

Materiale educativo creato nell'ambito del progetto finanziato dal Programma Erasmus+ Strategic Partnerships for Higher Education Programme Online courses with videos for the field of veterinary communication dealing with prevention, diagnosis and treatment of diseases transferable from animals to humans Ref. no. 2016-1-RO01-KA203-024732

DIROFILARIOSI

GUIDA DELLE PRINCIPALI MALATTIE INFETTIVE TRASMESSE

DAGLI ANIMALI NON UMANI AGLI UMANI –

LA DIROFILARIOSI NEGLI UMANI E NEGLI ANIMALI



Questo progetto è stato finanziato con il sostegno della Commissione europea.

Questa pubblicazione riflette solo le opinioni dell'autore e la Commissione non può essere ritenuta responsabile per qualsiasi uso che possa essere fatto delle informazioni in esso contenute.

Autore principale: Liviu Miron

Co-autori:

Romania: Dumitru Acatrinei, Olimpia Iacob, Larisa Ivanescu, Lavinia Ciuca, Constantin Roman, Raluca Mindru, Andrei Lupu, Andrei Cimpan, Gabriela Martinescu, Elena Velescu, Mioara Calipsoana Matei, Doina Carmen Manciuc, Alina Manole, Doina Azoicai, Florentina-Manuela Miron, Gianina-Ana Massari, Anca Colibaba, Cintia Colibaba, Stefan Colibaba, Elza Gheorghiu, Andreea Ionel, Irina Gheorghiu, Carmen Antonita, Anais Colibaba

Croazia: Nenad Turk, Zoran Milas, Zeljana Kljecanin Franic

Lituania: Tomas Karalis, Rūta Karalienė, Virginija Jarulė, Leonora Norviliene, Donata Katinaite, Daiva Malinauskiene

Italia: Ilaria Pascucci, Ombretta Pediconi, Antonio Giordano

Copyright© 2016-2019 Università di scienze agrarie e medicina veterinaria Ion Ionescu de la Brad, Iasi (Romania).

Tutti i diritti sono riservati.

L' Università di scienze agrarie e medicina veterinaria Ion Ionescu de la Brad, Iasi (Romania) è beneficiaria del progetto Erasmus+ project "Online courses with videos for the field of veterinary communication dealing with prevention, diagnosis and treatment of diseases transferable from animals to humans" 2016-1-RO01-KA203-024732

Nessuna parte di questo volume può essere copiata o trasmessa con qualsiasi mezzo, elettronico o meccanico, compresa la fotocopiatura, senza la previa autorizzazione scritta della partnership del progetto 2016-1-RO01-KA203-024732.

GUIDA DELLE PRINCIPALI MALATTIE INFETTIVE TRASMESSE DAGLI ANIMALI NON UMANI AGLI UMANI – LA DIROFILARIA NEGLI UMANI E NEGLI ISBN 978-609-8243-09-3 2019

Online courses with videos for the field of veterinary communication dealing with prevention, diagnosis and treatment of diseases transferable from animals to humans 2016-1-RO01-KA203-024732

www.zoeproject.eu

Erasmus+ Strategic Partnerships for higher education

Partnership del progetto:











CONTENUTI

LA DIROFILARIA NEGLI UOMINI E NEGLI ANIMALI

EZIOLOGIA

DESCRIZIONE MORFOLOGICA

CICLO DI VITA

EPIDEMIOLOGIA

PATOGENESI DELLA DIROFILARIOSI CARDIOVASCOLARE

PATOGENESI DELLA DIROFILARIOSI SUBCUTANEA

DIAGNOSI DELLA DIROFILARIOSI IN ANIMALI E UMANI

DIAGNOSI PARACLINICA

DIAGNOSI CLINICA DELLA DIROFILARIOSI NEGLI ANIMALI

DIAGNOSI DELLA DIROFILARIOSI UMANA

TRATTAMENTO E PROFILASSI

BIBLIOGRAFIA

LA DIROFILARIA NEGLI UOMINI E NEGLI ANIMALI

All'interno del nome **generico "dirofilariosi"** rientrano tutti gli elminti prodotti dalla specie del genere Dirofilaria Railliet & Henry, 1910 (Spirurida: Onchocercidae) nell'uomo e negli animali. Il genere Dirofilaria comprende circa 50 specie, ma solo 27 sono state validate e suddivise in due sottogeneri: Dirofilaria (5 specie con affinità cardio-vascolare) e Nochtiella (22 specie con tropismo sottocutaneo e congiuntivale). Delle specie convalidate (tabella 1), solo sei hannoimostrato un potenziale zoonotico (*D. immitis, D. repens, D. tenuis, D. ursi, D. striata* e *D. spectans*). A causa della frequenza con cui sono stati diagnosticati e del loro potenziale zoonotico, *D. immitis e D. repens* sono considerati i più importanti e, di conseguenza, i più studiati.

Tabella 1. Specie valide del genere Dirofilaria (Dantas-Torres, F., Otranto, D., 2013)

	Generi, sottogeneri e specie	Ospite definitivo (Famiglie)	Area di diffusione
Dirofilariosi	D. ailure (Ryjikov e Románova,	Procionidi	Cina
	1961)		
	D. freitasi (Machado de Mendonca,	Bradipi	Brasile
	1949)		
	D. immitis (Leidy, 1856)	Canidi, Felini, Ominidi e	A livello mondiale
		tanti altri	
	D. lutrae (Orihel, 1965)	Mustelidi	USA
	D. spectans (Freitas and Lent,	Ominidi (caso singolo),	Brasile
	1949)	Mustelidi	
	D. acutiuscula (Molin, 1858)	Canidi, Caviidi, Felidi,	Sud America, USA
		Taiassuidi	
	D. bonnie (Vogel and Vogelsang,	Muridi	Java
	1930)		
Nochtiella	D. cancrivori (Eberhard, 1978)	Procionidi	Guyana
	D. corynodes (Linstow, 1899)	Cercopitecidi	Africa, Tailandia
	D. genettae (Baylis, 1928)	Felini, Viverridi	Nigeria
	D. granulosa (Linstow, 1906)	Felidi	Africa, Asia
	D. incrassata (Molin, 1858)	Bradipi, Procionidi	Brasile e America
			centrale
	D. linstowi (Dissanaike, 1972)	Cercopitecidi	Sri Lanka
	D. macacae (Sandground, 1933)	Cercopitecidi	Indocina
	D. macrodemos (Eberhard, 1978)	Bradipi	Guyana, Panama

D. magnilarvata (Price, 1959	Cercopitecidi, Ominidi,	Malasia
	Ilobatidi	
D. minor (Sandground, 1933)	Felini	Vietnam
D. pagumae (Sandground, 1933)	Viverridi	Indocina
D. panamensis (Eberhard, 1978)	Bradipi	Panama
D. repens (Railliet and Henry, 1911)	Canidi, Felini, Ominidi, Viverridi	Europa, Asia, Africa
D. sachsi (Shoho, 1974)	Bovidi	Africa dell'est
D. striata (Molin, 1858)	Canidi, Felini, Ominidi, (caso singolo), Taiassuidi	Brasile, Venezuela, USA
D. subdermata (Mönnig, 1924)	Eretizontidi	Nord America, Sudafrica
D. sudanensis (Linstow in Schipley 1902)	Felini, Ienidi	Sudan
D. tawila (Khalil, 1932)	Cercopitecidi	Africa
D. tenuis (Chandler, 1942)	Ominidi, Procioni	Nord America
D. ursi (Yamaguti, 1941)	Felidni, Ominidi	Asia, Nord America

EZIOLOGIA

La prima descrizione di *Dirofilaria repens* per la medicina veterinaria fu fatta da Bonvicini in Italia nel 1910. Aveva trovato questo parassita in un cane di Bologna. Più tardi, nel 1911, lo stesso verme fu studiato in Francia da Railliet e Henry.

La prima menzione di *D. immitis* fu fatta dal nobile Francesco Birago nel XVII secolo quando identificò nel cuore del suo cane da caccia un verme filariano che erroneamente descrisse come Dyoctophyma renale.

Nel 1937, Faust propose la divisione del genere Dirofilia nel sottogenere Dirofilaria con affinità per il sistema cardiovascolare (*Dirofilaria immitis*) e nel sottogenere Nochtiella con predilezione nel tessuto sottocutaneo (*Dirofilaria repens*). Attualmente, i parassiti dei cani maggiormente studiati sono: *D. immitis* (Leidy 1856) e *D. repens* (Railliet and Henry, 1911) (Spirurida Onchocercidae), che causano rispettivamente la Dirofilariosi cardiopolmonare e sottocutanea. Entrambe le specie sono vivipari e le microfilarie si diffondono nel flusso sanguigno del loro ospite definitivo, avendo quindi un potenziale zoonotico (Otranto et al., 2013).

Recenti studi dimostrano la presenza di un endosimbionito, il Wolbachia pipientis, un batterio Gram negativo appartenente all'ordine Rickettsiales, che assomiglia ad altri batteri dello stesso ordine (Ehrlichia spp., Anaplasma spp.). All'interno del parassita, questo batterio svolge un ruolo importante nell'embrionogenesi dei parassiti ed innesca le reazioni immunologiche.

Lo studio di questo endosimbionito fornisce una migliore conoscenza della biologia del parassita e dei meccanismi patologici determinati da questa filaria, nonché aspetti importanti nel trattamento della filariosi (Dingman et al., 2010, Belanger et al., 2010, McHaffie et al., 2012). La presenza di vettori nel ciclo di vita della Dirofilaria spp. è determinato dal cambiamento climatico globale (Genchi et al., 2001; Sassnau et al., 2014).

DESCRIZIONE MORFOLOGICA

La **Dirofilaria immitis** ha una cuticola liscia e biancastra, e solo il maschio mostra striature e creste sulla faccia ventrale dell'ultimo fuso caudale.

I maschi misurano 12-18 cm di lunghezza e 0,6-0,9 cm di larghezza, e la coda (figura 1) assomiglia a un cavatappi (ESCCAP, 2012). Le spicole sono diseguali, con molti spiruridi, laddove quello sinistro è lungo 300-355 μ m e quello destro 175-226 μ m (Fülleborn et al., 1912; Vogel et al., 1927). Le femmine adulte sono lunghe 25-31 cm e larghe 1-1,3 mm.



Figura 1. Due maschi (sopra) e una femmina (sotto) di Dirofilaria immitis.

Le dimensioni della microfilaria sono: $301,77\pm6,29$ lunghezza media e $6,30\pm0,26$ larghezza media. Le dimensioni massime e minime rientrano nei seguenti intervalli: $180-340~\mu m$ di lunghezza e $5-7~\mu m$ di larghezza (Taylor et al., 1960a). La microfilaria non presenta una guaina, l'estremità anteriore è rastremata, mentre quella posteriore è diritta con una coda acuminata (Magnis et al., 2013).

Gli adulti di *Dirofilaria repens* hanno una cuticola bianca con differenti striature e creste longitudinali e trasversali. Le femmine adulte misurano 10-17 cm di lunghezza e 0.46-0.65 mm di larghezza, mentre i maschi sono lunghi 5-7 cm e larghi 0.37-0.45 mm. I nematodi adulti sono localizzati nei tessuti connettivi sottocutanei e negli interstizi intramuscolari, dove sono difficili da rilevare, perchè a volte migrano e producono un nodulo sottocutaneo di circa 1 cm di dimensione (Genchi et al., 2011). La microfilaria di *Dirofilaria repens* misura 325-375 µm di lunghezza e 6-8 µm di larghezza. Nell'esame microscopico, le larve di *Dirofilaria repens* mostrano un'estremità anteriore ottusa, la coda simile a un manico di ombrello e l'assenza del gancio cefalico (Magnis et al., 2013). Gli aspetti di entrambe le specie sono mostrati nella Figura 2.



Figura 2 Primo stadio di microfilaria da *D. immitis* (a sinistra) e *D. repens* (a destra) isolate dal sangue canino utilizzando la tecnica di Knott. Notare la forma della coda della larva D. repens del primo stadio, simile a un manico di ombrello. Microscopia ottica, 1000.

CICLO DI VITA

Il ciclo di vita della *Dirofilaria sp.* è del tipo a due ospiti e si realizza tra un vertebrato (ospite definitivo) e un vettore di artropodi (zanzare della famiglia dei Culicidi). Le specie di alcuni generi, come *Aedes, Culex, Culiseta, Mansonia, Ochlerotatus, Coquillettidia e Anopheles* (*Aedes aegypti, Ae. Albopictus, Ae.notoscriptus, Culex vexans, Cx. Quinquefasciatus, Cx. Tritaeniorhynchus, Cx erythrothorax, Culiseta incidens, Cu. Inornata, Coquillettidia richiardii,* gruppo *Anopheles maculipennis*) sono risultate essere vettori per la *Dirofilaria immitis* (Cancrini et al., 2003, 2006, Fuehrer et al., 2016, Loftin et al., 2015, Smith et al., 2013, Vezzani et al., 2005, Lai et al., 2001, Konichi E., 1989, Yildirima et al., 2011, et | al., 1992). Il periodo di sviluppo adulto di D.immitis e D. repens nell'ospite definitivo è relativamente lungo (7-9 mesi) rispetto ad altri nematodi (McCall et al., 2008).

La microfilaria di primo stadio (L1) viene ingerita dal vettore zanzara quando questa si nutre di un ospite definitivo. Entro 8-10 giorni (Venco et al., 2011) la microfilaria migra nei tubi malpighiani e passa al secondo L2. Il secondo processo di muta avviene tre giorni dopo e nel terzo stadio (L3) deve lasciare i tubuli malpighiani entro 2 giorni per diventare infettivo nell'apparato boccale della zanzara. Nel terzo stadio la microfilaria infettiva è lunga 1 mm e cresce fino a 1,5 mm dopo essere stata inoculata nel tessuto connettivo sottocutaneo dell'ospite definitivo (Cancrini and Kramer, 2001; Taylor et al., 1960; Manfredi et al., 2007). Lo sviluppo dal primo al terzo stadio all'interno della zanzara dipende dalla temperatura ambientale ed è favorita dalla presenza del simbionte Wolbachia pipientis. Il processo di sviluppo avviene in 10-14 giorni a una temperatura di 27 ° C e a un tasso di umidità dell'80% (Orihel, 1961). Il numero di larve infestate è limitato dal riconoscimento antigenico e dai meccanismi di difesa cellulare e umorale dei vettori (Castillo et al., 2011). Nello stadio 3 l'infezione dell'ospite avviene durante l'alimentazione delle zanzare, quando possono essere inoculate circa 10 larve in un'unica sessione di alimentazione. Nel tessuto connettivo sottocutaneo, nel tessuto adiposo e nel tessuto muscolare dell'ospite definitivo, la larva dela D. imite (L3) si sviluppa attivamente per 70 giorni.

Durante questo periodo si svolgono due mute (L4 e L5 lunghe 1-2 cm) fino allo stadio preadulto. Le larve sono in grado di migrare nel sistema vascolare e da qui al cuore e ai polmoni dove si localizzano e subiscono la maturazione finale e diventano capaci di riprodursi entro 120 giorni dopo l'infezione (McCall et al., 2008; Manfredi et al., 2007). La *Dirofilaria immitis* si trova nelle arterie polmonari, con una predilezione per i lobi caudali, ma anche nel ventricolo destro, nell'atrio destro e occasionalmente nella vena cava. Le femmine adulte iniziano a produrre le prime larve (microfilaria L1) dopo 6-9 mesi dopo l'infezione. La longevità degli adulti nell'ospite può essere superiore a 7 anni e la durata della microfilaria è superiore a 2 anni (Venco et al., 2011). Gli adulti di *D. Repens* rimangono nel tessuto

connettivo, nella cavità addominale e nella fascia muscolare dell'ospite definitivo (Genchi et al., 2011).

Il periodo di prepatenza nel cane è di 6-9 mesi, durante i quali vengono rilasciate nuove microfilarie dalla femmina adulta (Venco et al., 2011). Dopo aver infestato un ospite, la microfilaria continua a vivere nel sangue per diversi mesi, fino a 3 anni. Gli adulti possono vivere per 4 anni o più nel sito di inoculazione. La Dirofilaria repens può essere localizzata nel tessuto sottocutaneo nei noduli e può anche invadere la regione oculare (Paes-de-Almeida et al., 2003; Mircean et al., 2017). Per inciso, entrambe le specie filarial possono anche essere trovate in altre regioni anatomiche diverse da quelle sopra descritte (Pampiglione et al., 2000; Theis et al., 2005).

La dirofilariosi è una malattia zoonotica che accidentalmente colpisce l'uomo, laddove il principale ospite definitivo è il cane (Cancrini et al., 2001). *Dirofilaria immitis, Dirofilaria repens, Dirofilaria ursi, Dirofilaria tenuis, Dirofilaria striata, Dirofilaria spectrans* influenzano l'essere umano come ospite accidentale (Horst, 2003). I vettori coinvolti nella trasmissione della malattia agli esseri umani sono le zanzare antropofile dei generi: *Aedes, Culex, Anopheles, Armigeres e Mansonia* (Joseph et al., 2011).

Se finora è noto che il ciclo biologico della dirofilarosi nell'uomo è incompleto (assenza di microfilaria adulte nel sangue), studi recenti (Sulekova et al., 2017) mostrano che la microfilaria *D. repens* è stata trovata in un nodulo sottocutaneo della regione iliaca, senza però essere presente nel flusso sanguigno. Di solito, i pre-adulti di *D. immitis* finiscono in un ramo dell'arteria polmonare e, a causa della risposta immunitaria, vengono distrutti e occasionalmente identificati in un nodo polmonare (Simon et al., 2005). L'infezione da Dirofilaria repens può verificarsi con localizzazioni cutanee o oculari.

A volte, le larve infette possono svilupparsi a ritmi diversi ei sintomi del parassitismo si manifestano clinicamente a lunghi intervalli (Orihel et al. 1997 e Lupse et al). Nel 2015 sono stati descritti casi di dirofilariosi umana ricorrente, probabilmente mediante esposizione a un singolo inoculo.

EPIDEMIOLOGIA

Sebbene l'infestazione da D. immitis sia stata diagnosticata in più di 30 specie di mammiferi (carnivori selvatici e domestici, felini domestici e selvatici, mustelidi, scimmie, mammiferi marini, roditori e ungulati - Otto, 1975), i cani sono gli animali più frequentemente infestati da un numero importante di parassiti (Genchi et al., 1988), e rappresentano il serbatoio maggiore di infezione.

Umani e gatti sono ospiti meno sensibili all'infezione a causa dei cambiamenti nel processo di sviluppo della filaria nei loro corpi (McCall et al., 2008). Nei gatti la microfilaremia si verifica nel 20% dei casi (McCall et al., 1992), e i parassiti adulti vi sopravvivono per un periodo che va dai 2 ai 4 anni, mentre nei cani gli adulti di D. immitis sopravvivono per un periodo che va dai 5 ai 7 anni (Venco et al., 2008). I gatti sono generalmente infetti da un piccolo numero di adulti *D. immitis*, 6 o meno (McCall et al., 2008). Normalmente, i gatti non sono recettivi alla microfilaria di *D. repens*, ma studi più recenti rivelano la loro presenza nel sangue (Tarello, 2002).

Nell'infezione naturale (Figura 3), il numero di parassiti adulti aumenta con l'età del cane (circa 150 parassiti / cane nelle aree endemiche) (Genchi et al., 1988, Miller et al., 2011, Bolio Gonzales et al., 2007). È, inoltre, scientificamente evidenziato come la dirofilariosi si verifichi nei gatti in qualsiasi area in cui i cani sono infetti da *D. immitis* (Kramer e Genchi, 2002).



Figura 3. Adulti di *D. immitis* rimossi dal cuore e dall'arteria polmonare di un cane bastardo maschio di 12 anni

Numerosi studi condotti finora si sono concentrati sull'identificazione delle specie di zanzara Culicide coinvolte nella trasmissione della dirofilarosi. Così, è stato dimostrato che la maggior parte delle specie che permettono la crescita di *D. immitis* e *D. repens* sono *Aedes, Culex* e *Anopheles* (Cancrini e Kramer, Cancrini e Gabrielli). Studi successivi hanno

determinato le specie di vettori che tendono a fornire condizioni di sviluppo per D. immitis e D. repens. Ne risulta che le specie Anopheles maculipennis, Aedes aegypti, Mansonia uniformis, Mansonia annulifera, Armigeres obturbans e Aedes albopictus sono i vettori più coinvolti nella trasmissione della Dirofilaria repens, mentre le specie coinvolte nella trasmissione di D. immitis sono del genere Culex, Aedes, Anopheles e Culiseta.

Le femmine di zanzara depongono sia uova in gruppi a forma di zattera sia uova solitarie sulla superficie dell'acqua, su terreni umidi o nelle cavità degli alberi. Come regola generale, le larve si sviluppano a temperature inferiori ai 18 gradi Celsius, ma possono anche adattarsi a temperature più alte (Cancrini et al., 1988).

Una volta ingerita dalla zanzara, la microfilaria è fortemente dipendente dalla temperatura durante tutto il processo di sviluppo fino allo stadio larvale infettivo (L3). Pertanto, per le larve (L1) è necessario raggiungere la temperatura ottimale entro 30 giorni per arrivare allo stadio di infestazione, un processo chiamato periodo di incubazione estrinseca (Slocombe et al., 1989; Medlock et al., 2007). Il tempo richiesto per lo sviluppo degli stadi larvali nella zanzara è influenzato dalla temperatura: 8-10 giorni a 28-30 ° C, 11-12 giorni a 24 ° C e 16-20 giorni a 22 ° C.

La temperatura minima alla quale il processo di crescita delle larve può essere eseguito è di 14° C (Lok e Knight, 1998; Slocombe et al., 1989; Vezzani e Carbajo, 2006; Medlock et al., 2007; Genchi et al., 2011). Tenendo conto del periodo e della temperatura richiesti per lo sviluppo della larva infestante (L3), Slocombe et al. (1989) hanno sviluppato un modello che stima il periodo iniziale e finale per la trasmissione della dirofilarosi e il numero di generazioni di dirofilaria.

Pertanto, lo sviluppo completo della larva (L3) richiede 130 "gradi-giorni". Il periodo di incubazione estrinseca è anche chiamato "Dirofilariasis Development Units" (HDU). Un'altra importante regola del periodo di incubazione estrinseca è l'accumulo di HDU entro 30 giorni consecutivi, il tempo massimo di sopravvivenza della zanzara. La letteratura fornisce molti studi epidemiologici che stimano la distribuzione della dirofilariasi nel tempo e nel numero di generazioni di dirofilaria in diverse regioni, usando il modello predittivo descritto sopra (Slocombe et al., 1989) e le temperature registrate presso le stazioni meteorologiche (Lok e Knight, 1998, Genchi et al., 2005, 2009, 2011, Vezzani e Carbajo, 2006, Medlocket et al., 2007, Mortarino et al., 2008, Rinaldi et al., 2013b; Kartashev et al., 2014; Sassnau et al., 2014; Simón et al., 2014). La capacità dei sistemi di informazione geografica di predire la distribuzione e l'epidemiologia della dirofilarosi in diverse aree geografiche è già stata dimostrata da dati epidemiologici empirici ottenuti a livello continentale (Genchi et al. , 2009; e Kartashev et al., 2014), nazionale (Medlock et al., 2007; Simón et al., 2014) e regionale (Mortarino et al., 2008; Montoya-Alonso et al., 2015).

I sistemi di informazione geografica potrebbero diventare uno strumento importante per la gestione della dirofilarosi in paesi endemici e non endemici. Nella dirofilariosi, la relazione ospite-parassita è complessa principalmente a causa della capacità dei due, D. immitis e D. repens, di infettare vari ospiti vertebrati in cui la filaria si sviluppa e danno origine a diverse patologie, oltre alla presenza del batterio simbiotico Wolbachia negli stadi larvali e negli stadi adulti di entrambe le specie.

Gli ospiti ricettivi sono esposti ai batteri antigenici, ai nematodi e al batterio Wolbachia; la risposta indotta da questi antigeni si correla direttamente con la sopravvivenza o la morte del nematode e il processo infiammatorio sviluppato nella dirofilariosi. Da un punto di vista prettamente epidemiologico, la dirofilariosi è considerata una malattia parassitaria emergente di esseri umani e animali. Cambiamenti significativi e continui nella distribuzione e nella prevalenza degli ospiti di serbatoi canini sono riportati in tutto il mondo e questi cambiamenti a loro volta alterano i parametri epidemiologici della dirofilariosi con uomini e gatti. Il riscaldamento globale influenza le fasi del ciclo di vita del parassita, mentre la gestione dell'animale domestico e l'intervento umano nell'ambiente influenzano gli ospiti e i vettori di vertebrati, il che potrebbe spiegare il sostanziale aumento dell'infezione da Dirofilaria.

Nonostante gli sforzi per prevenire l'infestazione, specialmente nei cani, la malattia sembra diffondersi in aree precedentemente non endemiche (Genchi et al., 2007), quindi molti paesi sono ora considerati endemici per la dirofilariosi (Genchi et al., 2011). La diffusione della dirofilariosi cardiopolmonare in Europa può essere dovuta a diversi fattori come il riscaldamento globale (Genchi et al., 2001; Sassnau et al., 2014), la presenza di vettori e condizioni climatiche favorevoli per il suo sviluppo, le nuove specie di zanzare che sono vettori competenti della filariosi (Madon et al., 2002; Cancrini et al., 2003; Roiz et al., 2007), il numero crescente di cani che viaggiano con i loro proprietari, (ad esempio durante le vacanze) e il ruolo crescente di serbatoi di infezione, come sciacalli e volpi (Tolnai et al., 2014).

La dirofilariosi sottocutanea è considerata una zoonosi diffusa. La prevalenza di questa malattia sembra in crescita e nuovi casi sono segnalati nell'Europa sud-orientale, centrale e occidentale, in Asia e in Africa (Tarello, 2010). L'infezione da D. repens è considerata una zoonosi emergente in diversi paesi europei: Francia, Italia, Ungheria, Russia (Kramer et al., 2007; Genchi et al., 2009), dove l'ospite principale e il serbatoio è considerato il cane. La prevalenza più elevata è stata registrata nei cani in Sri Lanka (60%), nella Valle del Po italiana (30%), in Spagna 9%, in Grecia 22%, in Serbia 49,22%, (con una particolare attenzione a Belgrado 19,26%), in Ungheria 14% e in Francia 22%.

Sebbene esistano vari metodi diagnostici specifici e sensibili – la profilassi efficace –, la dirofilariosi nei cani è ancora prevalente in vaste aree (McCall, et al., 2008). Questa malattia, che colpisce gli animali e gli esseri umani, è sempre più frequentemente rilevata nei paesi mediterranei (Genchi et al., 2005). Spagna, Portogallo, Italia e Francia erano endemiche prima del 2001 e restano in questa condizione.

Tuttavia, in queste regioni, la distribuzione della dirofilariosi cardiopolmonare è generalmente riportata solo sporadicamente o non riportata affatto (Morchon et al., 2012). Le specie di Dirofilaria si sono diffuse nell'Europa orientale e nord-orientale, ma sono disponibili informazioni epidemiologiche limitate da questi paesi (Genchi et al., 2009, 2011). Le infezioni da Dirofilaria spp. nei cani e nell'uomo nella penisola balcanica suggeriscono che fattori ecologici, il clima e l'abbondanza di vettori favoriscono il pieno sviluppo e la trasmissione dell'infezione (Tasic-Otasevic et al., 2015). Tuttavia, in Romania la prevalenza e la distribuzione di infezioni da Dirofilaria spp. nel cane non sono ancora chiare. Le cifre più alte sulla prevalenza vanno dal 3,6% al 14% nella contea di Tulcea, mentre è del 3,3% nelle regioni meridionali e sud-occidentali del paese (Mircean et al., 2012). Un altro studio condotto in diverse aree della Romania ha dimostrato una sieroprevalenza del 23,7-35% per D. immitis (Coman et al., 2007), mentre le informazioni su D. repens sono state registrate solo nelle regioni occidentali (Ciocan et al., 2010, 2013) e nel sud (Tudor et al., 2013). In un recente studio di Ionica et al. (2015), la sieroprevalenza dell'infezione da D. immitis era del 7,1% nella parte orientale e meridionale della Romania. La più alta prevalenza di dirofilarosi cardiovascolare è stata riscontrata nella parte centro-orientale della Romania, con un valore del 60% registrato vicino al confine settentrionale della contea di Galati, seguito dalla contea di Vaslui (12%) e dalla contea di Iasi (7,7%). La prevalenza di co-infezioni nel sud-est è dell'8,8% (Ciuca et al., 2016).

La dirofilariosi ha una diffusione disomogenea in tutto il mondo, essendo presente nelle aree tropicali, subtropicali e temperate. La malattia è strettamente correlata alla concomitante o successiva esistenza degli ospiti definitivi e intermedi nella stessa area. Poiché lo sviluppo nell'ospite intermedio è possibile solo nei casi in cui la temperatura ambiente è superiore a 14 ° C, lo spread limitato è comprensibile a latitudini più elevate (Dărăbuş et al., 2006, Genchi et al., 2007, Cosoroabă et al., 2008) . Negli ultimi anni sono stati segnalati numerosi casi nativi nei cani in nuove aree d'Europa, come Germania, Slovacchia, Repubblica Ceca, Ungheria, Romania, Ucraina, Russia, Austria, Svizzera, Francia settentrionale e Paesi Bassi come conseguenza del cambiamento climatico, ma anche dell'aumento del numero di viaggi da parte di animali domestici.

I cani che vivono nelle zone rurali sono più esposti all'attacco di zanzare. La dirofilarosi canina si trova soprattutto nei paesi dell'Europa meridionale, anche se il parassita è stato diagnosticato anche nel nord della Francia come conseguenza di infestazioni autoctone (Genchi et al., 2005, Genchi et al., 2007). La più grande area endemica in Europa è la valle

del fiume Po nel nord Italia, dove la prevalenza di. l'infezione da *Dirofilaria spp* è compresa tra il 40 e l'80%, in gran parte a causa dell'assenza di chemioprofilassi (Genchi et al., 2005). L'imposizione di quarantena in caso di parassitosi non è efficace a causa della comparsa di microfilaria nel sangue entro 9-10 mesi dopo l'infestazione delle zanzare sull'ospite definitivo.

In Romania, la sieroprevalenza di Dirofilaria repens è stata riportata al 16%, mentre è al 6% per *D. immitis* (Ilie et al., 2012). I test di biologia molecolare hanno dimostrato che la prevalenza di D. immitis è del 2,7%, mentre è del 15% per *D. repens.* L'aumento della prevalenza della dirofilarosi cardiovascolare può essere la conseguenza della crescente popolazione canina e della mancanza di misure di prevenzione. Inoltre, i valori di infestazione con D. immitis sono direttamente influenzati dalla densità della popolazione di zanzare, dalla specie esatta e dalla probabilità di moltiplicazione, ma anche da variabili climatiche e ambientali (temperatura, umidità, precipitazioni, vegetazione e presenza di corsi d'acqua) (Madon et al., 2002; Cancrini et al., 2003; Roiz et al., 2007).

Chiaramente, sulla base di precedenti studi epidemiologici, vi è il rischio zoonotico di questa parassitosi (Darchenkova et al., 2009; Genchi et al., 2011; Kartashev et al., 2011; Lee et al., 2010; Simon et al., 2005). La distribuzione della dirofilarosi nell'uomo non coincide con la prevalenza della dirofilarosi nei cani, a causa della mancanza di informazioni sul monitoraggio della malattia negli esseri umani e negli animali. Attualmente, i casi di dirofilariosi sottocutanea nei cani sono riportati in regioni in cui sono stati segnalati casi di malattia polmonare solo negli esseri umani e viceversa. Nell'attuale distribuzione di dirofilarosi nell'uomo, sono stati riportati circa 1782 casi, di cui 372 pazienti con dirofilariosi polmonare e 1410 pazienti con dirofilariosi sottocutanea / oculare (Simon et al., 2010). La dirofilariosi cardiopolmonare predomina negli Stati Uniti d'America, dove sono stati segnalati 116 casi, la maggior parte dei quali nel Sud-Est (Moore et al., 2005; Mumtaz et al., 2004; Skidmore et al., 2000). In Nord America la maggior parte dei casi di dirofilariosi sottocutanea / oculare sono stati attribuiti a *Drofilaria ursi* e *D. tenuis*.

Secondo studi precedenti, il bacino del Mediterraneo è endemico alla dirofilariosi umana. (Genchi et al., 2011). Sebbene l'incidenza dei casi in questa regione sia aumentata tra il 2000 e il 2009, il profilo di distribuzione della dirofilariosi non è completo. La maggior parte dei casi di dirofilariosi polmonare è stata segnalata in Spagna, nella parte occidentale del paese, ma la dirofilariosi sottocutanea è riportata più frequentemente sulla costa (Simon et al., 2009). In Francia, dopo il 2000, sono stati segnalati 9 casi di dirofilariosi: 7 di questi a causa di D. repens e 2 a causa di infezione da *D. immitis*. Tra il 1995 e il 2000, la dirofilariosi nell'uomo è stata riportata sporadicamente sulla costa atlantica (Guillot et al., 1998, Weill et al., 1999), mentre nel periodo 2000-2009 l'area è diventata endemica per la dirofilariosi umana (Raccurt, 1996). La dirofilariosi sottocutanea causata da D. repens è la forma più comune di dirofilariosi negli esseri umani rispetto a *D. pneumite* causata da *D. immitis*.

L'Italia è il paese più colpito – dal momento che sono stati registrati 200 casi di dirofilariosi sottocutanea umana – seguito dallo Sri Lanka e dalla zona balcanica (Pampiglione, Rivasi, Angeli et al., 2001).

In Europa, la dirofilariosi felina è stata scoperta nell'Italia settentrionale, dove Kramer e Genchi (2012) hanno riportato un tasso di prevalenza dal 7 al 27% nella regione iperendemica della valle del Po. Nelle Isole Canarie, due studi sieroepidemiologici hanno mostrato un aumento della prevalenza della dirofilariosi felina dal 18,3% al 33% tra il 2004 e il 2011. Negli Stati Uniti, la dirofilariosi felina è stata segnalata in 29 paesi, con tassi di prevalenza che vanno dal 3% a 19%: il tasso più alto è stato registrato nelle aree endemiche per la dirofilariosi nei cani (309). Vari studi hanno dimostrato che la dirofilariosi felina è presente in altri paesi, come Australia, Sierra Leone, Armenia, Cina, Filippine, Malesia, Tahiti e Papua Nuova Guinea. I carnivori selvaggi (Canis lupus, C. latrans, C. aureus, Vulpes vulpes) sono frequentemente diagnosticati con *D. immitis*: in USA con una prevalenza del 21-42% nei coyote (Nagaki et al., 2000; Nelson et al., 2003) e in California con una prevalenza del 58-100% nelle volpi (Roemer et al., 2000).

In Europa, la prevalenza della dirofilariosi nella volpe rossa (V. vulpes) in Spagna, Italia e Bulgaria varia dallo 0,4% al 12% (C. Genchi, 2005, Gortazar et al., 1994; al., 2007), mentre nei lupi (C. lupus) la prevalenza è del 2,1% (Segovia et al., 2001). Sul territorio della Bulgaria, la dirofilariosi è stata rilevata negli sciacalli (C. aureus), con una prevalenza dell'8,9% (Kirkova, et al., 2007). Usando l'esame sierologico o anche post-mortem, gli studi hanno generalmente rivelato una modesta microfilariemia in questi ospiti: i parassiti nelle volpi sono bassi e appartengono spesso allo stesso genere, quindi il rischio di un serbatoio di infezione è molto basso (McCall et al., 2008). Al contrario, alcuni studi negli Stati Uniti hanno rivelato la presenza di coyote come serbatoio di dirofilariosi attiva a causa del gran numero di microfilarie nel sangue e degli adulti nel cuore (Garcia e Voigt, 1989).

PATOGENESI DELLA DIROFILARIOSI CARDIOVASCOLARE

La dirofilariosi cardiovascolare nei cani e nei gatti è caratterizzata da lesioni infiammatorie acute e croniche nei polmoni e in altri organi a causa della presenza di parassiti adulti. La dirofilaria immitis, come la maggior parte dei vermi filariani, ha il proprio metabolismo condizionato dalla presenza di un simbionte rickettsiian intracellulare che è stato trovato in abbondanza nei filamenti di malaria presenti nei tubi malpighiani (Sironi et al., 1995). La Wolbachia sembra avere un ruolo importante nella fisiologia della filaria poiché la letteratura riporta una massiccia diminuzione del numero di larve nel sangue periferico quando l'ospite definitivo viene trattato con tetracicline, in particolare la doxiciclina, che è più attiva contro questi batteri (McCall et al., 2008). Kramer et al. (2014) mostrano che, sequenziando il genoma simbionte di Wolbachia e confrontandolo con la specie Dirofilaria, le due entità sono strettamente collegate, ognuna delle quali è in grado di codificare proteine, enzimi, vitamine e nucleotidi che l'altro non può codificare.

La risposta fisiopatologica nella dirofilariosi cardiovascolare è principalmente dovuta alla presenza di parassiti di *D. imite* nelle arterie polmonari. La prima lesione si presenta nell'arteria polmonare (Figura 4) e nel parenchima polmonare a causa della localizzazione intravascolare dell'adulto; in questo caso, si verifica ipertensione polmonare, che quindi porta a insufficienza cardiaca congestizia. Un altro sintomo è il disturbo della circolazione sanguigna a causa della posizione della dirofilaria nella parte destra del cuore (Figura 5), a livello della valvola tricuspide. Questi disordini portano a un'emolisi massiva e all'emoglobinuria, essendo responsabili della sindrome delle vene cave (Ishihara et al., 1978; Kitagawa et al., 1987).



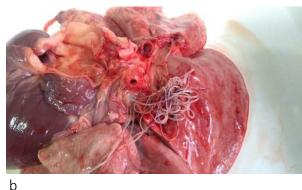


Figura 4. Un gruppo di adulti di Dirofilaria immitis prima (a) e dopo la loro estrazione meccanica (b) da un nodulo del ramo diaframmatico destro dell'arteria polmonare in un cane maschio di 12 anni

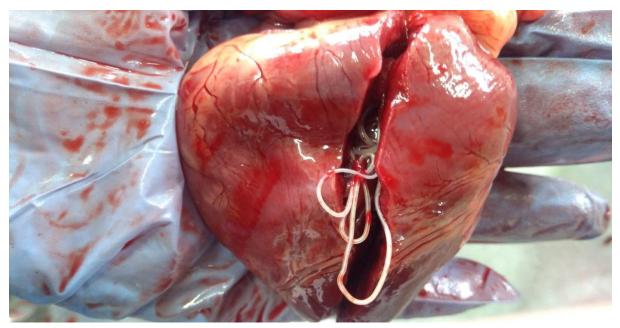


Figura 5. Adulti di D. immitis presenti nel cuore canino

Le microfilarie sembrano svolgere un ruolo patogenetico minore, ma possono causare polmonite e glomerulonefrite. Alcuni individui possono sviluppare un'ipersensibilità alla microfilaria, quindi scompaiono dal sangue periferico. Occasionalmente, i parassiti possono avere posizioni ectopiche, come ad esempio nella camera anteriore dell'occhio (Weiner et al., 1980). Le massicce infestazioni possono causare ostruzione del ventricolo destro e dell'arteria polmonare (figura 6), e frammenti di parassiti morti e microfilaria possono causare emboli nei capillari polmonari e nelle arterie coronarie. La microfilaria può raggiungere l'encefalo, il midollo spinale, i vasi oculari, e persino la camera anteriore o posteriore dell'occhio. L'azione tossica e antigenica è causata dalle sostanze prodotte dai parassiti adulti nelle arterie, dal lato destro del cuore e in particolare dai trombossani rilasciati dalle piastrine nel sangue a contatto con i parassiti (Uchida e Saida, 2005).

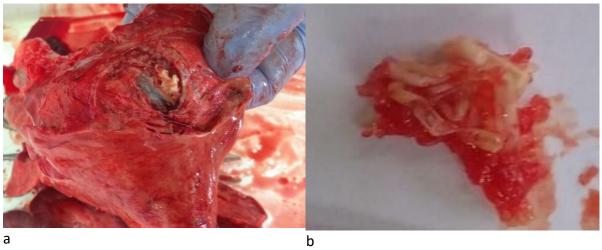


Figura 6. Nodulo del ramo lobare dell'arteria polmonare pieno di resti di Dirofilaria morti (a). L'aspetto del contenuto rimosso dal nodulo (b).

Le dirofilarie agiscono meccanicamente e tendono a bloccare, in particolare, il ventricolo destro e l'arteria polmonare, mentre il regime ematofago produce anemia e irritazione e forma emboli (circolazione nel flusso sanguigno di particelle estranee dalla normale composizione morfochimica del sangue), spingendo i frammenti di parassiti nel flusso sanguigno e causando la morte improvvisa dell'animale a causa della rottura di vasi cerebrali (Kitagawa et al., 2003).

La sindrome cavale è una forma clinica grave di dirofilarosi in un cane. I principali meccanismi di questa sindrome sono: rigurgito tricuspidale grave e acuto, ridotta gittata cardiaca e emolisi intravascolare. In questa situazione, un gran numero di adulti di D. immitis (oltre 60) migrano dal lato destro del cuore ai vasi sanguigni. Ciò comporta shock improvviso, collasso e distruzione dei globuli rossi, solitamente senza sintomi precoci. La morte di solito avviene entro 1-2 giorni e l'unico trattamento efficace è quello di aprire la vena giugulare ed estrarre i vermi con una pinza speciale. La sopravvivenza del cane dipende dall'estrazione chirurgica di un numero sufficiente di adulti in modo che la circolazione del sangue possa essere ripristinata (Marck et al., 1998). Gli adulti che raggiungono il ventricolo destro si trovano nel sistema tricuspide e migrano nell'atrio destro. La loro semplice presenza nel sistema tricuspidiano produce gravi danni alle valvole (Figura 7), seguiti da rigurgito tricuspidale e aggravati da preesistente ipertensione polmonare. Molto presto si giunge ad un' insufficienza cardiaca destra con soffio sistolico, epatomegalia, splenomegalia e ascite addominale (Wendy et al., 2007). L'ipertensione polmonare e il rigurgito tricuspidale portano a una riduzione della circolazione arteriosa periferica, alla riduzione della circolazione venosa polmonare e - implicitamente - a una riduzione del volume del cuore sinistro con diminuzione della gittata cardiaca e diminuzione del volume diastolico ecc. (June et al., 1998).

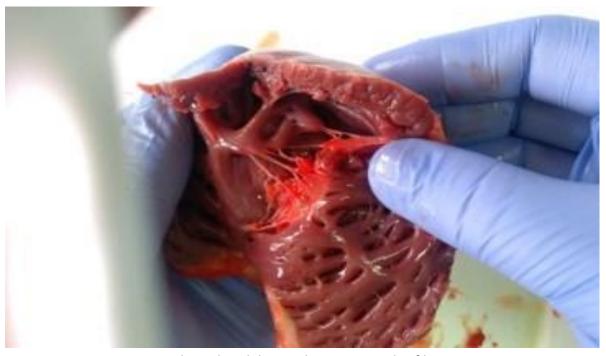


Figura 7. Endocardite del cane dovuta a una dirofilari cronica

L'emolisi intravascolare causata dalla filaria canina rimane oggetto di studio e di speculazioni. La distruzione delle cellule endoteliali e la denudazione delle parti interne sono le prime lesioni che si verificano pochi giorni dopo che i parassiti occupano i vasi sanguigni. L'evidenza suggerisce che il danno endoteliale si verifica non appena il parassita è in posizione, troppo presto perché l'ospite sviluppi una risposta immunitaria.

Inoltre, la scomparsa delle cellule endoteliali avviene senza evidente degenerazione ed è seguita da un accumulo di cellule ed elementi strutturali. Questo indica che le celle sono state spostate (rotte). I macrofagi, i granulociti e le piastrine sono attratti dal sito della lesione endoteliale e aderiscono alla superficie sub-endoteliale esposta. Poco dopo il loro arrivo, le cellule muscolari lisce dei vasi sanguigni migrano nella parte interna e iniziano un processo mio-intimale attivo che produce un rapido aumento delle lesioni. Sebbene le lesioni producano un ispessimento della parete di questi vasi elastici e comportino una consistenza densa nella parte interna delle cellule, questo non blocca il flusso sanguigno. Al contrario, la distribuzione delle grandi arterie produce la relativa dilatazione, con un'ipertensione polmonare che diventa piuttosto grave. La circolazione del sangue polmonare è impedita dalla riduzione del letto arterioso vascolare causata da una endoarterite vascolare periferica. Di conseguenza, la trombosi e il tromboembolismo compromettono la circolazione polmonare. (Said e Saida, 2005; Hitoshi et al., 2003). L'ipertrofia del ventricolo destro appare come risposta compensativa all'aumento del carico di pressione sanguigna.

PATOGENESI DELLA DIROFILARIOSI SUBCUTANEA

La patogenesi di questo nematode per il cane è molto poco conosciuta, poiché questa infezione è considerata asintomatica. I parassiti adulti, che si trovano nel tessuto sottocutaneo del cane, possono causare segni clinici dermatologici come prurito, eritema, papule, alopecia, ipercheratosi, acantosi, eczema o possono svilupparsi in modo asintomatico.

Sono state segnalate anche infezioni gravi con reazioni allergiche, probabilmente dovute a microfilaria. In generale, l'85% dei cani con dirofilariosi sottocutanea mostrava almeno una lesione del tessuto sottocutaneo nella parte dorsale del corpo, nella regione lombosacrale, negli arti posteriori, o nella regione perianale (Mandelli, Mantovani, 1966). Rapporti recenti indicano l'associazione della dirofilariosi sottocutanea con altre malattie, come la leismaniosi (100%) e l'erliciasi granulocitica (60%); e questo accade più comunemente nella regione italiana (Tarello, 2010).

SINTOMI CLINICI

LA DIROFILARIOSI CARDIOPOLMONARE NEGLI ANIMALI E NEGLI UMANI

Normalmente, l'espressione dei sintomi della dirofilariosi cardiovascolare appare in forma cronica. La malattia può svilupparsi in modo asintomatico nell'arco di diversi mesi o anche anni, dal momento che la comparsa di sintomi clinici dipende dal numero di parassiti adulti nel cuore o nell'arteria polmonare, dalla reattività individuale e dall'attività fisica del cane (la lesione delle pareti delle arterie è direttamente proporzionale all'attività fisica dell'animale) (Dillon et al., 1995a). Idealmente, l'infezione da *D. immitis* dovrebbe essere identificata mediante test sierologici prima della comparsa dei sintomi clinici. Tuttavia, antigenemia e microfilemia non si verificano almeno fino a 5 e 6,5 mesi – rispettivamente – dopo l'infezione. Quando i cani non ricevono un trattamento profilattico e non sono oggetto di test adeguati, l'infezione non viene rilevata e progredisce al crescere del numero di adulti di *D. immitis*. I sintomi clinici che possono insorgere sono tosse, intolleranza all'esercizio, apatia, dispnea, cianosi, emottisi, sincope, epistassi e ascite (insufficienza cardiaca

congestizia destra). La frequenza e la gravità dei sintomi clinici sono in correlazione con la patologia polmonare e il livello di attività fisica degli animali. Nei cani sedentari, i segni spesso non vengono identificati, anche se il numero di adulti di *D. immitis* nel cuore può essere relativamente grande. I cani infetti che subiscono un drammatico aumento dell'attività fisica, come durante la stagione di caccia, possono mostrare evidenti sintomi clinici. Inoltre, la morte dei parassiti e le tromboemboli impattano sul peggioramento dei sintomi clinici (McCall, et al., 2008).

In caso di insufficienza cardiaca congestizia, di solito è possibile osservare: distensione addominale, edema degli arti, anoressia, perdita di peso e disidratazione. In questa fase della malattia, ci sono soffi al cuore sul lato destro del torace, a causa dell'insufficienza della valvola tricuspide e del ritmo cardiaco anormale dovuto alla fibrillazione atriale. La morte improvvisa accade molto raramente e di solito i cani muoiono a causa di emergenza respiratoria o cachessia. Occasionalmente, gli episodi acuti possono essere osservati anche durante il periodo cronico della progressione della malattia. Sulla base del numero di adulti presenti nella parte destra del cuore, della salute degli animali, dell'età e dello stile di vita, un cane può essere classificato come a basso o alto rischio per lo sviluppo di sintomi clinici di infezione da D. immitis (Furlanello et al., 1998; Calvert et al., 1985; Venco et al., 2001). Esiste anche un sistema di classificazione più complesso in cui i cani sono classificati da I a IV in base alla gravità dei sintomi clinici: cani di Classe I con infezione lieve; cani di Classe II con tosse; cani di classe III gravemente colpiti e con sintomi quali tosse, emottisi, perdita di peso, letargia, intolleranza all'esercizio, dispnea, scompenso cardiaco (ascite) e reperti radiografici indicativi di infezione cardiovascolare (le grandi arterie polmonari risultano troncate); cani di IV classe con sindrome cavale caratterizzata in linea di principio da cambiamenti emodinamici (AHA, 2014). I sintomi principali sono: dispnea, soffio cardiaco tricuspide ed emolisi intravascolare acuta. Il sintomo considerato patognomonico per la sindrome cavale è l'emoglobinuria. In questa situazione, in assenza di un intervento chirurgico per eliminare i parassiti dal cuore, l'animale non sopravviverà (Atwell e Buoro, 1988; Kitagawa et al., 1986, 1987; Venco, 1993).

I cani di età compresa tra i 5 e i 7 anni sono più a rischio di infezione causata da un numero elevato di adulti *D. immitis*, probabilmente a causa dell'aumento del tempo di esposizione e di sviluppo della malattia. Ci sono anche altri fattori che influenzano la valutazione del rischio di infezione da *D. immitis*, come la malattia cardiopolmonare o altre malattie sistemiche e patologie di altri organi. Un altro aspetto importante è la misura in cui l'attività fisica dell'animale può essere limitata durante il periodo di trattamento (Venco et al., 2001). In genere, la dirofilariosi felina si sviluppa con la localizzazione polmonare delle filarie. Dal punto di vista clinico, può svilupparsi in modo acuto, cronico o asintomatico. I gatti infetti possono essere portatori asintomatici del parassita o possono avere sintomi clinici indicativi di origine respiratoria o digestiva. I segni clinici non sono specifici, ma il più delle volte vi sono vomito e tosse, segni solitamente associati al momento in cui gli stadi immaturi di *D*.

immitis arrivano nei polmoni o al momento in cui si verifica la morte di un adulto.

Nei casi molto rari in cui gli adulti di *D. immitis* si trovano nella parte destra del cuore, si può udire un suono anomalo, a causa dell'insufficienza della valvola tricuspide e della frequenza cardiaca galoppante (Atkins et al., 1998a). É possibile osservare sintomi neurologici quali atassia, sincope, cecità quando si verifica la localizzazione ectopica della filaria (Atkins et al., 1998a, Dillon et al., 1996, 1997a, b, 1998, McCall et al., 1994). Sebbene raramente osservati clinicamente, episodi quali edema polmonare, pneumotorace o chilotorace sono stati spesso associati alla dirofilariosi felina (Atkins et al., 1998b, Dillon et al., 1997b, Glaus et al., 1995, Treadwell et al., 1998). In linea di principio, ci sono due fasi di espressione clinica nell'evoluzione della dirofilariosi nel gatto: il primo stadio in cui le larve da *D. immitis* raggiungono le arterie polmonari e muoiono; il secondo stadio è segnato dalla morte di *D. immitis* adulti (Atkins et al., 1998a Dillon et al., 1995b).

Generalmente, la maggior parte dei casi di dirofilariosi felina non viene diagnosticata. Gli stadi per lo più immaturi del nematode D. immitis non maturano e muoiono quando raggiungono le arterie polmonari. Pertanto, l'assenza di adulti rende impossibile diagnosticare l'infezione in assenza dell'antigene cuticolare. La morte delle larve nelle arterie polmonari induce gravi cambiamenti nel sistema respiratorio, motivo per cui la malattia è ora riconosciuta come una sindrome polmonare chiamata HARD-Heartworm Associated Respiratory Disease (AHA, 2014). I sintomi clinici che descrivono questa sindrome respiratoria sono: anoressia, battito cardiaco accelerato, difficoltà di respirazione, letargia, vomito, tosse, collasso, convulsioni, diarrea, perdita di peso, morte improvvisa, cecità (McCall et al). I risultati di alcuni studi condotti da Dillon (2007), Levy (2007) hanno dimostrato la presenza di lesioni respiratorie causate dalla morte di larve di D. immitis L5 nelle arterie polmonari di gatti non adulti. Queste lesioni sono dovute ad una risposta infiammatoria vascolare e parenchimale. I gatti hanno macrofagi specializzati (macrofagi intravascolari polmonari) nei letti capillari del polmone e la loro attivazione è in gran parte responsabile della reazione polmonare esacerbata. Pertanto, le conseguenze di queste reazioni sono: il polmone non funziona nei normali parametri e l'insorgenza della sindrome respiratoria acuta, che è spesso mal diagnosticata come asma o bronchite allergica.

Nei casi di infezione acuta cui sopravvivono, i gatti possono entrare in forma cronica o diventare completamente asintomatici. La dirofilariosi cronica prevale generalmente nei sintomi respiratori e / o gastrointestinali, portando a una grave degradazione interna degli organi interni e, infine, alla cachessia.

Sebbene i furetti (*Mustela putorius furo*) siano molto suscettibili all'infezione da *D. immitis*, a differenza dei cani, anche un piccolo numero di adulti può causare la loro morte (Kemmerer, 1998). Gli adulti di *D. immitis* si trovano spesso nelle vene del cranio, nonché nelle arterie polmonari e nelle cavità cardiache. La sintomatologia è simile a ciò che avviene nel cane, ma il decorso della malattia è più rapido. Inoltre, i furetti sviluppano

frequentemente la sindrome cavale, come esemplificato nello studio di Supakorndej et al., in cui 1 furetto su 7 furetti ha sviluppato questa sindrome. I segni clinici includono: letargia, intolleranza all'esercizio, pleurite, cianosi e dispnea. Quando si verifica una morte improvvisa, questa è causato da embolia polmonare.

LA DIROFILARIOSI SUBCUTANEA NEGLI ANIMALI E NEGLI UMANI

La dirofilariosi sottocutanea nei cani è solitamente asintomatica. Le manifestazioni cliniche sono classificate in due sindromi cliniche: dermatite nodulare multifocale, che si trova generalmente sul viso, e dermatite *prurigo papularis*. In tal senso, sono state evidenziate numerose manifestazioni dermatologiche quali prurito (nel 100% degli animali), eritema (nel 79%), papule (nel 62%), alopecia focale o multifocale (nel 55%), ipercheratosi (nel 14%), noduli (nel 12%), acantosi (nel 5%), eczema (nel 3%), piodermite (nel 3%) ed edema (nel 1%). I sintomi estradermici di *D. repens* comprendono: congiuntivite (46%), anoressia (35%), vomito (26%), febbre (25%), letargia (20%), linfonodi ingrossati (10%) (417, 418). Un recente studio condotto da Mircean (2017) rivela le implicazioni della microfilaria di *D. repens* negli squilibri di reni e fegato e nella presenza di adulti nelle cavità addominali e oculari. Questi cambiamenti sono stati attribuiti a processi sia meccanici che immunopatologici. Di conseguenza, sono necessari studi sperimentali sui meccanismi patogeni della dirofilariosi sottocutanea.

DIROFILARIOSI UMANA

La dirofilaria immitis si manifesta nel polmone, causando noduli più spesso confusi con neoplasie polmonari (benigne o maligne - carcinomi, metastasi), tubercolosi o infezioni fungine (Ro et al., 1989; Awe et al., 1974). Il granuloma parassitario circonda la quarta fase larva (L4), bloccando l'arteria polmonare e causando embolia e infiammazioni locali. Dal punto di vista istologico, i noduli polmonari sono più comunemente formati da una infiltrazione cellulare composta da eosinofili, neutrofili, linfociti e plasmacellule e da una reazione istiocitica nei tessuti circostanti i vasi capillari. I noduli originati da un infarto a causa del processo di embolia polmonare si incontrano più raramente. I più comuni sono casi in cui il nodo polmonare presenta una regione necrotica con lisi del muro dell'arteria polmonare dovuta a larve che hanno lasciato il nodulo (Araya et al., 2007). Di solito, i noduli si trovano nel tratto polmonare destro, frequentemente nelle regioni sub-pleuriche (Muro et al., 2001). In molti casi, il nodulo polmonare non può essere rilevato perché la larva è già stata distrutta con il passare del tempo ed è possibile osservare unicamente una risposta cellulare (Simon et al., 2005). La dirofilariosi polmonare si sviluppa in modo asintomatico e, laddove ci sono sintomi clinici, questi non sono specifici: tosse con dolore toracico, febbre,

dispnea. In generale, la dirofilariosi polmonare si sviluppa attraverso la comparsa di un nodo solitario ben definito, di forma sferica o ovoidale, densità omogenea e profilo benigno (Muro et al., 2001). Ci sono state anche segnalazioni di dirofilariosi polmonare con la presenza di numerosi noduli polmonari, con fino a cinque noduli parassitari nello stesso individuo (Kochar et al., 1985). Studi precedenti hanno riportato intervalli di tempo diversi per la formazione del nodo polmonare, laddove l'intervallo è compreso tra 2/3 e 8 mesi (Kahn et al., 1983; Navarrete et al., 1972).

La dirofilaria repens causa la dirofilariosi sottocutanea nell'uomo, con la presenza di noduli nel tessuto sottocutaneo, in profondità nel derma o nella sottomucosa. I noduli sottocutanei hanno una consistenza elastica e sono associati alla comparsa di un eritema (Pampiglione et al., 2007). La forma adulta o pre-adulta di *Dirofilaria repens* cresce nel nodulo sottocutaneo in poche settimane o in pochi mesi (Kramer et al., 2007). Sono stati riportati pochissimi casi di localizzazione del patogeno nel tessuto muscolare, nei linfonodi o nelle viscere (Pampiglione et al., 1996c; Gros et al., 1996). Al contrario, la maggior parte delle segnalazioni di dirofilariosi sottocutanea risultano localizzate nella regione oculare (74%) (palpebre, regione subcongiuntivale, orbitale) e nella regione dell'arto superiore (11%) (Pampiglione et al., 2000). L'evoluzione clinica può essere grave nei pazienti con dirofilariosi oculare e i sintomi possono includere disturbi della vista o addirittura perdita della vista (Genchi et al., 2011).

Studi epidemiologici hanno dimostrato che il 10% dei pazienti con dirofilariosi oculare presenta una serie di complicanze secondarie come: distacco della retina, glaucoma, disturbi dell'acuità visiva (Avdiukhina et al., 1996), complicanze secondarie dovute all'estrazione chirurgica nella regione del nervo ottico (Korkhov et al., 2009), complicazioni secondarie a seguito della localizzazione del patogeno nell'area orbitaria, ovvero ptosi palpebrale (Stringfellow et al., 2002).

In Sri Lanka sono stati riportati numerosi casi con localizzazioni insolite di *Dirofilaria repens*, come nella regione genitale maschile (scroto, epididimo, pene) in bambini di 5 anni (Dissanaike et al., 1997); altre localizzazioni precoci di *D. repens* sono state riportate da Hoop et al. (1997) in un paziente con un granuloma nella ghiandola parotide; da Avdiukhina et al. (1997) nella sottomucosa della cavità orale e nella radice di un; da Genchi et al. (2011) nella ghiandola mammaria di una donna.

DIAGNOSI DELLA DIROFILARIOSI IN ANIMALI E UMANI DIAGNOSI PARACLINICA

In condizioni ottimali, il ciclo di vita dura 184-270 giorni, in modo che il cane possa diventare microfilaremico entro ca. 7-9 mesi dopo l'infezione. Non tutti i cani infetti diventano microfilaremici (nelle infestazioni unisex, quando vengono somministrati farmaci che inducono la sterilità delle femmine di *Dirofilaria immitis*, in situazioni individuali di comparsa di reazioni immuno-mediate che portano alla morte della microfilaria) (McCall JW, et al., 2008). La diagnosi di dirofilariosi si basa sulla presenza di microfilaria circolante e / o antigeni circolanti di femmine adulte. Non tutta la microfilaria presente nel sangue dei cani è la *Dirofilaria immitis* (*Acantocheilonema reconditum*, *Dirofilaria repens*, *Dipetalonema dracunculoides* e, molto raramente, *Dipetalonema grassi*). Gli adulti di *Dirofilaria immitis* vivono tra 5-7 anni. La microfilaria trasmessa a livello transplacentare o quella trasmessa per trasfusione del sangue è incapaci di svilupparsi in froma adulta (Castillo JC, et al., 2011).

Il test di rilevazione dell'antigene è stato descritto per la prima volta all'inizio degli anni '80. Weil et al. (1984) hanno mostrato il rilevamento di adulti di *D. immitis* mediante elettroforesi contro-immune (CIE). Successivamente, gli autori hanno descritto l'ELISA basata su anticorpi monoclonali (Weil et al., 1985). Entrambe le tecniche sono caratterizzate da un'elevata specificità e sensibilità alla rilevazione della microfilaria circolante. Inoltre, il test di screening dell'antigene è stato in grado di valutare il grado di infestazione. Infatti, Brunner et al. (1988) hanno mostrato che la sensibilità dei test non era influenzata dalla presenza di microfilaria circolante di *D. immitis*, ma era largamente influenzata dal gran numero di adulti *D. immitis*.

Test con risultati falsamente negativi possono essere dovuti alla presenza di parassiti maschili o femminili (le infezioni unisex sono estremamente rare nei cani, Rishniw et al., 2012), all'eliminazione mediante meccanismi del sistema immunitario o all'uso di lattoni macrociclici (LM, Rawlings et al., 1982). I test di screening dell'antigene, che possono essere eseguiti su sangue intero o sul plasma, possono anche produrre risultati falsamente negativi, a causa di complessi antigene-anticorpo che inibiscono i test immunologici per identificare gli antigeni e sviluppare la successiva reazione colorimetrica (Tonelli et al., 1989). Recentemente, è stato evidenziato come l'uso a lungo termine del lattone macrociclico mensile nei cani infetti (il cosiddetto "slow kill") può anche causare risultati di test falsamente negativi per il rilevamento dell'antigene, probabilmente a causa di un'intensa risposta anticorpale agli antigeni rilasciati dagli adulti di *Dirofilaria immitis* (Drake et al., 2015).

È interessante notare come la maggior parte dei test di screening di Diro ha utilizzato un metodo di recupero dell'antigene per ridurre al minimo gli effetti della formazione del complesso immunitario sull'esecuzione del test (Little et al., 2014). Inoltre, sostanze chimiche (ad es., Pepsina e trattamento acido) vengono utilizzate per rimuovere inibitori rilevabili dell'antigene (Rodríguez-Iglesias et al., 1992).

Il pretrattamento dei campioni di siero di calore prima di testare gli antigeni è in grado di invertire i risultati falsamente negativi, a causa dei complessi antigene-anticorpo negli ospiti infetti da *D. immitis* (Little et al., 2014a, Little et al. ., 2014b; Velasquez et al., 2014; Ciuca et al., 2016). Pertanto, il trattamento termico distrugge i complessi antigene-anticorpo e rilascia l'antigene che viene successivamente reso disponibile per il rilevamento. Ciò può avere conseguenze importanti per la diagnosi della malattia clinica, ma anche per studi epidemiologici, specialmente in aree in cui la prevalenza dell'infezione non è ben nota. La diagnosi di infezione da *D. repens* si basa sulla presenza di microfilaria circolante o sull'osservazione del parassita nei noduli sottocutanei, poiché attualmente non sono disponibili test di screening per la diagnosi sierologica.

D. immitis e D. repens possono anche essere identificati mediante colorazione istochimica delle regioni anatomiche della microfilaria con attività fosfatasica e amplificazione del DNA di microfilaria mediante il metodo PCR. La microfilaria D. immitis mostra due aree di attività fosfatasica vicino a pori anali ed escretori, mentre la microfilaria D. Repens ha solo un'area di attività della fosfatasi vicino ai pori anali. Recentemente, è stato realizzato un metodo PCR duplex in tempo reale in grado di rilevare e differenziare le due filarie.

Sono stati pubblicati numerosi studi sulla prevalenza dell'infezione da *D. immitis* e *D. repens* nei cani che vivono in aree endemiche per entrambi i parassiti (Pantchev et al., 2009, 2011; Demiaszkiewicz et al., 2014; Ionică et al., 2015). Il metodo Knott, insieme al test di rilevazione dell'antigene e alla tecnica PCR, è stato utilizzato per determinare lo stato di monoinfezione o co-infezione degli ospiti finali. Tuttavia, molti cani nei quali il test di rilevazione dell'antigene ha avuto un risultato negativo sono stati considerati non infetti o infetti solo con *D. repens* attraverso conferma mediante il metodo PCR. Nessuno di questi studi ha sottoposto i campioni di siero al trattamento termico.

DIAGNOSI CLINICA DELLA DIROFILARIOSI NEGLI ANIMALI

La valutazione mediante radiografia del torace, ecocardiografia ed elettrocardiografia fornisce una prospettiva sulle condizioni cliniche di ciascun paziente con dirofilariosi cardiopolmonare. Le radiografie del torace identificano l'allargamento dell'arteria polmonare, i cambiamenti del parenchima polmonare e la corretta cardiomegalia negli stadi avanzati della malattia. Questa tecnica non può essere utilizzata per valutare il carico

parassitario.

L'ecocardiografia è un esame mediante il quale è possibile visualizzare gli adulti del parassita eventualmente presenti nella camere cardiaca destra, nella vena cava caudale, nell'arteria polmonare principale e nel tratto prossimale di entrambe le arterie polmonari caudali. I parassiti adulti possono essere identificati come brevi, doppi lineari, fluttuanti nella camera cardiaca destra o nel lume dei vasi (Moise, 1988; 276). L'ecografia cardiaca fornisce anche informazioni sul carico del parassita cardiaco e sullo stato della malattia, fattori importanti per stabilire una terapia appropriata. Un aspetto importante è che l'ecografia cardiaca deve essere presa in considerazione nei casi in cui le caratteristiche cliniche suggeriscono un'infezione grave. L'ecocardiografia Doppler può determinare con precisione la presenza e la gravità dell'ipertensione polmonare. L'elettrocardiogramma è un esame utile attraverso il quale è possibile identificare anomalie dell'azione elettrica del cuore (deviazione dell'asse elettrico destro, fibrillazione atriale), ma queste anomalie si trovano solitamente nell'ultimo stadio grave della malattia (McCall et al., 2008).

Nella dirofilariosi cardiopolmonare felina, il profilo radiologico può essere normale nonostante la presenza dell'infezione. Inoltre, le infezioni da singolo adulto possono causare cambiamenti non visibili dalla radiografia, con conseguente diagnosi errata. Studi sperimentali su animali hanno dimostrato che dopo 6 mesi di inoculazione con larve infettive le alterazioni polmonari radiologiche, che suggeriscono la dirofilariosi cardiopolmonare nel gatto, comportano la presenza di una vasta area di radiopacità nel parenchima polmonare, la torsione delle arterie polmonari caudali e la comparsa di polmonite interstiziale.

DIAGNOSI DELLA DIROFILARIOSI UMANA

In caso di noduli sottocutanei o congiuntivali, il paziente è il primo a scoprire l'infestazione da Dirofilaria e a richiedere una visita medica. Infatti, i noduli polmonari sono profondamente localizzati, più comunemente senza espressione clinica, e l'esame radiologico può solo occasionalmente rilevare frammenti dei noduli polmonari. Tipicamente, l'esame radiologico raccomandato da un medico non ha lo scopo di escludere o confermare la dirofilariosi dalla patologia del paziente, ma piuttosto di indicare un sospetto di lesione maligna (Simon F., et al., 2007).

Per eseguire una corretta diagnosi, devono essere seguite due procedure essenziali per la conferma della dirofilariosi: raccolta di campioni appropriati e corretta identificazione del patogeno (McDaugall, et al., 1992). In assenza di microfilaria del sangue, l'identificazione del patogeno viene effettuata mediante biopsia, per aiutare a confermare la presenza del parassita (Cancrini et al., 1991). Si tratta di una procedura invasiva con un alto potenziale di complicanze iatrogene, specialmente nel caso di noduli polmonari. L'identificazione del patogeno dalla biopsia di un nodo polmonare può essere difficile a causa della graduale decomposizione del parassita. La sua identificazione diventa difficile a causa delle somiglianze morfologiche della cuticola di parecchie specie di parassiti. Ad esempio, le caratteristiche di identificazione filariale includono: il numero e le dimensioni delle creste cuticole, la loro spaziatura e la loro collocazione sulla cuticola. Tutte queste caratteristiche, simili a molte specie di filaria, impediscono un'accurata identificazione della specie (Orihel et al., 1998). Secondo gli studi condotti da questo autore, tutte le specie del genere Dirofilaria, specialmente quelle che infestano gli esseri umani, mostrano delle creste nella cuticola, ad eccezione della specie Dirofilaria immitis e D. lutrae, dove la cuticola è liscia. Finora, non ci sono informazioni sull'infestazione di esseri umani con questa specie, ma lo stadio iniziale di D. immitis si trova nel tessuto sottocutaneo (Moorhouse et al., 1978)

Le tecniche molecolari e immunologiche sono utilizzate come metodi complementari o alternativi nella diagnosi di dirofilariosi. Nei casi in cui i parassiti mostrano modificazioni dovute alla risposta immunitaria dell'ospite e non possono essere identificati in base alla morfologia, la PCR viene utilizzata per identificare la specie Dirofilaria: si tratta di un test altamente sensibile e specifico anche per piccole quantità di DNA (Eccher, et al., 2008). L'immunoistochimica è un altro metodo diagnostico che individua il simbionte Wolbachia nei noduli (Simon et al., 2007). Un altro complemento del metodo invasivo è l'ELISA sierologico. Anche se l'infestazione si verifica con un piccolo numero di parassiti, l'ospite sviluppa una forte risposta immunitaria. Pertanto, per identificare l'anti-Dirofilaria spp vengono utilizzati vari complessi antigeni-anticorpi (Montoya et al., 2010).

La sierologia è una tecnica complementare ai metodi non invasivi nella diagnosi della dirofilariosi polmonare nell'uomo. Sono stati usati vari complessi di antigeni per rilevare anticorpi diretti contro la dirofilariosi umana (Santamaria et al., 1995; Simon et al., 1991). La sensibilità dei test sierologici dei pazienti con dirofilariosi è aumentata a causa dell'uso di

vari epitopi derivanti dal sequenziamento di polipeptidi in complessi antigenici specifici per *Dirofilaria immitis* e *D. repens*.

Pertanto, sono state identificate da vari autori proteine di peso molecolare (Di 35, 35-kD) (Philipp et al., 1986). Queste proteine sono state clonate e utilizzate come proteine ricombinanti mediante la tecnica ELISA, dimostrando così una maggiore sensibilità e specificità nella diagnosi di dirofilariosi nell'uomo (Sun et al., 1992). Utilizzando il metodo Western Blot, i marcatori proteici sono stati utilizzati con successo nella diagnosi della dirofilariosi polmonare. Sulla piastra ELISA, queste proteine mostrano una sensibilità del 100% e una specificità del 90% (Perera et al., 1998). Pertanto, i test sierologici devono essere integrati con altri esami paraclinici quali esame radiologico, dati della storia medica e area di residenza prima dell'uso di metodi invasivi nella diagnosi di dirofilariosi polmonare nell'uomo (Muro et al., 1999).

In conclusione, tenendo conto dei risultati ottenuti in letteratura, la correlazione sierologica - che utilizza metodi come ELISA e Western Blot con altri metodi invasivi e non invasivi - è l'azione principale nella diagnosi di dirofilariosi nell'uomo (Simon et al., 2012). Le difficoltà nei test sierologici possono essere dovute all'interferenza delle specie di Dirofilaria con altri elminti, come *Toxocara canis* (*larva migrans*), *Ascaris suum*, *Echinoccocus granulosus*, ma questi ostacoli possono essere superati scegliendo marcatori proteici con specificità e trattamento di siero con antigeni specifici per elminti. La diagnosi di dirofilariosi nell'uomo è ancora un grande argomento di ricerca, data la scarsa conoscenza della malattia da parte della maggior parte delle persone nelle aree urbane e rurali. Il numero apparentemente piccolo di casi identificati in letteratura da studi sierologici deve essere rivalutato a causa di infezioni della malattia oculare e difficoltà diagnostiche (Genchi et al., 2005).

TRATTAMENTO E PROFILASSI

Il trattamento nella dirofilariosi cardiopolmonare è complesso e difficile da stabilire in condizioni in cui gli adulticidi possono causare tromboembolia e morte del paziente. In conclusione, il programma terapeutico dovrebbe essere utilizzato a seconda dello stato di salute dell'animale, del carico di adulti di *D. immitis* e dell'associazione con altre malattie concorrenti.

In linea di principio, il trattamento mira a eliminare la microfilaria dal sangue e ad interrompere lo sviluppo delle fasi larvali negli adulti e l'eliminazione degli adulti preesistenti. La valutazione per il trattamento degli adulticidi e il rischio di tromboembolia devono essere eseguiti singolarmente per ciascun animale infetto. Se fino ad ora la malattia era considerata un'evoluzione a 4 stadi (Di Sacco e Vezzoni, 1992), i ricercatori hanno ora ridotto la malattia a due categorie di evoluzione: lieve (basso rischio di tromboembolia) e grave (alto rischio di tromboembolia).

Al fine di collocare il paziente nella classe appropriata, il medico deve considerare quanto segue: il carico parassitario (il numero di adulti presenti nelle arterie polmonari e nel lato destro del cuore), le dimensioni e l'età dell'animale [cani di età 5-7 sono a rischio di avere un gran numero di adulti (Venco et al., 2004)], i cambiamenti polmonari e il grado di restrizione dell'esercizio fisico.

I cani con basso rischio di tromboembolia presentano i seguenti aspetti: un piccolo numero di adulti senza segni clinici, un profilo radiologico normale, un'ecografia cardiaca che non rivela la presenza di adulti nel lato destro del cuore, un basso titolo di antigeni circolanti, la presenza di microfilaria nel sangue, l'assenza di associazione concomitante di malattia e disponibilità di restrizioni dell'attività fisica (coinvolgimento del proprietario).

I cani ad alto rischio di tromboembolia presentano i seguenti aspetti: elevati carichi di adulti, segni clinici specifici della malattia (tosse, distensione addominale), osservazione di adulti nel lato destro del cuore, ecografia cardiaca, gravi alterazioni polmonari, alti antigeni circolanti, assenza di restrizioni di attività fisica (assenza di coinvolgimento del proprietario) (Venco et al., 2011, Maccal et al., 2008).

La terapia di supporto ha il ruolo di ridurre e controllare l'infiammazione polmonare e l'edema polmonare e di ridurre le complicanze derivanti dalla terapia adulticida (Dillon et al., 1995). Corticosteroidi (prednisolone 1-2 mg / kg per 4-5 giorni), diuretici (furosemide 1 mg / kg) e digossina possono essere utilizzati solo quando è presente fibrillazione atriale.

TERAPIA ADULTICIDA

L'unica sostanza approvata e raccomandata dall'AHA (American Heartworm Society) è la melarsomina, utilizzata in una dose di 2,5 mg / kg, due dosi a intervalli di 24 ore. Recentemente, la raccomandazione AHA (2005) propone una terapia a due fasi con melarsomina per ridurre il rischio di tromboembolismo polmonare, attraverso iniezione intramuscolare di due dosi a 24 ore di distanza seguita da una terza dose a 30 giorni. Questo schema di trattamento prevede l'eliminazione iniziale del 90% dei maschi adulti e del 10% delle femmine adulte, raggiungendo una riduzione del 50% nel numero totale di adulti. La terza dose elimina gli adulti rimanenti, riducendo così il rischio di tromboembolia (AHA, 2012). Generalmente, la terapia adulticida causa tromboembolismo polmonare, specialmente se il carico parassitario è elevato. Il tromboembolismo polmonare può essere controllato almeno un mese dopo la terapia adulticida attraverso la somministrazione di eparina e corticosteroidi per ridurre l'infiammazione polmonare ed evitare gravi shock respiratori dovuti all'eliminazione degli adulti (Venco et al., 1998).

Numerosi studi suggeriscono che la terapia con lattoni macrociclici (ivermectina), che ha dimostrato di essere parzialmente adulticida se usata a dosi di 6-12 mcg / kg ogni mese per 16 mesi o anche a 30 mesi, ha un'efficacia del 100% (McCall et al. ., 2001). Al contrario, altri studi dimostrano un peggioramento della salute dell'animale quando l'eliminazione dell'adulto viene raggiunta lentamente e per un lungo periodo di tempo (Venco et al., 2004). L'estrazione chirurgica è raccomandata nei cani con una grande carica parassitaria come unico metodo sicuro per eliminare gli adulti senza il rischio di tromboembolia polmonare (Morini et al., 1998). L'estrazione chirurgica di *D. immitis* adulti viene eseguita con un Flexible Forceps Alligator (Fuji Photo Optical LTD, Giappone) che viene inserito lungo la vena giugulare con la guida fornita dalla fluoroscopia (Ishihara et al., 1990).

Nei gatti con dirofilariosi cardiopolmonare, la terapia consiste nella somministrazione del farmaco di supporto ai corticosteroidi per controllare i cambiamenti polmonari. Secondo alcuni studi, i gatti possono spesso essere curati spontaneamente, con evidente regressione dei segni di imaging polmonare e risultati negativi nei test dell'antigene. Si raccomanda una dose giornaliera di prednisolone a partire da 1 a 2 mg / kg di peso corporeo ogni 12-24 ore, diminuendo gradualmente fino a 0,5 mg / kg ogni 2 giorni per 2 settimane, seguita da osservazione senza trattamento per altre 2 settimane.

I rischi della terapia adulticida e la gravità dell'infezione, specialmente nei cani, fanno della profilassi uuna fase molto importante. Gli studi hanno dimostrato l'efficacia e la sicurezza della somministrazione di lattone macrociclico, come l'ivermectina, la milbemicinoxima, la moxidectina o la selamectina nella prevenzione della dirofilariosi nei cani. L'American Heartworm Society raccomanda di analizzare gli animali per identificare l'antigene *D.*

immitis prima di somministrare sostanze profilattiche per evitare il rischio di tromboembolismo polmonare quando il dosaggio è inadeguato allo stadio dell'infezione. I test per l'antigene di *D. immitis* sono raccomandati ogni anno.

La terapia con doxiciclina (10 mg / kg) per un periodo di 4-6 settimane, seguita dalla somministrazione di lattone macrociclico nelle dosi usuali per la terapia con microfilaricidi, porta alla sterilizzazione femminile e alla prevenzione della reinfestazione e della lenta uccisione degli adulti. La morte adulta è caratterizzata da un basso rischio di tromboembolia e infiammazione (Kramer et al., 2014).

La prevenzione di D. repens con lattoni macrociclici è discutibile e, fino ad oggi, secondo studi sperimentali i farmaci contenenti moxidectina a rilascio continuo sembrano essere efficaci. La profilassi mensile con lattoni macrociclici è l'unica opzione efficace per i gatti che vivono nelle aree endemiche della dirofilariosi nei cani. Le dosi mensili di sostanze profilattiche sono le seguenti: 24 μg / kg di peso corporeo di ivermectina, 2 mg / kg di milbemicina ossima, 1 mg / kg di moxidectina e da 6 a 12 mg / kg di selamectina, a partire dall' ottava settimane di età (Genchi et al. 2007).

La medicazione profilattica per dirofilariosi non è raccomandata per l'uomo. Gli aspetti più importanti da tenere in considerazione sono i seguenti: sviluppare una diagnosi differenziale per eliminare altre cause che potrebbero aver portato alla comparsa dei noduli (che devono essere rimossi chirurgicamente) ed evitare l'intervento chirurgico nei noduli polmonari fino al completamento di una diagnosi eziologica.

BIBLIOGRAFIA

- 1. American Heartworm Society, Current canine guidelines for the prevention, diagnosis and managment of heartworm (Dirofilaria immitis) infection in dogs, 2014
- 2. Araya J, Kawabata Y, Tomichi N, Kaneko K, Hayashi K, Iwabuchi K, Terasaki Y, Kawashima T, Watanabe M. *Allergic inflammatory reaction is involved in necrosis of human pulmonary dirofilariasis*, 2007, Histopathology 51:484–490
- 3. Aroch, I., Rojas A., Slon, P., Lavy, E, Segev, V., Baneth, G., 2015. Serological cross-reactivity of three commercial in-house immunoassays for detection of *Dirofilariaimmitis* antigens with *Spirocercalupi* in dogs with benign esophageal spirocercosis. Vet. Parasitol. 211, 3-4..
- Atkins CE, DeFrancesco TC, Miller MW, Meurs KM, Keene B., Prevalence of heartworm infection in cats with signs of cardiorespiratory abnormalities. J Am Vet Med Assoc. 1998, Feb;212(4) 517-520. PMID: 9491158
- 5. Atkins CE, et al., Guidelines for the diagnosis, treatment and prevention of heartworm (Dirofilaria immitis) infection in cats, 1998, p 265–271 In Seward RL, editor. (ed), Recent advances in heartworm disease: Symposium '98. American Heartworm Society, Batavia, IL
- 6. Atwell, R.B., and Buoro, I.B.J, *Caval syndrome. In Dirofilariasis*, 1988, Edited by P.F.L. Boreham and R.B. Atwell. CRC Press, Boca Raton, Fla. pp. 191–203.
- 7. Avdiukhina, T.I., Lysenko, A.I., Supriaga, V.G., Postnova, V.F., *Dirofilariosis of the vision organ: registry and analysis of 50 cases in the Russian Federation and in countries of the United Independent States*, 1996, Vestn. Oftalmol. 112, 35–39
- 8. Avdiukhina, T.I., Supriaga, V.G., Postonova, V.F., Kuimova, R.T., Mironova, N.I., Murashov, N.E. & Putintseva, E.V., *Dirofilariasis in the countries of the CIS: an analysis of the cases over the years 1915 1996.*, 1997, Meditsinskaya Parazitologiya (Moscow) 4, 3–7 (in Russian)
- 9. Awe RJ, Mattox KL, Alvarez BA, Storck WJ, Estrada R, Greenberg SD, *Solitary and bilateral pulmonary nodules due to Dirofilaria immitis*, 1975, Am Rev Resp Dis 112:445–449
- 10. Belanger DH, Perkins SL.Mitochondrial DNA. 2010 Dec;21(6):227-33. doi: 10.3109/19401736.2010.533765. Wolbachia infection and mitochondrial diversity in the canine heartworm (Dirofilaria immitis).
- Bolio-Gonzalez, M.E., R.I. Rodriguez-Vivas, C.H. Sauri-Arceo, E. Gutierrez-Blanco,
 A. Ortega-Pacheco and R.F. Colin-Flores, 2007. Prevalence of the Dirofilaria immitis infection in dogs from Merida, Yucatan, Mexico. Vet. Parasitol., 148: 166-169.
- 12. Brunner, C.J., Hendrix, C.M., Blagburn, B.L., Hanrahan, L.A., 1988. Comparison of serologic tests for detection of antigen in canine heartworm infections. J.Am.Vet. Med. Assoc. 192, 1432-7. Belanger DH¹, Perkins SL. Wolbachia infection and mitochondrial diversity in the canine heartworm (Dirofilaria immitis).

 Mitochondrial DNA. 2010 Dec;21(6):227-33. doi: 10.3109/19401736.2010.533765.

- 13. Calvert CA, Losonsky JM, *Pneumonitis associated with occult heartworm disease in dogs*, 1985, J Am Vet Med Assoc.;186 (10):1097-8
- 14. Cancrini G, et al. 2003. First finding of Dirofilaria repens in a natural population of Aedes albopictus. Med. Vet. Entomol. 17:448 –451. Roiz et al., 2007
- 15. Cancrini G, Gabrielli S. 2007. Vectors of Dirofilaria nematodes: biology, behavior and host/parasite relationships, p 211. In Genchi C, Rinaldi L, Cringoli G (ed), Dirofilaria immitis and D. Repens in dog and cat and human infections. Rolando Editore, Naples, Italy.
- 16. Cancrini G., Frangipane di Regalbono A., Ricci I., Tessarin C., Gabrielli S., Pietrobelli M., 2003. Aedes albopictus is a natural vector of Dirofilaria immitis in Italy. Vet Parasitol 118, p. 195–202.
- 17. Cancrini G., Kramer L., 2001- Insect vectors of Dirofilaria spp," in Heartworm Infectionin Humans and An imals, Simón F, Genchi C, editors. (Salamanca: Ediciones Universidad de Salamanca), p. 63–82.
- Cancrini, G., d'Amelio, S., Mattiucci, S., & Coluzzi, M., 1991. Identification of Dirofilaria in man by multilocus electrophoretic analysis. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 85(5), 529-532
- 19. Cancrini, G., Magi, M., Gabrielli, S., Arispici, M., Tolari, F., Dell'Omodarme, M., & Prati, M. C. (2006). Natural vectors of dirofilariasis in rural and urban areas of the Tuscan region, central Italy. *Journal of medical entomology*, *43*(3), 574-579.
- 20. Castillo JC, Reynolds SE, Eleftherianos I. 2011. Insect immune response to nematode parasites. Trends Parasitol. 27:537–547.
- 21. Castillo JC, Reynolds SE, Eleftherianos I., *Insect immune response to nematode* parasites, 2011, Trends Parasitol. 27:537–547
- 22. Ciocan R, Mederle N, Jacsó O, Tánczos B, Fok É, 2013. Autochthonous cases of Dirofilaria in dogs from Timiş County (Western Part) Romania. Global Journal of Medical Research XIII, 29-34.
- 23. Ciocan R., Darăbuş G., Jascó O, Fok É, 2010- Detection of Dirofilaria spp. in dogs by PCR, USAMV Bull 67, p. 40–44.
- 24. Ciucă L., Genchi M., Kramer L., Mangia C., Miron LD., Prete LD., Maurelli MP., Cringoli G., Rinaldi L., 2016 -Heat treatment of serum samples from stray dogs naturally exposed to Dirofilaria immitis and Dirofilaria repens in Romania, Vet Parasitol 30;225:81-5.
- Ciucă L., Genchi M., Kramer L., Mangia C., Miron LD., Prete LD., Maurelli MP., Cringoli G., Rinaldi L., 2016 -Heat treatment of serum samples from stray dogs naturally exposed to Dirofilaria immitis and Dirofilaria repens in Romania, Vet Parasitol 30;225:81-5
- Ciucă L., Miron L.D., Del Prete L., Musella V., Maurelli M.P., Cringoli G., Rinaldi L.,
 2016- Prevalence of canine heartworm (Dirofilaria immitis) disease in stray dogs of eastern Romania. Geospatial Health- in press
- 27. Coman S., Bacescu B., Coman T., 2007- Epidemiological and paraclinical aspects in dirofilariosis in dogs. In: First European Dirofilaria Days Abstract: p. 25.
- 28. Cosoroabă I., Lidia Chiţimia, 2008- Filarioze zoonotice: Dirofilarioza cardiovasculară, Revista Română de Medicină Veterinară, 18, 3, p.18-35
- 29. Dantas-Torres, F., & Otranto, D. (2013). Dirofilariosis in the Americas: a more virulent Dirofilaria immitis?. *Parasites & vectors*, *6*(1), 288.
- 30. Dărăbuș GH., Oprescu I., Morariu S., Narcisa Mederle 2006- Parazitology and parazite diseases, Ed. Mirton Timisoara

- 31. Darby, A. C., Armstrong, S. D., Bah, G. S., Kaur, G., Hughes, M. A., Kay, S. M., ... & Tanya, V. N. (2012). Analysis of gene expression from the Wolbachia genome of a filarial nematode supports both metabolic and defensive roles within the symbiosis. *Genome research*.
- 32. Darchenkova NN, et al. 2009. Prevalence of human dirofilariasis in Russia. Med. Parazitol. (Mosk.) 2:3–7
- 33. Demiaszkiewicz, A.W., Polańczyk, G., Osińska, B., Pyziel, A.M., Kuligowska, I., Lachowicz, J., Sikorski, A., 2014. *The prevalence and distribution of Dirofilariarepens in dogs in the Mazovian Province of central-eastern Poland*.Ann. Agric. Environ. Med. 21, 701-704
- 34. Di Sacco B, Vezzoni A. 1992. Clinical classification of heartworm disease for the purpose of adding objectivity to the assessment of therapeutic efficacy of adulticidal drugs in the field, p 209–214 In Soll MD, editor. (ed), Proceedings of the Heartworm Symposium '92. American Heartworm Society, Batavia, IL
- 35. Dillon A.R., *Filariosi cardiopolmonare nel gatto*, 1996, Veterinaria 2:69–74
- 36. Dillon AR, Warner AE, Brawner W, Hudson J, Tillson M, *Activity of pulmonary intravascular macrophages in cats and dogs with and without adult Dirofilaria immitis*, 2008, Vet. Parasitol. 158:171–176
- 37. Dillon R., *Clinical Significance of Feline Heartworm Disease*, 1998, Veterinary Clinics, Small Animal Practice, November 1988, Volume 28, Issue 6, Pages 1547-1565
- 38. Dillon, A.R. & Blagburn, B.L. & Tillson, David & Brawner, William & Welles, B & Johnson, C & Spenser, J & Kaltenboeck, B & Rynders, P.E., *Immature heartworm infection produces pulmonary parenchymal, airway, and vascular disease in cats*, 2007, J. Vet. Intern. Med.. 21. 608-609.
- 39. Dillon, AR.; Warner, AE.; Molina, RM., Pulmonary parenchymal changes in dogs and cats after experimental transplantation of dead Dirofilaria immitis, 1995, Proceedings of the heartworm symposium '95, Auburn, Alabama, USA, 31 March-2nd April, 1995.pp.97-101 ref.14
- 40. Dingman P, Levy JK, Kramer LH, Johnson CM, Lappin MR, Greiner EC, Courtney CH, Tucker SJ, Morchon R.Vet Parasitol. 2010 May 28;170(1-2):50-60. doi: 10.1016/j.vetpar.2010.01.037. Epub 2010 Feb 4. <u>Association of Wolbachia with heartworm disease in cats and dogs.</u>
- 41. Dissanaike, A.S., Abeyewickreme, W., Wijesundera, M.D., Weerasooriya, M.V. & Ismail, M.M.1997. *Human dirofilariasis caused by Dirofilaria (Nochtiella) repens in Sri Lanka*. Parassitologia. 39(4),375-382
- 42. Drake, J., Gruntmeir J., Merritt, H., Allen, L., Little, S.E., 2015. False negative antigen tests in dogs infected with heartworm and placed on macrocyclic lactone preventives. Parasit. Vectors. 8, 68
- 43. Eccher A, et al. 2008. *Periorbital subcutaneous tumor-like lesion due to Dirofilaria repens.* Int. J. Surg. Pathol. 16:101–103
- 44. Fuehrer H-P., Auer H., Leschnik M., Silbermayr K., Duscher G., Joachim A., 2016–Dirofilaria in Humans, Dogs, and Vectors in Austria (1978–2014)—From Imported Pathogens to the Endemicity of Dirofilaria repens. PLoS Negl Trop Dis, 10, p. 4547.
- 45. Fülleborn, F., 1912. Zur morphologie der Dirofilaria immitis Leydi (sic) 1856. Zentralbl Bakt Parasitenk 65, 341–349.
- Furlanello T, Caldin M, Vezzoni A, Venco L, Kitagawa H, "Patogenesi," in La Filariosi Cardiopolmonare del Cane e del Gatto, 1998, eds Genchi C, Venco L, Vezzoni A, editors. (Cremona: Editorial Scivac), 31–46.

- 47. Garcia R., Colwell A.E., Voigt W.G., and Woodward D.L., 1989. Fay-Prince trap baited with CO2 for monitoring adult abundance of Aedes sierrensis (Diptera: Culicidae). Jurnal of Medical Entomology 26 (4) 327-321
- 48. Genchi C, Kramer LH, Prieto G. 2001. Epidemiology of canine and feline dirofilariasis: a global view, p 121–134. In Simón F, Genchi C (ed), Heartworm infection in humans and animals. Ediciones Universidad de Salamanca, Salamanca, Spain.
- 49. Genchi C, Rinaldi L, Cascone C, Mortarino M, Cringoli G. 2005. Is heartworm disease really spreading in Europe? Vet. Parasitol. 133:137–148
- Genchi C., Guerrero J., McCall JW., Venco L., Epidemiology and prevention of Dirofilaria infections in dogs and cats, 2007, p 147–161 In Genchi C, Rinaldi L, Cringoli G, editors. (ed), Dirofilaria immitis and D. repens in dog and cat and human infections. Rolando Editore, Naples, Italy
- 51. Genchi C., Kramer LH., Rivasi F., *Dirofilarial infection in Europe*, 2011, Vector Borne Zoonotic Dis, nr. 11, p. 1307–1317
- 52. Genchi C., Traldi G., Di Sacco B., Benedetti MC., 1988- Epidemiological aspects of canine heartworm disease in Italy, Atti del 4° Seminário: Filariosi: p. 53-64.
- 53. Genchi, C., Rinaldi, L., Mortarino, M., Genchi, M., Cringoli, G., 2009. Climate and *Dirofilaria* infection in Europe. Vet. Parasitol. 163, 286-292.
- 54. Gillis, J.M.,, Smith, R.,D., Todd, K.S. Jr., 1984. Diagnostic criteria for an enzymelinked immunosorbent assay for occult heartworm disease: standardization of the test system in naturally exposed dogs. Am. J. Vet. Res. 45, 2289-2292.
- 55. Gioia, G., Lecová, L., Genchi, M., Ferri, E., Genchi, C., Mortarino, M., 2010. Highly sensitive multiplex PCR for simultaneous detection and discrimination of *Dirofilariaimmitis* and *Dirofilariarepens* in canine peripheral blood. Vet. Parasitol. 172, 160-163.
- 56. Glaus TM, Jacobs GJ, Rawlings CA, Watson ED, Calvert CA. *Surgical removal of heartworms from a cat with caval syndrome*, 1995, J Am Vet Med Assoc.;206(5) 663-666. PMID: 7744688
- 57. Gortázar C., Castillo J. A., Lucientes J., Blanco J. C., Arriolabengoa A., Calvete C., 1994. Factors affecting Dirofilaria immitis prevalence in red foxes in north-eastern Spain. J. Wildl. Dis. 30, 545–547
- 58. Guillot, P., Dachary, D., Dallot, M., Cadiergues, M. C., & Bain, O. (1998, February). Cutaneous dirofilariasis from Dirofilaria repens. A case contracted in Gironde. In *Annales de dermatologie et de venereologie* (Vol. 125, No. 2, pp. 105-107).
- 59. Hamel, D., Silaghi, C., Lescai, D., Pfister, K., 2012. Epidemiological aspects on vector-borne infections in stray and pet dogs from Romania and Hungary with focus on *Babesia* spp. Parasitol. Res. 110, 1537–1545.
- 60. Horst Aspöck 2003. Dirofilariae and dirofilarioses: Introductory remarks. Helminthologische Colloquium 5.
- 61. Ilie M.S., Imre K., Hotea I., Dărăbuș G., 2012- Survey of canine dirofilariosis from south-western Romania preliminary results, 3rd European Dirofilaria Days, p. 68
- 62. Imre, M., Farkas, R., Ilie, M., Imre, K., Hotea, I., Morariu, S., Morar, D., Dărăbuş, G., 2013. Seroprevalence of *Babesiacanis* infection in clinically healthy dogs from western Romania. J. Parasitol. 99. 161-163.
- 63. Ionică, A.M., Matei, I.A., Mircean, V., Dumitrache, M.O., D'Amico, G., Győrke, A., Pantchev, N., Annoscia, G., Albrechtová, K., Otranto, D., Modrý, D., Mihalca, A.D., 2015. Current surveys on the prevalence and distribution of *Dirofilaria* spp. and

- Acanthocheilonemareconditum infections in dogs in Romania. Parasitol. Res. 114, 975–982.
- 64. Ishihara K, Kitagawa H, Sasaky Y. 1990. Efficacy of heartworm removal in dogs with dirofilarial hemoglobinuria using flexible alligator forceps. Jpn. J. Vet. Sci. 53:591–599
- 65. Ishihara, K., Kitagawa, H., Ojima, M., Yagata, Y., & Suganuma, Y. (1978). Clinicopathological studies on canine dirofilarial hemoglobinuria. *Nihon juigaku zasshi. The Japanese journal of veterinary science*, 40(5), 525.
- 66. Joseph E. Matthai A., Abraham L.K., Thomas S., 2011. Subcutaneous human dirofilariosis. Parasit Dis. 35 (2), 140-143
- 67. Kahn FW, Wester SM, Agger WA. 1983. *Pulmonary dirofilariasis and transitional cell carcinoma. Benign lung nodules mimicking metastatic malignant neoplasms*. Arch. Intern. Med. 143:1259–1260
- 68. Kalluri, S., Gilruth, P., Rogers, D., Szczur, M., 2007. Surveillance of arthropod vector-borne infectious diseases using remote sensing techniques: a review. PLoSPathog. 26, 1361–1371.
- 69. Kartashev V, Afonin A, González-Miguel J, Sepúlveda R, Simón L, Morchón R, Simón F, 2014. Regional warming and emerging vector-borne zoonotic dirofilariosis in the Russian Federation, Ukraine, and other post-Soviet states from 1981 to 2011 and projection by 2030. Biomed Res Int, 858936.
- 70. Kartashev V, Batashova I, Kartashov S, Ermakov A, Mironova A, Kuleshova Y, Ilyasov B, Kolodiy I, Klyuchnikov A, Ryabikina E,Babicheva M, Levchenko Y, Pavlova R, Pantchev N, Morchón R, Simón F.2011. Canine and human dirofilariosis in the Rostov Region (Southern Russia). Vet. Med. Int. 2011:685713
- 71. Kemmerer DW, *Heartworm disease in the domestic ferret*, 1998, p 87–89 *In* Seward RL, editor. (ed),Recent advances in heartworm disease: Symposium '98. American Heartworm Society, Batavia, IL
- 72. Kirkova Z., Ivanov A., Georgieva D., 2007. "Dirofilariosis in dogs and wild carnivores in Bulgaria,|| in Dirofilaria immitis and D. repens in Dog and Cat and Human Infections, eds Genchi C., Rinaldi L., Cringoli G., editors. (Zagreb: Rolando Editore;), 204.
- 73. Kitagawa et al., H. Kitagawa, Y. Sasaki, A. Matsui, K. Ishihara, T. Uchiyama (1987). Serum haptoglobin levels in canine dirofilariasis. *Nihon Juigaku Zasshi, (The Japanese Journal of Veterinary Science)*, 49(2), 261-266.
- 74. Kitagawa, H., Ohba, Y., Kuwahara, Y., Ohne, R., Kondo, M., Nakano, M., ... & Kitoh, K. (2003). An angiotensin converting enzyme inhibitor, benazepril can be transformed to an active metabolite, benazeprilat, by the liver of dogs with ascitic pulmonary heartworm disease. *Journal of veterinary medical science*, 65(6), 701-706.
- 75. Knott, J., 1939. A method for making microfilarial surveys on day blood. Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg. 33, 191–196.
- 76. Kochar AS., *Human pulmonary dirofilariasis. Report of three cases and brief review of the literature*, 1985, Am. J. Clin. Pathol. 84:19–23
- 77. Konishi, E. (1989). Culex tritaeniorhynchus and Aedes albopictus (Diptera: Culicidae) as natural vectors of Dirofilaria immitis (Spirurida: Filariidae) in Miki city, Japan. *Journal of medical entomology*, *26*(4), 294-300.
- 78. Konishi, E. (1989). Enzyme-linked immunosorbent assay to detect antigens of Dirofilaria immitis (Spirunida: Filariidae) larvae in Aedes albopictus and Culex

- tritaeniorhynchus (Diptera: Culicidae). *Journal of medical entomology*, *26*(2), 113-117.
- 79. Konishi, E. (1989). Size of blood meals of Aedes albopictus and Culex tritaeniorhynchus (Diptera: Culicidae) feeding on an unrestrained dog infected with Dirofilaria immitis (Spirurida: Filariidae). *Journal of medical entomology*, 26(6), 535-538.
- 80. Korkhov AP, Temirov NE, Nagornyĭ SA, Ermakova LA, Dumbadze OS, Beskrovnaia IuG, Chernikova EA. *A case of the rare intraocular site of Dirofilaria spp. in man*, 2009, Med. Parazitol. (Mosk.) 1:59
- 81. Kramer L, Genchi C, 2014. Where are we with Wolbachia and doxycycline: An indepth review of the current state of our knowledge. Vet Parasitol 206, 1-4.
- 82. Kramer L, Genchi C. 2002. Feline heartworm infection: serological survey of asymptomatic cats living in northern Italy. Vet. Parasitol. 104: 43–50
- 83. Kramer LH., Kartashev VV., Grandi G., Morchón R., Nagornii SA., Karanis P., Simón F., 2007, *Human subcutaneous dirofilariasis*, Russia. Emerg. Infect. Dis. 13 p. 150–152
- 84. Lee et al., 2010, Understanding feline heartworm infection: disease, diagnosis, and treatment. Top. Companion Anim. Med. 25:224–230.
- 85. Levy JK, Edinboro CH, Glotfelty CS, Dingman PA, West AL, Kirkland-Cady KD. Seroprevalence of Dirofilaria immitis, feline leukemia virus, and feline immunodeficiency virus infection among dogs and cats exported from the 2005 Gulf Coast hurricane disaster area, 2007,. J. Am. Vet. Med. Assoc. 231:218–225
- 86. Little, S. E., Beall, M. J., Bowman, D. D., Chandrashekar, R., & Stamaris, J. (2014). Canine infection with Dirofilaria immitis, Borrelia burgdorferi, Anaplasma spp., and Ehrlichia spp. In the United States, 2010–2012. Parasites & vectors, 7(1), 257
- 87. Little, S.E., Munzing, C., Heise, S.R., Allen, K.E., Starkey, L.A., Johnson, E.M., Meinkoth, J., Reichard, M.V., 2014a. Pre-treatment with heat facilitates detection of antigen of *Dirofilariaimmitis* in canine samples. Vet. Parasitol. 203, 250-252.
- 88. Little, S.E., Munzing, C., Heise, S.R., Allen, K.E., Starkey, L.A., Johnson, E.M., Meinkoth, J., Reichard, M.V., 2014a. *Pre-treatment with heat facilitates detection of antigen of Dirofilaria immitis in canine samples*. Vet. Parasitol. 203, 250-252
- 89. Little, S.E., Raymond, M.R., Thomas, J.E., Gruntmeir, J., Hostetler, J.A., Meinkoth, J.H., Blagburn, B.L., 2014b. Heat treatment prior to testing allows detection of antigen of *Dirofilariaimmitis* in feline serum. Parasit. Vectors.7, 1.
- 90. Lok JB, Knight DH. 1998. Laboratory verification of a seasonal heartworm model, p 15–20. In Seward R, et al (ed), Recent advances in heartworm disease: Symposium '98. American Heartworm Society, Batavia, IL
- 91. Lupșe M., Mircean, V., Cavasi, A., Mihalca, A.D., 2014. Recurrent subcutaneous human dirofilariosis due to Dirofilaria repens after surgical removal of the worm and anthelmintic treatment. Parasites Vectors 7 (Suppl. 1), P3.
- 92. Madon M.B., Mulla M.S., Shaw M.W., Kluh S., Hazelrigg J.E., 2002- Introduction of Aedes albopictus (Skuse) in southern California and potential for its establishment. J Vector Ecol 27, p. 149–154.
- 93. Magnis, J., Lorentz, S., Guardone, L., Grimm, F., Magi, M., Naucke, T.J., Deplazes, P., 2013. Morphometric analyses of canine blood microfilariae isolated by the Knott's test enables *Dirofilariaimmitis D. repens* species-specific and *Acanthocheilonema* (syn. *Dipetalonema*) genus-specific diagnosis. Parasit. Vectors. 6, 48.

- 94. Mandelli, G., & Mantovani, A. (1966). A Case of Massive Infection with Dirofilaria repens in a Dog. *Parassitologia*, *8*(1), 21-8.
- 95. Manfredi MT, Di Cerbo A, Genchi M., 2007. Biology of filarial worms parasitizing dogs and cats, Mappe parasitologiche, Dirofilaria immitis and D. repens in dog and cat and human infections. Rolando Editore, Italy, pp. 41-45.
- 96. Marks CA, Bloomfield TE. 1998. Canine heartworm (Dirofilaria immitis) detected in red foxes (Vulpes vulpes) in urban Melbourne. Vet. Parasitol. 78:147–154.
- 97. McCall JV, Genchi C, Kramer LH, Guerrero J, Venco L, *Heartworm disease in animals and humans.*, 2008 Adv Parasitol 66, 193–285
- 98. McCall JW, Dzimianski MT, McTier TL, Jernigan AD, Jung JJ, Mansour AE, Supakorndej P, Plue RE, Clark JN, Wallace DH, Lewis RE 1992. Biology of experimental heartworm infections in cats, p. 71-79. In Proceedings of the Heartworm Symposium, Austin, Texas
- 99. McCall JW, McTier T.L., Dzimianski M.T., Raynaud J.P., Holmes R.A., *Clinical prophylactic activity of melarsomine dihydrochloride (RM 340) against Dirofilaria immitis in heartworm naive beagles exposed to natural infection in three southeastern states*, 1994, Veterinary Parasitology, Volume 55, Issue 3
- 100. McCall JW., Experimental infections in animal models, 2001, p 147–150 In Simón F, Genchi C, editors. (ed), Heartworm infection in humans and animals. Ediciones Universidad de Salamanca, Salamanca, Spain
- 101. McDougall LT, Magoon CC, Fritsche TR., 1992. Dirofilaria repens manifesting as a breast nodule: diagnostic problems and epidemiologic considerations. Am. J. Clin. Pathol. 97:625–630
- 102. McHaffie, J. (2012). Dirofilaria immitis and Wolbachia pipientis: a thorough investigation of the symbiosis responsible for canine heartworm disease. *Parasitology research*, 110(2), 499-502.
- 103. Medlock, J.M., Barras, I., Kerrod, E., Taylor, M.A., Leach, S., 2007. Analysis of climatic predictions for extrinsic incubation of *Dirofilaria* in the United Kingdom. Vector Borne Zoonotic Dis. 7, 4–14.
- 104. Miller, L.L., and Crosbie, P.R., 2011. Canine heartworm (*Dirofilariaimmitis*) in Fresno and Madera Counties, California: prevalence differences between foothill and valley habitats. Vet Parasitol.175, 84-91.
- Mircean, M., Ionică, A. M., Mircean, V., Györke, A., Codea, A. R., Tăbăran, F. A., & Dumitrache, M. O. Clinical and pathological effects of Dirofilaria repens and Dirofilaria immitis in a dog with a natural co-infection, 2017, Parasitology international, 66(3), 331-334
- 106. Mircean, V., Dumitrache, M.O., Györke, A., Pantchev, N., Jodies, R., Mihalca, A.D., Cozma, V., 2012. Seroprevalence and Geographic Distribution of *Dirofilariaimmitis* and Tick-Borne Infections (*Anaplasmaphagocytophilum*, *Borreliaburgdorferisensulato Erlichiacanis*) in dogs from Romania. Vector Borne Zoonotic Dis. 12, 595–604.
- 107. Mircean, V., Dumitrache, M.O., Mircean, M., Bolfa, P., Györke, A., Mihalca, A.D., 2014. Autochthonous canine leishmaniasis in Romania: neglected or (re)emerging? Parasit. Vectors 7, 135.
- 108. Moise NS. 1991. Ecocardiografia, p 113–154 *In* Fox PR, editor. (ed), Cardiologia nel cane en el gatto. SBM Editore, Parma, Italy
- 109. Montoya A., et al., 2010. Canine dirofilariosis caused by Dirofilaria immitis is a risk factor for the human population on the Island of Gran Canaria, Canary Islands, Spain. Parasitology Research, 107, 2010, 1265–1269

- Montoya-Alonso JA, Carretón E, Simón L, González-Miguel J, García-Guasch L, Morchón R, Simón F., 2015. Prevalence of Dirofilaria immitis in dogs from Barcelona: validation of a geospatial prediction model. Vet Parasitol 212, 456-459.
- 111. Moore W, Franceschi D. 2005. PET findings in pulmonary dirofilariasis. J. Thorac. Imaging 20:305–306.
- 112. Moorhouse, D. E. (1978). Dirofilaria immitis: A cause of human intra-ocular infection. *Infection*, *6*(4), 192-193
- 113. Morar, D., Dărăbuș, G., Imre, M., Ilie, M.S., Imre, K., 2015. First record of autochtonuserlichiosis caused by *Erlichiacanis* in Romania. Vet. Clin. Pathol. 44, 200-204.
- 114. Morchon R., Carreton E., Gonzalez-Miguel J., Mellado-Hernandez I., 2012, Heartworm disease (Dirofilaria immitis) and their vectors in Europe-New distribution Trends, Front Physiol, 3, p. 196.
- 115. Mortarino, M., Musella, V., Costa, V., Genchi, C., Cringoli, G., & Rinaldi, L. (2008). GIS modeling for canine dirofilariosis risk assessment in central Italy. *Geospatial Health*, 2(2), 253-261.
- 116. Mumtaz H, Ozdemir A, Schaefer RC. 2004. Case of the month. A case report of human pulmonary dirofilariasis in Arkansas. J. Ark. Med. Soc. 100:240 –242.
- 117. Muro A, Cordero M., *Clinical aspects and diagnosis of human pulmonary dirofilariosis*, 2001, p 191–202 *In* Simón F, Genchi C, editors. (ed), Heartworm infection in humans and animals. Ediciones Universidad de Salamanca, Salamanca, Spain
- 118. Muro A, Genchi C, Cordero M, Simón F., *Human dirofilariasis in the European Union*, 1999, Parasitol. Today 15:386–389
- 119. Navarrete AR., Pulmonary dirofilariasis, 1972, Chest 61:51–54
- 120. Nelson TA, Gregory DG, Laursen JR. 2003. Canine heartworms in coyotes in Illinois. J. Wildl. Dis.39:593–599
- 121. Orihel et al., 1997 ,T.C. Orihel, D. Helentjaris, J. Alger, Subcutaneous dirofilariosis: a simple inoculum, multiple worms, Am. J. Trop. Med. Hyg., 56 (1997), pp. 452-455.
- 122. Orihel TC, Eberhard ML., 1998. *Zoonotic filariasis*. Clin. Microbiol. Rev. 11:366 381.316. Osborne J, Devaney E.1999. Interleuk
- 123. Otranto, D., Brianti, E., Dantas-Torres, F., Miró, G., Latrofa, M. S., Mutafchiev, Y., & Bain, O. (2013). Species diversity of dermal microfilariae of the genus Cercopithifilaria infesting dogs in the Mediterranean region. *Parasitology*, 140(1), 99-108.
- 124. Otto GF., 1975- Occurrence of the heartworm in unusual locations and in unusual hosts, in GF Otto, Proceedings of the Heartworm Symposium `74, KS, VM Publishing Co., Bonner Springs p. 6-13.
- 125. Paes-de-Almeida EC, Ferreira AMR, Labarthe NV, Caldas MLR, McCall JW. 2003. Kidney ultrastructural lesions in dogs experimentally infected with Dirofilaria immitis (Leidy, 1856). Vet. Parasitol. 113:157–168
- 126. Pampiglione S, Rivasi F, Vakalis N. 2000. Human pulmonary dirofi- lariasis: the first case observed in Greece. Ann. Pathol. 20:626 –628
- 127. Pampiglione S, Rivasi F., Angeli G., Boldorini R., Incensati RM., Pastormerlo M., Pavesi M., Ramponi A., 2001- Dirofilariasis due to Dirofilaria repens in Italy, an emergent zoonosis: report of 60 new cases. Histopathology nr. 38, p. 344–354.

- 128. Pampiglione S, Rivasi F., Human dirofilariasis to Dirofilaria (Nochtiella) repens: an update of world literature from 1995-2000, 2007, p 83–116 In Genchi C, Rinaldi L, Cringoli G, editors. (ed), Dirofilaria immitis and D. repens in dog and cat and human infections. Rolando Editore, Naples, Italy
- 129. Pantchev N, Etzold M, Daugschies A, Dyachenko V.,2011. *Diagnosis of imported canine filarial infections in Germany 2008–2010*. Parasitol Res 109(Suppl 1):S61–S76
- 130. Pantchev, N., Norden, N., Lorentzen, L., Rossi, M., Rossi, U., Brand, B., Dyachenko V. 2009- *Current surveys on the prevalence and distribution of Dirofilaria spp. in dogs in Germany*. Parasitol Res 105, p. 63–74.
- 131. Perera L, Perez-Arellano JL, Cordero M, Simón F, Muro A. 1998. *Utility of antibodies against a 22 KD molecule of Dirofilaria immitis in the diagnosis of human pulmonary dirofilariasis*. Trop. Med. Int. Health3:151–155
- 132. Philipp M, Davis TB. 1986. Biochemical and immunologic characterization of a major surface antigen of Dirofilaria immitis infective larvae. J. Immunol. 136:2621–2627
- 133. Rawlings, C.A., Dawe, D.L., McCall, J.W., Keith, J.C., Prestwood, A.K., 1982. Four types of occult Dirofilaria immitis infection in dogs. J. Am. Vet. Med. Assoc. 180, 1323-1326
- 134. Rishniw, M., Schukken, Y., Greiner, E. 2012. Sex ratios of Dirofilaria immitis in naturally infected dogs show female bias at low worm intensities. Res Vet Sci. 93(3):1324-1328
- 135. Ro J. Y., Tsakalakis P. J., White V. A., Luna M. A., Chang-Tung E. G., Green L., Ayala A. G. *Pulmonary dirofilariasis: the great imitator of primary or metastatic lung tumor. A clinicopathologic analysis of seven cases and a review of the literature*, 1989, *Human pathology*, 20(1), 69-76
- 136. Rodríguez-Iglesias, M.A., Alvarez, J.R., Vergara, A., Garcia-Valdivia, M.S., Jesús, I., Mira J. 1992. *Improbe detection of HIV p24 antigen in serum after acid pretreatment*. Eur. J. Microbiol. Infect. Dis. 11, 849-50
- 137. Roemer, G.W., Coonan, T.J., Garcelon, D.K., Starbird, C.H., McCall, J.W., 2000. Spatial and temporal variation in the seroprevalence of canine heartworm antigen in the island fox. J. Wildl. Dis. 36(4), 723-728.
- 138. Roiz D, Rosà R, Arnoldi D, Rizzoli A. 2007. Effects of temperature and rainfall on the activity and dynamics of host-seeking Aedes albopictus females in northern Italy. Vector Borne Zoonotic Dis. 10:811–816
- 139. Santamaria B, Cordero M, Muro A, Simón F. 1995. Evaluation of Dirofilaria immitis excretory/secretory products for seroepidemiological studies on human dirofilariosis. Parasite 2:269–273
- 140. Sasaki Y., Kitagawa H., Ishihara K., Clinical Application of Milbemycin D as a Prophylactic Agent against Dirofilaria immitis Infection in Dogs: Clinical Findings in Dogs with Shock-like Reaction, 1986, Japanese Society of Veterinary Science
- 141. Sassnau R., Czajka C., Kronefeld M., Werner D., Genchi C., Tannich E., Kampen H, 2014- Dirofilaria repens and Dirofilaria immitis DNA findings in mosquitoes in Germany: temperature data allow autochthonous extrinsic development. Parasitol Res. nr. 113 p. 3057–3061.
- 142. Schnyder, M., Deplazes, P., 2012. Cross-reactions of sera from dogs infected with Angiostrongylusvasorumin commercially available *Dirofilariaimmitis*test kits. Parasit. Vectors 5, 258.

- 143. Simón F, Kramer LH, Román A, Blasini W, Morchón R, Marcos-Atxutegi C, Grandi G, Genchi C., 2007. *Immunopathology of Dirofilaria immitis infection.* Vet. Res. Commun. 31:161–171
- Simón F, López-Belmonte J, Marcos-Atxutegi C, Morchón R, Martín-Pacho JR, 2005. What is happening outside North America regarding human dirofilariasis? Vet Parasitol 133, 181–189
- 145. Simón F, Morchón R, González-Miguel J, Marcos-Atxutegi C, SilesLucas M. 2009. What is new about animal and human dirofilariosis? Trends Parasitol. 25:404 409
- 146. Simón F, Morchón R, González-Miguel J, Rodes-Moltó D. 2009. Dirofilariosis canina en La Coruña, Galicia. Argos 106:10 –12.
- 147. Simón F, Muro-Alvarez A, Cordero-Sánchez M, Martín-Martín J. 1991. A seroepidemiologic survey of human dorofilariosis in Western Spain. Trop. Med. Parasitol. 42:106–108
- 148. Simón F., Siles-Lucas M., Morchón R., González-Miguel J., Mellado I., Carreton E., Montoya-Alonso JA., 2012- Human and animal dirofilariasis: the emergence of a zoonotic mosaic. Clin Microbiol Rev 25, p. 507–544.
- Simón L, Afonin A, López-Díez LI, González-Miguel J, Morchón R, Carretón E, Montoya-Alonso JA, Kartashev V, Simón F, 2014. Geo-environmental model for the prediction of potential transmission risk of Dirofilaria in an area with dry climate and extensive irrigated crops. The case of Spain. Vet Parasitol 200, 257-264
- 150. Simon, F., Prieto, G., Muro, A., Cancrini, G., Cordero, M., & Genchi, C. (1997). Human humoral immune response to Dirofilaria species. *Parassitologia*, *39*(4), 397-400
- 151. Sironi M, et al. 1995. Molecular evidence of close relative of the arthropod endosymbiont Wolbachia in a filarial worm. Mol. Biochem. Parasitol. 74:223–227.
- 152. Skidmore JP, Dooley PD, Dewitt C. 2000. Human extrapulmonary dirofilariasis in Texas. South. Med. J. 93:1009–1010.
- 153. Slocombe JO. 1989. Heartworm in dogs in Canada in 1989. Can. Vet. J. 31:499 –
- 154. Stringfellow GJ, Francis IC, Coroneo MT, Walker J., *Orbital dirofilariasis, 2002,* Clin. Exp. Ophthalmol.30:378–380
- 155. Sulekova, L. F., Gabrielli, S., De Angelis, M., Milardi, G. L., Magnani, C., Di Marco, B., ... & Cancrini, G. (2016). Dirofilaria repens microfilariae from a human node fine-needle aspirate: a case report. *BMC infectious diseases*, *16*(1), 248
- 156. Sun S, Sugane K. 1992. Immunodiagnosis of human dirofilariasis by enzyme linked immunosorbent assay using recombinant DNA-derived fusion protein. J. Helminthol. 66:220 226
- 157. Supakorndej P, Lewis RE, McCall JW, Dzimianski MT, Holmes RA, *Radiographic* and angiographic evaluations of ferrets experimentally infected with Dirofilaria immitis, 1995. Vet. Radiol. Ultrasound 36:23–29
- 158. Tarello W. 2002. Dermatitis associated with Dirofilaria (Nochtiella) repens microfilariae in dogs from central Italy. Acta Vet. Hung. 50:63–78
- 159. Tarello W. 2002. Dermatitis associated with Dirofilaria repens microfi- lariae in a dog in Dubai. Vet. Rec. 151:738 –739.
- 160. Tarello W. 2010. Clinical aspects of dermatitis associated with Dirofilaria repens in pets. In Dermatitis linked with helminthic infections. Merial Pre-Congress of the ESVD ECVD Meeting, Florence, Italy

- 161. Tasiš-Otaševiš SA, Trenkiš Božinoviš, MS, Gabrielli SV, Genchi C, 2015- Canine and human Dirofilaria infections in the Balkan Peninsula. Vet Parasitol 209, p. 151-156.
- 162. Taylor AE 1960. The development of Dirofilaria immitis in the mosquito Aedes aegypti. J Helminth 34: 27-38.
- 163. Theis, J.H., 2005. Public health aspects of Dirofilariasis in the United States. Vet. Parasitol. 133, 157–180.
- 164. Tolnai Z, Széll Z, Sproch Á, Szeredi L, Sréter T, 2014- Dirofilaria immitis: an emerging parasite in dogs, red foxes and golden jackals in Hungary. Vet Parasitol 203, p. 339–342.
- 165. Tonelli, Q.J., 1989. Factors affecting the accuracy of enzyme immunoassays for Dirofilaria immitis adult antigen. In: Seward, R.L., (Ed.). Proceedings of the American Heartworm Symposium. Batavia, I.L., USA: American Heartworm Society, 161–165
- 166. Treadwell, N. / American Heartworm Society, *Pneumothorax as a Presenting Sign of Dirofilaria immitis Infection for Cats*, Symposium, Recent advances in heartworm disease; 1998; Tampa, FL, pags 113-116 American Heartworm Society
- 167. Tudor P., Mateescu R., Tudor N., 2013- Dirofilaria infection in dogs from Târgoviște area, Romania. Current Opinion in Biotechnology 24, p. 51-52.
- 168. Uchide T e Saida K.(2005). Elevated endothelin-1 expression in dogs with heartworm disease. J Vet Med Sci. 67(11):1155-61
- 169. Velasquez L, Blagburn BL, Duncan-Decoq R, Johnson EM, Allen KE, Meinkoth J, Gruntmeir J, Little SE, 2014. *Increased prevalence of Dirofilaria immitis antigen in canine samples after heat treatment*. Vet. Parasitol. 206, 67-70
- 170. Venco L, Furlanello F, Vezzoni A., *Orientamenti terapeutici*,1998, p 198 *In* Genchi C, Venco L, Vezzoni A, editors. (ed), *La filariosi cardiopulmonare del cane e del gatto*. Editorial Scivac, Cremona, Italy
- 171. Venco L, Genchi C, Simón F., La filariosis cardiopulmonar (Dirofilaria immitis) en el perro, 2011, p 19–60 In Simón F, Genchi C, Venco L, Montoya MN, editors. (ed), La filariosis en las especies domésticas y en el hombre. Merial Laboratorios, Barcelona, Spain
- 172. Venco L, McCall JW, Guerrero J, Genchi C., Efficacy of long-term monthly administration of ivermectin on the progress of naturally acquired heartworm infection in dogs, 2004, Vet. Parasitol. 124:259–268
- 173. Venco L, Vezzoni A., *Heartworm (Dirofilaria immitis) disease in dogs and cats*, 2001, p 161 177 *In*Simón F, Genchi C,editors. (ed), Heartworm infection in humans and animals. Ediciones Universidad de Salamanca, Salamanca, Spain
- 174. Venco, L., Genchi, C., Genchi, M., Grandi, G., & Kramer, L. H. (2008). Clinical evolution and radiographic findings of feline heartworm infection in asymptomatic cats. *Veterinary parasitology*, *158*(3), 232-237.
- 175. Venco, L., Mortarino, M., Carro, C., Genchi, M., Pampurini, F., & Genchi, C. (2008). Field efficacy and safety of a combination of moxidectin and imidacloprid for the prevention of feline heartworm (Dirofilaria immitis) infection. *Veterinary parasitology*, 154(1-2), 67-70.
- 176. Vezzani, D., & Carbajo, A. E. (2006). Spatial and temporal transmission risk of Dirofilaria immitis in Argentina. *International journal for parasitology*, *36*(14), 1463-1472

- 177. Vezzani, D., Eiras, D. F., & Wisnivesky, C. (2006). Dirofilariasis in Argentina: historical review and first report of Dirofilaria immitis in a natural mosquito population. *Veterinary parasitology*, *136*(3-4), 259-273.
- 178. Vogel, H. (1927). Über *Mikrofilaria demarquayi* und die Mikrofilaria aus Tucuman in Argentinien. *Abh. Geb. Auslandsk.*, 36, Reihe D, 2, 573.
- 179. Weil, G. J., Malane, M. S., & Powers, K. G., Detection of circulating parasite antigens in canine dirofilariasis by counterimmunoelectrophoresis, 1984, The American journal of tropical medicine and hygiene, 33(3), 425-430
- 180. Weil, G. J., Malane, M. S., Powers, K. G., & Blair, L. S. (1985). *Monoclonal antibodies to parasite antigens found in the serum of Dirofilaria immitis-infected dogs. The Journal of Immunology*, *134*(2), 1185-1191
- 181. Weil, G.J., Malane, M.S., Powers, K.G., 1984. Detection of circulating parasite antigens in canine dirofilariasis by counterimmunoelectrophoresis. Am. J. Trop. Hyg. 33, 425-30.
- 182. Weiner, D. J., B. Aquire and R. Dubielzig. 1980. Ectopic site filarial infection with immunological follow up of the case. Proceeding of the heartworm symposium. pp. 51-54.



Materiale educativo creato nell'ambito del progetto finanziato dal Programma Erasmus+ Strategic Partnerships for Higher Education Programme Online courses with videos for the field of veterinary communication dealing with prevention, diagnosis and treatment of diseases transferable from animals to humans Ref. no. 2016-1-RO01-KA203-024732

GUIDA DELLE PRINCIPALI MALATTIE INFETTIVE TRASMESSE DAGLI ANIMALI NON UMANI AGLI UMANI – LA DIROFILARIOSI NEGLI UMANI E NEGLI ANIMALI

Autore principale: Liviu Miron

Co-autori:

Romania: Dumitru Acatrinei, Olimpia Iacob, Larisa Ivanescu, Lavinia Ciuca, Constantin Roman, Raluca Mindru, Andrei Lupu, Andrei Cimpan, Gabriela Martinescu, Elena Velescu, Mioara Calipsoana Matei, Doina Carmen Manciuc, Alina Manole, Doina Azoicai, Florentina-Manuela Miron, Gianina-Ana Massari, Anca Colibaba, Cintia Colibaba, Stefan Colibaba, Elza Gheorghiu, Andreea Ionel, Irina Gheorghiu, Carmen Antonita, Anais Colibaba

Croazia: Nenad Turk, Zoran Milas, Zeljana Kljecanin Franic

Lituania: Tomas Karalis, Rūta Karalienė, Virginija Jarulė, Leonora Norviliene , Donata Katinaite, Daiva Malinauskiene

Italia: Ilaria Pascucci, Ombretta Pediconi, Antonio Giordano

Lingua della pubblicazione: inglese

Editore: Biblioteca nazionale lituana / Soros International House, Vilnius (Lituania)www.sih.lt

Tipografia: EDITURA PIM, http://www.pimcopy.ro/editura



Questo progetto è stato finanziato con il sostegno della Commissione europea. Questa pubblicazione riflette solo le opinioni dell'autore e la Commissione non può essere ritenuta responsabile per qualsiasi uso che possa essere fatto delle informazioni in esso contenute.