I CENTRI ED I LABORATORI DI REFERENZA NAZIONALI NELL'OTTICA ONE HEALTH

«TUTTO QUANTO ACCADE UNA VOLTA POTREBBE NON ACCADERE MAI PIÙ. MA TUTTO QUANTO ACCADE DUE VOLTE ACCADRÀ CERTAMENTE UNA TERZA»

06 DICEMBRE 2023- MINISTERO DELLA SALUTE
ROMA

C.Re.Na.L - Centro di Referenza Nazionale per le Leishmaniosi

WOAH Reference Laboratory for Leishmaniasis

Reference Centre World Organisation for Animal Health Founded as OIE

Vigilanza e Controllo delle leishmaniosi: un esempio di One Health

fabrizio.vitale@izssicilia.it

Fabrizio Vitale
Direttore Area Biologia Molecolare
Responsabile Centro di Referenza Nazionale Leishmaniosi
WOAH Leishmania Reference Lab.
Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia
Via Gino Marinuzzi 3
90129 Palermo
+390916565368
+393357895724

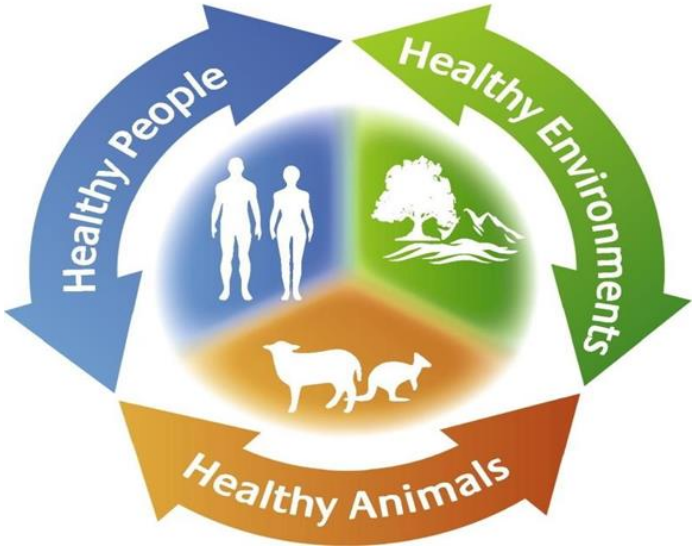
Un’altra prospettiva…

Un’altra prospettiva…

L’epidemiologia è la scienza che studia la distribuzione e i determinanti di salute e malattia in specifiche popolazioni, promuovendo l’applicazione di tale studio al controllo della salute pubblica.
John m. Last (2001)

La domanda non è se ma come e quando le zoonosi nuove o riemergenti emergeranno e se i sistemi di sorveglianza saranno capaci di individuarle e controllarle tempestivamente.
Van der Giessen et al, 2004

Interfaccia Uomo/Animale



Un nuovo (?) approccio alla Salute Pubblica:

THE TRIAD OF HEALTH

The interaction between living beings, which share the same environment, should be considered as a single dynamic system, in which the health of each component is inevitably interconnected and dependent on the others.

Questo mondo è davvero un essere vivente dotato di anima e di intelligenza,un' unica visibile entità che contiene tutte le altre entità viventi, tutte per natura in relazione tra loro.

Platone

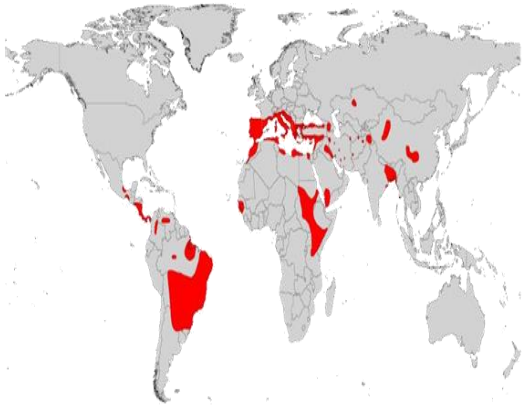
Atene, 428/427 a.C. – Atene, 348/347 a.C.

Vector-borne diseases
WHO Statement of March 2014

survey

- ✓ The vector-borne diseases represent more than 17% of all infectious diseases and cause over 1 million deaths each year.
- ✓ For the only dengue fever, people at risk of infection are more than 2.5 billion in more than 100 countries.
- ✓ Every year, the world's malaria causes more than 600,000 deaths, most of which relates to children under 5 years of age.
- ✓ Other diseases such as Chagas disease, leishmaniasis and schistosomiasis affect hundreds of millions of people around the world.
- ✓ Many of these diseases are preventable through protective measures conscious.

Leishmaniosi Viscerale



Leishmaniosi Cutanea

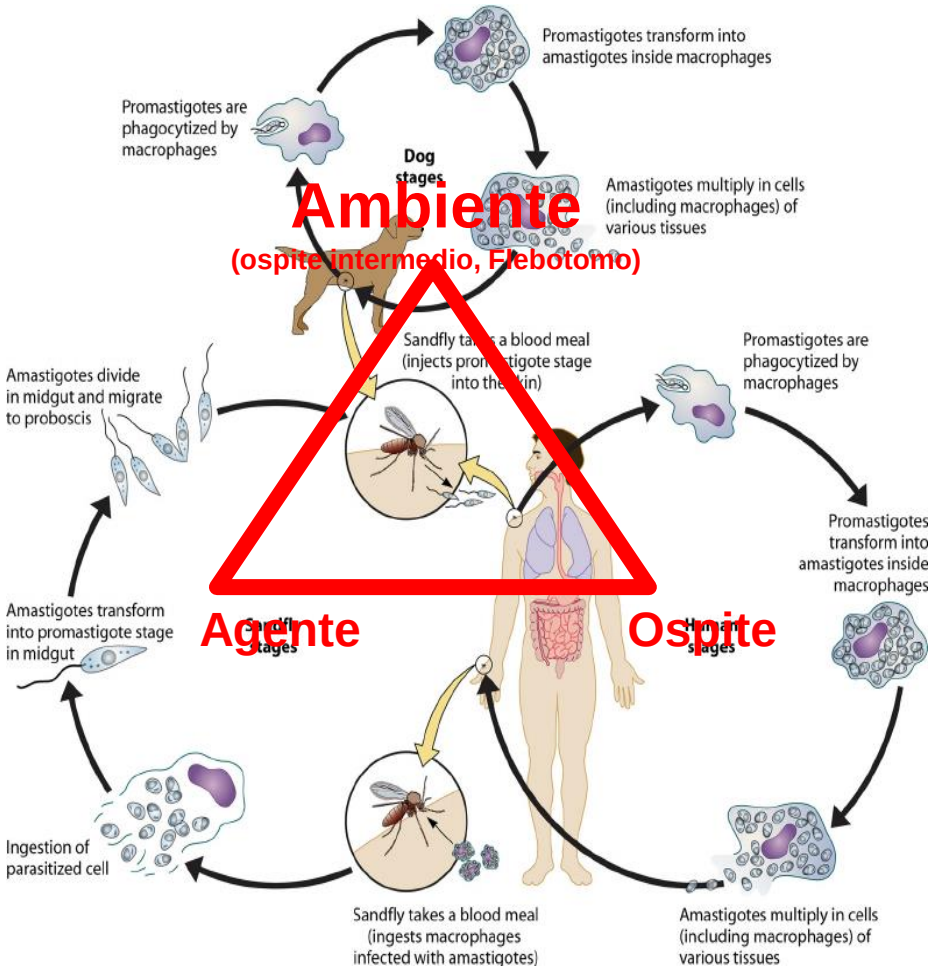
Geneva | 28 January 2013
The 132nd Executive Board of the World Health Organization (WHO), meeting in Geneva, Switzerland today recommended to the 66th Health Assembly a resolution on all 17 neglected tropical diseases.

http://www.who.int/neglected_diseases/EB_resolution_2013/en/index.html

1. Buruli Ulcer
2. Chagas disease (American trypanosomiasis)
3. Cysticercosis
4. Dengue/Severe dengue
5. Dracunculiasis (guinea-worm disease)
6. Echinococcosis
7. Fascioliasis
8. Human African trypanosomiasis
9. Leishmaniasis
10. Leprosy
11. Lymphatic filariasis
12. Onchocerciasis
13. Rabies
14. Schistosomiasis
15. Soil transmitted helminthiasis
16. Trachoma
17. Yaws

World Health Organization ...ted tropical diseases

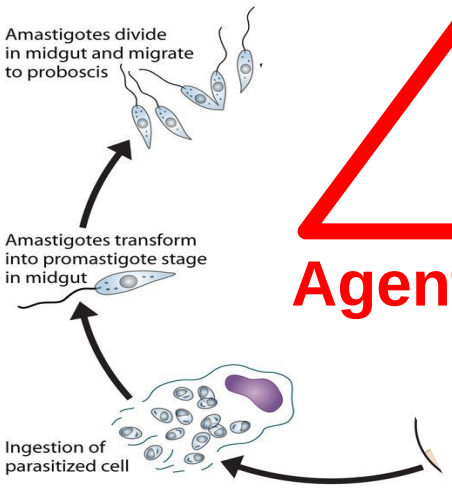
Le leishmaniosi sono malattie causate da protozoi parassiti del genere *Leishmania* che vengono trasmessi agli esseri umani dalle punture di flebotomi infetti.

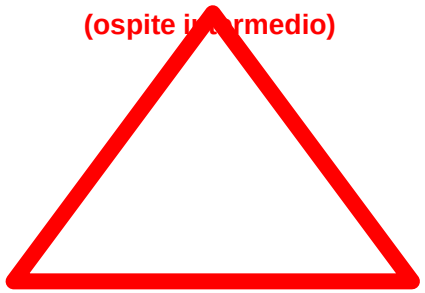


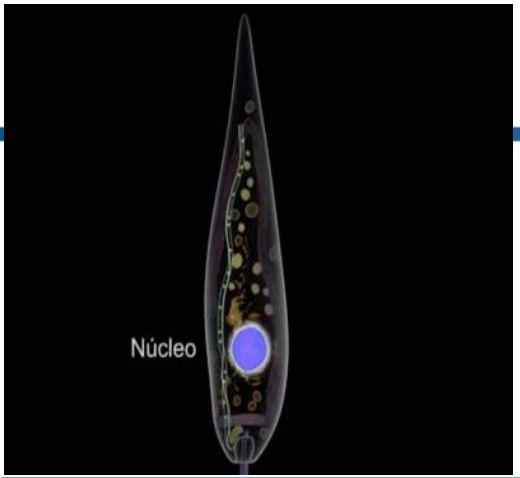
- *L. aethiopica*
- *L. amazonensis*
- *L. arabica*
- *L. archibaldi*
- *L. aristedesi*
- *L. (Viannia) braziliensis*
- *L. chagasi*
- *L. (Viannia) colombiensis*
- *L. deanei*
- *L. donovani*
- *L. enriettii*
- *L. equatorensis*
- *L. forattinii*
- *L. garnhami*
- *L. gerbili*
- *L. (Viannia) guyanensis*
- *L. herreri*
- *L. hertigi*
- ***L. infantum***
- *L. killicki*
- *L. (Viannia) lainsoni*
- *L. major*
- *L. mexicana*
- *L. (Viannia) naiffi*
- *L. (Viannia) panamensis*
- *L. (Viannia) peruviana*
- *L. (Viannia) pifanoi*
- *L. (Viannia) shawi*
- *L. tarentolae*
- *L. tropica*
- *L. turanica*
- *L. venezuelensis*

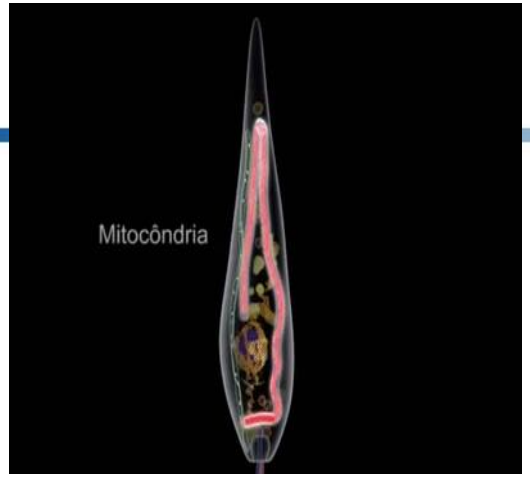
Leishmaniosi e catena di trasmissione

L'agente eziologico (Leishmania)





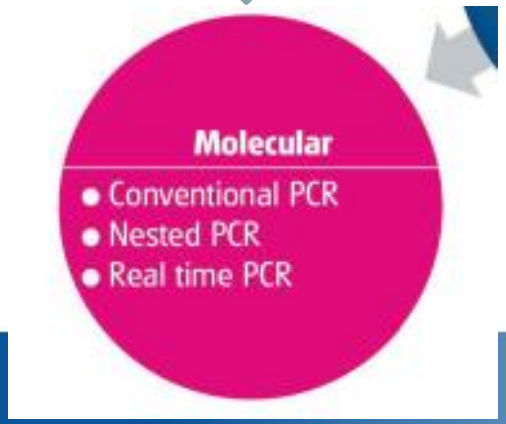




Il materiale genetico dei protozoi dell'ordine Kinetoplastida è organizzato in cromosomi il cui numero esatto non è ancora noto.
In generale si sa che Leishmania è un parassita diploide, asessuato, e possiede un genoma costituito da 34 – 36 cromosomi

I protozoi appartenenti all'ordine Kinetoplastida presentano un **DNA genomico** (DNAg) localizzato all'interno del nucleo cellulare, e deputato alla moltiplicazione del parassita, ed un DNA extragenomico, chiamato **DNA del kinetoplasto** (DNAk) situato all'interno dell'unico mitocondrio presente che si divide indipendentemente. Inoltre sono presenti DNA in forma di minisatelliti che sono sequenza ripetute in tandem, localizzate lungo il genoma a livello di regioni non codificanti, o degli estremi dei cromosomi come sequenze associate ai telomeri. Ancora esistono elementi circolari o episomi, localizzati nel nucleo.

- ***MLST PANEL FOR LEISHMANIA FINGER PRINTING***
- ***SHOT-GUN AND WHOLE GENOME SEQUENCING***



la Leishmania ha sviluppato meccanismi che la proteggono dall'attività distruttiva delle cellule fagocitarie in cui alberga inibendo la funzione respiratoria dei fagociti e resistendo all'azione degli enzimi lisosomiali

- l'inibizione, da parte dell'LPG, dell'enzima NO-sintetasi e dei metaboliti intermedi di, O2 e H2O2;
- la modulazione dell'apoptosi macrofagica che, se ridotta, permette una maggiore sopravvivenza del parassita e, se aumentata, ne facilita una rapida diffusione;
- l'induzione di citochine che deprimono l'attività di macrofagi, cellule NK e linfociti T e l'inibizione di citochine che attivano tali mediatori immunologici;
- inibizione della presentazione antigenica nei macrofagi mediante soppressione dell'espressione del complesso maggiore di istocompatibilità di classe II (MHCII), la degradazione di tali molecole nel vacuolo parassitoforo e l'inibizione del processamento antigenico e del trasporto superficiale dei complessi peptidici-MHC

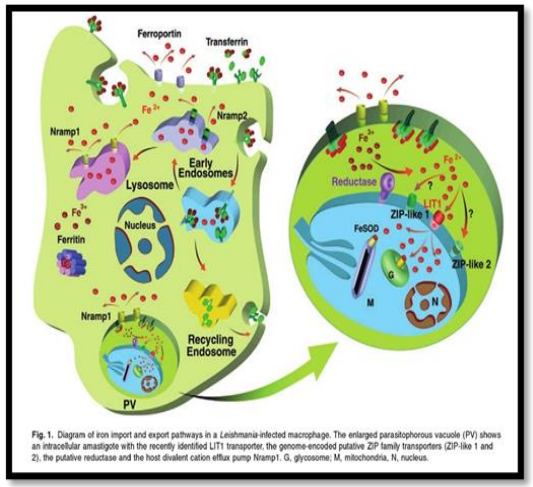


Fig. 1. Diagram of iron import and export pathways in a *Leishmania*-infected macrophage. The enlarged parasitophorous vacuole (PV) shows an intracellular amastigote with the recently identified LIT1 transporter, the genome-encoded putative ZIP family transporters (ZIP-like 1 and 2), the putative reductase and the host divalent cation efflux pump Nramp1. G, glycosome; M, mitochondria, N, nucleus.

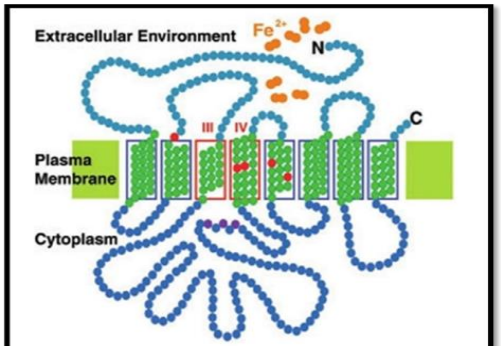
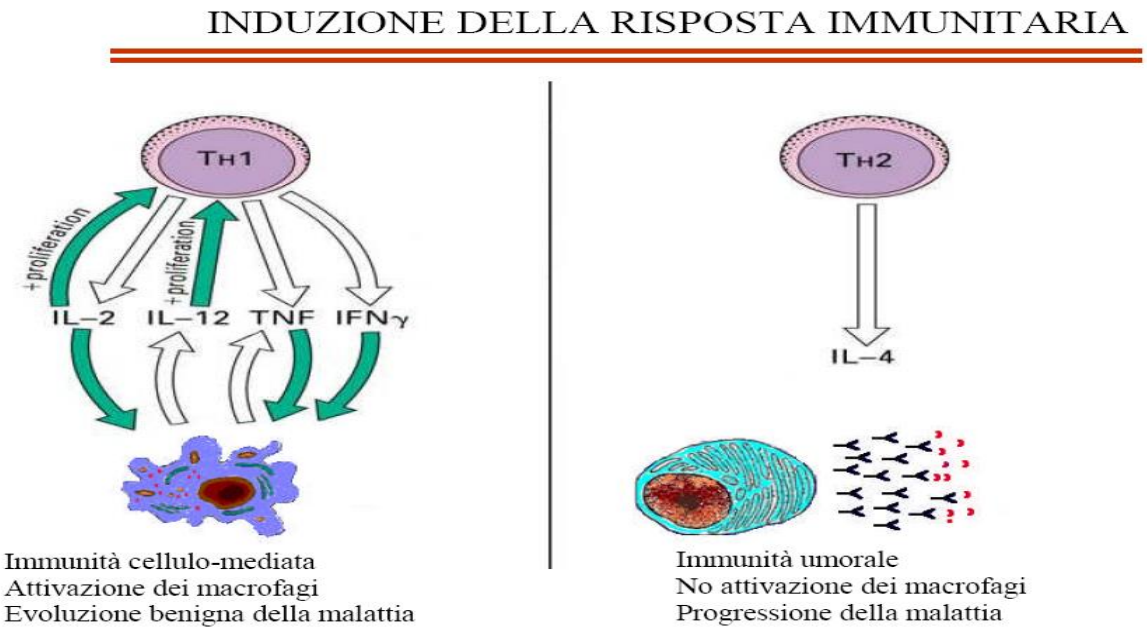


Fig. 2. Topology of the LIT1 ferrous iron transporter on the plasma membrane of *Leishmania*. The amino acids shown in green form the transmembrane domains, the ones shaded in red correspond to conserved residues required for iron transport in *Arabidopsis* IRT1, and the ones in pink correspond to the conserved HxHxH motif present in the variable intracellular loop region. Transmembrane domains III and IV are indicated.

Once inside the macrophage, the protozoan relies on a trans-membrane pump to acquire iron for metabolism

LEISHMANIA E SISTEMA IMMUNITARIO DELL'OSPITE

L'evoluzione della malattia dipende dal tipo di risposta immunitaria dell'ospite

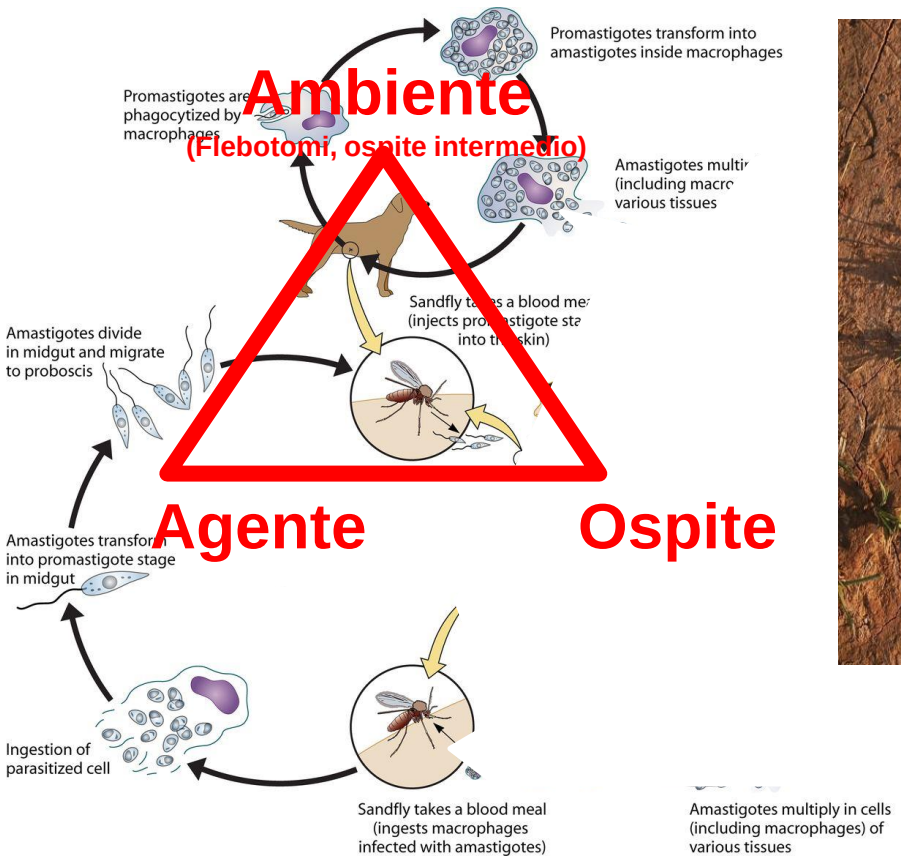


LEISHMANIOSI COME MALATTIA AUTOIMMUNE

- Gli anticorpi prodotti non sono protettivi, anzi formano immunocomplessi che si depositano a livello delle membrane basali renali, articolari, vascolari etc.
- Per questo motivo, nella leishmaniosi, come in molte malattie infettive, le lesioni sono una conseguenza del danno indotto sia dal parassita che dalla risposta del sistema immunitario dell'ospite

Ambiente (1)

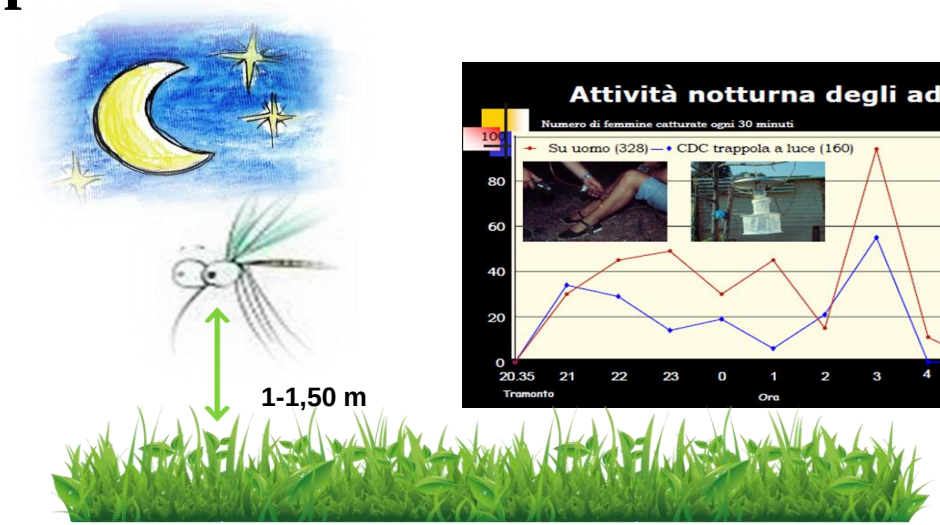
I Vettori (Flebotomi)

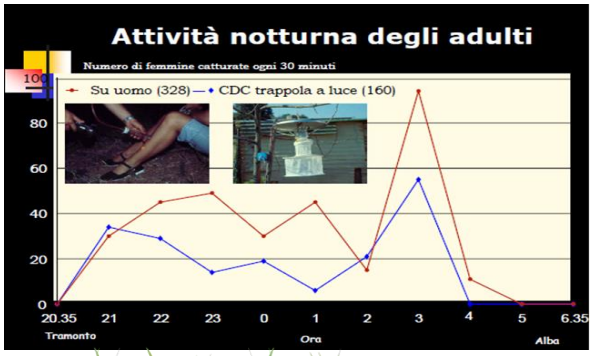


Flebotomo

Sono conosciute oltre 1000 specie di flebotomi ma meno di 50 risultano essere le specie accreditate alla trasmissione di Leishmanie.

Il vettore tipicamente:





- **È di sesso femminile**
- **Compie il pasto ematico in orari serali/notturni**
- **Ha una stagionalità (temperature caldo-temperate)**
- **Rimane a poche centinaia di metri dalla sede di nascita**

http://www.who.int/leishmaniasis/vector/en/

Killick-Kendrick R. Phlebotomine vectors of the leishmaniases: a review. Med Vet Entomol. 1990;4(1):1-24

Le larve dei flebotomi sono “terricole”

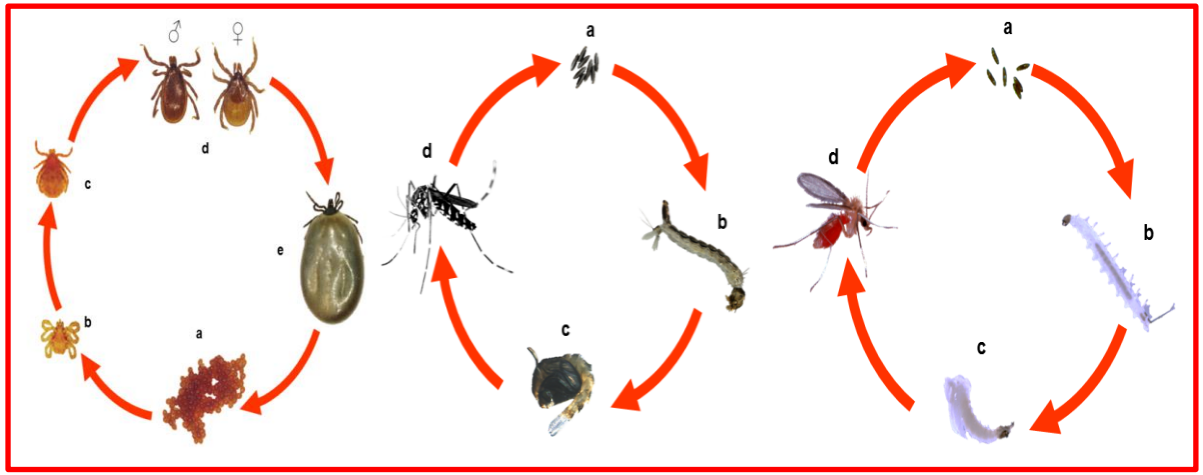
Ambienti selvatici
Nidi di formiche
Nidi di tartarughe terrestri
Canali di scolo
Nidi di uccelli
Termitai
Tane di roditori
Grotte
Incavi di albero
Suolo della foresta
Sotto e fra massi
Radici di grandi alberi Suolo alla base di alberi
Suolo sotto massi sporgenti

Ambienti peridomestici
Tane di animali
Rifugi di animali
Pollai
Detriti e crepe del suolo
Concimaie marcite
Terra alla base di vecchi muri
Sotto i sassi

Ambienti domestici
Seminterrati e cantine
Case abbandonate
Crepe di pavimenti e muri

PERCHE' CI INTERESSA TANTO IL GLOBAL WARMING ???

Gli artropodi vettori di malattie sono organismi ETEROTERMI (privi di un sistema proprio di regolazione della temperatura) e quindi dipendono dalla temperatura ambientale
Piccole variazioni di temperatura hanno grande effetto sui loro cicli



$$C = \frac{ma^2Vp^n}{-\ln_e p}$$

The Vector Capacity (c) is directly related to its density (m), to its probability of meal (a), to its competence (V), to its daily survival probability (p) in strongly dependence on the incubation time (n)

Per le malattie trasmesse da vettori, il numero di casi secondari dovuti all'introduzione di un caso primario (R0) è una funzione non lineare del numero totale di

vettori

disponibili per ogni ospite.

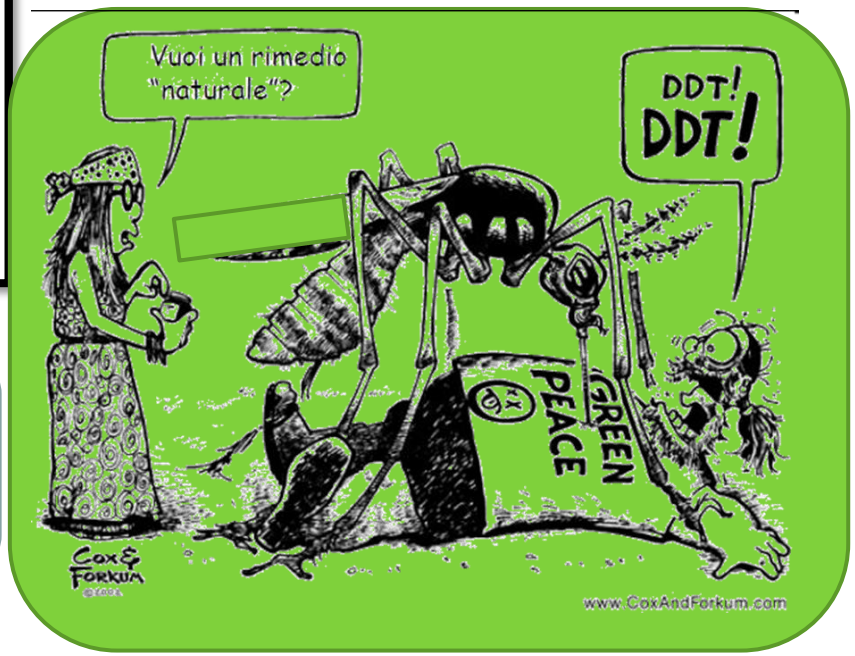
Il modo più semplice per ridurre il rapporto R0 a meno di 1 è la riduzione del numero di vettori e/o la vaccinazione dell'ospite.

Global Warming: la tempesta perfetta

Incidenza dei territori a maggior rischio relativo di desertificazione nelle regioni italiane

Regione	Superficie regionale (ha)	Superficie a maggior rischio desertificazione (ha)	Superficie a maggior rischio desertificazione (%)
Sardegna	2.399.116	2.120.500	88
Puglia	1.953.594	1.631.500	84
Sicilia	2.575.147	2.142.700	83
Molise	446.103	229.600	51
Basilicata	1.007.280	517.700	51
Abruzzo	1.083.015	386.100	36

DDT (para-dichlorodiphenyltrichloroethane) is an organic chlorinated whose insecticidal activity was discovered in 1939 by the Swiss chemist Paul Hermann Muller, who received the Nobel Prize for medicine in 1948 for this discovery.



Ambiente/Flebotomi (1)

SCIENTIFIC REPORTS

OPEN

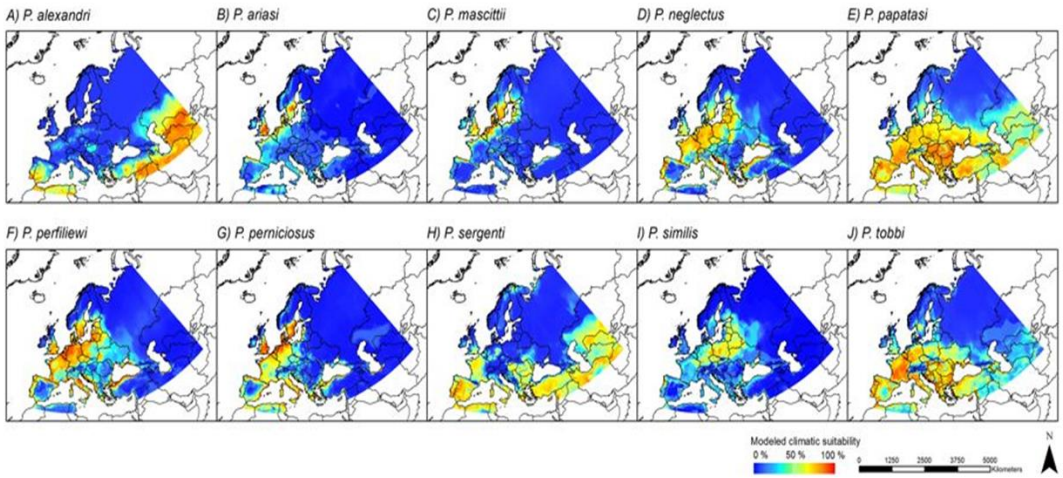
Modeling the climatic suitability of leishmaniasis vector species in Europe

Received: 23 March 2017
Accepted: 29 September 2017
Published online: 17 October 2017

Lisa K. Koch[1,2], Judith Kochmann[1,2], Sven Klimpel[1,2] & Sarah Cunze[1,2]

Climate change will affect the geographical distribution of many species in the future. Phlebotomine sandflies are vector species for leishmaniasis, a tropical neglected disease. We applied an ensemble forecasting niche modeling approach to project future changes in climatic suitability for ten vector competent sandfly species in Europe. Whereas the main area of sandfly distribution currently lies in the Mediterranean region, models generally projected a northwards expansion of areas with suitable climatic conditions for most species (*P. alexandri*, *P. neglectus*, *P. papatasi*, *P. perfiliewi*, *P. tobbi*) in the future. The range of distribution for only two species (*P. ariasi*, *P. mascittii*) was projected to decline in the future. According to our results, a higher number of vector competent species in Central Europe can generally be expected, assuming no limitations to dispersal. We recommend monitoring for the establishment of vector species, especially in areas with projected climatic suitability for multiple vector species, as a precautious strategy. An increased number of vector species, or a higher abundance of a single species, might result in a higher transmission risk of leishmaniasis, provided that the pathogens follow the projected range shifts.

From: Modeling the climatic suitability of leishmaniasis vector species in Europe



Modeled future climatic suitability. Modeled climatic suitability (consensus model) for all ten sandfly species under future climate conditions (2061–2080 and RCP 8.5, GCM CSIRO-Mk3.6.0). Projected coordinate system: Europe Albers Equal Area Conic. For visualization, maps were built using Esri ArcGIS 10.3[77] (www.esri.com/software/arcgis).

Finalità della Sorveglianza Entomologica

Phlebotomus sergenti - distribuzione nota attuale: febbraio 2023
Dal precedente aggiornamento (marzo 2022) sono state presentate 148 nuove segnalazioni.

Phlebotomus papatasi - distribuzione nota attuale: febbraio 2023
Dal precedente aggiornamento (marzo 2022) sono state presentate 160 nuove segnalazioni.

Phlebotomus alexandri - distribuzione nota attuale: febbraio 2023
Dal precedente aggiornamento (marzo 2022) sono state presentate 89 nuove segnalazioni.

Phlebotomus ariasi - distribuzione nota attuale: febbraio 2023
Dal precedente aggiornamento (marzo 2022) sono state presentate 28 nuove segnalazioni.

Phlebotomus mascittii - distribuzione nota attuale: febbraio 2023
Dal precedente aggiornamento (marzo 2022) sono state presentate 48 nuove segnalazioni.

Phlebotomus neglectus - distribuzione nota attuale: febbraio 2023
Dal precedente aggiornamento (marzo 2022) sono state presentate 5 nuove segnalazioni.

Phlebotomus perfiliewi - distribuzione nota attuale: febbraio 2023
Dal precedente aggiornamento (marzo 2022) sono state presentate 114 nuove segnalazioni.

Phlebotomus perniciosus - distribuzione nota attuale: febbraio 2023
Dal precedente aggiornamento (aprile 2021) sono state presentate 176 nuove segnalazioni.

Phlebotomus similis - distribuzione nota attuale: febbraio 2023
Dall'aggiornamento precedente (marzo 2022) sono state inviate 0 nuove segnalazioni.

Phlebotomus tobbi - distribuzione nota attuale: febbraio 2023
Dal precedente aggiornamento (marzo 2022) sono state presentate 26 nuove segnalazioni.

Il monitoraggio dei vettori può avere funzionalità predittiva sulla circolazione della patologia

microorganisms MDPI

Article

Retrospective Analysis of Leishmaniasis in Sicily (Italy) from 2013 to 2021: One-Health Impact and Future Control Strategies

Federica Bruno [1], Fabrizio Vitale [1], Francesco La Russa [2,*], Stefano Reale [3], Gerald F. Späth [4], Eugenia Oliveri [1], Valeria Gargano [5], Viviana Valenza [1], Flavia Facciponte [1], Susanna Giardina [3], Giorgio Marino [1], Antonella Galante [1] and Germano Castelli [1]

Table 1. *Phlebotomine* sandfly species recorded in Sicilian provinces during 2013 and 2021.

Specimens of *Phlebotomus* Species Collected in 2013					
Provinces	***P. pernicious***	***P. perfiliewi***	***S. minuta***	***P. papatasi***	**Total**
Agrigento	1593	683	703	0	2979
Catania	312	36	683	0	1031
Palermo	648	1572	315	0	2535
Trapani	43	24	43	0	110
Caltanissetta	664	8497	205	0	9366
Siracusa	47	3	53	0	103
Enna	325	3706	798	0	4829
Ragusa	8	2	158	0	168
Total (%)	3640 (17.2)	14,523 (68.7)	2958 (14)	0	21,121
Specimens of *Phlebotomus* Species Collected in 2021					
Provinces	***P. pernicious***	***P. perfiliewi***	***S. minuta***	***P. papatasi***	**Total**
Agrigento	1384	1505	30	90	3009
Catania	1205	39	66	0	1310
Palermo	1039	861	633	0	2533
Trapani	86	17	17	0	120
Caltanissetta	1987	7379	94	0	9460
Siracusa	142	23	41	0	206
Enna	1281	3548	99	0	4928
Ragusa	85	17	48	0	150
Total (%)	7209 (33.2)	13,389 (61.7)	1028 (4.7)	90 (0.4)	21,716

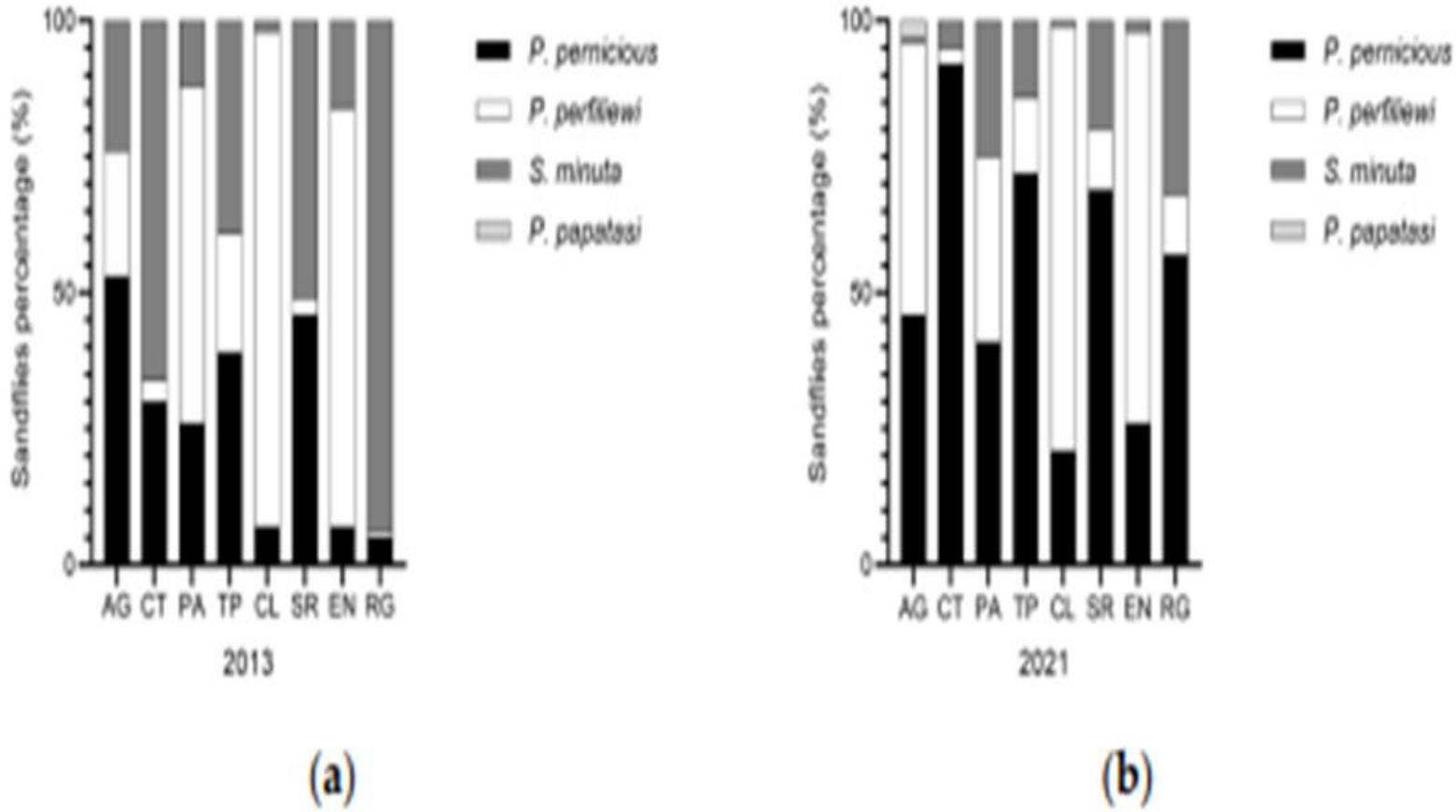
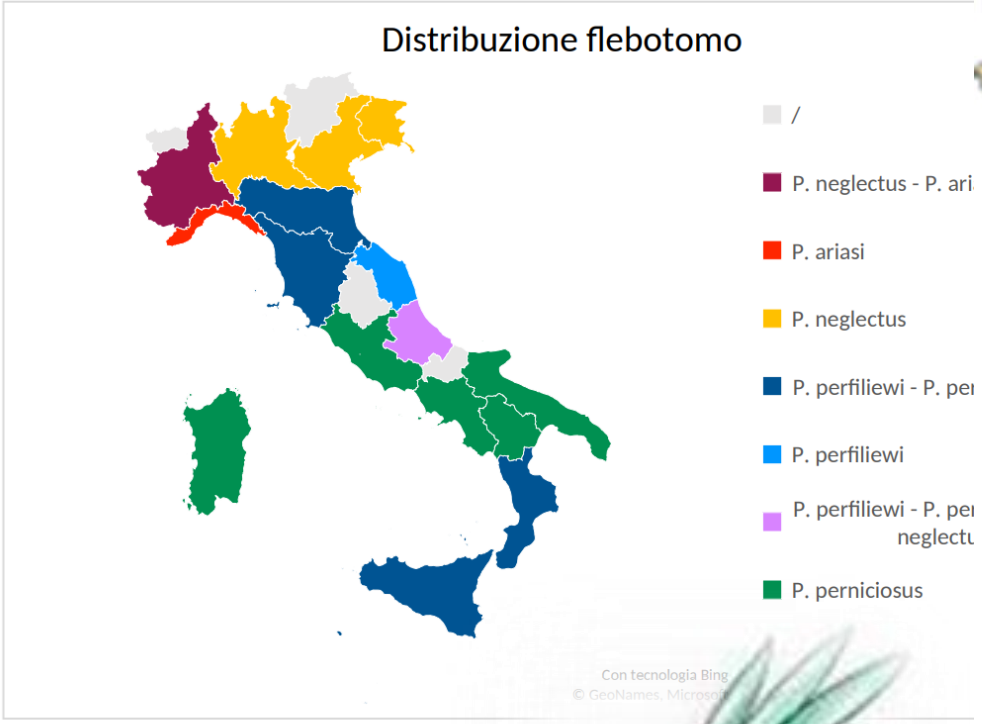


Figure 5. Proportion of sandfly species by Sicilian provinces. (**a**) Phlebotomus species collected during 2013 year; and (**b**) Phlebotomus species collected during 2021 year.

Periodo di attività



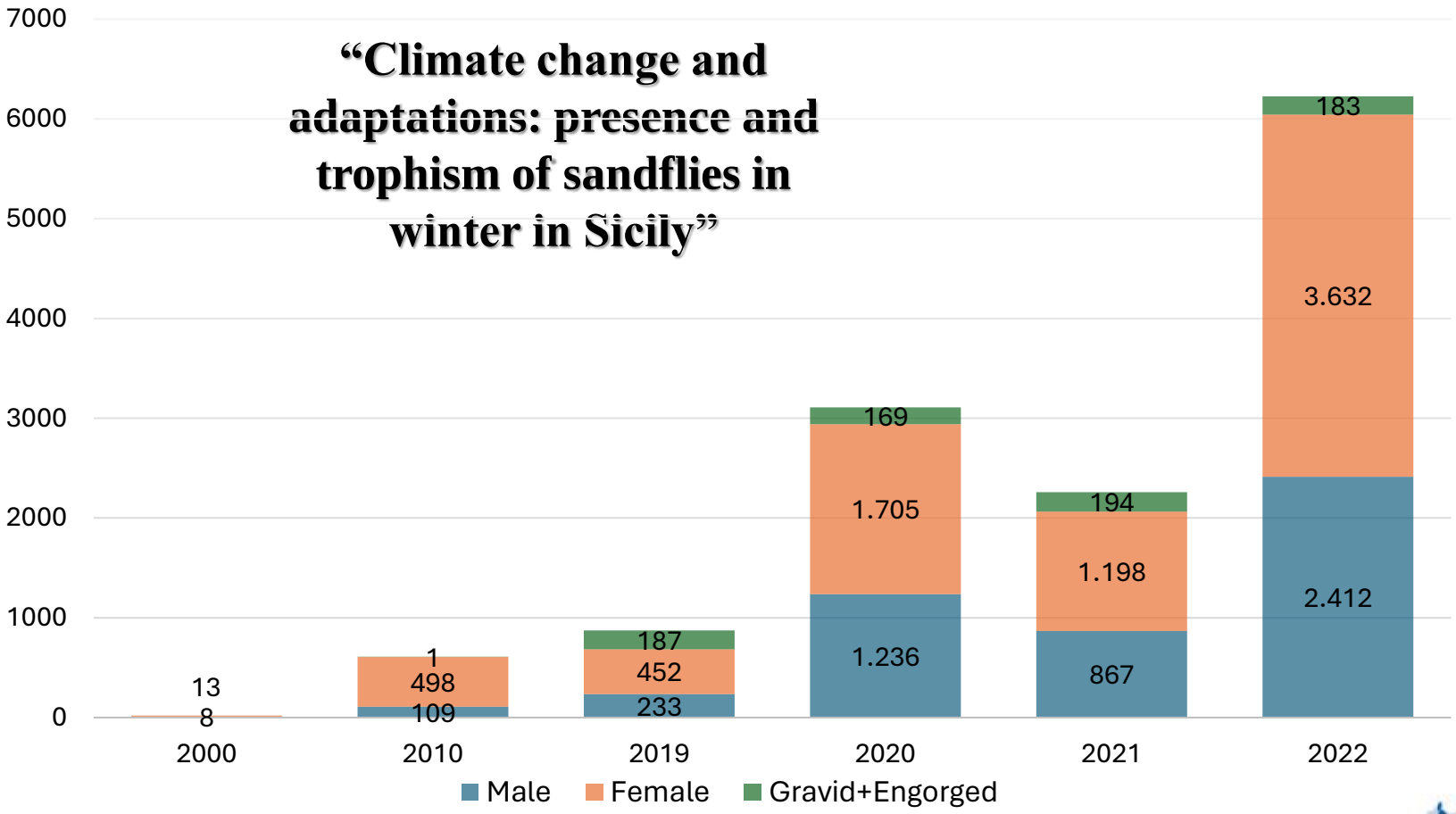
Mappa 1 – *Distribuzione flebotomo in Italia.*

dalla metà di maggio alla metà di 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

Winter monitoring results



"Climate change and adaptations: presence and trophism of sandflies in winter in Sicily"

Ambiente (2)

Il Serbatoio (Reservois)

Ospite Serbatoio

Il cane è uno dei serbatoi principali di *L. infantum* nel nostro paese.
In Italia la *L. infantum (MON1-MON72)* è l'agente della <u>leishmaniosi cutanea e viscerale</u> dell'uomo (ZOONOSI).

Un buon serbatoio dovrebbe:

- Essere in stretto contatto con l'uomo con il tramite dei flebotomi;
- Essere recettivo all'agente patogeno;
- Essere disponibile per il vettore in quantità sufficiente e nel giusto stato per causare l'infezione;
- Offrire la risorsa alimentare principale per i pappataci ed entrambi dovrebbero condividere lo stesso habitat.

Data ultimo aggiornamento: *11/05/2023*

Regione	Sito dell'anagrafe territoriale	Cani	Gatti	Furetti	Totale
Abruzzo	Anagrafe canina Abruzzo	356.078	0	0	356.078
Basilicata	Anagrafe canina Basilicata	137.179	1.875	4	139.058
Calabria	Anagrafe canina Calabria	235.561	5.558	0	241.119
Campania	Anagrafe canina Campania	1.070.450	101.379	148	1.171.977
Emilia-Romagna	Anagrafe canina Emilia-Romagna	1.342.744	153.890	411	1.497.045
Friuli-Venezia Giulia	Anagrafe canina Friuli-Venezia Giulia	446.155	0	0	446.155
Lazio	Anagrafe canina Lazio	1.145.246	21.308	100	1.166.654
Liguria	Anagrafe canina Liguria	287.341	7.326	28	294.695
Lombardia	Anagrafe canina Lombardia	1.993.597	446.330	987	2.440.914
Marche	Anagrafe canina Marche	428.040	32.541	31	460.612
Molise	Anagrafe canina Molise	86.769	1.133	0	87.902
P.A. Bolzano	Anagrafe canina P.A. Bolzano	77.454	20.687	43	98.184
P.A. Trento	Anagrafe canina P.A. Trento	122.226	14.684	25	136.935
Piemonte	Anagrafe canina Piemonte	1.164.510	47.378	215	1.212.103
Puglia	Anagrafe canina Puglia	603.059	63.906	22	666.987
Sardegna	Anagrafe canina Sardegna	630.791	8.766	5	639.562
Sicilia	Anagrafe canina Sicilia	946.858	45.015	11	991.884
Toscana	Anagrafe canina Toscana	930.725	79.807	114	1.010.646
Umbria	Anagrafe canina Umbria	470.436	0	0	470.436
Valle d Aosta	Anagrafe canina Valle d Aosta	28.182	5.618	0	33.800
Veneto	Anagrafe canina Veneto	1.469.643	139.278	321	1.609.242
		13.973.044	1.196.479	2.465	
TOTALE					15.171.988

Ma…..

La natura fatale della malattia canina suggerisce che il cane sia un ospite recente, in termini evoluzionistici….

Main Reservois

Mus spretus* , *Apodemus sylvaticus* , *Rattus rattus* , *Rattus norvegicus*, *Meles meles*, *Martes martes* , *Mustela nivalis* , *Geneta geneta and Vulpes vulpes

Antoniou et al. The role of indigenous phlebotomine sandflies and mammals in the spreading of leishmaniasis agents in the Mediterranean region. Euro Surveill. 2013;18(30):pii=20540.

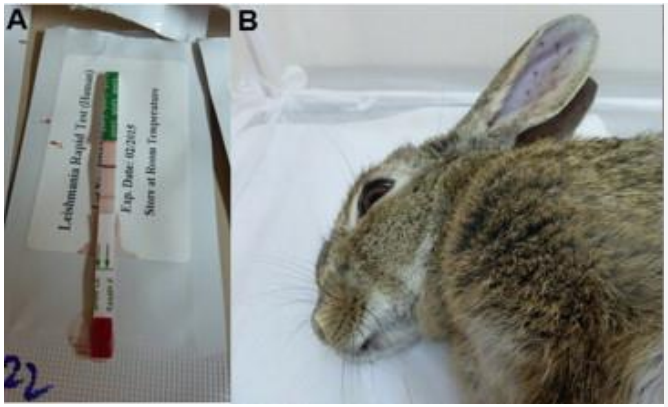
E che dire dei Lagomorfi??

> Vet Parasitol. 2014 Jan 31;199(3-4):264-7. doi: 10.1016/j.vetpar.2013.10.010. Epub 2013 Oct 23.

Detection of anti-Leishmania infantum antibodies in sylvatic lagomorphs from an epidemic area of Madrid using the indirect immunofluorescence antibody test

Inmaculada Moreno [1], Julio Álvarez [2], Nerea García [3], Santiago de la Fuente [4], Irene Martínez [3], Eloy Marino [4], Alfredo Toraño [5], Joaquin Goyache [6], Felipe Vilas [4], Lucas Domínguez [7], Mercedes Domínguez [1]

The results clearly suggest that asymptomatic hares were the main reservoir in the outbreak, and corroborate IFAT as a sensitive serological surveillance method to detect such cryptic Leishmania infections.



Highlights

- All rabbits captured in Montefrío hot spot tested positive for *Leishmania infantum*.
- These rabbits support heavy parasite burdens in apparently normal ear skin.
- *P. perniciosus* prevalence was 13% and heavily parasitized females were detected.
- The prevalence and parasite load were very low among rabbits from the free area.
- Rabbit ear skin is a good biomarker to monitor potential leishmaniasis hot spots.

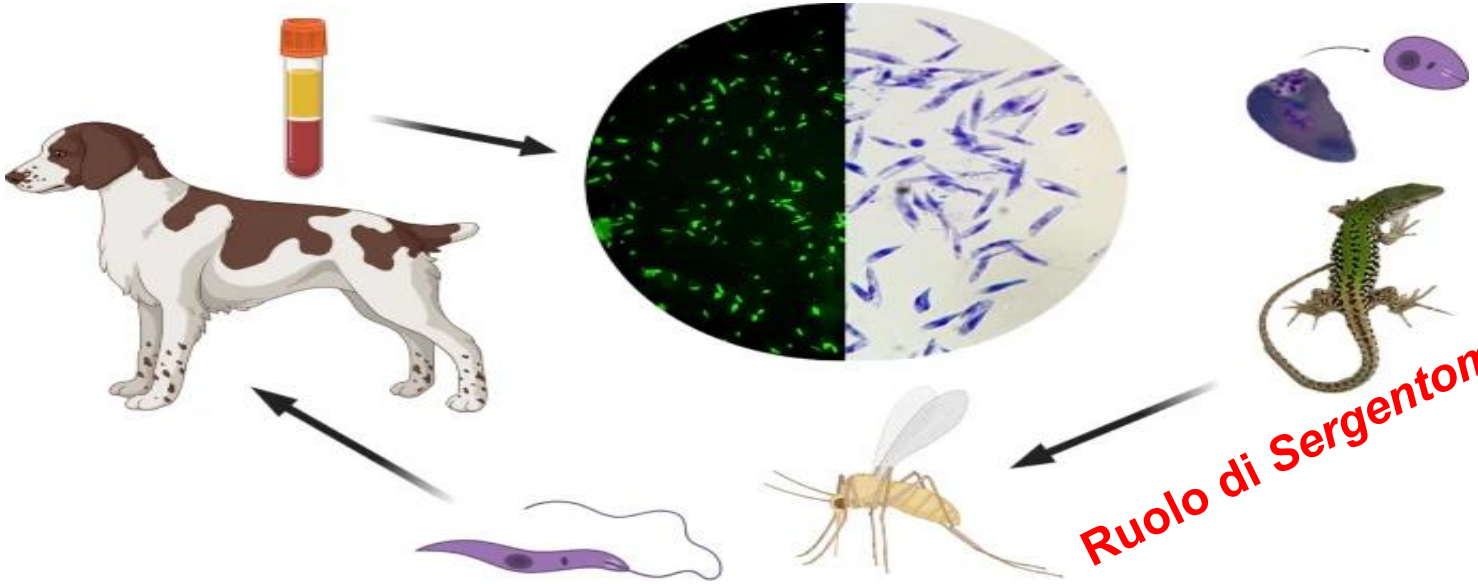
Finito qui??

Research | Open Access | Published: 08 September 2021

Detection of *Leishmania tarentolae* in lizards, sand flies and dogs in southern Italy, where *Leishmania infantum* is endemic: hindrances and opportunities

Jairo Alfonso Mendoza-Roldan, Maria Stefania Latrofa, Roberta Iatta, Ranju R. S. Manoj, Rossella Panarese, Giada Annoscia, Marco Pombi, Andrea Zatelli, Fred Beugnet & Domenico Otranto

Parasites & Vectors **14**, Article number: 461 (2021) | Cite this article



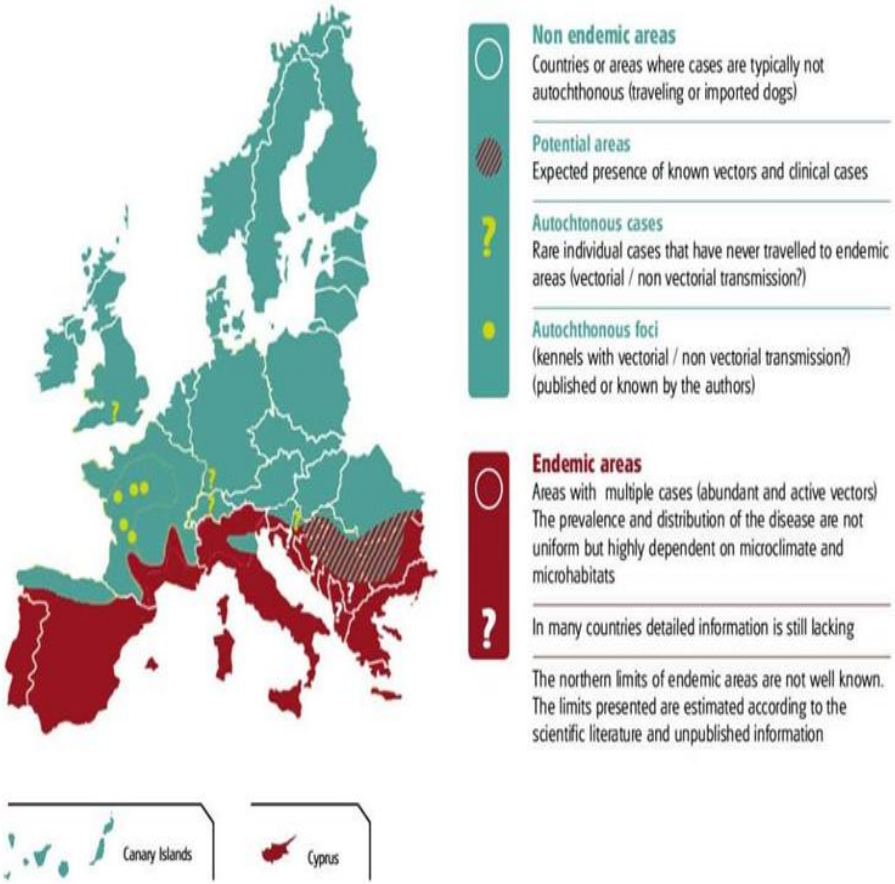
Ruolo di Sergentomia minuta…

Attività in Italia

L'attività di sorveglianza in Italia è incentrata sul principale serbatoio sinantropico della malattia: il cane e si sviluppa a livello regionale sulla base di alcune considerazioni:

- **serbatoio canino in aumento in aree non endemiche**
- **habitat dei flebotomi vettori in rapida diffusione**
- **movimentazione interregionale dei cani**
- **migliorato flusso informativo sanità umana e animale**

Numero stimato di cani infetti



- Canine leishmaniasis is present in >70 countries
- It is estimated that infected dogs in Italy, Spain, France and Portugal are around 2.5 million
- Many more in South America

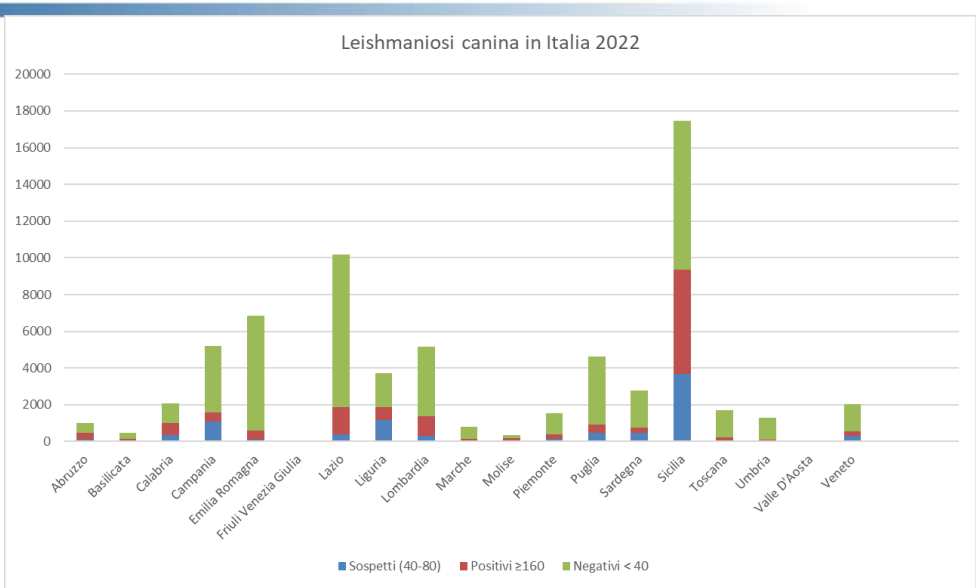
Lcan in Italia (2022)

In tutta Italia la percentuale media di siero prevalenza nel 2022 è del 19%

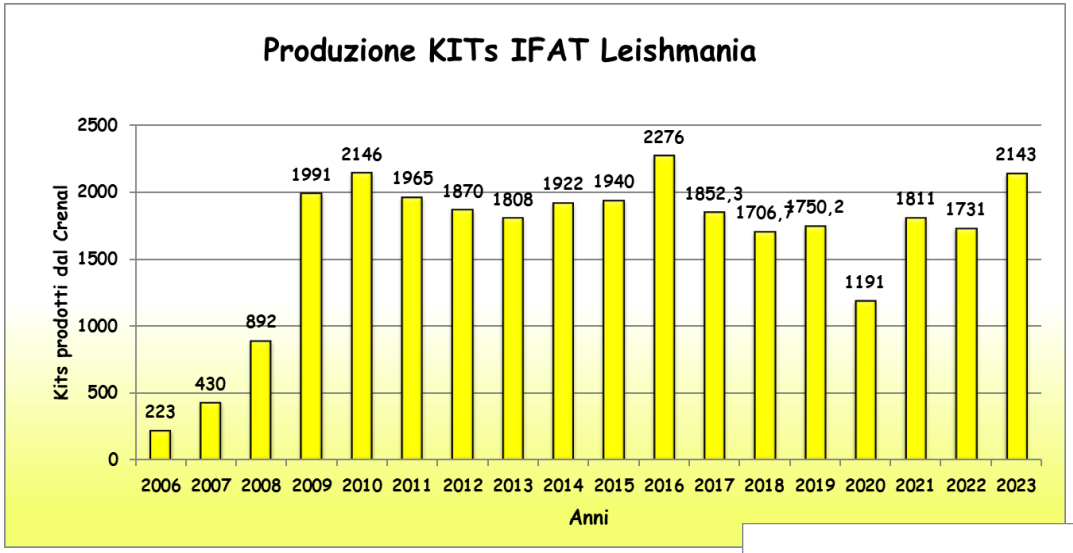
numero totale di **70.659** esami svolti

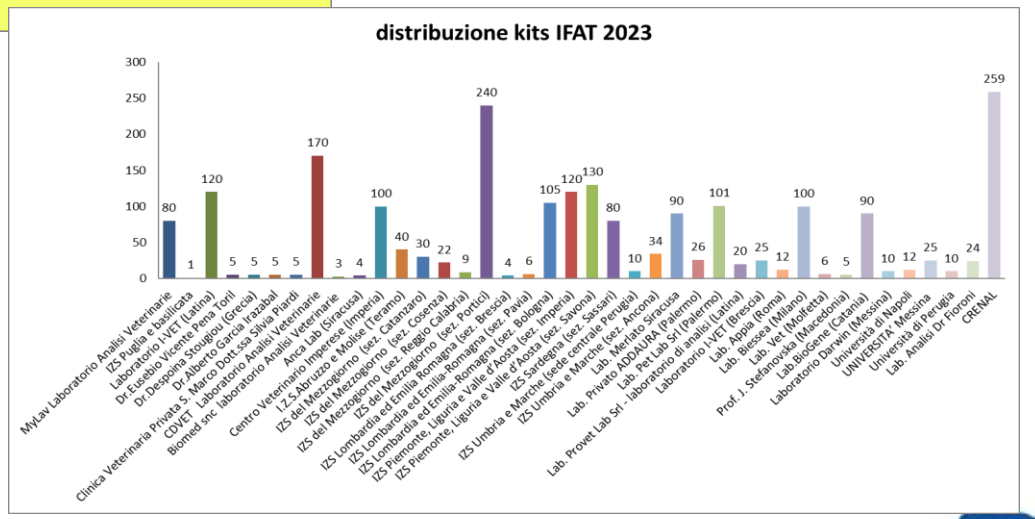
8.554 esami sospetti (**13%**)
44.296 esami negativi (**68%**)
12.303 esami positivi (**19%**)

Nel 2021 la sieropositività italiana era del 18%, quindi si mantiene pressochè costante

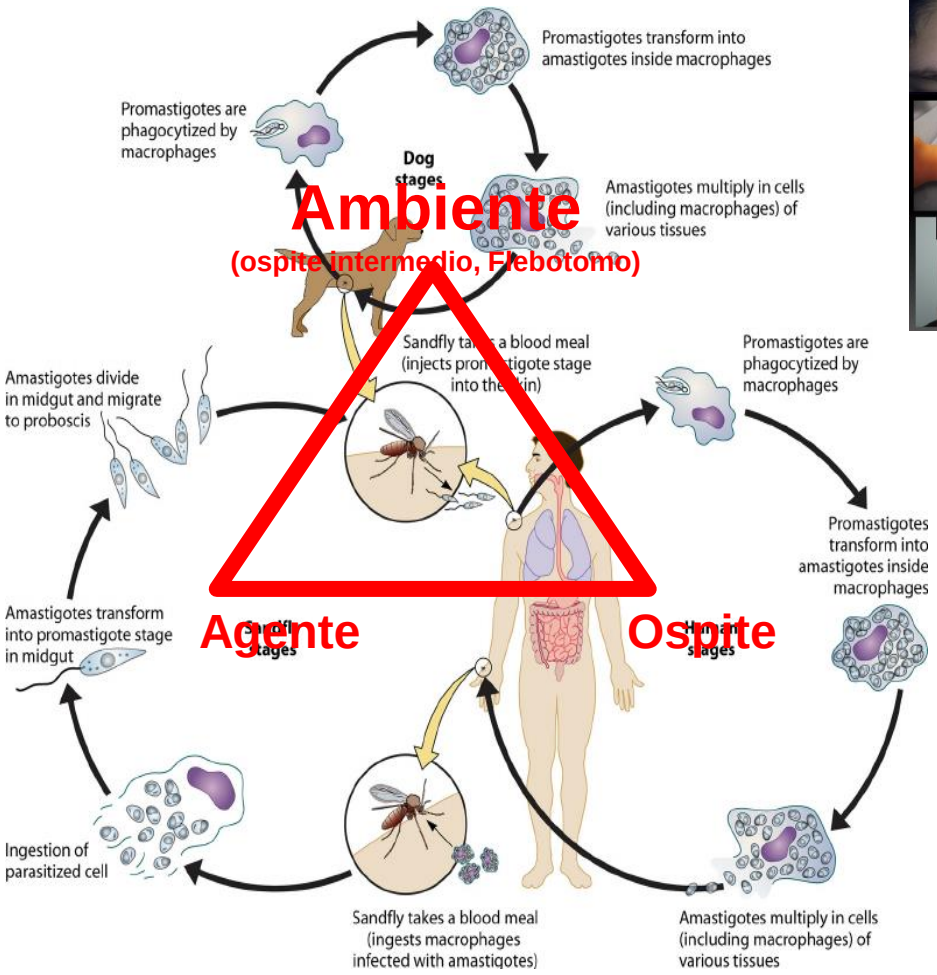


Lcan in Italia (Distribuzione Kit e MdR)





L’Ospite (Humans)



Fattori di rischio infettivo

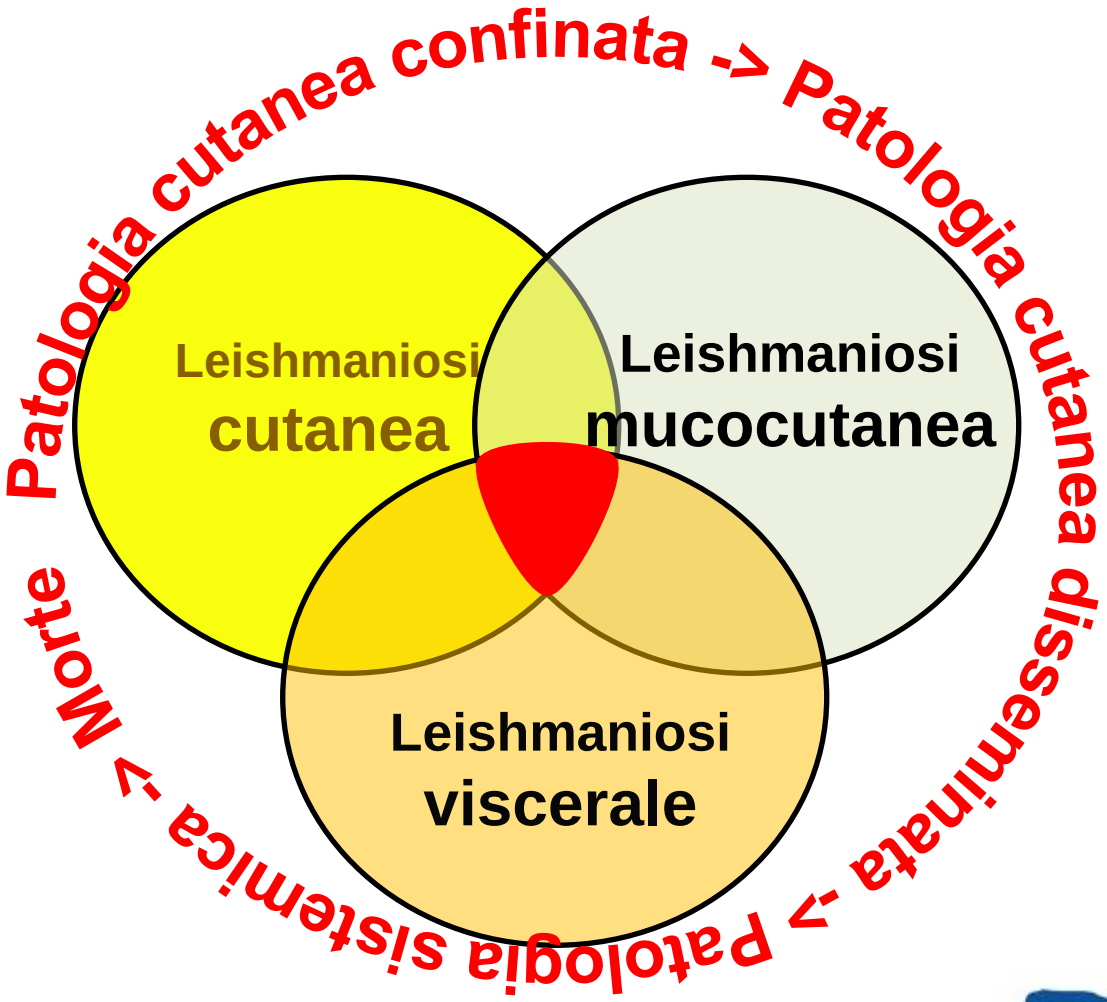
Sono fondamentalmente legati a quei determinanti che favoriscono la contemporanea presenza di animale infetto, flebotomo e uomo.

	Leishmania seropositives, N (%)	adj p-values
Total participants	36/260 (13.8)	
Age group (in years)		
- <30	3/52 (5.8)	
- 30 to 60	16/115 (13.9)	0.04
- > 60	17/93 (18.3)	
Job		
- Student/unemployed	1/39 (2.6)	
- Housewife	8/69 (11.6)	
- Self-employment	9/38 (23.7)	
- Farmer	3/9 (33.3)	NS
- Employed	6/47 (12.8)	
- Retired	8/49 (16.3)	
- Other	1(8 (12.5)	
Having a pet		
- No	22/179 (12.3)	
- Yes, living indoors	1/18 (5.6)	<0.001
- Yes, living outdoors and treated with anti-pests	3/24 (12.5)	
- Yes, living outdoors and not treated with anti-pests	9/32 (28.1)	
Owner of extra-urban holiday resort		
- No	25/195 (12.8)	NS
- Yes	11/65 (16.9)	
Smoking		
- Never	14/138 (10.1)	
- Former	6/55 (10.9)	<0.001
- Current	16/67 (23.9)	

Amodio E, Vitale F, Vitale F et al. EBPH 2013

Ospite

Leishmania può determinare 3 diversi quadri clinici che tuttavia, a volte, possono sovrapporsi:

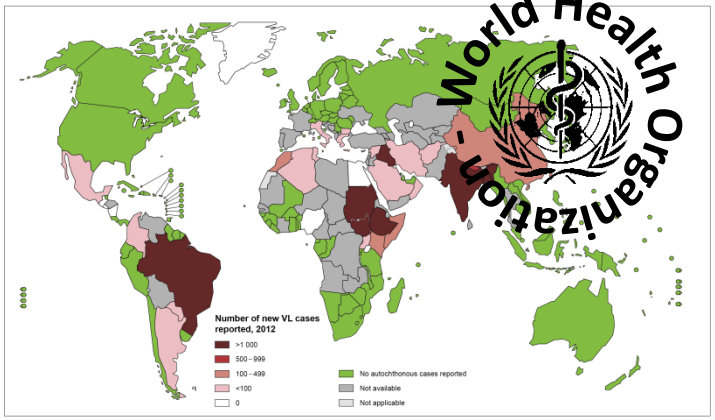


Global reported and estimated incidence of visceral leishmaniasis

	Reported VL cases/year	Countries with 5 years of data	Estimated annual VL incidence		
Americas	3662	8/11 (73%)	4500	to	6800
Sub-Saharan Africa	1	3/11 (27%)			
East Africa	8569	5/8 (63%)	29,400	to	56,700
Mediterranean	875	21/26 (81%)	1200	to	2000
Middle East to Central Asia	2496	14/17 (82%)	5000	to	10,000
South Asia	42,623	3/6 (50%)*	162,100	to	313,600
Global total	58,227	54/79 (68%)	202,200	to	389,100

*3/3 (100%) of high burden countries (India, Bangladesh, Nepal) reported 5 years of data. Reports incomplete for Sri Lanka, Bhutan and Thailand.
doi:10.1371/journal.pone.0035671.t013

Status of endemicity of visceral leishmaniasis, worldwide, 2012



The boundaries and names shown and the designations used on this map do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the World Health Organization concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries. Dotted lines on maps represent approximate border lines for which there may not yet be full agreement. © WHO 2013. All rights reserved

Data Source: World Health Organization
Map Production: Control of Neglected Tropical Diseases (NTD)
World Health Organization

World Health Organization

Alvar J, Vélez ID, Bern C, Herrero M, et al. (2012) Leishmaniasis Worldwide and Global Estimates of Its Incidence. PLoS ONE 7(5): e35671. doi:10.1371/journal.pone.0035671

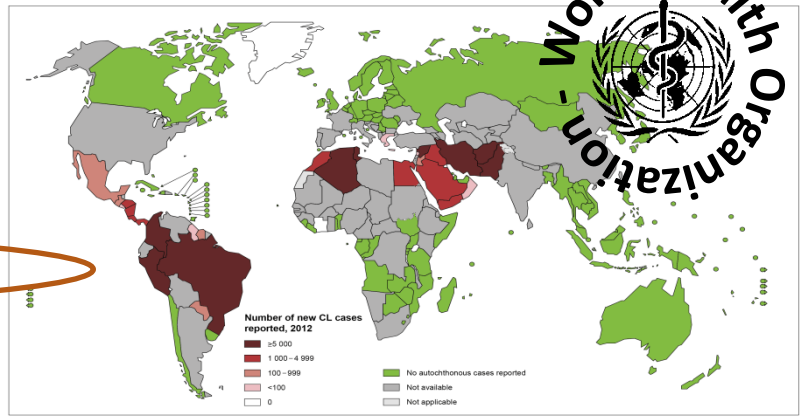
http://www.plosone.org/article/info:doi/10.1371/journal.pone.0035671

Global reported and estimated incidence of cutaneous leishmaniasis

	Reported CL cases/year	Countries with 5 years of data	Estimated annual CL incidence		
Americas	66,941	14/20 (70%)	187,200	to	307,800
Sub-Saharan Africa	155	5/15 (33%)	770	to	1500
East Africa	50	0/6 (0%)	35,300	to	90,500
Mediterranean	85,555	17/26 (65%)	239,500	to	393,600
Middle East to Central Asia	61,013	16/18 (89%)	226,200	to	416,400
South Asia	322	2/2 (100%)	1900	to	3500
Global total	214,036	53/87 (61%)	690,900	to	1,213,300

doi:10.1371/journal.pone.0035671.t014

Status of endemicity of cutaneous leishmaniasis, worldwide, 2012



The boundaries and names shown and the designations used on this map do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the World Health Organization concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries. Dotted lines on maps represent approximate border lines for which there may not yet be full agreement. © WHO 2013. All rights reserved

Data Source: World Health Organization
Map Production: Control of Neglected Tropical Diseases (NTD)
World Health Organization

World Health Organization

Alvar J, Vélez ID, Bern C, Herrero M, et al. (2012) Leishmaniasis Worldwide and Global Estimates of Its Incidence. PLoS ONE 7(5): e35671. doi:10.1371/journal.pone.0035671

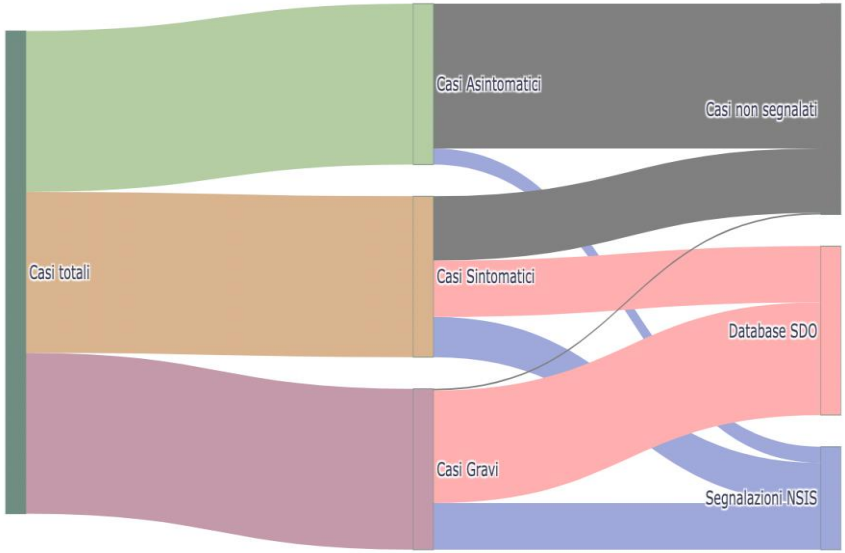
http://www.plosone.org/article/info:doi/10.1371/journal.pone.0035671

Il «Caso» Sicilia

Quali flussi informativi usare per valutare le zoonosi?

La raccolta delle informazioni sui casi di zoonosi da vettore in Sicilia è avvenuta usando parallelamente due banche dati:

- **Il sistema informativo NSIS del Ministero della Salute:** il sistema comprende segnalazioni immediate dei medici per allertare gli operatori di sanità pubblica e riepiloghi mensili di tutte le malattie infettive notificate.
- **La banca dati delle Schede di Dimissione Ospedaliera (SDO):** contiene informazioni su tutti i ricoveri, compresa la diagnosi principale e le diagnosi secondarie.



Il «Caso» Sicilia

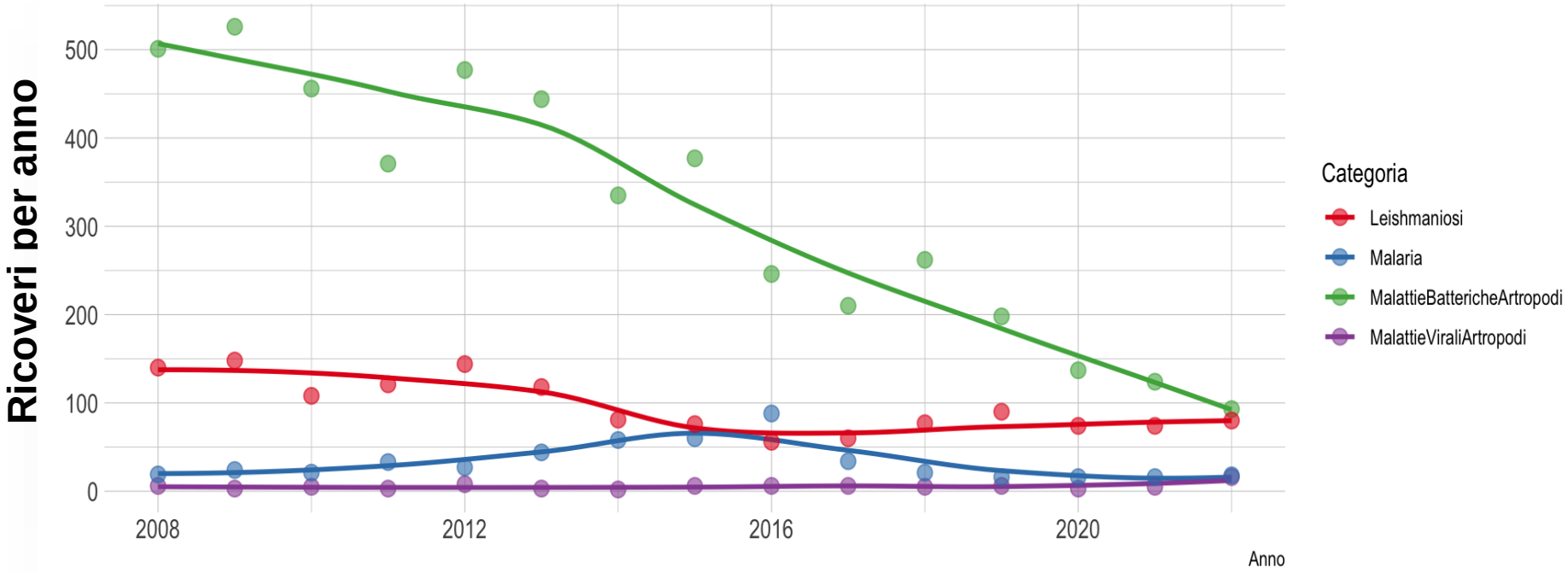
Database SDO

- **Analisi SDO di ricoveri avvenuti in Sicilia dal 2008 al 2022 -> <u>6.771 ricoveri</u>**
- Selezione dei casi usando i codici ICD9-CM **da 060.x a 085.x**
- **Raggruppamento e divisione casi in macrocategorie**

Macrocategoria	Esempi
Malattie virali da artropodi	Febbre gialla, dengue, encefalite da zanzare, encefalite da zecche, febbre emorragica da artropodi, febbre del Nilo Occidentale
Malattie batteriche da artropodi	Rickettsiosi da zecche, erlichiosi, febbre ricorrente, malattia di Lyme
Malaria	Malaria da Plasmodium falciparum, malaria da Plasmodium vivax, malaria da Plasmodium malariae, malaria da Plasmodium ovale
Leishmaniosi	Leishmaniosi viscerale, leishmaniosi cutanea secca, leishmaniosi cutanea umida, leishmaniosi cutanea diffusa, leishmaniosi cutanea americana, leishmaniosi mucocutanea

Il «Caso» Sicilia

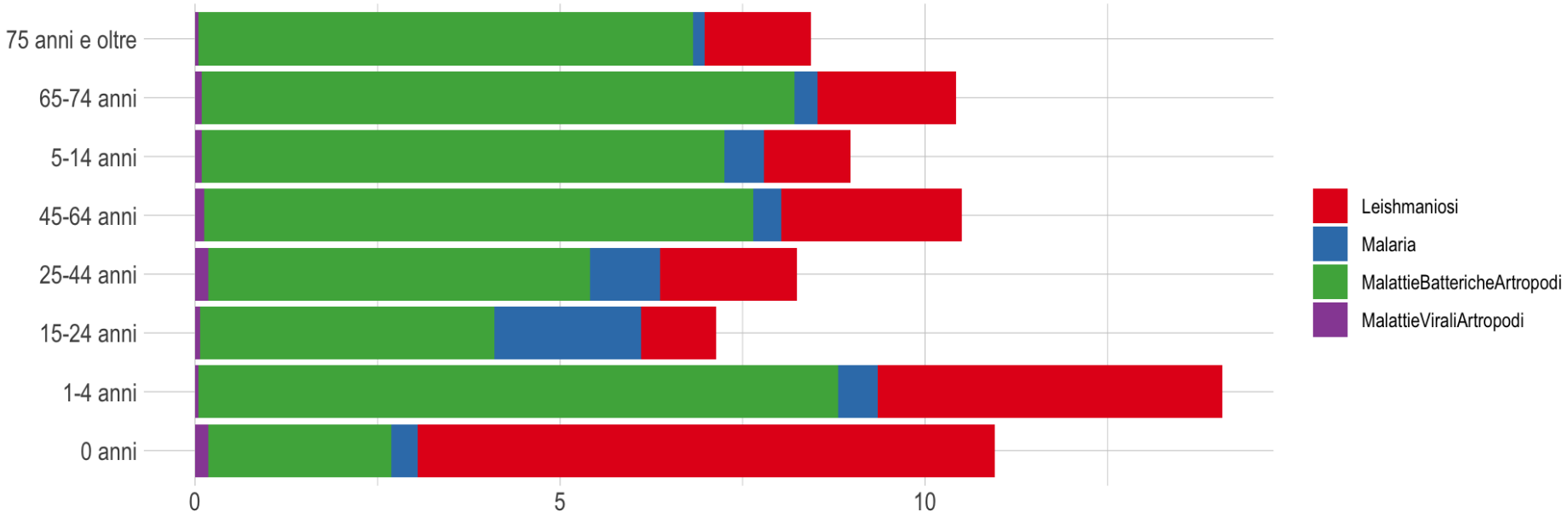
Trend ricoveri da zoonosi da vettore in Sicilia (2008-2022)



Dati aggregati flusso SDO 2008-2022 MinSal

Il «Caso» Sicilia

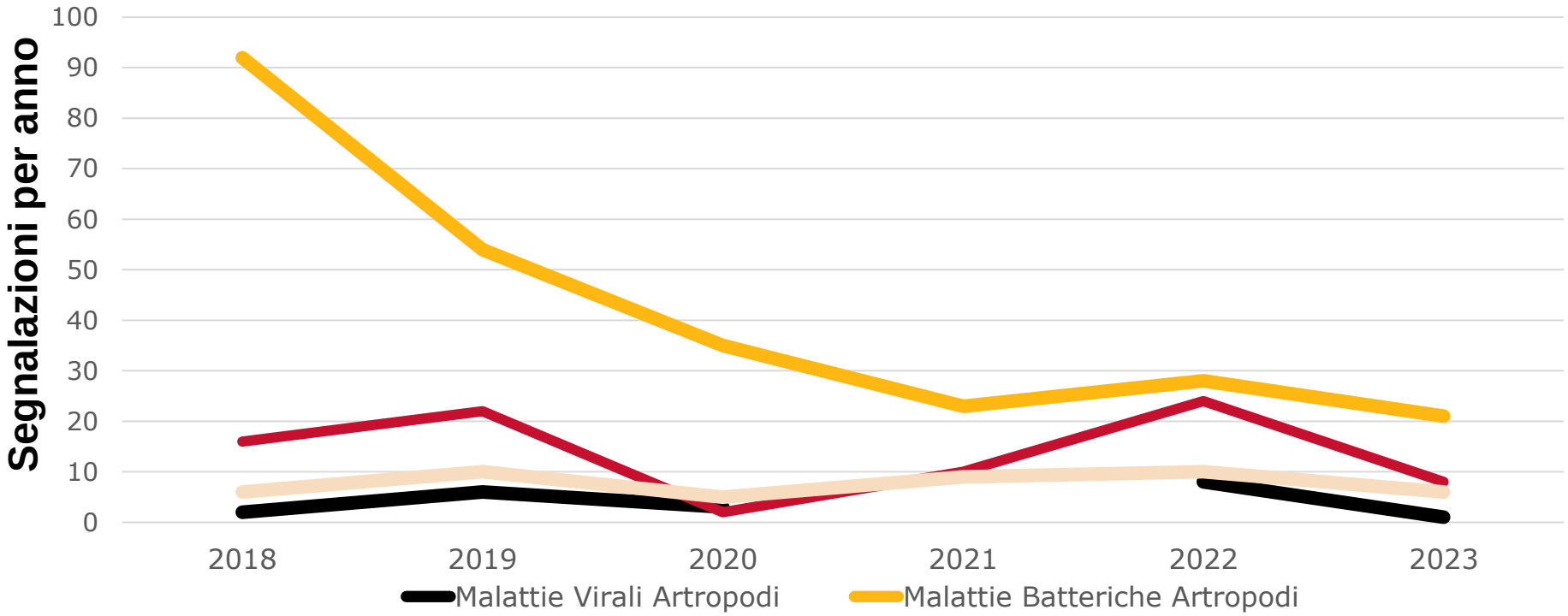
Distribuzione dei tassi di ospedalizzazione per fascia d'età (per 100.000 abitanti nel periodo 2008-2022)



Nei primi 5 anni di vita il rischio di ospedalizzazione è maggiore

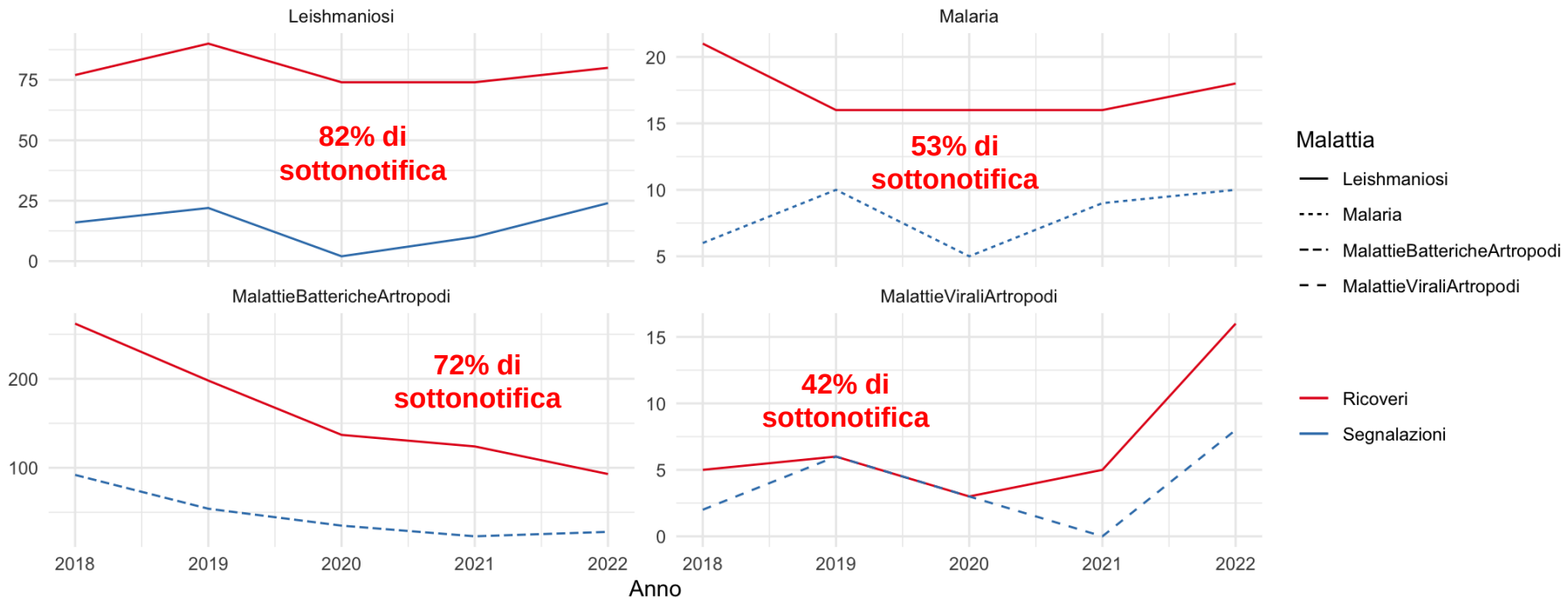
Il «Caso» Sicilia

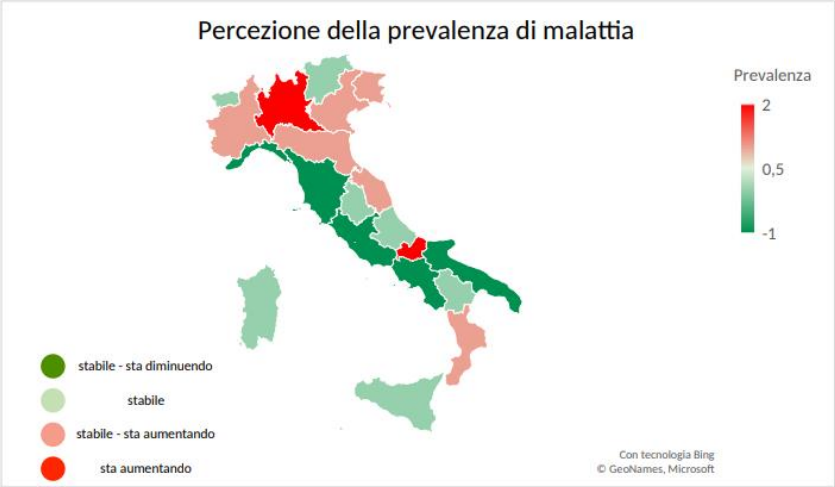
Segnalazioni casi di zoonosi da vettore (Sistema NSIS)



Il «Caso» Sicilia

Più Ricoveri che Segnalazioni = Grave sottonotifica





Mappa 4 – *Prevalenza di Leishmania infantum sul territorio italiano, secondo la percezione del medico veterinario, anno 2020.*

Domanda 3 – quanti casi di *Leishmania* hai avuto nell'arco dell'ultimo anno:

I range di risposta andavano da zero casi, 1 – 5 casi, 5 – 10 casi, 10 – 20 casi e sopra i 20.

Con il 47% (213/456) la media di casi nell'ultimo anno, 2019, è da 1 a 5 casi.

Mappa 3 – *Casi di Leishmania infantum nel cane, anno 2019, registrati dai medici veterinari.*

Domanda 20 – per quanto riguarda l'aspetto di zoonosi, nell'ultimo anno di quanti casi umani sei venuto a conoscenza:

L'82% dei medici veterinari (375/456) hanno segnalato zero casi di leishmaniosi nell'uomo, nell'anno 2019, il 16,5% (75/456) ha individuato da 1 a 5 casi.

Solo un 1,5% (8/456) di colleghi ha indicato da 5 a 20 casi (5/456), fino a più di 20 casi (3/456) nell'ultimo anno, principalmente nelle province di Bologna, Roma, Forlì Cesena, Siracusa, Asti e Ancona.

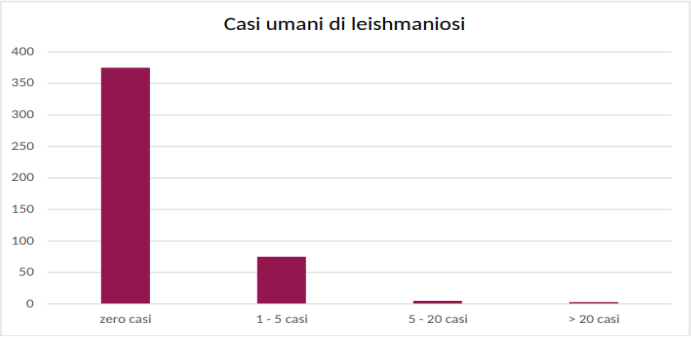


Grafico 13 – *Zoonosi, di quanti casi umani è venuto a conoscenza il medico veterinario nell'anno 2019.*

Esiste un problema di sottostima?

RELAZIONE ATTIVITA' DEL
CENTRO DI REFERENZA NAZIONALE PER LE LEISHMANIOSI
(C.Re.Na.L.)

Anno 2022 e Previsionale 2023

Responsabile scientifico: Dott. Fabrizio Vitale

1

Centro di Referenza Nazionale per le Leishmaniosi C.Re.Na.L.
tel. 0916565 368 / 450 / 348
e mail: fabrizio.vitale@izssicilia.it / biomolecolare@gmail.com
Decreto Ministeriale del 13 Febbraio 2003 pubblicato sulla G.U. del 7/4/2003, N° 81

"VACATIO LEGIS"

In giurisprudenza e in diritto, la locuzione latina **vacatio legis**, genericamente traducibile come "mancanza della legge", indica una condizione di non vigenza di una norma, sia perché ve ne sia una già emanata e che debba ancora entrare in vigore, sia perché si conosca o comunque percepisca la necessità di regolamentazione di una materia per la quale, nel periodo considerato, non vi siano norme vigenti.

Nella dialettica dottrinale, politica e sociale, invece, la locuzione esprime la necessità o almeno l'invocazione di un intervento legislativo su una materia per la quale stia montando la sensibilità civica o comunque dei gruppi di riferimento. In questo senso si parla dunque di "vacatio" quando la produzione di una norma è ritenuta necessaria per fornire una regolamentazione su argomenti di fatto affidati all'incertezza.

La Leishmaniosi animale nella accezione dialettica appena citata è a pieno titolo, già a partire dal Regolamento di Polizia Veterinaria DPR 320/54, una "vacatio legis" restando fuori dal quadro normativo che ridefinisce i principi e i criteri della strategia per il controllo e la lotta alle malattie infettive e diffusibili.

Stupisce e disorienta che un intervento contestuale e coordinato fondato su un approccio risk based di tutela della salute pubblica come quello che stiamo osservando con l'entrata in vigore del Regolamento (UE) 2016/429 del Parlamento Europeo e del Consiglio per le malattie animali trasmissibili ancora una volta ha perso l'occasione di inserire la Leishmaniosi dotandola di un quadro normativo omogeneo. Non se ne trova traccia neanche nei collegati Regolamento di esecuzione (UE) 2018/1882 della commissione del 3 dicembre 2018 e nel DLgs.136 del 5 Agosto 2022.

Eppure il citato Regolamento era finalizzato, tra l'altro, a consolidare anche dal punto di vista della valenza normativa il concetto di One Health, armonizzandolo e rendendolo cogente in tutta l'Unione europea arricchendosi del principio riassunto nello slogan: "Prevention is better than cure".

La Leishmaniosi è un perfetto paradigma di "One Health Concept" coinvolgendo nella sua patogenesi la triade della salute Uomo-Animale-Ambiente così tanto enfaticamente enunciata ma, nei fatti, scarsamente applicata pure in uno scenario così drammaticamente condizionato dal "Climate Change".

La mancanza di una solida base normativa avrà l'effetto di una inefficace strategia sanitaria mirante all'istituzione di un Piano di Sorveglianza strutturato e interconnesso non più demandato alle singole illuminate (poche per la verità) realtà locali.

Ancora una volta un'occasione mancata.

Fabrizio Vitale, DVM Tel. +390916565368 Mobile +393357895724
e-mail fabrizio.vitale@izssicilia.it
biomolecolare@gmail.com

“vacatio legis” restando fuori dal quadro normativo che ridefinisce i principi e i criteri della strategia per il controllo e la lotta alle malattie infettive e diffusibili.

1984
OMS pubblica un rapporto sul controllo parassitosi

2007
L’Assemblea mondiale della sanità – risoluzione WHA 60.131

2014
OMS
quadro strategico per il controllo della VL e CL

2017
OMS
Manuale gestione dei casi e sorveglianza nella regione europea

Decreto Ministeriale (DM) 15 dicembre 1990 recante sistema informativo delle malattie infettive e diffusive prevede la notifica obbligatoria dei casi umani di LV e di LC

a livello veterinario, la leishmaniosi è malattia soggetta a segnalamento a norma del Regolamento di Polizia Veterinaria (RPV) entrato in vigore con Decreto del Presidente della Repubblica (DPR) n. 320 dell’8 febbraio 1954 art. 5, c.3.

Rapporti ISTISAN 04/12
linee guida per il controllo del serbatoio canino della LV zoonotica in Italia

-Regolamento (UE) 2016/429
-Decreto Legislativo 2022 n 136
?

DECRETO LEGISLATIVO 4 aprile 2006, n. 191.

Attuazione della direttiva 2003/99/CE sulle misure di sorveglianza delle zoonosi e degli agenti zoonotici.

Art. 4.

Regole generali relative alla sorveglianza delle zoonosi e degli agenti zoonotici

1. Le regioni e le province autonome di Trento e di Bolzano provvedono alla raccolta dei dati pertinenti e comparabili per individuare e descrivere i pericoli, valutare l'esposizione e caratterizzare i rischi connessi alle zoonosi e agli agenti zoonotici.

2. La sorveglianza è effettuata dall'azienda unità sanitaria locale competente per territorio nella fase o nelle fasi della catena alimentare più appropriate in funzione della zoonosi o dell'agente zoonotico in questione, in particolare a livello di produzione primaria, e in altre fasi della catena alimentare, compresa la produzione di prodotti alimentari e mangimi.

3. La sorveglianza di cui al comma 2 riguarda le zoonosi e gli agenti zoonotici elencati nell'allegato I, parte *A*. In funzione della situazione epidemiologica del loro territorio, le regioni e province autonome possono porre sotto sorveglianza anche le zoonosi e gli agenti zoonotici elencati nell'allegato I, parte *B*.

GAZZETTA UFFICIALE

ALLEGATO I
(articolo 4, comma 3)

A. Zoonosi ed agenti zoonotici da sottoporre a sorveglianza:

- Brucellosi e relativi agenti zoonotici;
- Campilobatteriosi e relativi agenti zoonotici;
- Echinococcosi e relativi agenti zoonotici;
- Listeriosi e relativi agenti zoonotici;
- Salmonellosi e relativi agenti zoonotici;
- Trichinellosi e relativi agenti zoonotici;
- Tubercolosi causata da Mycobacterium bovis;
- Escherichia coli che produce verocitotossine.

B. Elenco delle zoonosi e degli agenti zoonotici da sottoporre a sorveglianza in funzione della situazione epidemiologica:

1. Zoonosi virali:
   - Calicivirus;
   - Virus dell'epatite A;
   - Virus dell'influenza;
   - Rabbia;
   - Virus trasmessi da artropodi;
2. Zoonosi batteriche:
   - Borrelliosi e relativi agenti zoonotici;
   - Botulismo e relativi agenti zoonotici;
   - Leptospirosi e relativi agenti zoonotici;
   - Psittacosi e relativi agenti zoonotici;
   - Tubercolosi diverse da quella di cui alla parte *A*;
   - Vibriosi e relativi agenti zoonotici;
   - Yersiniosi e relativi agenti zoonotici;
3. Zoonosi da parassiti:
   - Anisakiasis e relativi agenti zoonotici;
   - Criptosporidiosi e relativi agenti zoonotici;
   - Cisticercosi e relativi agenti zoonotici;
   - Toxoplasmosi e relativi agenti zoonotici.
4. Altre zoonosi ed agenti zoonotici.

Per concludere…

Situazione attuale in Europa

- L'attività del Flebotomi è stagionale, ristretta ai mesi estivi nella maggior parte delle aree
- Nel Sud Europa, sotto gli 800m sul livello del mare

Situatione futura & climate change

- Prolungati periodi di attività e più corti periodi di diapausa (overwintering)
- Estensione verso il Nord e aumento delle altitudini
- **Al momento, non sono disponibili buoni modelli predittivi**

Di quali azioni abbiamo bisogno?

Sistema di Sorveglianza di Sanità Pubblica a livello Europeo
(notifica obbligatoria in tutti I paesi)?

Ulteriori ricerche su:

- Stumenti diagnostici (nuovi, fast, affidabili)
- Nuovi reservoir
- Modelli alternativi di trasmissione
- Vaccini Efficaci per la leishmaniosis umana : strategia di immunizazione per la popolazione Mediterranea
- Uso del vaccino per la leishmaniosis canina per il controllo dell'infezione
- Un miglior modello predittivo per la trasmissione della malattia

- **Interventi contro i vettori**
  - **Repellenti**
  - **Insetticidi**
  - **Cani: applicazioni topiche e uso di collari**

CONTROLLO

- **SONO INSETTI MOLTO PICCOLI**
  Protezione meccanica
- **LARVE TERRICOLE**
  Impossibilità lotta antilarvale
- **STAGIONALI E NOTTURNI**
  Periodo trasmissione
- **DOVE RIPOSANO DI GIORNO**
  lotta chimica

Strategie di lotta al vettore

- Lotta chimica
- Monitoraggio
- Prevenzione

Una eventuale lotta con insetticidi è possibile solo contro gli adulti dei flebotomi

un "appropriato" uso di insetticidi ad azione residua può ridurre la loro densità

Misure preventive contro la puntura dei flebotomi

CHI SIAMO?
DA DOVE VENIAMO?
SCUSATE: MA DOVE CAVOLO STIAMO ANDANDO?

Quale evoluzione?

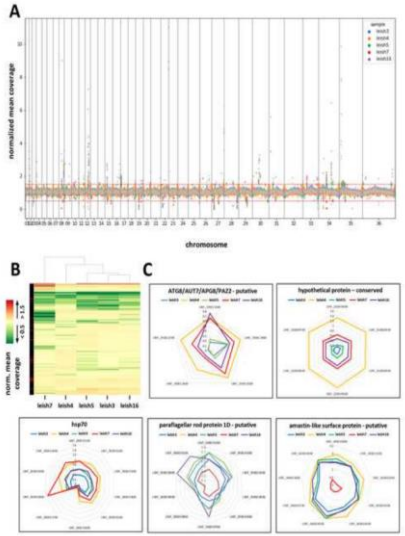
The Lancet Microbe

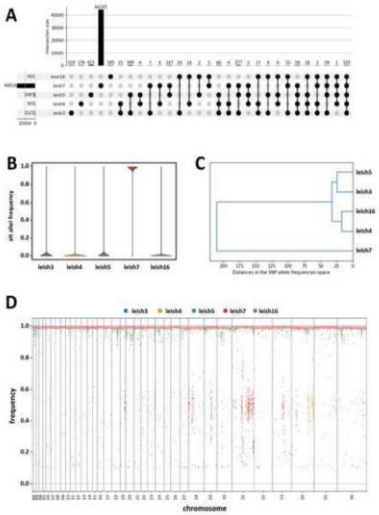
Genomic and epidemiological evidence for the emergence of a putative L. donovani/L. infantum hybrid with unusual epidemiology in Northern Italy

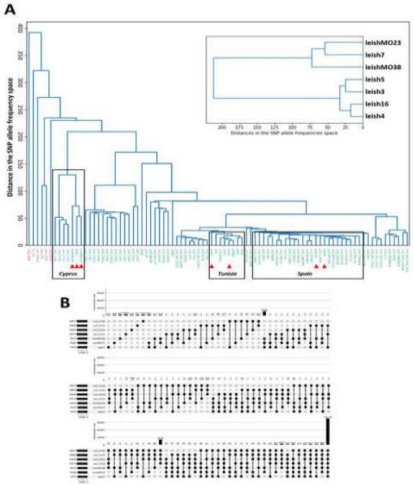
Bruno F. 1† , Castelli G. 1† , Li B. 7 , Reale S. 1 , Carra E. 2 , Vitale F. 1 , Scibetta S. 1 , Calzolari M. 2 , Varani S. 3,4, Ortalli M. 3 , Franceschini E. 5 , Gennari W. 6 , Rugna G. 2‡ and G.F. Späth 8

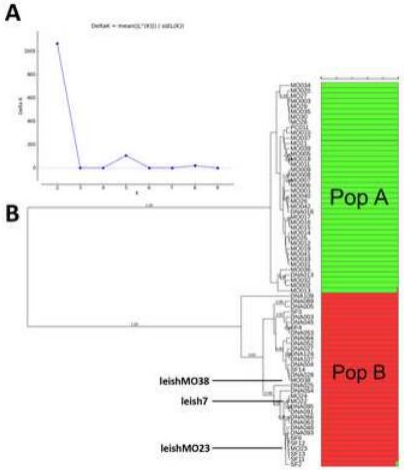
Il presente studio combina la genomica comparativa con approcci di epidemiologia molecolare in grado di fornire una prima indagine completa e ad alta risoluzione sulla diversità genetica intraspecifica e eterozigosi all'interno della specie *L. infantum* in Italia

Abbiamo rivelato una notevole eterogeneità negli isolati italiani di *L. infantum* correlati a vari genotipi di parassiti di diversa origine geografica, incluso un genotipo simile a un ibrido descritto per la prima volta in isolati provenienti da Cipro. I nostri risultati collocano l'Italia al crocevia dell'infezione da *L. infantum* nel Mediterraneo e forniscono informazioni in merito alla possibile origine delle sottopopolazioni regionali e i loro cicli di trasmissione locale.









La sfida degli studi futuri risiede nell'applicazione di un approccio transdisciplinare che combina genomica, epidemiologia, ecologia ed entomologiai per identificare cicli di trasmissione distinti e i parametri ambientali che guidano l'evoluzione di sottopopolazioni di *L. infantum* distinte e specifiche per regione con caratteristiche cliniche uniche

PLOS NEGLECTED TROPICAL DISEASES

RESEARCH ARTICLE

Genetic tools discriminate strains of *Leishmania infantum* isolated from humans and dogs in Sicily, Italy

Germano Castelli[1], Federica Bruno[1], Valentina Caputo[2], Santi Fiorella[2], Ignazio Sammarco[3], Tiziana Lupo[3], Antonella Migliazzo[1], Fabrizio Vitale[1*], Stefano Reale[3]

1 National Reference Center for Leishmaniasis (C.Re.Na.L.), Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia, Palermo, Italy, 2 Section of Dermatology, Department of Health Promotion, Maternal-Infant, Internal Medicine and Specialization of Excellence "G. D'Alessandro" (PROMISE) University of Palermo, Palermo, Italy., 3 Tecnologie Diagnostiche Innovative, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia, Palermo, Italy

* fabrizio.vitale@izssicilia.it

Check for updates

OPEN ACCESS

Citation: Castelli G, Bruno F, Caputo V, Fiorella S, Sammarco I, Lupo T, et al. (2020) Genetic tools discriminate strains of *Leishmania infantum* isolated from humans and dogs in Sicily, Italy. PLoS Negl Trop Dis 14(7): e0008465. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008465

Editor: Christine A. Petersen, University of Iowa, UNITED STATES

Received: February 26, 2020

Accepted: June 9, 2020

Published: July 24, 2020

Copyright: © 2020 Castelli et al. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: All relevant data are within the paper and its Supporting Information files. All DNA sequences obtained in the study are available from the GenBank at NCBI (AN: KM677134.1).

Funding: This work is supported by grants from "Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia", Palermo, Italy code number: RC IZS SI 02/18. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Abstract

Background

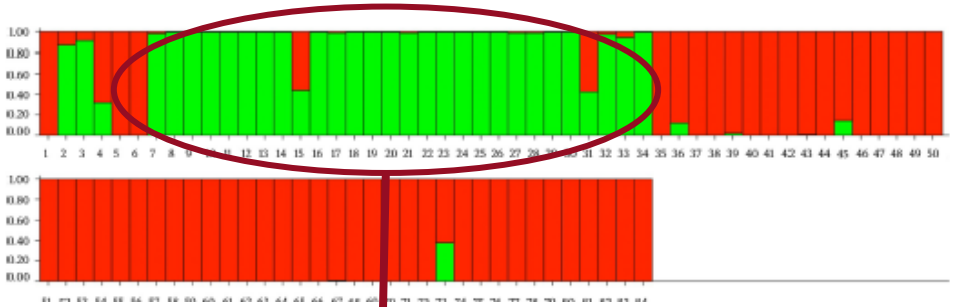
Leishmaniasis is one of the most important vector-borne diseases and it represents a serious world health problem affecting millions of people. High levels of *Leishmania* infections, affecting both humans and animals, are recognized among Italian regions. Among these, Sicily has one of the highest prevalence of *Leishmania* infection.

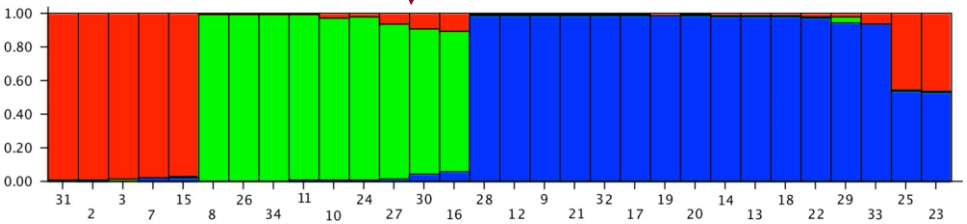
Methodology/Principal Findings

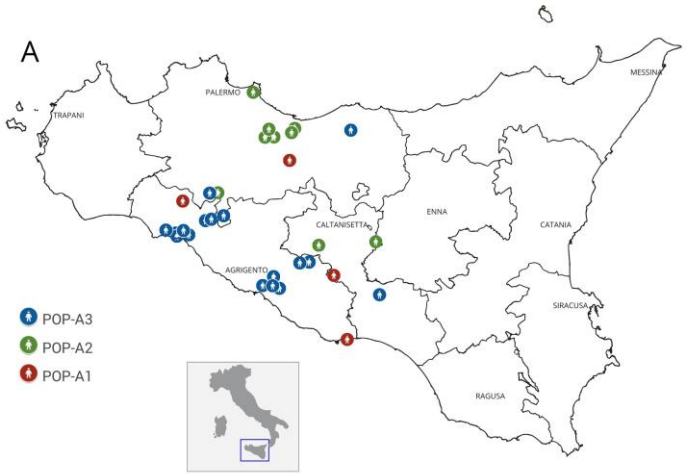
Seventy-eight *Leishmania* strains isolated from human and animal samples across Sicily, were analyzed for the polymorphic k26-gene and genotypes were assigned according to the size of the PCR products. A multilocus microsatellite typing (MLMT) approach based on the analysis of 11 independent loci was used to investigate populations structure and genetic diversity of the isolated strains. Six *L. infantum* reference strains were included in the analysis for comparison. Bayesian clustering analysis of microsatellite data showed that all the isolated strains clustered in two genetically distinct populations, corresponding to human and canine isolates respectively. A further subdivision was observed between the two main groups, giving a good correlation between human strains and their geographic origin, conversely canine population showed a great genetic variability diffused in the territory.

Conclusions/Significance

Among the 78 *Leishmania* isolates, K26 analysis detected 71 samples (91%) as MON-1 zymodeme, confirming it as the predominant strain in Mediterranean area and 7 human samples (9%) as non-MON-1. MLMT gives important insights into the epidemiology of leishmaniases and allows characterization of different strains to a higher resolution than possible with zymodeme typing. Two main populations presented a strong correlation respect to the different hosts, exhibiting a co-circulation of two distinct populations of *L. infantum*. The







Conclusioni

- ✓ Principali problemi esistenti ed emergenti a livello Mondiale legano strettamente tra loro l'uomo, gli animali e l'ambiente.
- ✓ Pensare che approcci settoriali o monodisciplinari siano in grado di controllarli è *utopistico*.
- ✓ E' necessario invece un approccio olistico, un approccio di Salute Unica *(One Health approach)*, in cui i diversi operatori della salute dell'uomo, degli animali e dell'ambiente lavorino in sinergia.
- ✓ Gli scenari futuri e le sfide che la salute globale comporta impongono cambiamenti culturali, formativi e comportamentali, anche nell'ambito della Sanità pubblica veterinaria e più in generale della professione veterinaria

One Health:
Un "Concept" per il 21° secolo

Il One Health concept è una strategia globale per espandere:

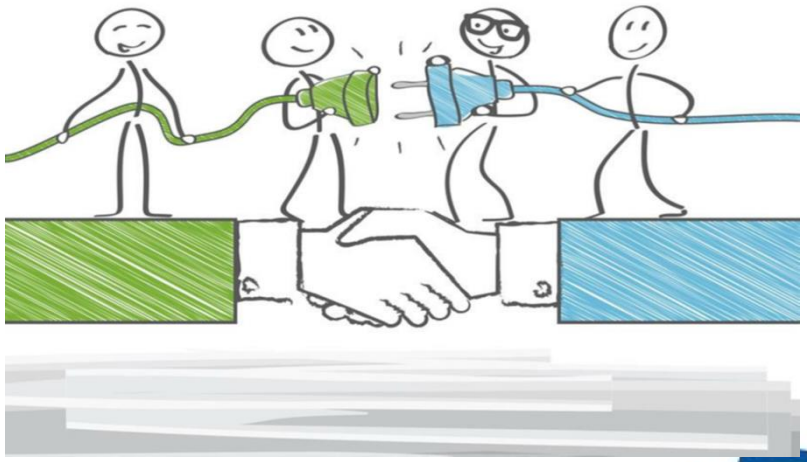
- La collaborazione interdisciplinare e la comunicazione in tutti gli aspetti della cura della Salute
- Accelerare le scoperte della ricerca biomedica
- Accrescere l'efficacia della Medicina Pubblica
- Espandere la Conoscenza Scientifica di base
- Migliorare l'Educazione medica e le Cure Cliniche

Grande punto critico

Ineguaglianza nella distribuzione delle risorse tecnologiche, finanziarie e umane.

Malattie «Neglette»

Se i germi attraversano senza problemi tutte le frontiere, sociali e geografiche, le risorse, sono bloccate alle frontiere fra paesi ricchi e poveri.



La Leishmaniosi: Un esempio di quanto è essenziale il concetto di One Health

- **Medici** per riconoscere e trattare le forme cliniche umane (CL/VL)
- **Veterinari** per riconoscere e trattare le forme cliniche animali
- **Biologi / Tecnici di Lab.** per ottimizzare i laboratori di ricerca
- **Entomologi** per monitorare i vettori
- **Esperti di Selvatici** per individuare i serbatoi non antropizzati
- **Ecologisti** per responsabilizzare le autorità sanitarie ai principi di igiene pubblica
- **Epidemiologi** per delineare le strategie di sorveglianza
- **Media** per informare sui rischi e la prevenzione

Grazie per l'attenzione!