

# I FLEBOTOMI COME RISCHIO EMERGENTE

L'ITALIA SI CONFERMA UNA ZONA ENDEMICA PER LA CIRCOLAZIONE DI LEISHMANIA SPP. E ARBOVIROSI. SERVONO ULTERIORI MONITORAGGI E INTERVENTI DA PARTE DELLE ISTITUZIONI PER CONOSCERE MEGLIO LA CIRCOLAZIONE DEI PATOGENI E PER PREVENIRE LA DIFFUSIONE DELLE MALATTIE TRASMESSE DAI VETTORI.

I flebotomi sono insetti ditteri di piccole dimensioni (2-4 mm) di colore giallo pallido o sabbia (per questo chiamati in inglese *sand fly*) con lunghe zampe esili e ricoperti da una fitta peluria (foto 1). Il ciclo biologico si svolge in una metamorfosi completa che prevede uno stadio embrionale di uovo, quattro stadi larvali e uno di pupa. Gli adulti sono attivi durante la fase crepuscolare-notturna. Molte specie mostrano un picco di densità immediatamente dopo il tramonto, mentre di giorno sono soliti rifugiarsi in luoghi relativamente freschi e umidi quali stalle, pollai, cantine, abitazioni, fessure di muri, di roccia e di suolo. A differenza dei maschi, impollinatori, le femmine presentano anche attitudine ematofaga. Infatti, in seguito all'accoppiamento, la femmina deve necessariamente compiere un pasto di sangue su ospiti vertebrati per dare inizio al processo di formazione delle uova. Nel fare ciò, durante l'assunzione del pasto può venire a contatto con diversi agenti patogeni, tra i quali parassiti protozoi del genere *Leishmania spp.* e *Phlebovirus*. Queste zoonosi sono a oggi considerate in espansione sia in termini di incidenza sia di diffusione territoriale, principalmente a causa dei cambiamenti climatici in atto.

Attualmente non sono presenti a livello nazionale dati relativi alla presenza e alle dinamiche storico-geografiche delle diverse specie di flebotomi a causa della mancanza di sistematicità e standardizzazione del monitoraggio. Nel 2019, con il progetto Ccm "Definizione della strategia integrata di gestione dei vettori e sua applicazione nei Piani comunali arboviroso nella Rete città sane", ha avuto inizio un piano di indagine entomologica in sette regioni italiane nell'ambito della sorveglianza West Nile, arboviroso trasmessa dalla zanzara del genere *Culex spp.* per la quale si sono registrati diversi *outbreak* in Italia negli ultimi anni. Durante le stagioni di attività ciascun Istituto zooprofilattico coinvolto nel progetto ha effettuato catture nei siti regionali più sensibili mediante

l'utilizzo di trappole provviste di una sorgente luminosa e, in alcuni casi, di un attrattivo a base di anidride carbonica per migliorarne l'efficienza (foto 2). Una volta selezionati, i flebotomi sono stati mantenuti in congelatore (T= -80 °C) per evitare la degradazione del materiale genetico e per effettuare le successive analisi. Il protocollo utilizzato prevede una prima fase di identificazione morfologica per risalire alla specie di appartenenza, il raggruppamento dei conspecifici per sesso, sito e data di cattura e successivamente analisi molecolari (nested-PCR e Real Time-PCR) per la ricerca di *Leishmania spp.* e *Phlebovirus*.

Complessivamente sono state effettuate 1.210 sessioni di cattura in 138 comuni italiani con una raccolta totale di 171.970 flebotomi, il 30,6% (N=52672) dei quali sono stati identificati morfologicamente come segue: *Phlebotomus perfiliewi* (91,81%), *Ph. perniciosus* (6,4%), *Sergentomyia minuta* (1,61%), *Ph. mascittii* (0,17%), *Ph. papatasi* (0,01%) e *Ph. neglectus* (0,004%); con rapporto sessi fortemente sbilanciato a favore delle femmine (76,6%). La ricerca dei patogeni conferma la presenza del parassita *Leishmania spp.* in Italia, nello specifico in sette comuni del Piemonte, tre comuni della Sardegna e del Veneto e in due della Toscana; mentre la circolazione del Toscana virus in un solo comune di Lazio, Piemonte, Sardegna e Veneto (figura 1). Inoltre, a supporto dei dati, sono state effettuate catture *ad hoc* che, in seguito a dissezione microscopica, hanno confermato la circolazione di stadi infettanti di *Leishmania spp.* presso i comuni di Magliano in Toscana (GR), Este (PD) e Olmedo (SS); in quest'ultimo è stata evidenziata, per la prima volta, anche la presenza di *Trypanosoma platydictyli* in *Ph. perniciosus*. Andando a osservare in dettaglio i singoli contributi di ciascuna regione emerge quanto segue.

## Emilia-Romagna

Durante il biennio 2020-2021 sono stati catturati 94.547 esemplari in 20



1



2

Comuni. Delle 146 catture collezionate ne è stato identificato il 7,2%, di cui il 99,68% riconducibile a *Ph. perfiliewi*, 0,29% *Ph. perniciosus* e solo lo 0,03% *Ph. mascittii*; facendo rilevare le seguenti prevalenze di infezione naturale: 0,4% per *Leishmania spp.* e 0,04% per *Toscana virus*.

## Veneto e Friuli Venezia Giulia

Sono stati catturati 4.740 esemplari dal 2021 al 2022, per un totale di 302 catture in 33 Comuni. L'85% dei flebotomi

1 Esempio femmina di flebotomo in seguito al pasto di sangue.

2 Trappola per la cattura di artropodi di interesse sanitario provvista di sorgente luminosa, del tipo Cdc-light trap.

identificati ha messo in evidenza la prevalenza di *Ph. perniciosus* (62,4%) a seguire di *Ph. perfliewi* (34,2%), *Ph. neglectus* (1,9%), *Se. minuta* (1,5%) e *Ph. mascittii* (0,1%). Dei 4.029 esemplari analizzati lo 0,4% e lo 0,05% sono risultati positivi a *Leishmania spp.* e *Toscana virus* rispettivamente.

#### Lazio e Toscana

Dal 2018 fino al 2022 in 19 comuni sono state effettuate 413 catture che hanno portato alla raccolta di 15.311 esemplari di cui la metà sono riconducibili quasi esclusivamente a *Ph. perfliewi* (99,87%) e solo un numero esimo a *Ph. perniciosus* (0,07%) e *Se. minuta* (0,06%). Le analisi molecolari condotte su un sotto campione di 7.700 individui ha evidenziato una prevalenza rispettivamente dello 0,1% e dello 0,01% per *Leishmania spp.* e *Toscana virus*.

#### Sardegna

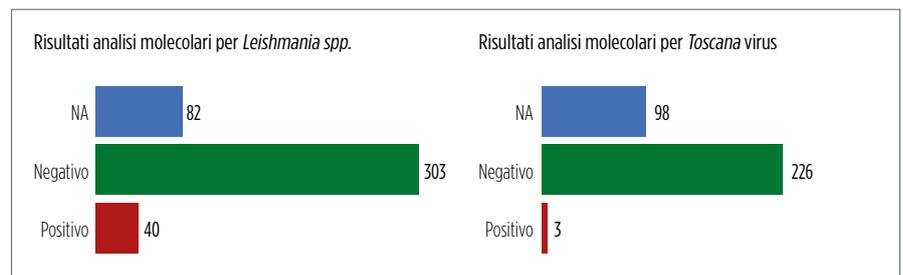
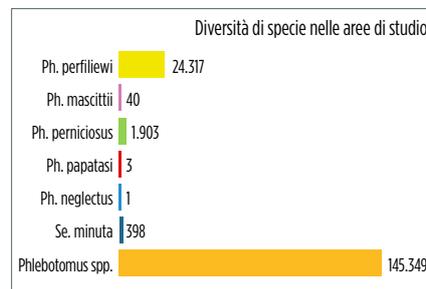
Le 354 catture svoltesi tra il 2020 e 2021 hanno permesso di raccogliere 3.346 esemplari appartenenti alle seguenti specie: *Ph. perniciosus* (60,01%), *Se. minuta* (22,53%) e *Ph. perfliewi* (17,39%). Nel sotto campione di esemplari analizzati (N=1.673) la prevalenza di infezione naturale si attesta sullo 0,4% per *L. tarentolae* e 0,06% per *Toscana virus*.

#### Piemonte

Sebbene non sia stata coinvolta come Unità operativa del piano, nel 2020 e nel

FIG. 1  
PRESENZA DI FLEBOTOMI IN ITALIA

Mappa dei siti di cattura, composizione delle specie e prevalenza d'infezione da *Leishmania spp.* e *Toscana virus*



2021, la Regione Piemonte, attraverso Ipla spa, ha svolto 202 sessioni di cattura in 39 comuni. Come per la Sardegna, dei 493 esemplari catturati, la maggior parte è riconducibile a *Ph. perniciosus* (62,5%), mentre il 25,4% a *Ph. perfliewi*, l'11,2% a *Ph. mascittii* e solo lo 0,9% a *Se. minuta*. Le analisi molecolari hanno messo in evidenza un'elevata prevalenza di *Leishmania spp.* (3%) nei campioni analizzati e, per la prima volta nel

territorio piemontese, la presenza di *Toscana virus* (0,2%).

I risultati qui riportati mostrano che l'Italia si conferma una zona endemica per la circolazione di *Leishmania spp.* e arbovirus da flebotomi e che servono ulteriori monitoraggi anche in contesti nazionali inesplorati al fine di avviare un nuovo flusso di informazioni e interventi da parte di enti istituzionali e regionali per conoscere con maggior dettaglio la circolazione dei patogeni e quindi prevenire la diffusione delle malattie trasmesse da vettori.

**Gioia Bongiorno<sup>1</sup>, Riccardo Bianchi<sup>1</sup>, Ilaria Bernardini<sup>1</sup>, Claudia Mangiapelo<sup>1</sup>, Eleonora Fiorentino<sup>1</sup>, Trentina Di Muccio<sup>1</sup>, Aldo Scalone<sup>1</sup>, Stefania Orsini<sup>1</sup>, Claudia Fortuna<sup>1</sup>, Giulietta Venturi<sup>1</sup>, Adele Magliano<sup>2</sup>, Irene Del Lesto<sup>2</sup>, Claudio De Liberato<sup>2</sup>, Alessandro Mosca<sup>7</sup>, Alice Michelutti<sup>4</sup>, Fabrizio Montarsi<sup>4</sup>, Cipriano Foxi<sup>5</sup>, Mattia Calzolari<sup>3</sup>, Michele Dottori<sup>3</sup>, Giuseppe Satta<sup>5</sup>, Luigi Gradoni<sup>1</sup>, Paola Angelini<sup>6</sup>**

1. Istituto superiore di sanità, Dmi, Unit of Vector-borne Diseases, Roma
2. Istituto zooprofilattico sperimentale del Lazio e della Toscana, Roma
3. Istituto zooprofilattico sperimentale della Lombardia e dell'Emilia-Romagna, Brescia
4. Istituto zooprofilattico sperimentale delle Venezie, Legnaro
5. Istituto zooprofilattico sperimentale della Sardegna, Sassari
6. Servizio Prevenzione collettiva e sanità pubblica, Regione Emilia-Romagna
7. Ipla spa, Area tecnica Territorio e agricoltura, Torino

## RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

Busani L., Mughini Gras L., Romi R., Boccolini D., Severini F., Bongiorno G., Khoury C., Bianchi R., Gradoni L., Capelli G., Zanzare, *flebotomi e zecche: atlante bibliografico delle specie d'interesse sanitario in Italia (1985-2009)*, Roma, Istituto superiore di sanità, 2012, Rapporti Istituzionali 12/22.

Riccardo F., Bella A., Monaco F. et al., "Rapid increase in neuroinvasive West Nile virus infections in humans, Italy, July 2022", *Euro Surveill*, 2022;27(36):2200653. doi:10.2807/1560-7917.ES.2022.27.36.2200653.

Romi R., Khoury C., Bianchi R., Severini F., *Artropodi di interesse sanitario in Italia e in Europa*, Istituto superiore di sanità, 2012, Rapporti Istituzionali 12/41.

Mary C., Faraut F., Lascombe L., Dumon H., "Quantification of *Leishmania infantum* Dna by a real-time Pcr assay with high sensitivity", *J Clin Microbiol.*, 2004, 42(11):5249-5255.

Bongiorno G., Foxy C., Bernardini I. et al., "Species abundance, seasonal dynamics and natural infection prevalences of sand flies from Sardinia island (Italy)", *Proceedings of the 22nd European Society for Vector Ecology Conference*, 2022, 73.

Bongiorno G., Bianchi R., Bernardini I. et al., "Longitudinal study of a sand flies cohort from seven Italian Regions and molecular detection of phlebotomine-borne diseases as base line for risk-map implementation", *Atti XXXII congresso della società italiana di parassitologia*, 2022, Isbn 978-88-943575-2-3.

Gramiccia M., Gradoni L., Maroli M., "Caractérisation enzymatique de *Trypanosoma platydictyli* Catoullard, 1909 isolé de *Sergentomyia minuta minuta* Rondani, 1843 en Italie", *Annales de parasitologie humaine et comparée*, 64.2 (1989): 154-156.

Van Eys G.J.J.M., Schoone G.J., Kroon N.C.M., "Sequence analysis of small subunit ribosomal Rna genes and its use for detection and identification of *Leishmania* parasites", *Molecular and Biochemical Parasitology*, 1992, 51, 133-142.