

ATTIVITÀ PROFILATTICA "CLINICA" DEI MACROLIDI (IVERMECTINA E MILBEMICINA OSSIMA) SULLE MACROFILARIE IMMATURE DI *DIROFILARIA IMMITIS*

JOHN W. MC CALL PHD ¹, TOM L. MC TIER PHD ²,
NONGLAK SUPAKORDEJ MS ², RICHARD RICKETTS BA ²

¹ Dipartimento di Parassitologia, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università della Georgia, Athens (USA)

² TRS Laboratori Athens, GA. USA

INTRODUZIONE

L'ivermectina e la milbemicina ossima sono comunemente utilizzate per la prevenzione della filariosi cardiopolmonare del cane (*Dirofilaria immitis*) e la praticità del trattamento chemioprolattico mensile è ampiamente apprezzata dai veterinari e dai proprietari di animali. La somministrazione dei prodotti attualmente in commercio contenenti ivermectina (CARDOTEK 30 e CARDOTEK 30 Plus, Merial) ^{3,7,17,18,22-25} e milbemicina (INTERCEPTOR, CIBA; Greensboro, NC) ^{1,5,8}, secondo le istruzioni fornite dalle case produttrici, ha dimostrato di determinare una protezione virtualmente completa nei confronti della malattia.

Tuttavia il livello di protezione assicurato nel caso di scorretta somministrazione da parte del cliente (dimenticanza di una o più dosi, inizio tardivo) è difficilmente valutabile da parte dei veterinari.

Numerosi studi hanno dimostrato che gli stadi larvali precoci e tardivi di *D. immitis* sono sensibili all'ivermectina ^{3,15,17} e alla milbemicina ^{8,9}. Ma se pur questi due farmaci hanno dimostrato un'attività anche quando somministrati ad intervalli superiori ai 30 giorni consigliati per la profilassi (fino a 2 e 3 mesi dall'induzione delle infestazioni sperimentali) tale attività si è rivelata incompleta ^{3,17,18}.

Le macrofilarie adulte sono generalmente considerate refrattarie all'azione dei lattoni macrociclici ^{2,4,6,10,11,26}. Perfino ad altissimi dosaggi, prossimi alla dose tossica, farmaci strutturalmente analoghi all'ivermectina non hanno dimostrato alcuna attività se somministrati una sola volta ^{6,11}.

Tuttavia è noto che somministrazioni mensili ripetute di ivermectina e milbemicina in soggetti già infestati e microfilaremi alterano il sistema riproduttivo dei parassiti ^{4,14}

e portano all'insorgenza di infestazioni occulte nell'arco di 6-9 mesi ⁴.

Poco si sa sull'attività di ivermectina e milbemicina sui parassiti adulti immaturi.

Questo studio è stato progettato per confrontare gli effetti di ivermectina e milbemicina ossima sulle macrofilarie adulte giovani, al regime consigliato per la profilassi, quando essa sia stata intrapresa 4 mesi dopo l'infestazione e continuata per un anno. Durante la prova sono state inoltre monitorate le concentrazioni di microfilarie e di antigeni circolanti.

I dati ottenuti rivestono una notevole importanza pratica nei casi in cui la somministrazione dei farmaci da parte del cliente non risulti corretta.

MATERIALI E METODI

Nella prova sono stati utilizzati cani di razza Beagle adulti, di età compresa tra 6,8 e 22,6 mesi, acquistati da stabilimenti commerciali autorizzati e custoditi, durante tutto lo studio, in alloggi protetti con zanzariere.

Per verificare l'assenza di preesistenti infestazioni da *D. immitis* e da *Dipetalonema reconditum* i cani sono stati sottoposti a test di Knott modificato prima dell'inizio dello studio e 4 mesi dopo l'induzione dell'infestazione.

Ciascun cane è stato infestato con 50 larve di *D. immitis* inoculate per via sottocutanea nella regione inguinale seguendo la tecnica descritta in letteratura ¹⁵.

Nella prova sono stati utilizzati farmaci, normalmente reperibili in commercio sotto forma di compresse, contenenti ivermectina (Cardotek 30) o milbemicina ossima (Interceptor).

Le compresse sono state suddivise per somministrare esattamente a ciascun cane la dose stabilita di 6,0 mcg/kg per l'ivermectina e 500 mcg/kg per la milbemicina ossima una volta al mese a partire dal giorno 0 (4 mesi dopo l'induzione dell'infestazione) per 14 (nella prova preliminare) o 12 (nella prova di conferma) mesi.

Test per la ricerca delle microfilarie e degli antigeni

Ad ogni prelievo di sangue 1 ml è stato destinato per eseguire la ricerca delle microfilarie circolanti con la tecnica di Knott modificata e 20 µl utilizzati per eseguire uno striscio colorato con Giemsa. Il campione di sangue prelevato per eseguire il test di Knott, conservato con l'aggiunta di una soluzione di formalina al 2%, è stato esaminato solamente nel caso di negatività dell'esame microscopico dello striscio.

Ad ogni prelievo sono stati inoltre raccolti e conservati a -80° campioni di siero per l'esecuzione di test per la ricerca di antigeni circolanti di *D. immitis* rispettivamente con i test Assure (Synbiotics Corp, San Diego, CA) nella prova preliminare o DiroCHEK (Synbiotics Corp) in quella di conferma.

I risultati sono stati classificati utilizzando punteggio soggettivo basato sull'intensità della risposta colorimetrica legata al livello di antigeni secondo il seguente schema: 0 (negativo), 1 (positivo con livello molto basso), 2 (positivo con basso livello), 3 (positivo), 4 (positivo con alto livello), 5 (positivo con livello molto alto).

Necroscopia

Tutti i cani dello studio sono stati sottoposti ad eutanasia subito seguita da esame necroscopico. A ciascuno soggetto è stata praticata l'inoculazione endovenosa di 2 ml di eparina (1000 UI/ml) seguita da 1 a 5 minuti dalla somministrazione di una soluzione per eutanasia contenente barbiturici.

Le cavità pleuriche e peritoneali sono state esaminate accuratamente per la ricerca di macrofilarie ed il cuore ed i polmoni rimossi dopo legatura delle vene cave. Le camere cardiache destre e le arterie polmonari sono state quindi accuratamente dissezionate ed esaminate. Le macrofilarie raccolte sono state poi contate e classificate in base al sesso ed alla vitalità e conservate in una soluzione di formalina al 10%.

Analisi statistica

La carica parassitaria di ciascun cane è stata calcolata sommando il numero di vermi maschi e femmine vitali.

Le macrofilarie morte ed i frammenti di parassiti non sono stati inclusi nel calcolo. Il numero di totale di parassiti raccolti in ciascun cane è stato trasformato nel logaritmo naturale per il calcolo della media geometrica e per l'analisi con il metodo dell'analisi della varianza ad una via.

Ciascun gruppo trattato è stato raffrontato con il gruppo controllo con il contrasto di un grado di libertà e, con lo stesso metodo, sono stati raffrontati i gruppi trattati con ivermectina e milbemicina ossima.

Per verificare la differente suscettibilità al trattamento in base al sesso dei parassiti è stata inoltre svolta un'analisi statistica nei gruppi trattati e non trattati (conta logaritmica dei parassiti).

L'efficacia del trattamento è stata espressa come percentuale di riduzione della carica parassitaria in base alla formula:

$$\text{Percentuale di riduzione} = \frac{\text{Media geometrica delle macrofilarie nel gruppo controllo} - \text{Media geometrica delle macrofilarie nel gruppo trattato}}{\text{Media geometrica delle macrofilarie nel gruppo controllo}} \times 100$$

Per quanto concerne i punteggi dei test antigenici la comparazione è stata effettuata solo nell'ambito della prova di conferma poiché il numero di cani utilizzato nella prova preliminare è stato ritenuto troppo esiguo per l'ottenimento di dati significativi.

Inoltre, poiché le variazioni nelle concentrazioni di antigeni sono risultate diverse per 4 dei 6 mesi (il gruppo che ha ricevuto ivermectina ha presentato costantemente una media più bassa e una maggiore variabilità rispetto a quelle del gruppo trattato con milbemicina e del gruppo controllo) il confronto è stato effettuato con t-test per medie con varianza labile o diseguale, come ritenuto più appropriato.

DISEGNO SPERIMENTALE

Prova preliminare

Nove cani (4 maschi e 5 femmine) sono stati infestati e suddivisi casualmente in tre gruppi di tre soggetti ciascuno rappresentanti entrambi i sessi.

Un gruppo è stato trattato con ivermectina ed un altro con milbemicina ossima somministrate mensilmente a partire da quattro mesi dopo l'infestazione sperimentale per 14 volte. Il terzo gruppo è stato utilizzato come controllo e non sottoposto a trattamento dopo l'infestazione.

La ricerca di microfilarie circolanti è stata effettuata 5, 6 e 7 mesi e mezzo dopo l'infestazione e quindi ogni mese a partire dall'ottavo mentre i test per la ricerca di antigeni sono stati eseguiti al sesto mese e una volta al mese a partire dall'ottavo mese dopo l'infestazione.

Tutti i cani sono stati sottoposti a necroscopia per la ricerca di parassiti un mese dopo l'ultimo trattamento chemioprofilattico (diciotto mesi dopo l'infestazione).

Prova di conferma

Quindici cani (9 femmine e 6 maschi) sono stati infestati, classificati in base al peso nell'ambito dello stesso sesso, e suddivisi in tre gruppi di cinque, costituiti ciascuno da tre femmine e due maschi.

Un gruppo è stato trattato con ivermectina ed un altro con milbemicina ossima somministrate mensilmente a partire da quattro mesi dopo l'infestazione sperimentale per 12 volte. Il terzo gruppo è stato utilizzato come controllo e non sottoposto a trattamento dopo l'infestazione.

A partire dal quarto mese dopo l'infestazione ogni mese sono stati effettuati prelievi per la raccolta di sangue intero e siero. Ulteriori prelievi sono stati effettuati 6,5, 6,75 e 7,25 mesi dal giorno dell'inoculazione delle larve.

Tutti i cani sono stati sottoposti a necroscopia per la ricerca di parassiti un mese dopo l'ultimo trattamento chemioprofilattico (sedici mesi dopo l'infestazione).

RISULTATI

Prova preliminare

Numero dei parassiti rinvenuti durante la necroscopia

Il consuntivo del numero dei parassiti rinvenuti durante la necroscopia è esposto nella Tabella 1.

Tutti i cani del gruppo controllo hanno presentato macrofilarie vitali (media geometrica 27, range 20-34).

La percentuale di riduzione della carica parassitaria nel

Tabella 1

Media geometrica dei parassiti raccolti e percentuale di riduzione della carica parassitaria rispetto al gruppo controllo dopo trattamento mensile (14 dosi) con ivermectina e milbemicina ossima iniziato 4 mesi dopo l'infestazione

Gruppo *	Media geometrica***		Totale Parassiti **	Percentuale di riduzione della carica parassitaria (vs gruppo controllo)
	Maschi**	Femmine**		
Controllo (non trattati)	11,5 ^a	14,8 ^a	27,0 ^a	NS
Ivermectina (6 mcg/kg)	0,3 ^b	0,3 ^b	0,6 ^b	97,8
Milbemicina ossima (500 mcg/kg)	2,8 ^{a, b}	10,7 ^a	13,7 ^a	49,3

*Tre cani per gruppo.

**All'interno della stessa colonna i numeri accompagnati da differenti lettere sono significativamente ($p < 0,01$) diversi.

***In relazione alla trasformazione logaritmica la somma delle medie geometriche dei parassiti maschi e femmina può essere non corrispondente alla somma delle medie geometriche per ciascun animale.

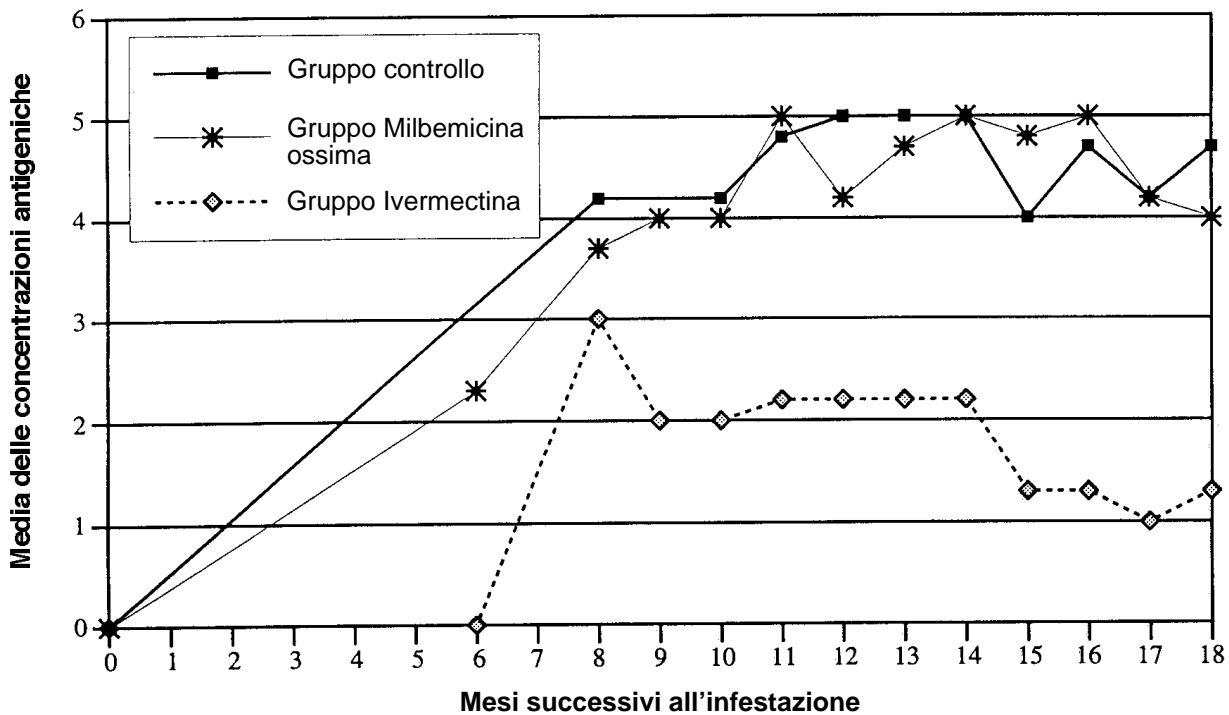


FIGURA 1 - Media delle concentrazioni antigeniche del gruppo controllo, del gruppo trattato con Milbemicina ossima e del gruppo trattato con Ivermectina. Prova preliminare comprendente tre cani per gruppo, con inizio dei trattamenti mensili 4 mesi dopo l'infestazione.

gruppo trattato con ivermectina rispetto al gruppo controllo è stata del 97,8%, mentre è stata del 49,3% in quello trattato con milbemicina ossima.

L'ivermectina è stata significativamente più efficace ($p < 0,01$) della milbemicina. La differenza nella carica parassitaria tra il gruppo controllo e quello trattato con milbemicina non è risultata statisticamente significativa ($p < 0,09$).

Macrofilarie vitali sono risultate presenti in tutti e tre i soggetti del gruppo trattato con milbemicina (range 10-25) ed in due dei tre cani trattati con ivermectina (range 0-1; una delle macrofilarie appariva di aspetto anomalo).

Un cane del gruppo ivermectina e due di quello milbemicina ossima hanno evidenziato la presenza anche di frammenti di parassita.

L'unica femmina vitale presente in uno dei soggetti trattati con ivermectina appariva sofferente e presentava assenza di microfilarie a livello uterino.

Conta delle microfilarie

Tutti i cani del gruppo controllo hanno manifestato microfilaremia a partire dall'ottavo mese successivo all'infestazione.

Tabella 2

Media geometrica dei parassiti raccolti e percentuale di riduzione della carica parassitaria rispetto al gruppo controllo dopo trattamento mensile (12 dosi) con ivermectina e milbemicina ossima iniziato 4 mesi dopo l'infestazione

Gruppo *	Media geometrica***		Totale Parassiti **	Percentuale di riduzione della carica parassitaria (vs gruppo controllo)
	Maschi**	Femmine**		
Controllo (non trattati)	9,5 ^a	16,2 ^a	25,8 ^a	NS
Ivermectina (6 mcg/kg)	0,9 ^b	0,4 ^b	1,3 ^b	95,1
Milbemicina ossima (500 mcg/kg)	4,5 ^{a, b}	10,3 ^a	15,1 ^a	41,4

*Cinque cani per gruppo.

**All'interno della stessa colonna i numeri accompagnati da differenti lettere sono significativamente ($p < 0,01$) diversi.

***In relazione alla trasformazione logaritmica la somma delle medie geometriche dei parassiti maschi e femmina può essere non corrispondente alla somma delle medie geometriche per ciascun animale.

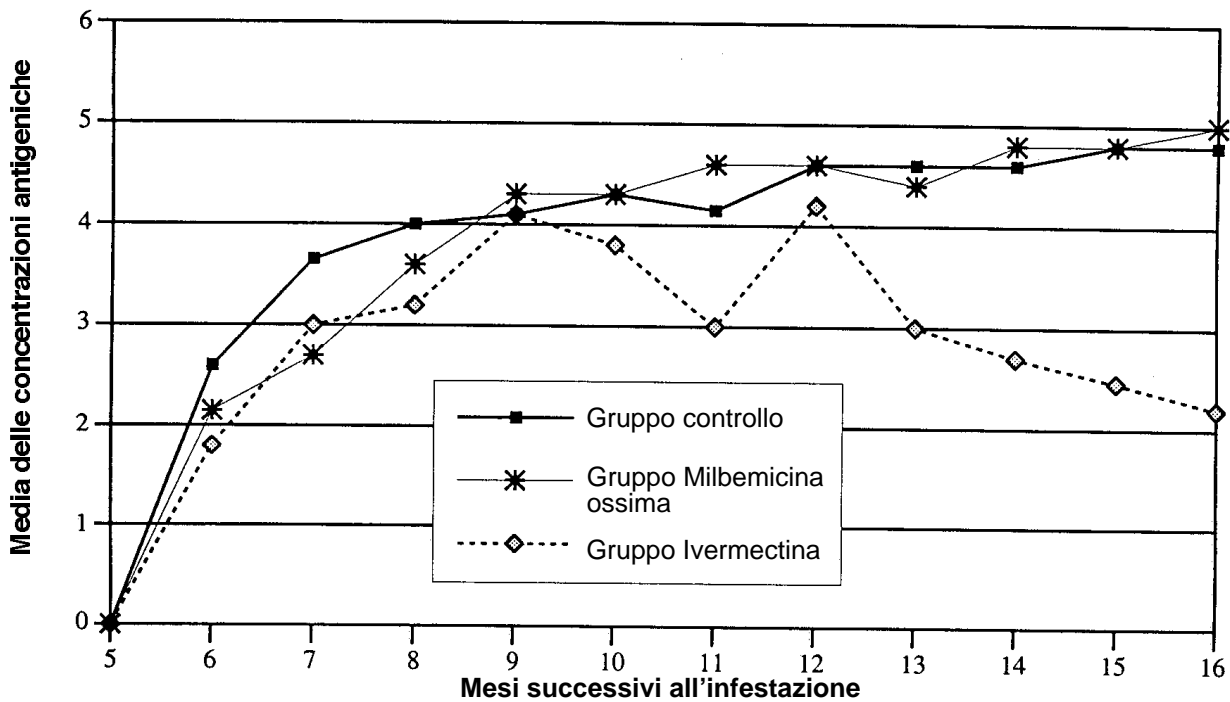


FIGURA 2- Media delle concentrazioni antigeniche del gruppo controllo, del gruppo trattato con Milbemicina ossima e del gruppo trattato con Ivermectina. Prova di conferma comprendente 5 cani per gruppo, con inizio dei trattamenti mensili 4 mesi dopo l'infestazione.

La media geometrica della concentrazione delle microfilarie (MF) è gradualmente aumentata per raggiungere il picco al sedicesimo mese (24 567 MF/ml).

Due dei cani trattati con milbemicina hanno presentato una microfilaremia lieve e transitoria: un cane ha presentato 2 MF/ml all'ottavo mese e l'altro 9 MF/ml al nono mese post-infestazione.

Risultati dei test antigenici

Sebbene non sia stato possibile per l'esiguo numero di soggetti eseguire un'analisi statistica in proposito, la media delle concentrazioni di antigeni rilevati nel gruppo

trattato con ivermectina è stata chiaramente più bassa sia di quella del gruppo controllo che di quella del gruppo trattato con milbemicina che hanno evidenziato medie simili (Fig. 1).

Tutti i cani dei gruppi controllo e milbemicina ossima hanno dato risposte positive con livelli alti o molto alti di antigene a partire dall'ottavo e nono mese dall'infestazione per tutta la durata della prova.

I risultati dei test nei soggetti trattati con ivermectina invece sono stati chiaramente differenti. Uno dei tre cani trattati è risultato positivo al nono mese dopodiché è risultato sempre negativo. All'esame necroscopico non è

stato possibile rilevare la presenza di parassiti vivi o morti. Un altro cane è risultato positivo dal decimo mese per cinque mesi consecutivi ma successivamente i suoi test hanno dato esito negativo. Questo soggetto è risultato infestato da una sola macrofilaria maschio vitale. L'ultimo cane del gruppo è risultato positivo anche con concentrazioni di antigeni molto alte dal nono mese fino all'esame necroscopico che ha rivelato la presenza di una macrofilaria femmina disvitale unitamente a frammenti di parassiti morti.

Prova di conferma

Numero dei parassiti rinvenuti durante la necroscopia

Il consuntivo del numero dei parassiti rinvenuti durante la necroscopia è esposto nella Tabella 2.

Tutti i cani del gruppo controllo hanno presentato macrofilarie vitali (media geometrica 25,8, range 12-39)

Il trattamento mensile con ivermectina dopo quattro mesi dall'infestazione e continuato per 12 mesi ha avuto un'efficacia del 95,1% ($p < 0,01$) nel ridurre la carica parassitaria.

Tre dei cinque cani trattati hanno presentato macrofilarie vitali alla necroscopia (range 2-4; cinque di questi parassiti apparivano di aspetto anomalo).

L'ivermectina è stata significativamente ($p < 0,01$) più efficace della milbemicina ossima che ha determinato una riduzione del 41,4% della carica parassitaria. La differenza nel numero dei parassiti presenti al termine della prova nel gruppo milbemicina ed in quello controllo non è stata statisticamente significativa ($p < 0,10$) e tutti i soggetti trattati con milbemicina al momento della necroscopia hanno presentato macrofilarie vitali (range 8-27).

Tutti i cani trattati con ivermectina e quattro di quelli trattati con milbemicina hanno presentato frammenti di parassiti e le macrofilarie femmine provenienti dai soggetti di entrambi i gruppi sono risultate non gravide.

Conta delle microfilarie

Tre dei cinque cani del gruppo controllo sono risultati microfilarici a partire da sei mesi e mezzo dall'infestazione. I rimanenti dal settimo mese. La media geometrica della concentrazione delle microfilarie è gradualmente aumentata per raggiungere il picco al sedicesimo mese (22 348 MF/ml).

Solamente un soggetto trattato con ivermectina e due trattati con milbemicina hanno presentato microfilaremia.

Quello trattato con ivermectina ha presentato una sola microfilaria all'ottavo mese post-infestazione, mentre i due sottoposti a trattamento con milbemicina hanno presentato una concentrazione di macrofilarie variabile da 1 a 55 tra il sesto mese e mezzo ed il nono post-infestazione. Tutti gli altri campioni provenienti dai cani sottoposti a trattamento sono risultati negativi.

Risultati dei test antigenici

I risultati dei test antigenici sono evidenziati dalla Figura 2. Due cani del gruppo controllo sono risultati positivi con livelli molto bassi di antigene al quinto mese e tutti i soggetti del gruppo sono risultati positivi a partire da sei mesi e mezzo dopo l'infestazione.

La concentrazione di antigeni è aumentata quindi rapidamente fino a raggiungere livelli alti o molto alti all'ottavo mese, per poi mantenersi tale fino al termine dello studio.

Quattro dei cinque cani del gruppo ivermectina sono risultati positivi a partire dal sesto mese, tutti dall'ottavo mese post-infestazione. Due dei soggetti si sono negativizzati al quattordicesimo e quindicesimo mese e si sono mantenuti tali fino alla necroscopia che non ha evidenziato la presenza di macrofilarie femmine.

I rimanenti tre sono rimasti positivi fino al termine dello studio. Uno di essi (che aveva dato un esito con livello di antigeni molto basso all'ultimo test effettuato) ha presentato solo frammenti di parassiti mentre gli altri due sono risultati infestati rispettivamente da una e due macrofilarie femmine vitali e da frammenti di macrofilarie.

I risultati dei test antigenici del gruppo trattato con milbemicina ossima sono risultati simili a quelli del gruppo non trattato con la differenza che in due cani la positività si è manifestata a partire dall'ottavo mese ed in uno di questi si è mantenuta a livelli bassi fino al decimo mese.

In generale la concentrazione di antigeni rilevata è stata più bassa per i cani trattati con ivermectina rispetto quelli trattati con milbemicina ossima o non trattati (Fig. 2). La concentrazione è stata significativamente più bassa ($p < 0,05$) rispetto a quella del gruppo controllo al tredicesimo mese post-infestazione e vicina alla significatività tra il quattordicesimo e sedicesimo mese ($p < 0,10$).

Le differenze tra i cani trattati con ivermectina e milbemicina è stata prossima alla significatività ($p < 0,10$) tra il tredicesimo ed il sedicesimo mese.

DISCUSSIONE

Si definisce chemioprolifassi clinica della filariosi cardiopolmonare la prevenzione delle manifestazioni cliniche della malattia ottenuta con l'eliminazione dei parassiti immaturi (L5, adulti immaturi), mentre è definita chemioprolifassi causale quella rivolta contro gli stadi larvali precoci (L3, L4)^{13,19}.

L'efficacia della ivermectina e della milbemicina ossima nei confronti delle forme larvali precoci (chemioprolifassi causale) e delle microfilarie di *D. immitis* è ampiamente conosciuta, così come l'apparente mancanza di attività nei confronti dei parassiti adulti.

I risultati di questo studio indicano chiaramente che il range di attività dell'ivermectina, oltre ad includere le forme larvali, si estende anche ai giovani adulti localizzati nelle arterie polmonari (chemioprolifassi clinica) al contrario della milbemicina ossima che è risultata moderatamente attiva sui giovani adulti.

Nella prova realizzata il trattamento è stato iniziato dopo 4 mesi quando tutti i parassiti erano già localizzati nel circolo arterioso polmonare dopo aver completato la fase di migrazione dai tessuti sottocutanei. In questa fase i parassiti occupano le arteriole e le arterie polmonari lobari. Dopo circa 4 mesi e mezzo dall'infestazione ha luogo l'accoppiamento e le microfilarie possono essere rinvenute nel sangue circa 6-7 mesi dopo l'infestazione.

I test attualmente in commercio per la ricerca di antigeni circolanti sono in grado di rilevare unicamente la presenza di macrofilarie femmine di almeno 5 o 6 mesi di età.

Questo studio non è stato ideato per definire il periodo in cui i parassiti diventano refrattari al trattamento con

ivermectina o milbemicina ossima, il numero di trattamenti necessari, il tempo che intercorre tra l'inizio del trattamento e la morte dei parassiti o l'influenza del dosaggio sull'attività dei farmaci, ma per fornire informazioni di base partendo da una situazione che può verificarsi comunemente nella pratica come quella di un soggetto che viene condotto alla visita per iniziare la profilassi con 4 mesi di ritardo sul periodo opportuno di inizio. In questi casi l'infestazione non può ancora essere svelata dai test antigenici e il paziente sarebbe probabilmente incluso in un programma di profilassi con ivermectina o milbemicina con la raccomandazione di effettuare un controllo dopo un anno. I risultati di questo studio forniscono dati di rilevanza pratica per una situazione di questo tipo.

Sebbene non fossero scopo di questo lavoro, i dati ottenuti consentono di estrapolare ulteriori indicazioni. 1) L'antigenemia transitoria rilevata in alcuni soggetti trattati con ivermectina indica che alcuni parassiti avevano almeno 5 o 6 mesi di età prima di morire dal momento che i parassiti più giovani non possono essere evidenziati dai test antigenici. 2) Alcune macrofilarie nel gruppo trattato con ivermectina sono vissute più a lungo essendo presenti alla necropsia come frammenti. Anche se l'età in cui i parassiti divengono refrattari all'ivermectina non può essere stabilita da questo studio, i dati ottenuti dimostrano che è ben oltre i 4 mesi. Ulteriori studi sono in corso per una più precisa definizione.

I risultati qui esposti, assieme agli altri già pubblicati, suggeriscono che *D. immitis* diventi refrattaria all'attività della milbemicina ossima (3-4 mesi dopo l'inoculazione delle larve infestanti) prima di quanto accada per l'ivermectina. Infatti 12 trattamenti mensili con milbemicina ossima iniziati tre mesi dopo l'infestazione sperimentale sono risultati altamente (> 95%) ma non completamente efficaci nel prevenire l'infestazione²⁰.

I test utilizzati per rilevare la presenza di antigeni circolanti e per la loro determinazione semiquantitativa sono risultati molto utili nel monitoraggio dell'infestazione sia nei soggetti trattati sia in quelli di controllo ed altamente attendibili nel prevedere i risultati delle necropsie. Nel gruppo di controllo la concentrazione degli antigeni circolanti è aumentata gradualmente dal sesto al nono mese e si è poi mantenuta costante. Nel gruppo trattato con ivermectina i soggetti che hanno dato esito negativo non hanno evidenziato la presenza di macrofilarie femmine o di frammenti di parassiti alla necropsia e quelli con bassa antigenemia sono risultati infestati solo da una o due macrofilarie femmine e/o da frammenti di parassiti. Nel gruppo controllo e milbemicina l'intensità della risposta colorimetrica è risultata correlata al numero di macrofilarie femmine presenti. Va comunque considerato che nella interpretazione semiquantitativa dei test nei soggetti sottoposti a trattamento è necessario tenere in considerazione che i parassiti possono rilasciare notevoli quantitativi di antigeni subito dopo la morte ed una elevata antigenemia potrebbe essere associata quindi alla scomparsa del parassita. Sebbene un progressivo declino dell'antigenemia possa indicare l'eliminazione dei parassiti, mancano al momento le informazioni necessarie sull'intervallo di tempo che intercorre tra la scomparsa delle macrofilarie e l'impossibilità di rilevare i loro antigeni circolanti.

In questo studio la maggior parte dei soggetti sottoposti a trattamento è risultata amicrofilaremica e i pochi in cui è stato possibile rilevare microfilarie circolanti hanno sempre evidenziato una microfilaremia molto ridotta. Inoltre le macrofilarie femmine ancora vitali al termine della prova sono apparse non gravide. Questi dati concordano con quelli di altri studi che confermano l'attività microfilaricida del trattamento con ivermectina o milbemicina ossima nei soggetti già infestati^{4,12}.

CONCLUSIONI

L'ivermectina è risultata altamente (> 95%) seppur incompletamente efficace nella chemiopprofilassi clinica della filariosi cardiopolmonare del cane in corso di trattamenti effettuati a partire da 4 mesi dall'infestazione. La milbemicina è risultata invece scarsamente efficace nelle medesime condizioni.

Sebbene incompleta l'attività retroattiva dell'ivermectina è risultata significativamente migliore di quella della milbemicina. I risultati di questi studi suggeriscono inoltre che i test semiquantitativi per la determinazione di antigeni circolanti, al contrario di quelli per la ricerca di microfilarie, sono molto efficaci nel monitorare lo stato parassitario dei soggetti in cui venga intrapresa la profilassi con ivermectina in ritardo rispetto al periodo consigliato.

Bibliografia

1. Bater AK: Efficacy of oral milbemicin against naturally acquired heartworm infection in dogs. In: Otto GF, ed. Proceedings of the Heartworm Symposium '86. Washington, DC: American Heartworm Society, 1989; 107-8
2. Blagburn BL, Hendrix CM, Lindsay DS, et al. Post-adulticide milbemicin oxime microfilaricidal activity in dogs naturally infected with *Dirofilaria immitis*. In: Soll MD, ed. Proceedings of the Heartworm Symposium '92. Batavia IL: American Heartworm Society, 1992; 159-64
3. Blair LS, Campbell WC. Efficacy of ivermectin against *Dirofilaria immitis* larvae in dogs (31, 60, 90 days after infection) Am J Vet Res 1980; 41: 2108
4. Bowman DD, Johnson RC, Ulrich ME, et al. Effects of long-term administration of ivermectin and milbemycin oxime on circulating microfilariae and parasite antigenemia in dogs with patent heartworm infections. In: Soll MD, ed. Proceedings of the Heartworm Symposium '92. Batavia IL: American Heartworm Society, 1992; 151-158
5. Bradley RE. Dose titration and efficacy of milbemycin oxime for prophylaxis against *Dirofilaria immitis* infection in dogs. In: Otto GF, ed. Proceedings of the Heartworm Symposium '89. Washington, DC: American Heartworm Society, 1989; 115-20
6. Campbell WC, Blair LS. Efficacy of ivermectin against *Dirofilaria immitis* in dogs. J Helminthol 1978; 52: 308-310
7. Dzimiński MT, Roberson EL, Mc Tier TL, et al. Prevention of heartworm infection and treatment of ascarid and hookworm infections in dogs using a chewable formulation of ivermectin plus pyrantel pamoate. In: Soll MD, ed. Proceedings of the Heartworm Symposium '92. Batavia IL: American Heartworm Society, 1992; 201-204
8. Grieve RB, Frank GR, Stewart VA, et al. Effect of dosage and dose timing on heartworm (*Dirofilaria immitis*) chemoprophylaxis with milbemycin. In: Otto GF, ed. Proceedings of the Heartworm Symposium '86. Washington, DC: American Heartworm Society, 1989; 121-4
9. Grieve RB, Frank GR, Stewart VA, et al. Chemoprophylactic effects of milbemycin oxime against larvae of *Dirofilaria immitis* during prepatent development. Am J Vet Res 1991; 52: 2040-2042.
10. Hendrix CM, Blagburn BL, Bowles JV, et al. The safety of moxidectin in dogs infected with microfilariae and adults of *Dirofilaria immitis*. In: Soll MD, ed. Proceedings of the Heartworm Symposium '92. Batavia IL: American Heartworm Society, 1992; 183-7
11. Jackson RF, Seymour GW. Efficacy of ivermectins against microfilariae of *Dirofilaria immitis*. In: Otto GF, ed. Proceedings of the

- Heartworm Symposium '80. Edwardsville, KS: Veterinary Medicine Publishing Co., 1981: 131-6
12. Kitagawa H, Sasaki Y, Kumasaka J, et al. Clinical and laboratory changes after administration of milbemycin oxime in heartworm-free and heartworm-infected dogs. *Am J Vet Res* 1993; 54:520-526
 13. Lammler G. Experimental chemotherapy and chemoprophylaxis of filariasis. *Pestic Sci* 1977; 8: 563-76
 14. Lok JB, Knight DH, Ramadan EI. Effects of ivermectin on embryogenesis in *Dirofilaria immitis*: age structure and spatial distribution of intrauterine forms as function of dosage and time posttreatment. In: Otto GF, ed. *Proceedings of the Heartworm Symposium '89*. Washington, DC: American Heartworm Society, 1989: 85-94
 15. Mc Call JW. The role of arthropods in the development of animals models for filariasis research. *J Ga Entomol Soc* 1981; 16: 283-293
 16. Mc Call JW. Participation by academia in discovery and development of products by the animal health industry. *Proceedings, Veterinary Pharmacology in the Pharmaceutical Industry: Ninth Biennial Symposium of the American Academy of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 1994 : 143-51
 17. Mc Call JW, Dzimiński MT, Plue RF, et al. Ivermectin in heartworm prophylaxis: studies with experimental induced and naturally acquired infections. In: Otto GF, ed. *Proceedings of the Heartworm Symposium '86*. Washington DC: American Heartworm Society, 1986; 9-13.
 18. Mc Call JW, Lindemann BA, Porter CA. Prophylactic activity of avermectins against experimentally induced *Dirofilaria immitis* infections in dogs. In: Otto GF, ed. *Proceedings of the Heartworm Symposium '80*. Edwardsville, KS: veterinary Medicine Publishing Co., 1981: 126-30
 19. Mc Call JW, Mc Tier TL, Dzimiński MT, et al. Clinical prophylactic activity of melarsomine dihydrochloride (RM 340) against *Dirofilaria immitis* in heartworm naive beagles exposed to natural infection in three southeastern states. *Vet Parasitol* 1994, 55: 205-19
 20. Mc Call JW, Supakorndej N, Dzimiński MT, et al. Evaluation of adult heartworm antigen test kits for effectiveness in induced ectopic infections in cats and dogs only [Abstract # 186]. *Proceedings, Joint Meeting of the American Society of Parasitologist and the American Association of Veterinary Parasitologists*, 1993: 36
 21. Mc Call JW, Supakorndej N, Mc Tier TL, et al. Commercial heartworm antigen test kits detect infections with a single adult female worm but not those with numerous adult male worms only [Abstract # 44]. *Proceedings, Am Assoc Vet Parasitol*, 1993: 36
 22. Oishi I, Katae H, Hayashi M, et al. Prophylactic activity of ivermectin against *Dirofilaria immitis* infection in dogs: larvicidal activity of ivermectin against *D. immitis* larvae 30 days after infection. *Jpn J Vet Sci* 1987; 49: 115-120.
 23. Paul AJ, Mc Call JW, Todd KS, jr. Efficacy of ivermectin against *Dirofilaria immitis* larvae in dogs forty-five days after induced infection. In: Otto GF, ed. *Proceedings of the Heartworm Symposium '86*. Washington, DC: American Heartworm Society, 1986: 33-5
 24. Paul AJ, Todd KS, Wallace DH, et al. Efficacy of a chewable formulation containing ivermectin and pyrantel pamoate against the development of *Dirofilaria immitis* in dogs 30 days post infection. In: Soll MD, ed. *Proceedings of Heartworm symposium '92*. Batavia, IL: American Heartworm Society, 1992: 197-9
 25. Plue RE, Jernigan AD, Acre KE, et al. Field efficacy, safety, and acceptability of ivermectin plus pyrantel pamoate in growing and adult dogs. In: Soll MD, ed. *Proceedings of the Heartworm Symposium '92*. Batavia, IL: American Heartworm Society, 1992: 205-208
 26. Schlotthauer JC, Stromberg BE, Paul AJ, et al. Safety and acceptability of ivermectin in dogs with naturally acquired patent infection of *Dirofilaria immitis*. In: Otto GF, ed. *Proceedings of the Heartworm Symposium '86*. Washington, DC: American Heartworm Society, 1986: 29-32
 27. Schneider CR, Blair LS, Schardain JL, et al. Comparison of early *Litosomoides carinii* infections in cotton rats and gerbils. *J Parasitol* 1968; 54: 1099-1105.