



**scivac**  
SOCIETÀ CULTURALE ITALIANA  
VETERINARI PER ANIMALI DA COMPAGNIA  
SOCIETÀ FEDERATA ANMVI

in collaborazione con



# scivac

56° CONGRESSO INTERNAZIONALE MULTISALA

Estratti relazioni  
Comunicazioni brevi  
Poster

organizzato da  certificata ISO 9001:2000 

**RIMINI 1-3 GIUGNO 2007**  
**PALACONGRESSI DELLA RIVIERA DI RIMINI**





# Efficacia di un'associazione 10% imidacloprid/ 50% permetrina per la prevenzione della leishmaniosi canina in aree endemiche

**Domenico Otranto**

Med Vet, PhD, Dipl EVPC, Fellow R.E.S., Bari

**Paola Paradies**, Med Vet, PhD, Bari

**Riccardo Paolo Lia**, Med Vet, PhD, Bari

**Maria Stefania Latrofa**, BSci, Bari

**Gabriella Testini**, BSci, PhD, Bari

**Cinzia Cantacessi**, Med Vet, Bari

**Norbert Mencke**, DVM, PhD, Leverkusen, Germany

**Gianluca Galli**, Med Vet, Milano

**Gioia Capelli**, Med Vet, PhD, Legnaro (PD)

**Dorothee Stanneck**, DVM, PhD, Leverkusen, Germany



## 1. INTRODUZIONE

L'importanza della leishmaniosi canina (CanL) è aumentata nell'ultimo decennio soprattutto in considerazione del suo potenziale zoonosico<sup>1</sup>. Nel cane la leishmaniosi è caratterizzata da un ampio ventaglio di segni clinici da forme asintomatiche fino a quadri clinici gravi e spesso fatali<sup>2,3,4</sup>. La trasmissione di *Leishmania* spp. avviene quando i flebotomi vettori si alimentano su cani infetti sintomatici e asintomatici<sup>5</sup>. Focolai endemici di CanL sono stati registrati nei cani del Centro e Sud Italia, isole comprese<sup>3,6,7,8,9</sup> e, recentemente, nuovi focolai sono stati riportati nelle regioni del Nord-Est Italia<sup>10</sup>. La prevalenza della malattia nei cani varia da 1.7 al 48.4%<sup>6</sup> e, in un recente lavoro condotto in un'area endemica in Puglia, è stata riportata un'incidenza annuale del 9.52% fino al 13.1% (in cani di canile)<sup>9</sup>.

La prevenzione delle punture dei flebotomi è una strategia efficace per ridurre il rischio di leishmaniosi. Gli organocloridati (DDT e BHC) sono stati molto efficaci nel ridurre la popolazione di flebotomi in Brasile<sup>11</sup> e India<sup>12</sup> ma i problemi correlati alla loro alta tossicità, agli effetti collaterali, alla resistenza e all'inquinamento ambientale ne hanno progressivamente ridotto l'impiego<sup>13</sup>. Inoltre, il limite maggiore dell'impiego di insetticidi nell'ambiente consiste nel fatto che i siti di riposo e riproduzione dei flebotomi sono spesso poco accessibili e difficilmente raggiungibili dalle molecole disperse nell'ambiente<sup>14</sup>. L'impiego di collari impregnati di deltametrina ha fatto registrare percentuali di efficacia per il controllo della CanL in aree endemiche del 50 e del 86% dopo due stagioni consecutive<sup>15</sup>.

Recentemente, un'associazione di imidacloprid 10% e permetrina 50% -ImPer- (Advantix<sup>®</sup>; Bayer AG, Germany) spot-on è stata sviluppata per il trattamento e la profilassi

delle infestazioni da zecche e pulci e contro le punture di zanzare e flebotomi<sup>16</sup>. L'attività repellente e insetticida dell'ImPer contro le punture di *Phlebotomus papatasi*, *Phlebotomus perniciosus* e *Lutzomyia longipalpis* è stata valutata in laboratorio<sup>17</sup>.

L'obiettivo del presente lavoro è stato quello di valutare, in condizioni naturali, l'efficacia dell'associazione 10% w/v imidacloprid/ 50% w/v permetrina spot-on (ImPer) come misura di controllo per prevenire la CanL nei cani in aree endemiche del Sud Italia.

## 2. MATERIALI E METODI

La prova è stata condotta da Febbraio 2005 ad Aprile 2006 su cani di due canili situati in aree endemiche per leishmaniosi canina (i.e. Bari -KB- prevalenza stimata di CanL del 20% e Ginosa -KG- 17%)<sup>9</sup>.

Sono stati formati tre gruppi di animali in entrambi i canili: Gruppo A - cani trattati con ImPer al giorno 0 e ogni 28 ± 2 giorni; Gruppo B - cani trattati con ImPer al giorno 0 e ogni 14 ± 2 giorni; Gruppo C - cani controllo non trattati.

Da Gennaio a Febbraio 2005, prima dell'inizio dello studio e in assenza di flebotomi<sup>18,19</sup>, 845 animali asintomatici di entrambi i sessi e di età e razze differenti sono stati sierologicamente testati per la ricerca di anticorpi anti-*Leishmania*<sup>20</sup>. I cani potenzialmente idonei sono stati identificati e i dati anamnestici registrati su schede singole. Nel Marzo 2005, sui cani sieronegativi sono stati inoltre effettuati esami per la ricerca parassitologica di *L. infantum* mediante osservazione citologica del puntato linfonodale<sup>21</sup> e PCR<sup>22</sup> su biopsia cutanea. Gli animali negativi all'esame sierologico e parassitologico sono stati quindi inclusi nella sperimentazione.



I cani inclusi sono stati ulteriormente testati in Novembre 2005 e Marzo 2006 dopo la stagione estiva. In particolare, il test sierologico, la PCR su biopsia cutanea e l'esame del puntato linfonodale sono stati effettuati all'inizio e alla fine dello studio (Marzo 2005, Marzo 2006), mentre il test sierologico e la PCR su biopsia cutanea nel Novembre 2005.

Il trattamento con ImPer spot-on è stato effettuato da Aprile (giorno 0) a Novembre 2005 (fine della stagione dei flebotomi) per i Gruppi A e B in entrambi i canili. Gli animali sono stati mantenuti nelle medesime condizioni prima, durante e dopo lo studio. L'impiego di qualsiasi altro prodotto contro gli insetti sugli animali o nell'ambiente non è stato permesso durante la stagione dei flebotomi.

Da Aprile a Novembre 2005, la popolazione dei flebotomi è stata monitorata mediante trappole adesive (30 x 21cm) impregnate con castor oil posizionate per 24 ore due volte al mese fino alla prima cattura e successivamente una volta alla settimana fino all'ultima cattura. I flebotomi sono stati contattati e identificati a livello di specie sulla base di chiavi morfologiche<sup>23</sup>.

La grandezza minima del campione di animali (n=83) è stata calcolata<sup>24</sup> assumendo i seguenti parametri:

- Massimo numero aspettato di animali malati non- esposti (i.e. animali trattati) = 5%
- Minimo rischio relativo significativo (RR) RR = 4
- Potere del test = 85%
- Livello di confidenza = 95%.

I cani che vivevano nella stessa gabbia sono stati assegnati allo stesso gruppo. Le gabbie sono state numerate e tre serie di numeri random sono state generate dal computer. Ad ogni selezione random l'omogeneità dei tre gruppi in relazione ai dati epidemiologici dei cani è stata valutata mediante test del chi- quadrato.

L'incidenza dell'infezione è stata calcolata mediante incidence density rate (IDR)<sup>25</sup> in corrispondenza di ogni follow-up. I cani testati una sola volta non hanno contribuito al calcolo dell'incidenza. Le differenze tra le IDR nei Gruppi A, B e C sono state calcolate mediante test di Yates' corrected  $\chi^2$ . I calcoli statistici sono stati effettuati mediante foglio Excel e programmi di statistica SPSS e WinEpiscope 2.0.

L'efficacia repellente è stata espressa in termini di percentuale di protezione contro l'infezione da *Leishmania* al termine della stagione dei flebotomi utilizzando la formula seguente:

$$\% \text{ di protezione} = (\% \text{ di animali positivi nel gruppo controllo} - \% \text{ di animali positivi nel gruppo trattato} / \% \text{ di animali positivi nel gruppo controllo}) \times 100.$$

I cani sono stati considerati positivi quando positivi ad uno dei tre test effettuati (i.e. test sierologico e/o parassitologici).

### 3. RISULTATI

Di 845 cani asintomatici inizialmente testati (i.e. 416 dal KB e 429 dal KG), 208 (24.6%) presentavano anticorpi anti-*Leishmania* (prevalenza relativa del 23.3% in KB e 25.9% in KG). Sette cani sono stati esclusi dalla prova prima del primo trattamento. I rimanenti cani sono stati inclusi in tre gruppi omogenei ( $P < 0.05$ ). La prevalenza dei cani sieropo-

sitivi esclusi dallo studio ma mantenuti nelle stesse gabbie dei cani inclusi è stata del 22% (Gruppo A), 16.5% (B) e 18.5% (C) nel canile KB e 24% (A), 28.5% (B) e 20.3% (C) nel canile KG.

In KB l'infezione da *Leishmania* è stata registrata in un animale del Gruppo A e 9 nel Gruppo C. Nel Gruppo B non è stato registrato nessun animale positivo con un'efficacia di protezione dell'ImPer del 88.9% nel Gruppo A e 100% nel Gruppo B. Nel canile KG, l'infezione da *Leishmania* è stata registrata in un animale del Gruppo A, uno del Gruppo B e 11 del Gruppo C, con un'efficacia di protezione dell'ImPer del 90.36% nel Gruppo A e 90.73% nel Gruppo B.

I flebotomi sono stati catturati per la prima volta all'inizio di Giugno 2005 in KB e KG, mentre l'ultima cattura è stata effettuata a metà Ottobre. *Phlebotomus perniciosus* è stata la specie più frequentemente identificata (58.6%) con 195 esemplari catturati in KB e 148 in KG.

### 4. DISCUSSIONE

I risultati dimostrano che l'associazione 10% imidacloprid/50% permetrina in formulazione spot-on, grazie alla sua attività repellente nei confronti dei flebotomi, è efficace nel prevenire la CanL in condizioni naturali in aree endemiche. Entrambi i regimi di applicazione hanno mostrato un'alta efficacia di protezione dalle punture dei flebotomi. Le IDR registrate in entrambi i gruppi A e B sono state significativamente più basse di quelle registrate nel Gruppo C in entrambi i canili (KB  $p < 0.05$  e KG  $p < 0.01$ ).

Il presente lavoro rappresenta il primo studio effettuato per la valutazione dell'efficacia di ImPer contro i flebotomi in condizioni naturali. In uno studio precedente è stata verificata una protezione nei confronti della CanL del 50% e 86% in animali con collari impregnati di deltametrina e presenti in un'area del Sud Italia<sup>15</sup>. La vasta area da cui i cani inclusi provenivano e il fatto che l'infezione da *L. infantum* è stata valutata esclusivamente attraverso la sieroconversione nei confronti di *L. infantum* alla fine della stagione dei flebotomi possono aver condizionato lo studio condotto sugli animali trattati con i collari<sup>15</sup>. Infatti, considerato che il periodo d'incubazione della CanL in aree endemiche può essere variabile (3 mesi -7 anni<sup>26</sup>), i cani infetti potrebbero non sieroconvertire immediatamente, risultando quindi in soggetti falso- negativi o falso- positivi.

Nel presente studio dei 23 cani positivi ad uno dei tre test impiegati in Novembre 2005 e/o Marzo 2006, 15 (65%) erano sieronegativi ma positivi all'esame parassitologico. Inoltre, in aree endemiche la positività sierologica e/o parassitologica potrebbe non essere indicativa di malattia ma solo di infezione. Sei dei 16 cani positivi in Novembre 2005 alla PCR sono risultati negativi alla PCR e/o all'esame citologico nel Marzo 2006. Questa incongruenza degli esami diagnostici può essere spiegata con lo sviluppo di una prevalente risposta immunitaria di tipo cellulo-mediata (Th1) che può aver determinato la guarigione dall'infezione di questi cani<sup>27</sup> e rafforza la scelta iniziale di effettuare il massimo numero di screening diagnostici (sierologia e metodi parassitologici).

Inoltre, l'inclusione random delle gabbie (come unità singole) ha permesso di mantenere i cani sotto la stessa pres-



sione parassitaria<sup>28</sup>. L'alto numero di cani infetti o malati di CanL (24.6%) non inclusi nella prova ma rimasti nelle stesse gabbie degli animali inclusi, testimonia il fatto che la pressione parassitaria di *L. infantum* non è variata nonostante la bassa densità relativa della popolazione di flebotomi. Questi risultati confermano l'importanza dei canili come fonti di infezione da *Leishmania* e il rischio per gli uomini di contrarre la malattia soprattutto quando i canili sono localizzati vicino alle aree urbanizzate.

L'efficacia repellente di ImPer contro le punture di *P. papatasi* e *P. perniciosus* è stata dimostrata sperimentalmente<sup>16,17</sup>. Dato che *P. papatasi* e *P. perniciosus* sono le specie più frequentemente identificate nel Mediterraneo e nel Medio Oriente, la prevenzione delle loro punture fornisce un'adeguata protezione dalla CanL. Questo studio conferma che *P. perniciosus* è la specie maggiormente sensibile ai repellenti<sup>29</sup>. Quindi, in aree dove *P. perniciosus* è predominante, l'uso di ImPer può essere altamente efficace nella prevenzione della CanL<sup>29</sup>.

Le misure di prevenzione della CanL hanno incluso eutanasia dei cani sieropositivi<sup>30</sup>, controllo dei flebotomi mediante insetticidi<sup>14</sup> e campagne di vaccinazione<sup>31</sup>. Mentre l'eutanasia è un approccio eticamente inaccettabile, i vaccini, oltre alla non facile reperibilità su larga scala, fanno sor-

gere dubbi riguardo alla loro efficacia nel prevenire la comparsa di sintomi clinici o la reale infezione<sup>31</sup>. Inoltre, è stato dimostrato che le vaccinazione con una poliproteina di *Leishmania* a multi-subunità ricombinante non è efficace nella prevenzione dell'infezione da *Leishmania* e della progressione della malattia nei cani in condizioni di campo<sup>32</sup>.

In conclusione, la protezione del cane verso i flebotomi è il metodo migliore per controllare la diffusione della CanL. Senza dubbio l'attività repellente dell'associazione ImPer contro i flebotomi in condizioni naturali fornisce una promettente prospettiva per la prevenzione della CanL in aree endemiche.

## La bibliografia è reperibile presso l'autore

Indirizzo per la corrispondenza:

Domenico Otranto

Dipartimento di Sanità e Benessere Animale,

Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Bari,

Str. Prov. per Casamassima Km3, 70010 Valenzano (Bari),

Tel/fax: +39 080 4679839

E-mail: d.otranto@veterinaria.uniba.it