

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

**Linee guida
per il controllo del serbatoio canino
della leishmaniosi viscerale zoonotica in Italia**

Luigi Gradoni, Marina Gramiccia,
Cristina Khoury, Michele Maroli

Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate

ISSN 1123-3117

Rapporti ISTISAN

04/12

Istituto Superiore di Sanità

Linee guida per il controllo del serbatoio canino della leishmaniosi viscerale zoonotica in Italia.

Luigi Gradoni, Marina Gramiccia, Cristina Khoury, Michele Maroli

2004, iii, 20 p. Rapporti ISTISAN 04/12

La Leishmaniosi Viscerale Zoonotica (LVZ) è una grave malattia riemergente causata da *Leishmania infantum*, protozoo trasmesso da flebotomi e che ha nel cane l'unico serbatoio domestico. Il controllo della malattia risulta difficoltoso con le metodiche tradizionali, per la mancanza di un vaccino e di misure praticabili per un controllo su larga scala degli insetti vettori. Di recente sono stati chiariti alcuni aspetti clinico-diagnostici associati all'infettività del cane, mentre sono emerse nuove metodologie efficaci per la prevenzione e il contenimento dell'infezione in questo animale. Vengono qui delineate le misure ritenute necessarie per il controllo della LVZ attraverso il controllo del serbatoio domestico, integrando tre aspetti: 1) sorveglianza dell'infezione canina nel territorio italiano, con la definizione delle differenti tipologie di infezione risultanti dalle metodiche sierologiche e molecolari disponibili per la diagnosi; 2) terapia dei soggetti infetti a rischio di infettività; 3) misure antivettoriali applicate con il duplice scopo, i) prevenzione della trasmissione di *Leishmania* ai cani indenni da infezione, e ii) controllo della trasmissione dal cane infetto ad altri cani e all'uomo.

Parole chiave: *Leishmania*, Leishmaniosi viscerale, Cane, Flebotomi, Controllo, Italia

Istituto Superiore di Sanità

Guidelines for the control of the canine reservoir of zoonotic visceral leishmaniasis in Italy.

Luigi Gradoni, Marina Gramiccia, Cristina Khoury, Michele Maroli

2004, iii, 20 p. Rapporti ISTISAN 04/12 (in Italian)

Zoonotic Visceral Leishmaniasis (ZVL) is a severe re-emerging disease caused by the parasitic protozoan *Leishmania infantum*. The agent is transmitted by the bite of phlebotomine sandflies and dogs represent the only domestic reservoir. ZVL control by traditional methods is difficult, due to the lack of vaccines and feasible approaches for large-scale vector control. Recently, clinical-diagnostic features associated with dog's infectiousness have been elucidated, and new effective methods for the infection prevention and control among dogs have been reported. Measures needed for ZVL control through the control of the canine reservoir are outlined here, by the integration of three intervention aspects: 1) surveillance of canine infections throughout the Italian territory, with the definition of subgroups of infected animals resulting from serological and molecular techniques available for diagnosis; 2) therapy of infected animals at risk of infectiousness; 3) antivectional measures applied with a dual objective, i) prevention of *Leishmania* transmission to healthy dogs, and ii) control of transmission from infected dogs to dogs and humans.

Key words: *Leishmania*, Visceral leishmaniasis, Dog, Phlebotomine sandflies, Control, Italy

Per informazioni su questo documento scrivere a: maroli@iss.it

Il rapporto è accessibile online dal sito di questo Istituto: www.iss.it.

Presidente dell'Istituto Superiore di Sanità e Direttore responsabile: *Enrico Garaci*
Registro della Stampa - Tribunale di Roma n. 131/88 del 1° marzo 1988

Redazione: *Paola De Castro* e *Sandra Salinetti*

La responsabilità dei dati scientifici e tecnici è dei singoli autori.

© Istituto Superiore di Sanità 2004

INDICE

Presentazione	iii
Introduzione	1
1. Sorveglianza attiva dell'infezione canina nel territorio	3
1.1. Dove effettuare la sorveglianza	3
1.1.1. Territori panendemici	3
1.1.2. Territori endemo-sporadici, o per i quali non è nota l'effettiva distribuzione dell'infezione	3
1.1.3. Territori nei quali siano stati accertati solo di recente casi autoctoni di infezione	3
1.2. Quando effettuare la sorveglianza.....	3
1.3. Come effettuare la sorveglianza.....	4
1.3.1. Implementazione	4
1.3.2. Metodologie.....	4
1.3.3. Categorie dei cani infetti risultanti dalla sorveglianza.....	5
Screening mediante IFI	5
Screening mediante metodiche molecolari.....	6
2. Terapia dei soggetti infetti	7
2.1. Quando effettuare la terapia.....	7
2.2. Come effettuare la terapia.....	7
3. Misure antivettoriali per il controllo della trasmissione	8
3.1. Quali soggetti trattare.....	8
3.2. Quando trattare	8
3.3. Come trattare	8
4. Considerazioni conclusive	10
Bibliografia di riferimento	11
Epidemiologia della leishmaniosi in Italia.....	11
Diagnostica clinica e di laboratorio	12
Terapia dell'uomo e del cane.....	15
Prevenzione e lotta contro i flebotomi	15
Appendice	
Istituzioni e numero di partecipanti al Convegno Consenso	17

PRESENTAZIONE

Questo documento è stato elaborato in seguito alla presentazione di una bozza di linee guida sul controllo della leishmaniosi viscerale zoonotica, fatta nel corso di un “Convegno consenso” tenuto il 12 marzo 2004 presso l’Istituto Superiore di Sanità. Alla presentazione è seguita un’ampia discussione tra gli invitati partecipanti, appartenenti a istituzioni sanitarie e scientifiche pubbliche quali Aziende Sanitarie Locali, Istituti Zooprofilattici Sperimentali e Università italiane (Appendice). Le modifiche alla bozza originaria hanno tenuto conto dei numerosi suggerimenti scaturiti nel corso della discussione, e una bozza modificata è stata approvata in via generale al termine del Convegno stesso.

L’obiettivo del presente documento è quello di fornire un protocollo operativo basato su strumenti validati scientificamente, da utilizzare come allegato tecnico nell’attuazione di programmi di controllo della leishmaniosi viscerale zoonotica, implementati sia a livello locale che nazionale.

Per non appesantire con riferimenti bibliografici (1-72) il formato prettamente tecnico del documento, questi non sono stati citati nel testo ma solo nelle Tabelle. Tuttavia, per maggiori approfondimenti si rimanda alla esauriente lista bibliografica commentata.

INTRODUZIONE

La Leishmaniosi Viscerale Zoonotica (LVZ), causata dal protozoo parassita *Leishmania infantum*, è una grave patologia riemergente in tutta l'area mediterranea. In Italia i casi notificati di malattia nell'uomo sono andati aumentando nel corso dell'ultimo decennio fino a raggiungere un'incidenza annuale di circa 200 all'inizio degli anni 2000 (Figura 1). Va però rilevato che per molte Regioni i dati disponibili soffrono di evidente sottonotifica, mentre presentano discreta attendibilità i dati relativi ad alcune Regioni dove sono stati attuati, anche per periodi limitati, programmi appositi di sorveglianza attiva (Campania, Sicilia e Liguria).

Gran parte delle infezioni umane risulta a carico di individui immunocompetenti, sia bambini che adulti. Ad esse si aggiungono le co-infezioni HIV-*Leishmania* che, seppure diminuite in incidenza grazie alle terapie HAART, costituiscono tuttora un grave problema sanitario per la difficile gestione dei pazienti altamente resistenti alle terapie. Numerosi sono anche i casi riportati nei pazienti organo-trapiantati.

Il cane infetto da *L. infantum* costituisce l'unico serbatoio domestico della LVZ (in Italia l'impatto epidemiologico di canidi selvatici, come la volpe, è da ritenersi poco rilevante). L'elevata suscettibilità al parassita fa sì che il cane costituisca un eccellente indicatore della diffusione dell'infezione nel territorio. Anche per la leishmaniosi canina si è assistito nell'ultimo decennio ad un aumento di incidenza e diffusione geografica. Dalle aree tradizionalmente endemiche rappresentate dai versanti tirrenici, ionici e dell'Adriatico centro-meridionale della penisola e dalle isole, l'infezione si è diffusa sul versante centro-settentrionale adriatico della penisola e, a macchia di leopardo, in molte aree collinari prealpine e preappenniniche delle Regioni del nord Italia.

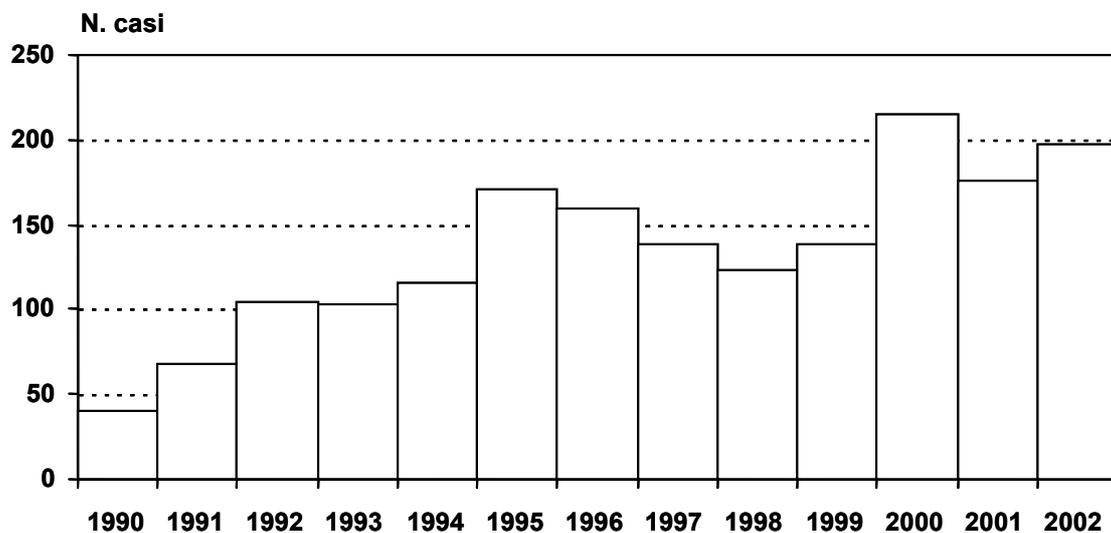


Figura 1. Casi di leishmaniosi viscerale umana registrati in Italia dal 1990 al 2002 mediante notifica e sorveglianza attiva

L'aumento di incidenza e diffusione delle patologie umana e canina sembrano tra loro correlati ed associati alla diffusione, attualmente pressoché ubiquitaria, del principale vettore

flebotomino di *L. infantum* in Italia, *Phlebotomus perniciosus*. A questa specie bisogna associare un secondo potenziale vettore, *P. neglectus*, una specie di flebotomo segnalata fino ad alcuni anni orsono in aree limitate dell'Italia meridionale, ma reperito recentemente anche in alcuni focolai del nord Italia.

All'origine della riemergenza della LVZ sembrano pertanto coinvolti più fattori concomitanti, tra i quali l'evoluzione del rapporto uomo-animale (incluso il randagismo) e le mutate condizioni climatico-ambientali giocano probabilmente un ruolo predominante. Al di là di misure già in atto per la lotta al randagismo, per contrastare questo fenomeno non sono disponibili misure di controllo tradizionali a causa di una serie di limitazioni di carattere scientifico e pratico:

- i. la mancanza di un vaccino ad uso umano o canino di comprovata efficacia (alcune formulazioni in fase di sperimentazione clinica nel cane mostrano ridotta azione profilattica);
- ii. la relativa sporadicità dei casi umani, per la quale appare improponibile l'applicazione su larga scala di misure di lotta al vettore in ambienti antropizzati;
- iii. l'estrema difficoltà a contrastare la diffusione geografica dei vettori mediante interventi sull'ambiente.

Tra le poche risorse disponibili vi è la recente dimostrazione dell'impatto epidemiologico di nuovi metodi di controllo della trasmissione applicati al serbatoio canino. Pertanto, le misure ritenute necessarie per il controllo della LVZ sono rivolte prevalentemente al contenimento e alla prevenzione dell'infezione nel cane. Tuttavia non va trascurata la necessità di migliorare lo scambio di informazioni epidemiologiche tra il settore medico e quello veterinario, indispensabile per determinare le priorità nelle attività di sorveglianza (vedi 1.1.1).

In queste linee guida sono considerati tre aspetti principali:

1. la sorveglianza attiva dell'infezione canina nel territorio;
2. la terapia dei soggetti infetti;
3. le misure antivettoriali per il controllo della trasmissione.

1. SORVEGLIANZA ATTIVA DELL'INFEZIONE CANINA NEL TERRITORIO

1.1. Dove effettuare la sorveglianza

1.1.1. Territori panendemicici

Esiste ormai la consolidata conoscenza della presenza endemica di leishmaniosi canina in tutti i territori costieri e collinari del versante tirrenico, jonico e del centro-sud Adriatico dell'Italia continentale (Liguria, Toscana, Lazio, Campania, Basilicata, Calabria, Puglia, Molise e Abruzzo) e delle isole maggiori e minori, con la sola esclusione dei quartieri centrali di grandi centri urbani. Come *obiettivo a medio termine*, dovranno essere predisposte le procedure necessarie all'identificazione attiva dei soggetti infetti da *Leishmania* in tutta la popolazione canina residente in tali territori. Come *obiettivo a breve termine*, le attività di sorveglianza dovranno essere condotte prioritariamente in tutte quelle aree dove vengono diagnosticati ripetutamente casi umani di LVZ, con particolare riguardo ai casi infantili che costituiscono un eccellente indicatore di trasmissione autoctona di infezione all'uomo.

1.1.2. Territori endemo-sporadici, o per i quali non è nota l'effettiva distribuzione dell'infezione

Appartengono a questa categoria le regioni costiere e collinari del medio versante adriatico (Marche ed Emilia Romagna orientale) e quelle collinari dell'Umbria. Come *obiettivo a medio termine*, dovranno essere predisposte le procedure necessarie all'identificazione attiva dei soggetti infetti da *Leishmania* in tutta la popolazione canina residente nei focolai noti di tali territori. Come *obiettivo a breve termine*, dovranno essere condotte indagini volte all'individuazione dei nuovi focolai di endemia, procedendo come descritto nel punto seguente.

1.1.3. Territori nei quali siano stati accertati solo di recente casi autoctoni di infezione

Appartengono a questa categoria numerosi territori dell'Emilia Romagna occidentale, Piemonte, Valle d'Aosta, Lombardia, Veneto, Trentino e Friuli. Poiché si ritiene che in queste regioni sia in atto una progressiva espansione dell'infezione canina, ma che tuttora il fenomeno sia limitato a focolai di piccola o media entità, dovranno essere predisposte le procedure necessarie all'identificazione attiva dei soggetti infetti da *Leishmania* in tutta la popolazione canina residente nel territorio circostante un comprovato focolaio autoctono. L'estensione di tale territorio dovrà essere in funzione delle caratteristiche eco-epidemiologiche dell'area, e in particolare sulla presenza/assenza del vettore.

1.2. Quando effettuare la sorveglianza

Premesso che la segnalazione passiva di casi accertati di infezione canina da parte di veterinari liberi professionisti può costituire un utile strumento di monitoraggio epidemiologico,

la periodicità delle operazioni di sorveglianza attiva dovranno tenere conto della storia naturale dell'infezione nel cane. Da vari studi di tipo prospettico, è ormai noto che il periodo di prepatenza che segue un'infezione acquisita in una determinata stagione di trasmissione mostra una durata media di 5-8 mesi. Pertanto, il periodo dell'anno in cui, nei nostri climi, vi è la probabilità maggiore di identificare i nuovi casi di infezione è compreso tra febbraio e maggio. Al di là di tale periodo vi possono essere interferenze di tipo diagnostico derivate dai nuovi contatti parassita-cane che possono avvenire nella nuova stagione di trasmissione. Pertanto, le attività di sorveglianza attiva dovranno essere condotte durante il suddetto periodo, ed avere periodicità annuale.

1.3. Come effettuare la sorveglianza

1.3.1. Implementazione

L'implementazione delle operazioni di sorveglianza attiva e di controllo può variare da territorio a territorio, a seconda delle realtà sanitarie presenti, della conoscenza e percezione dell'importanza del problema, e dell'esistenza o meno di programmi di sorveglianza già messi in atto. Sono considerate condizioni necessarie al raggiungimento degli obiettivi:

- i) Adeguata copertura finanziaria da parte di enti regionali e locali e/o aziende sanitarie, con l'eventuale supporto da parte di soggetti privati (aziende del settore veterinario);
- ii) Collegamento con un centro diagnostico di riferimento territoriale che utilizzi tecniche affidabili (vedi 1.3.2);
- iii) Coinvolgimento dei veterinari liberi professionisti;
- iv) Attività di informazione ed educazione sanitaria rivolte ai proprietari dei cani;
- v) Coinvolgimento di associazioni di volontariato.

Nell'implementazione di un programma di sorveglianza, può essere considerata la messa in opera di un sistema di notifica obbligatoria del caso di leishmaniosi canina (vedi 1.3.3 per la definizione di caso).

1.3.2. Metodologie

A tutt'oggi il metodo più pratico ed efficace è costituito dal prelievo di un campione di sangue periferico, corredato da una breve scheda clinica del soggetto, e il suo esame mediante appropriata tecnica sierologica. L'importanza della sierologia, oltre a considerazioni di tipo pratico, risiede nella evidenza scientifica che lo stato di infettività di un soggetto nei confronti dei flebotomi vettori è strettamente associato alla dimostrazione di anticorpi serici specifici, in presenza o meno di segni clinici, ed il grado di infettività sembrerebbe direttamente associato al titolo anticorpale.

Sono da considerarsi tecniche affidabili per uno screening di massa:

- l'ImmunoFluorescenza Indiretta (IFI) effettuata con antigene fresco;
- varie formulazioni di ELISA (dot-ELISA, K39-ELISA);
- l'agglutinazione diretta (DAT).

In Italia è ampiamente disponibile solo l'IFI, utilizzata di routine presso numerosi centri di riferimento pubblici presenti in tutto il Paese (prevalentemente Istituti Zooprofilattici Sperimentali e laboratori di Parassitologia delle Università).

Un'ulteriore tecnica sierodiagnostica affidabile, ma di scarsa praticità per screening di massa, è quella del Western blot. A tutt'oggi non esistono sul mercato in Italia o in altri Paesi mediterranei kit commerciali di tipo immunocromatografico a risposta rapida che siano affidabili per specificità e sensibilità. I kit attualmente disponibili hanno un valore puramente indicativo nella pratica clinica veterinaria in presenza di sintomatologia sospetta.

L'efficacia diagnostica di tecniche molecolari come la *Polymerase Chain Reaction* (PCR) e sue modificazioni, è indubbiamente molto elevata. Purtroppo è da sottolineare che tali metodiche sono attualmente applicate solo da un numero limitato di centri di riferimento pubblici (alcuni Istituti Zooprofilattici e laboratori di Parassitologia delle Università) e non presentano tuttora sufficienti criteri di standardizzazione per uno screening di massa (es. la natura del campione da esaminare, il target molecolare, ecc.) (Tabella 1).

Tabella 1. Principali metodi basati sulla Polymerase Chain Reaction per la diagnosi dell'infezione da *Leishmania infantum* del cane nel bacino del Mediterraneo

Tipologia del DNA target	Descrizione dei primer (bibliografia)	Tecnica	N. teorico minimo di parassiti identificati	Applicazione (bibliografia)
DNA ribosomiale di <i>Leishmania</i> spp	53	PCR	0,05	37; 36
DNA ribosomiale di <i>Leishmania</i> spp	53; 28	nested PCR	0,0005	31
DNA ribosomiale	43	PCR	0,05	39
DNA genomico di <i>L. infantum</i>	44	nested PCR	0,0001	29, 37
DNA genomico di <i>L. infantum</i>	45	PCR	0,01	37
DNA genomico di <i>L. infantum</i>	25	PCR	0,05	34
kDNA, minicircolo	49	PCR	0,0001	48; 52; 37
kDNA, minicircolo <i>L. infantum</i>	32	PCR-ELISA	0,001	42
kDNA, minicircolo	51	PCR	0,01	37; 33
kDNA, minicircolo	47; 38	PCR	0,0001	37; 36

Inoltre non vi sono evidenze sostanziali di una correlazione diretta tra PCR-positività e infettività per il vettore, in quanto le infezioni rilevate possono essere di tipo criptico-latente con presenza scarsa o nulla di parassiti vitali nel derma e/o sangue periferico del cane. Tuttavia l'utilizzo di metodiche molecolari in gruppi campione assume particolare rilevanza quando si debba dimostrare la circolazione del parassita in una determinata area.

1.3.3. Categorie dei cani infetti risultanti dalla sorveglianza

Screening mediante IFI

- i) Soggetti clinicamente sani con un titolo IFI compreso tra 1:40 e 1:80. Questi animali dovranno essere considerati "sospetti" e ricontrollati con altra metodica affidabile, oppure con IFI dopo 6 mesi;
- ii) Soggetti clinicamente sani con un titolo IFI \geq 1:160. Questi animali rappresentano forme asintomatiche d'infezione, potenzialmente infettanti, sia in fase evolutiva che latente. *Sono da sottoporre a terapia* (vedi 2);
- iii) Soggetti che presentano uno o più segni clinici caratteristici di leishmaniosi, con un titolo IFI \geq 1:160. Questi animali rappresentano forme sintomatiche d'infezione, con alta probabilità di infettività, e *sono da sottoporre a terapia* (vedi 2). In questa categoria

possono rientrare soggetti polisintomatici con condizioni generali di elevata gravità, per i quali la mancata risposta alla terapia può indicare il ricorso all'eutanasia.

Screening mediante metodiche molecolari

- iv) Soggetti clinicamente sani con positività alla PCR. Questi animali dovranno essere considerati "sospetti" e da controllare con metodica sierologica affidabile. Solo se la sierologia risulta positiva il soggetto è da considerarsi potenzialmente infettante, ed è *da sottoporre a terapia* (vedi 2);
- v) Soggetti che presentano uno o più segni clinici caratteristici di leishmaniosi con positività alla PCR. Sono forme potenzialmente infettanti e *da sottoporre a terapia* (vedi 2).

2. TERAPIA DEI SOGGETTI INFETTI

In questo contesto, il trattamento farmacologico dei soggetti infetti classificati nella precedente sezione 1.3.3 dovrà essere considerato come misura protettiva di massa, e non solo individuale.

2.1. Quando effettuare la terapia

Anche se non esistono a tutt'oggi terapie risolutive della leishmaniosi canina, per alcuni regimi farmacologici vi è la dimostrazione di una netta riduzione di infettività nei confronti dei flebotomi vettori durante e nei primi mesi successivi al trattamento. Con l'esclusione del ciclo di terapia a seguito della prima diagnosi, i successivi cicli di terapia *dovranno essere intrapresi durante i mesi immediatamente precedenti la trasmissione*, cioè nel periodo compreso tra maggio e giugno.

2.2. Come effettuare la terapia

Dovranno essere escluse formulazioni a base di amfotericina B, farmaco di prima scelta per la terapia della LVZ umana in Italia, allo scopo di evitare la selezione di ceppi farmacoresistenti del parassita.

Il regime che, sulla base di ampia esperienza clinica e di alcuni studi comparativi, dimostra la migliore efficacia in termini di riduzione della carica parassitaria e di prolungata risoluzione clinica della malattia, è l'associazione di antimonio di N-metil glucammina (meglumina) con allopurinolo. Non sono tuttavia disponibili studi comparativi tra i vari dosaggi e durata di trattamento; la meglumina antimonio può essere somministrata s.c. per 30-60 giorni consecutivi al dosaggio di 100-150 mg/kg/die (in un'unica o, meglio, in due somministrazioni giornaliere) e l'allopurinolo per 30-60 giorni fino a 8 mesi, al dosaggio *per os* di 10-30 mg/kg/die.

3. MISURE ANTIVETTORIALI PER IL CONTROLLO DELLA TRASMISSIONE

In questo ambito, le misure antivettoriali da applicare per il controllo del serbatoio canino hanno un duplice obiettivo:

- i) la protezione individuale dell'animale non infetto;
- ii) il contenimento del potenziale infettante da parte dell'animale infetto.

3.1. Quali soggetti trattare

Per quanto concerne l'obiettivo (i) è altamente raccomandato che misure di protezione individuale vengano applicate a *tutti* gli animali sottoposti a sorveglianza attiva secondo la stratificazione precedentemente riportata, e cioè nei territori panendemicici (1.1.1), nei territori endemo-sporadici (1.1.2) e nei territori di recente endemia (1.1.3).

Per quanto riguarda l'obiettivo (ii) tutti gli animali risultati infetti e potenzialmente infettanti per il vettore, secondo quanto riportato per le categorie del paragrafo 1.3.3. (ii-v), dovranno essere sottoposti a misure di protezione di massa.

3.2. Quando trattare

Il periodo di applicazione delle misure antivettoriali dovrà coincidere con il periodo di attività dei vettori, e cioè:

- dalla metà di maggio a fine settembre per il nord Italia;
- dalla metà di maggio alla metà di ottobre per il centro Italia;
- dall'inizio di maggio alla metà di novembre per il sud Italia.

I periodi individuati dovranno essere considerati orientativi, dipendendo dalle variazioni climatiche annuali. La periodicità dei trattamenti dipende dalle misure prescelte, elencate nel punto successivo.

3.3. Come trattare

Fra le specialità medicinali ad uso veterinario della categoria 'biocidi contro gli ectoparassiti' presenti sul mercato italiano, solo quattro sono corredate da una documentazione scientifica che comprova la loro efficacia anche contro i vettori di leishmaniosi (Tabelle 2 e 3).

Questi composti a base di piretroidi mostrano caratteristiche diverse, le cui proprietà associate al controllo della trasmissione sono riassunte di seguito:

- i) un'associazione permetrina/piriproxifene per applicazione topica ad elevato effetto protettivo e letale della durata di quattro settimane;
- ii) una specialità a base di permetrina 65% per applicazione topica ad elevato effetto protettivo e letale della durata di quattro settimane;
- iii) un'associazione permetrina/imidacloprid per applicazione topica ad elevato effetto protettivo e letale della durata di due settimane;

iv) un complesso deltametrina/trifenilfosfato per applicazione tramite banda protettiva (collare) ad elevato effetto protettivo e letale della durata di 5-6 mesi.

Considerate le diverse modalità di applicazione (topica o collare) e la durata d'efficacia, la scelta di questi prodotti è da valutare a seconda delle specifiche esigenze del programma implementato.

Tabella 2. Risultati della sperimentazione di laboratorio con principi attivi applicati sul cane per valutare l'attività anti-flebotomo

Principio attivo (%)	Bibliografia	N. animali trattati + controllo	Specie di flebotomo saggata	Effetto (%)		Periodo di osservazione (settimane)
				protettivo ⁽¹⁾	letale ⁽²⁾	
Permetrina (2) + Piriproxifene (0,02)	(58)	3 + 3	<i>P. perniciosus</i>	94	60	n.d.
	(69)	4 + 4	<i>P. perniciosus</i>	89	n.d.	3
	(68)	4 + 4	<i>P. perniciosus</i>	87	60	4
Permetrina (65)	(69)	2 + 2	<i>P. perniciosus</i>	91	67	4
	(72)	3 + 3	<i>L. intermedia</i>	49	23	8
Permetrina (50) + Imidacloprid (10)	(67)	6 + 6	<i>P. papatasi</i>	93	46	1
				56	29	4
Deltametrina (4) + Trifenilfosfato	(62)	5 + 2	<i>P. perniciosus</i>	96	25 – 64	34
	(63)	5 + 5	<i>P. perniciosus</i>	84	42	26
	(61)	7 + -	<i>P. papatasi</i>	80	18	n.d.
	(59)	4 + 3	<i>L. longipalpis</i>	96	35 – 90	35
	(72)	"	<i>L. migonei</i>	96	46 – 91	36
		5 + 3	<i>L. intermedia</i>	69	37	8

⁽¹⁾ Effetto protettivo: attività "antifeeding", misurata considerando i flebotomi che non hanno effettuato un pasto di sangue; ⁽²⁾ Effetto letale: attività tossica nei confronti dei flebotomi, misurata considerando la mortalità degli insetti.

Tabella 3. Sperimentazione di campo con principi attivi applicati sul cane e valutazione dell'impatto sull'infezione del cane (LCan) e dell'uomo (LV)

Misura applicata	Nazione (bibliografia)	N. animali trattati + controllo	Durata intervento	% riduzione LCan - LV
Collare ⁽¹⁾	Italia			
	(64)	354 + 371	2 stagioni	50 ⁽³⁾ -86 ⁽⁴⁾ LCan
	(65)	49 + 150	1 stagione	52 LCan
	Iran			
	(66)	466 + 354	6 mesi	54 LCan – 43 LV
	Brasile			
	(70)	1246 + 1267	1 anno	49 LCan
	(71)	136 + 97	5 mesi	50 LCan
Spot on ⁽²⁾	Brasile			
(60)	150 + 146	4 mesi (1 appl. mensile x 3)	50 LCan	

⁽¹⁾ Deltametrina (4%); ⁽²⁾ Permetrina (65%); ⁽³⁾ prima stagione; ⁽⁴⁾ seconda stagione

4. CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

Alla discussione di questo protocollo operativo hanno partecipato attivamente oltre 120 operatori e ricercatori di Sanità pubblica provenienti da tutte le regioni italiane, dimostrando l'elevato interesse dell'argomento e testimoniando la necessità di armonizzare gli interventi sul territorio secondo linee guida omogenee.

Purtroppo non sono ancora disponibili modelli matematici di previsione dell'impatto quantitativo sulle incidenze delle infezioni canine e, soprattutto, umane, a seguito dell'applicazione delle misure proposte. E' quindi essenziale che tutti gli operatori che vorranno seguire queste linee guida nell'immediato futuro, raccolgano informazioni le più dettagliate possibili sui dati di efficacia a medio termine delle misure applicate sulla popolazione canina, al fine di contribuire ad una verifica generale dell'impatto epidemiologico. Gli strumenti di verifica sono insiti nelle stesse metodiche di sorveglianza, dalle quali risulta semplice derivare dati periodici di incidenza dell'infezione nei cani sottoposti a controllo. Il continuo contributo dell'Istituto Superiore di Sanità nel monitoraggio attivo della malattia nell'uomo potrà permettere di correlare ogni variazione di incidenza nel serbatoio canino ai trend di LVZ umana in Italia.

BIBLIOGRAFIA DI RIFERIMENTO

Per le pubblicazioni di maggiore rilevanza per le quali il titolo non sia sufficientemente autoesplicativo, se ne riporta una breve sintesi.

Epidemiologia della leishmaniosi in Italia

1. Baldelli R, Battelli G, Maroli M, Mollicone E, Gudi A, Stegagno G, Tasini G. A new stable focus of canine leishmaniasis in northern Italy. *Parassitologia* 2001; 43: 151-153.
2. Bongiorno G, Habluetzel A, Khoury C, Maroli M. Host preferences of phlebotomine sand flies at a hypoendemic focus of canine leishmaniasis in central Italy. *Acta Tropica* 2003; 88:109-116. [Viene riportato che il vettore *Phlebotomus perniciosus* può pungere su un vasto spettro di ospiti a sangue caldo, e che la scelta dell'ospite dipende solo dalla sua disponibilità (numero e dimensione)]
3. Cascio A, Gradoni L, Scarlata F, Gramiccia M, Giordano S, Russo R, Scalone A, Cammà C, Titone L. Epidemiologic surveillance of visceral leishmaniasis in Sicily, Italy. *Am J Trop Med Hyg* 1997; 7: 75-78.
4. Corradetti C, Spinelli G, Khoury C, Bianchi R, Maroli M. Prima indagine entomologica sulla presenza dei vettori di leishmaniosi in focolai campione della provincia di Perugia. *Atti XIX Congresso Nazionale Italiano di entomologia*, Catania, 10-15 giugno 2002. p. 235.
5. Dalla Villa P, Ruggeri F. Situazione epidemiologica della leishmaniosi canina in provincia di Pescara. *Atti Congresso di Igiene Urbana Veterinaria*, Roma, 14-16 dicembre 1999. p. 137.
6. Ferroglio E, Maroli M, Castaldo S, Triscioglio, Raimondo C, Veysendaz E, Saracco M, Rossi L. Survey of phlebotomine sandflies in North-West Italy. *Parassitologia* 2002; 44 (1): 66.
7. Ferroglio E, Mignone W, Saracco M, Raimondo C, Gastaldo S, Triscioglio A, Mancianti F, Guiso P, Tarello V, Ambrogio M, Trentin C, Balocchi E, Furno R, Sala L. Prevalence of seroreactors to *Leishmania infantum* in the canine population of North-West Italy. *Parassitologia* 2002; 44 (1): 68.
8. Gabutti G, Balestra G, Flego G, Crovari P. Visceral leishmaniasis in Liguria, Italy. *Lancet* 1998; 351: 1136.
9. Gradoni L, Scalone A, Gramiccia M, Troiani M. Epidemiological surveillance of leishmaniasis in HIV-1-infected individuals in Italy. *AIDS* 1996; 10: 785-791. [Viene riportato che nelle aree endemiche di leishmaniosi l'incidenza di leishmaniosi viscerale in soggetti HIV positivi è 500 volte maggiore di quella nei soggetti HIV negativi]
10. Gradoni L, Pizzuti R, Scalone A, Russo M., Gramiccia M, di Martino L, Pempinello R, Gaeta GB. Recrudescence of visceral leishmaniasis unrelated to HIV infection in the Campania region of Italy. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1996; 90: 234-235.
11. Gramiccia M, Ludovisi A, Mancianti F, Poli A, Mignone W. *Leishmania infantum* detection by PCR in *Vulpes vulpes* in Liguria region. *Parassitologia* 2000; 42 (1): 115.
12. Maroli M, Khoury C. Leishmaniasis vectors in Italy. *G Ital Med Trop* 1998; 3: 67-72. [Viene fatta un'ampia rassegna delle specie di flebotomi presenti in Italia e di quelle incriminate come vettori di leishmaniosi]
13. Maroli M, Khoury C, Bianchi R, Ferroglio E, Natale A. Recent findings of *Phlebotomus neglectus* Tonnoir, 1921 in Italy and its western limit of distribution. *Parassitologia* 2002; 44: 103-109.

14. Poglayen G, Marangon S, Manca MG, Capelli G, Dalla Pozza M, Casati D, Vantini E, Bressa G, Passarini G. A new outbreak of canine leishmaniosis in the North-East of Italy. Proceedings of Ist World Congress on Leishmaniosis, Istanbul, May 5-9 1997. *Acta Parasitol Turcica* 1997; 21: 143.
15. Poli A, Abramo F, Barsotti P, Leva S, Gramiccia M., Ludovisi A, Mancianti F. Feline leishmaniosis due to *Leishmania infantum* in Italy. *Vet Parasitol* 2002; 106: 181-191.
16. Rossi L, Ferroglio E, Guiso P, Ferrasi P, Pancaldi P. Segnalazione di un focolaio di leishmaniosi canina sulla collina torinese. *Med Vet Prev* 1999; 20: 20.
17. Zaffaroni E, Rubaudo L, Lanfranchi P, Mignone W. Epidemiological patterns of canine leishmaniosis in Western Liguria (Italy). *Vet Parasitol* 1999; 81:11-19.

Argomenti epidemiologici di interesse generale

18. Courtenay O, Quinnell RJ, Garcez LM, Shaw JJ, Dye C. Infectiousness in a cohort of Brazilian dogs: why culling fails to control visceral leishmaniasis in areas of high transmission. *J Infect Dis* 2002; 186: 1314-1320. [Viene valutato il potenziale infettante di cani infetti in uno studio prospettico nel Nuovo Mondo. L'infettività verso i flebotomi risulta associata alla sieroconversione ed aumenta con il titolo anticorpale, la presenza di segni clinici e la positività alla PCR del midollo osseo]
19. del Giudice P, Mary-Krause M, Pradier C, Grabar S, Dellamonica P, Marty P, Gastaut JA, Costagliola D, Rosenthal E; French Hospital Database on HIV Clinical Epidemiologic Group. Impact of highly active antiretroviral therapy on the incidence of visceral leishmaniasis in a French cohort of patients infected with human immunodeficiency virus. *J Infect Dis* 2002; 186: 1366-1370. [Viene dimostrato l'impatto significativo delle terapie HAART sulla riduzione dei casi di leishmaniosi viscerale nei soggetti HIV positivi]
20. Gradoni L. An update on antileishmanial vaccine candidates and prospects for a canine *Leishmania* vaccine. *Vet Parasitol* 2001; 100: 87-103. [Viene fatto il punto sul progresso dei vaccini anti-leishmania. Nonostante vi siano prodotti candidati promettenti, si è ancora lontani dallo sviluppo di un prodotto efficace]
21. Gradoni L, Maroli M, Gramiccia M, Mancianti F. *Leishmania infantum* infection rates in *Phlebotomus perniciosus* fed on naturally infected dogs under antimonial treatment. *Med Vet Entomol* 1987; 1: 339-342. [Viene fornita la prima evidenza che cani sottoposti a terapia con antimoniali mostrano una brusca riduzione di infettività per i vettori]
22. Gramiccia M, Gradoni L, Di Martino L, Romano L, Ercolini D. Two syntopic zymodemes of *Leishmania infantum* cause human and canine visceral leishmaniasis in the Naples area, Italy. *Acta Tropica* 1992; 50: 357-359.
23. Gramiccia M. Le leishmaniosi del Vecchio Mondo. *Ann Ist Sup Sanità* 1997; 33: 231-239.
24. Molina R, Amela C, Nieto J, San-Andres M, Gonzalez F, Castillo JA, Lucientes J, Alvar J. Infectivity of dogs naturally infected with *Leishmania infantum* to colonized *Phlebotomus perniciosus*. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1994; 88: 491-493. [Viene fornita la prima evidenza che cani clinicamente sani possono essere infettanti per i vettori]

Diagnostica clinica e di laboratorio

25. Bulle B, Millon L, Bart JM, Gállego M, Gambarelli F, Portús M, Schnur L, Jaffe CL. Practical approach for typing strains of *Leishmania infantum* by microsatellite analysis. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 3391-3397

26. Catone G, Marino G, Poglayen G, Gramiccia M, Ludovisi A, Zanghi A.. Canine transmissible venereal tumour parasitized by *Leishmania infantum*. *Vet Res Commun* 2003; 27: 549-553.
27. Ciaramella P, Oliva G, De Luna R, Gradoni L, Ambrosio R, Cortese L, Scalone A, Persechino A. A retrospective clinical study of canine leishmaniasis in 150 dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. *Vet Parasitol* 1997; 141: 539-543.
28. Cruz I, Canavate C, Rubio JM, Morales MA, Chicharro C, Laguna F, Jimenez-Mejias M, Sirera G, Videla S, Alvar J and the Spanish HIV-Leishmania Study Group. A nested polymerase chain reaction (Ln-PCR) for diagnosing and monitoring *Leishmania infantum* infection in patients co-infected with human immunodeficiency virus. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2002; 96 (1): S185-9. [Viene evidenziata l'efficacia diagnostica di una nested PCR che utilizza come sequenza target DNA genomico ribosomale, in pazienti HIV positivi]
29. Fisa R, Riera C, Gallego M, Manubens J, Portus M. Nested PCR for diagnosis of canine leishmaniasis in peripheral blood, lymph node and bone marrow aspirates. *Vet Parasitol* 2001; 99: 105-111.
30. Gradoni L, Gramiccia M. Leishmaniosis. In: *Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines* (4th Ed.) Office International des Epizooties 2000. p. 803-812 [Vengono elencate e commentate le tecniche correnti per la diagnosi di laboratorio della leishmaniosi canina. Viene inoltre riportato in dettaglio il protocollo standard dell'immunofluorescenza indiretta]
31. Gramiccia M, Ludovisi A, Nardoni S, Di Muccio T, Mancianti F. PCR and Nested PCR for diagnosis of canine leishmaniasis in peripheral blood from dogs living in endemic areas of Italy. *J Eukaryot Microbiol* 2003; 50: 36A. [Viene evidenziata l'efficacia diagnostica di una nested PCR che utilizza come sequenza target DNA genomico ribosomale in cani infetti]
32. Gramiccia M, Smith DF, Angelici MC, Ready PD, Gradoni L. A kinetoplast DNA probe diagnostic for *Leishmania infantum*. *Parasitology* 1992; 105: 29-34
33. Headington CE, Barbara CH, Lambson BE, Hart DT, Barker DC. Diagnosis of leishmaniasis in Maltese dogs with the aid of the polymerase chain reaction. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2002; 96 (1): S195-S197
34. Iniesta L, Fernandez-Barredo S, Bulle B, Gomez MT, Piarroux R, Gallego M, Alunda JM, Portus M. Diagnostic techniques to detect cryptic leishmaniasis in dogs. *Clin Diagn Lab Immunol* 2002; 9: 1137-1141
35. Koutinas AF, Polizopoulou ZS, Saridomichelakis MN, Argyladis D, Fytianou A, Plevraki K.G. Clinical considerations on canine visceral leishmaniosis in Greece: a retrospective study of 158 cases (1989-1996). *J Am Anim Hosp Assoc* 1999; 376-383.
36. Lachaud L, Chabbert E, Dubessay P, Lamothe J, Dedet J-P, Bastien P. Value of two PCR methods for the diagnosis of canine visceral leishmaniasis and the detection of asymptomatic carriers. *Parasitology* 2002b; 125: 197-207 [Vengono raccomandate due diverse sequenze target di DNA per l'amplificazione in PCR a seconda del tipo di campione e dello stadio clinico dei soggetti per indagini da campo sulla leishmaniosi canina]
37. Lachaud L, Marchergui-Hammami S, Chabbert E, Dereure J, Dedet J.-P, Bastien P. Comparison of six PCR methods using peripheral blood for detection of canine visceral leishmaniasis. *J Clin Microbiol* 2002a; 40: 210-215. [Viene comparata l'efficacia diagnostica di sequenze target genomiche o del kinetoplasto di *Leishmania* nell'identificazione di forme asintomatiche e sintomatiche di leishmaniosi canina]
38. Le Fichoux Y, Quaranta JF, Aufeuve JP, Lelievre A, Marty P, Suffia I, Rousseau D, Kubar J. Occurrence of *Leishmania infantum* parasitemia in asymptomatic blood donors living in an area of endemicity in southern France. *J Clin Microbiol* 1999; 37(6): 1953-1957.
39. Leontides LS, Saridomichelakis MN, Billinis C, Kontos V, Koutinas AF, Galatos AD, Mylonakis ME. A cross-sectional study of *Leishmania* spp. infection in clinically healthy dogs with polymerase chain reaction and serology in Greece. *Vet Parasitol* 2002; 109: 19-27

40. Mancianti F, Nardoni S, Melosi M. Evaluation of the effectiveness of commercial immunomigration tests in the diagnosis of canine leishmaniasis. *Parassitologia* 2002; 44 (1): 99. [Viene dimostrata la scarsa affidabilità diagnostica di kit immunocromatografici rapidi disponibili in commercio in Italia]
41. Mancianti F, Pedonese F, Poli A. Evaluation of dot-enzyme linked immunosorbent assay (dot-ELISA) for the serodiagnosis of canine leishmaniasis as compared with indirect immunofluorescence assay. *Vet Parasitol* 1996; 65: 1-9 [Vengono dimostrati elevati valori di sensibilità e potere predittivo della tecnica di dot-ELISA]
42. Martin-Sanchez J, Lopez-Lopez MC, Acedo-Sanchez C, Castro-Fajardo JJ, Pineda JA, Morillas Marquez F. Diagnosis of infections with *Leishmania infantum* using PCR -ELISA. *Parasitology* 2001; 122: 607-615. [Viene riportata l'elevata sensibilità della tecnica di PCR-ELISA per la diagnosi di infezione nel cane]
43. Minodier P, Piarroux R, Gambarelli F, Joblet C, Dumon H. Rapid identification of causative species in patients with Old World leishmaniasis. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 2551-2555
44. Piarroux R, Azaiez R, Lossi AM, Reynier P, Muscatelli F, Gambarelli F, Fontes M, Dumon H, Quilici M. Isolation and characterization of a repetitive DNA sequence from *Leishmania infantum*: development of a visceral leishmaniasis polymerase chain reaction. *Am J Trop Med Hyg* 1993; 49(3): 364-369.
45. Piarroux R, Fontes M, Perasso R, Gambarelli F, Joblet C, Dumon H, Quilici M. Phylogenetic relationships between Old World *Leishmania* strains revealed by analysis of a repetitive DNA sequence. *Mol Biochem Parasitol* 1995; 73(1-2): 249-252.
46. Quinnell RJ, Courtenay O, Davidson S, Garcez L, Lambson B, Ramos P, Shaw JJ, Shaw MA, Dye C. Detection of *Leishmania infantum* by PCR, serology and cellular immune response in a cohort study of Brazilian dogs. *Parasitology* 2001; 122: 253-261. [Vengono comparate diverse tecniche diagnostiche in uno studio prospettico nel Nuovo Mondo. La sensibilità della sierologia è bassa nelle fasi precoci d'infezione, mentre quella della PCR è molto elevata. Nel progredire dell'infezione la sierologia supera in sensibilità la PCR; nell'arco di tre anni tutti i cani infetti sierocorrono]
47. Ravel S, Cuny G, Reynes J, Veas F. () A highly sensitive and rapid procedure for direct PCR detection of *Leishmania infantum* within human peripheral blood mononuclear cells. *Acta Tropica* 1995; 59(3): 187-196.
48. Reale S, Maxia L, Vitale F, Glorioso S, Caracappa S, Vesco G. Detection of *Leishmania infantum* in dogs by PCR with lymph node aspirates and blood. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 2931-2935. [Viene presentata una tecnica PCR che usa una sequenza target del kinetoplasto di *Leishmania* e che si mostra molto più sensibile della microscopia e della sierologia per la diagnosi dell'infezione nel cane]
49. Rodgers MR, Popper SJ, Wirth DF. Amplification of kinetoplast DNA as a tool in the detection and diagnosis of *Leishmania*. *Exp Parasitol* 1990; 71: 267-275
50. Scalone A, De Luna R, Oliva G, Baldi L, Satta G, Vesco G, Mignone W, Turilli C, Mondesire RR, Simpson D, Donoghue AR, Frank GR, Gradoni L. Evaluation of the *Leishmania* recombinant K39 antigen as a diagnostic marker for canine leishmaniasis and validation of a standardized enzyme-linked immunosorbent assay. *Vet Parasitol* 2002; 104: 275-285. [Viene dimostrata l'efficacia diagnostica di una tecnica ELISA con antigene ricombinante, attraverso uno studio multicentrico italiano e con l'esame di oltre 6.300 soggetti]
51. Smith AJ, Ghosh A, Hassan MQ, Basu D, De Bruijn MHL, Adhya S, Mallik KK, Barker DC. Rapid and sensitive detection of *Leishmania* kinetoplast DNA from spleen and blood samples of kala-azar patients. *Parasitology* 1992; 105: 183-192

52. Solano-Gallego L, Morell P, Arboix M, Alberola J, Ferrer. Prevalence of *Leishmania infantum* infection in dogs living in an area of canine leishmaniasis endemicity using PCR on several tissues and serology. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 560-563
53. van Eys GJJM, Schoone GJ, Kroon NCM, Ebeling SB. Sequence analysis of small subunit ribosomal RNA genes and its use for detection and identification of *Leishmania* parasites. *Mol Biochem Parasitol* 1992; 51: 133-142

Terapia dell'uomo e del cane

54. Davidson RN, di Martino L, Gradoni L, Giacchino R, Gaeta GB, Pempinello R, Scotti S, Cascio A, Castagnola E, Maisto A, Gramiccia M, di Caprio D, Wilkinson RJ, Bryceson AD. Short-course treatment of visceral leishmaniasis with liposomal amphotericin B (AmBisome). *Clin Infect Dis* 1996; 22: 938-943. [Viene riportata l'elevata efficacia in terapia umana dell'amfotericina B liposomiale in uno studio multicentrico italiano]
55. Denerolle P, Bourdoiseau G. Combination allopurinol and antimony treatment versus antimony alone and allopurinol alone in the treatment of canine leishmaniasis (96 cases). *J Vet Intern Med* 1999; 13: 413-415. [Viene dimostrata la superiorità dell'associazione antimonio-allopurinolo nei confronti dei due farmaci in monoterapia per la remissione dei segni clinici in cani sintomatici]
56. Gradoni L, Gramiccia M, Scalone A. Visceral leishmaniasis treatment, Italy. *Emerg Infect Dis* 2003; 9: 1617-1620 [Vengono riportati i risultati di uno studio retrospettivo di farmacovigilanza, che dimostrano il rapido cambiamento nella terapia della leishmaniosi viscerale umana in Italia negli ultimi anni (da antimonio a amfotericina B)]

Prevenzione e lotta contro i flebotomi

57. Alexander B, Maroli M. Control of phlebotomine sand flies. *Med Vet Entomol* 2003; 17: 1-18. [Viene fatta una rassegna delle metodiche disponibili per il controllo dei flebotomi vettori a livello mondiale]
58. Asher F, Alves-Pires C, Campos C, Capela MJ, Aguiar P. Protective effect of a permethrin + pyriproxyfen spray against *Phlebotomus perniciosus* bite. Proceedings of IX International Congress of Parasitology, Japan August 24-28 1998. Monduzzi Editore 1998. p. 1039 – 1042.
59. David JR, Stamm LM, Bezerra HS, Nonato de Souza R, Killick-Kendrick R, Oliveira-Lima JW. Deltamethrin-impregnated dog collars have a potent anti-feeding and insecticidal effect on *Lutzomyia longipalpis* and *Lutzomyia migonei*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2001; 96: 839-847. [Vengono riportati i risultati di un complesso deltametrina/trifenilfosfato per applicazione tramite collare ad elevato effetto protettivo e letale della durata di oltre 8 mesi, nei confronti di due vettori del Nuovo Mondo]
60. Giffoni JH, de Almeida CEC, dos Santos SO, Ortega VS, de Barros ATM. Evaluation of 65% permethrin spot-on for prevention of canine visceral leishmaniasis: effect on disease prevalence and the vectors (Diptera: Psychodidae) in a hyperendemic area. *Vet Ther* 2002; 3: 485-492. [Vengono riportati i risultati sul campo di una specialità a base di permectrina 65% per applicazione topica ad elevato effetto protettivo e letale della durata di quattro settimane, nei confronti di vettori del Nuovo Mondo]
61. Halbing P, Hodjati MH, Mazloumi-Gavani AS, Morite H, Davies CR. Further evidence that deltamethrin-impregnated collars protect domestic dogs from sandfly bites. *Med Vet Entomol* 2000; 14: 223-226.
62. Killick-Kendrick R, Killick-Kendrick M, Focheux C, Dereure J, Puech M-P, Cadiergues MC. Protection of dogs from bites of phlebotomine sandflies by deltamethrin collars for control of

- canine leishmaniasis. *Med Vet Entomol* 1997; 11: 105-111. [Vengono riportati i risultati di uno studio di laboratorio sul complesso deltametrina/trifenilfosfato per applicazione tramite collare, che dimostrano un elevato effetto protettivo e letale della durata di oltre 34 settimane, nei confronti di *Phlebotomus perniciosus*]
63. Lucientes J. Laboratori observations on the protection of dogs from the bites of *Phlebotomus perniciosus* with Scalibor® Protector Bands: preliminary results. In: Killick-Kendrick R (Ed.). *Canine Leishmaniasis: an update*. Wiesbaden: Hoechst Roussel Vet; 1999. p. 92-94.
 64. Maroli M, Mizzoni V, Siragusa C, D'Orazi A, Gradoni L. Evidence for an impact on the incidence of canine leishmaniasis by the mass use of deltamethrin-impregnated dog collars in southern Italy. *Med Vet Entomol* 2001; 15: 358-363. [Vengono riportati i risultati di uno studio di campo (Comuni vesuviani) sul complesso deltametrina/trifenilfosfato per applicazione tramite collare, che dimostrano una riduzione di incidenza di leishmaniosi canina del 86% nell'arco di due anni]
 65. Maroli M, Mizzoni V, Baldi, Oliva G, Gradoni L. The control of canine leishmaniasis with Scalibor® Protector Bands in southern Italy: pilot field studies. Proceedings of the 2nd International Canine Leishmaniasis Forum. Seville (Spain). Intervet International by Boxmeer, The Netherlands, 2002. p. 81-86.
 66. Mazloumi Gavvani AS, Hodjati MH, Mohite H, Davies CR. Effect of insecticide-impregnated dog collars on incidence of zoonotic visceral leishmaniasis in Iranian children: a matched-cluster randomised trial. *Lancet* 2002; 360: 374-379. [Viene dimostrata una riduzione significativa dell'incidenza di leishmaniosi viscerale infantile dopo l'applicazione alla popolazione canina di collari impregnati con deltametrina/trifenilfosfato]
 67. Mencke N, Volf P, Volfova V, Stanneck D. Repellent efficacy of a combination containing imidacloprid and permethrin against sand flies (*Phlebotomus papatasi*) on dogs. *Parasitol Res* 2003; 90: S108-S111. [Vengono riportati i risultati di uno studio di laboratorio su un'associazione permetrina/imidacloprid per applicazione topica, ad elevato effetto protettivo e letale della durata di due settimane]
 68. Mercier P, Jasmin P, Sanquer A. Prevention of sandfly attack by topical application of a permethrin/pyriproxyfen combination on dogs. *Vet Ther* 2003; 4: 309-316. [Vengono riportati i risultati di uno studio di laboratorio su un'associazione permetrina/piriproxifene per applicazione topica, ad elevato effetto protettivo e letale della durata di tre-quattro settimane]
 69. Molina R, Lohse JM, Nieto J. Evaluation of a tropical solution containing 65% permethrin against the sandfly (*Phlebotomus perniciosus*) in dogs. *Vet Ther* 2001; 2: 261-267. [Vengono riportati i risultati di uno studio di laboratorio su una specialità a base di permetrina 65% per applicazione topica, ad elevato effetto protettivo e letale della durata di quattro settimane]
 70. Oliveira-Lima JW, Nonato de Souza R, Teixeira MJ, Pompeu M, Killick-Kendrick R, David JR. Preliminary results of a field trial to evaluate deltamethrin-impregnated collars for the control of canine leishmaniasis in northeast Brazil. Proceedings of the 2nd International Canine Leishmaniasis Forum Seville (Spain). Intervet International by Boxmeer, The Netherlands 2002. p. 91-95.
 71. Reithinger R, Coleman PG, Alexander B, Vieira EP, Assis G, Davies CR. Are insecticide-impregnated dog collars a feasible alternative to dog culling as a strategy for controlling canine visceral leishmaniasis in Brazil? *Int J Parasitol* 2004; 34: 55-62. [Vengono riportati i risultati di uno studio di campo (Nuovo Mondo) sul complesso deltametrina/trifenilfosfato per applicazione tramite collare, che dimostrano una riduzione di incidenza di leishmaniosi canina del 50% nell'arco di cinque mesi]
 72. Reithinger R, Teodoro U, Davies CR. Topical insecticide treatments to protect dogs from sand fly vectors of leishmaniasis. *Emerg Infect Dis* 2001; 7: 872-876.

APPENDICE

Istituzioni e numero di partecipanti al Convegno Consenso

AZIENDE SANITARIE LOCALI
(in ordine alfabetico per città di provenienza)

Aziende Sanitarie Locali	Città	N. di partecipanti
ASL SA 3, Agropoli	Agropoli (SA)	1
ASL 20, Alessandria	Alessandria	2
ASL Valle d'Aosta	Aosta	1
ASUR, Ascoli Piceno	Ascoli Piceno	1
ASL 13, Ascoli Piceno	Ascoli Piceno	2
ASL 19, Asti	Asti	3
ASL BA 4, Bari	Bari	1
ASL BA 3, Bari	Bari	1
ASL 12, Biella	Biella	1
ASL 1, Imperiese	Bussana San Remo (IM)	1
ASL CE 1, Distretto 32 Caiazzo	Caiazzo (CE)	1
ASL SA 3 Vallo della Lucania	Capaccio Scalo (SA)	1
ASL CE 1, Distretto 33 Marciano	Caserta	1
ASL CE 1, Dipartimento di prevenzione	Caserta	1
ASL Latina	Cisterna di Latina (LT)	1
ASL 1, Perugia	Città di Castello (PG)	2
ASL 8 Arezzo	Cortona (AR)	1
ASL 10 Firenze	Firenze	2
ASL FR 3, Frosinone	Frosinone	1
ASL 3, Lagonegro	Lagonegro (PZ)	2
ASL Modena	Modena	1
ASL 8, Chieri	Moncalieri (TO)	1
ASL RM G, Roma	Monterotondo (RM)	2
ASL NA 2 Distretto 57, Ischia	Monterusciello (NA)	1
ASL NA 1, Napoli	Napoli	3
ASL NA 2, Napoli	Napoli	1
ASL NA 4, Napoli	Napoli	1
ASL NA 4, Nola	Nola (NA)	1
ASL 3 Umbria	Norcia (PG)	1
ASL 6, Palermo	Palermo	1
ASL 5, Pisa	Pisa	1
ASL 3, Pistoia	Pistoia	1
ASL NA 5, Pompei	Pompei (NA)	4
ASL 2, Potenza	Potenza	1
ASL NA 2, Napoli	Quarto (NA)	2
ASL RA, Ravenna	Ravenna	1
ASL RM A, Roma	Roma	2
ASL RM B, Roma	Roma	2
ASL RM D, Roma	Roma	7
ASL Bologna	San Giovanni in Persiceto (BO)	1
ASL Bologna	San Lazzaro di Savena (BO)	1
ASL 6 Sanluri	Sanluri (CA)	2
ASL BA 3, Altamura	Santeramo in Colle (BA)	1
ASL Latina, Comprensorio Meridionale	Santi Cosma e Damiano (LT)	1
ASL Modena	Sassuolo (MO)	1
ASL Viterbo	Tarquinia (VT)	1
ASL RM G, Roma	Tivoli (RM)	1
ASL 7 Zona Val di Chiana, Siena	Torrita di Siena (SI)	1
ASL SA 3, Salerno	Vallo della Lucania (SA)	1
Istituto Sicurezza Sociale	Repubblica di San Marino	1
Totale		73

ISTITUTI ZOOPROFILATTICI SPERIMENTALI
(in ordine alfabetico per città di provenienza)

Istituti Zooprofilattici Sperimentali (IZS)	Città	N. di parteci panti
IZS del Lazio e Toscana	Firenze	2
IZS della Puglia e Basilicata	Foggia	1
IZS del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta	Imperia	1
IZS delle Venezie	Legnaro (PD)	2
IZS della Sicilia "A Mirri"	Palermo	2
IZS dell'Umbria e delle Marche	Perugia	1
IZS del Mezzogiorno	Portici (NA)	1
IZS della Lombardia ed Emilia Romagna	Reggio Emilia	1
IZS del Lazio e Toscana	Roma	5
IZS della Sardegna "G. Pegreffi"	Sassari	1
IZS dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale"	Teramo	8
Totale		25

FACOLTÀ DI MEDICINA VETERINARIA
(in ordine alfabetico per città di provenienza)

Facoltà di Medicina Veterinaria	Città	N. di partecipanti
Università degli Studi di Camerino	Camerino	4
Università degli Studi di Milano	Milano	1
Università degli Studi di Napoli	Napoli	2
Università degli Studi di Bologna	Ozzano dell'Emilia (BO)	2
Università degli Studi di Parma	Parma	1
Università degli Studi di Pisa	Pisa	2
Università degli Studi di Torino	Torino	2
Totale		14

FACOLTÀ DI SCIENZE E MEDICINA
(in ordine alfabetico per città di provenienza)

Facoltà di Scienze e Medicina	Città	N. di partecipanti
Università degli Studi di Roma "La Sapienza"	Roma	2
Università degli Studi di Roma "Tor Vergata"	Roma	4
Totale		6

ALTRO
(in ordine alfabetico per città di provenienza)

Altro	Città	N. di partecipanti
Regione Molise	Campobasso	1
Arma dei Carabinieri	Messina	1
Istituto Superiore di Sanità	Roma	15
Regione Veneto	Venezia	1
Totale		18

*La riproduzione parziale o totale dei Rapporti e Congressi ISTISAN
deve essere preventivamente autorizzata.*

*Stampato da Ditta Grafiche Chicca & C. snc
Via di Villa Braschi 143, 00019 Tivoli (Roma)*

Roma, giugno 2004 (n. 2) 5° Suppl.