malattia, delle differenze nella risposta immunologica fra gli individui infetti e del lungo periodo di attività del vettore, che non sempre consentono di caratterizzare con certezza i nuovi casi.

Il ruolo del cane, quale principale serbatoio della malattia nei paesi del bacino del Mediterraneo, è

dato ormai indiscusso. Nel cane malato i parassiti, oltre a colonizzare alcuni visceri, si localizzano sulla cute, venendo assunti dal flebotomo al momento del pasto di sangue. Il cane, nella maggioranza dei casi, sviluppa una leishmaniosi in forma subacuto-cronica, risultando per lungo tempo infettivo per il vettore.

Principali fattori di rischio coinvolti nella diffusione della leishmaniosi canina: presenza contemporanea del vettore e del serbatoio recettivo, altre patologie in atto, mancanza di un vaccino e/o di un protocollo terapeutico in grado di sterilizzare i soggetti malati, insufficiente e/o non corretta educazione sanitaria della popolazione, insufficienti misure di profilassi sul serbatoio e sul vettore da parte degli organismi preposti, nuovi insediamenti umani ed animali in aree endemiche, deterioramento ambientale.

## Sieroprevalenza della leishmaniosi nelle diverse province del Lazio

Per le indagini sierologiche è stato utilizzato il test di immunofluorescenza indiretta, ancora oggi considerata la metodica dotata di maggiore sensibilità e specificità. Il campione è rappresentato da sieri di cani inviati da veterinari liberi professionisti e veterinari delle ASL per profilassi sierologica e per sospetto clinico di malattia, pervenuti presso il Reparto di Sierologia dell'IZS LT di Roma. È opportuno sottolineare che le percentuali di positività registrate possono risultare sovrastimate rispetto alla reale prevalenza della leishmaniosi: in una indagine condotta durante lo svolgimento del piano di controllo delle antropozoonosi da veterinari ASL, dall'IZS LT e con la collaborazione di veterinari liberi professionisti nei comuni di Morlupo, Capena e Castelnuovo di Porto su sieri di cani custoditi in canili e padronali (prelievi non mirati) abbiamo registrato una percentuale di positività pari al 15%.

La media della sieroprevalenza registrata nella provincia di Roma nell'ultimo triennio risulta del 25%, Latina del 32 %, Rieti del 37 %, Viterbo del 31 % e Frosinone del 39 % su un totale di 23.155 campioni esaminati.

## Sorveglianza sierologica ed entomologica in due comuni del litorale sud della provincia di Roma

Lo studio è stato condotto dalla ASL RM H e l'Istituto Superiore di Sanità; gli esami sierologici eseguiti

presso l'IZS LT di Roma. Le aree studiate riguardano i comuni di Anzio e Nettuno, aree costiere pianeggianti ad altitudine di 0-20 mt. s.l.m., dove negli anni 1991- 1997 si sono registrati casi sporadici di leishmaniosi canina (6 casi ad Anzio e 5 a Nettuno) e nessun caso di leishmaniosi umana. L'indagine ha avuto lo scopo di investigare le cause della bassa prevalenza della malattia, attivando una sorveglianza entomologica su esemplari adulti di flebotomi che ha portato alla cattura solo di *Sergentomyia minuta* (specie non vettrice) e nessun esemplare del genere *Phlebotomus*. Una scarsa densità del vettore nelle aree studiate potrebbe giustificare la bassa prevalenza e incidenza riscontrate.

### **Sorveglianza sierologica ed entomologica in un'area collinare in provincia di Roma**

L'area studiata è situata nel comune di Olevano Romano, area collinare verde a circa 300 mt. s.l.m. Ripetute segnalazioni di casi autoctoni di leishmaniosi canina, confermate dalle indagini sierologiche effettuate, hanno condotto all'attivazione di una sorveglianza entomologica da parte dell'Istituto Superiore di Sanità nelle località segnalate che hanno visto la cattura di esemplari di *Phlebotomus perniciosus* e *S. minuta*.

### **Efficacia delle misure di profilassi individuali ed ambientali in un canile situato in zona endemica**

La sorveglianza è iniziata nel 1997 quando nel canile situato nel comune di Terracina (LT) è stata diagnosticata la malattia attraverso un controllo sierologico da parte del Servizio Veterinario competente per territorio (15 soggetti sieropositivi su 53 controllati). Di concerto l'Istituto Zooprofilattico, i responsabili del canile e il Servizio Veterinario, iniziano un piano di stretta sorveglianza della leishmaniosi nel canile attraverso il controllo sierologico annuale su tutti i cani presenti e l'applicazione di misure di profilassi individuale ed ambientale contro il vettore, ottenendo come risultato una diminuzione annuale progressiva dei casi di leishmaniosi ed arrivando nel 2003 ad individuare 4 soggetti sieropositivi asintomatici su 112 cani controllati.

L'eradicazione della leishmaniosi attualmente non è realizzabile ma solo controllabile mediante:

- controllo e sorveglianza del serbatoio canino
- lotta al vettore attraverso l'utilizzo di prodotti insetticidi e repellenti (profilassi individuale ed ambientale); individuazione e distruzione dei focolai larvali.





Salvatore Catania

Università degli Studi di Roma "La Sapienza"

Dipartimento di Malattie Infettive e Tropicali, Sezione di Infettivologia Pediatrica

Le leishmaniosi sono malattie infettive provocate da protozoi intracellulari obbligati, appartenenti al genere *Leishmania*, parassiti di numerosi animali selvatici e domestici ed occasionalmente trasmesse all'uomo da piccoli ditteri ematofagi della famiglia *Psychodidae*.

L'infezione nell'uomo si manifesta in tre forme cliniche, in ragione della zona geografica e del tipo di parassita: leishmaniosi viscerale (forma mediterranea, cinese, americana e indiana o africana "kala-hazar"), leishmaniosi cutanea del Vecchio Mondo e leishmaniosi mucoso-cutanea del Nuovo Mondo.

Il genere *Leishmania*, famiglia *Tripanosomatidae*, attualmente classificato in zimodemi o complesso di zimodemi in base alla diversa mobilità elettroforetica degli isoenzimi, nel suo ciclo vitale si presenta in due forme: a) amastigote 2-5  $\mu\text{m}$  dotato di nucleo e cinetoplasto, libero od incluso nelle cellule del SRE dell'uomo e dei vertebrati, b) promastigote fusiforme 20  $\mu\text{m}$  con flagello, mobile, presente nel tubo digerente dei vettori e nella fase liquida dei terreni di coltura.

Il serbatoio è costituito da vertebrati animali, selvatici o domestici (cani, canidi selvatici, roditori ecc.) nei quali si possono avere manifestazioni cliniche o forme inapparenti; in India il serbatoio è l'uomo.

La trasmissione dell'infezione tra gli animali e all'uomo si realizza attraverso le femmine di flebotomo, che succhiano gli amastigoti presenti nei mammiferi infetti: nell'intestino dei vettori si trasformano in promastigoti ed infettano l'uomo con la puntura. Per quanto riguarda la forma viscerale, seppur raramente, si può avere la trasmissione materno-fetale o per trasfusione di sangue. Nei pazienti con infezione da HIV e negli immunodepressi, la malattia può scaturire da un'infezione contratta molto tempo prima e costituisce un'infezione opportunistica.

I promastigoti, inoculati dal flebotomo vettore, si legano ai macrofagi dell'ospite per mezzo di due molecole, una glicoproteina (gp63) e un lipofosfoligano presenti sulla loro superficie, vengono fagocitati, si trasformano in amastigoti, si moltiplicano, lisano le cellule, invadono altri macrofagi e si diffondono nel SRE di tutto l'organismo. A carico degli organi emolinfopoietici si determina una diffusa iperplasia istiocitaria, che risulta responsabile di gran parte della sintomatologia della malattia. L'evoluzione dell'infezione e le manifestazioni cliniche dipendono dall'interazione fra invasività e tropismo del parassita e risposta cellulo-mediata dell'ospite.

La leishmaniosi presenta una tipica polarità immunologica: la progressione della malattia si associa a una risposta cellulare assente, inadeguata o tardiva; la guarigione ad una risposta valida e precoce.

L'età infantile e la malnutrizione sono fattori predisponenti.

La leishmaniosi viscerale è diffusa in numerosi paesi: Medio Oriente, Asia, India, Africa e bacino del Mediterraneo (Italia, Spagna, Grecia, Francia ed Africa settentrionale).

L'OMS stima nel mondo 500.000 nuovi casi/anno di forme viscerali. Negli ultimi 10-15 anni si è assistito ad un incremento dei casi a causa dei cambiamenti climatici, flussi migratori, recrudescenza del flebotomismo, difficoltà ad eradicare la malattia nei cani con aumento del randagismo, co-infezione HIV-leishmaniosi.

La leishmaniosi viscerale in Italia è presente nelle regioni centro-meridionali ed insulari; in passato prevaleva in età pediatrica; in questi ultimi anni si è avuto un incremento dei casi adulti fino al 40% a causa dell'infezione HIV. La malattia è dovuta nella maggioranza dei casi allo zimodema MON 1 di *Leishmania infantum* e più raramente al 72 e 27. Il serbatoio è costituito essenzialmente dal cane. Il ciclo uomo-cane-uomo non si verifica perché nell'uomo la carica parassitaria è a livello viscerale, mentre nel cane è alta nel derma. Fino al 1989 venivano notificati 30-50 casi l'anno, dopo il 1990 circa 100 casi. Le regioni più colpite: Campania, Lazio, Sicilia, Puglia e Sardegna.

Il periodo di incubazione varia da 3-4 settimane ad alcuni mesi, fino raramente ad un anno.

L'esordio è abitualmente graduale ed insidioso con astenia, anoressia, pallore, febbre irregolare (poussées febbrili che si protraggono per alcuni giorni, alternate a periodi di apiressia), più rara l'insorgenza improvvisa con febbre elevata. Successivamente il periodo di stato è caratterizzato da febbre subcontinua con puntate serotine spesso senza brividi e con sudorazioni abbondanti; persistono e si accentuano: anoressia, pallore ed astenia, con a volte episodi diarroici e manifestazioni emorragiche. Si ha aumento progressivo del volume della milza di consistenza dura, che specie nel bambino può occupare tutto l'emiaddome di sinistra; si associa generalmente epatomegalia ed adenomegalia. Se non si interviene con la terapia, nella fase terminale si accentua il dimagrimento fino alla cachessia; possono presentarsi alterazioni cardiache, renali ed epatiche.

L'exitus sopravviene abitualmente per sovrainfezioni batteriche. Nei pazienti con infezione HIV si manifesta una forma cronica con riacutizzazioni periodiche e raramente una quadro fulminante.

Le indagini di laboratorio evidenziano: anemia, leucopenia e piastrinopenia; disprotidemia con aumento delle proteine totali e delle gammaglobuline e diminuzione delle albumine (tracciato elettroforetico ad "orecchie di gatto").

La diagnosi eziologica si basa sulla dimostrazione diretta del parassita nell'aspirato midollare o splenico (più rischioso) colorato con May Grunwald-Giemsa. In rari casi si può isolare da biopsia epatica e da sangue periferico. La leishmania può essere coltivata su appositi terreni di coltura all'agar-sangue. La reazione a catena della polimerasi (PCR) permette di identificare il genoma del protozoo in oltre il 90% dei casi. Le indagini sierologiche più utilizzate per la ricerca degli anticorpi specifici sono la reazione di immunoprecipitazione, di immunofluorescenza indiretta (IFI) e tecniche immunoenzimatiche.

I farmaci di prima scelta sono i preparati di antimONIO pentavalente: Pentostan® (non in commercio in Italia) e Glucantim®, che si somministra alla dose di 20mg Sb<sup>v</sup>/kg/die per 21 gg o in due cicli di 15 giorni intervallati da 2 settimane di riposo. Questi farmaci determinano buoni effetti clinici (sfebbramento in 4-5 giorni, miglioramento del quadro ematico e progressiva riduzione della splenomegalia), ma sono penalizzati da una elevata incidenza di effetti collaterali al livello cardiaco, pancreatico e renale e dalla comparsa di resistenze (30%) e ricadute.

Farmaci alternativi sono la pentamidina, l'associazione degli antimoniali con allopurinolo (o paramomicina o fluconazolo o interferon  $\alpha$ ), l'amfotericina B semplice o complessata ai lipidi (Albecet® o Amphocil®) o incorporata nei liposomi (Ambisome®).

L'amfotericina B liposomiale si concentra nei macrofagi, raggiungendo concentrazioni elevate nella sede dell'infezione. Il farmaco somministrato alla dose di 3mg/kg/die ev per 10 giorni consecutivi, o per una migliore compliance per 5 giorni consecutivi, con una dose di richiamo in 10° giornata, determina una rapida risposta clinica (scomparsa della febbre in 3-4 giorni, miglioramento della pancitopenia e della splenomegalia), con assenza di effetti collaterali gravi e rare recidive nell'immunocompetente. Dato l'alto costo il farmaco è indicato soprattutto in particolari situazioni: età pediatrica, pericolo di vita, ricadute, tossicità od intolleranza agli antimoniali e negli immunodepressi.

Un nuovo farmaco a somministrazione orale, la miltefosina, è stato recentemente sperimentato in India con buoni risultati clinici.

La prevenzione della leishmaniosi si basa sulla eliminazione e riduzione dei serbatoi e dei flebotomi infetti: a) sorveglianza e trattamento dei cani infetti, trattamento dei soggetti infetti; b) deumidificazione dei territori, uso di insetticidi e di zanzariere,

evitare le zone infestate specie dopo il tramonto, uso di abiti protettivi e di sostanze e mezzi insetto-repellenti.

### Casistica personale

Nel Servizio di Pediatria Infettiva del Dipartimento di Malattie Infettive e Tropicali dell'Università degli studi di Roma "La Sapienza" dal 1991 al 1999 sono giunti alla nostra osservazione, dopo 1-2 mesi dall'inizio della sintomatologia, 7 bambini affetti da leishmaniosi viscerale (età da 8 mesi a 14 anni). La diagnosi è stata effettuata evidenziando il parassita nell'aspirato midollare e con la ricerca degli anticorpi specifici con immunofluorescenza indiretta. Quattro bambini sono stati trattati dall'inizio con Glucantim®: una bambina di 8 mesi, giunta in gravi condizioni, è deceduta dopo pochi giorni; un p. con modeste alterazioni ECG ha continuato la terapia con esito in guarigione; due p. hanno dovuto sospendere il farmaco per gravi effetti collaterali cardiotossici e sono stati trattati con Ambisome®, con risultati positivi. Un quinto p. con ricaduta dopo terapia con Glucantim® è stato prima trattato con Albecet®, sospeso immediatamente per una seria reazione generalizzata, indi con Ambisome® seguito da guarigione. Gli altri due p. sono stati trattati dall'inizio con Ambisome® (schema breve) con guarigione senza ricadute.

In un recente studio italiano, sul trattamento breve con Ambisome® della leishmaniosi viscerale pediatrica: 168 bambini affetti da leishmaniosi viscerale ricoverati in vari centri, compreso il Servizio di Infettivologia Pediatrica di Roma, trattati con Ambisome® (5 giorni + richiamo in 10° giornata) sono giunti tutti a guarigione, tranne tre casi in cui si è avuta una ricaduta: il successivo trattamento con un ciclo a 10 giorni ha portato alla guarigione definitiva.



# Leishmaniosi viscerale nell'adulto e co-infezioni con HIV



Giovanni B. Gaeta

Dipartimento di Malattie Infettive, Seconda Università di Napoli

■ L'inoculazione del parassita ad opera del flebotomo nel soggetto immunocompetente non comporta invariabilmente sviluppo di malattia. Gli eventi che seguono l'inoculo sono orientati nel giro di poche ore da fattori legati all'ospite, fondamentalmente la capacità di elicitare una risposta citochinica di tipo Th1, e da fattori di patogenicità legati al ceppo del parassita. L'incubazione della leishmaniosi viscerale è di 2-8 mesi; ne consegue che episodi di contagio avvenuti tipicamente nei mesi primaverili-estivi danno luogo a picchi di malattia nei primi mesi dell'anno successivo. La febbre è una tipica manifestazione, con andamento spesso irregolare o capriccioso, che può simulare una apparente guarigione o una risposta ad una terapia antibiotica, o presentare puntate di tipo settico. La tipica febbre con due cuspidi quotidiane ("a orecchie di gatto") si coglie solo nel 30% dei casi. Il paziente giunge di solito alla osservazione specialistica dopo alcune settimane dalla insorgenza dei sintomi; il ritardo diagnostico talora raggiunge molti mesi e comporta una progressione dei segni e sintomi di malattia. Perdita di peso e pallore marcato sono frequenti. Segni fisici tipici sono la splenomegalia (imponente, di consistenza duro-elastica), una epatomegalia moderata; solo nei casi più avanzati si rilevano edemi declivi e petecchie. La tumefazione linfonodale non è tipica della leishmaniosi viscerale del mediterraneo.

## Sospetto diagnostico

Va verificata la congruità della anamnesi epidemiologica. Oltre ai dati clinici, sono tipici l'anemia, leucopenia (fino a 1000 globuli bianchi/ $\mu$ l) e piastrinopenia (<80.000 piastrine/ $\mu$ l); la velocità di eritrosedimentazione (VES) è di 70-100 mm; è presente ipoalbuminemia (<3g/dl) ed aumento della concentrazione di gammaglobuline (>3g/dl); il valore delle aminotransferasi non supera 2-3x; la bilirubina e la  $\gamma$ GT sono di solito normali.

## Diagnosi

Anticorpi anti-leishmania ad alto titolo sono riscontrabili nel siero pressoché nel 100% dei casi (non HIV co-infetti) se ricercati con metodica IFAT che utilizzi antigene fresco di leishmania. La dimostrazione diretta del parassita viene effettuata all'esame microscopico di strisci da agoaspirato midollare, dopo colorazione di Giemsa (sensibilità intorno al 97%). La sensibilità è ancora maggiore per l'aspirato splenico (poco praticato nella routine clinica

per il timore di sanguinamento) ed è di circa il 70% per la biopsia epatica. La coltura midollare in terreni bifasici ha elevata sensibilità, ma richiede tempi lunghi. È disponibile una PCR, dotata di elevata sensibilità e specificità.

## Co-infezione con HIV

La LV è una infezione opportunistica nei pazienti con infezione da HIV, tipicamente presente nell'area mediterranea. Sono a rischio i pazienti con una conta di linfociti CD4 < 200. La terapia anti-retrovirale altamente attiva (HAART), applicata estensivamente dal 1996, ha dimezzato l'incidenza di LV tra i soggetti HIV positivi. La malattia si caratterizza per avere un decorso cronico-ricidivante e per la presenza di leishmanie in sedi atipiche, che includono il sangue periferico, lesioni sul tubo digerente, cute, lingua, sarcoma di Kaposi. La febbre è assente o minima in circa un quarto dei casi. Rilevante dal punto di vista diagnostico è l'assenza di anticorpi anti-leishmania in circa il 25% dei pazienti; pertanto la diagnosi resta affidata alla dimostrazione diretta del parassita da striscio midollare o da altre sedi o alla positività della PCR su sangue o su midollo.

## Terapia

Per decenni la terapia della LV è stata effettuata con farmaci antimoniali (in Italia: antimonio di n-metilglucamina, Glucantim®), somministrati per 28 giorni alla dose di 20 mg Sb<sup>v</sup>/Kg/die, fino ad un massimo di 1200 mg/die). La tossicità cardiaca e pancreatica, la lunghezza della terapia e la possibilità di resistenza sono i principali inconvenienti degli antimoniali. L'amfotericina B in forma liposomiale (Ambisome®) è stata ampiamente sperimentata con successo, alla dose di 3 mg/Kg/die, in monodose giornaliera per 5 giorni, più una dose al 10° giorno. Viene oggi considerata la terapia di elezione, con l'unico inconveniente del costo elevato. L'amfotericina B in complessi lipidici (Amphocil®) è stata adoperata con successo nell'adulto. Di recente, un trial effettuato in India ha dimostrato l'efficacia della miltefosina, il primo farmaco anti-leishmania attivo per somministrazione orale.

Nel paziente con infezione da HIV la terapia ottiene di solito una remissione clinica, ma non la guarigione parassitologica definitiva. Sono pertanto necessari cicli ripetuti di terapia per ottenere un controllo delle recidive. Gli antimoniali sono tuttora i farmaci più adoperati a questo scopo.

# Controllo della leishmaniosi canina mediante l'uso di massa di una banda protettiva

Michele Maroli

Laboratorio di Parassitologia, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Attualmente la leishmaniosi canina (LCan) risulta essere diffusa in molte aree del Bacino del Mediterraneo ed in alcuni focolai i valori di sieroprevalenza raggiungono il 40%. In Europa la soppressione dei cani sieropositivi non è accettabile dal punto di vista etico e perciò il trattamento farmacologico resta l'unica strategia per il controllo della malattia. Tuttavia i farmaci anti-*Leishmania* hanno una bassa efficacia nel trattamento clinico della LCan così come un effetto limitato sull'infettività del cane verso il flebotomo vettore. Studi di laboratorio sull'efficacia di bande protettive (collari) impregnate di deltametrina applicati a cani domestici hanno dimostrato che questi proteggono i cani dalla puntura dei flebotomi per oltre il 90%. In particolare, considerando la lunga durata dell'efficacia (>36 settimane) è stato ipotizzato che l'uso di massa dei collari in un focolaio leishmaniotico dovrebbe ridurre sufficientemente il contatto vettore-serbatoio canino tale da diminuire il rischio di infezione sia per l'uomo che per il cane stesso. Per verificare questa ipotesi è stata condotta una prima valutazione di campo dell'efficacia dei collari protettivi sulla incidenza della trasmissione della malattia e sulla protezione individuale da LCan in un focolaio iperendemico dell'Italia meridionale. La valutazione è stata fatta utilizzando una popolazione di cani padronali di una cittadina dell'area vesuviana, e un gruppo di cani randagi ospitati in un canile situato nella stessa area. Nella prima valutazione, i collari protettivi sono stati applicati durante due stagioni di trasmissione (giugno-ottobre, 1998-99) a circa il 70% della popolazione canina padronale della cittadina sotto studio. Come controllo sono stati presi in esame i cani di quattro paesi della stessa area. Al termine di ogni stagione di trasmissione, è stata valutata la prevalenza di sieroconversione per *Leishmania* nei cani sieronegativi prima dell'applicazione del collare. Dopo il primo anno, il 2,7% dei cani con collare presentava sieroconversione rispetto al 5,4% dei cani di controllo, con una protezione stimata del 50%. Dopo la seconda stagione di applicazione dei collari, solo il 3,5% dei cani con collare ha sierconvertito rispetto al 25,8% dei cani di controllo, con una protezione stimata dell'86%, altamente significativa ( $p < 0,001$ ). Da questa prima sperimentazione di campo risulta che l'impatto del collare protettivo sull'incidenza della LCan può essere trascurabile durante una stagione di bassa trasmissione (1998),

ma la protezione risulta essere significativamente evidente quando la forza di trasmissione del parassita *Leishmania* è molto alta (1999). Nella seconda valutazione di campo dei collari, è stato studiato un gruppo di 249 cani randagi ospitati presso un canile, risultati essere sieronegativi prima della stagione di trasmissione del 2000. I collari sono stati applicati a 49 soggetti mentre gli altri 200 sono stati tenuti come controllo. La prima valutazione sierologica, 2 mesi dopo la fine della stagione dei flebotomi, mostrava il 6,1% di sieroconversione nei cani con collare, rispetto al 24,7% dei cani di controllo, con una protezione significativa del 75,3% ( $p=0,009$ ). Una seconda valutazione, effettuata 8 mesi dopo l'esposizione ai vettori, ha rilevato una sieroconversione cumulativa del 18,2% nei cani con collare, rispetto al 38,2% dei cani di controllo, con una protezione significativa del 52,3% ( $p=0,02$ ). In conclusione si può ipotizzare che l'elevata protezione (86%) osservata nei cani padronali, dove i collari sono stati applicati a soggetti sani e con malattia, probabilmente è dovuta ad un effetto protettivo sia individuale che di massa. Mentre il gruppo di cani randagi ospitati nel canile e protetti dal collare, convivevano con circa 180 cani positivi (senza collare) e pertanto il valore di protezione individuale del 52,3% esercitata dai collari in una tale situazione epidemiologica risulta essere sorprendente.



# Effetto di una banda protettiva a base di deltametrina sull'incidenza di leishmaniosi viscerale zoonotica nei bambini

Clive R. Davies

London School of Hygiene & Tropical Medicine, London  
Disease Control & Vector Biology Unit, Department of Infectious & Tropical Diseases

Le leishmaniosi viscerale (LV), cutanea (LC) o mucocutanea (LMC) sono causate nell'uomo dall'infezione da parte di protozoi parassiti del genere *Leishmania spp.*, trasmessi tramite la puntura dei flebotomi. Ad eccezione delle forme antroponotiche della LV (causata da *Leishmania donovani*) e della LC (causata da *Leishmania tropica*), le leishmaniosi sono essenzialmente infezioni di natura zoonotica, in cui la trasmissione avviene attraverso un ciclo che coinvolge altri ospiti rispetto all'uomo. Le leishmaniosi sono patologie che affliggono le popolazioni dei paesi in via di sviluppo. Tra i 2 milioni di nuovi casi che si registrano ogni anno, in 88 paesi dove la parassitosi è endemica, si stima che l'80% della popolazione guadagni meno di 2 dollari al giorno. Il peso globale delle leishmaniosi è rimasto stabile per alcuni anni, causando 2,4 milioni di perdite calcolate secondo il calcolo del Disability Adjusted Life Years (DALYs), e 59.000 morti nel 2001.

Trascurate dai ricercatori e dalle autorità che distribuiscono fondi, le strategie di controllo delle leishmaniosi sono rimaste invariate per decenni. Tuttavia, recentemente sono stati compiuti notevoli passi avanti nella diagnosi, trattamento e prevenzione della Leishmaniosi. Questi includono l'allestimento di un test rapido immunocromatografico per la diagnosi di LV; l'autorizzazione alla vendita della miltefosina, il primo farmaco ad uso orale per la terapia della LV; e i risultati di numerose prove di campo che indicano come l'applicazione di zanzariere, trattate con insetticida, attorno ai ricoveri riesca a proteggere le persone da quelle forme di leishmaniosi trasmesse durante la notte da flebotomi che pungono all'interno delle abitazioni.

Un ulteriore vantaggio significativo è la scoperta recente che l'incidenza della LV zoonotica (LVZ) nei bambini può essere ridotta applicando ai cani delle bande protettive impregnate di deltametrina – argomento che è oggetto di questa presentazione.

Le strategie di controllo della LVZ si basano sulla diagnosi precoce e sul trattamento dei pazienti con farmaci a base di antimonio pentavalente, dispendiosi e potenzialmente tossici. In alcuni paesi endemici, si attuano programmi di controllo che mirano a prevenire le infestazioni nell'uomo attraverso il controllo del vettore (mediante l'uso di

spray a base di insetticidi residuali) ed il controllo dei serbatoi (mediante l'abbattimento di cani infetti). I cani infetti vengono identificati o su base sintomatologica (perdita di pelo, dimagrimento, onicogrifosi) o mediante diagnosi sierologica. Sebbene questa pratica si sia dimostrata efficace in Cina, non è chiaro se altrove abbia fornito risultati positivi. In Brasile, ad esempio, la LVZ è aumentata drasticamente durante gli ultimi 10-20 anni, nonostante siano state spruzzate con disinfestanti circa 200,000 case e siano stati abbattuti 20,000 cani l'anno. Il razionale dei programmi di abbattimento della popolazione canina è stato messo in dubbio sia nei suoi presupposti teorici che per gli aspetti logistici. Vista la gravità della malattia, la non disponibilità dei proprietari di acconsentire all'abbattimento dei propri cani e gli inconsistenti risultati delle prove programmate per valutare l'efficacia dell'abbattimento, si è resa evidente la necessità di identificare delle strategie alternative attuabili per ridurre il carico della LVZ.

In assenza di un vaccino contro la leishmaniosi, è stato proposto un nuovo approccio per arrestare la trasmissione della malattia mediante il trattamento dei cani domestici con insetticidi topici, attraverso l'uso di bande protettive impregnate di insetticida o tramite l'applicazione di lozioni ad uso topico. L'impatto epidemiologico dei trattamenti con insetticidi topici sui cani dipende non solo dalla riduzione del numero di flebotomi che si nutrono sul cane (effetto anti-feeding), ma anche dalla riduzione della sopravvivenza di quei flebotomi che riescono a compiere il pasto di sangue, in modo che risulti meno probabile che tali flebotomi trasmettano la *Leishmania*.

Questa presentazione esamina le evidenze che l'applicazione di massa di bande a base di deltametrina ai cani domestici può significativamente ridurre il fardello della leishmaniosi viscerale zoonotica. Particolare attenzione sarà posta ai risultati di una recente prova randomizzata, a gruppi appaiati, eseguita nel Nord Ovest dell'Iran, che non solo ha dimostrato un effetto sulle percentuali di incidenza d'infezione da *L. infantum* nei cani che indossano la banda di protezione, ma anche nei bambini dei villaggi dove i cani indossavano la banda.

18 villaggi sono stati suddivisi in coppie abbinate secondo la prevalenza dell'infezione di *L. infantum* nei bambini prima dell'intervento. Nell'ambito delle coppie, i villaggi sono stati assegnati in maniera random come villaggi di controllo o di intervento. Tutti i cani domestici nei villaggi di intervento sono stati provvisti di banda protettiva per tutta la durata di due stagioni di trasmissione. I bambini ed i cani sono stati controllati nel corso di tre consecutivi momenti ad intervalli annuali, ossia nel 2000 al momento precedente l'intervento, 1 anno dopo l'intervento nel 2001, e due anni dopo l'intervento nel 2002. L'incidenza dell'infezione da *L. infantum* nei bambini è stata misurata mediante sierconversione e conversione al test intradermico alla leishmanina (Leishmanin skin test, LST), e nei cani mediante la sierconversione.

Durante i due anni della prova, su 1622 test di controllo in cani inizialmente negativi al Test di Agglutinazione Diretta (DAT) si sono verificate un totale di 67 sierconversioni. Un sommario dei risultati viene presentato nella Tabella 1.

**Tabella 1.** *Media delle percentuali di sierconversione annuali nei cani dei villaggi di intervento e di controllo secondo il DAT*

	Controllo	Intervento
Anno 1	6.53% (31/475)	3.09% (11/356)
Anno 2	4.54% (20/441)	1.42% (5/351)
TOTALE	5.57% (51/916)	2.27% (16/706)

Dopo aver controllato secondo età e sieroprevalenza nei villaggi prima dell'intervento, l'effetto della banda protettiva è risultato statisticamente significativo in entrambi gli anni: nell'anno 1, rapporto di probabilità = 0.45 (95% CI: 0.30-0.68;  $p < 0.001$ ); nell'anno 2, rapporto di probabilità = 0.29 (95% CI: 0.13-0.65). Benchè sembrasse che la protezione fosse aumentata nell'anno 2 (dal 54% al 71%), non abbiamo riscontrato interazione significativa tra l'applicazione delle bande e l'anno ( $p = 0.187$ ). Tuttavia, l'incidenza ha subito una variazione significativa per anno ( $p < 0.001$ ), e pertanto nel modello finale i controlli sono stati eseguiti per anno. Questo modello di regressione logistico finale (raggruppato per villaggi) ha rilevato un effetto significativo del trattamento sul rischio della conversione al DAT per anno: rapporto di probabilità per la conversione al DAT nei villaggi trattati rispetto ai villaggi di controllo = 0.39 (95% CI: 0.24-0.63;  $p < 0.001$ ). Quindi, in media, la probabilità di una conversione al DAT nei cani dei villaggi di interven-

to è stata ridotta del 61% ogni anno.

Durante i due anni della prova, su un totale di 4324 test di follow-up in bambini inizialmente DAT negativi, si è riscontrato un totale di 115 sierconversioni. Un sommario dei risultati viene presentato nella Tabella 2

**Tabella 2.** *Media delle percentuali di conversione annuali nei bambini dei villaggi di intervento e di controllo secondo il DAT.*

	Controllo	Intervento
Anno 1	2.41% (26/1078)	1.48% (17/1151)
Anno 2	4.95% (49/989)	2.09% (23/1102)
TOTALE	3.62% (75/2071)	1.78% (40/2253)

Dopo aver controllato secondo età, stato del LST e sieroprevalenza nei villaggi prima dell'intervento, è stato riscontrato un effetto significativo della banda di protezione in entrambi gli anni: nell'anno 1, rapporto di probabilità = 0.56 (95% CI: 0.36-0.89;  $p = 0.013$ ); nell'anno 2, rapporto di probabilità = 0.47 (95% CI: 0.26-0.87). Sebbene, come per la percentuale di sierconversione nei cani, la protezione sia apparentemente aumentata da 44% a 53% nell'anno 2, non abbiamo trovato interazione significativa tra l'applicazione della banda protettiva e l'anno ( $p = 0.518$ ). Tuttavia, l'incidenza ha subito una variazione significativa con l'anno ( $p < 0.001$ ), e pertanto nel modello finale abbiamo controllato per anno. Questo modello di regressione logistica finale (raggruppato per villaggi) ha rilevato un effetto significativo del trattamento sul rischio della conversione al DAT per anno: rapporto di probabilità per la conversione DAT nei villaggi trattati rispetto ai villaggi di controllo = 0.47 (95% CI: 0.33-0.67;  $p < 0.001$ ). Quindi, in media, la probabilità di una conversione al DAT nei bambini dei villaggi di intervento è stata ridotta del 53% ogni anno.

La spiegazione entomologica di questi effetti epidemiologici è stata confermata da prove sperimentali di campo, che hanno testato l'impatto delle bande protettive sulle percentuali di flebotomi che si nutrono di sangue e sulla mortalità dei vettori locali.

A seguito dello studio pilota, utilizzando una serie di discussioni di gruppo su argomenti specifici, è stato messo a punto un questionario che è stato divulgato dagli operatori sanitari locali a 1872 capifamiglia distribuiti in un totale di 50 villaggi in tutta la regione endemica. Le risposte ai questio-

nari hanno fornito una misura della conoscenza locale e dell'attitudine nei confronti della leishmaniosi viscerale, sulla funzione dei cani domestici nella regione, sugli sforzi e le spese che i proprietari di cani sostengono per i propri animali (ad esempio in relazione alle cure sanitarie) e circa l'attitudine dei proprietari di cani nei confronti delle bande di protezione fornite nel corso della prova.



La conclusione globale è stata che le bande protettive hanno ottenuto popolarità tra i proprietari di cani, e che chiaramente riducono il rischio dell'infezione da *L. infantum* nei cani e di conseguenza nei bambini. La perdita dei collari è stata in media del 5% per ciascuna stagione di trasmissione, e la percentuale di turnover della popolazione canina è stata circa di 13% per anno. Queste percentuali sono ragionevolmente basse, e pertanto mantenere un'alta percentuale di copertura con le bande protettive durante una stagione di trasmissione in Iran (all'incirca 2-3 mesi) non dovrebbe costituire un grave problema logistico per gli operatori sanitari. Ad ogni modo sembra che la trasmissione nei bambini sia stata ridotta in misura inferiore rispetto alla protezione ricevuta dai cani trattati, e che persino 2 anni di trattamento dei cani non sia stato sufficiente ad eliminare completamente la trasmissione nei villaggi. La causa di questo può risiedere nel fatto che (1) la trasmissione può mantenersi grazie a serbatoi selvatici che visitano frequentemente i villaggi (come ad esempio le volpi e gli sciacalli), (2) la percentuale di abbattimento dei cani randagi è inadeguata, (3) alcune trasmissioni si possono verificare al di fuori dei villaggi.

Prima di raccomandare l'applicazione di bande protettive come misura di controllo in Iran o altrove, è necessario misurare il loro impatto sulla malattia (leishmaniosi viscerale nei bambini), allo scopo di giudicare il rapporto costo-efficacia di quest'intervento. La prova descritta in questa presentazione ha dato una misura dell'impatto sull'infezione. Allo scopo di determinare l'effetto sulla malattia, è necessario uno studio più esteso sulla popolazione. Questa indagine è attualmente in corso, con il supporto dell'Organizzazione Mondiale della Sanità.

*Lo studio "Effect of insecticide-impregnated dog collars on incidence of zoonotic visceral leishmaniasis in Iranian children: a matched-cluster randomised trial" è pubblicato su The Lancet, Vol. 360, 374-379, 2002.*



# Aggiornamenti in terapia e profilassi della leishmaniosi canina



Gaetano Oliva

Università degli Studi di Napoli "Federico II" Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie

Il cane rappresenta il serbatoio principale nella diffusione della leishmaniosi viscerale umana sostenuta da *Leishmania infantum* nel vecchio mondo e da *Leishmania chagasi* nel nuovo mondo. Il controllo della malattia nell'animale, quindi, insieme alla lotta ai vettori, rappresenta il mezzo più valido per salvaguardare la salute umana, oltre naturalmente a preservare quella degli animali colpiti. Un profondo motivo di riflessione è dato dal fatto che, com'è ampiamente noto, le persone immunocompetenti che si ammalano, guariscono completamente in seguito a terapia specifica, a differenza di quanto accade nel cane nel quale le recidive sono un evento costante, indipendentemente dalla sostanza utilizzata. Gran parte degli animali trattati con le formulazioni di antimoniali disponibili in commercio (ancora oggi i farmaci più utilizzati), mostra un evidente miglioramento clinico, ad eccezione di quelli che presentano gravi complicazioni epatiche o renali o di quelli che albergano ceppi chemioresistenti. Di solito, indipendentemente dalla sostanza utilizzata, è necessario un nuovo ciclo terapeutico entro un anno dal primo trattamento. Esistono tuttavia soggetti che restano in una condizione clinica eccellente, anche a distanza di vari anni dall'ultimo trattamento. Diversi fattori possono influenzare la risposta terapeutica: i due più importanti sembrano essere la concentrazione totale di farmaco accumulata nell'organismo durante l'intero ciclo e la situazione clinica iniziale dell'animale, specchio della sua risposta immunitaria nei confronti del parassita. Riguardo al primo punto, alcuni autori pensano siano necessarie concentrazioni di farmaco costanti nel tempo e quanto più possibile vicine alla MIC; altri autori, al contrario, ritengono che un migliore effetto sia dato dall'ottenimento di concentrazioni "picco" ripetute nel tempo.

In base alle caratteristiche cliniche, al tipo di risposta immunitaria e alla carica parassitaria, possono essere distinte diverse classi di cani leishmaniotici; è utile sottolineare, comunque, che, nella pratica clinica, tale classificazione risulta spesso arbitraria e non così precisa come quella di seguito riportata per fini didattici. Uno degli obiettivi che il clinico deve porsi prima di decidere se e come trattare un cane leishmaniotico è quello di inquadrare in maniera quanto più possibile corretta quale sia la categoria a cui l'ani-

male appartiene e, soprattutto, cercare di prevedere quale possa essere l'evoluzione clinica che l'infezione/malattia subirà in quell'animale. È utile ricordare, infatti, che al momento della diagnosi, il 50-60% dei cani "positivi" risulta asintomatico. Nelle zone endemiche dove è presente il flebotomo vettore, questo tipo di previsione è resa ancora più complicata per il fatto che ancora non si conosce in quale modo il ricevere nuove e continue cariche infettanti nelle stagioni di trasmissione possa influire sullo stato immunitario e sul decorso clinico di questi soggetti.

## Classificazione

**1) cani asintomatici (preclinici?)**, con titoli anticorpali (IFAT o ELISA) variabili, a volte fluttuanti, dai quali è relativamente facile isolare il parassita (linfonodo, midollo, cute), con carica parassitaria 2+ e oltre (Oliva et al 1995); questi animali, se sottoposti a test con leishmanina (DHT) sono NEGATIVI. Questi cani evolvono quasi sempre in un tempo variabile (6-8 mesi) verso forme conclamate di malattia e devono essere trattati precocemente, poiché rappresentano un serbatoio attivo per i vettori; nel 20 % dei casi, infatti, il parassita è presente a livello cutaneo. Non esiste tuttavia alcuna evidenza che il trattamento terapeutico, pur eseguito in anticipo, anche prima della comparsa di modificazioni ematobiochimiche e cliniche, possa influire in maniera definitiva sull'evoluzione dell'infezione.

**2) cani asintomatici (resistenti?)**, con titoli anticorpali (IFAT o ELISA) bassi, dubbi o negativi, dai quali è obiettivamente molto difficile isolare il parassita e a volte risultano solo positivi alla PCR. Il test DHT è positivo, così come quello di stimolazione linfocitaria. Non è ancora sufficientemente chiarita l'importanza di questi animali nel mantenere attivo il serbatoio d'infezione. La risposta immunitaria di questi soggetti è di tipo Th1, come dimostrano le alte concentrazioni di IFN- $\gamma$ . Questi animali devono essere tenuti in osservazione per l'intera vita, poiché possono negativizzarsi, restare nelle stesse condizioni di partenza o andare incontro a stati di malattia conclamata, anche a distanza di anni. Questi cani asintomatici, specialmente se vivono in zone dove non è presente il vettore, non devono essere trattati, a maggior ragione se da essi non viene isolato il parassita. Anche in questo caso, non esistono evidenze sperimentali sufficien-

ti che dimostrino l'influenza del trattamento terapeutico sull'evoluzione clinica dell'infezione.

**3) cani asintomatici/oligosintomatici** (forme subcliniche, croniche latenti), con minimi segni clinici, a volte autolimitanti, titoli anticorpali (IFAT o ELISA) variabili, da cui è possibile isolare il parassita, ma con carica parassitaria a volte molto bassa. La risposta immunitaria di questi soggetti non è ben definita, per cui si considerano soggetti a risposta Th0. Nelle zone endemiche, questi soggetti andrebbero trattati, anche per ridurre l'importanza del serbatoio; non vi sono chiare evidenze sull'evoluzione naturale della malattia.

**4) sintomatici**, con titoli anticorpali (IFAT o ELISA) bassi, a volte negativi, dai quali non si evidenzia il parassita. Se l'animale è comunque PCR positivo, bisogna considerare la possibilità di animali ANERGICI (evenienza rarissima!). Se l'animale è PCR negativo, bisogna riconsiderare la diagnosi, vista la possibilità di reazioni anticorpali crociate con altre infezioni protozooarie e non. In ogni caso, vista la notevole possibilità di errore, questi animali non vanno trattati, prima di chiarire definitivamente la diagnosi.

**5) oligosintomatici, sintomatici, marcatamente sintomatici**, con titoli anticorpali alti, carica parassitaria alta, test DHT negativo. Questi animali vanno sempre trattati. È utile ricordare, in ogni caso, che alcuni dati sembrano indicare che, nelle fasi iniziali di malattia, si ottiene una risposta favorevole nell'88,4% dei casi contro percentuali di guarigione clinica estremamente ridotte (14,3%) nelle fasi avanzate.

Non esistono più dubbi sull'importanza che la risposta immune ha sull'esito del trattamento terapeutico. In realtà, però, non è ancora chiaro il ruolo del farmaco rispetto alla risposta macrofagica; in altri termini, il farmaco potrebbe agire abbassando la carica parassitaria e consentendo ai macrofagi di riprendere la funzione "bloccata"; un'altra ipotesi potrebbe essere quella per la quale il farmaco alterando in qualche maniera la funzione macrofagica consentirebbe uno switch positivo nella produzione di linfocine. La risposta positiva (Th2 versus Th1), sembra durare un tempo variabile da uno a 3-4 mesi.

I protocolli terapeutici più frequentemente utilizzati in Italia sono quelli che prevedono l'impiego dell'antimoniato di N-metilglucamina (Glucantime®) in combinazione con l'allopurinolo o con l'amminosidina, con dosaggi e tempi di somministrazione molto variabili. I tre farmaci precedentemente citati spesso vengono utilizzati in monoterapia. Farmaci considerati "alternativi" sono l'amfotericina B (classica o liposomizzata), la pentamidina, il chetoconazolo e il metronidazolo; ancora in fase di sperimentazione sono la miltefosina,

l'atovaquone e alcuni chemioantibiotici quali la spiramicina e i chinolonici. Vengono riportati di seguito alcuni esempi di schemi terapeutici desunti dalla letteratura.

#### **Allopurinolo**

20-30 mg/kg BID, per os, per 1 mese in associazione con Glucantime® (75 mg/kg BID, s.c.), poi per 12 mesi come terapia di mantenimento (Ferrer, 1997);

15 mg/kg BID, per os, per 1 mese in associazione con Glucantime® (100 mg/kg SID, s.c.), poi per 8 mesi come terapia di mantenimento (Denerolle, 1999);

10 mg/kg SID, per os, per 2-24 mesi (Cavaliero, 1999).

#### **Antimoniato di N-metilglucamina**

50 mg/kg BID, s.c., per 1-2 mesi o fino a normalizzazione del quadro clinico (Oliva, 1998);

75-100 mg/kg BID, s.c., per 2-3 mesi (Pennisi, 2000).

#### **Amminosidina**

5,25-10,5 mg/kg SID o BID, s.c., per 3 settimane (Persechino, 1994; 1995);

10 mg/kg SID, s.c., per 4 settimane (Poli, 1995);

10,5 mg/kg SID, s.c., per 3 settimane, in associazione con Glucantime®, 50 mg/kg BID, s.c., per 1 mese (Oliva, 1998).

#### **Amfotericina B desossicolato**

0,5-0,8 mg/kg, e.v., ogni 2-3 gg, fino a una dose totale di 8-15 mg/kg. Sospendere quando la creatinemia superi i 2,5 mg/dl (Lamothe, 1997);

1-2 mg/kg, e.v., 1-2 volte alla settimana, fino ad una dose cumulativa di 8-12 mg/kg, di una soluzione ottenuta mescolando 50 mg di Amfotericina (diluata in 10 ml di acqua distillata sterile) + 30 ml di Intralipid 10% (Lamothe, 1999);

0,2-0,3 mg/kg (1a e 2a dose), poi 0,4 mg/kg (3a-30a dose) SID, e.v., a gg alterni (Delgado, 2000, dati non pubblicati).

#### **Amfotericina B microincapsulata nei liposomi (Ambisome)**

3 mg/kg SID, e.v., per 5 gg consecutivi + una singola dose dopo 10 gg dall'inizio del trattamento (Oliva, 1995).

#### **Pentamidina**

4 mg/kg SID, i.m., a gg alterni, per 1 mese (Lamothe, 1999).

#### **Miltefosine**

Farmaco molto promettente nell'uomo, anche perché somministrabile per via orale. Anche nel cane sembra avere buone possibilità di applicazione, anche se non esistono studi sufficientemente ampi.

### **Immunomodulanti specifici**

Sostanze (in genere proteine) prodotte dallo stesso agente eziologico che si vuole contrastare, sia esso una cellula tumorale o un microrganismo, e che hanno un evidente ruolo nello stimolare una risposta protettiva specifica in soggetti "responder". Nel campo della leishmaniosi sono stati già individuati e selezionati alcuni antigeni capaci di evocare in animali di laboratorio e anche nel cane una risposta immunitaria protettiva, o consentire la guarigione di quelli ammalati. Altre strade percorribili sono quelle che prevedono l'impiego di linfocine "positive" (interferone gamma, interleuchina 12), da utilizzare a scopo profilattico o terapeutico. Diversi esperimenti vaccinali sono in corso in varie parti del mondo, sia nell'uomo che nel cane. In questo panorama così vario, ed in attesa di risultati concreti, è auspicabile che la ricerca farmacologica "classica" continui nella messa a punto di molecole che in "vitro" esibiscono una buona attività leishmanicida, allo scopo di offrire agli animali ammalati una qualità di vita ottimale, possibilmente la loro guarigione parassitologica o, in assenza di ciò, una drastica riduzione della carica parassitaria e, nel contempo, la non selezione di ceppi chemioresistenti.



## Relatori

### **Prof. Salvatore Catania**

Università degli Studi di Roma "La Sapienza"  
Dipartimento di Malattie Infettive e Tropicali  
Sezione di Infettivologia Pediatrica  
Policlinico Umberto I  
Viale del Policlinico, 155  
00161 Roma  
e-mail: salvatore.catania@uniroma1.it

### **Dr. Clive Richard Davies**

Disease Control & Vector Biology Unit  
Department of Infectious & Tropical Diseases  
London School of Hygiene & Tropical Medicine  
Keppel Street, London WC1E 7HT  
e-mail: Clive.Davies@lshtm.ac.uk

### **Prof. Giovanni Battista Gaeta**

Seconda Università, Napoli  
Dipartimento di Malattie Infettive  
Ospedale Gesù e Maria  
Via Cotugno, 1  
80100 Napoli  
e-mail: giovannib.gaeta@unina2.it

### **Prof. Claudio Genchi**

Università degli Studi di Milano  
Dipartimento di Patologia Animale,  
Igiene e Sanità Pubblica Veterinaria  
Sezione di Patologia generale e Parassitologia  
Via Celoria, 10  
20133 Milano  
e-mail: claudio.genchi@unimi.it

### **Dr. Luigi Gradoni**

Reparto di Protozoologia  
Laboratorio di Parassitologia  
Istituto Superiore di Sanità  
Viale Regina Elena, 299  
00161 Roma  
e-mail: gradoni@iss.it

### **Dr. ssa Gladia Macri**

Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
del Lazio e Toscana  
Via Appia Nuova, 1411  
00178 Roma Capannelle  
e-mail: gmacri@rm.izs.it

### **Dr. Michele Maroli**

Reparto di Biologia  
sistemica ed ecologia dei vettori  
Laboratorio di Parassitologia  
Istituto Superiore di Sanità  
Viale Regina Elena, 299  
00161 Roma  
e-mail: maroli@iss.it

### **Prof. Gaetano Oliva**

Università Federico II  
Dipartimento Scienze Cliniche Veterinarie  
Via F. Delpino 1  
80100 Napoli  
e-mail: gaeoliva@unina.it





