

# Leishmaniosi canina

*Leishmania infantum*

Leishmaniosi canina

# INTRODUZIONE

# Malattia tropicale per i cani sui Colli

*Baone, venti casi di Leishmaniosi dovuta ai pappataci: si trasmette all'uomo*

di Padova  
**il mattino**

PADOVA VIA N. TOMMASEO 65/b - TELEFONO 049/80.83.411 (12 LINEE R.A.) - FAX 049/80.70.067

SPED. IN ABB. POSTALE -45% ART. 2 COMMA 20/B LEGGE 662/96 PADOVA

**BAONE.** Si chiama Leishmaniosi canina. Si tratta di una tipica malattia tropicale, ma è presente anche nelle zone temperate, e da qualche anno ha raggiunto anche il Nord Italia: l'Usl 17 ne ha trovato traccia anche nell'area a Sud dei Colli Euganei. Viene trasmessa dalla puntura dei pappataci e colpisce i cani, ma può essere trasmessa anche all'uomo. Si manifesta con effetti come scarso appetito, chiazze nel pelo, emorragie, necrosi

**4 ottobre 2006**

**La leishmaniosi canina NON è una malattia tropicale... !!!**

**La prima segnalazione in ITALIA risale al 1910...**

**Basile C. (1910) ALCUNE OSSERVAZIONI SULLA PRESENZA  
DI LEISHMANIE NEI CANI. Atti Reale Accademia dei Lincei, Rendiconti, 19: 158-160.**

# Le leishmaniasi: cosa sono?

- The leishmaniases are caused by **20 species** pathogenic for humans belonging to the genus ***Leishmania***, a **protozoa** transmitted by the bite of a tiny 2 to 3 millimetre-long insect vector, ***the phlebotomine sandfly***.
- The leishmaniases are parasitic diseases with a **wide range of clinical symptoms: cutaneous, mucocutaneous and visceral**.

# La leishmaniasi nel mondo

- Over the last 10 years, **endemic regions** have been **spreading** further and there has been a **sharp increase** in the number of recorded cases of the disease.
- In fact, **2 million** new cases (1.5 million for CL and 500 000 for VL) are considered to occur annually, with an estimated **12 million** people presently infected worldwide

# Leishmaniasi:

## zoonosi emergente?



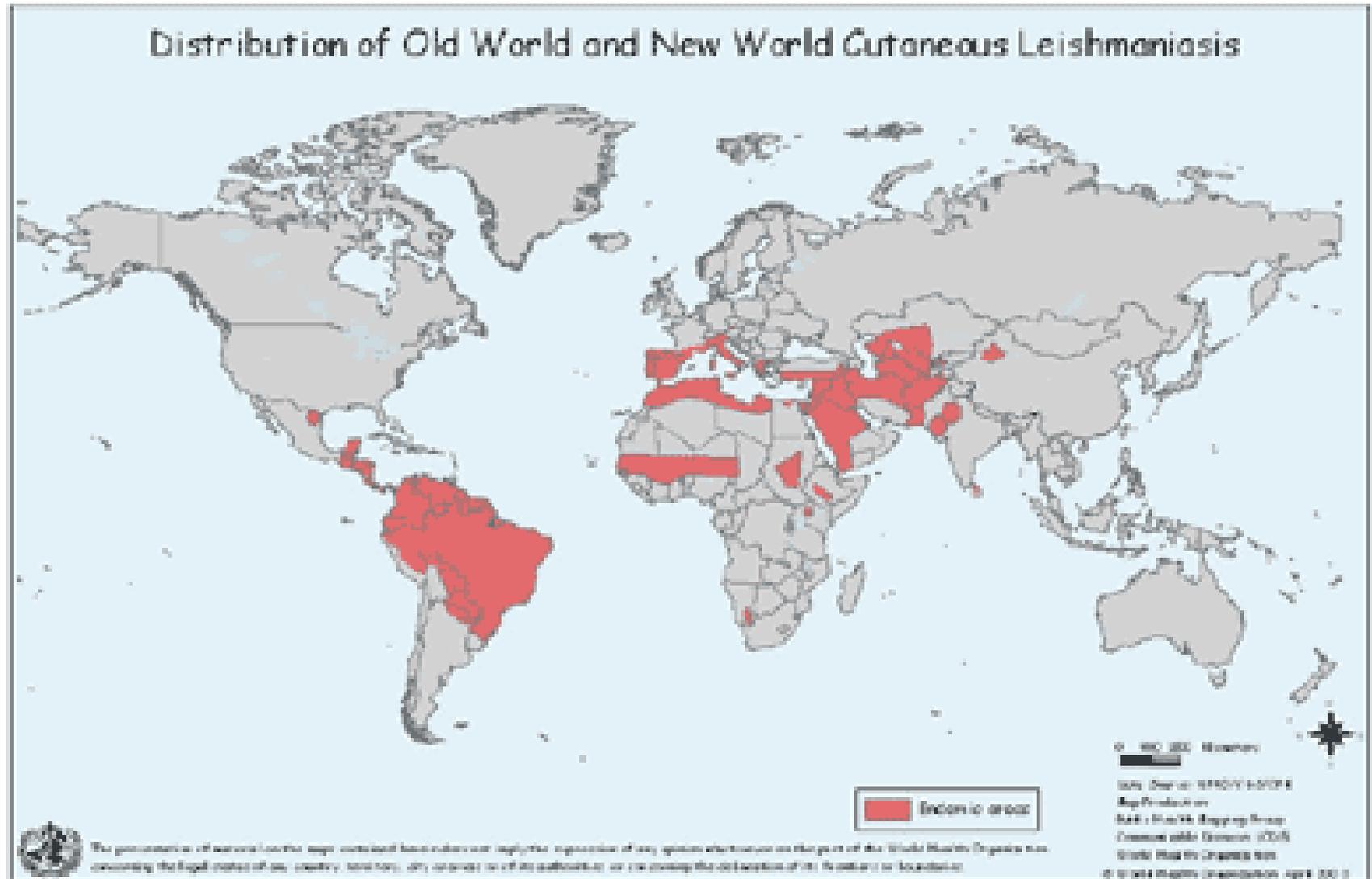
Statua pre-Inca  
I secolo d.C.



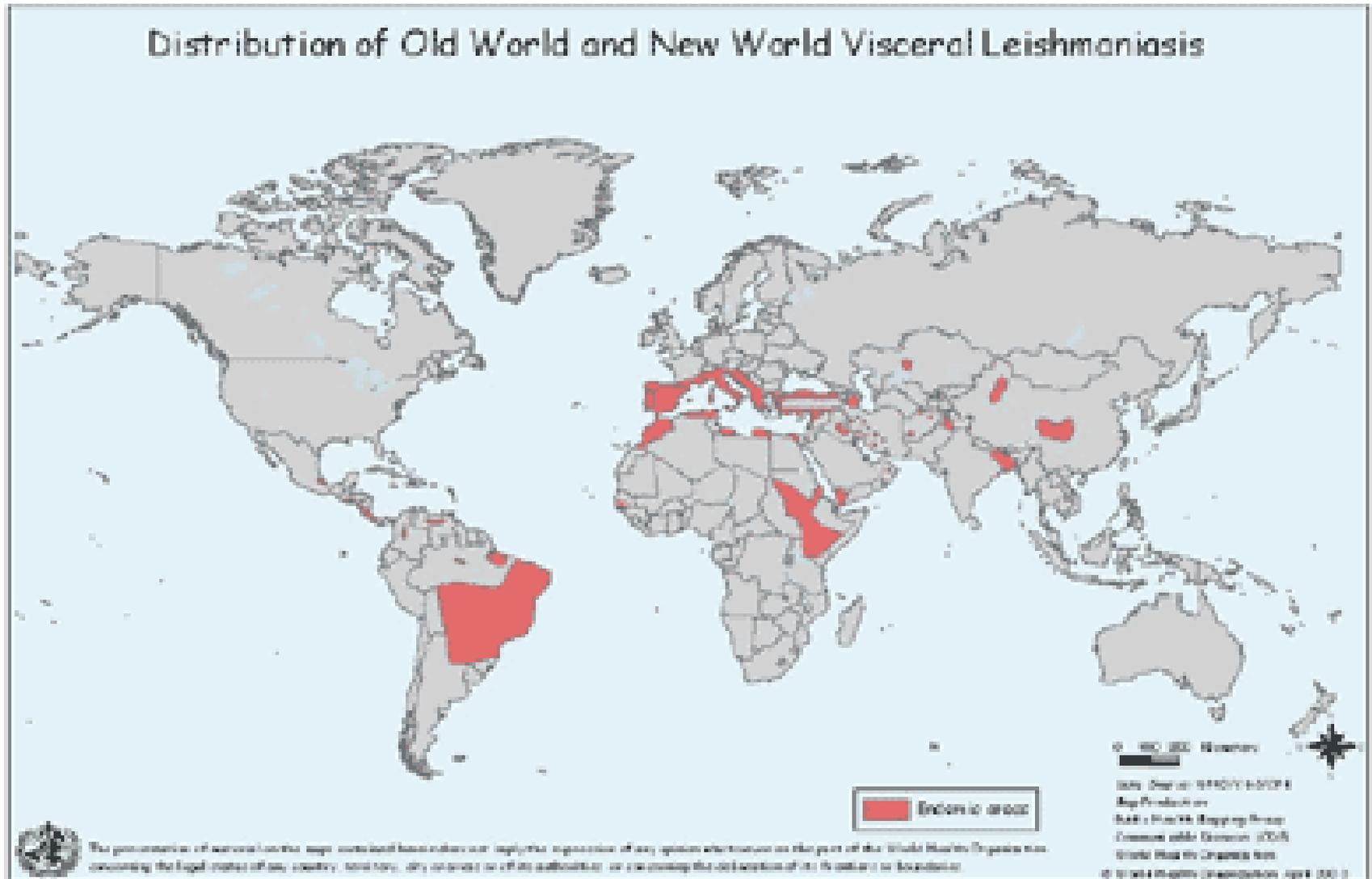
Caso umano,  
Bolivia

- nuova in una popolazione
- aumento dell'incidenza
- nuove aree geografiche

# Map cutaneous leishmaniasis



# Map visceral leishmaniasis



# Leishmaniosi in Italia

- Malattia parassitaria sostenuta da ***Leishmania infantum***, che colpisce il **cane e l'uomo**, ad andamento cronico, trasmessa da vettori del genere *Phlebotomus*
- Nell'uomo sono descritte due diverse forme cliniche: la **leishmaniosi viscerale zoonotica (LV)** e la **leishmaniosi cutanea zoonotica (LC)**
- Nel cane si riconosce una unica forma: la **leishmaniosi canina (LCan)**

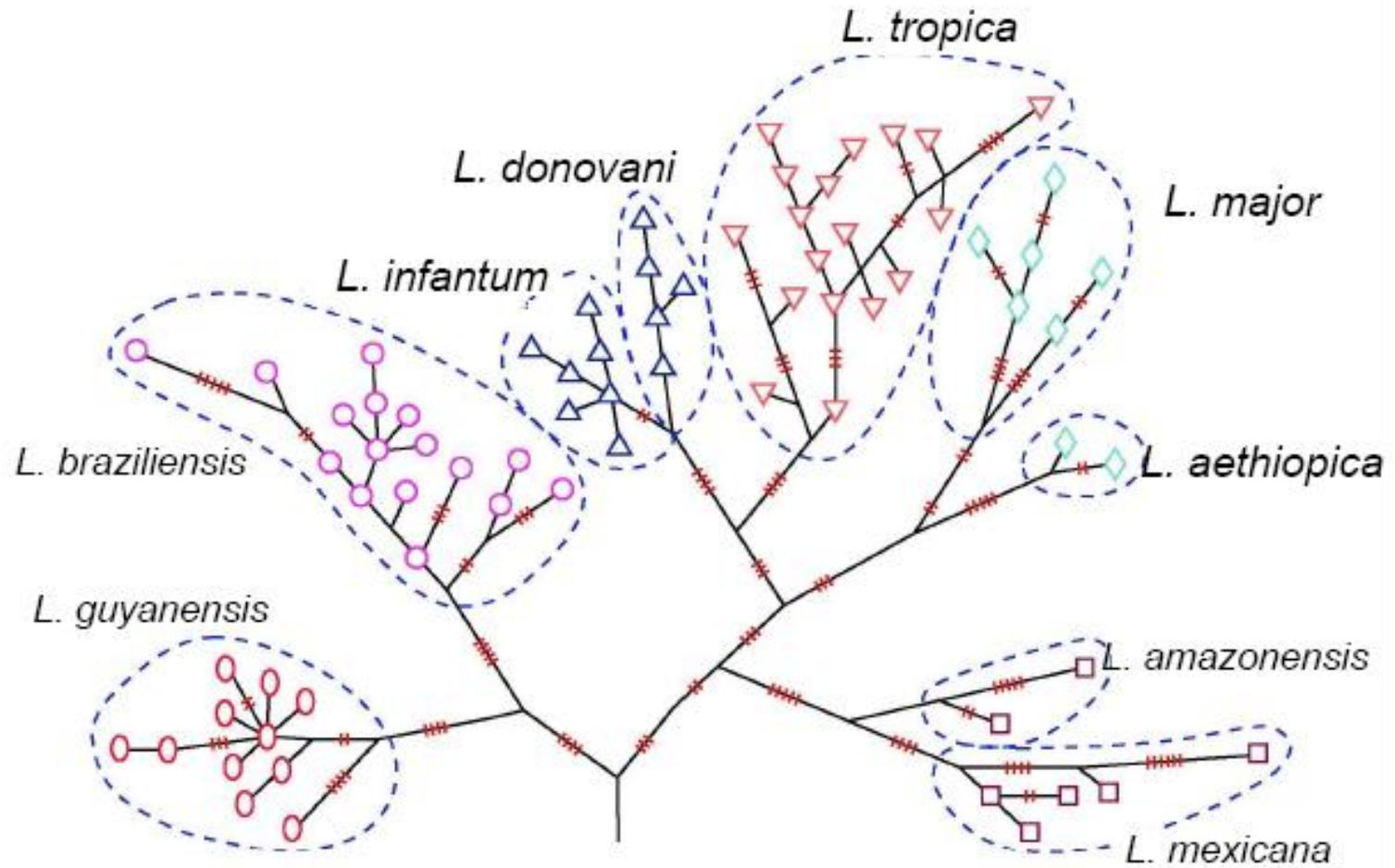
Leishmaniosi canina

**EZIOLOGIA**

<b>Regno</b>	Protista
<b>Phylum</b>	Sarcomastigophora
<b>Subphylum</b>	Mastigophora
<b>Classe</b>	Zoomastigophora
<b>Ordine</b>	Kinetoplastida
<b>Famiglia</b>	Trypanosomatidae
<b>Genere</b>	Leishmania

## Species

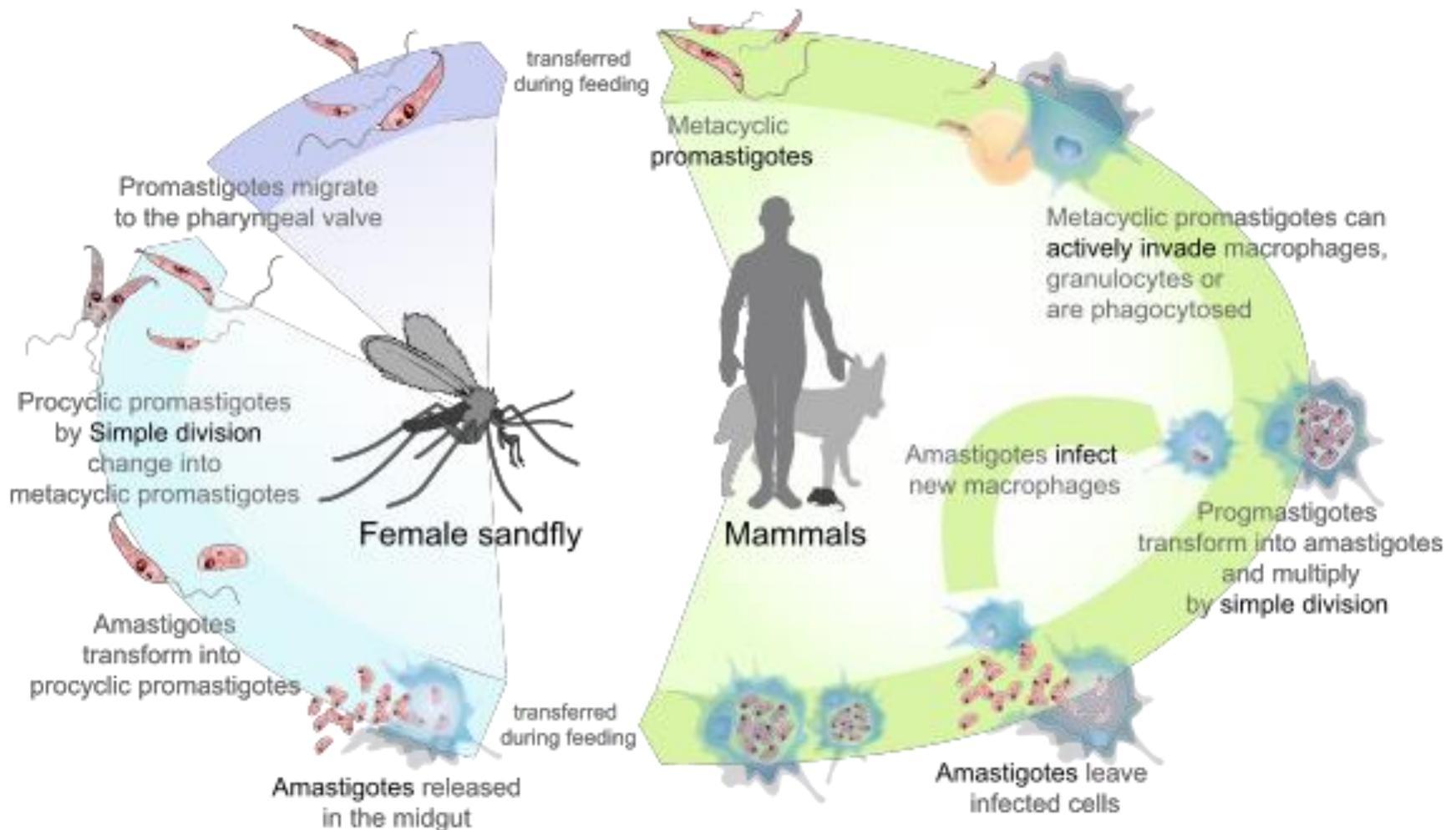
1. *L.donovani*
2. *L.archibaldi*
3. *L.infantum*
4. *L.tropica*
5. *L.major*
6. *L.aethiopica*
7. *L.mexicana*
8. *L.amazonensis*
9. *L.venezuelensis*
10. *L.braziliensis*
11. *L.peruviana*
12. *L.guyanensis*
13. *L.panamensis*



# Leishmaniosi: classificazione

- in tutto il bacino del Mediterraneo è presente il complesso *Leishmania infantum* con vari zimodemi
- **MON-1** per LV e **MON-24** per LC
- il parassita è identico nel cane, nell'uomo, nel ratto e nel flebotomo

# Leishmaniasis: life cycle





Leishmaniosi canina

**IL VETTORE**

# Il flebotomo non è una “piccola zanzara”



**Le larve delle zanzare sono acquicole,**



# mentre le larve dei flebotomi sono terricole...



## Ambienti peridomestici

- ✓Tane di animali
- ✓Rifugi di animali
- ✓Grotte
- ✓Pollai
- ✓Detriti e crespe del suolo
- ✓Feci secche di piccoli animali
- ✓Canali di scolo
- ✓Argini
- ✓Latrine
- ✓Concimaie marcite
- ✓Rifiuti lunghe le strade
- ✓Terra alla base di vecchi muri
- ✓Sotto i sassi
- ✓Pozzi

## Ambienti domestici

- ✓Crepe di pavimenti e muri
- ✓Case abbandonate
- ✓Seminterrati e cantine
- ✓Suolo di dimore umane

## Ambienti selvatici

- ✓Nidi di formiche
- ✓Nidi di tartarughe terrestri
- ✓Nidi di uccelli
- ✓Termitai
- ✓Tane di roditori
- ✓Grotte
- ✓Pozzi neri, asciutti
- ✓Fogne
- ✓Immondizie
- ✓Incavi di albero
- ✓Suolo della foresta
- ✓Sotto e fra massi
- ✓Radici di grandi alberi
- ✓Suolo alla base di alberi
- ✓Suolo sotto massi sporgenti

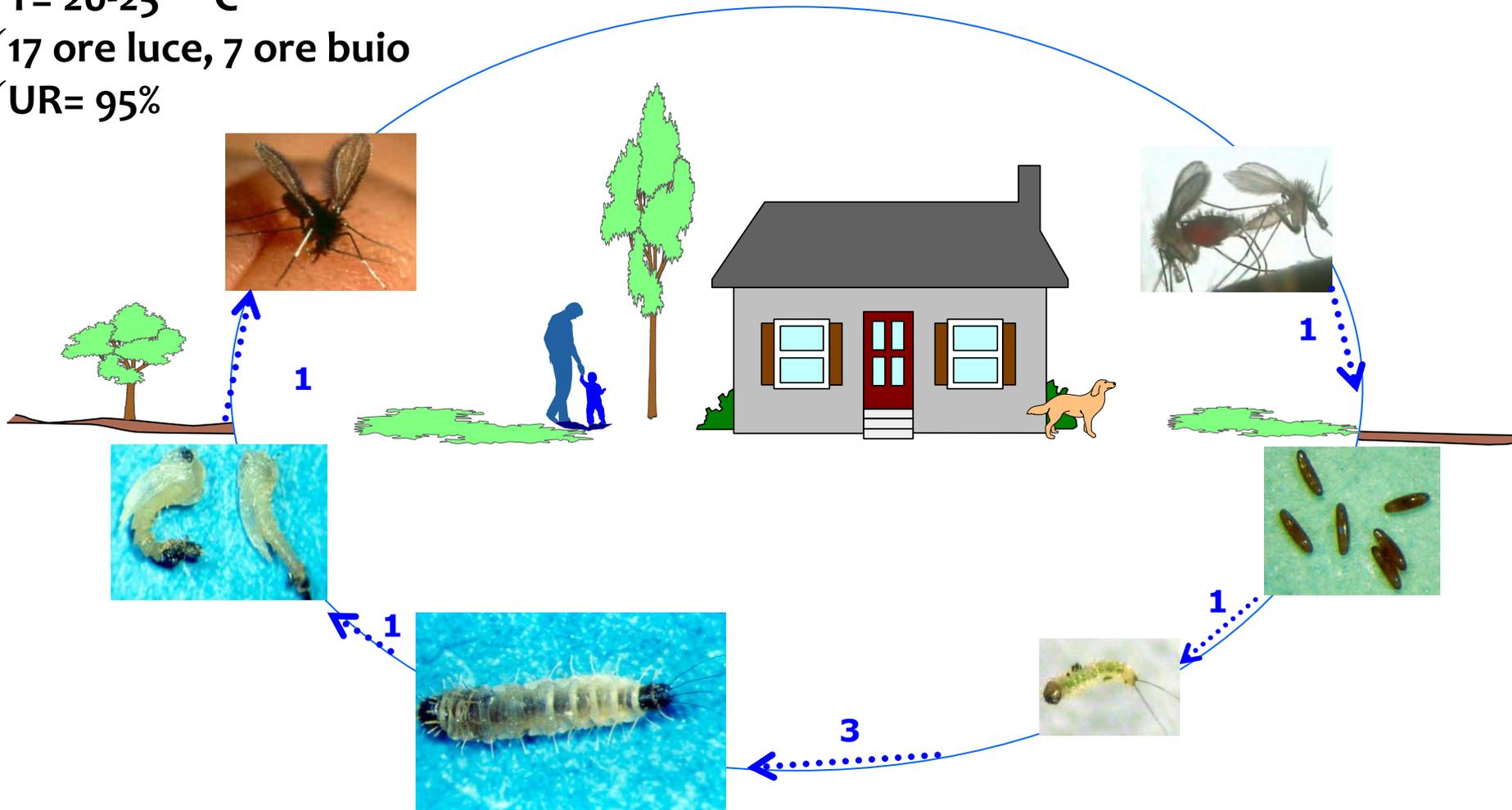
# ...e la durata del ciclo di sviluppo è molto lunga

✓ Durata = 7-8 settimane

✓  $T = 20-25^{\circ} \text{C}$

✓ 17 ore luce, 7 ore buio

✓ UR = 95%



# Uova, larve, ninfe e adulti di *Phlebotomus*



# Aspetti ecologici dei flebotomi

- **Sviluppo delle forme larvali:**
  - temperatura elevata e costante
  - oscurità completa
  - fonti di materiale organico
  - umidità elevata
- **Caratteristiche forma adulta:**
  - si sposta poco dal focolaio di origine
  - punge al calar del sole e di notte
  - non ama volare nelle serate ventose
  - picco di attività a mezzanotte e all'alba









Photograph: Tiago Mercelino



Photograph: F. Dantas-Torres

Leishmaniosi canina

# IL SERBATOIO



Photograph:Hannibal Poenaru

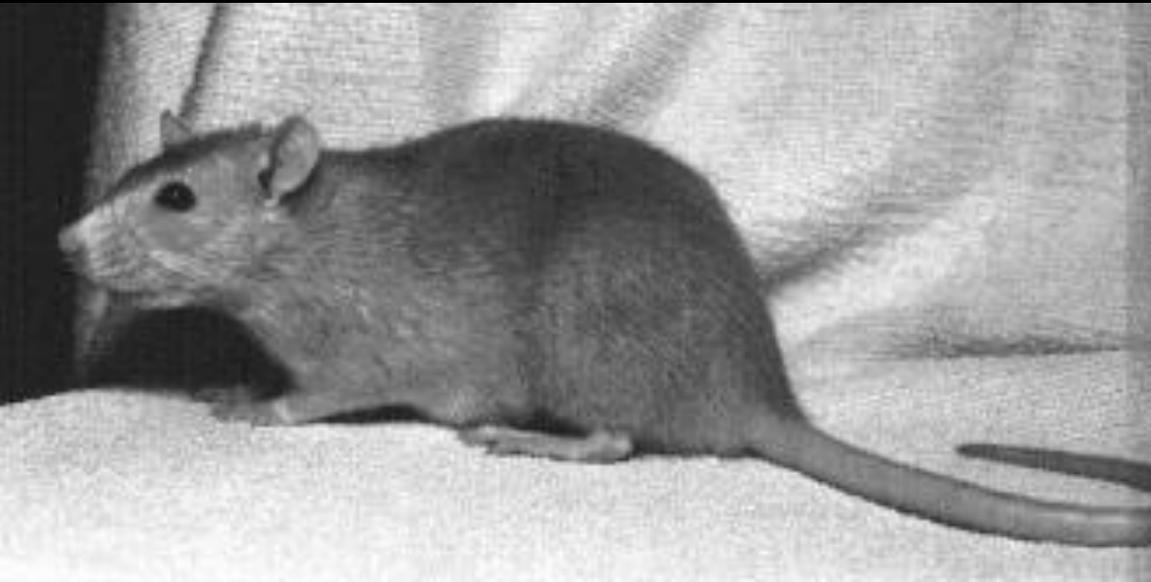


**il principale serbatoio è il cane**

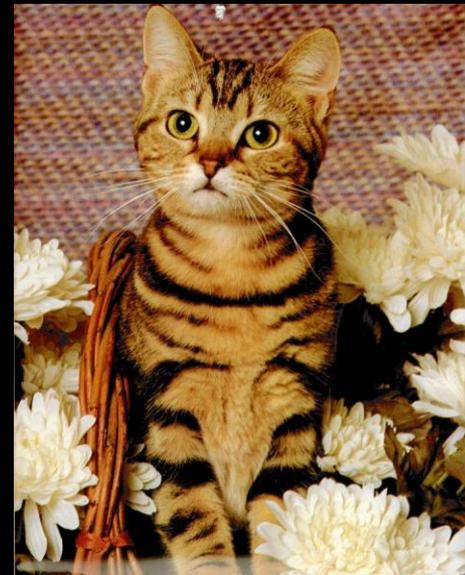


**volpi 18% sieropositive**

**Il ratto possibile serbatoio selvatico**



**segnalati casi nel gatto!**



# Leishmaniosi nel cane

- diffusione a **macchia di leopardo**
- sieroprevalenza variabile da zona a zona
- alcuni esempi di aree ad **alta endemia**:
  - Ustica 37%
  - Monte Argentario 24%
  - Isola d'Elba 19%
  - Pisa 39%
  - Liguria 20-40%
  - Gargano 14.4%

# Leishmaniosi nel cane

- Fattori di rischio
  - legati allo **stile di vita**:
  - notte all'aperto, cani rurali, sesso maschile
- Causa maggiore **dell'elevata endemicità**
  - la **continua reinfezione**
  - la forza d'infezione (dipendente anche dalla **densità del vettore**)

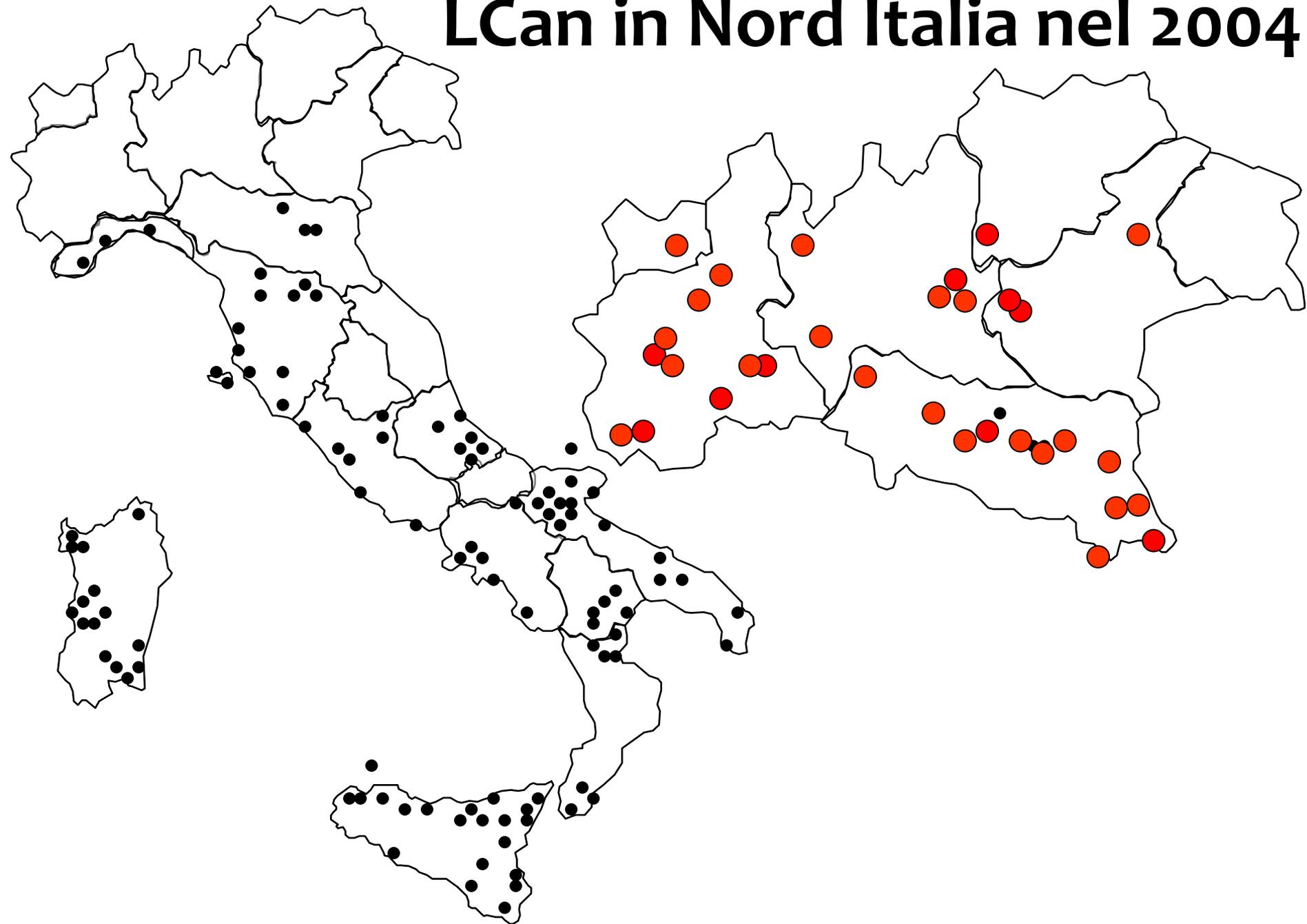
Leishmaniosi canina

# EPIDEMIOLOGIA

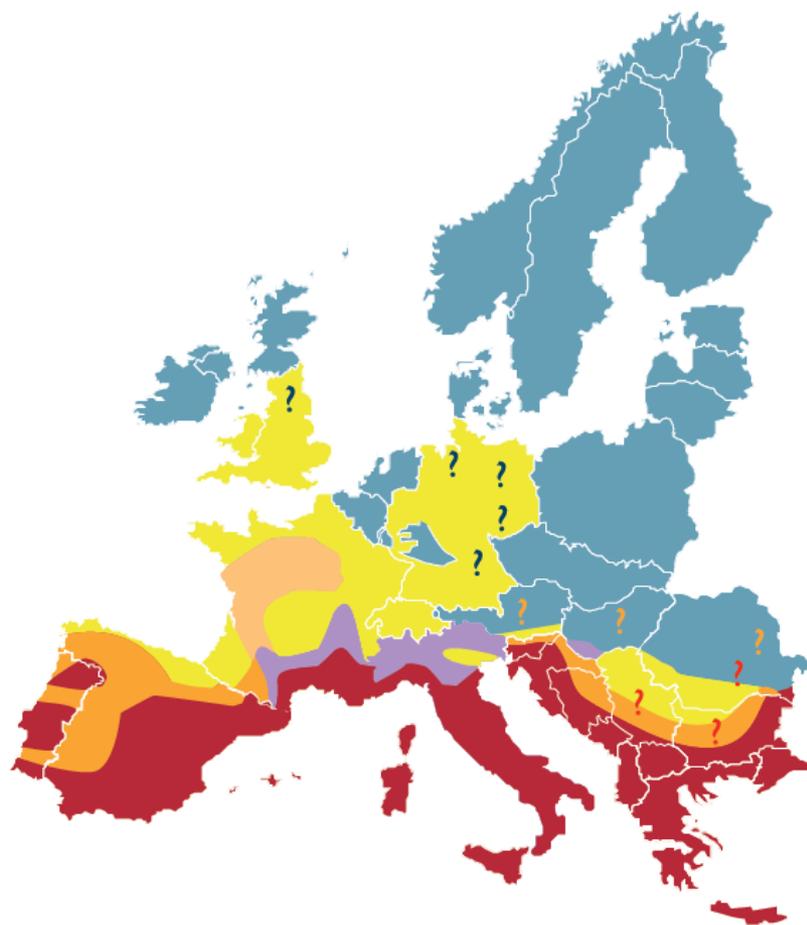
# Focolai di LCan fino agli anni '90



# LCan in Nord Italia nel 2004



# Leishmaniosi Canina in Europa



■ Zona fortemente enzootica

■ Zona enzootica

■ Zona di estensione enzootica

■ Zona di potenziale estensione per la presenza di vettori

■ Paesi/zone in cui sono stati descritti casi autoctoni (non enzootici)

■ Casi importati

Situazioni scarsamente documentate

? Casi autoctoni?

? Casi enzootici?

? Casi importati?

\*I confini delle zone sono approssimativi

# Distribuzione di *Leishmania infantum* in Italia



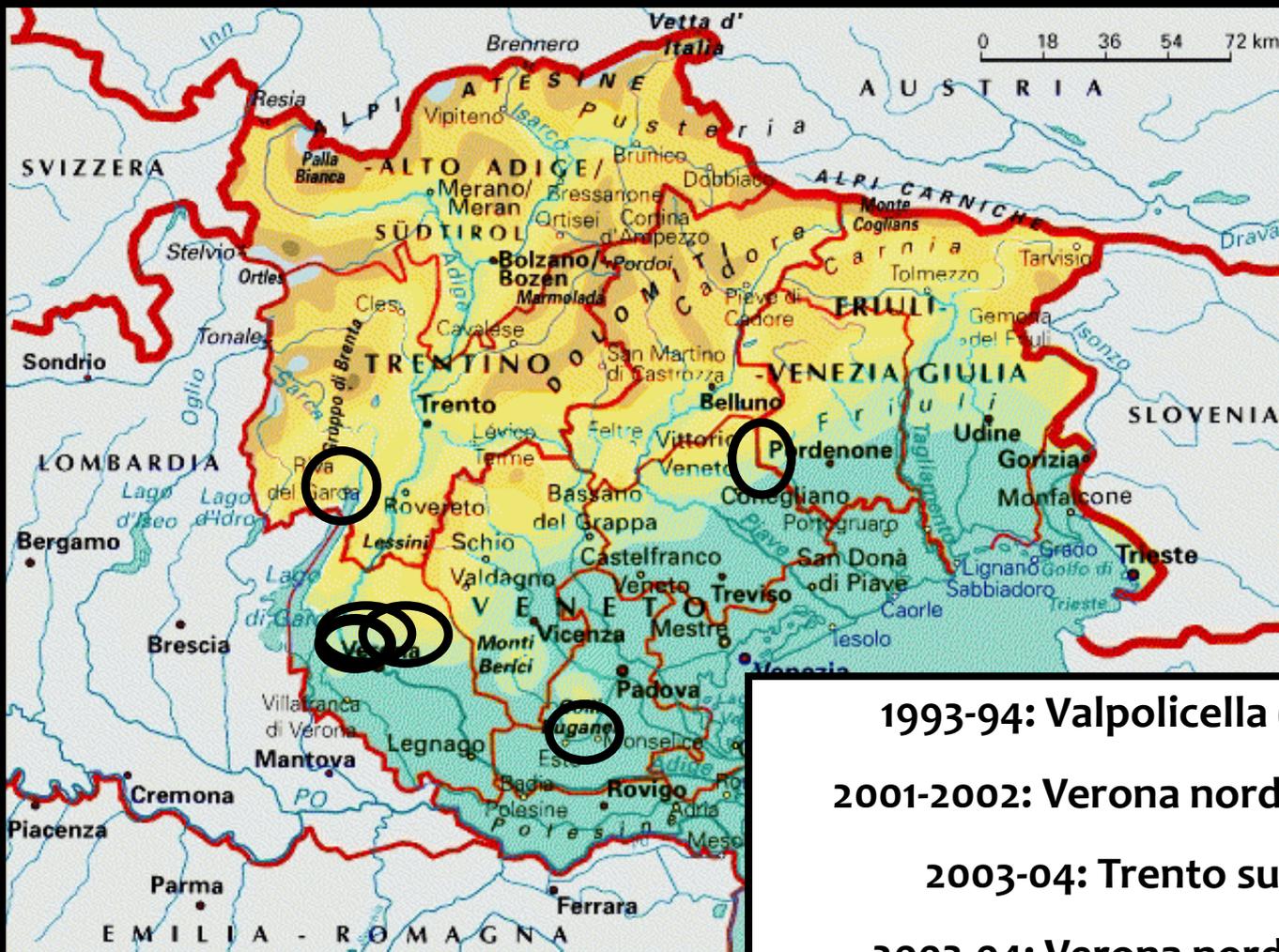
Focolai di *L.infantum* prima (in giallo) e dopo (in rosso) il 1989

(Otranto *et al.*, 2009)

# Indagini sierologiche



# Focolai in Triveneto 1993-2006



1993-94: Valpolicella (24% cani positivi)

2001-2002: Verona nord-ovest – 12/472 (2,5%)

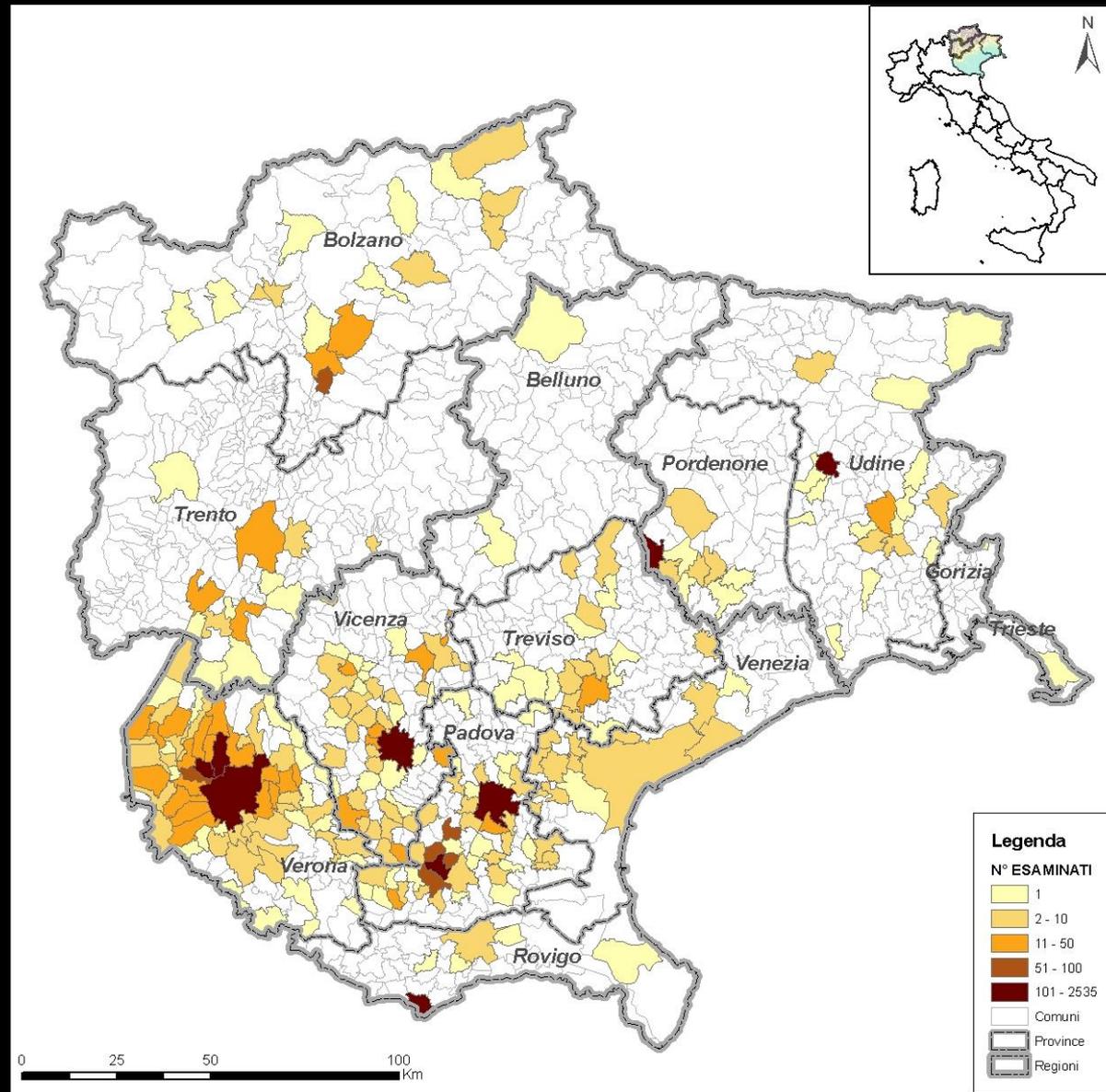
2003-04: Trento sud – 9/249 (3,6%)

2003-04: Verona nord-est – 13/703 (1,8%)

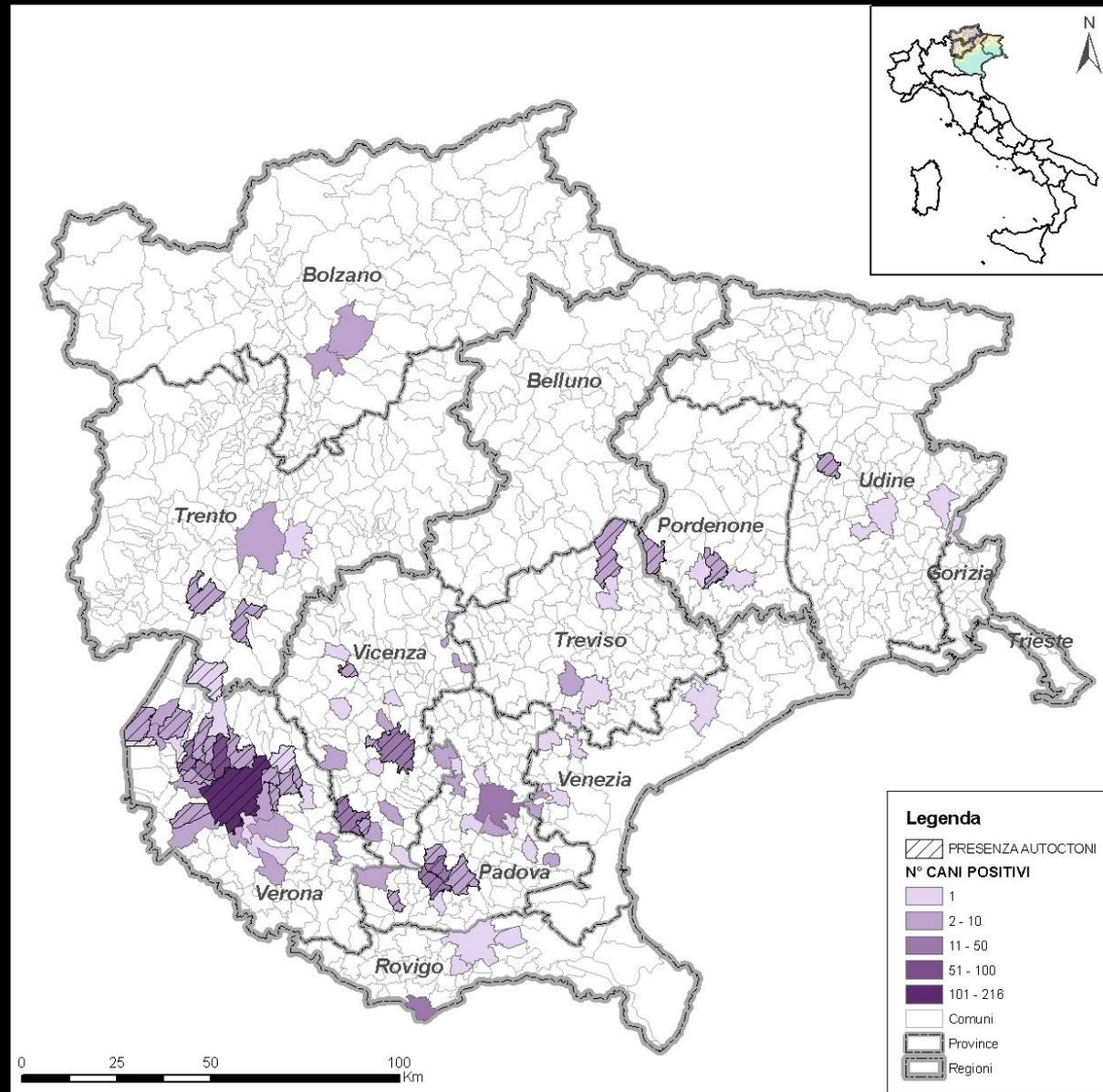
2004: Vittorio Veneto (TV) – 4/384 (1,0%)

2006-2007: Colli Euganei (PD) – 31/449 (6,9%)

# Test sierologici su cani (anni 2006-2009)



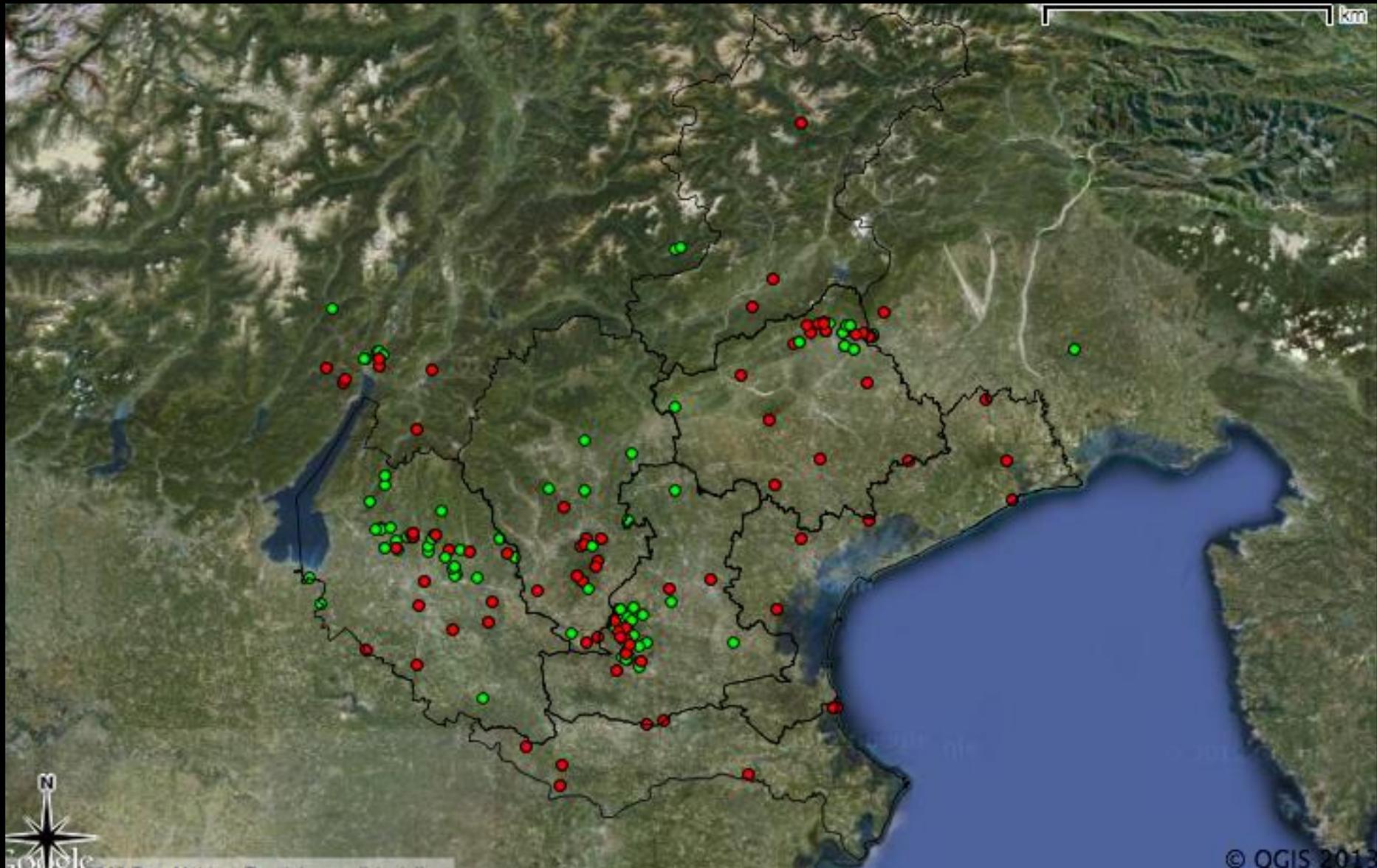
# Cani positivi (e positivi autoctoni!!)



# Indagine entomologica – sticky, CDC light, CO<sub>2</sub> traps



# Monitoraggio entomologico 2001-2012



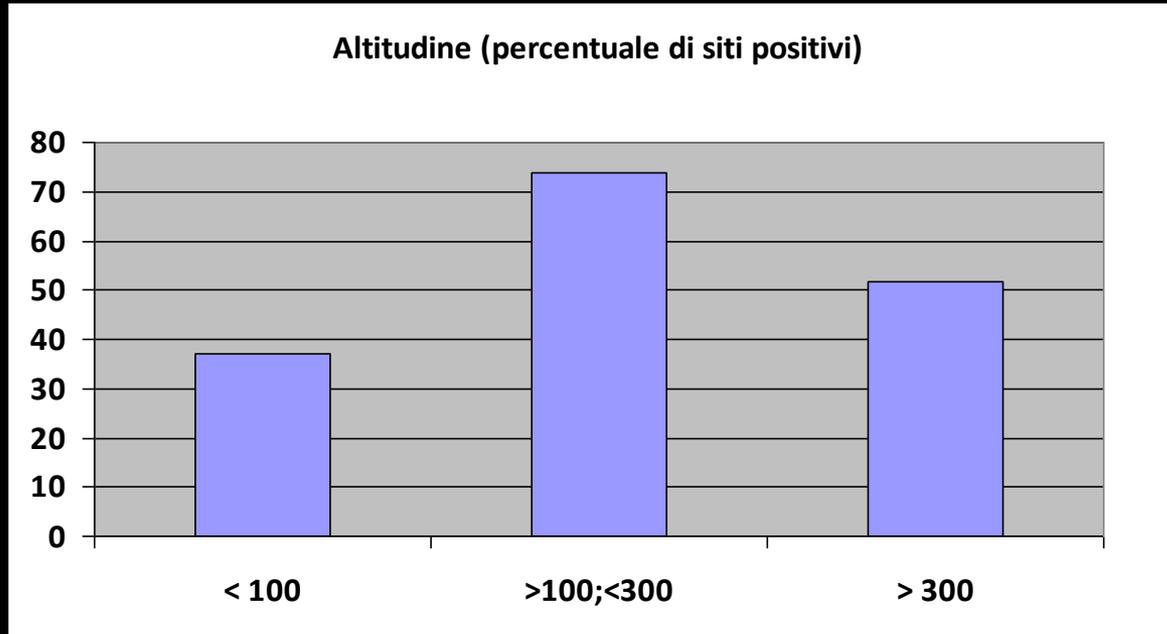
**176 siti monitorati, 95 (54%) positivi ai flebotomi.**

# Monitoraggio entomologico 2001-2012

TRAPPOLA	<i>P. perniciosus</i>	<i>P. neglectus</i>	<i>P. papatasi</i>	<i>P. mascitti</i>	<i>S. minuta</i>	N.I.	TOTALE
sticky	2497	364	29	0	1052	307	4249
CDC	570	235	2	0	3	65	875
CO2	731	66	14	29	10	171	1021
<b>TOTALE</b>	<b>3798</b>	<b>665</b>	45	29	1065	543	<b>6145</b>

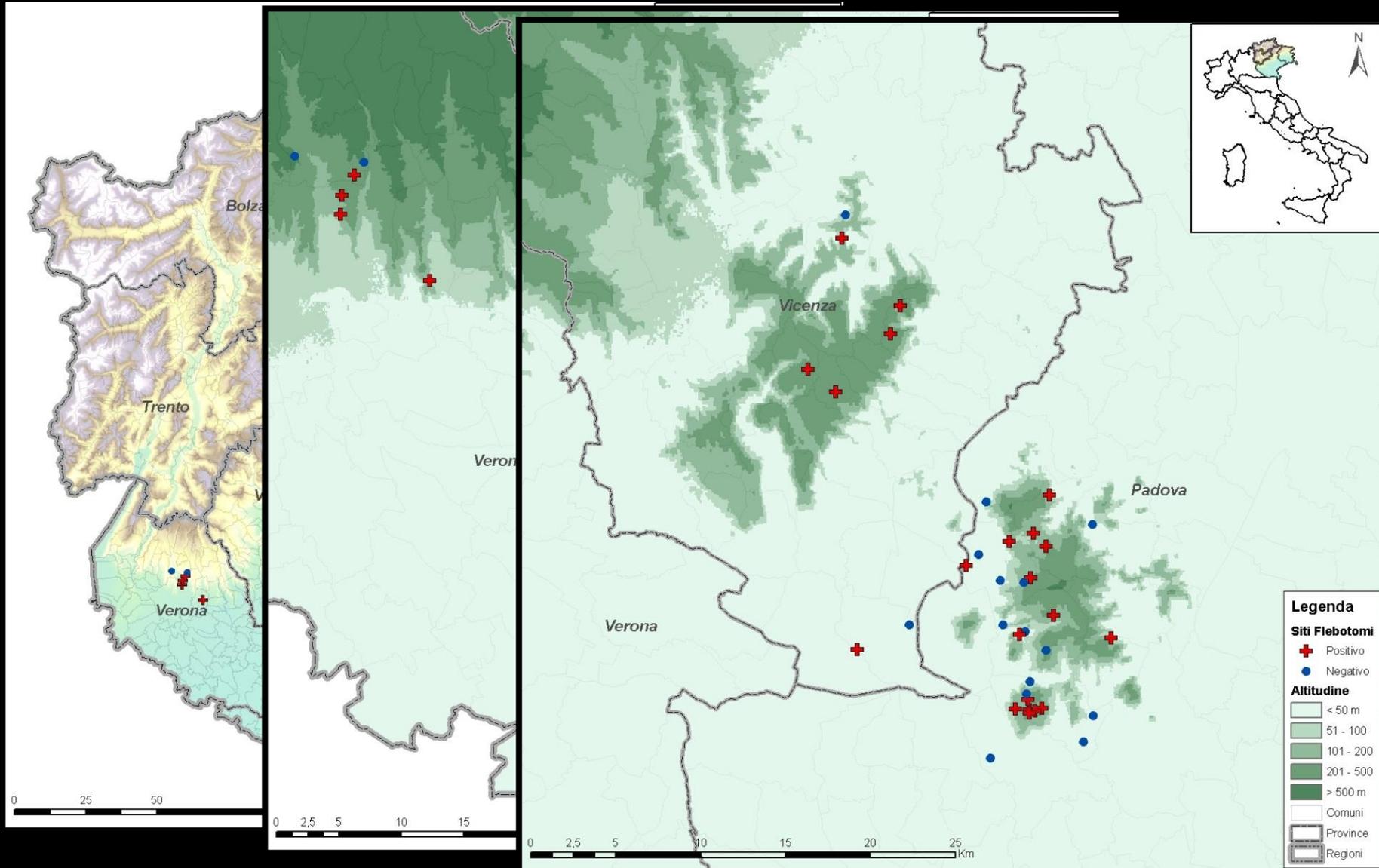
Distribuzione delle specie di flebotomi per tipo di trappola utilizzata.

# Monitoraggio entomologico 2001-2012



PROV	N siti monitorati	N siti positivi	Superficie di cattura (m <sup>2</sup> )	<i>P. perniciosus</i>		<i>P. neglectus</i>	
				N	Densità media	N	Densità media
Sticky traps	114	59	447,2	2497	5,58	364	0,81

# Monitoraggio entomologico



# Siti positivi (Colli Euganei)

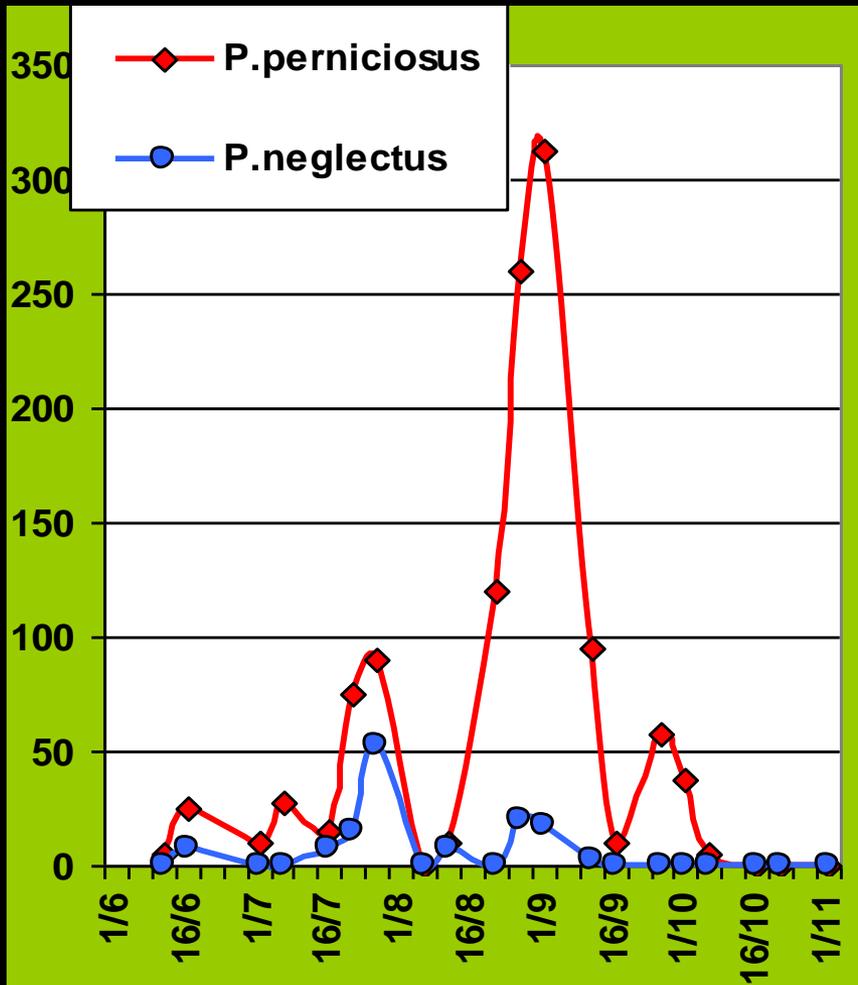
SITO	LOCALITA'	ALT	PRESENZA
PD/01	CASSETTE	17	
PD/02	CALAONE	215	POS
PD/03	CALAONE	220	POS
PD/04	CALAONE	178	POS
PD/05	VALLE SAN GIORGIO	20	
PD/06	CALAONE	235	POS
PD/07	CALAONE	226	
PD/08	CALAONE	151	POS
PD/09	ESTE	20	
PD/10	CARBONARA DI ROVOLON	28	
PD/11	FONTANAFREDDA	35	
PD/12	FAEDO	184	POS
PD/13	VALNOGAREDO	30	
PD/14	TEOLO ALTO	231	POS



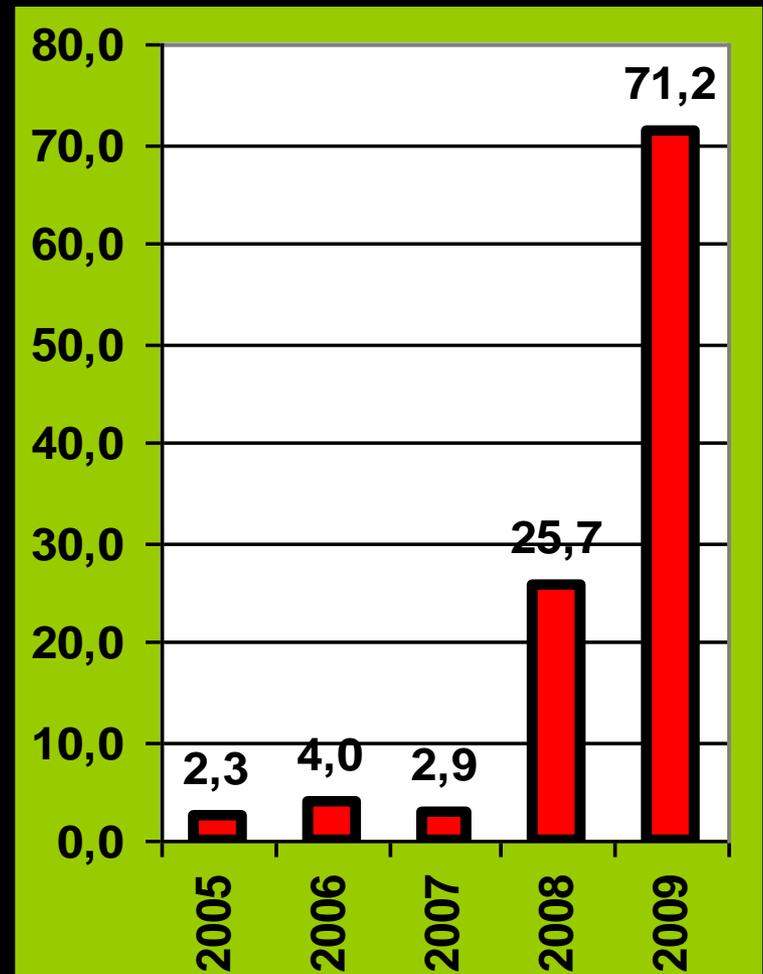
pd/10

© 2007 Google™

# Densità dei flebotomi

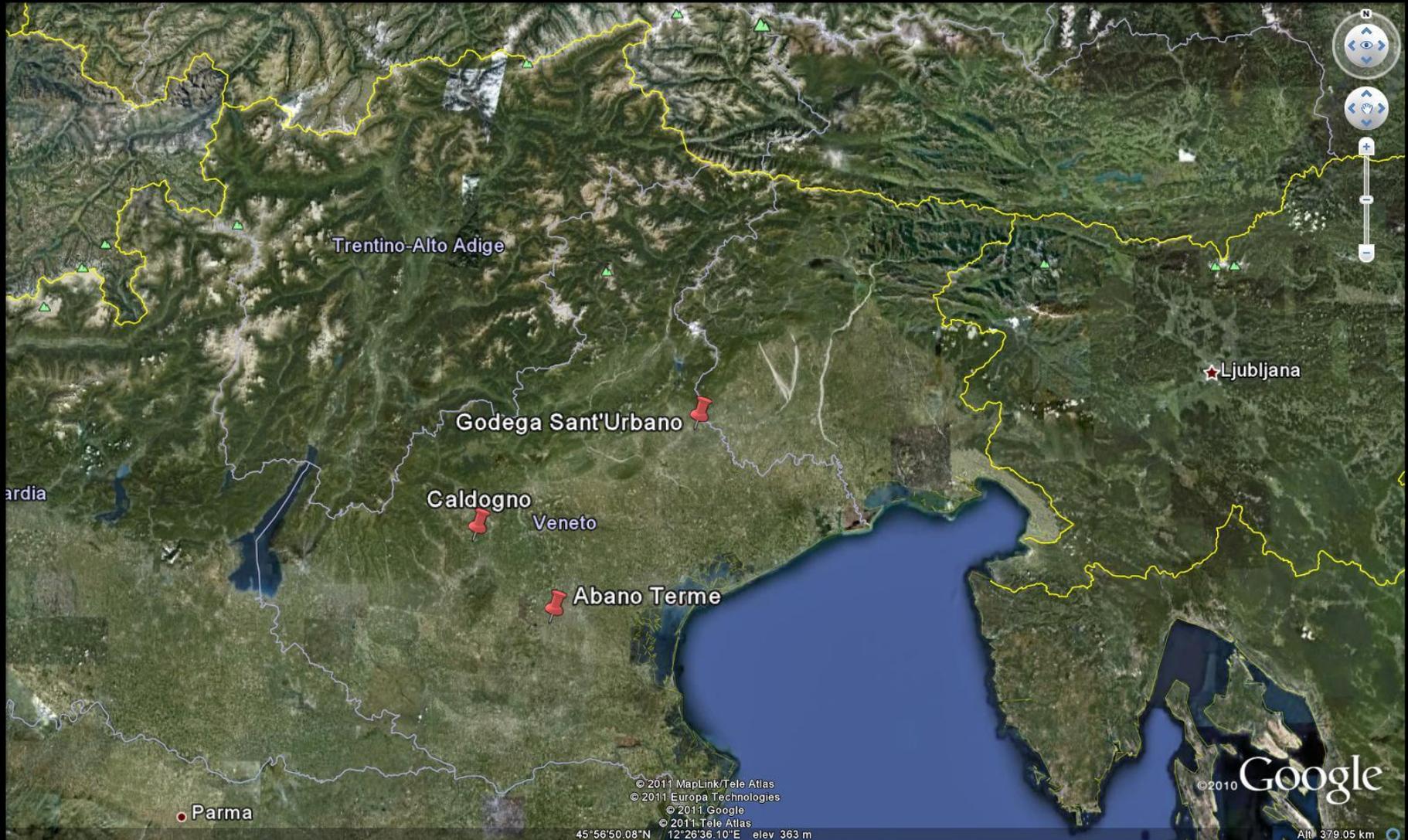


Seasonal trend of sandflies density in the year 2009 (site PD/04)



Mean annual sandflies density (site PD/04)

# Casi sospetti autoctoni in pianura



Leishmaniosi canina

# SINTOMATOLOGIA

**Nella popolazione canina esistono due classi di soggetti:**



- attivazione Th2
- elevata produzione Ab aspecifici
- deficit immunità cellulare

**- fattori genetici**



- attivazione Th1
- bassi livelli di Ab specifici
- solida attività cellulo-mediata

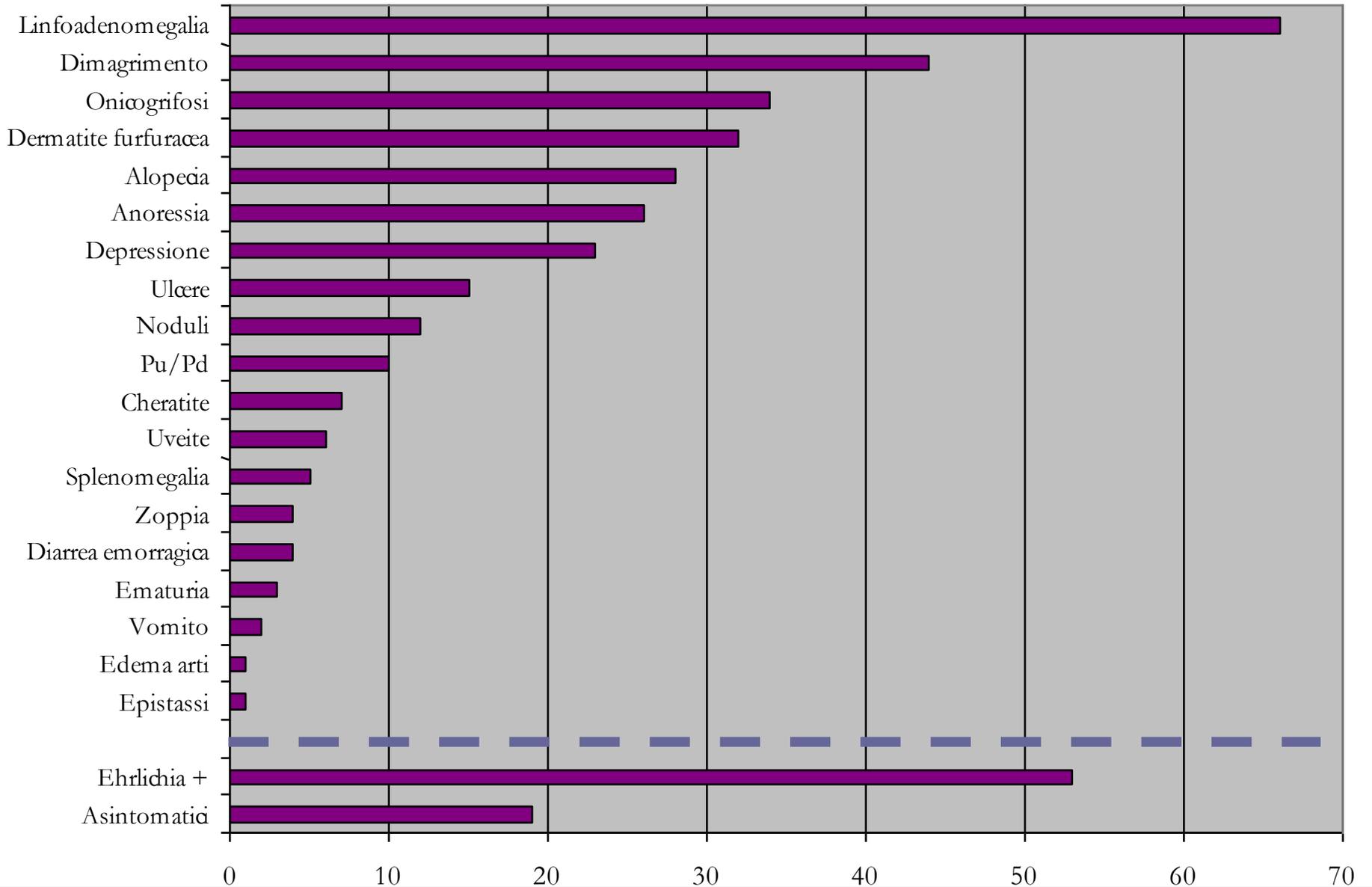
**- fattori di natura parassitaria**



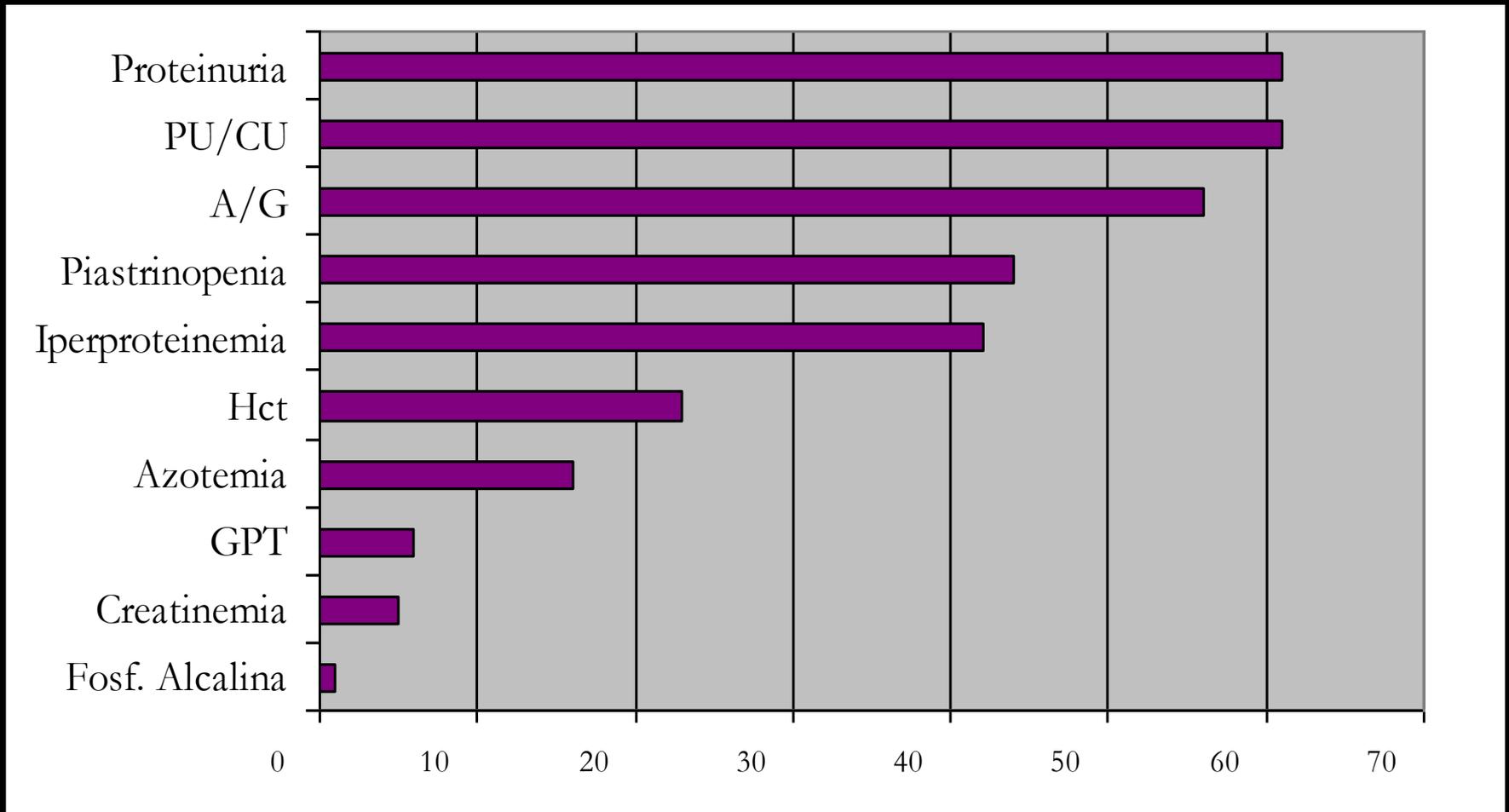
# Patogenesi negli animali sensibili

- Patogenesi sistemica:
  - la risposta anticorpale è **imponente**, **ma non protettiva**
  - **iperglobulinemia** (inversione A/G)
  - produzione di autoanticorpi (trombocitopenia ed anemia)
  - produzione e deposito di **immunocomplessi** (vasculite, glomerulonefrite e poliartrite)
- Patogenesi delle lesioni (non chiara):
  - persistenza del parassita nei macrofagi - stimolo continuo per **infiltrazione di cellule infiammatorie** (plasmacellule, macrofagi e linfociti)
  - causa principale della dermatite sarebbe il **deposito di immunocomplessi**
  - dermatite come risultato di fenomeni di **vasculite**

# Presenza (%) di Segni Clinici



# Presenza (%) di alterazioni clinico-patologiche





**Cani giovani sembrano vecchi**

**Onicogrifosi**



**lunettes**



**Dermatiti furfuracee**

**Edema congiuntivale**



**ulcere**



*“la diagnosi di leishmaniosi è spesso un bel mal di testa per il veterinario”*

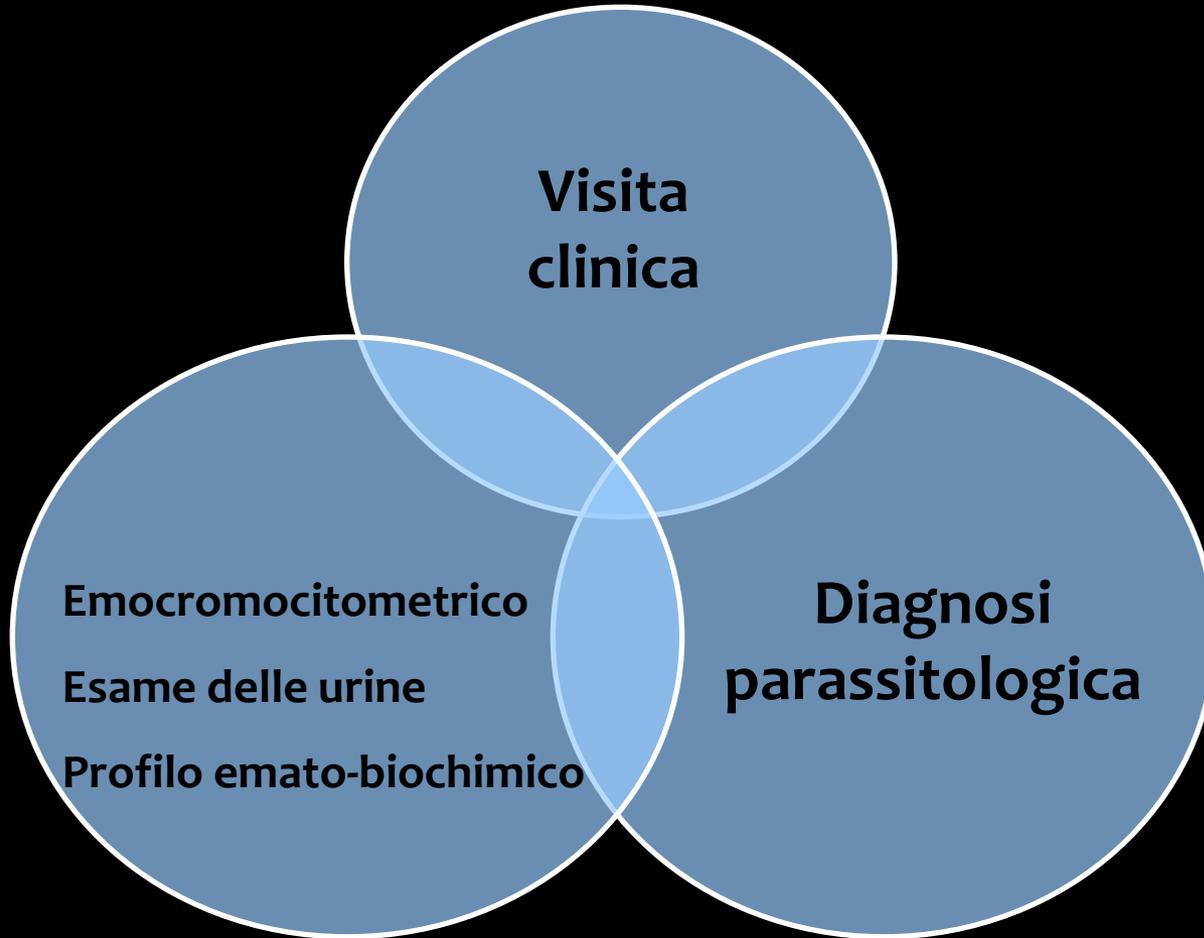
Ferrer, 1999

Leishmaniosi canina

**DIAGNOSI**

Non esistono segni clinici e/clinico-patologici patognomonic per cui è di fondamentale importanza eseguire una visita clinica dettagliata e completa, comprensiva di esami di laboratorio, poiché tutti gli organi ed apparati possono essere coinvolti a vario grado

# Stadiazione



# Stadiazione dei cani affetti da leishmaniosi

Stadio	Definizione	Descrizione
A	Esposto	Cane senza alterazioni clinico-patologiche dimostrabili, nel quale i test diagnostici parassitologici risultino negativi ma siano evidenziabili titoli anticorpali specifici, non superiori a 4 volte il valore soglia del laboratorio di riferimento. I cani esposti solitamente soggiornano o hanno soggiornato in un' area dove è accertata la presenza di flebotomi
B	Infetto	Cane senza alterazioni clinico-patologiche dimostrabili, nel quale è possibile mettere in evidenza il parassita, con metodi diretti (microscopia, coltura o PCR) e con metodi indiretti (presenza di anticorpi specifici).
C	Malato	Cane infetto, nel quale sia dimostrabile qualunque alterazione clinico- patologica riferibile a leishmaniosi e nel quale sia dimostrabile il parassita o titoli anticorpali superiori a 4 volte il valore soglia del laboratorio di riferimento.
D	Malato con quadro clinico grave	Cane malato affetto da: (i) nefropatia proteinurica; (ii) insufficienza renale cronica; (iii) gravi malattie oculari che possano comportare la perdita funzionale e/o richiedano terapie immuno-depressanti; (iv) gravi malattie articolari che possano invalidare la funzione motoria e/o richiedano terapie immunodepressanti; (v) gravi malattie concomitanti, di natura infettiva, parassitaria, neoplastica, endocrina o dismetabolica.
E	Refrattario Recidivo	(Ea) Cane malato refrattario al trattamento (Eb) Cane malato sottoposto a trattamento, con recidiva precoce

# Clinical staging of canine leishmaniosis

Clinical staging of canine leishmaniosis based on serological status, clinical signs, laboratory findings, and type of therapy and prognosis for each clinical stage.

Clinical stages	Serology <sup>a</sup>	Clinical signs	Laboratory findings	Therapy	Prognosis
Stage I: mild disease	Negative to low positive antibody levels	Dogs with mild clinical signs such as peripheral lymphadenopathy, or papular dermatitis (Ordeix et al., 2005; Bottero et al., 2006)	Usually no clinicopathological abnormalities observed; normal renal profile: creatinine < 1.4 mg/dl; non-proteinuric: UPC < 0.5	Scientific neglect/ allopurinol alone/ allopurinol + meglumine antimoniate or miltefosine	Good
Stage II: moderate disease	Low to high <sup>b</sup> positive antibody levels	Dogs, which apart from the signs listed in stage I, may present: diffuse or symmetrical cutaneous lesions such as exfoliative dermatitis/onychogryphosis, ulcerations (planum nasale, footpads, bony prominences, mucocutaneous junctions), anorexia, weight loss, fever, and epistaxis (Petanides et al., 2008)	Clinicopathological abnormalities such as mild non-regenerative anemia, hypergammaglobulinemia, hypoalbuminemia, serum hyperviscosity syndrome (Petanides et al., 2008). Substage—(a) normal renal profile: creatinine < 1.4 mg/dl; non-proteinuric: UPC < 0.5. (b) Creatinine < 1.4 mg/dl; UPC = 0.5–1	Allopurinol + meglumine antimoniate or miltefosine	Good to guarded
Stage III: severe disease	Medium to high positive antibody levels	Dogs, which apart from the signs listed in stages I and II, may present signs originating from immune-complex lesions: vasculitis, arthritis, uveitis and glomerulonephritis	Clinicopathological abnormalities listed in stage II Chronic kidney disease (CKD) IRIS stage I with UPC > 1 or stage II (creatinine 1.4–2 mg/dl) (IRIS, 2006a)	Allopurinol + meglumine antimoniate or miltefosine Follow IRIS guidelines for CKD (IRIS, 2006b)	Guarded to poor
Stage IV: very severe disease	Medium to high positive antibody levels	Dogs with clinical signs listed in stage III. Pulmonary thromboembolism, or nephrotic syndrome and end stage renal disease	Clinicopathological abnormalities listed in stage II CKD IRIS stage III (creatinine 2–5 mg/dl) and stage IV (creatinine > 5 mg/dl) (IRIS, 2006a) Nephrotic syndrome: marked proteinuria UPC > 5	Allopurinol (alone) Follow IRIS guidelines for CKD (IRIS, 2006b)	Poor



<sup>a</sup> Dogs with negative to medium positive antibody levels should be confirmed as infected with other diagnostic techniques such as cytology, histology/immunohistochemistry and PCR.

<sup>b</sup> High levels of antibodies are conclusive of a diagnosis of CanL and are defined as three- to four fold increase of a well established laboratory reference cut-off.

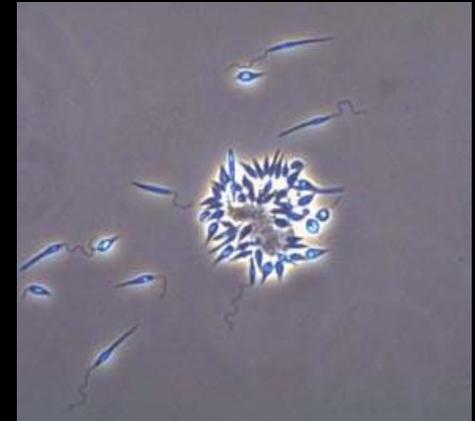
# Diagnosi di laboratorio

- Test non specifici:
  - Proteine totali (rapporto **A/G**)
- Test specifici:
  - Sierologia (indiretto):
    - **IFAT** (gold standard)
    - Test rapidi da ambulatorio
  - Sangue, liquido congiuntivale, **biopsia**/puntato (diretto):
    - Striscio colorato
    - Coltura
    - Analisi biomolecolare (PCR)

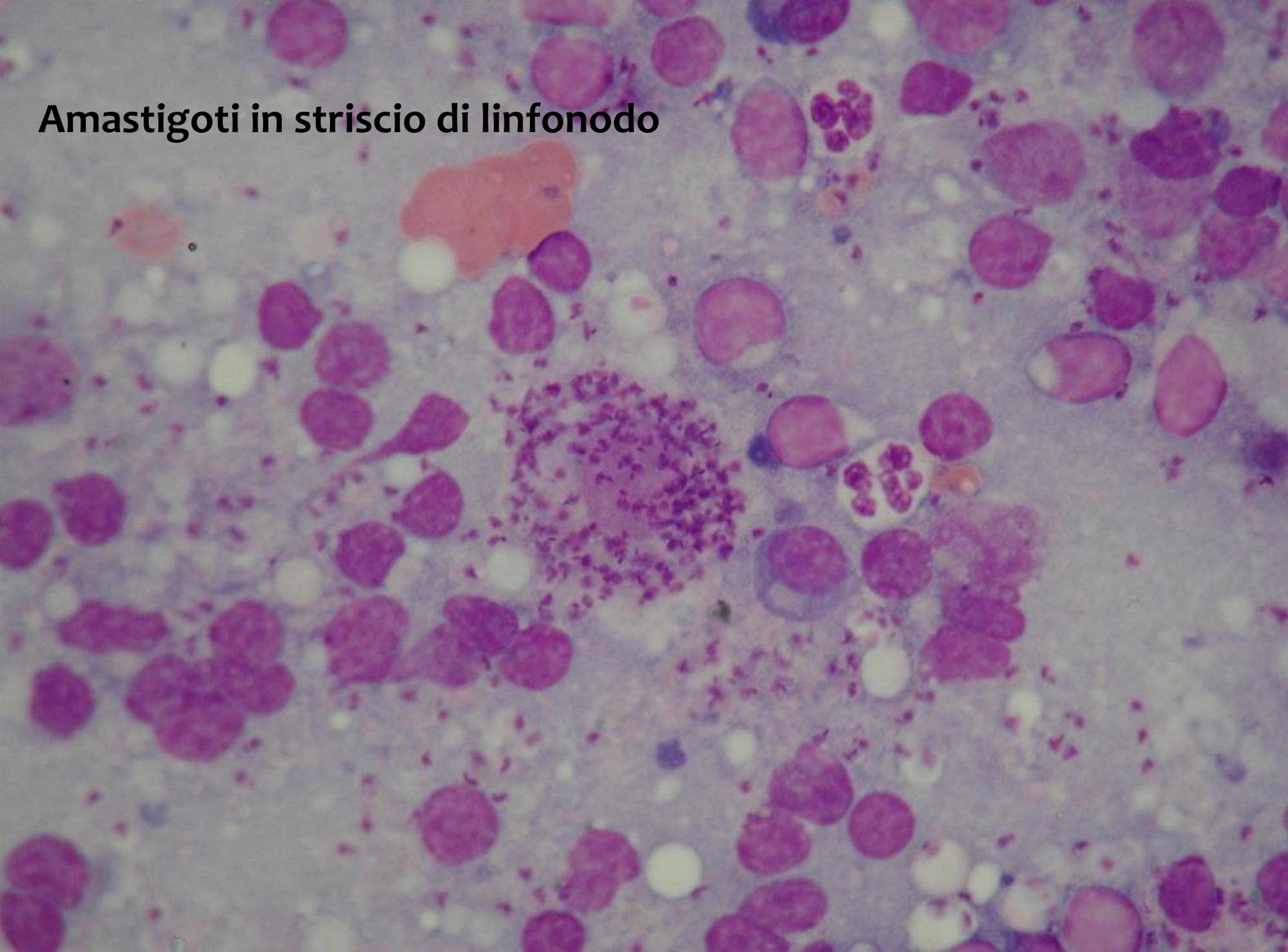
# Diagnosi di laboratorio

## Biopsia

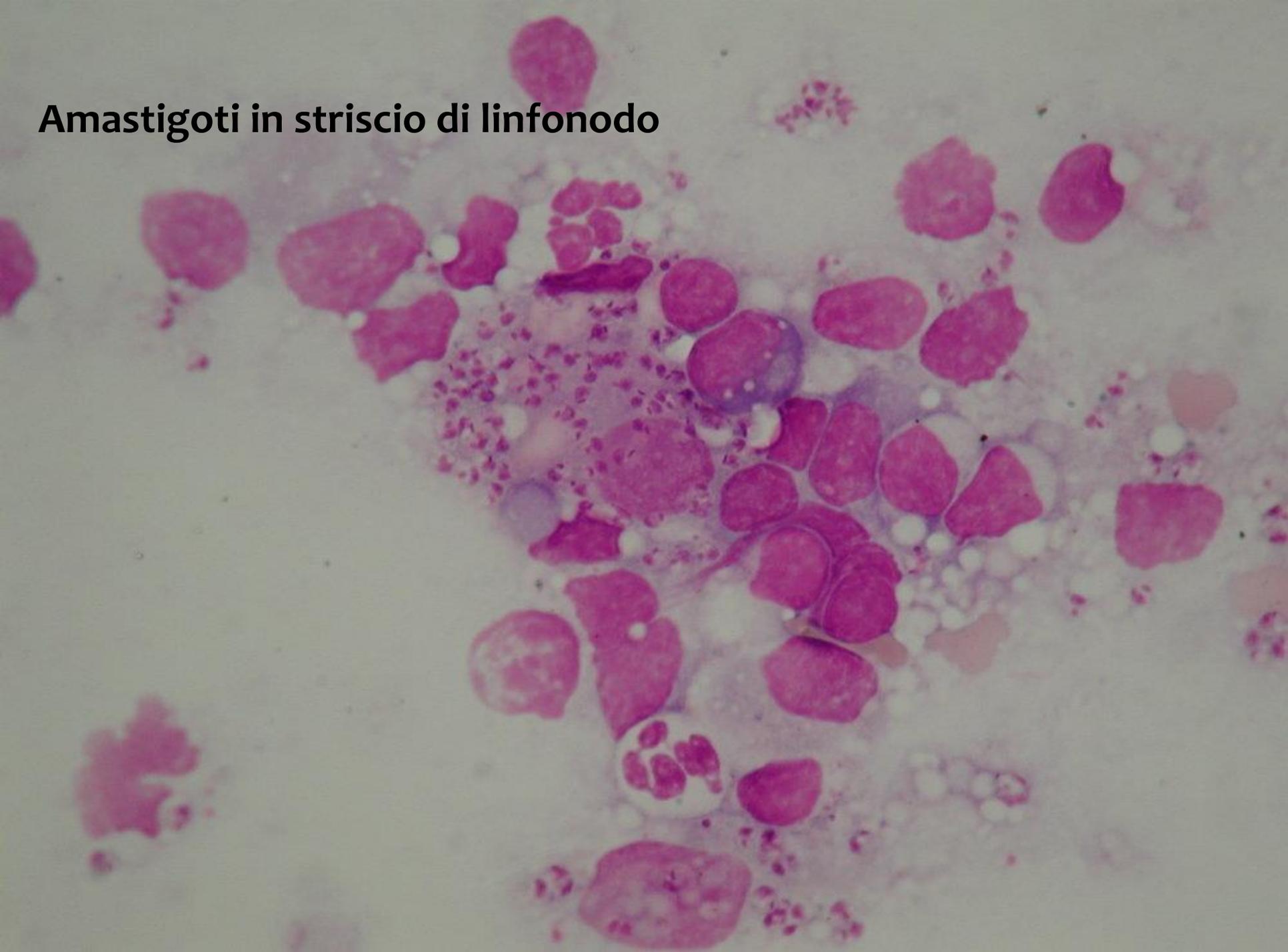
- isolamento del parassita da **puntato sternale** (SE 60%) o **aspirato linfonodale** (SE <30%)
- **striscio** e colorazione (Haemacolor, colorazioni rapide)
- cultura (**promastigoti**)



**Amastigoti in striscio di linfonodo**



**Amastigoti in striscio di linfonodo**



Leishmaniosi canina

**TERAPIA**

# Terapia: farmaci disponibili

- Registrati per uso **veterinario**:
  - Antimoniali pentavalenti (**Glucantime**)
  - Miltefosina (**Milteforan**)
- Di uso in medicina **umana**:
  - Allopurinolo (**Zyloric**)
  - Pentamidina
  - Paromomicina (**Amminosidina** )
  - Amfotericina B
  - Ketoconazolo, miconazolo ed altri
- Farmaci in associazione:
  - Antimoniali o Miltefosina + Allopurinolo

*Si consiglia, per motivi etici, di usare per la terapia del cane, farmaci di prima scelta della terapia umana*

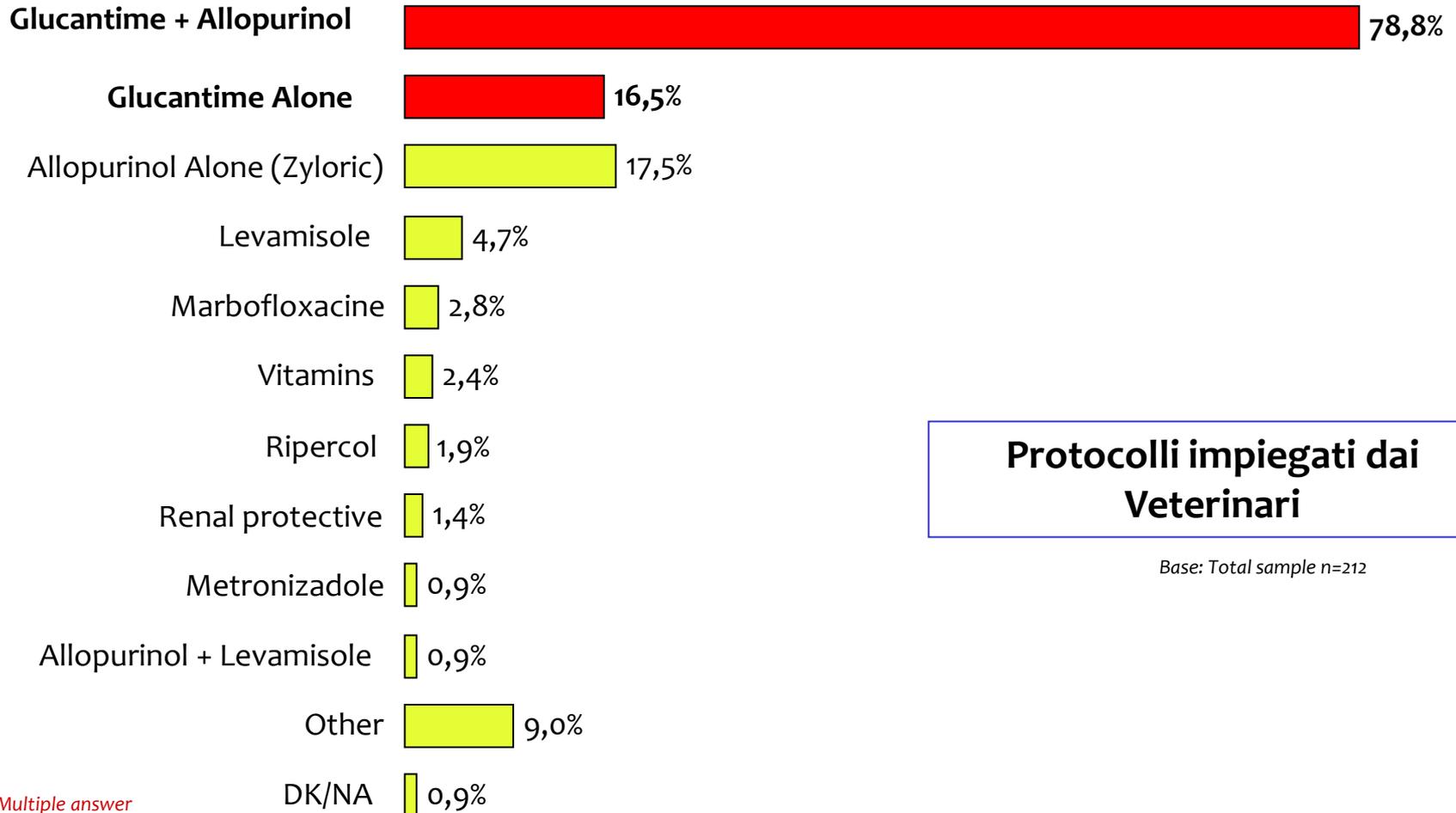
# Terapia: esempio di protocollo

- Terapia di attacco:
  - Glucantime 75/mg/kg s.c. per 30 gg (+ 20 gg se non scompaiono i sintomi) + allopurinolo 20-30 mg/kg p.o.
- Terapia di mantenimento:
  - allopurinolo per 12 mesi o per tutta la vita una settimana al mese
  - oppure Amfotericina B in emulsione lipidica

Terapia lunga, di difficile somministrazione e non sempre efficace!

# Protocolli terapeutici

Totale



Protocolli impiegati dai Veterinari

Base: Total sample n=212

Multiple answer

Leishmaniosi canina

# PROFILASSI E CONTROLLO

La prevenzione dalla puntura dei flebotomi vettori è una profilassi che dovrebbe essere sempre applicata, indipendentemente dall'uso di farmaci o vaccini che **non possono mai** essere considerati risolutivi del problema in assoluto

# Prevenzione contatto cane-flebotomo

- Sostanze da applicare direttamente sul cane con azione insetticida, repellente o anti-feeding
  - piretroidi sintetici:
    - Deltametrina
      - Scalibor Protector Band® [collare]
    - Permetrina
      - Exspot® [gocce spot-on],
      - Advantix® [gocce spot-on, associazione imidacloprid, antipulci]
      - Duowin® [spray, associazione Piriproxifene, larvicida]
- Attenzione alle posologie
  - **Inizio** e **durata** dell'efficacia
  - Non è mai garantita efficacia del 100%

# Profilassi e controllo

- In area **indenne**:
  - Diagnosi **precoce** (esame sierologico)
  - Formazione dei veterinari ed educazione dei proprietari
  - Uso di **repellenti** quando si visitano aree endemiche
  - Indagini **entomologiche**
- In area **endemica**:
  - Attuali mezzi a disposizione **non** ci permettono **l'eradicazione** della leishmaniosi canina
  - Le attività di profilassi possono **ridurre il rischio** di malattia nel cane nelle aree endemiche e di conseguenza ridurre il rischio di infezione **nell'uomo**
  - **Stamping-out**; **vaccinazione**; **repellenti**

# Profilassi e controllo: quale futuro?



in commercio in ITALIA da APRILE 2012

# Guidelines for diagnosis and clinical classification of leishmaniasis in dogs

JAVMA, Vol 236, No. 11, June 1, 2010

Saverio Paltrinieri, DVM; Laia Solano-Gallego, DVM, PhD; Alessandra Fondati, DVM, PhD;  
George Lubas, DVM; Luigi Gradoni, PhD; Massimo Castagnaro, DVM; Alberto Crotti, DVM;  
Michele Maroli, PhD; Gaetano Oliva, DVM; Xavier Roura, DVM, PhD;  
Andrea Zatelli, DVM; Eric Zini, DVM, PhD

## Guidelines for treatment of leishmaniasis in dogs

JAVMA, Vol 236, No. 11, June 1, 2010

Gaetano Oliva, DVM; Xavier Roura, DVM, PhD; Alberto Crotti, DVM; Michele Maroli, PhD;  
Massimo Castagnaro, DVM; Luigi Gradoni, PhD; George Lubas, DVM; Saverio Paltrinieri, DVM;  
Andrea Zatelli, DVM; Eric Zini, DVM, PhD

## Guidelines for prevention of leishmaniasis in dogs

JAVMA, Vol 236, No. 11, June 1, 2010

Michele Maroli, PhD; Luigi Gradoni, PhD; Gaetano Oliva, DVM; Massimo Castagnaro, DVM;  
Alberto Crotti, DVM; George Lubas, DVM; Saverio Paltrinieri, DVM; Xavier Roura, DVM, PhD;  
Eric Zini, DVM, PhD; Andrea Zatelli, DVM

**E adesso...  
Buono studio!**

Veterinary Parasitology xxx (2009) xxx–xxx



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Veterinary Parasitology

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/vetpar](http://www.elsevier.com/locate/vetpar)



Review

Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis

L. Solano-Gallego<sup>a,1,\*</sup>, A. Koutinas<sup>b,1</sup>, G. Miró<sup>c,1</sup>, L. Cardoso<sup>d,1</sup>, M.G. Pennisi<sup>e,1</sup>,  
L. Ferrer<sup>f,1</sup>, P. Bourdeau<sup>g,1</sup>, G. Oliva<sup>h,1</sup>, G. Baneth<sup>i,1</sup>

<sup>a</sup> Dep. Pathology and Infectious Diseases, Royal Veterinary College, University of London, Hawkshead Lane, North Mymms, Hatfield, Herts AL9 7TA, UK

<sup>b</sup> Companion Animal Clinic, Faculty of Veterinary Medicine, Aristotle University of Thessaloniki, Greece

<sup>c</sup> Dpto. Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, Spain

<sup>d</sup> Dep. de Ciências Veterinárias, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Portugal

<sup>e</sup> Dip.to Sanità Pubblica Veterinaria, Facoltà di Medicina Veterinaria, Polo Universitario Annunziata, Messina, Italy

<sup>f</sup> Dep. de Medicina i Cirurgia Animals, Universitat Autònoma de Barcelona, Spain

<sup>g</sup> Ecole Nationale Veterinaire de Nantes, France

<sup>h</sup> Dep. of Veterinary Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Naples Federico II, Italy

<sup>i</sup> School of Veterinary Medicine, Hebrew University, Israel