

EFFICACIA DELLA MOXIDECTINA IN FORMULAZIONE INIETTABILE NELLA PROFILASSI DELLA FILARIOSI CARDIOPOLMONARE (*DIROFILARIA IMMITIS*) DEL CANE

C. GENCHI¹, L. KRAMER², M. MORTARINO¹, M. GENCHI¹, L. VENCO³

¹Dipartimento di Patologia Animale, Igiene e Sanità Pubblica Veterinaria, Università degli Studi di Milano,

²Dipartimento di Produzioni Animali, Biotecnologie Veterinarie e Sicurezza degli Alimenti, Università degli studi di Parma,

³Clinica Veterinaria Città di Pavia

Riassunto

La durata dell'efficacia della moxidectina in formulazione iniettabile è stata valutata su 73 cani, esenti da infestazione da *Dirofilaria immitis*, di varia età (6 mesi- 12 anni), peso, sesso e razza. I cani sono stati trattati una prima volta per via sottocutanea alla dose di 0.17 mg/kg (0.05 ml/kg della sospensione in microsferi ricostituita) nel Maggio '99 per valutare l'efficacia di una singola iniezione nel corso di una stagione di rischio e la sua tollerabilità quando impiegata, in condizioni di campo, su cani di proprietà. Un secondo trattamento, alle dosi sopra indicate, è stato somministrato nel Novembre '99 per valutare se il farmaco fosse efficace anche dopo 12 mesi dalla sua somministrazione. I controlli parassitologici (test di Knott e ricerca degli antigeni nel siero) sono stati condotti prima e a 90 giorni dalla prima somministrazione di farmaco e ripetuti dopo 180 giorni, prima della seconda somministrazione, e nuovamente dopo 210 (7 mesi), 330 (11 mesi) e 600 giorni (20 mesi: 12 mesi di efficacia del farmaco + tempo di prepatenza del parassita). Un gruppo di 24 cani, trattato mensilmente (5 somministrazioni) con la formulazione di moxidectina in compresse da Maggio a Settembre nel corso dei 2 anni di prova, è stato utilizzato come controllo positivo. L'effettivo rischio di infestazione a cui erano sottoposti i cani è stato valutato tramite esami parassitologici (Knott e antigenemia) dei cani che venivano presentati alla visita veterinaria e i cui proprietari riferivano di non avere sottoposto gli animali ad alcuna profilassi nei confronti del parassita nel corso della stagione precedente (controllo negativo). Nessun soggetto dei 2 gruppi trattati (moxidectina iniettabile e moxidectina in compresse) è risultato positivo agli esami parassitologici. Nessun effetto collaterale è stato osservato a seguito della somministrazione del farmaco in entrambe le formulazioni. Nel gruppo di controllo negativo la percentuale di positività è stata del 44-63%, dimostrando che i cani inclusi nella prova erano esposti ad un elevato rischio di infestazione. Sulla base di questi risultati è possibile concludere che la formulazione in microsferi di moxidectina, da somministrarsi per via sottocutanea, è ben tollerata e in grado di proteggere i cani nei confronti della filariosi cardiopolmonare per 11-12 mesi dalla sua somministrazione.

Summary

A field study was carried out to evaluate the ability of a single injection of a sustained-release formulation of moxidectin (moxidectin SR) to protect dogs naturally exposed to heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection. Ninety seven client dogs of different ages (6-month- 1-year-old), sex and breed were included in the study. Seventy three dogs were subcutaneously injected at 0.17 mg/kg bw (0.05 ml/kg of the microsphere reconstituted suspension) on May 99 to evaluate the tolerability and the efficacy of the treatment during a transmission season. A second injection was done in November 99 to evaluate the ability of the drug to protect dogs after 12 months from the treatment. Parasitological examinations (Knott test for circulating microfilariae and an antigen test) were carried out on Day 0, before the first injection, and after 90 days to confirm that dogs were heartworm free. Further examinations were done on day 180, before the second injection, and on 7 (Day 210), 11 (Day 330) and 20 months (Day 600: 360 days of activity of moxidectin SR plus parasite prepatency) after the second injection. Twenty four dogs, treated once a month for 5 consecutive months during the trial with moxidectin tablet formulation were included in the study as positive controls. To assess the actual infection risk throughout the study, 3 groups of dogs (18, 26 and 27 respectively) referred by their owners as not prophylactically treated against heartworm in the previous transmission season, were examined for the infection in May 99, June 00 and June 01 (negative control group). No side effects were observed in the moxidectin-treated dog. From both moxidectin-treated groups, no dog was positive at parasitological examinations throughout the study period. Negative control dogs showed a percentage of positivity of 44-63%, demonstrating that dogs included in the study were exposed to an actual risk of infection. On the basis of these results, it is possible to conclude that a single subcutaneous injection of moxidectin SR is safe and able to protect dogs against heartworm infection as long as 11-12 months.

INTRODUZIONE

La moxidectina è un lattone macrociclico derivato dalla nemadectina, molecola dotata di ampio spettro di attività contro i nematodi e gli artropodi parassiti dei ruminanti^{1,15,23,24}, del suino²², degli equini^{10,16} e del cane^{2,5}. La nemadectina è il maggiore componente del complesso antibiotico che è prodotto dalla fermentazione e dalla sintesi chimica del micete *Streptomyces cyanogriseus* spp. *noncyanogenus*⁴.

L'efficacia della moxidectina nella prevenzione delle infestazioni da *Dirofilaria immitis* (larve di 3° e 4° stadio) è stata dimostrata nel cane da McTier et al.¹⁸ dopo 1 e 2 mesi dalla infestazione sperimentale. McCall et al.¹⁷ hanno confermato l'efficacia della molecola in 2 esperimenti nel corso dei quali la moxidectina è stata somministrata per via orale alle dosi 1 e 3 mcg/kg una volta al mese e a 3 mcg/kg una volta ogni 2 mesi a cani esposti naturalmente alla puntura di culicidi infestati.

Il farmaco è ben tollerato dal cane. Somministrazioni di dosi fino a 5 volte quella raccomandata non hanno dato luogo a reazioni indesiderate anche in soggetti infestati e microfilaremici⁹. Nessun effetto indesiderato è stato inoltre notato in cani Collie sensibili alla ivermectina somministrata per via orale a 120 mcg/kg (20x la dose raccomandata) trattati con 15-90 mcg/kg di moxidectina (5x, 10x, 20x e 30x la dose raccomandata)^{19,20}. L'efficacia e la tollerabilità della moxidectina somministrata per via orale alla dose di 3 mcg/kg è stata confermata in cani di proprietà da King et al.¹² e da Genchi et al.⁸.

Recentemente è stata approvata in Italia una nuova formulazione iniettabile "sustained release" (SR) (Guardian® SR Iniettabile, Fort Dodge®) che consente il lento e prolungato rilascio del principio attivo. Il farmaco è contenuto in microsfele di oli vegetali (trigliceridi presenti in natura ed utilizzati anche nell'industria alimentare) che fungono da deposito della molecola e garantendone poi il rilascio nel tempo. L'attività profilattica di questa nuova formulazione è indicata in 12 mesi.

Gli studi fino ad ora pubblicati indicano che una singola iniezione di moxidectina SR alla dose di 0.17 mg/kg pv (pa-

ri a 0.05 ml/kg pv della sospensione ricostituita) è in grado di proteggere il cane dalle infestazioni da *D. immitis* per almeno 6 mesi¹⁴. La formulazione si è rilevata ben tollerata sia in soggetti con infestazioni patenti che in Collie sensibili alla ivermectina³. In questo articolo vengono presentati i risultati di una prova di efficacia condotta in Italia su cani di proprietà residenti in un'area endemica per filariosi cardiopolmonare ottenuti dopo 12 mesi dalla inoculazione di moxidectina SR.

MATERIALI E METODI

La prova è stata condotta su cani di proprietà residenti nella provincia di Pavia, dove la prevalenza della infestazione è compresa tra il 40 e il 60% nei soggetti non sottoposti a profilassi contro la malattia⁷. Nella prova sono stati inclusi 97 cani di differente razza, sesso ed età. I cani sono stati suddivisi in 4 gruppi in base al peso (<11 kg, 11-22 kg, 23-45 kg, >45 kg): 3 cani, a *random*, sono stati trattati con moxidectina SR e uno, quale controllo positivo, con moxidectina in compresse una volta al mese, da Maggio a Settembre, per tutta la durata della prova.

Il protocollo della prova è illustrato nella Tabella 1: 73 cani (22 maschi e 51 femmine) sono stati trattati con moxidectina SR e 24 (8 maschi e 16 femmine) con la formulazione in compresse. L'età dei soggetti variava in entrambi i gruppi da 6 mesi a 12 anni.

All'inizio della prova (Giorno 0), prima del trattamento, i cani sono stati sottoposti ad esame del sangue (test di Knott) per il rilievo di microfilarie circolanti e al test per la ricerca degli antigeni circolanti di femmine adulte (HESKA™ Solo Step™ Filaria Cane, HESKA Corp. Fort Collins, CO). I controlli sono stati ripetuti al Giorno 90 per confermare l'assenza di infestazione pregressa.

Un primo trattamento con moxidectina SR è stato somministrato tramite iniezione sottocutanea della sospensione in microsfele ricostituita in ragione di 0.05 ml/kg pv, pari a 0.17 mg/kg di principio attivo, nel Maggio '99 per valutare l'efficacia del farmaco nel corso di una stagione di rischio (6

Tabella 1
Protocollo dello studio di efficacia della moxidectina SR

Formulazione	No. cani	Maggio 99 Giorno 0	Agosto 99 Giorno 90	Novembre 99 Giorno 180	Giugno 00 Giorno 210	Ottobre 00 Giorno 330	Giugno 01 Giorno 600
Moxidectina SR	73	T Mf/Ag	Mf/Ag	T Mf/Ag	Mf/Ag	Mf/Ag	Mf/Ag
Moxidectina compresse	24	T (una volta al mese da Maggio a Settembre per tutta la durata dello studio)	Mf/Ag	Mf/Ag	Mf/Ag	Mf/Ag	Mf/Ag
Controlli negativi		8/18 ¹			15/26 ¹		17/27 ¹

T: Trattamento; Mf: Knott test; Ag: Test per la ricerca degli antigeni

¹ soggetti positivi/soggetti esaminati

mesi) e la sua tollerabilità. Un secondo trattamento è stato effettuato all'inizio di Novembre '99 (vedi protocollo della prova in Tab. 1) per valutare se il farmaco, utilizzato in condizioni di campo, fosse in grado di mantenere la sua efficacia per un periodo di 12 mesi.

I cani del gruppo di controllo positivo sono stati trattati con la formulazione di moxidectina in compresse dosate in modo da assicurare una dose minima di 3 mcg/kg pv di moxidectina una volta al mese per 5 somministrazioni consecutive da Maggio a Settembre, per tutta la durata dello studio.

Dopo il trattamento, i cani sono stati esaminati tramite il test di Knott e il test per gli antigeni circolanti, oltre che al giorno 90, al giorno 180 (prima del secondo trattamento) e dopo 210, 330 e 600 giorni (inizio Giugno 2001) dal secondo trattamento (Tab. 1). Nel corso della prova sono stati inoltre registrati tutti i trattamenti vaccinali e farmacologici a cui erano sottoposti i soggetti inclusi nella prova.

Allo scopo di determinare il rischio di infestazione a cui erano sottoposti i cani nel corso dello studio, negli anni 1999 e 2000 tutti i cani presentati alla visita veterinaria e i cui padroni riferivano di non avere effettuato la profilassi contro la filariosi cardiopolmonare nel corso della stagione precedente, sono stati sottoposti ad esami ematologici (test di Knott) e sierologici per il rilievo degli antigeni del parassita in modo da ottenere una indicazione attendibile sulla prevalenza della infestazione nell'area di studio (controllo negativo).

RISULTATI

Tutti i cani inclusi nello studio sono risultati negativi agli esami per filariosi cardiopolmonare al Giorno 0 e 90 e sono stati considerati indenni da infestazione. La prova è stata portata a termine, rispettivamente, da 69 cani nel gruppo trattato con moxidectina SR e da 22 cani nel gruppo trattato con le compresse. Per tutti gli animali, il mancato completamento della prova è stato dovuto a cause non dipen-

denti dal trattamento con moxidectina.

Tutti i cani trattati con moxidectina SR o moxidectina in compresse sono risultati negativi agli esami parassitologici a tutti i tempi dello studio. Nella Tabella 2 sono riportati i tempi di durata dell'efficacia della formulazione iniettabile di moxidectina, il periodo teorico di trasmissione della filariosi nell'area in prova, il periodo di prepatenza del parassita e i risultati degli esami parassitologici eseguiti dopo il trattamento effettuato nel Novembre 1999.

Nessuna reazione avversa è stata osservata durante la prova sia nel gruppo dei soggetti trattati con moxidectina SR, sia in quello trattato con la formulazione in compresse. Nel corso dello studio 89 cani sono stati vaccinati contro cimurro, adenovirus e parvovirus, 93 contro *Leptospira* e 21 contro la rabbia. 75 soggetti sono stati trattati contro i parassiti esterni con piretroidi sintetici, fipronil e imidacloprid, 25 contro i parassiti interni con pirantel pamoato, nitroscanoato, mebendazolo e praziquantel. 21 soggetti sono stati trattati con farmaci antinfiammatori, antibiotici, corticosteroidi, barbiturici e anti-estrogeno.

La percentuale di positività riscontrata nei soggetti portati alla visita veterinaria nel corso degli anni 1999 e 2000 e i cui proprietari avevano riferito di non avere attuato nessuna profilassi contro la filariosi cardiopolmonare è stata del 44% (8/18) nel Maggio 99, del 58% (15/26) nel Giugno 00, e del 63% (17/27) nel Giugno 01.

CONCLUSIONI E CONSIDERAZIONI

Dei 69 cani trattati con moxidectina SR e che hanno terminato lo studio, nessuno è risultato positivo alla ricerca delle microfilarie circolanti e/o degli antigeni prodotti dalle femmine adulte di *D. immitis*. La percentuale di positività, compresa tra il 41 e il 63%, osservata nei cani che non erano stati sottoposti alla prevenzione, dimostra che l'area dove è stato condotto lo studio (provincia di Pavia) è ad elevata prevalenza di filariosi cardiopolmonare e che i cani inclusi nella prova erano effettivamente sottoposti ad un elevato

Tabella 2
Confronto tra durata della efficacia della moxidectina in formulazione iniettabile (SR), il periodo di prepatenza necessario per lo sviluppo da larva di terza età ad adulto di *Dirofilaria immitis* e i risultati della prova: i cani sono stati trattati nel Novembre 1999 ed esaminati per l'ultima volta nel Giugno 2001

Anno	1999		2000								2001									
Mese	N	D	G	F	M	A	M	G	L	A	S	O	N	D	G	F	M	A	M	G
Giorno	0	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	330	360	400	440	480	510	540	570	600
Durata dell'efficacia (in mesi) della moxidectina in formulazione SR																				
Periodo teorico di trasmissione della FCP																				
Periodo di prepatenza (in mesi) necessario allo sviluppo ad adulto di una larva di 3ª età trasmessa dopo 12 mesi dal trattamento, alla fine della periodo di attività del farmaco																				
	T																			
	Mf/Ag																			
	N/N																			

T: Trattamento; Mf: Knott test; Ag: Test per la ricerca degli antigeni
N: Risultato negativo ai test

rischio di contrarre l'infestazione.

Nel nostro studio i cani sono stati trattati la prima volta nel Maggio '99 ed esaminati nel Novembre dello stesso anno, dimostrando che il trattamento con moxidectina SR è in grado di proteggere i cani per 6 mesi, almeno nel caso di quei soggetti che avessero contratto l'infestazione all'inizio della stagione. Dopo il secondo trattamento (Novembre 99), i cani sono stati controllati al Giorno 210, 330 e 600 dal trattamento, rispettivamente dopo 7, 11 e 20 mesi dalla somministrazione del farmaco, dimostrando che la formulazione iniettabile di moxidectina mantiene la sua attività profilattica nei confronti di *D. immitis* per 12 mesi.

In Italia il periodo di trasmissione della filariosi cardiopolmonare, valutato sulla base del modello di Slocombe e delle successive modificazioni^{6,13,21}, dimostra che il rischio di infestazione è presente nell'area in cui è stato condotto lo studio da Maggio a Settembre-Ottobre⁷. Inoltre il rischio di trasmissione della infestazione da parte dei culicidi è particolarmente accentuato verso la fine della stagione (fine Agosto, Settembre-Ottobre)⁷. Nel nostro studio i cani hanno ricevuto il secondo trattamento nel Novembre 1999. Dato per accettato che nessun rischio di trasmissione era presente nei primi 6 mesi dal trattamento (Novembre-fine Aprile), i cani sono stati esposti al morso di culicidi in grado di trasmettere l'infestazione da Maggio a Settembre-Ottobre 2000, dal 6° al 11°-12° mese dalla somministrazione del farmaco. I risultati negativi ottenuti ai controlli parassitologici effettuati all'inizio di Giugno 2001, a 7 mesi circa dall'ultima possibile infestazione conseguente alla puntura di un culicida infestato, chiaramente dimostrano che la formulazione SR di moxidectina è in grado di prevenire lo sviluppo delle larve di *D. immitis* ad adulto per la durata di 11-12 mesi. Si sottolinea che, l'ultimo controllo parassitologico è stato effettuato nel rispetto dei tempi di prepatenza del parassita, come richiesto dalle linee guida per la valutazione dell'efficacia degli antielmintici per il cane e il gatto della World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology¹¹.

Parole chiave

Moxidectina iniettabile, cane, filariosi cardiopolmonare, attività profilattica.

Key words

Moxidectin SR injectable formulation, dog, Dirofilaria immitis, one year long chemoprophylactic activity

Bibliografia

- Basano Solari F, Traldi G, Bossi P, Genchi C: Efficacia della moxidectina contro gli endo e gli ectoparassiti del bovino. Atti Soc It Buiatria 27: 345-358, 1995
- Bensignor E, Carloti D N: Moxidectin in the treatment of generalized demodicosis in dogs. A pilot study: 8 cases. In: Advances in veterinary dermatology: Volume 3. Proceedings of the Third World Congress of Veterinary Dermatology. Butterworth-Heinemann Ltd, Oxford, UK, 1998, pp 554-555
- Blagburn, B.L., Paul, A.J., Butler, J.M., Hutchens, D.E., Vaughan, J.L., Tranquilli, B.S.W., Cleale, R.M., Rulli, R.D. 2001. Safety of moxidectin canine SR (sustained release) injectable in ivermectin-sensitive Collies and in naturally infected mongrel dogs. Abstracts of the 10th Triennial Heartworm Symposium, April 20-22, 2001, San Antonio, TX, p. 42
- Carter GT, Nietsche JA, Borders DB: Structure determination of LL-F28249 alpha, beta, gamma and lambda. Potent antiparasitic macrolides from *Streptomyces cyanogriseus* spp. *noncyanogenus*. J Chem Soc Chem Commun (6): 402-404, 1987
- Doscher ME, Wood IB, Pankavich JA: Efficacy of nemadectin, a new broad-spectrum endectocide against natural infection of canine gastrointestinal helminths. Vet Parasitol 34: 255-259, 1989.
- Fortin JF, Slocombe, JOD: Temperature requirement for the development of *Dirofilaria immitis* in *Aedes trivittatus* and *Aedes vexans*. Mosq. News 41: 625-633, 1981
- Genchi C, Solari Basano F, Marrone RV, Petruschke G: Canine and feline heartworm in Europe with special emphasis in Italy. In: Seward, R.L. (Ed.) Recent Advances in Heartworm Disease: Symposium '98. American Heartworm Society, Batavia, IL, 1998, pp. 75-82
- Genchi C, Poglayen G, Kramer LH, Venco L., Agostini A: Efficacy of moxidectin for the prevention of adult heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection in dogs. Parassitologia 42 (3): 139-141, 2001
- Hendrix CM, Blagburn BL, Bowles JV, Spano JS, Aguilar R: The safety of moxidectin in dogs infected with microfilariae and adults of *Dirofilaria immitis*. In: Soll, MD (Ed.). Proceeding Heartworm Symp. '92. American Heartworm Society, Batavia, IL, 1992, pp. 183-187
- Jacobs D E, Hutchinson M J, Parker L, Gibbons LM: Equine cyathostome infection: suppression of faecal egg output with moxidectin. Vet Rec 137:545,1995
- Jacobs DE, Arakawa A, Courtney CH, Gemmel MA, McCall JW, Myers GH, Vanparijs O: World association for the advancement of veterinary parasitology (WAAVP) guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics for dogs and cats. Vet Parasitol 52: 179-202, 1994
- King RR, Courtney CH, Aguilar R: Heartworm prophylaxis with moxidectin: field trial results from a hyperenzootic area. In: Soll, M.D. (Ed.), Proceeding Heartworm Symp. '92. American Heartworm Society, Batavia, IL, 1992, pp. 179-181
- Lok JB, Knight DH: Laboratory verification of a seasonal heartworm transmission model. In: Seward, R.L. (Ed.) Recent Advances in Heartworm Disease: Symposium '98. American Heartworm Society, Batavia, IL, 1998, pp. 15-20
- Lok JB, Knight DH, Wang GT, Doscher ME, Nolan TJ, Hendrick MJ, Steber W, Heaney K: Activity of an injectable, sustained-release formulation of moxidectin administered prophylactically to mixed dogs to prevent infection with *Dirofilaria immitis*. Am J Vet Res 62 (11): 1721-1726
- Losson B, Lonneux JF: Field efficacy of moxidectin 0.5% pour-on against *Chorioptes bovis*, *Damalinea bovis*, *Linognathus vituli* and *Psoroptes ovis* in naturally infected cattle. Vet Parasitol 63: 119-130, 1996
- Lyons ET, Tolliver SC, Drudge JH, Granstrom DE, Collins SS, Stamper S: Critical and controlled tests of activity of moxidectin (CL 301,423) against natural infections of intestinal parasites of equids. Vet Parasitol 41: 55-284,1992
- McCall JW, McTier TL, Holmes RA, Greene T, Strickland J, Aguilar R: Prevention of naturally acquired heartworm infection in heartworm-naïve beagles by oral administration of moxidectin at an interval of either one or two months. In: Soll, M.D. (Ed.), Proceeding Heartworm Symp. '92. American Heartworm Society, Batavia, IL, 1992, pp. 169-177
- McTier TL, McCall JW, Dzimiński MT, Aguilar R, Wood I: Prevention of experimental heartworm infection in dogs with single, oral dose of moxidectin. In: Soll, M.D. (Ed.), Proceeding Heartworm Symp. '92. American Heartworm Society, Batavia, IL, 1992, pp. 165-168
- Paul AJ, Tranquilli WJ, Todd KS Jr, Aguilar R: Evaluation of the safety of moxidectin in Collies. In: Soll, M.D. (Ed.), Proceeding Heartworm Symp. '92. American Heartworm Society, Batavia, IL, 1992, pp. 189-191
- Paul AJ, Tranquilli WJ, Hutchens DE: Safety of moxidectin in avermectin-sensitive Collies. Am. J. Vet. Res. 61, 482-483, 2000
- Slocombe JOD, Sugeoner GA, Srivastava B: Determination of heartworm transmission period and its use in diagnosis and control. In: Otto, G.F. (Ed.), Proceeding Heartworm Symp. '89. American Heartworm Society, Washington, DC, 1989, pp. 19-26
- Steward TB, Wiles SE, Miller JE, Rulli RD: Efficacy of moxidectin 0.5% pour-on against swine nematodes. Vet Parasitol 87 (1): 39-44, 1999
- Wood IB, Pankavich JA, Doscher ME: Anthelmintic F28249- I. Discovery of anthelmintic activity, in Proceedings of the 12th Conference World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology, Montréal, 1987, p. 30
- Zimmerman GL, Hoberg EP, Pankavich JA: Efficacy of orally administered moxidectin against acquired gastrointestinal nematodes in cattle. Am J Vet Res 53: 1409-1410, 1992