



Intervista a Gianluca Rugna

Diffusione ed epidemiologia della *Leishmania*: sappiamo davvero tutto?

L'indagine sulla circolazione di diversi possibili gruppi di *Leishmania* in Emilia-Romagna sta dando risultati molto interessanti, che aprono probabilmente nuovi scenari. E siamo ancora solo all'inizio della ricerca. Approfondiamo i temi del seminario¹ organizzato dalla Regione Emilia-Romagna a Bologna intervistando Gianluca Rugna, dirigente veterinario presso la sede di Modena dell'IzsLER.

La Settimana Veterinaria: Dott. Rugna, a che punto è la vostra ricerca sul confronto molecolare della popolazione di *Leishmania* rilevata in Emilia-Romagna?

Gianluca Rugna: Abbiamo raccolto e analizzato un discreto numero di isolati da leishmaniosi canina, confrontandoli con alcuni ceppi isolati da casi umani anche non regionali. Si tratta di uno dei pochi studi molecolari condotti in Italia e stiamo lavorando per la pubblicazione di un articolo scientifico con i risultati preliminari. Volendo anticipare in maniera sintetica i temi che affronteremo nel documento, possiamo dire che è stata fatta una fotografia della popolazione parassitaria circolante sul territorio regionale, utilizzando metodiche molecolari che permettono di distinguere e comparare tra di loro i ceppi. Pensiamo che queste metodiche potranno aiutarci nell'approfondimento di alcuni aspetti della malattia e di monitorarne l'evoluzione. Ormai l'epidemiologia molecolare è applicata con successo a diversi agenti infettivi e permette di rispondere a quesiti epidemiologici non risolvibili con tecniche tradizionali. È chiaro che il primo passo in questo tipo di approccio è la cono-



Gianluca Rugna, dirigente veterinario presso la sede di Modena dell'IzsLER. "In un canile abbiamo esaminato due cani positivi infettatisi in due stagioni differenti. All'esame del genotipo, gli isolati di *Leishmania* responsabili delle due infezioni si sono rivelati essere identici. Dunque si era creato un ciclo di trasmissione autoctono di quel determinato ceppo", ha riferito Rugna.

scenza della situazione attuale in un dato territorio. È necessario in pratica descrivere la struttura, intesa in senso genetico, della popolazione parassitaria ed usarla come punto zero per gli studi futuri. È quello che abbiamo fatto con il nostro progetto di ricerca. Noi crediamo che l'epidemiologia molecolare possa integrarsi con i piani di sorveglianza, come del resto sta già avvenendo grazie all'intensa collaborazione con i servizi sanitari regionali, i medici e gli entomologi. Seguendo, tra l'altro, un approccio di "one health", in cui crediamo fermamente e che rappresenta l'unica possibilità per il

controllo di questo tipo di malattie.

SV: Nel seminario abbiamo sentito parlare di diverse specie di *Leishmania*. Quali sono le specie presenti in Italia e qual è il rischio che arrivino anche specie esotiche?

GR: In Italia è attualmente presente solo *Leishmania infantum*, responsabile della leishmaniosi canina e delle forme viscerali e cutanee umane. Esiste certamente un rischio di introduzione di specie esotiche con pazienti infettatisi in Paesi endemici, ma per instaurare un ciclo di trasmissione autoctono è necessario che sul territorio sia presente anche l'insetto vettore specifico e la specie serbatoio. Paul Ready, ricercatore che si occupa di patologie trasmesse da flebotomi, ha scritto un'interessante pubblicazione sull'argomento. Ha affrontato per esempio il rischio di introduzione in Europa di specie come *L. tropica*, occasionalmente già segnalata in Grecia, e di *L. donovani*. Entrambe hanno un ciclo prevalentemente antroponotico, cioè non hanno bisogno di un passaggio in un animale serbatoio, ma hanno comunque bisogno di un vettore adatto alla trasmissione. È fondamentale un sistema rapido di diagnosi e trattamento farmacologico.

SV: Si arriva così a un tema importante, quello delle specie serbatoio...

GR: La specie serbatoio è in pratica quella che permette, per vari motivi, al parassita di superare il periodo invernale di assenza del flebotomo. È riconosciuto ormai da tempo che per *L. infantum* il serbatoio principale è rappresentato dal cane. Esistono, come è stato detto al seminario, altre specie animali sensibili a

Leishmania e alcune potrebbero anche svolgere un ruolo di serbatoio secondario. Comunque sia, prima di attribuire un ruolo di serbatoio a una specie sono necessarie evidenze scientifiche. A tal proposito, anche le tecniche molecolari possono aiutare, confrontando ceppi da uomo e da animali, a individuare eventuali altre specie serbatoio.

SV: È quindi possibile pensare che esistano anche cicli di *L. infantum* che coinvolgono altre specie animali oltre al cane?

GR: Diciamo che un esempio concreto è la situazione che si è verificata in Spagna. Pochi anni fa si è registrato un focolaio umano fra i residenti di Madrid. Innanzitutto, grazie alle indagini molecolari si è riconosciuto che si trattava di un ceppo di *Leishmania infantum* introdotto dalle aree geografiche limitrofe, dove era presente da più tempo, per cui probabilmente ha trovato una popolazione con un livello di protezione immunitaria non sufficiente causando un elevato numero di casi. Ma tornando alla domanda, la cosa interessante è che gli studi epidemiologici hanno rilevato un alto livello di infezione nelle lepri di un parco attiguo all'area urbana. Inoltre, è stata dimostrata la possibilità di passaggio di *Leishmania* dalla lepre ai flebotomi. Quindi, almeno nel caso di Madrid, si è avuto in Europa un ciclo di trasmissione della leishmaniosi che ha coinvolto un serbatoio diverso dal cane. Ovviamente quello che è successo in Spagna è dovuto a un insieme di concause, tra cui anche l'aumento delle possibilità di contatto tra ambiente selvatico e urbano.

SV: Questo studio potrebbe far supporre che anche in Italia, e più precisamente in Emilia Romagna, possano esserci specie serbatoio alternative al cane?

GR: Il ciclo della *Leishmania* è molto complesso e influenzato da diverse variabili. Quello che si è verificato in Spagna non è detto che si verifichi

in altre aree geografiche. Certo, il cane è dimostrato essere un serbatoio importante di *Leishmania infantum* - dati anche l'entità della popolazione canina e la sua stretta vicinanza con l'uomo - e resta la specie più coinvolta nello studio e nel controllo della leishmaniosi. Nel bacino del Mediterraneo, il tipo più diffuso di *L. infantum* è lo zimodema MON-1. Esistono anche altri zimodemi che colpiscono l'uomo, meno frequenti, per i quali il ruolo del cane come serbatoio non è confermato da evidenze scientifiche. Per rispondere alla sua domanda, non possiamo - ad oggi - escludere che anche in Italia e in particolare in Emilia-Romagna possano esserci altre specie serbatoio. Noi comunque stiamo indagando su più fronti, con indagini sul gatto e su carnivori selvatici come la volpe.

SV: Parliamo di questa particolarità, riscontrata in una Regione in cui i casi di leishmaniosi ormai sono in media circa una quarantina l'anno.

GR: La leishmaniosi è presente da molto tempo nella nostra Regione. Quello che si è verificato è stato un aumento dei casi umani, a partire dal 2013, oltre il livello medio degli anni precedenti. Spiegare questi andamenti epidemiologici non è facilissimo. Possono intervenire fattori climatici, immunitari, variazioni della densità dei flebotomi, eccetera. Noi abbiamo iniziato a caratterizzare anche ceppi umani, grazie alla collaborazione con i medici. Siamo all'inizio, ma è necessario continuare la sorveglianza e studiare altri ceppi. Sfruttando la biologia molecolare possiamo approfondire i reali meccanismi di trasmissione tra animali, flebotomi e uomo.

SV: Si potrebbe supporre l'esistenza di un ciclo locale con interessamento esclusivo della specie umana?

GR: Diciamo che un ciclo esclusivamente interumano per *Leishmania infantum* è abbastanza improbabile. Nel corso del seminario si è parlato - credo che lei si riferisca a questo - dello studio condotto in Valsamoggia, area recentemente colpita da un focolaio di leishmaniosi viscerale, in cui è stato rilevato un alto livello di sieroprevalenza nell'uomo, se confrontato con i valori rilevati nei cani. Purtroppo quest'ultimo è riferito ai cani ospitati in strutture di ricovero, che rappresentano soltanto una frazione della popolazione canina residente in Regione. Sicuramente i dati sono interessanti e mostrano che in quell'area il parassita sia molto diffuso nell'uomo. I motivi per cui si verificano aumenti dei casi clinici rimangono spesso poco definiti. Ecco perché è fondamentale che il Piano di monitoraggio messo a punto dalla Regione Emilia-Romagna venga portato avanti e magari integrato dalla caratterizzazione dei ceppi circolanti. È anche importante che i colleghi liberi professionisti contribuiscano alla segnalazione dei cani di proprietà positivi alla *Leishmania*. Va ricordato che i cani possono essere testati presso la sede dell'IzsLER con metodiche dirette o indirette per la conferma di sospetto clinico di leishmaniosi, senza oneri per i proprietari.

ITCA/IRL/SCS/CSA - Informazione riservata al Sigg. Marco Valentini - L'ESCCAP pubblica nel 2006



Cambiano le stagioni, ma è sempre il momento di Milbemax

Per controllare efficacemente le infestazioni di parassiti intestinali gli esperti dell'ESCCAP (European Scientific Counsel Companion Animal Parasites) raccomandano almeno 4 somministrazioni l'anno di un antelmintico appropriato sia nel cane sia nel gatto.¹

Milbemax è il prodotto ideale per i trattamenti ripetuti nel cane e nel gatto grazie a:

- facilità di somministrazione
- ampio spettro d'azione
- elevato profilo di sicurezza

MILBEMAX

El Lilly Italia S.p.A.
Via Gramsci, 731
50019 Sesto Fiorentino (FI)

Elanco_CA_Italia@elanco.com

Elanco

SV: Spieghiamo a grandi linee il Piano regionale.

GR: Prima cosa di tutto, l'obiettivo del Piano è la riduzione dell'incidenza della leishmaniosi canina sul territorio regionale, attraverso il monitoraggio di questa zoonosi e l'individuazione di interventi di profilassi volti alla riduzione del rischio di infezione nell'uomo. Si applica quindi sui cani ospitati in strutture di ricovero e su cani di proprietà. Per quanto riguarda i canili, il monitoraggio sierologico ed entomologico permette di classificare le strutture in 4 categorie di rischio con conseguenti azioni preventive differenziate. Gli interventi di controllo sono fondamentalmente l'applicazione di misure antivettoriali individuali e il trattamento farmacologico dei soggetti infetti. In pratica si tratta di interventi volti all'interruzione del ciclo di trasmissione del parassita. Invece, i cani di proprietà che risultano positivi vengono notificati all'Ausl, che contatta i proprietari per informarli sulla corretta gestione del caso. Esiste inoltre la sorveglianza attiva sui cani, che si applica quando si riscontra un caso umano di malattia: i cani residenti nella zona di sospetta infezione del soggetto ammalato vengono sottoposti a test. Infine, per quanto riguarda il monitoraggio del vettore di *Leishmania*, vengono eseguiti campionamenti di flebotomi in appositi siti sparsi sul territorio: non è un lavoro facile, ma è indispensabile per "chiudere il cerchio" epidemiologico. È un ottimo esempio di Piano integrato, in cui esiste una perfetta sinergia tra discipline diverse, con un obiettivo unico che è quello di tutelare la salute del cane e dell'uomo. È importante anche ricordare l'importanza che viene data all'aspetto "informativo". Il contatto con il proprietario, gli incontri tematici organizzati sul territorio, sono tutti aspetti importanti per la gestione di malattie in Sanità pubblica veterinaria.

SV: E voi avete quindi approfondito alcuni aspetti del Piano con le vostre ricerche. Quali sono stati i risultati finora?

GR: Sulle leishmanie isolate dai cani ospitati nelle strutture di ricovero abbiamo fatto una tipizzazione molecolare, alternativa alla tipizzazione isoenzimatica, rilevando che anche da noi si ha una importante presenza dello zimodema MON-1. Con



Nell'uomo la leishmaniosi può essere o viscerale o cutanea. In Italia, lo zimodema MON-24 solitamente dà forme cutanee. I ceppi appartenenti allo zimodema MON-1 provocano prevalentemente la forma viscerale; tuttavia esistono alcune varianti, dette dermatrope, che causano lesioni cutanee. Quindi, anche nelle forme umane della malattia, esistono differenze fra patogeni appartenenti alla stessa specie. Ecco perché è necessario approfondire la caratterizzazione dei ceppi, ricorrendo magari anche alle indagini molecolari, che riescono a cogliere con molto dettaglio le differenze tra ceppi circolanti su un territorio.

metodiche più discriminanti abbiamo verificato che esiste una variabilità dei ceppi all'interno di questo gruppo. Avere a disposizione un database di profili molecolari è utile per conoscere e seguire l'evoluzione del parassita nella nostra Regione, perché si possono comparare gli isolati temporalmente e geograficamente differenti.

SV: Si potrebbe presentare una situazione molto complessa, in cui il MON-1 prevale, ma non è l'unico tipo presente sul territorio di *Leishmania* che colpisce i cani? E nemmeno l'unico tipo di *Leishmania* che colpisce gli umani?

GR: Attualmente non abbiamo elementi per dirlo. Potrebbe succedere. In Campania, per esempio, ci fu un focolaio di casi umani provocato dallo zimodema MON-72, di cui il cane è stato dimostrato specie serbatoio. Se non analizziamo approfonditamente il parassita, non lo sapremo mai. È per questo che riteniamo indispensabile inserire in sor-

veglianza la raccolta e caratterizzazione degli isolati.

SV: Quali aspetti del Piano potrebbero essere definiti come "punti di debolezza"?

GR: Così come è impostato il Piano ha assicurato il raggiungimento di importanti risultati. Le azioni di prevenzione hanno fatto sì che la prevalenza della leishmaniosi nei canili sia diminuita. Considerato l'aspetto zoonotico della leishmaniosi, può capire quanto sia importante per la salute pubblica il controllo della malattia nella specie animale serbatoio. Unico fattore limitante, lo dicevamo prima, è la limitata conoscenza della situazione nei cani di proprietà. E questo fatto è molto importante, da una parte perché si stima che la popolazione dei canili sia solo il 10% del totale, dall'altra perché i cani di proprietà vivono un contatto con gli uomini molto maggiore, più prolungato e che coinvolge un numero di soggetti umani superiore. Quindi se riuscissimo ad ampliare le conoscen-

ze dello stato epidemiologico su tutta la popolazione canina potremmo avere una visione della situazione epidemiologica molto più chiara. Ecco perché è importante che la collaborazione dei veterinari liberi professionisti rimanga sempre viva e anzi cresca.

SV: E se fossimo nel mondo ideale, quali sarebbero le sue richieste, qual è secondo lei il Piano di monitoraggio ideale?

GR: Se vogliamo avere un'immagine chiara della *Leishmania* – e più la indagiamo, più scopriamo la sua raffinata complessità – dobbiamo riuscire ad ampliare il monitoraggio nella popolazione umana e nei flebotomi, oltre che in quella canina. Oggi analizziamo solo i soggetti umani malati e i cani che possiamo raggiungere, ma abbiamo ascoltato nel corso del seminario che in realtà la circolazione della *Leishmania* nella popolazione umana è a volte più ampia di quello che appare, i casi sintomatici sono solo la punta dell'iceberg.

SV: La leishmaniosi canina è in espansione da un tempo ben maggiore, possiamo dire da circa un ventennio. È possibile che vi sia un elemento-chiave responsabile oggi della maggior diffusione del patogeno nell'uomo che ancora ci sfugge?

GR: In realtà in Emilia Romagna ci fu un altro importante episodio di leishmaniosi viscerale nei primi anni '70. Negli ultimissimi anni in Emilia-Romagna si è assistito ad un riemergere della malattia. Quello che ci sfugge sono le cause esatte di questi picchi epidemici. Oltre al cane, è chiaro, un ruolo importantissimo è quello del flebotomo. Quindi bisogna tener conto anche delle variabili ambientali che possono influenzare la densità di questi insetti. Oppure la selezione di ceppi di *Leishmania* con maggiore capacità di diffusione. Sono molti gli aspetti da chiarire e su cui si può lavorare. Dobbiamo continuare a indagare e pensiamo di avere gli strumenti e una rete multidisciplinare adatti per andare avanti. ▲

Giulia Mauri

1. Leggere "La Settimana Veterinaria" n. 961 del 18/5/2016 alle pagg. 12-16 e n. 963 dell'1/6/2016 alle pagg. 38-41.