

ANOFELISMO RESIDUO IN ITALIA: DISTRIBUZIONE NELLE AREE RISICOLE DELLE PROVINCIE DI GROSSETO E SIENA

Roberto ROMI (a), Carlo SEVERINI (a), Maurizio COCCHI (b), Angelo TAMBURRO (b), Davi MENICHETTI (b),
Gaudenzio PIERDOMINICI (a) e Giancarlo MAJORI (a)

(a) Laboratorio di Parassitologia, Istituto Superiore di Sanità, Roma

(b) Servizio Multizonale di Prevenzione, Sezione di Zoologia Ambientale, USL 28, Grosseto

Riassunto. - Il Laboratorio di Parassitologia dell'Istituto Superiore di Sanità ha tra le proprie attività istituzionali quella di raccogliere i dati sull'anofelismo residuo in Italia, collaborando con le strutture locali preposte alla sorveglianza. In questa inchiesta si prendono in esame alcune aree delle provincie di Grosseto e Siena, con particolare riferimento ai comprensori risicoli, che oggi rappresentano i focolai elettivi dell'anofelismo maremmano. I dati raccolti in collaborazione con la Sezione di Zoologia Ambientale della USL 28 di Grosseto, mostrano come *Anopheles labranchiae*, potenziale vettore di malaria, sia presente nella fascia pianeggiante retrocostiera della provincia di Grosseto in densità epidemiologicamente importanti, e come il vettore mostri anche una diminuita sensibilità ad alcuni insetticidi. Delle altre specie anofeliche reperite, solamente *A. atroparvus* (specie predominante nella zona collinare delle provincie di Grosseto e Siena) raggiunge livelli di densità significativi.

PAROLE CHIAVE: malaria, anofelismo, risaie, Italia.

Summary (Anophelism in Italy: distribution on riceland of the provinces of Grosseto and Siena). - The Laboratory of Parasitology of Istituto Superiore di Sanità acts as a coordinating centre for anophelism data collection in Italy, and collaborates with the health local authorities. This specific investigation takes into consideration several areas in the provinces of Grosseto and Siena, focusing attention on the rice fields, which are today the most important anopheline breeding sites in Maremma. The records collected in collaboration with the Department of Environmental Zoology (USL 28 Grosseto), show a high density of *A. labranchiae*, the potential malaria vector, in the coastal areas of Grosseto province, and a decreased susceptibility to some insecticides. Among the other anopheline species found, only *A. atroparvus* (the species most present on the inland hills of the provinces of Grosseto and Siena) show a remarkable density.

KEY WORDS: malaria, anophelism, ricefields, Italy.

Introduzione

La campagna nazionale di lotta antimalarica in Italia, iniziata nel 1947, determinò dopo un anno l'interruzione della trasmissione. I trattamenti con DDT, effettuati una volta l'anno, vennero eseguiti fino alla metà degli anni '50. Nel novembre del 1970 l'Italia è stata dichiarata dall'OMS libera da malaria. Gli interventi di lotta antivettoriale portarono ad una profonda modificazione dell'anofelismo su buona parte del territorio nazionale. Il principale vettore italiano, *Anopheles labranchiae*, ed altri vettori quali *A. sacharovi*, *A. superpictus* e *A. atroparvus*, risultarono infatti altamente sensibili ai trattamenti murali con il DDT, il cui impiego determinò in molte aree la scomparsa o la forte riduzione delle densità dei vettori e degli altri anofelini caratterizzati da una spiccata antropofilia [1]. Nel ventennio seguente la sorveglianza dell'anofelismo residuo è stata effettuata dai Comitati Provinciali Antimalarici e, dopo il 1978, dalle strutture che ne hanno assunto le funzioni. Oggi questa sorveglianza epidemiologica è limitata a quelle aree con presenza di potenziali focolai e/o densità apprezzabili dei vettori, riscontrabili soprattutto in Toscana, Calabria, Sardegna e Sicilia. Diversi sono i lavori presenti in letteratura fino agli anni '70, mentre non sono disponibili dati recenti, riferibili almeno all'ultimo decennio. Proprio in questi ultimi anni invece si è sentita maggiormente la necessità di mantenere sotto sorveglianza le aree a rischio in relazione ad una eventuale, se pur improbabile, ripresa della trasmissione della malaria, legata al sempre più alto numero di casi importati nel nostro paese [2]. Il Laboratorio di Parassitologia dell'Istituto Superiore di Sanità ha tra le proprie attività istituzionali quella di raccogliere i dati sull'anofelismo residuo in Italia, collaborando con le diverse strutture locali preposte alla sorveglianza. Questa prima inchiesta è stata effettuata con la collaborazione del Servizio Multizonale di Prevenzione, Sezione di Zoologia Ambientale, della USL 28 di

Grosseto in una delle aree oggi considerate maggiormente a rischio. La Maremma toscana infatti (la provincia di Grosseto in particolare) è stata in passato zona di grave epidemia malarica [3]. Hackett e Missiroli nel 1935 [4] indicarono *A. labranchiae* come vettore della malaria in quest'area e vi segnalavano anche la presenza di *A. atroparvus*; nel 1966 Coluzzi e Finizio vi identificarono altre tre specie anofeliche: *A. melanoon*, *A. algeriensis* e *A. claviger*. Dopo la campagna col DDT *A. labranchiae* venne rinvenuta solo sporadicamente e nel 1958, dopo la cattura dell'ultimo esemplare, fu considerata apparentemente eradicata. A partire dagli anni '70, nella provincia di Grosseto, ai focolai tradizionali ne sono stati aggiunti altri potenziali, con l'introduzione della risicoltura, soprattutto nella fascia costiera. Gli ultimi dati disponibili in letteratura sull'anofelismo residuo sono quelli pubblicati nel 1970 da Majori *et al.* [6] che condussero una inchiesta nel Grossetano, sia sui focolai tradizionali che su alcune risaie, all'epoca ancora sperimentali, e quelli di Bettini *et al.* che nel 1977 [7] descrissero un improvviso aumento di densità di *A. labranchiae* nel neonato comprensorio risicolo di S. Donato. Questo lavoro intende dunque descrivere l'attuale situazione dell'anofelismo residuo nel Grossetano con particolare riferimento ad *A. labranchiae* e alle risaie che oggi si estendono fino alla provincia di Siena. Abbiamo inoltre ritenuto opportuno determinare i livelli di sensibilità di questo potenziale vettore agli insetticidi più comuni.

Area di studio

Per quel che riguarda l'area Grossetana, l'inchiesta ha interessato i comuni di Grosseto, Orbetello, Castiglione della Pescaia, Scarlino, Follonica, Albinia e Monteantico, nei quali la Sezione di Zoologia Ambientale effettua una continua sorveglianza. La raccolta delle larve di anofeli è stata effettuata nelle zone retrocostiere ed interne caratterizzate dalla presenza di noti focolai anofelici (aree palustri, fossati, canali di bonifica, ecc.), e dove recenti mutamenti ambientali hanno creato nuovi potenziali focolai. In particolare si tratta di aree risicole, concentrate nei comprensori di S. Carlo (80 ha), situato nella fascia costiera del comune di Grosseto, di S. Donato (112 ha), nel comune di Orbetello, e di un terzo comprensorio nel comune di Monte Antico (4 ha), nella parte collinare della provincia di Grosseto, ai confini con la provincia di Siena. La ricerca delle alate è stata condotta all'interno di ricoveri animali, rimesse e magazzini presenti nei poderi limitrofi ai focolai suddetti. Inoltre, poiché la Sezione di Zoologia Ambientale fornisce consulenza entomologico-sanitaria alla USL 30 di Siena, la sorveglianza è stata estesa al comune di Monticiano (Si), dove nel comprensorio di Ponte a Macereto è presente un impianto risicolo di oltre 100 ha. A fronte di questa continua sorveglianza longitudinale, il Laboratorio di Parassitologia ha effettuato una inchiesta verticale nei mesi di agosto-settembre 1991 mirata alle aree circostanti i comprensori risicoli già descritti.

Materiali e metodi

La raccolta delle larve è stata effettuata mediante l'impiego di pescalzarve standard da 500 ml, quella delle alate tramite catturatori elettrici o a bocca. I ricoveri animali ispezionati sono stati soprattutto pollai e porcilaie, più raramente conigliere, ovili e stalle per bovini o equini. Per ognuno è stata annotata la densità anofelica (conta diretta totale in caso di basse densità ed estrapolazione per unità di tempo per densità più elevate) ed è stato prelevato un campione di femmine nutrite di sangue per l'identificazione di specie. Le specie del complesso *maculipennis* sono state identificate tramite l'esame dei caratteri morfologici delle uova deposte in laboratorio dalle femmine gravide catturate. E' stato identificato circa il 30% dei campioni raccolti. Le larve, conservate in alcool a 70°, sono state montate su vetrino portaoggetti ed identificate.

I saggi di sensibilità delle alate agli insetticidi sono stati eseguiti presso il Laboratorio di Parassitologia dell'ISS secondo la metodica standard dell'OMS [8]. Le femmine utilizzate per i saggi provenivano da porcilaie dove tutti gli esemplari identificati per ovodeposizione sono risultati essere *A. labranchiae*. I valori di DL50, DL90 e DL99 sono stati ottenuti con l'analisi dei probit utilizzando un programma per PC.

Risultati

Nella Tab. 1 sono riportati i dati della sorveglianza anofelica effettuata nei comprensori risicoli delle provincie di Grosseto e Siena negli ultimi 3 anni.

1989. - Sia *A. labranchiae* che *A. atroparvus* sono presenti nei comprensori di S. Carlo e S. Donato, dove *A. labranchiae* rappresenta la specie dominante (rispettivamente l'86,4% e il 94% delle anofeli identificate). Nella zona di Monte Antico, invece, *A. labranchiae* è assente e *A. atroparvus* rappresenta l'85,4% delle specie anofeliche reperite. Nel circondario di Ponte a Macereto (Si) *A. atroparvus* (95,5%) risulta dominante su *A. maculipennis typicus* (4,5%). In totale sono state catturate, in 138 differenti ricoveri, 1.310 femmine nutrite di sangue di *A. maculipennis* s.l. di cui 432 identificate (32,9%). Per quanto riguarda le densità medie per comprensorio, nella zona di S. Donato si riscontrano valori notevolmente inferiori rispetto a quelli delle altre due aree, in quanto il comprensorio è stato messo solo parzialmente a coltura per la scarsità di approvvigionamenti idrici.

1990. - Per le zone di S. Carlo e Monte Antico i dati sono assimilabili a quelli dell'anno precedente. In S. Carlo *A. labranchiae* rappresenta il 97,9% della fauna anofelica identificata; a Monte Antico dei due vettori è presente solo *A. atroparvus* che rappresenta l'80,5%. Anche le densità medie per ricovero rimangono inalterate. Invece, nel comprensorio di S. Donato, dove quest'anno le risaie non sono state attivate, è stato rinvenuto unicamente *A. labranchiae* e le densità medie per ricovero risultano diminuite di dieci volte rispetto all'anno precedente. Per

Tabella 1. - *Adulti di anofele catturati nei comprensori risicoli delle provincie di Grosseto e Siena. 1989-1991*

Anno	Provincia	Località	N. ispezioni	Densità per ricovero	Adulti identificati			
					<i>labranchiae</i>	<i>atroparvus</i>	<i>maculipennis</i> s.l.	<i>melanoon</i>
1989	GR	S. Carlo	36	200-300	95	13	1	1
	GR	S. Donato	55	50-100	79	4	1	0
	GR	M. Antico	15	200-300	0	70	12	0
	SI	P. Macereto	41	100-200	0	149	7	0
1990	GR	S. Carlo	36	200-300	138	2	1	0
	GR	S. Donato	14	5-10	12	0	0	0
	GR	M. Antico	8	200-300	0	64	13	0
	SI	P. Macereto	31	200-300	0	85	25	0
1991	GR	S. Carlo	39	100-200	40	0	0	0
	GR	S. Donato	42	200-300	210	1	0	1
	GR	M. Antico	6	100-200	0	12	1	0
	SI	P. Macereto	15	100-200	0	46	9	0
ISS/91	GR	S. Carlo	6	200-300	82	0	0	0
	GR	S. Donato	6	200-300	75	0	0	0
	GR	M. Antico	5	50-100	0	35	9	0
	SI	P. Macereto	5	200-300	0	47	13	0

quanto riguarda il comprensorio di Ponte a Macereto (Si) *A. atroparvus* rappresenta il 77,3% e *A. maculipennis typicus* il rimanente 22,7%. In totale sono state raccolte 1.162 alate di *A. maculipennis* s.l., in 118 ricoveri, di cui 340 identificate (29,3 %).

1991. - Per quanto riguarda i comprensori di S. Carlo e Ponte a Macereto, i dati raccolti dal Servizio di Zoologia Medica di Grosseto rimangono dello stesso ordine di grandezza di quelli dell'anno precedente. Il diminuito numero di anofeli identificati nel corso dell'anno (320 su 1.247 = 25,7%) è forse responsabile del reperimento della sola specie *A. labranchiae* a S. Carlo; le densità medie per ricovero sembrano essere inferiori a quelle dell'anno precedente. Invece nel comprensorio di S. Donato, dove è stato riattivato l'impianto risicolo, le densità per ricovero sono aumentate nuovamente ed *A. labranchiae* vi rappresenta la quasi totalità degli anofeli identificati. A Monte Antico, dove quest'anno le risaie non sono state messe a coltura, si osserva un calo delle densità per ricovero e la netta predominanza di *A. atroparvus* è probabilmente influenzata dallo scarso numero di campioni identificati. Su un totale di 152 ricoveri sono state raccolte 1.247 alate di cui 320 identificate (25,7%).

I dati dell'inchiesta verticale confermano la situazione generale dei quattro comprensori risicoli evidenziata dai dati sopraesposti. Di 758 anofeli messi a deporre ne sono stati identificati 261 (34,4%). Nei comprensori di S. Carlo e S. Donato *A. labranchiae* ha rappresentato il 100% dei reperti, mentre a Monte Antico e Ponte a Macereto *A. atroparvus* si conferma come specie dominante rispetto a *A. maculipennis typicus*, rispettivamente col 79,5% e il 78,3% degli anofeli identificati.

I campionamenti effettuati dalla Sezione di Zoologia Ambientale in oltre 20 stazioni scelte tra quelli che sono considerati i focolai tradizionali dell'anofelismo

maremmano, hanno portato, nell'arco dei tre anni, al rinvenimento di sole 20 larve di anofele (6 *A. claviger* e 14 *A. maculipennis* s.l.) nella provincia di Grosseto. Parallelamente adulti di *A. maculipennis* s.l. sono stati rinvenuti nello stesso periodo solamente nella zona di Alberese, in ricoveri animali ed a densità molto basse.

Nella Tab. 2 sono riportati i risultati relativi ai saggi di sensibilità a dosi discriminanti di insetticidi, effettuati su 720 femmine nutrite di sangue di *A. labranchiae* provenienti dal podere S. Vincenzo, nel comprensorio di S. Carlo. A fronte di una piena sensibilità a malathion, fenitrothion e deltametrina, si riscontra una marcata resistenza al propoxur ed una diminuita sensibilità alla permetrina 0,25% per 1 ora e al DDT 4% sia ad 1 ora che a 2 ore. I valori ottenuti, confrontati con quelli della linea di base, indicano una diminuita sensibilità delle popolazioni locali di *A. labranchiae* verso il DDT: DL50 = 1,83 (limiti conf. 1,64-2,04), DL90 = 3,54 (2,97-4,22), DL99 = 6,07 (4,59-8,03).

Discussione

Distribuzione degli anofelini

L'esiguo numero di larve rinvenute negli ultimi tre anni di sorveglianza nei focolai anofelici tradizionali, indica come questi non rappresentino attualmente i siti elettivi dell'anofelismo maremmano.

Per quanto riguarda le risaie, invece, i comprensori di S. Carlo e S. Donato, situati nella fascia pianeggiante retrocostiera, costituiscono oggi i più importanti focolai di *A. labranchiae*. La zona di S. Carlo si è dimostrata più costante nella produzione anofelica, mentre quella di S. Donato, pur essendo maggiormente estesa della preceden-

Tabella 2. - Saggi di sensibilità agli insetticidi condotti in laboratorio su adulti di *A. labranchiae*

Insetticida	Tempo d'esposizione	Esemplari saggiati	Sopravvivenza (%)
Malathion 5%	1 ora	40	0
Fenitrothion 1%	1 ora	40	0
Propoxur 0,1%	1 ora	60	38,3
Propoxur 0,1%	2 ore	40	13,8
Deltametrina 0,025%	1 ora	40	0
Permetrina 0,25%	1 ora	80	10,4
Permetrina 0,25%	2 ore	40	0
DDT 4%	1 ora	80	8
DDT 4%	2 ore	40	5,7

te (112 ha contro 80 ha), è stata sfruttata solo parzialmente in questi ultimi anni a causa della siccità: nel 1989 sono stati messi a coltura solo 10 ha, nel '90 nessuno, il che spiega il sensibile calo delle densità anofeliche, che al contrario sono repentinamente aumentate nel 1991, quando il comprensorio è stato rimesso a coltura. Comunque, mentre nel 1977 Bettini *et al.* segnarono che *A. labranchiae* rappresentava il 40,5% degli anofeli catturati a S. Donato, i dati da noi raccolti negli ultimi tre anni, mostrano come questa specie costituisca la quasi totalità dei reperti. Per contro i due comprensori collinari di Monte Antico e Ponte a Macereto rappresentano i focolai elettivi di *A. atroparvus*, non essendovi mai stata segnalata *A. labranchiae*. Quindi, mentre nella fascia pianeggiante retrocostiera gli areali di *A. labranchiae* ed *A. atroparvus* si sovrappongono, pur con la netta predominanza della prima specie, nei comprensori collinari la sola presenza di *A. atroparvus* indica come queste zone si collochino oltre il confine nord dell'areale di distribuzione di *A. labranchiae*.

Densità degli anofelini

Negli ultimi tre anni, se si esclude il comprensorio di S. Donato, dove per motivi di mancato approvvigionamento idrico le risaie sono state poco sfruttate, nei poderi circostanti le altre tre zone risicole sono state riscontrate, densità medie di *A. labranchiae* e *A. atroparvus* tra 100 e 300 esemplari per ricovero, con punte massime che oltrepassano i 1.000 nei poderi con un notevole numero di animali allevati. Si tratta dunque di densità epidemiologicamente importanti che non possono essere trascurate, pur in presenza di specie prevalentemente zoofile, dato peraltro da confermare con uno studio sull'analisi dei pasti di sangue. Per il momento possiamo dire che durante l'inchiesta condotta nell'estate '91 non sono stati trovati anofeli all'interno di 6 abitazioni rurali visitate. Solamente altre due specie appartenenti al complesso *maculipennis* sono state reperite nelle aree risicole: a) *A. maculipennis typicus* che è presente in densità intorno all'1% nelle risaie di pianura, in accordo con i dati raccolti da Bettini *et al.* nel 1977 (0,84%); la sua densità va aumentando gradualmente spostandosi verso nord (tra il 10% ed il 15% a Monte Antico e oltre il 20% in provincia di Siena); b) *A. melanoon* reperita solo episodicamente nell'area di S. Donato (1 esemplare nel 1991) e in quella di

S. Carlo (1 esemplare nel 1989) dove invece rappresentava il 100% degli anofeli identificati da Majori *et al.* nel 1970, ed il 55,3% di quelli identificati da Bettini *et al.* nel 1977.

Sensibilità agli insetticidi

La popolazione di *A. labranchiae* presa in esame, pur non essendo più sottoposta a pressione selettiva da parte del DDT da decenni, presenta una diminuita sensibilità a questo insetticida. La diminuita sensibilità ad un piretroide scarsamente utilizzato nel Grossetano come la permetrina può essere ugualmente spiegata con un fenomeno di resistenza crociata col DDT, come già ipotizzato da Omer *et al.* nel 1980 [9]. La marcata resistenza al propoxur può essere spiegata invece con la pressione indiretta esercitata dai carbammati largamente impiegati per uso agricolo.

Nelle zone studiate le risaie costituiscono oggi i principali focolai anofelici, avendo sostituito quasi completamente quelli tradizionali. Anche la fauna anofelica ha subito profondi cambiamenti; infatti mentre nel 1970 non fu reperito nella risaia alcun esemplare di *A. labranchiae* e *A. atroparvus*, queste specie rappresentano la quasi totalità degli anofeli identificati negli ultimi tre anni. La non reperibilità delle due specie fu dovuta probabilmente alla loro bassissima densità, determinata anche dalla campagna triennale di lotta antilarvale che fu condotta nel Grossetano a partire dal 1966 in seguito alla nota alluvione. Gli esemplari sopravvissuti, hanno poi trovato focolai ottimali con l'impianto delle risaie, riguadagnando già nel 1977 densità epidemiologicamente importanti per raggiungere, dopo altri 15 anni, i livelli attuali, sostituendosi nella quasi totalità alle altre specie del complesso *maculipennis*.

Concludendo l'attività di sorveglianza dovrà essere proseguita e potenziata, soprattutto tenendo conto delle crescenti richieste d'autorizzazione all'impianto di nuove risaie od all'ampliamento di quelle esistenti, visto che questo tipo di coltura sembra bene adattarsi, dal punto di vista agronomico, alla piana alluvionale maremmana. Urge quindi una sempre più stretta collaborazione tra i risicoltori, ai quali spettano i necessari interventi antilarvali, e le diverse strutture di controllo.

Ricevuto il 13 aprile 1992.

Accettato il 13 maggio 1992.

BIBLIOGRAFIA

1. COLUZZI, A. 1965. Dati recenti sulla malaria in Italia e problemi connessi al mantenimento dei risultati raggiunti. *Riv. Malariol.* **44**: 153-178.
2. MAJORI, G., SABATINELLI, G., CASAGLIA, O., CAVALLINI, C. & MONZALI, C. 1989. Malaria d'importazione in Italia: analisi retrospettiva dal 1960 e aggiornamento 1986-1988. *Ann. Ist. Super. Sanità* **25**: 675-680.
3. CANAPERIA, G.A. & PATRISSI, T. 1948. La malaria in Italia nel periodo bellico e post bellico. *Riv. Malariol.* **27**: 1-28.
4. HACKETT, L.W. & MISSIROLI, A. 1935. Les variétés d'*Anopheles maculipennis* et leur relation avec la distribution du paludisme en Europe. *Medecina de los paises calidos* **8**: 1-65.
5. COLUZZI, A. & FINIZIO, E. 1966. Il problema degli insetti ematofagi nella zona litoranea della provincia di Grosseto. *Riv. Malariol.* **45**: 137-145.
6. MAJORI, G., MAROLI, M., BETTINI, S. & PIERDOMINICI, O. 1970. Osservazioni sull'anofelismo residuo nel Grossetano. *Riv. Parassitol.* **31**: 147-154.
7. BETTINI, S., GRADONI, L., COCCHI, M. & TAMBURRO, A. 1978. Rice culture and *Anopheles labranchiae* in central Italy. WHO/VBC/78.686 e WHO/Mal/78.897.
8. WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1981. *Instructions for determining the susceptibility or resistance of adult mosquitoes to organochlorine, organophosphate and carbamate insecticides.* WHO/VBC/81.806.
9. OMER, S.M., GEORGHIOU, G.P. & IRVING, S. 1980. DDT/pyrethroid resistance interrelationship in *Anopheles stephensi*. *Mosq. News* **40**: 200-209.