

Prognosi e monitoraggio della Leishmaniosi Canina

RIASSUNTO

In questa rassegna sono illustrate le raccomandazioni del Gruppo di Studio sulla Leishmaniosi Canina (GSLC) sulla prognosi e il monitoraggio dei cani con leishmaniosi. Le raccomandazioni sono state elaborate tenendo conto delle recenti pubblicazioni scientifiche e sulla base dell'esperienza professionale dei membri del GSLC. La prognosi della leishmaniosi canina è oggi più favorevole rispetto al passato e non deve più essere considerata ineluttabilmente infausta, specie in assenza di gravi problemi renali e se la malattia viene trattata e monitorata correttamente. Formulare una prognosi in cani con leishmaniosi infetti o malati è comunque complesso perché le pubblicazioni disponibili sono scarse e mancano studi controllati che valutino specificamente i fattori prognostici. Per quanto riguarda l'infezione, il monitoraggio protratto nel tempo è essenziale al fine di identificare rapidamente l'insorgenza della malattia, cosa che può verificarsi anche a distanza di anni dal momento in cui è stata diagnosticata l'infezione. La prognosi della malattia dipende, in larga misura, dalla gravità delle alterazioni clinico-patologiche, in particolare dei danni renali, e dalla risposta individuale del paziente alla terapia. Altrettanto fondamentale è il monitoraggio dei pazienti per valutare sia il raggiungimento della remissione clinica sia l'adeguatezza della risposta al trattamento specifico.

**Xavier Roura¹, Alessandra Fondati²,
George Lubas³, Luigi Gradoni⁴,
Michele Maroli⁵, Gaetano Oliva⁶,
Saverio Paltrinieri⁷, Andrea Zatelli⁸,
Eric Zini⁹**

¹ Dr., DVM, PhD, Dipl ECVIM-CA, Servei de Medicina Interna, Hospital Clínic Veterinari, Universitat Autònoma de Barcelona, Spagna (E)

² Dr., DVM, PhD, Dipl ECVI, Clinica Veterinaria San Marco, via Sorio 114/c, Padova; Centro Veterinario Prati, viale delle Milizie 1/a, Roma (I)

³ Prof., DVM, Dipl ECVIM-CA Internal Medicine, Dipartimento di Clinica Veterinaria, Università di Pisa, Via Livornese, lato monte, San Piero a Grado, Pisa (I)

⁴ Dr., BSc, PhD, Dirigente di Ricerca, Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie e Immunomediate, Reparto di Malattie trasmesse da Vettori e Sanità Internazionale, Istituto Superiore di Sanità, V.le Regina Elena 299, Roma (I)

⁵ Dr., BSc, PhD, già Dirigente di Ricerca, Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie e Immunomediate, Reparto di Malattie trasmesse da Vettori e Sanità Internazionale, Istituto Superiore di Sanità, V.le Regina Elena 299, Roma (I)

⁶ Prof., DVM, Ordinario di Clinica Medica Veterinaria, Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie, Università di Napoli Federico II, Via Federico Delpino 1, Napoli (I)

⁷ Prof., DVM, PhD, Dipl ECVCP, Dipartimento di Patologia Animale Igiene e Sanità Pubblica Veterinaria, Università di Milano, Via Celoria 10, Milano (I)

⁸ Dr., DVM, Clinica Veterinaria Pirani, Via Majakowski 2/L,M,N, Reggio Emilia (I)

⁹ Dr., DVM, PD, PhD, Dipl ECVIM-CA, Istituto Veterinario di Novara, Strada provinciale 9, 28060 Granozzo con Monticello, Novara (I), Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie, Università di Padova, Viale dell'Università 16, 35020 Legnaro (I)

INTRODUZIONE

Nel novembre 2005 è stato creato il Gruppo di Studio sulla Leishmaniosi Canina (GSLC) tra le cui finalità c'è il raggiungimento di un approccio diagnostico e terapeutico razionale ed omogeneo nei confronti dei cani con leishmaniosi. A partire dal 2005 il GSLC ha presentato raccomandazioni e linee guida su diagnosi, terapia e prevenzione della leishmaniosi in numerose sedi congressuali e le ha pubblicate su riviste nazionali e internazionali.¹⁻⁸ In questa rassegna sono illustrate le raccomandazioni del GSLC sulla prognosi e il monitoraggio dei cani con leishmaniosi. Si tratta di informazioni elaborate basandosi sulle pubblicazioni scientifiche disponibili e sulla esperienza professionale degli appartenenti al Gruppo.

PROGNOSI

La prognosi è la previsione del decorso e dell'esito di una determinata condizione patologica⁹ e in generale dipende dalla gravità della malattia, dalle terapie effettuate e dalla risposta dell'organismo. Nei cani con leishmaniosi purtroppo non è facile emettere una prognosi perché le informazioni disponibili sono scarse e mancano studi controllati che valutino i fattori prognostici.¹ Recentemente è stata posta l'attenzione sull'utilità della stadiazione della leishmaniosi ai fini di formulare la prognosi, decidere il trattamento e valutarne l'efficacia.^{2,5,7,10} Lo stadio, che viene definito in prima istanza al momento della diagnosi, raggruppa i

A CURA DEL GRUPPO DI STUDIO SULLA LEISHMANIOSI CANINA (G.S.L.C.)

"Articolo ricevuto dal Comitato di Redazione il 18/04/2012 ed accettato per la pubblicazione dopo revisione il 19/04/2012".

pazienti in base alle alterazioni cliniche e clinico-patologiche e alla risposta anticorpale specifica, cioè quei parametri, di solito correlati tra loro, utili a definire la gravità della malattia.^{11,12} La stadiazione del paziente deve essere man mano rivalutata e, se necessario, modificata in funzione dell'evoluzione positiva o negativa dell'infezione e della malattia.^{7,8,10} Nella Tabella I è riportata la proposta del GSLC per stadiazione dei cani con leishmaniosi, con o senza alterazioni cliniche e clinico-patologiche, in cui si riscontrino parassiti o anticorpi circolanti specifici.^{2,8}

Per i cani in stadio A, la prognosi è da considerarsi favorevole e la presenza di anticorpi circolanti può essere temporanea.^{1,2,7,8} Un quarto circa dei cani esposti provenienti da regioni in cui la leishmaniosi è endemica può andare incontro a sieroreversione spontanea in pochi mesi e in assenza di terapia.^{13,14}

Anche per i soggetti in stadio B la prognosi è favorevole se l'infezione, che in molti cani è da considerarsi persistente, non progredisce a malattia.^{1,2,7,8} L'identificazione citologica del parassita negli strisci linfonodali o midollari, associata a un progressivo aumento dei titoli anticorpali, rappresentano una chiara dimostrazione della progressione dell'infezione verso la malattia. I cani infetti possono sviluppare la malattia nell'arco di settimane o di anni, oppure restare infetti e non manifestare alterazioni cliniche o clinico-patologiche per anni e forse, in alcuni, casi per tutta la durata della loro vita.¹⁵

In condizioni naturali ed in assenza di terapia, viene riportato che dal 30 al 70% circa dei cani infet-

ti, provenienti da aree in cui la leishmaniosi è endemica, non sviluppa la malattia nell'arco di 2-3 anni dal momento della diagnosi.^{14,16-18} Purtroppo non è disponibile attualmente nessuna indagine che, singolarmente, nel momento in cui si diagnostica l'infezione, permetta di anticipare se il cane infetto si ammalerà o meno. La risposta immunitaria specifica e i fattori genetici sembrano essere importanti per determinare la resistenza del paziente nei confronti del parassita e per condizionare quindi sia la progressione da infezione a malattia sia la negativizzazione temporanea o definitiva di esami parassitologici diretti eseguiti tramite indagini microscopiche o reazione a catena della polimerasi (PCR).^{10,15,17} A questo proposito vale la pena ricordare che nel *Podenco Ibcenco* è stata documentata una risposta immunitaria cellulo-mediata specifica predominante, con resistenza relativa all'infezione.¹⁹ D'altro canto nel *Boxer* si riporta una elevata suscettibilità, con frequente evoluzione dell'infezione a malattia.²⁰

La prognosi è da considerarsi infausta se la malattia è grave e non viene trattata.¹² Se invece la malattia viene adeguatamente trattata la prognosi per i cani in stadio C, D ed E dipende principalmente dalla gravità delle alterazioni clinico-patologiche presenti all'inizio della terapia, in particolare dall'entità dei danni renali, oltre che dalla risposta individuale del paziente alla terapia stessa.²¹ La gravità del danno renale dovrebbe essere valutata in modo oggettivo seguendo quanto raccomandato dalla *International Renal Interest Society (IRIS)* per la stadiazione delle malattie renali croniche del cane.²²

TABELLA I
Stadiazione della leishmaniosi canina

Stadio	Definizione del paziente	Descrizione e diagnosi
A	Esposto	Cane senza alterazioni cliniche e/o clinico-patologiche dimostrabili attribuibili alla leishmaniosi, nel quale i test diagnostici parassitologici risultino negativi ma siano evidenziabili titoli anticorpali specifici < a 4 volte il valore soglia del laboratorio di riferimento. I cani esposti solitamente soggiornano o hanno soggiornato in un'area dove è accertata la presenza di flebotomi.
B	Infetto	Cane senza alterazioni cliniche e/o clinico-patologiche dimostrabili attribuibili alla leishmaniosi, nel quale è possibile mettere in evidenza il parassita con metodi diretti (microscopia, coltura o PCR) con o senza titoli anticorpali specifici < a 4 volte il valore soglia del laboratorio di riferimento.
C	Malato	Cane infetto nel quale sia dimostrabile qualunque alterazione clinica e/o clinico-patologica riferibile a leishmaniosi e nel quale siano evidenziabili il parassita o titoli anticorpali specifici ≥ a 4 volte il valore soglia del laboratorio di riferimento.
D	Malato con quadro clinico grave	Cane malato affetto da: (i) nefropatia proteinurica; (ii) insufficienza renale cronica; (iii) gravi malattie oculari che possano comportare la perdita funzionale e/o richiedano terapie immunosoppressive; (iv) gravi malattie articolari che possano invalidare la funzione motoria e/o richiedano terapie immunosoppressive; (v) gravi malattie concomitanti.
E	Refrattario Recidivo	(Ea) Cane malato refrattario al trattamento (Eb) Cane malato sottoposto a trattamento, con recidiva precoce

Anche la correttezza del protocollo terapeutico adottato influisce sulla prognosi. Va sottolineato che le informazioni riportate di seguito relative sia alla prognosi sia al monitoraggio si riferiscono a cani trattati con antimonio di N-metilglucammina e allopurinolo, la terapia anti-*Leishmania* specifica considerata al momento d'elezione.^{2,4,7,21} Teoricamente, tuttavia, dato che negli studi finora pubblicati l'efficacia clinica e l'attività leishmanicida della combinazione di miltefosina e allopurinolo sembrano sovrapponibili, anche la prognosi e il monitoraggio dovrebbero esserlo.²³ Deve essere comunque ricordato che la quantità di dati disponibili relativi a quest'ultimo protocollo terapeutico è di gran lunga inferiore rispetto a quanto noto sull'associazione di antimoniali e allopurinolo. In assenza di gravi problemi renali (stadio IRIS 1-2, creatinemia <2,1 mg/dl) la prognosi della leishmaniosi in cani trattati con antimonio di N-metilglucammina e allopurinolo è da ritenersi da favorevole a riservata.^{24,25} D'altra parte, in cani con leishmaniosi e malattia renale grave (stadio IRIS 3-4) la risoluzione completa delle alterazioni clinico-patologiche è di solito poco frequente e la prognosi, pur essendo scarsi i dati pubblicati, è da considerarsi da riservata ad infausta.²⁶⁻³⁰ I problemi renali in stadio avanzato appaiono infatti rappresentare la causa principale di morte spontanea o di motivo di dover considerare l'eutanasia in cani con leishmaniosi.^{29,31-33}

In uno studio eseguito in Olanda oltre 20 anni fa, solo 4 su 14 cani con leishmaniosi, azotemici all'inizio del trattamento con antimoniali, sopravvivevano per oltre un anno.³⁴ La prognosi era migliore in cani senza malattia renale in cui il 75% dei pazienti trattati viveva, con una buona qualità di vita, per oltre 4 anni.^{24,34-36} Nella maggior parte dei casi i segni clinici scomparivano durante la terapia, anche se nei 2 anni successivi si osservavano recidive in più del 70% dei cani.^{24,34-36} Uno studio condotto in Spagna nel 1999 ha evidenziato che 61 cani azotemici con leishmaniosi sopravvivevano per circa 4 mesi dal momento della diagnosi, mentre 32 cani con danno glomerulare non azotemici vivevano in media per 13 mesi.²⁶ Uno studio più recente eseguito dallo stesso autore ha mostrato che un trattamento combinato per la leishmaniosi (antimonio di N-metilglucammina e allopurinolo) e per la malattia renale [dieta specifica e inibitori dell'enzima di conversione dell'angiotensina (ACE inibitori)] migliorava la sopravvivenza dei cani. Con questo protocollo terapeutico 13 su 25 cani con danno glomerulare senza azotemia vivevano per più di 22 mesi. Inoltre, in 7 su 9 cani azotemici la sopravvivenza era superiore ai 9 mesi.²⁷ Al momento attuale, grazie alle acquisizioni scientifiche sulla diagnosi e la terapia sia della leishmaniosi;^{7,8,10} sia delle malattie renali,³⁷ la prognosi della leishmaniosi nel cane, con o senza malattia renale, è più favorevole rispetto al passato.^{7,10,25} In

uno studio recente su 23 cani con profilo renale nella norma o con modesta proteinuria [rapporto proteinuria/creatininuria (PU/CU) <1] sono state ottenute sia la scomparsa dei segni clinici sia la normalizzazione dei parametri clinico-patologici nel 90% dei pazienti già dopo i primi 3 mesi di terapia con antimoniali e allopurinolo.²⁵ In un altro studio spagnolo, in cani con malattia renale di lieve entità (stadio IRIS 1 con o senza proteinuria) sono stati osservati un miglioramento parziale della funzione renale e una buona sopravvivenza dopo terapia specifica.²⁹ D'altro canto, nello stesso studio, pazienti azotemici con leishmaniosi e insufficienza renale avevano una prognosi peggiore e la progressione della malattia renale rappresentava la causa più comune di morte.²⁹

Appare quindi che nei cani con danno renale grave (stadio IRIS 3-4), soprattutto se anemici e in acidosi metabolica, la prognosi è determinata pressoché esclusivamente dalla gravità del problema renale. Tuttavia, nei cani in stadio IRIS 1-2 la prognosi dipende, oltre che dall'intensità della eventuale proteinuria, anche dalla risposta ad una terapia corretta, sia anti-*Leishmania* sia anti-proteinurica.¹ Ad esempio, la prognosi dei pazienti in stadio IRIS 1-2 in cui non si osserva riduzione della proteinuria con la terapia sembra essere più sfavorevole rispetto a quella di cani, sempre in stadio IRIS 1-2, con proteinuria iniziale più elevata ma che si riduce progressivamente con la terapia. Pertanto, il valore prognostico della proteinuria dovrebbe essere considerato al termine della terapia per la leishmaniosi. A tale proposito, gli autori vogliono sottolineare che è stato dimostrato che la proteinuria diminuisce trattando i cani con la combinazione di antimoniali con allopurinolo, sia con il solo allopurinolo. Tuttavia con gli antimoniali si ottiene una riduzione più rapida rispetto a quanto si verifica con il solo allopurinolo.^{30,38}

Nel complesso, negli ultimi anni la prognosi della leishmaniosi canina appare notevolmente migliorata, in parte grazie anche al corretto monitoraggio dei pazienti. È essenziale, infatti, che il veterinario realizzi un monitoraggio adeguato sia dei cani infetti sia dei malati, durante e dopo il trattamento.

MONITORAGGIO

In medicina, col termine monitoraggio si intende il controllo continuato di un paziente in modo da seguire il decorso della malattia.⁹ Nella leishmaniosi ci si riferisce comunemente al monitoraggio dei cani sottoposti a terapia specifica, quindi dei cani malati. Tuttavia, i cani esposti e infetti devono essere ugualmente controllati.^{1,2,7,8} In particolare nei cani esposti dovrebbe essere valutato il titolo anticorpale specifico dopo 2-4 mesi dal primo riscontro di positività sierologica per confermare o escludere l'infezione. I soggetti infetti, d'altro canto, devono

essere monitorati clinicamente e sierologicamente ogni 2-4 mesi per almeno un anno per identificare una possibile sieroconversione, suggestiva di progressione a malattia.² I cani infetti, di solito, in seguito devono essere controllati ogni 6-12 mesi per tutta la durata della loro vita dato che l'infezione si considera persistente e la malattia può insorgere in qualunque momento, anche a distanza di anni dal momento della diagnosi iniziale di infezione.¹⁷ In diversi studi longitudinali è stato osservato, in pazienti infetti non trattati, un altalenarsi di risultati positivi e negativi, distanziati sia di mesi sia di anni, di esami sierologici e parassitologici.^{14,17}

Monitorando attentamente i cani infetti è possibile formulare una diagnosi precoce di malattia e iniziare rapidamente una terapia specifica.

Per quanto riguarda il decorso della leishmaniosi nei cani malati, al momento i dati disponibili relativi al protocollo ottimale di monitoraggio durante e dopo la terapia anti-*Leishmania* sono scarsi.^{7,10,39,40} La mancanza di pubblicazioni è in parte imputabile all'assenza di protocolli terapeutici standardizzati e, in misura minore, al decorso talora tanto rapido della malattia da rendere impossibile un monitoraggio prolungato dei pazienti.^{7,10,35} Per la salute del paziente, il monitoraggio, sia durante sia dopo aver concluso il primo ciclo di terapia specifica, è tanto importante quanto la correttezza della terapia stessa. Un attento monitoraggio può, infatti, migliorare la prognosi della leishmaniosi.²⁵

In generale, i cani vengono controllati con frequenza variabile in funzione delle loro necessità individuali, determinate principalmente dal loro stato di salute, a sua volta correlato allo stadio a cui appartengono.^{7,10}

Da un punto di vista clinico l'obiettivo del monitoraggio dei pazienti trattati è *in primis* stabilire se e quando si ottiene la risoluzione delle alterazioni cliniche e clinico-patologiche imputabili alla malattia, con ritorno dei parametri emato-chimico-urinari negli intervalli di riferimento. A questo scopo devono essere valutate le condizioni di salute del paziente e, attraverso queste, la risposta alla terapia.

Mediante il monitoraggio durante e dopo aver concluso il primo ciclo di terapia specifica è inoltre possibile:

- Valutare la necessità di modificare il protocollo terapeutico.
- Identificare e correggere gli eventuali effetti avversi della terapia in corso.²
- Identificare alterazioni associate alla deposizione di immunocomplessi che possono insorgere anche a distanza di tempo dall'inizio della terapia.²⁵
- Diagnosticare precocemente le eventuali recidive e trattarle adeguatamente.

Da un punto di vista parassitologico ed epidemiologico l'obiettivo principale del monitoraggio è valutare la capacità infettante residua dei cani ma-

lati una volta trattati. Si tratta di stabilire l'azione leishmanicida della terapia valutando la carica parassitaria attraverso una PCR quantitativa (qPCR). In diversi studi emerge una correlazione positiva tra la carica parassitaria, l'infettività del cane, la gravità dei segni clinici e l'entità del titolo anticorpale.^{35,41,42}

Alla luce di quanto sopra riportato, per monitorare la leishmaniosi, il GSLC^{1,8} suggerisce di valutare:

- le condizioni cliniche e clinico-patologiche del soggetto e la titolazione anticorpale specifica, con conseguente modifica, se necessaria, dello Stadio (Tabella 1);
- la carica parassitaria.

Durante i controlli si raccomanda di eseguire l'esame fisico generale unitamente agli esami emato-chimico-urinari, incluse l'elettroforesi delle sieroproteine e la determinazione di PU/CU. È necessario, in particolare, controllare i parametri precedentemente riscontrati alterati.^{25,29,31,43-45} Recentemente sono state studiate le concentrazioni ematiche delle proteine della fase acuta in corso di leishmaniosi, sia naturale sia sperimentale.^{46,47} È stato osservato che la proteina C reattiva aumenta nei cani malati e si riduce rapidamente, nell'arco di un mese, nei cani trattati con successo con allopurinolo.^{46,47} Tuttavia, non sono stati ancora pubblicati studi controllati che includano un numero significativo di pazienti tanto da consigliare la misurazione della proteina C reattiva per il monitoraggio della risposta alla terapia in cani con leishmaniosi, per lo meno come parametro d'elezione.

L'esame sierologico quantitativo [Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) o Immuno Fluorescent Antibody Test (IFAT)] deve essere incluso nei controlli quando siano trascorsi almeno 4-6 mesi dall'inizio della terapia.^{1,7,10,48-50} Al fine di verificare una variazione del titolo anticorpale il campione dovrebbe essere inviato allo stesso laboratorio e dovrebbe essere mantenuta la stessa metodica (ELISA o IFAT).¹ L'aumento o la riduzione del titolo dovrebbero essere considerati importanti nel caso si osservi una differenza tra i 2 esami consecuzionali di più di 2 diluizioni seriali. L'utilità del titolo anticorpale per monitorare la leishmaniosi è controversa. Sebbene studi che risalgono a quasi 20 anni fa riportino che nei primi mesi di terapia il titolo anticorpale non si riduce,³¹ lavori più recenti dimostrano una associazione tra riduzione lenta e progressiva del titolo e buona risposta alla terapia.^{25,39,44,46} La maggioranza dei cani dovrebbe presentare una riduzione del titolo anticorpale associata a miglioramento clinico e clinico-patologico entro 6 mesi-1 anno dall'inizio della terapia, tuttavia in alcuni pazienti il titolo anticorpale può mantenersi elevato per anni nonostante il miglioramento clinico e clinico-patologico.^{25,39,49,50} D'altra parte, un marcato innalzamento del titolo anticorpale dovrebbe essere consi-

derato indicativo di mancata risposta alla terapia o, una volta questa sia stata sospesa, suggestivo di recidiva.^{7,8,10} Relativamente alla risposta immunitaria aspecifica, il rapporto tra linfociti T CD4/CD8 circolanti sembra non essere utile per monitorare la risposta alla terapia.⁵¹

Per quanto riguarda la valutazione della carica parassitaria, oltre ad essere importante da un punto di vista parassitologico ed epidemiologico, sembra utile a monitorare la risposta alla terapia. Nei cani che rispondono positivamente alla terapia, la carica parassitaria diminuisce notevolmente già nel primo mese, tuttavia in altri pazienti sono necessari da 3 a 12 mesi per ottenerne la riduzione.^{49,52} Di fatto anche in pubblicazioni recenti si sottolinea che l'utilità della carica parassitaria per monitorare la risposta alla terapia nei cani con leishmaniosi non è stata ancora sufficientemente dimostrata.⁴⁰ D'altra parte un aumento della carica parassitaria, specialmente dopo sospensione della terapia, potrebbe essere interpretato come suggestivo di recidiva.⁵³ È importante comunque ricordare che nessuno dei parametri sopra elencati, né clinico-patologico, né sierologico, né biomolecolare è in grado singolarmente di fornire indicazioni relative alla progressione della malattia.

In pratica, nei cani in stadio C che non richiedano altre terapie oltre a quella anti-*Leishmania* si raccomanda di eseguire l'esame fisico generale e di controllare i parametri emato-chimici-urinari sopra elencati dopo il primo mese di terapia specifica. Il 45% circa di 23 pazienti con profilo renale nella norma o con modesta proteinuria inclusi in uno studio recente ha mostrato un miglioramento clinico entro il primo mese di terapia e, come precedentemente riportato, nella quasi totalità dei pazienti è stato ottenuto un miglioramento sia clinico sia clinico-patologico (inclusa la normalizzazione dell'elettroforesi delle proteine sieriche) dopo 3 mesi di terapia. In generale, in caso di buona risposta alla terapia il miglioramento clinico-patologico è parallelo o segue di pochi mesi quello clinico.²⁵ I pazienti che vanno incontro a remissione clinica e clinico-patologica dovrebbero essere controllati ogni 2-4 mesi per il primo anno quindi, se a un anno di distanza dall'inizio della terapia non sono presenti né alterazioni cliniche né clinico-patologiche il cane dovrebbe essere rivalutato ogni 6 mesi per un ulteriore anno, includendo nei parametri da controllare la titolazione anticorpale e possibilmente la qPCR.^{40,46} Se trascorsi questi 2 anni il paziente permane normale da un punto di vista clinico e clinico-patologico e la titolazione anticorpale e la qPCR restano stabilmente negative o debolmente positive, i successivi controlli possono essere eseguiti ogni 6-12 mesi.^{25,39,49,50} Vale la pena ricordare che la remissione clinica ottenuta con la terapia, che riporta il paziente allo stadio di infetto (Stadio B), non deve essere considerata permanente, così come la negativizzazione degli esami sierologici

e/o degli esami parassitologici, che potrebbe essere ottenuta solo temporaneamente.¹⁸

Nei soggetti in cui dopo il primo mese di terapia combinata con antimoniali e allopurinolo si ottiene un miglioramento clinico e clinico-patologico dovrebbe essere continuata la terapia con il solo allopurinolo.^{2,7,43} In pubblicazioni che risalgono a pochi anni fa si suggeriva di protrarre la terapia con allopurinolo per almeno 6 mesi.^{2,7,43} Al momento attuale, per quanto non ne sia stata dimostrata una maggiore efficacia, si raccomanda di protrarre la terapia per un totale di 12 mesi, al termine dei quali può essere sospesa a condizione di aver ottenuto la risoluzione completa delle alterazioni cliniche e clinico-patologiche ed in presenza di una marcata riduzione del titolo anticorpale e della carica parassitaria (valori negativi o debolmente positivi con esami quantitativi).^{10,45,49} È importante sottolineare che alcuni cani molto suscettibili alla leishmaniosi non raggiungono mai questa condizione mentre altri soggetti più resistenti appaiono capaci di controllare i segni clinici e forse anche l'infezione.^{14,17,32,45}

La terapia con allopurinolo riduce la frequenza delle recidive,²¹ rallenta la progressione del danno renale e, recentemente, ne è stata dimostrata anche la capacità di ridurre l'infettività dei cani malati.⁵⁰ Dato che la somministrazione prolungata è in grado di provocare occasionalmente la formazione di uroliti di xantina,⁵⁴ potrebbe talora rendersi necessaria la riduzione del dosaggio o l'interruzione anticipata della terapia.²⁵

Se durante il monitoraggio si osserva la ricomparsa di alterazioni cliniche o clinico-patologiche attribuibili alla leishmaniosi, di solito precedute da un aumento della carica parassitaria valutata tramite qPCR e da un marcato innalzamento del titolo anticorpale, si diagnostica una recidiva. In tal caso dovrebbe essere ripresa la terapia utilizzando lo stesso farmaco impiegato in precedenza, oppure uno dei farmaci alternativi suggeriti dalle diverse linee guida.^{2,4,7,10} Se non si osserva un miglioramento o si verifica una nuova recidiva immediatamente dopo la sospensione del trattamento il cane dovrebbe essere considerato appartenente allo stadio E_b e trattato di conseguenza.^{2,7,10}

Nelle pubblicazioni in cui sono incluse varie tipologie di pazienti sottoposti a diversi protocolli terapeutici è stata calcolata una frequenza elevata di recidive che raggiunge talora il 100% dei casi.²¹ Tuttavia, in uno studio recente, in cui viene riportato il decorso per 2-9 anni di 23 cani con leishmaniosi in stadio C senza grave danno renale trattati con antimoniali e allopurinolo e sottoposti a monitoraggio costante, a distanza di 2 anni dall'inizio della terapia sono state osservate solo 3 recidive, pari al 13% circa dei casi.²⁵

Nei cani in stadio D o E il protocollo per il monitoraggio varia con le condizioni cliniche del paziente. Di solito durante il primo mese di terapia anti-

TABELLA 2
Raccomandazioni del GSLC su prognosi e monitoraggio della leishmaniosi canina

Stadio	Definizione del paziente	Prognosi	Monitoraggio
A	Esposto	Favorevole	Rivalutare il titolo anticorpale dopo 2-4 mesi dal primo riscontro di positività sierologica per confermare o escludere una possibile infezione.
B	Infetto	*Favorevole-riservata	Esame fisico generale, esami emato-chimici-urinari e titolo anticorpale ogni 2-4 mesi per 1 anno → in assenza di sieroconversione rivalutare ogni 6-12 mesi per la stadiazione.
C	Malato	**Favorevole-riservata	***Esame fisico generale ed esami emato-chimici-urinari dopo 1 mese di terapia → ripetere ogni 2-4 mesi per 1 anno aggiungendo la valutazione del titolo anticorpale a partire da 4-6 mesi dall'inizio della terapia. Rivalutare ogni 6-12 mesi per tutta la vita; può essere utile associare la valutazione della carica parassitaria mediante qPCR.
D	Malato con quadro clinico grave	**Riservata-inausta	Come nello Stadio C ma con frequenza e modalità variabili in funzione della situazione clinica.
E	(Ea) Refrattario (Eb) Recidivo	**Riservata-inausta	Come nello Stadio C ma con frequenza e modalità variabili in funzione della situazione clinica.

*La prognosi è favorevole se l'infezione non progredisce a malattia.
 **La prognosi dipende dalla gravità dei danni renali e dalla risposta alla terapia sia anti-Leishmania sia della eventuale malattia renale.
 ***Paziente che non richieda altre terapie oltre a quella anti-Leishmania e nel quale si osserva remissione clinica e clinico-patologica in 1-3 mesi dall'inizio della terapia.

leishmania è necessario eseguire sia valutazioni cliniche sia clinico-patologiche ogni 7-10 giorni, specie se il cane ha un'alterata funzionalità renale, come rilevabile dall'approccio diagnostico riportato dettagliatamente da Castagnaro e collaboratori.¹ I controlli possono poi essere effettuati a intervalli di 1-2 mesi, con particolare attenzione all'esame delle sedi colpite (es. rene, fegato, occhio). Tuttavia, la prognosi da riservata a infausta, in questi casi spesso impedisce di eseguire i controlli per lungo tempo a causa dell'esito fatale della malattia.^{7,10} Uno schema dei dati relativi alla prognosi ed al monitoraggio della leishmaniosi fin qui riportati è sintetizzato nella Tabella 2.

CONCLUSIONI

La prognosi della leishmaniosi canina è oggi più favorevole rispetto al passato e non deve più essere considerata ineluttabilmente infausta, specie in assenza di gravi problemi renali e se i pazienti vengono trattati e monitorati correttamente. Come appare nella Tabella 2, la prognosi viene formulata in funzione della stadiazione e, nei pazienti malati, dipende in larga misura dalla gravità delle alterazioni clinico-patologiche, in particolare dai danni renali, oltreché dalla risposta individuale alla terapia. Emettere una prognosi in cani esposti, infetti o malati è comunque complesso perché mancano studi controllati che valutino specificamente i fattori prognostici.

Anche il monitoraggio dei pazienti varia con la stadiazione, ed è necessario, seppur con modalità diverse, per i cani appartenenti a qualunque stadio, come riassunto nella Tabella 2. In particolare i cani infetti devono essere controllati per tempi molto lunghi perché la malattia può insorgere anche a distanza di anni dal momento in cui è stata diagnosticata l'infezione. D'altro canto, il monitoraggio dei cani malati deve essere effettuato sia durante sia dopo la terapia specifica al fine di valutare il raggiungimento della remissione clinica e clinico-patologica, l'adeguatezza della risposta al trattamento specifico e l'insorgenza di eventuali recidive.

RINGRAZIAMENTI

Si ringrazia Hill's Pet Nutrition per il sostegno dato all'attività del Gruppo di Studio sulla Leishmaniosi Canina. I membri del board del GSLC svolgono la loro attività a titolo gratuito.

Parole chiave

Leishmaniosi, cane, prognosi, monitoraggio.

Prognosis and monitoring of Canine Leishmaniasis

Summary

The purpose of this paper is to present a consensus of opinions of "Canine Leishmaniasis Working

Group” (CLWG) on the prognosis and monitoring of canine leishmaniasis. The recommendations have been produced based on data collected from the most recent publications integrated with personal experience of CLWG members. Prognosis of canine leishmaniasis is nowadays more favorable compared to the past, and it should not be considered always poor, particularly in the absence of renal disease and if the disease is correctly treated and monitored. Nevertheless, to achieve a correct prognosis for a *Leishmania* infected or sick dog is complex due to both the limited number of publications available and the lack of controlled studies aimed to evaluate specifically the prognos-

tic factors. Regarding the infection, long term monitoring is essential to rapidly detect the disease onset that can happen even years after the first diagnosis of the infection. The prognosis for sick dogs largely depends on the degree of clinical-pathologic alterations, particularly on that of renal injuries and on the individual response to specific treatments. Moreover, monitoring *Leishmania* sick dogs is crucial to assess both the achievement of clinical remission and the response appropriateness to specific treatment.

Key words

Leishmaniasis, dog, prognosis, monitoring.

BIBLIOGRAFIA

1. Castagnaro M, Crotti A, Fondati A, Gradoni L, et al.: Leishmaniosi canina: Linee guida su diagnosi, stadiazione, terapia, monitoraggio e prevenzione. Parte I: Approccio diagnostico e classificazione del paziente leishmaniotico e gestione del paziente proteinurico. *Veterinaria* 21(3):19-32, 2007.
2. Oliva G, Roura X, Crotti A, Zini E, et al.: Leishmaniosi canina: linee guida su diagnosi, stadiazione, terapia, monitoraggio e prevenzione. Parte II: Approccio terapeutico. *Veterinaria* 22(6):9-20, 2008.
3. Maroli M, Gradoni L, Oliva G, Castagnaro M, et al.: Leishmaniosi canina: linee guida su diagnosi, stadiazione, terapia, monitoraggio e prevenzione. Parte III: Prevenzione. *Veterinaria* 23(4):19-26, 2009.
4. Oliva G, Roura X, Crotti A, Fondati A, et al. Leishmaniosi Canina aggiornamenti su diagnosi e terapia. Parte II: terapia. *Veterinaria* 25(2):19-24, 2011.
5. Paltrinieri S, Fondati A, Lubas G, Gradoni L, et al.: Leishmaniosi Canina aggiornamenti su diagnosi e terapia. Parte I: approccio diagnostico. *Veterinaria* 25 (2):7-16, 2011.
6. Maroli M, Gradoni L, Oliva G, Castagnaro M, et al.: Guidelines for prevention of leishmaniasis in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 236 (11):1200-1206, 2010.
7. Oliva G, Roura X, Crotti A, Zini E, et al: Guidelines for treatment of leishmaniasis in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 236(11):1192-1198, 2010.
8. Paltrinieri S, Solano-Gallego L, Fondati A, Lubas G, et al: Guidelines for diagnosis and clinical classification of leishmaniasis in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 236(11):1185-1191, 2010.
9. Churchill's Illustrated Medical Dictionary. Churchill Livingstone, New York, pp: 1-2120, 1989.
10. Solano-Gallego L, Koutinas A, Miró G, Cardoso L, et al.: Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniasis. *Vet Parasitol* 165:1-18, 2009.
11. Reis AB, Martins-Filho OA, Teixeira-Carvalho A, et al.: Systemic and compartmentalized immune response in canine visceral leishmaniasis. *Vet Immunol Immunopathol* 128:87-95, 2009.
12. dos-Santos WL, Jesus EE, Paranhos-Silva M, Pereira AM, et al. Associations among immunological, parasitological and clinical parameters in canine visceral leishmaniasis: Emaciation, spleen parasitism, specific antibodies and leishmania skin test reaction. *Vet Immunol Immunopathol* 123(3-4):251-259, 2008.
13. Acedo-Sánchez C, Morillas-Márquez F, Sanchíz-Marín MC, Martín-Sánchez J: Changes in antibody titres against *Leishmania infantum* in naturally infected dogs in southern Spain. *Vet Parasitol* 75(1):1-8, 1998.
14. Otranto D, Paradies P, de Caprariis D, Stanneck D, et al.: Toward diagnosing *Leishmania infantum* infection in asymptomatic dogs in endemic area. *Clin Vaccine Immunol* 16(3):337-343, 2009.
15. Baneth G, Koutinas AF, Solano-Gallego L, Bourdeau P, et al.: Canine leishmaniasis - new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one. *Trends Parasitol* 24(7):324-330, 2008.
16. Manna L, Reale S, Viola E, Vitale F, et al.: Leishmania DNA load and cytokine expression levels in asymptomatic naturally infected dogs. *Vet Parasitol* 142:271-280, 2006.
17. Oliva G, Scalone A, Foglia Manzillo V, Gramiccia M, et al.: Incidence and time course of *Leishmania infantum* infection examined by parasitological, serologic, and nested-PCR techniques in a cohort of naive dogs exposed to three consecutive transmission seasons. *J Clin Microbiol* 44:1318-1322, 2006.
18. Paradies P, Sasanelli M, de Caprariis D, Testini G, et al.: Clinical and laboratory monitoring of dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. *Vet J* 186(3):370-373, 2010.
19. Solano-Gallego L, Lull J, Ramos G, Riera C, et al.: The Ibizian hound presents a predominantly cellular immune response against natural *Leishmania* infection. *Vet Parasitol* 90(1-2):37-45, 2000.
20. Miranda S, Roura X, Picado A, Alberola J, et al.: Characterization of sex, age, and breed for a population of canine leishmaniasis diseased dogs. *Res Vet Sci* 85(1):35-38, 2008.
21. Noli C, Auxilia S: Treatment of Old World visceral leishmaniasis: a systematic review. *Vet Dermatol* 16:213-222, 2005.
22. IRIS 2009 http://www.iris-kidney.com/pdf/IRIS2009_Staging_CKD.pdf [3 marzo, 2012].
23. Miró G, Oliva G, Cruz I, Cañavate C, et al.: Multicentric, controlled clinical study to evaluate effectiveness and safety of miltefosine and allopurinol for canine leishmaniasis. *Vet Dermatol* 20(5-6):397-404, 2009.
24. Denerolle P, Bourdoiseau G: Combination allopurinol and antimony treatment versus antimony alone and allopurinol alone in the treatment of canine leishmaniasis (96 cases). *J Vet Intern Med* 13:413-415, 1999.
25. Torres M, Bardagi M, Roura X, Zanna G, et al.: Long term follow-up of dogs diagnosed with leishmaniasis (clinical stage II) and treated with meglumine antimoniate and allopurinol. *Vet J* 188(3):346-351, 2011.
26. Font A: Canine leishmaniasis. Proceedings 17th ACVIM Forum, Chicago, 630-632, 1999.
27. Font A: Diagnosis and treatment of canine leishmaniasis and kidney disease. Proceedings Fortekor seminar - Nephrology. 14th ECVIM-CA Congress, Barcelona, 8-12, 2004.
28. Koutinas AF, Polizopoulou ZS, Saridomichelakis MN, Argyriadis D, et al.: Clinical consideration on canine leishmaniasis in Greece: a retrospective study of 158 cases (1989-1996). *J Am Anim Hosp Assoc* 35(5):376-383, 1999.
29. Planellas M, Roura X, Lloret A: Presence of renal disease in dogs with patent leishmaniasis. *Parassitologia* 51:65-68, 2009.
30. Plevraki K, Koutinas AF, Kaldrymidou H, Roupies N, et al.: Effects of allopurinol treatment on the progression of chronic nephritis in canine leishmaniasis (*Leishmania infantum*). *J Vet Intern Med* 20(2):228-233, 2006.
31. Ferrer L, Aisa MJ, Roura X, Portús M: Serological diagnosis and treatment of canine leishmaniasis. *Vet Rec* 136:514-516, 1995.
32. Mancianti F, Gramiccia M, Gradoni L, Pieri S: Studies on canine leishmaniasis control. I. Evolution of infection of different clinical forms of canine leishmaniasis following antimonial treatment. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 82(4):566-567, 1988.
33. Slappendel RJ and Ferrer L: Leishmaniasis. In: C.R. Greene, editor: In-

- fectious diseases of the dog and cat. Second Edition. Philadelphia: W.B. Saunders, 450-458, 1998.
34. Slappendel RJ: Canine leishmaniasis. A review based on 95 cases in The Netherlands. *Vet Q* 10:1-16, 1988.
 35. Alvar J, Molina R, San Andrés M, Tesouro M, et al.: Canine leishmaniasis: clinical, parasitological and entomological follow-up after chemotherapy. *Ann Trop Med Parasitol* 88:371-378, 1994.
 36. Slappendel, RJ, Teske, E: The effect of intravenous or subcutaneous administration of meglumine antimoniate (Glucantime) in dogs with leishmaniasis. A randomized clinical trial. *Vet Q* 19:10-13, 1997.
 37. Finco DR, Brown SA, Brown CA, Crowell WA, et al.: Progression of chronic renal disease in the dog. *J Vet Intern Med* 13:516-528, 1999.
 38. Pierantozzi M, Roura X, Paltrinieri S, Poggi M, et al.: Variation of proteinuria in dogs with leishmaniasis treated with meglumine antimoniate and allopurinol: retrospective study. *J Am Anim Hosp Assoc* 48, 2012 (in stampa).
 39. Mancianti F, Franceschi A: Canine Leishmaniasis: Parasitological follow-up of the treated subject. *Vet Res Commun* 30(1):45-47, 2006.
 40. Solano-Gallego L, Miró G, Koutinas A, Cardoso L, et al.: Leish Vet guidelines for the practical management of canine leishmaniasis. *Parasit Vectors*, 4:86, 2011.
 41. da Costa-Val AP, Cavalcanti RR, Gontijo NdF, Michalick MS, et al.: Canine visceral leishmaniasis: relationship between clinical status, humoral immune response, haematology and *Lutzomyia* (*Lutzomyia*) longipalpis infectivity. *Vet J* 174(3):636-643, 2007.
 42. Verçosa BLA, Melos C, Mendonça IL, Silva SMMS, et al.: Transmission potential, skin inflammatory response, and parasitism of symptomatic and asymptomatic dogs with visceral leishmaniasis. *BMC Veterinary Research*, 4:45, 2008.
 43. Mateo M: Estudios sobre la eficacia comparada y la tolerancia de la n-metilglucamina, y la monitorización post-tratamiento con alopurinol en la infección natural por *Leishmania infantum*. Tesis doctoral. Universidad Complutense de Madrid, 2007.
 44. Rodríguez A, Solano-Gallego L, Ojeda A, Quintana J, et al.: Dynamics of Leishmania-specific immunoglobulin isotypes in dogs with clinical leishmaniasis before and after treatment. *J Vet Intern Med* 20:495-498, 2006.
 45. Solano-Gallego L, Riera C, Roura X, Iniesta L, et al.: *Leishmania infantum*-specific IgG, IgG1 and IgG2 antibody responses in healthy and ill dogs from endemic areas. Evolution in the course of infection and after treatment. *Vet Parasitol* 96:265-276, 2001.
 46. Martínez-Subiela S, Bernal LJ, Ceron JJ: Serum concentrations of acute-phase proteins in dogs with leishmaniasis during short-term treatment. *Am J Vet Res* 64(8):1021-1026, 2003.
 47. Martínez-Subiela S, Strauss-Ayali D, Cerón JJ, Baneth G: Acute phase protein response in experimental canine leishmaniasis. *Vet Parasitol* 180:197-202, 2011.
 48. Anderson CL, Chaudhury C, Kim J, Bronson CL, et al: Perspective-FcRn transports albumin: relevance to immunology and medicine. *Trends Immunol* 27:343-348, 2006.
 49. Martínez V, Quilez J, Sanchez A, Roura X, et al.: Canine leishmaniasis: the key points for qPCR result interpretation. *Parasit Vectors* 13(4):57-61, 2011.
 50. Miró G, Gálvez R, Fraile C, Descalzo MA, et al.: Infectivity to *Phlebotomus perniciosus* of dogs naturally parasitized with *Leishmania infantum* after different treatments. *Parasit Vectors* 4:52, 2011.
 51. Miranda S, Martorell S, Costa M, Ferrer L, et al.: Characterization of circulating lymphocyte subpopulations in canine leishmaniasis throughout treatment with antimonials and allopurinol. *Vet Parasitol* 144:251-260, 2007.
 52. Francino O, Altet L, Sánchez-Robert E, Rodríguez A, et al.: Advantages of real-time PCR assay for diagnosis and monitoring of canine leishmaniasis. *Vet Parasit* 137:214-221, 2006.
 53. Manna L, Gravino AE, Picillo E, Decaro N, et al.: Leishmania DNA quantification by real-time PCR in naturally infected dogs treated with miltefosine. *Ann NY Acad Sci* 1149:358-360, 2008.
 54. Ling GV, Ruby AL, Harrold DR, Johnson DL: Xanthine-containing urinary calculi in dogs given allopurinol. *J Am Vet Med Assoc* 198(11):1935-1940, 1991.