

LEISHMANIOSI

La Leishmaniosi è una malattia zoonosica causata da un protozoo appartenente al genere *Leishmania spp.* e trasmessa da un vettore biologico, il *Phlebotomus spp.*, un insetto che assomiglia ad un moscerino, della grandezza di 2-3 mm, comunemente denominato “pappatacio”. I cani costituiscono il principale serbatoio di infezione per l'uomo (Gramiccia *et al.*, 2005).

OSPITI VETTORI

I flebotomi (foto 1) sono ditteri ematofagi appartenenti alla Famiglia *Psychodidae*, sottofamiglia *Phlebotominae*, la quale comprende circa 700 specie aggregabili in cinque generi: *Phlebotomus*, *Sergentomya*, *Warileya*, *Lutzomya*, *Brumptomya*. Ai primi due generi appartengono le otto specie descritte in Italia: *P. perniciosus*, *P. pefiliewi*, *P. mayor*, *P. papatasi*, *P. sergenti*, *P. ariasi*, *P. mascittii* e *S. minuta*. Solo la femmina si nutre di sangue, il quale le è necessario per la maturazione delle uova. I maschi sono glicifagi.

CICLO BIOLOGICO

Leishmania spp. è un protozoo difasico che per completare il ciclo biologico richiede un vettore del genere *Phlebotomus* nel vecchio mondo e *Lutzomyia* nel nuovo mondo e un ospite vertebrato. Il ciclo biologico della *Leishmania infantum* comincia con il pasto di sangue del flebotomo su un cane infetto e l'ingestione della forma aflagellata del protozoo (amastigote); nel suo apparato digerente l'agente patogeno assume la forma flagellata infettiva (promastigote), che viene reinoculata nella cute dell'ospite vertebrato con il pasto successivo, ricominciando così il ciclo. (Kaye e Scott, 2011; Laskay *et al.*, 2003). A seguito della loro liberazione le forme amastigote andranno ad infettare altri macrofagi e con essi, tramite il circolo ematico, diffonderanno principalmente agli organi emolinfopoietici (quali fegato, milza, linfonodi nel midollo osseo) e nella cute, generando un'infezione sistemica. Altri flebotomi assumeranno gli amastigoti con il pasto di sangue infetto, dando così inizio ad un nuovo ciclo (Baneth *et al.*, 2012).

Il sistema immunitario dell'ospite svolge un ruolo fondamentale sia nella evoluzione dell'infezione che sull'efficacia della terapia. Negli animali sensibili alla malattia si riscontra una inefficiente immunità cellulo-mediata ed una elevata produzione di anticorpi non

protettivi, che sono poi causa del danno renale. Nei cani resistenti l'efficienza dell'immunità cellulo-mediata è in grado di circoscrivere l'infezione, impedendo lo sviluppo della malattia clinicamente manifesta. A tutt'oggi, quasi nessuna terapia ha dimostrato di essere in grado di eliminare completamente i parassiti dall'organismo infetto, infatti è frequente una temporanea remissione clinica con successive ricadute dopo la sospensione del farmaco (Baneth *et al.*, 2002). Nel nuovo mondo i cani sono considerati i principali serbatoi di Leishmaniosi viscerale causate da *Leishmania chagasi*; in Brasile è obbligatoria l'eutanasia dei cani positivi; da alcuni studi sono emersi risultati contraddittori nell'eliminazione di cani infetti come metodo di profilassi, spingendo la ricerca alla messa a punto di un vaccino efficace come promettente alternativa per la prevenzione. Poiché la diagnosi clinica di leishmaniosi viscerale canina non è affidabile a causa della grande varietà di segni clinici e l'alta percentuale di cani asintomatici, i metodi sierologici sono stati utilizzati per la diagnosi definitiva di *Leishmania* (Zanette *et al.*, 2013). La malattia è classicamente descritta come trasmessa da flebotomi ma è in dubbio se altri artropodi ematofagi come zecche e pulci possano fungere da vettori. Inoltre, sono state inoltre indagate modalità alternative di trasmissione, dimostrando anche la possibilità di trasmissione orizzontale (via diretta tramite trasfusioni di sangue da portatori di infezione, via venerea) e verticale (transplacentare o trans mammaria; Solano-Gallego *et al.*, 2011). Da uno studio condotto negli USA sono state riscontrate positività alla PCR in cuccioli nati da cagne naturalmente infette che dall'anamnesi non avevano storia di spostamenti in zone endemiche. Questo è stata la prima segnalazione di trasmissione verticale di *L. infantum* in cani naturalmente infetti in America del Nord e ha sottolineato che queste modalità potrebbero sostenere l'infezione all'interno delle popolazioni canine anche in assenza di vettori competenti (Boggiatto *et al.*, 2011; Masucci *et al.*, 2003).

SINTOMATOLOGIA

Nell'uomo

Si distinguono solitamente tre forme morbose di leishmaniosi umana, in base alla distribuzione geografica, alla specie di *Leishmania* coinvolta (figura 1) e alla immunocompetenza dell'ospite.

- Genere: *Leishmania*:
 - Sottogenere: *Leishmania*:
 - Complex: *Leishmania donovani*:
 - Specie:
 - *Leishmania archibaldi*;
 - *L. chagasi*;
 - *L. donovani*;
 - *L. infantum*;
 - Complex: *Leishmania tropica*:
 - Specie:
 - *L. chillicki*;
 - *L. tropica*;
 - Complex: *Leishmania major*:
 - Specie: *L. major*;
 - Complex: *Leishmania aethiopica*:
 - Specie: *L. aethiopica*;
 - Complex: *Leishmania mexicana*:
 - Specie:
 - *L. amazonensis*;
 - *L. ganhani*;
 - *L. mexicana*;
 - *L. venezuelensis*;
 - Sottogenere: *Viannia*:
 - Complex: *Leishmania braziliensis*:
 - Specie:
 - *L. braziliensis*;
 - *L. peruviana*;
 - Complex: *Leishmania guyanensis*:
 - Specie:
 - *L. guyanensis*;
 - *L. panamensis*.

Figura 1) Classificazione Leishmania (OMS, 1990)

Leishmaniosi viscerale o kala-azar o febbre dumdum o febbre nera (*L. donovani* complex)

La forma cronica è quella che si presenta con più frequenza; è un'infezione che può riattivarsi in soggetti immunodepressi (pazienti HIV-positivi) dopo 2-4 mesi di incubazione. La forma promastigote migra verso il Sistema Reticolo-Endoteliale (SRE; milza, fegato, midollo osseo, linfonodi) compare febbre, perdita di peso, epatosplenomegalia, linfadenomegalia, iperplasia macrofagica del midollo osseo (anemia, leucopenia e trombocitopenia), febbre ondulante, edema, dissenteria e cachessia. Spesso la malattia non risponde alla terapia, rendendo la prognosi infausta (*exitus* entro 1-2 anni).

Leishmaniosi cutanea o bottone d'oriente o bolla di Delhi (*L. tropica* complex nel Vecchio Mondo e *L. mexicana* nel Nuovo Mondo)

La malattia si manifesta dopo 1-2 mesi di incubazione. Nel punto di inoculo (volto, braccia) appaiono una o più lesioni papulonodulari rossastre, ulcerate o meno, di diverse dimensioni ed aspetto. Quando ulcerata la lesione diviene rosso-bluastro, crateriforme, dolente, e può infettarsi con germi di irruzione secondaria. Si riscontra linfadenomegalia in prossimità della lesione cutanea (ad esempio, linfonodi ascellari). La malattia si autolimita nel giro di pochi mesi, sebbene con esiti cicatriziali deturpanti.

Leishmaniosi mucocutanea o espundia (*L. braziliensis* complex)

Infrequente, generalmente conseguenza della forma cutanea che può insorgere anche a distanza di anni dalla guarigione dell'ulcera cutanea. Edema e sovrainfezioni batteriche producono una mutilazione facciale assai grave e sfigurante (soprattutto nell'*espundia*), principalmente a carico della giunzione mucocutanea nasale.

Studi di popolazione e famiglia stanno cominciando a chiarire i determinanti genetici umani che predispongono a diversi esiti di infezione da *Leishmania* spp. Questi studi dovrebbero portare ad una migliore comprensione sull'immunopatogenesi della leishmaniosi umana (Wilson *et al.*, 2005).

Nel cane

La disseminazione del parassita nell'organismo e l'eventuale sviluppo della malattia dipendono dal tipo e dall'efficienza della risposta immunitaria del cane infetto. La risposta immunitaria gioca un ruolo molto importante nell'evoluzione e nella prognosi della malattia; il coinvolgimento dei linfociti T helper CD4+ indirizza il sistema immunitario verso una risposta umorale (Th2) o verso una risposta cellulo-mediata (Th1). I due estremi dell'espressione clinica sono rappresentati da:

- cani infetti clinicamente sani, caratterizzati da una lieve o assente risposta Th2 e dalla presenza di una risposta Th1 specifica contro *Leishmania* spp.;
- cani infetti e gravemente malati, caratterizzati da un'esagerata risposta Th2 e da una risposta Th1 assente o lieve. (foto 2)

Definizione di cane esposto

Vengono definiti “esposti” i cani clinicamente sani nei quali i test diagnostici cito-istologici, parassitologici e molecolari risultano negativi ma con titoli anticorpali specifici, non superiori a 4 volte il valore soglia del laboratorio di riferimento. Sono solitamente soggetti che soggiornano o hanno soggiornato, durante una o più stagioni di trasmissione, in un’area dove è accertata la presenza di flebotomi vettori del parassita.

Definizione di cane infetto

Un cane infetto è un soggetto nel quale è dimostrabile la presenza del parassita, con metodi diretti (microscopia, coltura o PCR) e con metodi indiretti (messa in evidenza di anticorpi specifici).

Definizione di cane malato

Un cane è definito malato quando risulta positivo l’esame citologico eseguito su tessuti presentanti lesioni compatibili con infezione da *Leishmania* spp., indipendentemente dal risultato della sierologia.

La malattia nel cane è caratterizzata da marcato pleomorfismo dei segni clinici, che variano dall’assenza totale dei sintomi a quadri clinici gravi, devastanti e spesso fatali. I più comuni si appalesano con lesioni cutanee, dermatite esfoliativa generalizzata, papule, noduli, ulcerazioni, croste, alopecia, perdita di peso, linfoadenomegalia generalizzata, lesioni oculari, diarrea cronica, epistassi, zoppia e atrofia muscolare, onicografosi. L’insufficienza renale è la causa che porta poi alla morte. Il parametro biochimico più significativo è l’ipergammaglobulinemia associata a ipoalbuminemia, trombocitopenia, anemia non rigenerativa, iperazotemia e ipercreatininemia. (Ciaramella *et al.*, 2003). Diversi fattori predisponenti per lo sviluppo di malattia sono stati descritti tra cui la razza, l’età e il background genetico (Solano-Gallego *et al.*, 2011).

EPIDEMIOLOGIA

In Italia, fino al 1970, la leishmaniosi canina era endemica nelle Regioni centrali e meridionali, comprese le isole, mentre nel Nord Italia non era stata mai rilevata, con l’eccezione di Liguria e poche aree nella regione Emilia-Romagna. Fattori climatici e socio-economici hanno portato a cambiamenti nella distribuzione di Leishmaniosi canina in Europa dalla metà degli anni ‘80 (Gramiccia *et al.*, 1985), con una progressiva diffusione dell’infezione che è stata osservata in regioni settentrionali precedentemente non interessate raggiungendo le Prealpi del nord Italia, i Pirenei in Francia e il nord della Spagna.

Il gran numero di cani che viaggiano verso il sud Europa, o importati come animali da compagnia provenienti da zone dove Leishmaniosi canina è endemica, hanno probabilmente aumentato il numero di casi clinici segnalati in paesi non endemici, come Regno Unito e la Germania (Solano-Gallego *et al.*, 2011).

La presenza della malattia in un canile pubblico della provincia di Bologna è stata dimostrata per la prima volta nel 2007 con un'indagine epidemiologica durata 3 anni e condotta tramite test di immunofluorescenza indiretta (IFA) (Baldelli *et al.*, 2011). La circolazione del parassita è stata confermata anche da strumenti diagnostici diretti, quali la PCR, la citologia e le colture in vitro, effettuata su diversi materiali bioptici. Il parassita è stato isolato e identificato come *Leishmania infantum* zimodema MON 1. L'indagine entomologica, ha mostrato la presenza del vettore *P. perfiliewi*. Questo studio ha permesso di individuare un focus stabile di Leishmaniosi canina in una zona che non era stata considerata eco-compatibile con la presenza del vettore e dell'infezione. I risultati confermano la diffusione della malattia nel cane verso nord in aree precedentemente non interessate da focolai autoctoni. Da altri studi effettuati in un programma di sorveglianza della durata di 6 anni attivato nel canile della Repubblica di San Marino (Salvatore *et al.*, 2013), a seguito di un precedente focolaio di Leishmaniosi canina all'interno di tale struttura, si evince che la prevalenza di Leishmaniosi canina è simile a quella riportata Emilia-Romagna soprattutto nel confinante Provincia Rimini (Dell'Anna S. 2010), un'area endemica storica circa 10 anni.

Il Triveneto non è rimasto indenne da questa tendenza e negli ultimi anni si sono susseguite varie segnalazioni nel cane, che hanno portato alla luce l'esistenza di veri e propri focolai autoctoni della malattia con circolazione del protozoo all'interno della popolazione canina locale, compresa quella che non aveva mai effettuato viaggi verso aree a rischio. I vettori rinvenuti appartengono alle due specie *P. perniciosus* e *P. neglectus* (Cassini *et al.*, 2007).

La distribuzione geografica della malattia dipende quindi dalla distribuzione dell'insetto vettore, il *Phlebotomus* spp., e comprende il Bacino del Mediterraneo e tutta la penisola Iberica (Noli *et al.*, 2005). La malattia è endemica in più di 70 paesi del mondo distribuiti nell'area tropicale e sub-tropicale di tutti i continenti (Europa meridionale, Africa, Asia, Sud e Centro America) ed è stata segnalata anche negli Stati Uniti d'America (Petersen *et al.*, 2009), eccetto l'Australia. Il 90% dei casi di leishmaniosi viscerale si registra in India, Bangladesh, Nepal, Sudan, Brasile. La malattia non è presente in Oceania (Baneth, 2012; Dantas-Torres, 2012).

L'incidenza della Leishmaniosi viscerale è aumentata in Italia negli esseri umani e cani dal 1990, con nuovi focolai rilevati entro i confini tradizionali di trasmissione endemica, ma anche nelle regioni del nord precedentemente considerate non endemiche. Il confronto con i

dati storici ha mostrato che *P. perniciosus* e *P. neglectus* hanno aumentato la loro densità e ampliato la loro gamma geografica nell'area di studio settentrionale (Maroli *et al.*, 2008). In Italia, le zone endemiche classiche sono il litorale tirrenico, le regioni peninsulari meridionali e le isole, dove *P. perniciosus* agisce quale vettore principale. Nell'uomo i casi sono sporadici, passando però da meno di 40 casi per anno negli anni '80 ad un costante aumento di incidenza dagli anni '90 fino a più di 200 casi segnalati in tutto il paese nel 2000 (Gradoni *et al.*, 2003). La malattia si riscontra frequentemente tra individui infetti con HIV, la cui co-infezione con *Leishmania* ne promuove la progressione clinica (Alvar J. *et al.* 2008). Il verificarsi di casi umani in regioni non endemiche è legato molto probabilmente ai tempi di incubazione molto variabili della malattia, al ritorno da viaggi in aree endemiche. A causa della distribuzione universale del serbatoio e lo spostamento frequente di cani infetti all'interno o tra i paesi (Slappendel, 1988), o addirittura tra i continenti (Rotureau *et al.*, 2006), il principale fattore limitante la trasmissione zoonosica è la presenza di vettori competenti. Poiché la distribuzione e la densità dei flebotomi sono legati alle condizioni di temperatura e umidità relativa (Haines *et al.*, 2006), la trasmissione rischia dunque di essere influenzata dai cambiamenti climatici, soprattutto in zone temperate, dove l'aumento delle temperature può consentire l'accorciamento dello sviluppo larvale, l'estensione del periodo di riproduzione dei flebotomi, o la creazione di nuove specie in luoghi dove le basse temperature hanno finora impedito loro di svilupparsi. Lo spostamento dalle zone endemiche del mediterraneo verso l'Europa continentale è stato proposto come uno scenario probabile associato all'attuale riscaldamento globale; da molti studi si evince che entrambi gli eventi potrebbero essere in corso in Italia settentrionale. Il confronto con i dati storici (Biocca *et al.*, 1977) mostrano che grandi cambiamenti si sono già verificati nella distribuzione di almeno due vettori di *L. infantum*: Il *P. perniciosus*, rilevato con una bassa e media densità in quattro regioni, si riscontra oggi a densità elevate nella maggior parte dei siti di raccolta in zona collinare e basse catene montuose di sei regioni. Ad esempio il *P. neglectus*, è stato catturato a partire dal 1995 in diversi siti prealpini di cinque regioni (Maroli *et al.*, 2002, Ferroglia *et al.*, 2007). I due vettori hanno evidentemente aumentato la loro densità e ampliato la loro gamma geografica nel nord Italia, con un rischio moderato per l'uomo. I viaggiatori provenienti da Paesi privi di *Leishmania* dovrebbero essere resi consapevoli di questa situazione e proteggere se stessi e la loro animali dalle punture dei flebotomi durante le vacanze estive in zone collinari e del nord Italia (Maroli *et al.*, 2008).

DIAGNOSI

Sono disponibili vari metodi per la diagnosi di infezione da *Leishmania*, suddivisi in cito-istologici, sierologici e metodi molecolari.

I metodi cito-istologici consentono di individuare al microscopio ottico il protozoo dai tessuti (Ferreira *et al.*, 2013).

La diagnosi più accurata si ottiene con l'osservazione diretta dei parassiti in preparati citologici o sezioni istologiche di linfonodi, midollo osseo o pelle e dall'identificazione del DNA parassitario con la reazione a catena della polimerasi (PCR). Ancora dal siero con la misurazione dei titoli anticorpali mediante immunofluorescenza indiretta (IFA) e il test immuno-enzimatico (ELISA) (Ciaramella *et al.*, 2003).

E' stato sperimentato a fini diagnostici un campionamento non invasivo a partire da tamponi congiuntivali per l'individuazione del DNA del parassita. Il metodo ha percentuali di positività sovrapponibili ai campioni prelevati da linfonodi. È stata anche dimostrata la presenza di DNA di *Leishmania* in tamponi orali nei cani. (Lombardo *et al.*, 2012).

PREVENZIONE

Ad oggi, l'unica possibile terapia preventiva contro la leishmaniosi viscerale canina è l'uso di repellenti contro le punture del flebotomo, tramite l'uso di prodotti spot-on, spray o collari a lento rilascio, per tutto il periodo che va dalla primavera all'autunno (Maroli *et al.*, 2009), oltre naturalmente a limitazioni all'esposizione del vettore, proteggendo il cane con mezzi fisici applicando reti a maglia stretta alle finestre del posto dove soggiorna il cane, dal crepuscolo fino all'alba (periodo di massima attività del vettore). Dormire fuori si conferma essere un importante fattore di rischio per lo sviluppo dell'infezione e della malattia (Cassini *et al.*, 2013). In Europa, la vaccinazione contro *L. infantum* è basata su vaccini composti da antigeni purificati ed è stata approvata per l'uso sui cani (Lemesre *et al.*, 2007). La sterilizzazione delle cagne unitamente al controllo dei vettori limiterà la possibilità di trasmissione in aree endemiche sia all'uomo che al cane.

TERAPIA

Anche dopo un'adeguata terapia medica le recidive possono essere frequenti; gli animali colpiti devono essere monitorati per mesi o anni e comunque la guarigione

parassitologica sembra non essere possibile. Diversi sono i protocolli applicati (Baneth *et al.*, 2002):

Composti antimoniali in associazione ad Allopurinolo

Miltefosina in associazione ad Allopurinolo

Amminosidina

Spiramicina-metronidazolo

BIBLIOGRAFIA

Alvar J., Aparicio P., Aseffa A., Den Boer M., Cañavate C., Dedet JP, Gradoni L., Ter Horst R., López-Vélez R. & Moreno J.2008. The relationship between leishmaniasis and AIDS: the second 10 years. *Clinic Microbiol Rev*, **21**, 334-359.

Baldelli R., Piva S., Salvatore D., Parigi M., Melloni O., Tamba M., Bellini R. & Poglayen G. 2011. Canine leishmaniasis surveillance in a northern Italy kennel. *Vet Parasitol*, **179**, 57-61.

Baneth G., Bourdeau P., Bourdoiseau G., Bowman D., Breitschwerdt E., Capelli G., Cardoso L., Dantas-Torres F., Day M., Dedet J.P., Dobler G., Ferrer L., Irwin P., Kempf V., Kohn B., Lappin M., Little S., Maggi R., Miró G., Naucke T., Oliva G., Otranto D., Penzhorn B., Pfeffer M., Roura X., Sainz A., Shaw S., Shin S., Solano-Gallego L., Straubinger R., Traub R., Trees A., Truyen U., Demonceau T., Fitzgerald R., Gatti D., Hostetler J., Kilmer B., Krieger K., Mencke N., Mendão C., Mottier L., Pachnicke S., Rees B., Siebert S., Stanneck D., Mingote M.T., von Simson C., Weston S. & CVBD World Forum. 2012. Vector-borne diseases - constant challenge for practicing veterinarians: recommendations from the CVBD World Forum. *Parasit Vectors*, **5**, 55.

Baneth G. & Shaw S.E. 2002. Chemotherapy of canine leishmaniasis. *Vet Parasitol*,**106**, 315-324.

Biocca E., Coluzzi A & Costantini R. 1977. Osservazioni sull'attuale distribuzione dei flebotomi italiani e su alcuni caratteri morfologici differenziali tra le specie del sottogenere *Phlebotomus* (Larrousius). *Parassitologia*, **19**, 19-32.

Boggiatto P.M., Gibson-Corley K.N., Metz K., Gallup J.M., Hostetter J.M., Mullin K. & Petersen C.A. 2011. Transplacental transmission of leishmania infantum as a means for continued disease incidence in North America. *PLoS Negl Trop Dis*, **5**, e1019.

Cassini R., Pietrobelli M., Montarsi F., Natale A., Capelli G., Beraldo P., Sinigaglia A. & Moresco G. 2007. Leishmaniosi canina in Triveneto: quali novità?. *Il Progresso Veterinario*, **7**, 295-300.

Cassini R., Signorini M., Frangipane di Regalbono A., Natale A., Montarsi F., Zanaica M., Bricchese M., Simonato G., Borgato S., Babiker A. & Pietrobelli M. 2013. Preliminary study of the

effects of preventive measures on the prevalence of Canine Leishmaniosis in a recently established focus in northern Italy. *Vet Ital*, **49**, 157-161.

Ciaramella P. & Corona M. 2003. Canine leishmaniasis: clinical and diagnostic aspects. *Compendium*, **25**, 358-68.

Dell'Anna S., Renzi M., Calzolari M., Galletti G., Maioli G., Rugna G., Martini E. & Tamba M. 2010. Sorveglianza della leishmaniosi nei canili dell'Emilia-Romagna. Risultati Preliminari 2007-2009. In 2nd International Congress on Canine Leishmaniasis, Pisa, April 17th-18th 2010, 145-147.

Ferreira SA., Almeida GG., Silva SdO., Vogas GP., Fujiwara RT. de Andrade A.S. & Melo M.N. 2013. Nasal, oral and ear swabs for canine visceral leishmaniasis diagnosis: new practical approaches for detection of *Leishmania infantum* DNA. *PLoS Negl Trop Dis*, **7**, e2150.

Ferroglio E., Centaro E., Mignone W. & Trisciuglio A. 2007. Evaluation of an ELISA rapid device for the serological diagnosis of *Leishmania infantum* infection in dog as compared with immunofluorescence assay and Western blot. *Vet Parasitol*, **144**, 162-166.

Gradoni L., Gramiccia M. & Scalone A. 2003. Visceral Leishmaniasis Treatment, Italy. *Emerg Infect Dis*, **9**, 1617-1620.

Gramiccia M., Gradoni L. & Pozio E. 1987. *Leishmania infantum* sensu lato as an agent of cutaneous leishmaniasis in Abruzzi region (Italy). *Trans R Soc Trop Med Hyg*, **81**, 235-237.

Gramiccia M. & Gradoni L. 2005. The current status of zoonotic leishmaniasis and approaches to disease control. *Int J Parasitol*, **35**, 1169-1180.

Haines A., Kovats R.S., Campbell-Lendrum D. & Corvalan C. 2006. Climate change and human health: impacts, vulnerability and public health. *Public Health*, **120**, 585-596.

Kaye P. & Scott P. 2011. Leishmaniasis: complexity at the host-pathogen interface. *Nat Rev Microbiol*, **9**, 604-615.

Laskay T., van Zandbergen G. & Solbach W. 2003. Neutrophil granulocytes--Trojan horses for *Leishmania major* and other intracellular microbes?. *Trends Microbiol*, **11**, 210-214.

Lemesre J.L., Holzmüller P., Gonçalves R.B., Bourdoiseau G., Hugnet C., Cavaleyra M. & Papierok G. 2007. Long-lasting protection against canine visceral leishmaniasis using the LiESAp-MDP vaccine in endemic areas of France: double-blind randomised efficacy field trial. *Vaccine*, **25**, 4223-4234.

- Lombardo G., Pennisi MG., Lupo T., Migliazzo A., Caprì A. & Solano-Gallego L. 2012. Detection of *Leishmania infantum* DNA by real-time PCR in canine oral and conjunctival swabs and comparison with other diagnostic techniques. *Vet Parasitol*, **184**, 10-17.
- Maroli M., Gradoni L., Oliva G., Castagnaro M., Crotti A., Lubas G., Paltrinieri S., Roura X., Zatelli A. & Zini E. 2009. Leishmaniosi canina: linee guida su diagnosi, stadiazione, terapia, monitoraggio e prevenzione. Parte III: Prevenzione. *Veterinaria*, **23** (4), 19-26
- Maroli M., Rossi L., Baldelli R., Capelli G., Ferroglio E., Genchi C., Gramiccia M., Mortarino M., Pietrobelli M. & Gradoni L. 2008. The northward spread of leishmaniasis in Italy: evidence from retrospective and ongoing studies on the canine reservoir and phlebotomine vectors. *Trop Med Internat Health*, **13**, 256–264.
- Maroli M., Cianchi T., Bianchi R. & Khoury C. 2002. Testing insecticide susceptibility of *Phlebotomus perniciosus* and *P. papatasi* (Diptera: Psychodidae) in Italy. *Ann Ist Super Sanita*, **38**, 419-423.
- Masucci M., De Majo M., Contarino R.B., Borruto F. Vitale M. & Pennisi G. 2003. Canine Leishmaniasis in the newborn puppy. *Vet Res Comm*, **27**, 771-774
- Noli C. & Auxilia S.T. 2005. Treatment of canine Old World visceral leishmaniasis: a systematic review. *Veterinary Dermatology*, **16**, 213-232.
- Petersen C.A. & Barr S.C. 2009. Canine leishmaniasis in North America: emerging or newly recognized?. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, **39**, 1065-1074.
- Rotureau B., Ravel C., Aznar C., Carme B. & Dedet J.P. 2006. First Report of *Leishmania infantum* in French Guiana: canine visceral leishmaniasis imported from the Old World. *J Clin Microbiol*, **44**, 1120–1122.
- Salvatore D., Di Francesco A., Parigi M., Poglayen G., Battistini M. & Baldelli R. 2013. Canine leishmaniasis surveillance program in a San Marino Republic kennel. *Vet Ital*, **49**, 341-346.
- Slappendel R.J. 1988. Canine leishmaniasis. A review based on 95 cases in The Netherland. *Vet Q*, **10**, 1-16.
- Solano-Gallego L., Miró G., Koutinas A., Cardoso L., Pennisi MG., Ferrer L., Bourdeau P., Oliva G., Baneth G. & The LeishVet Group. 2011. LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. *Parasit Vectors*, **4**, 86.
- Zanette M.F., Lima V.M., Laurenti M.D., Rossi C.N., Vides J.P., Vieira R. F., Biondo A.W. & Marcondes M. 2014. Serological cross-reactivity of *Trypanosoma cruzi*, *Ehrlichia*

canis, *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* and *Babesia canis* to *Leishmania infantum* chagasi tests in dogs. *Rev Soc Bras Med Trop*, **47**, 105-107.

Wilson M.E., Jeronimo S.M. & Pearson R.D. 2005. Immunopathogenesis of infection with the visceralizing *Leishmania* species. *Microb Pathog*, **38**, 147-160.



Foto 1) *flebotomo* www.animalstation.it



Foto 2) Cane affetto da Leishmaniosi. www.ilfaroonline.it