



Resursă educațională creată în cadrul programului Erasmus+
Parteneriate strategice în domeniul universitar prin proiectul:
"Online courses with videos for the field of veterinary communication dealing with prevention,
diagnosis and treatment of diseases transferable from animals to humans"
Ref. nr. 2016-1-RO01-KA203-024732

DIROFILARIOZA

GHID AL PRINCIPALELOR BOLI PARAZITARE TRANSMISE
DE LA OM LA ANIMALE: DIROFILARIOZA



Acest proiect a fost finanțat cu sprijinul Comisiei Europene.
Această publicație reflectă numai punctul de vedere al autorului și Comisia nu este responsabilă
pentru eventuala utilizare a informațiilor pe care le conține.

Coordonator: Liviu Miron

Coautori:

Romania: Lavinia Ciuca, Dumitru Acatrinei, Olimpia Iacob, Larisa Ivanescu, Constantin Roman, Raluca Mindru, Andrei Lupu, Andrei Cimpan, Gabriela Martinescu, Elena Velescu, Mioara Calipsoana Matei, Doina Carmen Manciu, 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

Croatia: Nenad Turk, Zoran Milas, Zeljana Kljekanin Franic

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

Italia: Ilaria Pascucci, Ombretta Pediconi, Antonio Giordano

Descrierea CIP a Bibliotecii Naționale a României

Ghid al principalelor boli parazitare transmise de la animale la om : dirofilarioza / coord.: Liviu Miron. -

Iași : Editura Ion Ionescu de la Brad, 2019

Conține bibliografie

ISBN 978-973-147-312-3

I. Miron, Liviu (coord.)

616

Copyright© 2016-2019 University of Veterinary Medicine Ion Ionescu de la Brad, Iasi (Romania).
All rights reserved.

University of Veterinary Medicine Ion Ionescu de la Brad, Iasi (Romania) is the beneficiary of the 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

No part of this volume may be copied or transmitted by any means, electronic or mechanical, including photocopying, without the prior written permission of the 2016-1-RO01-KA203-024732 project partnership.

GUIDE OF MAIN INFECTIOUS DISEASES TRANSMITTED FROM NON-HUMAN ANIMALS TO HUMANS – DIROFILARIOSIS IN HUMANS AND ANIMALS

Includes: video resources and courses on study of Dirofilariosis and medical communication in 6 languages.

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

Project partnership:





CUPRINS

DIROFILARIOZA LA OM ȘI ANIMALE / 5

ETIOLOGIE / 7

DESCRIERE MORFOLOGICĂ / 8

CICLUL BIOLOGIC / 10

EPIDEMIOLOGIE / 12

PATOGENEZA DIROFILARIOZEI CARDIOVASCULARE / 18

PATOGENEZA DIROFILARIOZEI SUBCUTANATE / 22

DIROFILARIOZA SUBCUTANATĂ LA ANIMALE ȘI OM / 26

DIAGNOSTICUL DIROFILARIOZEI LA ANIMALE ȘI OM / 28

TRATAMENT SI PROFILAXIE / 33

REFERINȚE BIBLIOGRAFICE / 36

DIROFILARIOZA LA OM ȘI ANIMALE

Sub denumirea generică "dirofilarioză" se alătură toate helmintozele produse de speciile din genul *Dirofilaria* (*Spirurida: Onchocercidae*) la om și animale (Railliet & Henry, 1910). În genul *Dirofilaria* au fost descrise aproximativ 50 de specii, dar numai 27 au fost validate, împărțite în două subgenuri: *Dirofilaria* (5 specii cu afinitate cardio-vasculară) și *Nochtiella* (22 specii cu tropism subcutanat și conjunctival). Dintre speciile validate (tabelul 1) doar șase au demonstrat potențialul zoonotic (*D.immitis*, *D. repens*, *D. tenuis*, *D. ursi*, *D. striata* și *D. spectans*). Datorită frecvenței cu care au fost diagnosticate și a potențialului zoonotic, *D. immitis* și *D. repens* sunt considerate cele mai importante și sunt, prin urmare, cele mai studiate.

Tabelul 1. Speciile valabile ale genului *Dirofilaria* (Dantas-Torres, F., Otranto, D., 2013)

	Genul, Subgenul și specia	Gazda definitivă (Familiile)	Răspândirea
DIROFILARIA	<i>D. ailure</i> (Ryjikov and Románova, 1961)	Procyonidae	China
	<i>D. freitasi</i> (Machado de Mendonca, 1949)	Bradypodidae	Brazilia
	<i>D. immitis</i> (Leidy, 1856)	Canidae, Felidae, Hominidae, și multe altele	Cosmopolitan
	<i>D. lutrae</i> (Orihel, 1965)	Mustelidae	SUA
	<i>D. lutrae</i> (Orihel, 1965)	Hominidae (single case), Mustelidae	Brazilia
NOCHTIELLA	<i>D. acutiuscula</i> (Molin, 1858)	Canidae, Caviidae, Felidae, Tayassuidae	America de Sud, SUA
	<i>D. bonnie</i> (Vogel and Vogelsang, 1930)	Muridae	Java
	<i>D. cancrivori</i> (Eberhard, 1978)	Procyonidae	Guiana
	<i>D. corynodes</i> (Linstow, 1899)	Cercopithecidae	Africa, Tailanda
	<i>D. genettae</i> (Baylis, 1928)	Felidae, Viverridae	Nigeria
	<i>D. granulosa</i> (Linstow, 1906)	Felidae	Africa, Asia
	<i>D. incrassata</i> (Molin, 1858)	Bradypodidae, Procyonidae	Brazilia și America
	<i>D. linstowi</i> (Dissanaike, 1972)	Cercopithecidae	Sri Lanka

D. macacae (Sandground, 1933)	Cercopithecidae	Indochina
D. macrodemos (Eberhard, 1978)	Bradypodidae	Guiana, Panama
D. magnilarvata (Price, 1959)	Cercopithecidae, Hominidae, Hylobatidae	Malaya
D. minor (Sandground, 1933)	Felidae	Vietnam
D. pagumae (Sandground, 1933)	Viverridae	Indochina
D. panamensis (Eberhard, 1978)	Bradypodidae	Panama
D. repens (Railliet and Henry, 1911)	Canidae, Felidae, Hominidae, Viverridae	Europa, Asia, Africa
D. sachsi (Shoho, 1974)	Bovidae	Africa de Est
D. striata (Molin, 1858)	Canidae, Felidae, Hominidae (single case), Tayassuidae	Brazilia, Venezuela, SUA
D. subdermata (Mönnig, 1924)	Erethizontidae	America de Nord, Africa de Sud
D. sudanensis (Linstow in Schipley 1902)	Felidae, Hyaenidae	Sudan
D. tawila (Khalil, 1932)	Cercopithecidae	Africa
D. tenuis (Chandler, 1942)	Hominidae, Procyonidae	America de Nord
D. ursi (Yamaguti, 1941)	Felidae Ursidae Hominidae	Asia, America de Nord

ETIOLOGIE

Parazitul *Dirofilaria repens* a fost descris pentru prima dată, pentru medicina veterinară în anul 1910, în Italia, de către Bonvicini, la un câine din orașul Bologna. Mai târziu, în perioada anului 1911 a fost studiat și în Franța de Railliet și Henry.

Prima referire la specia *D. immitis* a fost realizată de către nobilul Francesco Birago în secolul 17 când acesta a identificat în cordul câinelui său de vânătoare filarii pe care le-a descris eronat ca fiind specia *Dyoctophyma renale*.

În 1937, Faust a propus clasificarea genului *Dirofilaria* în subgenul *Dirofilaria* cu afinitate pentru sistemul cardiovascular (*Dirofilaria immitis*) și subgenul *Nochtiella* cu predilecție în țesutul conjunctiv subcutanat (*Dirofilaria repens*). În prezent sunt cei mai studiați paraziți ai câinilor: *D. immitis* (Leidy, 1856) și *D. repens* (Railliet and Henry, 1911) (*Spirurida Onchocercidae*) ce determină filarioza cardiopulmonară și subcutanată, fiind caracterizați prin circularea microfilariei în sânge și priviți ca agenți zoonotici (Otranto et al., 2013).

Studii recente demonstrează prezența în interiorul parazitului a unui endosimbiont, *Wolbachia pipientis*, bacterie gram negativă, aparținând Ordinului *Rickettsiales*, care se aseamănă cu alte bacterii ale aceluiași ordin (*Ehrlichia spp.*, *Anaplasma spp.*); această bacterie deține un rol important în embriogeneza parazitului, precum și în declanșarea reacțiilor imunologice.

Studierea acestui endosimbiont relevă o cunoaștere mai bună a biologiei parazitului și a mecanismelor patologice determinate de aceste filarii precum și aspecte importante privind tratamentul acestor filarioze (Dingman et al., 2010; Belanger et al., 2010; McHaffie et al., 2012). Prezența vectorilor în desfășurarea ciclului de viață a parazitului *Dirofilaria spp.* este determinată de schimbările climatice globale (Genchi et al, 2001; Sassnau et al, 2014).

DESCRIERE MORFOLOGICĂ

Caracteristicile morfometrice ale adulților *Dirofilaria immitis* sunt următoarele: masculii prezintă 12-18 cm lungime și 0.6-0.9 mm lățime cu extremitatea posterioară în formă de tirbușon (ESCCAP, 2012). Spiculul stâng are dimensiunea de 300-355 μm iar spiculul drept 175-226 μm (Fülleborn et al., 1912; Vogel et al., 1927).

Femelele adulte prezintă 25-30 cm lungime și 1-1.3 mm lățime.



Figura 1. Doi mascul (sus) și o femelă (jos) de *Dirofilaria immitis*

Dimensiunile microfilariei sunt: 301.77 ± 6.29 lungime medie și 6.30 ± 0.26 lățime medie. Dimensiunile maxime și minime se încadrează în următoarele intervale: 180-340 μm lungime și 5-7 μm lățime (Taylor et al., 1960).

Microfilariaele nu prezintă teacă, extremitatea anterioară este conică iar cea posterioară este dreaptă având coada ascuțită (Magnis et al., 2013).

Adulții de *Dirofilaria repens* au cuticula de culoare albă cu diferite striații longitudinale și transverse. Femelele adulte măsoară o lungime de 10-17 cm și o lățime de 4,6-6,5 mm, iar masculii măsoară o lungime de 5-7 cm lungime și o lățime de 3,7-4,5 mm. Nematodele adulte se localizează în țesuturile subcutanate și interstițiile intramusculare, din acest motiv sunt greu de depistat, iar prin migrație produc uneori un nodul subcutanat de circa 1 cm dimensiune (Genchi et al., 2011). Microfilariaele de *Dirofilaria repens* măsoară 325-375 μm lungime și 6-8 μm lățime. La examenul microscopic larvele de *Dirofilaria repens* prezintă o extremitate anterioară de formă obtuza, o extremitate caudală filiformă în formă de 'mâner de umbrelă' și se observă absența cârligului cefalic (Magnis et al., 2013). Aspectul microfilariei ambelor specii este prezentat în figura 2.



Figura 2. Primul stadiu microfilaria de *D. immitis* (stânga) și *D. repens* (dreapta) izolat din sânge canin folosind tehnica Knott. Se observă forma cozii la *D. repens* în primul stadiu larvar, asemănătoare cu un mâner de umbrelă. Microscopie Optică, 1000x

CICLUL BIOLOGIC

Ciclul de viață la *Dirofilaria sp.* cuprinde două tipuri de gazdă și se realizează între vertebrate (gazdă definitivă) și vector artropod (țânțari din familia *Culicidae*). Speciile unor genuri cum ar fi *Aedes*, *Culex*, *Culiseta*, *Mansonia*, *Ochlerotatus*, *Coquillettidia* și *Anopheles* (*Aedes aegypti*, *Ae. albopictus*, *Ae. notoscriptus*, *Culex vexans*, *Culex. uinquefasciatus*, *Culex. tritaeniorhynchus*, *Culex. erythrothorax*, *Culiseta incidens*, *Coquillettidia richiardii*, grupul *Anopheles maculipennis*) au fost găsiți ca vectori competenți pentru *Dirofilaria immitis* (Cancrini și colab., 2003, 2006, Fuehrer și colab., 2016, Loftin și colab., 2015, Smith și colab., 2013, Vezzani et al., 2005, Lai și colab., 2001, Konichi E., 1989, Yildirima și colab., 2011, și colab., 1992). Perioada dezvoltării speciilor *Dirofilaria immitis* și *D. repens* în gazda definitivă este relativ lungă (7-9 luni) în comparație cu alte nematode (McCall et al., 2008).

Primul stadiu, microfilariele (L1) sunt ingerate de către țânțari în timpul hrănirii pe gazda definitivă. În decurs de 8-10 zile (Venco et al., 2011) microfilariele ajung la stadiul larvar 2 (L2) în tubii Malpighi al tractului digestiv, urmând după trei zile dezvoltarea acestora în larve de stadiul 3 (L3). Două zile mai târziu L3 perforează extremitatea posterioară a tubilor Malpighi și migrează către aparatul bucal (trompă) unde devine larvă infectantă. Aceasta are aproximativ 1 mm lungime și ajunge până la 1.5 mm după inocularea în țesutul subcutanat al gazdei definitive (Cancrini and Kramer, 2001 ; Taylor et al., 1960 ; Manfredi et al., 2007).

Dezvoltarea microfilariei L1 până la stadiul de larvă infectantă (L3) în gazda intermediară este condiționată de temperatura mediului înconjurător și favorizată de prezența bacteriei simbiote *Wolbachia pipientis*. Procesul dezvoltării poate fi realizat în 10-14 zile la o temperatură de 27° C și 80% umiditate (Orihel, 1961). Numărul de larve infestante este limitat de recunoșterea antigenică și de mecanismele de apărare de tip umoral și celular ale vectorului (Castillo et al., 2011). Infectarea cu L3 a gazdei definitive se realizează în timpul hrănirii țânțarului care poate inocula în jur de 10 larve la o singură "masă de prânz". În țesutul conjunctiv subcutanat, țesutul adipos și țesutul muscular al gazdei definitive, larvele (L3) de *D. immitis* se dezvoltă activ timp de 70 de zile. În această perioadă au loc două

năpârliri (L4 și L5 cu lungimea de 1-2 cm) până la stadiul de preadult. Aceste stadii sunt capabile să migreze în sistemul vascular și de aici către cord și pulmoni unde se localizează și suferă maturarea finală devenind așteți pentru reproducere în decurs de 120 zile post-infecție (McCall et al., 2008 ; Manfredi et al., 2007 ;).

Dirofilaria immitis se localizează în arterele pulmonare cu predilecție la nivelul lobilor caudali, dar și în ventriculul drept, atriul drept și ocazional în vena cavă. Femelele adulte, încep să producă primul stadiu larvar (microfilariaile L1) după perioada de 6-9 luni postinfecție. Longevitatea adulților în gazdă poate fi mai mare de 7 ani iar a microfilariailor mai mare de 2 ani (Venco et al., 2011). Adulții de *D. repens* rămân în țesutul conjunctiv, cavitatea abdominală și fascia musculară ale gazdei definitive (Genchi et al., 2011). Perioada prepatentă la câine este de 6-9 luni, atunci când sunt eliberate noi microfilarii de către femela adult (Venco et al., 2011). După infestarea unei gazde, microfilariaile continuă să se regăsească în sânge timp de câteva luni până la 3 ani. Adulții pot trăi 4 ani sau chiar mai mult la locul de inoculare. *Dirofilaria repens* se poate localiza în țesutul subcutanat sub forma unor noduli și pot invada deasemenea și regiunea oculară (Paes-de-Almeida et al., 2003 ; Mircean et al., 2017). În mod accidental ambele specii de filarii se pot localiza și în alte regiuni anatomice, altele decât cele descrise mai sus (Pampiglione et al., 2000; Theis et al., 2005).

Dirofilarioza este o boală zoonotică, ce afectează omul în mod accidental, gazda definitivă cea mai importantă fiind câinele (Cancrini et al., 2001). Se cunosc în jur de 40 de specii din genul *Dirofilaria*, iar șase dintre aceste specii (*Dirofilaria immitis*, *Dirofilaria repens*, *Dirofilaria ursi*, *Dirofilaria tenuis*, *Dirofilaria striata*, *Dirofilaria spectrans*) afectează omul în calitate de gazdă accidentală (Horst, 2003). Vectorii implicați în transmiterea bolii la om sunt țânțarii din genurile: *Aedes*, *Culex*, *Anopheles*, *Armigeres* și *Mansonia* (Joseph et al., 2011).

Dacă până acum s-a demonstrat că ciclul biologic al dirofilariozei la om este incomplet (absența adulților și implicit a microfilariailor în sânge), studii recente (Sulekova et al., 2017) arată că s-au găsit microfilarii de *D. repens* într-un nodul subcutanat din regiunea iliacă, fără ca acestea să fie prezente și în circulația sanguină. De obicei, preadulții de *D. immitis* ajung într-o ramură a arterei pulmonare, iar datorită răspunsului imun aceștia sunt distruși și ocazional identificați într-un nodul pulmonar (Simon et al., 2005). Infecția cu preadulții *D. repens* poate surveni cu localizări cutanate sau oculare. Uneori, larvele infecțioase dintr-un singur inocul se pot dezvolta în rate diferite, iar simptomele parazitismului se manifestă clinic după perioade lungi. Orihel și colab. 1997 și Lupse și colab. 2015 au descris cazuri de dirofilarioză umană recurentă, probabil prin expunerea la un singur inocul.

EPIDEMIOLOGIE

Deși infestația cu *D. immitis* a fost diagnosticată, la peste 30 de specii de mamifere: carnivore sălbatice și domestice, feline domestice și sălbatice, mustelide, maimuțe, mamifere marine, rozătoare și ungulate (Otto, 1975), câinii sunt cei mai frecvent infestați cu un număr mare de paraziți (Genchi et al., 1988), fiind cel mai competent rezervor de infecție.



Figura 3. Adulți de *D. immitis* recoltați la necropsie din cordul și artera pulmonară a unui câine bătrân de 12 ani

Numeroase studii realizate până acum, au vizat identificarea speciilor de culicide implicate în transmiterea dirofilariozei. Astfel s-a demonstrat că cele mai multe specii care permit dezvoltarea filariilor *D. immitis* și *D. repens* sunt *Aedes*, *Culex* și *Anopheles* (Cancrini și Kramer (2001) și Cancrini și Gabrielli (2007)). Studii ulterioare au determinat care specii de vectori sunt preferențial atrase de speciile *D. immitis* și *D. repens*. Astfel, au fost incriminate speciile *Anopheles maculipennis*, *Aedes aegypti*, *Mansonia uniformis*, *Mansonia annulifera* și *Armigeres obturbans* și *Aedes albopictus* pentru *Dirofilaria repens*, iar speciile implicate în transmiterea filariei *D. immitis* fac parte din genurile *Culex*, *Aedes*, *Anopheles* și *Culiseta*.

Femelele de țânțari, după prânzul sangvin depun pontă sub formă de plute sau ouă solitare pe luciul de apă, pe soluri umede sau în scorburi de copaci. Larvele de țânțari preferă să se dezvolte la temperaturi sub 18°C, însă se pot adapta și la temperaturi mai mari (Cancrini et al., 1988).

Odată ingerate de către țânțar, microfiliariile sunt dependente de temperatură în procesul de dezvoltare până la stadiul larvar infectant (L3). Astfel pentru larvele (L1) este necesar să acumuleze temperatura optimă în decurs de 30 de zile pentru a ajunge la stadiul infestant, proces numit și perioadă de incubație extrinsecă (Slocombe et al., 1989; Medlock et al., 2007). Timpul necesar pentru dezvoltarea stadiilor larvare în țânțar este influențat de temperatură: 8-10 zile la 28-30°C, 11-12 zile la 24°C și 16-20 de zile la 22°C.

Temperatura minimă la care se poate desfășura procesul de creștere a larvei L3 este de 14°C (Lok and Knight, 1998; Slocombe et al., 1989; Vezzani and Carbajo, 2006; Medlock et al., 2007; Genchi et al., 2011). Luând în calcul perioada și temperatura necesare dezvoltării larvei infestante (L3), Slocombe et al. (1989) a dezvoltat un model care estimează perioada inițială și finală de transmitere a dirofilariozei precum și numărul de generații de dirofilarii.

Astfel dezvoltarea completă a larvei (L3) necesită 130 de «grade-zile». Perioada de incubație extrinsecă este denumită și "Unități de Dezvoltare a Dirofilariozei" (HDUs). O altă regulă importantă a perioadei de incubație extrinsecă este acumularea HDUs în 30 de zile consecutive, perioada maximă de supraviețuire a țânțarului. În literatura de specialitate sunt prezente foarte multe studii epidemiologice care au estimat distribuția în timp a dirofilariozei precum și numărul de generații de dirofilarii în diverse regiuni, cu ajutorul modelului predictiv descris mai sus (Slocombe et al., 1989) și cu ajutorul temperaturilor înregistrate de la stațiile meteorologice (Lok and Knight, 1998; Genchi et al., 2005, 2009, 2011; Vezzani and Carbajo, 2006; Medlock et al., 2007; Mortarino et al., 2008; Rinaldi et al., 2011; Cuervo et al., 2013b; Kartashev et al., 2014; Sassnau et al., 2014; Simón et al., 2014). Capacitatea sistemelor de informare geografică de a prezice distribuția și epidemiologia dirofilariozei în diferite zone geografice a fost deja demonstrată de datele epidemiologice empirice obținute la nivel continental (Genchi et al., 2009; and Kartashev et al., 2014), național (Medlock et al., 2007; Simón et al., 2014) și regional (Mortarino et al., 2008; Montoya-Alonso et al., 2015). Sistemele de informare geografică ar putea deveni un instrument important pentru gestionarea dirofilariozei în țările endemice și non-endemice. În dirofilarioza, relația gazdă-parazit este complexă datorită în principal capacității celor două specii de filarii *D. immitis* și *D. repens* de a infecta diferite gazde vertebrate în care filariile se dezvoltă și dau naștere unor patologii diferite precum și datorită prezenței bacteriei simbiotice *Wolbachia* atât în stadiile larvare, cât și în stadiile de adult ale ambelor specii menționate anterior. Gazdele receptive sunt expuse la ambele seturi antigenice ale nematodului și bacteriei *Wolbachia*, răspunsul indus de aceste antigene fiind în raport direct cu supraviețuirea sau moartea nematodului și procesul inflamator dezvoltat în dirofilarioză.

Din punct de vedere epidemiologic, dirofilarioza este considerată o boală parazitară emergentă a oamenilor și a animalelor. Schimbarea semnificativa și continuă în distribuția și prevalența rezervoarelor canine este raportată în întreaga lume, iar aceste schimbări modifică, la rândul lor, parametrii epidemiologici în dirofilarioza la om și pisică. Încălzirea globală influențează etapele ciclului de viață al paraziților, iar gestionarea animalelor de companie și intervenția omului în mediul înconjurător afectează vectorii și gazdele vertebrate, astfel am putea explica această creștere substanțială a numărului de infecții cu dirofilarioză.

În ciuda eforturilor menite să prevină aceasta infestație în special la câini, boala pare să se răspândească în zone considerate până acum nonendemice (Genchi et al., 2007), astfel multe țări sunt considerate acum endemice pentru dirofilarioză (Genchi et al., 2011). Cauza răspândirii dirofilariozei cardiopulmonare în Europa s-ar putea datora mai multor factori, cum ar fi încălzirea globală (Genchi et al., 2001; Sassnau et al., 2014.), prezența vectorilor, precum și a condițiilor climatice favorabile pentru dezvoltarea sa, noi specii de țânțari reprezentând vectori competenți ai filariozei (Madon et al., 2002; Cancrini et al., 2003; Roiz et al., 2007), numărul tot mai mare de câini care călătoresc cu stăpânii lor, de exemplu, în concedii, precum și un rol tot mai mare al rezervoarelor de infecție, cum ar fi șacalii și vulpile (Tolnai et al., 2014).

Dirofilarioza subcutanată este considerată o zoonoză cu o largă răspândire geografică. Prevalența acestei boli pare să fie în creștere, fiind raportată în sud-estul Europei și în Europa Centrală și de Vest, Asia și Africa (Tarello, 2010). Infestația cu *D. repens* este considerată o zoonoză emergentă în câteva țări din Europa: Franța, Italia, Ungaria, Rusia (Kramer et al., 2007; Genchi et al., 2009), rezervorul și gazda principală este reprezentată de câine. Prevalența cea mai ridicată a fost raportată la câinii din Sri Lanka 60% și Italia pe Valea râului Po 30%, Spania 9%, Grecia 22%, Serbia 49,22%, Belgrad 19,26%, Ungaria 14%, Franța 22%,.

Deși există diverse metode de diagnostic specifice și sensibile, profilaxii eficiente, dirofilarioza la câine este încă răspândită pe areale mari (McCall, et al., 2008). Parazitoza prezentă la animale și la om este detectată din ce în ce mai frecvent în țările mediteraneene (Genchi et al., 2005). Spania, Portugalia, Italia și Franța erau endemice înainte de 2001 și rămân încă în această situație. Cu toate acestea, în regiunile respective, distribuția dirofilariozei cardiopulmonare este în general raportată numai în cazuri sporadice sau nu este raportată deloc (Morchon et al., 2012). Speciile de *Dirofilaria* s-au răspândit către țările din Europa de est și nord-est, dar sunt disponibile informații epidemiologice limitate din aceste țări (Genchi et al., 2009, 2011).

Prezența infecțiilor cu *Dirofilaria spp.* la câine și la om în Peninsula Balcanică sugerează faptul că factorii ecologici, clima și abundența vectorilor favorizează dezvoltarea completă și transmiterea infecției (Tasic-Otasevic et al., 2015). Cu toate acestea, în România, prevalența și distribuția infecțiilor cu *Dirofilaria spp.* la câine sunt încă neclare. Cifrele cele mai ridicate privind prevalența variază de la 3,6% la 14% în județul Tulcea, la 3,3% în sudul, sud-vestul și sud-estul țării (Mircean et al., 2012). Un alt studiu realizat în diferite zone din România a demonstrat o seroprevalență de 23,7-35% pentru *D. immitis* (Coman et al., 2007), în timp ce informații privind *D. repens* au fost înregistrate numai în regiunile de vest (Ciocan et al., 2010, 2013) și sud (Tudor et al., 2013). Într-un studiu recent realizat de Ionica et al. (2015), seroprevalența infecției cu *D. immitis* a fost de 7,1% în partea de est și sud a României. Cea mai mare prevalență a dirofilariozei cardiovasculare a fost constatată în zona central-estică a României, cu o valoare de 60% înregistrată în apropierea graniței de nord a județului Galați, urmată de județul Vaslui (12%) și județul Iași (7,7%). Prevalența coinfecțiilor în partea de sud-est fiind de 8.8% (Ciucă et al., 2016).

Distribuția acestei boli este din ce în ce mai rapidă, definind noi regiuni endemice. Chiar dacă se cunoaște patologia dirofilariozei, aceasta va rămâne încă un subiect prioritar de cercetare în medicina veterinară datorită implicațiilor zoonotice și creșterii incidenței acestei boli la om și animale (Simón et al., 2012).

Dirofilarioza are răspândire neuniformă pe glob, fiind găsită în zonele tropicale, subtropicale și temperate. Boala este strict legată de existența concomitentă sau succesivă a gazdelor definitive și a celor intermediare în aceeași zonă. Deoarece dezvoltarea în gazda intermediară este posibilă numai în cazurile în care temperatura mediului este de peste 14°C, limitarea răspândirii este explicabilă la latitudini mai mari (Dărăbuș et al., 2006, Genchi et al., 2007, Cosoroabă et al., 2008). La câini s-au raportat în ultimii ani un număr mare de cazuri autohtone, în zone noi ale Europei, precum Germania, Slovacia, Republica Cehă, Ungaria, România, Ucraina, Rusia, Austria, Elveția, Nordul Franței și Olanda, ca o consecință a schimbărilor climatice, dar și a creșterii numărului de călătorii la animalele de companie. Câinii care trăiesc în zonele rurale sunt mult mai expuși la atacul țânțarilor. Dirofilarioza canină este întâlnită mai ales în țările din sudul Europei, deși parazitul a fost diagnosticat și în nordul Franței ca o consecință a infestației autohtone (Genchi et al., 2005, Genchi et al., 2007). Cea mai mare zonă endemică din Europa este valea râului Po din nordul Italiei, unde prevalența infecției cu *Dirofilaria spp.* este între 40 și 80 % datorată în mare parte absenței chimioprofilaxiei (Genchi et al., 2005). Efectuarea unei carantine în cazul parazitozei nu este eficientă, datorită apariției microfiliariilor în sânge în termen de 9-10 luni de la hrănirea țânțarului pe gazda definitivă.

În România, seroprevalența speciei *Dirofilaria repens* a fost raportată la 16%, iar pentru *D. immitis* o prevalență de 6% (Ilie et al., 2012). Prin teste de biologie moleculară a fost determinată prevalența pentru *D. immitis* de 2.7%, iar pentru *D. repens* de 15%. Prevalența crescută a dirofilariozei cardiovasculare poate fi consecința creșterii populației canine și a lipsei măsurilor de prevenție. În plus, valorile infestației cu *D. immitis* sunt influențate direct de densitatea populației de țânțari, de specia acestora, posibilitatea lor de înmulțire, dar și de variabilele climatice și de mediu (temperatura, umiditatea, precipitațiile, vegetația și prezența cursurilor de apă) (Madon et al, 2002; Cancrini et al., 2003; Roiz et al., 2007).

În mod cert putem afirma pe baza studiilor epidemiologice anterioare, ca în regiunile unde există dirofilarioza la câine este prezent și riscul zoonotic al acestei parazitoze (Darchenkova et al., 2009; Genchi et al., 2011; Kartashev et al., 2011; Lee et al., 2010; Simon et al., 2005). Distribuția dirofilariozei la om nu coincide cu răspândirea dirofilariozei la câine datorită lipsei de informații privind monitorizarea bolii la om și la animale. În prezent sunt raportate cazuri de dirofilarioză subcutanată la câine în regiuni unde au exista doar raportări de cazuri cu dirofilarioză pulmonară la om și invers. În distribuția curentă a dirofilariozei la om au fost raportate aproximativ 1.782 cazuri dintre care 372 au fost pacienți cu dirofilarioză pulmonară și 1.410 au fost pacienți cu dirofilarioză subcutanată/oculară (Simon et al., 2010). Dirofilarioza cardiopulmonară predomină în Statele Unite ale Americii unde au fost raportate 116 cazuri, cele mai multe au evoluat în partea de sud-est a regiunilor (Moore et al., 2005; Mumtaz et al., 2004; Theis et al., 2006; Skidmore et al., 2000). În nordul Americii cele mai multe cazuri de dirofilarioză subcutanată/oculară au fost atribuite speciei *Dirofilaria ursi* și *D. tenuis*.

Potrivit studiilor anterioare, bazinul Mediteranean este endemic pentru dirofilarioză la om (Genchi et al., 2011). Cu toate că incidența cazurilor este crescută în perioada 2000-2009 în această regiune, tabloul distribuției dirofilariozei nu este complet. Cele mai multe cazuri de dirofilarioză pulmonară au fost raportate în Spania în vestul țării, în schimb dirofilarioza subcutanată a fost raportată mai frecvent în Coasta Mediteraneană pe baza studiilor serologice (Simon et al., 2009). În Franța după perioada anilor 2000 au fost raportate 9 cazuri de dirofilarioză: 7 din acestea au fost datorate infecției cu *D. repens* și 2 datorate infecției cu *D. immitis*. Dacă în perioada 1995-2000, dirofilarioza la om era raportată sporadic în Coasta Atlantică (Guillot et al., 1998; Weill et al., 1999), în perioada 2000-2009 zona a devenit endemică pentru dirofilarioza la om (Raccurt, 1996). Dirofilarioza subcutanată produsă de *D. repens* este cea mai frecventă formă de dirofilarioză la om, în comparație cu dirofilarioza pulmonară determinată de *D. immitis* și alte dirofilarioze cu tropism pentru țesutul

subcutanat, cauzate de alte specii de *Dirofilaria* (*D. tenuis*, *D. ursi*). Italia este țara cea mai afectată, unde s-au înregistrat 200 de cazuri de dirofilarioză subcutanată umană, urmată de Sri Lanka și zona balcanică (Pampiglione, Rivasi, Angeli et al., 2001).

Până în anul 1999 majoritatea cazurilor de dirofilarioză la om erau raportate din regiunile bazinului Mediteranean (Italia, Franța, Grecia, Spania) (Pampiglione et al., 2000), această zonă fiind endemică pentru *Dirofilaria spp.* și foarte puține cazuri de dirofilarioză subcutanată, au fost raportate în Germania, Olanda, Statele Unite și Norvegia (Muro et al., 1999). Potrivit studiilor recente din ultima decadă incidența cazurilor de infestație cu *Dirofilaria spp.* a crescut în bazinul Mediteranean (Franța - 9 cazuri; Grecia - 8 cazuri; Italia - 35 cazuri) și au fost raportate cazuri noi de dirofilarioză din alte șapte regiuni (Bulgaria, Dubai, Georgia, Kazakhstan, Kenya, Iran, Israel) considerate non-endemice (Simon et al., 2012).

În Europa, dirofilarioza felină a fost descoperită în nordul Italiei, unde Kramer și Genchi au raportat o rată de prevalență de 7 până la 27% în regiunea hiperendemică din Valea raului Po. În Insulele Canare, două studii seroepidemiologice au arătat o creștere a prevalenței de dirofilarioza felina de la 18,3% la 33% între 2004 și 2011. În Statele Unite, dirofilarioza felină a fost raportată în 29 de state, cu rate ale prevalenței de la 3% la 19%, prevalența cea mai mare fiind înregistrată în zonele endemice pentru dirofilarioză la câine. Diverse studii au arătat că dirofilarioza felină este prezentă în alte țări, cum ar fi: Australia, Sierra Leone, Armenia, China, Filipine, Malaezia, Tahiti și Papua Noua Guinee. Carnivorele sălbatice (*Canis lupus*, *C. latrans*, *C. aureus*, *Vulpes vulpes*) sunt frecvent diagnosticate cu *D. immitis*: în USA cu prevalență de 21-42% la coioți (Nagaki et al., 2000; Nelson et al., 2003) și în California cu o prevalență de 58-100% la vulpi (Roemer et al., 2000).

În Europa, prevalența dirofilariozei la vulpile roșii (*V. vulpis*) din regiunile Spania, Italia și Bulgaria arată un interval cuprins între 0,4%-12% (C. Genchi, 2005, Gortazar et al., 1994, 1998; Magi et al., 2007), iar la lupi (*C. lupus*) o prevalență de 2,1%. (Segovia et al., 2001). Pe teritoriul Bulgariei, dirofilarioza a fost depistată la șacali (*C. aureus*) cu o prevalență de 8,9% (Kirkova, et al., 2007). Studiile realizate, relevă o microfilaremie mică a acestor gazde, metoda depistării fiind cea serologică sau chiar examenul post-mortem. În general, portajul dirofilariilor la vulpi este scăzut, deseori paraziții sunt de același gen, prin urmare, riscul de a reprezenta un rezervor de infecție este foarte mic (McCall et al., 2008). În schimb, studii realizate în California, USA, prezintă coioții ca fiind un rezervor activ de dirofilarii, datorită numărului mare de microfilarii din sange și adulților prezenți în cord (Garcia and Voigt, 1989).

PATOGENEZA DIROFILARIOZEI CARDIOVASCULARE

Dirofilarioza cardiovasculară la câine și pisică este caracterizată prin leziuni inflamatorii acute și cronice, în pulmoni și în alte organe datorită prezenței adulților și a microfiliilor. *Dirofilaria immitis*, la fel ca majoritatea filariilor, are metabolismul condiționat de prezenta unui endosimbiont rickettsian intracelular ce se regăsește din abundență și în tubii lui Malpighi la țânțari (Sironi et al., 1995). *Wolbachia spp.* s-ar părea că deține un rol major în fiziologia filariilor deoarece literatura de specialitate semnalează scăderea masivă a numărului de larve în sângele periferic atunci când gazda definitivă este tratată cu tetraciline, în special cu doxiciclină, care este cea mai activă împotriva acestor rickettsii (McCall et al., 2008). Kramer și colab. (2014) arată că prin secvențarea genomului simbiotului *Wolbachia spp.* și prin compararea cu speciile *Dirofilaria* sa demonstrat că cele două entități sunt strâns legate, fiecare dintre acestea putând codifica proteine, enzime, vitamine, nucleotide pe care cealaltă nu le poate codifica. Darby (2012) a sugerat că pentru *Onchocerca ochengi* *Wolbachia* joacă rolul de mitocondrie, furnizând energia necesară pentru procesele organice și contracția musculară. Răspunsul fiziopatologic în dirofilarioza cardiovasculară, este datorat în principal prezenței paraziților *D. immitis* în arterele pulmonare. Prima leziune apare în artera pulmonară și în parenchimul pulmonului, datorită localizării adulților intravascular, se produce hipertensiunea pulmonară, care apoi netrată duce la insuficiență cardiacă congestivă. Un alt sindrom este tulburarea circulației sanguine, datorită localizării dirofilariilor în cordul drept, la nivelul valvei tricuspide. Aceste tulburări duc la hemoliză masivă și hemoglobinurie, fiind responsabile de sindromul venei cave (Ishihara et al., 1978; Kitagawa et al., 1987).

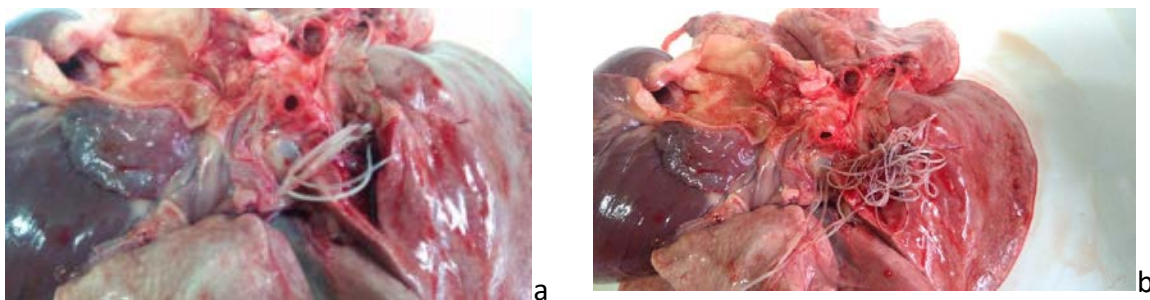


Figura 4. Un ghem de adulți de *Dirofilaria immitis* înainte (a) și după extracția mecanică (b) dintr-un nodul din traiectul ramurei drepte diafragmatice a arterei pulmonare la un câine de sex masculin în vârstă de 12 ani

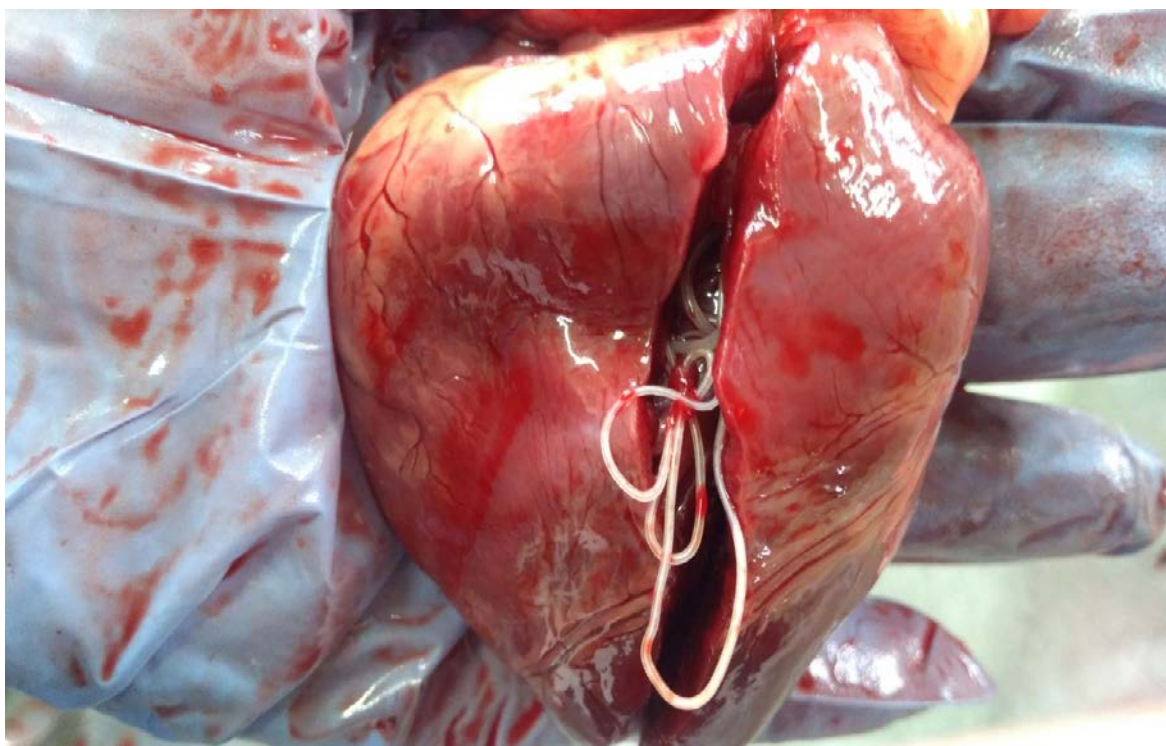


Figura 5. Adulți de *D. immitis* în cordul drept al unei inimi câine

Microfilariaele par să joace un rol patogen minor, însă pot cauza clinic pneumopatii și glomerulonefrite. Unii dintre indivizi pot dezvolta o hipersensibilitate la microfilaria, astfel acestea dispar din sângele periferic. Ocazional paraziții pot avea localizări ectopice, cum ar fi cameră anterioară a ochiului (Weiner et al., 1980). În infestațiile masive se poate produce obturarea venticulului drept și a arterei pulmonare, iar fragmentele paraziților morți precum și microfilariaele pot provoca embolii la nivelul capilarelor pulmonare și arterelor coronare. Microfilariaele pot ajunge în encefal, măduva spinării, vasele oculare chiar și în camera anterioară sau posterioară a ochiului. Acțiunea toxică și antigenică este determinată de substanțele produse de paraziții adulți în artere, cordul drept, dar mai ales de tromboxanii eliberați de plachetele sanguine la contactul cu paraziți (Uchida and Saida, 2005).

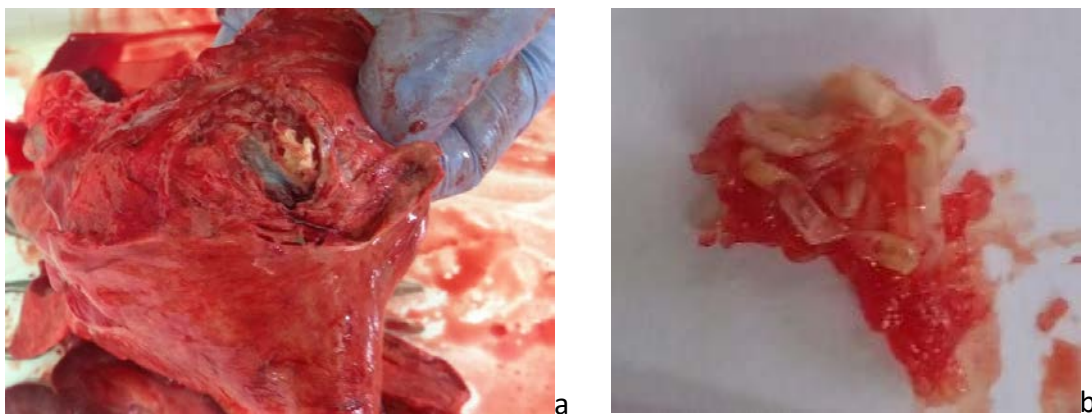


Figura 6. Nodul pe traiectul ramurei arterei pulmonare umplut cu fragmente de viermi morți de *Dirofilaria immitis* (a). Aspectul conținutului înlăturat din nodul (b).

Dirofilariile acționează mecanic prin talia lor mare și reușesc să blocheze, în special, ventriculul drept și artera pulmonară, spoliator, prin modul de hrănire hematofag ce produce anemii și iritativ. Formează embolii (aparitia și vehicularea în circulația sangvină a unor particule străine de compoziția morfochimică normală a sângelui) prin antrenarea fragmentelor de paraziți în torentul sangvin provocând astfel moartea bruscă a animalului datorită ruperii vaselor cerebrale (Kitagawa et al., 2003).

Sindromul caval reprezintă o formă clinică severă a dirofilariozei la câine. Mecanismele principale ale acestui sindrom sunt: regurgitarea tricuspidiană severă și acută, reducerea debitului cardiac și hemoliza intravasculară. În această situație, un număr mare de adulți *D. immitis* (peste 60) migrează dinspre cordul drept către marile vase. Apare brusc șocul, colaps și distrugerea globulelor roșii, de obicei fără simptome premergătoare. Moartea survine de regulă în 1-2 zile iar singurul tratament eficient este deschiderea venei jugulare și extragerea viermilor cu o pensă specială. Supraviețuirea câinelui depinde de extragerea chirurgicală a unui număr suficient de adulți astfel încât circulația sângelui să fie restabilită (Marck et al., 1998). Adulții care ajung în ventriculul drept, se localizează la nivelul aparatului tricuspidian și migrează către atricul drept. Prin simpla lor prezență la nivelul aparatului tricuspidian se produce regurgitare tricuspidiană severă, fiind agravată de hipertensiunea pulmonară preexistentă. Astfel se instalează rapid insuficiența cardiacă dreaptă cu murmur sistolic drept, hepatomegalie, splenomegalie, ascită abdominală (Wendy et al., 2007). Hipertensiunea pulmonară precum și regurgitarea tricuspidiană duc la reducerea circulației arteriale pulmonare periferice și reducerea circulației venoase pulmonare și implicit apare reducerea volumului cordului stâng cu scăderea debitului cardiac, reducerea volumului diastolic, etc (June et al., 1998).



Figura 7. Endocardita la câine datorată dirofilariozei cardiace cronice

Hemoliza intravasculară determinată de dirofilarii, rămâne încă o materie de speculație. Perturbarea celulelor endoteliale și denudarea suprafeței intimei sunt primele leziuni, care apar la câteva zile după ce paraziții ocupă vasele de sânge. Dovezile sugerează că leziunea endotelială se produce imediat ce parazitul apare, mult prea devreme pentru gazdă să dezvolte un răspuns imun.

Mai mult decât atât, dispariția celulelor endoteliale apare fără o degenerare evidentă și este urmată de o acumulare de celule și elemente structurale. Aceasta indică faptul că celulele au fost dislocate (rupte). Macrofagele, granulocitele și plachetele sunt atrase de locul unde s-a produs leziunea endotelului și aderă de suprafața subendotelială expusă. La scurt timp după sosirea acestora, celulele musculare netede ale vaselor de sânge migrează în intimă și începe un proces activ miointimal ce produce o creștere rapidă a leziunilor. Deși leziunile produc îngroșarea peretelui acestor vase elastice și imprimă o textură groasă a intimei, nu blochează fluxul sanguin prin îngustarea lumenului. Dimpotrivă distribuția arterelor mari produce dilatație, astfel hipertensiunea pulmonară devine destul de severă. Circulația sângelui pulmonar este împiedicată de reducerea patului vascular arterial determinat de o endoarterită obliterantă a vaselor periferice. În consecință, tromboza și tromboembolismul compromit circulația pulmonară (Uchida and Saida, 2005; Hitoshi et al., 2003). Hipertrofia cordului drept apare ca un răspuns compensator la încărcarea crescută a presiunii circulației sanguine.

PATOGENEZA DIROFILARIOZEI SUBCUTANATE

Patogenitatea acestui nematod la câine, este foarte puțin cunoscută, această infecție este considerată asimptomatică. Adulții localizați în țesutul conjunctiv subcutanat la câine pot cauza semne clinice dermatologice ca prurit, eritem, papule, alopecie, hipercheratoză, acantoză, eczemă sau boala poate evolua asimptomatic.

Au fost raportate și infecții severe cu reacții alergice probabil datorate microfilariei. În general, 85% din câinii infestați cu dirofilarioză subcutanată au manifestat cel puțin o leziune a țesutului subcutanat în partea dorsală a corpului, în regiunea lombo-sacrală, pe membrele posterioare, sau în regiunea perianală (Mandelli, Mantovani, 1966). Rapoartele recente indică asocierea dirofilariozei subcutanate cu alte boli, cum ar fi babesioza (100%), erlichioza granulocitară (60%) leishmanioza, cel mai frecvent în regiunea Italiei (Tarello, 2010).

TABLOUL CLINIC

DIROFILARIOZA CARDIOPULMONARĂ LA ANIMALE ȘI LA OM

În mod normal, exprimarea simptomatologiei dirofilariozei cardiovasculare apare în forma cronică. Boala poate evolua asimptomatic pe o perioadă de câteva luni sau chiar ani, apariția semnelor clinice fiind dependentă de numărul de adulți din cord, reactivitatea individuală și activitatea fizică a câinelui (leziunea pereților arterelor este direct proporțională cu activitatea fizică depusă de animal) (Dillon et al., 1995a). În mod ideal, infecția cu *D. immitis* ar trebui identificată prin testare serologică înainte de apariția semnelor clinice. Cu toate acestea, cel mai devreme, antigenemia și microfiliaremia nu apar până la 5 și, respectiv, 6,5 luni după infecție. În momentul în care câinii nu primesc tratament profilactic și nu sunt testați corespunzător, infecția nu este detectată și aceasta progresează pe măsură ce numărul adulților de *D. immitis* crește. Astfel pot apărea semne clinice cum ar fi tusea, intoleranța la exerciții fizice, apatie, dispnee, cianoză, hemoptizie, sincopă, epistaxis și ascită (insuficiență cardiacă congestivă dreaptă). Frecvența și severitatea semnelor clinice se corelează cu patologia pulmonară și nivelul activității fizice a animalelor. La câinii sedentari, semnele nu sunt adesea observate, chiar dacă numărul adulților de *D. immitis* din cord poate fi relativ mare. Câinii infectați care se confruntă cu o creștere dramatică a activității fizice, cum ar fi în timpul sezonului de vânătoare, pot prezenta semne clinice evidente. De asemenea, moartea parazitilor și tromboemboliile precipită exprimarea și agravarea

semnelor clinice (Mccall, et al., 2008). În insuficiența cardiacă congestivă dreaptă, de obicei, sunt remarcate următoarele aspecte: distensia abdomenului, acumularea de lichide a membrelor, anorexie, pierderea în greutate și deshidratarea. În acest stadiu al bolii, apar sunete de murmur cardiac pe partea dreaptă a toracelui datorită insuficienței valvei tricuspide, ritm cardiac anormal datorat fibrilației atriale. Moartea subită se întâmplă foarte rar și câinii mor, de obicei, datorită urgențelor aparatului respirator sau cahexie. Ocazional, episoadele acute pot fi observate și în timpul perioadei cronice ale evoluției bolii, astfel după moartea naturală a adulților poate apărea un tromboembolism sever, iar câinii pot prezenta dispnee acută și hemoptizie având un sfârșit letal. Pe baza evaluării numărului de adulți existenți în cordul drept, a sănătății animalului și a vârstei precum și a modului său de viață, un câine poate fi clasificat ca având un risc scăzut sau un risc ridicat pentru dezvoltarea semnelor clinice ale infecției cu *D. immitis* (Furlanello et al., 1998; Calvert et al., 1985; Venco et al., 2001).

Există, de asemenea, un sistem de clasificare mai complex în care câinii sunt clasificați de la I la IV, pe baza gravității semnelor clinice: câinii încadrați în clasa I cu o infecție ușoară; câinii încadrați în clasa II prezintă tuse; câinii încadrați în clasa III sunt grav afectați și prezintă tuse, hemoptizie, scădere ponderală, letargie, intoleranță la efort, dispnee, insuficiență cardiacă (ascită) și constatări radiografice sugestive pentru infecția cardiovasculară (artere pulmonare principale mari și arterele pulmonare lobare sunt trunchiate, artere pulmonare sinuoase și infiltrat pulmonar și limfadenopatia hilară). Câinii încadrați în clasa IV sunt cei care prezintă sindromul caval ce se caracterizează în principiu prin modificări hemodinamice (AHA, 2014). Semnele principale sunt: dispnee, murmur cardiac tricuspidal, hemoliză intravasculară acută, iar semnul considerat patognomonic pentru sindromul caval este hemoglobinuria. În această situație fără o intervenție chirurgicală pentru a elimina parazitii din cord, animalul nu va supraviețui (Atwell și Buoro, 1988; Kitagawa et al., 1986, 1987; Venco, 1993).

Câinii în vârstă de 5-7 ani prezintă un risc mai mare la o infecție cu un număr ridicat de adulți *D. immitis*, probabil datorită timpului crescut de expunere și dezvoltării bolii. Există deasemenea și alți factori care afectează evaluarea riscului infecției cu *D. immitis* precum afecțiunile cardiopulmonare sau alte boli sistemice și patologii ale altor organe. Un alt aspect important este reprezentat de gradul în care activitatea fizică realizată de animal poate fi restricționat în timpul perioadei de tratament (Venco et al., 2001).

În mod obisnuit, dirofilarioza la pisici se dezvoltă la nivel pulmonar. Din punct de vedere clinic, poate evolua acut, cronic sau asimptomatic. Pisicile infectate pot fi purtătoare

asimptomatice ale parazitului sau pot prezenta semne clinice sugestive de origine respiratorie sau digestivă. Semnele clinice sunt nespecifice, însă cel mai adesea apare voma și tusea, semne care sunt asociate cu momentul în care stadiile imature de *D. immitis* sosesc în pulmoni sau atunci când se produce moartea adulților. În acest stadiu se observă infiltrat în arterele pulmonare distale și deseori pneumonie eosinofilică (Dillon et al., 2000).

În cazurile foarte rare în care adulții *D. immitis* se află în cordul drept, la ausculție se poate înregistra un murmur cardiac sistolic datorat insuficienței valvei tricuspide și un ritm cardiac galopant (Atkins et al., 1998a). Semnele neurologice, cum ar fi ataxie, sincopă, orbire pot fi observate atunci când apare localizarea ectopică a filariilor (Atkins și colab., 1998a; Dillon și colab., 1996, 1997a, b, 1998; McCall și colab., 1994). Deși rareori observate în clinică, au fost deasemenea descrise edemul pulmonar, pneumotorax sau chilotorax în dirofilarioza la pisică (Atkins et al., 1998b; Dillon și et al., 1997b; Glaus et al., 1995; Treadwell et al., 1998).

În principiu sunt două faze cu exprimare clinică în evoluția dirofilariozei la pisică: primul stadiu în care larvele L5 de *D. immitis* ajung în arterele pulmonare și mor, iar al doilea stadiu este marcat de moartea adulților *D. immitis* (Atkins și colab., 1998a; Dillon și colab., 1995b).

În general, cele mai multe cazuri de dirofilarioză la pisică sunt nediagnosticsate. De cele mai multe ori stadiile imature ale nematodului *D. immitis* nu ajung la maturitate și mor pe măsură ce ajung în arterele pulmonare. Astfel absența adulților face imposibilă diagnosticarea infecției neavând antigenul cuticular. Moartea larvelor în arterele pulmonare induce grave modificări ale aparatului respirator motiv pentru care, boala este acum recunoscută ca fiind un sindrom pulmonar denumită boala respiratorie asociată cu dirofilarioza cardiovasculară (HARD- Heartworm Associated Respiratory Disease) (AHA, 2014).

Semnele clinice care descriu acest sindrom respirator asociat sunt următoarele: anorexia, ritm cardiac rapid, dificultate în respirație, letargie, vomă, tuse, colaps, convulsii, diaree, pierdere în greutate, moarte bruscă, orbire (McCall et al., 2008). Rezultatele unor studii efectuate de Dillon (2007), Levy (2007) au demonstrat prezența leziunilor aparatului respirator produse de moartea larvelor L5 în arterele pulmonare, la pisicile la care nu s-au găsit adulți de *D. immitis*. Aceste leziuni se datorează unui răspuns inflamator vascular și parenchimos. Pisicile au macrofage specializate (macrofage intravasculare pulmonare) în paturile capilare ale pulmonului, iar activarea lor este responsabilă în mare măsură de reacția pulmonară exacerbată. Astfel, consecințele acestor reacții sunt: pulmonul nu

funcționează în parametrii normali și apariția sindromului respirator acut, care adesea este diagnosticat greșit ca astm bronșic sau bronșită alergică.

În cazurile de infecție acută în care pisicile supraviețuiesc, acestea pot să treacă la forma cronică sau să devină complet asimptomatice. În dirofilarioza cronică predomină în general, simptomele respiratorii și/sau gastro-intestinale, ceea ce duce în timp la degradarea severă a organelor interne până la apariția caheziei. Deși dihorii (*Mustela putorius furo*) sunt foarte susceptibili la infecția cu *D. immitis*, spre deosebire de câini, chiar și un număr mic de adulți poate cauza moartea acestora (Kemmerer, 1998). Adulți *D. immitis* sunt frecvent localizați în venele craniene și vena cava, precum și în arterele pulmonare și cavitățile cardiace. Simptomatologia este asemănătoare cu cea care apare la câine, însă evoluția bolii este mai rapidă. Deasemenea dihorii dezvoltă frecvent sindromul caval, așa cum este exemplificat în studiul efectuat de Supakorndej și colab., în care 1 din 7 dihori infectați au dezvoltat acest sindrom. Semne clinice includ: letargie, intoleranță la exerciții fizice, pleurezie pleurală, cianoză și dispnee. Când apare moartea bruscă, acest lucru este cauzat de embolii pulmonare.

DIROFILARIOZA SUBCUTANATĂ LA ANIMALE ȘI OM

Dirofilarioza subcutanată la câini evoluează, de obicei, asimptomatic. Manifestările clinice au fost clasificate în două sindroame clinice: dermatită nodulară multifocală, care este în general localizată pe față și dermatită prurigo popularis. De-a lungul anilor au fost realizate diverse studii care reflectă numeroase manifestări dermatologice cum ar fi: pruritul la 100% din animale, eritemul (79%), papulele (62%), alopecia focală sau multifocală (55%), hiperkeratoza (14%), noduli (12%), acantoză (5%), eczemă (3%), piodermie (3%) și edem (1%). Localizările extradermice ale adulților *D. repens* includ: conjunctivită (46%), anorexie (35%), vomă (26%), febră (25%), letargie (20%) și limfadenomegalie (10%) (417, 418). Un alt studiu recent efectuat de Mircean (2017) relevă implicația microfilariei *D. repens* în dezechilibrele renale și hepatice și prezența adulților în cavitățile abdominală și oculară. Aceste modificări și leziuni au fost atribuite atât proceselor mecanice, cât și celor imunopatologice. În consecință, sunt necesare investigații experimentale privind mecanismele patogene ale dirofilariozei subcutanate.

DIROFILARIOZA LA OM

Dirofilaria immitis se localizează în pulmon determinând noduli, cel mai adesea confundați cu neoplasme pulmonare (benigne, carcinoame, metastaze), tuberculoză sau infecții micotice (Ro et al., 1989; Awe et al., 1974). Granulomul parazitar înconjoară larva de stadiul patru (L4), ce blochează artera pulmonară determinând embolism și inflamație locală. Din punct de vedere histologic, cel mai frecvent, nodulii pulmonari se formează datorită unui infiltrat celular compus din eozinofile, neutrofile, limfocite și celule plasmatică, și de o reacție histiocitară în țesuturile ce înconjoară vasele capilare. Nodulii proveniți dintr-un infarct datorită procesului de embolie pulmonară se întâlnesc mai rar. Cele mai frecvente sunt cazurile în care nodulul pulmonar prezintă o regiune necrotică cu liza peretelui a arterei pulmonare datorită larvelor care au părăsit nodulul (Araya et al., 2007). De obicei nodulii se găsesc în pulmonul drept, frecvent în regiunile subpleurale (Muro et al., 2001). În foarte multe cazuri, nodulul pulmonar nu poate fi detectat pentru că larva a fost deja distrusă, odata cu trecerea timpului și se poate observa doar o reacție celulară (Simon et al., 2005). Dirofilarioza pulmonară evoluează asimptomatic, fără semne clinice, iar dacă apar, acestea sunt nespecifice: tuse cu durere în zona toracică, febră, dispnee. În general dirofilarioza

pulmonară evoluează prin apariția de nodul solitar, bine delimitat cu formă sferică sau ovoidă, densitate omogenă și profil benign (Muro et al., 2001). Deasemenea au fost raportate și cazuri de dirofilarioză pulmonară cu prezența a mai multor noduli pulmonari, cu maximum cinci noduli parazitari la același individ (Kochar et al., 1985). Studii anterioare au raportat intervale diferite de timp în ceea ce privește formarea nodulului pulmonar, intervalul fiind cuprins între 2-3 luni până la 8 luni (Kahn et al., 1983; Navarrete et al., 1972).

Dirofilaria repens determină dirofilarioza subcutanată la om cu prezența de noduli în țesutul subcutanat, profund în derm sau în submucoasă. Noduli subcutanați au o consistență fermă, elastică și sunt asociați cu eritem (Pampiglione et al., 2007). Forma adultă sau pre-adultă a speciei *Dirofilaria repens* crește în interiorul nodulului subcutanat în decurs de câteva săptămâni sau luni (Kramer et al., 2007). Foarte puține cazuri au fost raportate cu localizarea agentului patogen în țesutul muscular, în lomfonoduli sau în viscere (Pampiglione et al., 1996c; Gros et al., 1996). În schimb majoritatea raportărilor de dirofilarioză subcutanată au fost cu localizări în regiunea oculară (74%) (pleoape, subconjunctivă, regiunea orbitală) și în regiunea membrelor superioare (11%) (Pampiglione et al., 2000; Genchi et al., 2011). Evoluția clinică poate fi severă la pacienții cu dirofilarioză oculară și pot apărea simptome ce includ: tulburări de vedere sau chiar pierderea vederii (Genchi et al., 2011). Studii epidemiologice au arătat că 10% dintre pacienții cu dirofilarioză oculară prezintă o serie de complicații secundare precum: detașare de retină, glaucom și tulburări ale acuității vizuale (Avdiukhina et al., 1996); complicații secundare ca urmare a extracției chirurgicale în regiunea nervului optic (Korkhov et al., 2009); complicații secundare ca urmare a localizării agentului patogen în zona orbitară: ptoză palpebrală (Stringfellow et al., 2002).

În Sri Lanka au fost raportate o serie de cazuri cu localizări neobișnuite ale agentului *Dirofilaria repens* cum ar fi în regiunea genitală masculină (scrotum, epididim, penis) la copii în vârstă de 5 ani (Dissanaike et al., 1997); alte localizări anterioare ale speciei *D. repens* au fost raportate de către Hoop et al., (1997) la un pacient cu un granulom în glanda parotidă, în submucoasa cavității orale și la baza rădăcinii unui dinte de către Avdiukhina et al., (1997), în glanda mamară la femeie de către (Genchi et al., 2011)

DIAGNOSTICUL DIROFILARIOZEI LA ANIMALE ȘI OM

DIAGNOSTIC PARACLINIC

În condiții optime, ciclul de viață durează 184-270 de zile (fig. 1.8), astfel încât gazda definitivă, câinele poate deveni microfilaremic în aproximativ 7-9 luni de la infecție. Nu toți câinii infectați devin microfilaremici (în infestații unisex, în cazul administrării de medicamente ce induc sterilitate femelelor de *Dirofilaria immitis*, în situațiile individuale de apariție a unor reacții imuno-mediate ce conduc la moartea microfilarilor) (McCall JW, et al., 2008).

Diagnosticul de dirofilarioză este bazat pe prezența microfilarilor circulante și/sau a antigenilor circulanți proveniți de la femele adulte. Nu toate microfiliariile găsite în sângele câinilor sunt *Dirofilaria immitis* (*Acantocheilonema reconditum*, *Dirofilaria repens*, *Dipetalonema dracunculoides* și, extrem de rar, *Dipetalonema grassii*). Adulții de *Dirofilaria immitis* trăiesc între 5-7 ani. Microfiliariile transmise transplacentar sau prin hemotransfuzie sunt incapabile să se dezvolte în adulți (Castillo JC., et al., 2011).

Testul de depistare a antigenilor a fost descris pentru prima dată la începutul anilor optzeci. Weil et al (1984) a prezentat detectarea antigenilor de *D. immitis* adulți prin contraimmunoelectroforeză (CIE). Ulterior, autorii au descris testul ELISA bazat pe anticorpi monoclonali (Weil et al., 1985). Ambele tehnici au fost caracterizate prin specificitate și sensibilitate ridicate față de detectarea microfilarilor circulante. De asemenea, testul de depistare a antigenilor a fost în măsură să evalueze gradul de infestare. Într-adevăr, Brunner et al. (1988) a arătat că sensibilitatea testelor nu a fost afectată de prezența microfilarilor circulante de *D. immitis*, dar a fost influențată în mare măsură de numărul mare de adulți *D. immitis*. Testele care prezintă rezultate fals negative pot fi datorate prezenței numai a viermilor masculi sau femele (infecțiile unisex sunt extrem de rare la câini; Rishniw et al., 2012), eliminării cu ajutorul mecanismelor sistemului imunitar sau al utilizării de lactone macrociclice (LM; Rawlings et al., 1982). Testele de depistare a antigenilor, care pot fi efectuate pe sânge integral, plasmă sau ser, pot avea rezultate fals negative și din cauza complexelor antigen-anticorp care inhibă testele de imunodozare pentru a identifica antigenii și a dezvolta reacția colorimetrică ulterioară (Tonelli et al., 1989). Recent, s-a constatat că utilizarea pe termen lung de lactone macrociclice cu administrare lunară la

câinii infectați (așa-numita „ucidere lentă”) poate cauza, de asemenea, rezultate fals negative ale testelor pentru depistarea antigenilor, probabil datorită unei reacții intense a anticorpilor la antigenii eliberați de aduții *Dirofilaria immitis* care mor (Drake et al., 2015).

Interesant este că majoritatea testelor de depistare a dirofilariozei au utilizat o metodă de recuperare a antigenilor pentru a reduce la minimum efectele complexării imune asupra performanței testului (Little et al., 2014). Deasemenea, a fost raportată utilizarea de substanțe chimice (de exemplu, tratament cu pepsină și acid) pentru eliminarea inhibitorilor de detectare a antigenilor (Rodríguez-Iglesias et al., 1992).

S-a afirmat că tratarea prealabilă a probelor de ser cu căldură înainte de testarea pentru depistarea antigenilor este în măsură să inverseze rezultatele fals negative datorită complexelor antigen-anticorp la gazdele infectate cu *D. immitis*, atât în mod experimental, cât și natural (Little et al., 2014a; Little et al., 2014b; Velasquez et al., 2014, Ciuca et al., 2016). Astfel, tratamentul termic perturbă complexele antigen-anticorp și eliberează antigen care ulterior devine disponibil pentru detectare. Acest lucru poate avea consecințe importante pentru diagnosticarea bolii clinice, dar și pentru studii epidemiologice, în special în zonele în care prevalența infecției nu este bine cunoscută.

Diagnosticarea infecției cu *D. repens* se bazează pe prezența microfiliariilor circulante sau pe observarea paraziților în nodulii subcutanați, întrucât momentan nu sunt disponibile teste de depistare a antigenilor pentru diagnosticarea serologică.

Speciile *D. immitis* și *D. repens* pot fi de asemenea identificate prin colorarea histochimică a regiunilor anatomice cu activitate fosfatazică (84, 338) și prin amplificarea ADN-ului microfiliariilor prin metoda PCR (130, 131). Microfiliariile *D. immitis* prezintă două zone de activitate a fosfatazei în apropierea porilor anali și excretori, în timp ce microfiliariile de *D. repens* au numai o zonă de activitate fosfatazică lângă porii anali. Recent, a fost descrisă o metodă de PCR duplex real-time capabilă să detecteze și să diferențieze cele două filarii precum și metoda multiplex PCR pentru detectarea simultană a filariilor la câine.

Au existat mai multe studii publicate privind prevalența infecției cu *D. immitis* și *D. repens* la câinii care locuiesc în zonele endemice pentru ambii paraziți (Pantchev et al., 2009, 2011; Demiaszkiewicz et al., 2014; Ionică et al., 2015). Metoda Knott, alături de testul de detectare a antigenilor și tehnica PCR, au fost utilizate pentru a stabili starea de monoinfecție sau coinfectie a gazdelor definitive. Cu toate acestea, mulți câini la care testul de depistare a antigenilor a avut rezultat negativ, fie că erau sau nu infectați cu microfiliarii, au fost

considerați fie neinfecțati, fie infecțati numai cu *D. repens*, la confirmarea prin metoda PCR. Niciunul dintre aceste studii nu a supus probele de ser tratamentului termic, subestimând probabil prevalența reală.

DIAGNOSTICUL CLINIC IN DIROFILARIOZA LA ANIMALE

Evaluarea prin radiografie toracică, ecocardiografie și electrocardiografie, oferă o perspectivă asupra stării clinice a fiecărui pacient cu dirofilarioză cardiopulmonară. Radiografiile toracice identifică mărirea în volum a arterelor pulmonare, modificări ale parenchimului pulmonar și cardiomegalie dreaptă în stadiile avansate ale bolii. Această tehnică nu poate fi utilizată pentru evaluarea încărcăturii parazitare.

Ecocardiografia este un examen care permite vizualizarea adulților în camerele cardiace drepte, vena cavă caudală, artera pulmonară principală și tractul proximal al ambelor artere pulmonare caudale. Adulți pot fi identificați ca fiind scurți, dubli, liniari, plutind în camera cardiacă dreaptă sau în lumenul vaselor (Moise, 1988; 276). Ecografia cardiacă oferă deasemenea informații despre încărcătura parazitara a cordului și stadiul bolii, factori importanți pentru stabilirea terapiei adecvate. Un aspect important de precizat este că ecografia cardiacă trebuie luată în considerare în cazurile în care caracteristicile clinice și imagistice sugerează o infecție severă.

Ecocardiografia Doppler poate determina cu precizie prezența și severitatea hipertensiunii pulmonare. Electrocardiograma este un examen util în care se pot identifica anomalii ale activității electrice a cordului (deviația dreaptă a axei electrice, fibrilația atrială), însă de obicei sunt găsite în ultima etapă severă a bolii (Mccall et al., 2008).

În dirofilarioza cardiopulmonară felină, profilul radiologic poate fi normal, în ciuda prezenței infecției. Deasemenea infecțiile produse de un singur adult pot determina modificări care nu sunt vizibile prin radiografie, ducând la un diagnostic eronat. Studii pe animale experimentale au arătat că după 6 luni de la inocularea cu larve infectante, modificările radiologice pulmonare sugestive în dirofilarioza cardiopulmonară la pisică presupun prezența unei zone mari de radiopacitate în parenchimul pulmonar, torsiunea arterelor pulmonare caudale și apariția pneumoniei interstițiale.

DIAGNOSTICUL ÎN DIROFILARIOZĂ LA OM

În cazul apariției nodulilor subcutanați sau localizării oculare, pacientul este primul cel care descoperă infestația cu dirofilarii și solicită un examen medical. În schimb, nodulii pulmonari sunt localizați profund, cel mai frecvent fără exprimare clinică, iar la examenul radiologic pot

fi surprinse uneori doar fragmente din nodulii pulmonari în mod accidental. De obicei, examenul radiologic recomandat de medic nu are ca scop excluderea sau confirmarea dirofilariozei din patologia pacientului ci o suspiciune de leziune malignă (Simon F., et al., 2007).

Pentru efectuarea unui diagnostic corect trebuie respectate două proceduri esențiale pentru confirmarea dirofilariozei: colectarea probelor adecvată și identificarea corectă a agentului patogen (McDaugall, et al., 1992). În absența microfiliilor din sânge, identificarea agentului patogen se realizează prin biopsie cu ajutorul căreia putem confirma prezența parazitului în nodul (Cancrini et al., 1991). Este o procedură invazivă cu un potențial ridicat de complicații iatrogene mai ales în cazul nodulilor pulmonari. Identificarea agentului patogen din biopsia unui nodul pulmonar poate fi dificilă datorită descompunerii treptate a parazitului. Identificarea acestuia devine dificilă datorită asemănărilor morfologice ale cuticulei a mai multor specii de paraziți. De exemplu caracteristicile de identificare a filariilor includ: numărul și dimensiunile creștelor cuticulei, distanța și așezarea acestora pe cuticula. Toate aceste caractere asemănătoare multor specii de filarii împiedică identificarea corectă a speciei (Orihel et al., 1998). Potrivit studiilor realizate de acest autor, toate speciile din genul *Dirofilaria*, în special cele care infestază oamenii, prezintă crește la nivelul cuticulei cu excepția speciilor *Dirofilaria immitis* și *D. lutrae* care au cuticula netedă. Până acum nu sunt informații despre infestarea oamenilor cu această specie, însă stadiul inițial al *D. immitis* se localizează în țesutul subcutanat (Moorhouse et al., 1978).

Sunt utilizate tehnici moleculare și imunologice ca metode complementare sau alternative în diagnosticul dirofilariozei. În cazurile în care paraziții prezintă modificări datorită reacției imunitare a gazdei și nu pot fi identificați pe baza morfologiei, se utilizează identificarea prin PCR a speciilor de *Dirofilaria*, test extrem de sensibil și specific chiar și în cazul unor cantități mici de ADN (Eccher, et al., 2008). Imunohistochimia este o altă metodă de diagnostic în care punem în evidență *Wolbachia* în noduli (Simon et al., 2007). Un alt examen complementar metodei invazive este serologia - ELISA. Chiar dacă infestația se realizează cu un număr mic de paraziți, gazda dezvoltă un răspuns imun puternic. Astfel sunt utilizate diferite complexe antigenice pentru identificarea anticorpilor anti- *Dirofilaria* spp. (Montoya et al., 2010).

Serologia reprezintă o tehnică complementară metodelor noninvazive în diagnosticul dirofilariozei pulmonare la om. S-au utilizat diferite complexe de antigene pentru a detecta anticorpi specifici dirofilariozei umane (Santamaria et al., 1995; Simon et al., 1991). Sensibilitatea testării serologice a pacienților cu dirofilarioză este crescută datorită utilizării

diferiților epitopi rezultați din secvențierea polipeptidelor din complexe antigenice cu specificitate pentru *Dirofilaria immitis* și *D. repens*.

Astfel au fost identificate și caracterizate proteine cu greutate moleculară (Di 35, a 35-k Da) de diverși autori (Philipp et al., 1986). Acestea au fost deja clonate și utilizate ca proteine recombinante prin tehnica ELISA demonstrând astfel o sensibilitate și specificitate crescute în diagnosticul dirofilariozei la om (Sun et al., 1992). Cu ajutorul metodei Western Blott au fost utilizați cu succes markeri proteici în diagnosticul specific dirofilariozei pulmonare. Pe placa ELISA aceste proteine prezintă 100% sensibilitate și 90% specificitate, cu valori pozitive de 75% respectiv 100% pentru cele negative (Perera et al., 1998). Astfel testarea serologică trebuie să fie suplimentată cu alte examene paraclinice precum: examen radiologic, date despre istoricul medical și zona de rezidență înainte de utilizarea metodelor invazive în diagnosticul dirofilariozei pulmonare la om (Muro et al., 1999). Deasemenea s-au identificat polipeptide cu greutate moleculară cuprinse în intervalul 26-40 kDa specifice pentru *Dirofilaria repens* (Simon et al., 1997).

În concluzie ținând cont de rezultatele obținute în literatura de specialitate, corelarea serologică utilizând metode ca ELISA și Western Blott cu alte metode invazive și noninvazive reprezintă principala acțiune în supravegherea diagnosticului în dirofilarioza la om (Simon et al., 2012). Dificultățile în realizarea testării serologice a probelor de ser luate în studiu pot fi datorate interferării antigenelor speciilor *Dirofilaria* cu alți helminți ai omului precum: *Toxocara canis* (larva migrans), *Ascaris suum*, *Echinococcus granulosus*, însă aceste obstacole pot fi depășite prin alegerea unor markeri proteici cu specificitate și tratarea serului cu antigeni specifici helminților. Diagnosticul dirofilariozei la om reprezintă încă un subiect vast de cercetare având în vedere lipsa crescută de cunoaștere a bolii de către majoritatea oamenilor din zonele urbane și rurale. Numărul aparent mic de cazuri identificat în literatura de specialitate prin studii serologice, trebuie reevaluat datorită infecțiilor oculte a bolii și a dificultăților de diagnosticare (Genchi et al., 2005).

TRATAMENT ȘI PROFILAXIE

Tratamentul în dirofilarioza cardiopulmonară este complex și dificil de instituit în condițiile în care substanțele adulticide pot provoca tromboembolii și moartea pacientului. În concluzie schema de terapie trebuie utilizată în funcție de starea de sănătate a animalului, stadiul și încărcătura parazitară cu adulții *D. immitis*, precum și asocierea cu alte boli concurente.

În principiu tratamentul vizează eliminarea microfiliariilor din sânge și întreruperea dezvoltării stadiilor larvare în adulți și eliminarea adulților preexistenți.

Evaluarea pentru tratamentul adulticid și riscul de tromboembolie trebuie realizat individual, pentru fiecare animal infectat. Dacă până acum boala a avut o clasificare de 4 stadii de evoluție (Di Sacco and Vezzoni, 1992), acum încadrarea s-a redus la două categorii de evoluție: ușoară (risc redus de tromboembolism) și severă (risc ridicat de tromboembolism).

Pentru încadrarea pacientului în clasa corespunzătoare, medicul trebuie să aibă în vedere următoarele: încărcătura parazitară (numărul adulților prezenți în arterele pulmonare și în cordul drept), talia și vârsta animalului (câinii cu vârste cuprinse între 5-7 ani prezintă riscul de a avea un număr foarte mare de adulți (Venco et al., 2004), modificările pulmonare și gradul de restricție a activității de mișcare.

Câinii încadrați în clasa cu risc redus de tromboembolism prezintă: un număr mic de adulți, fără semne clinice, profil radiologic normal, ecografia cardiacă nu relevă prezența adulților în cordul drept, titru scăzut de antigene circulante sau testul de antigen negativ dar cu prezența microfiliariilor în sange, absența asocierii de boli concurente și disponibilitatea de restricție a activității fizice (implicarea proprietarului).

Câinii încadrați în clasa cu risc ridicat de tromboembolism prezintă: încărcătură mare de adulți, semne clinice specifice bolii (tuse, distensia abdomenului), vizualizarea adulților în cordul drept la ecografia cardiacă, modificări severe pulmonare, titru ridicat de antigene circulante, prezența altor boli concurente, absența disponibilității de restricție a activității fizice (absența implicării proprietarului) (Venco et al., 2011, Maccal et al., 2008).

Terapia de suport are rolul de a reduce și controla inflamațiile pulmonare, edemul pulmonar și de a reduce complicațiile rezultate în urma terapiei cu adulticide (Dillon et al., 1995). Astfel este recomandat utilizarea corticosteroizilor (prednisolon 1-2 mg/kg timp de 4-5 zile), diuretice (furosemid 1mg/kg), iar digoxinul se poate utiliza doar când există fibrilație atrială.

TERAPIA ADULTICIDĂ

Singura substanță aprobată și recomandată de către AHA (American Heartworm Society) este melarsomina care se utilizează în doză de 2.5 mg/kg, două doze la interval de 24 de ore. Recent, recomandarea AHA, (2005) propune terapia cu melarsomine în două faze pentru a reduce riscul la tromboembolism pulmonar care constă în administrarea injectabilă, intramuscular, a două doze la interval de 24 ore, urmată de a III-a doză la interval de 30 de zile. Această schemă de tratament presupune eliminarea inițială a 90% din masculi adulți și 10% din femelele adulte, ajungându-se la reducerea cu 50% din numărul total al adulților. Cea de a III-a doză elimină restul de adulți rămași, astfel încât se reduce riscul de tromboembolism și șoc atunci când moartea adulților se realizează treptat (AHA, 2012). În general terapia cu tratament adulticid determină tromboembolism pulmonar, mai ales dacă încărcătura parazitară este mare. Tromboembolismul pulmonar se poate controla prin restricție la mișcare cel puțin o lună după terapia adulticidă, administrarea de heparină și corticosteroizi pentru a reduce inflamațiile pulmonare și de a evita șocul respirator sever datorat eliminării adulților (Venco et al., 1998).

Numeroase studii propun terapia cu lactone macrociclice (ivermectină), care s-au dovedit a fi parțial adulticide atunci când se utilizează în doze de 6-12 mcg/kg în fiecare lună timp de 16 luni sau chiar 30 de luni cu o eficacitate de 100% (Mccall et al., 2001). În contrast, alte studii demonstrează înrăutățirea stării de sănătate a animalului, atunci când eliminarea adulților se realizează lent și într-o perioadă lungă de timp (Venco et al., 2004).

Extragerea chirurgicală se recomandă la câinii cu o încărcătură mare parazitară, fiind singura metodă sigură de eliminare a adulților, fără risc de tromboembolism pulmonar (Morini et al., 1998). Utilizarea extragerii chirurgicale a adulților *D. immitis* se realizează cu un Forceps Alligator Flexibil (Fuji Photo Optical LTD, Japan) care se introduce în vena jugulară ghidat prin fluoroscopie (Ishihara et al., 1990).

În cazul pisicilor cu dirofilarioză cardiopulmonară, terapia constă în administrarea medicației de susținere cu corticosteroizi pentru a controla modificările pulmonare. Conform unor studii, deseori, pisicile se pot vindeca spontan, dovada fiind regresia semnelor pulmonare din punct de vedere imagistic și rezultatele negative la testele de antigen.

Se recomandă o doză zilnică de prednison care începe cu 1 până la 2 mg/kg pe greutate corporală la fiecare 12 până la 24 de ore, scăzând treptat până la 0,5 mg/kg la fiecare 2 zile timp de 2 săptămâni, urmată de observare fără tratament timp de încă 2 săptămâni.

Riscurile terapiei adulticide și severitatea infecției mai ales la câine, face ca profilaxia să joace un rol foarte important. Studii efectuate au demonstrat eficacitatea și siguranța administrării lactonelor macrociclice cum ar fi ivermectina, milbemicinoxima, moxidectina sau selamectina în profilaxia dirofilariozei la câine. American Heartworm Society recomandă testarea animalelor pentru identificarea antigenului *D. immitis*, înainte de administrarea substanțelor profilactice pentru a evita riscul de tromboembolism pulmonar, atunci când dozele sunt necorespunzătoare cu stadiul infecției. De asemenea sunt recomandate testările pentru antigenul *D. immitis* în fiecare an, iar chimioprofilaxia în zonele endemice, poate fi inițiată începând de la vârsta de 8 săptămâni, cu o lună înainte de începerea activității vectorului și o lună după încheierea activității acestora (Rubin et al., 2010).

Administrarea de doxiciclină (10mg/kg) pe o perioadă de 4-6 săptămâni, zilnic, urmată de administrarea de lactone macrociclice în dozele uzuale pentru terapia microfilaricidă duc la sterilizarea femelelor și amicrofiliemie, prevenția reinfectărilor și uciderea lentă a adulților. Moartea adulților, neurmată de efluxul endosimbionților este caracterizată de risc scăzut de tromboembolie și inflamație (Kramer et al. 2014).

Prevenirea infecțiilor cu *D. repens* cu lactone macrociclice este discutabilă și, până în prezent, moxidectină cu eliberare continuă pare să fie eficientă, conform studiilor experimentale.

Profilaxia lunară cu lactone macrociclice este singura opțiune eficientă pentru pisicile care trăiesc în zonele endemice de dirofilarioză la câine. Dozările lunare a substanțelor profilactice sunt următoarele: 24 μg/kg greutate corporală de ivermectină, 2 mg/kg milbemicinoximă, 1 mg/kg moxidectină și 6 până la 12 mg/kg selamectină, începând cu vârsta de 8 săptămâni (Genchi et al., 2007).

Nu se recomandă medicație profilactică pentru dirofilarioză în cazul oamenilor. Cele mai importante aspecte sunt reprezentate de: realizarea unui diagnostic diferențial pentru a elimina și alte cauze care au dus la apariția nodulilor care urmează a fi înderpărtați chirurgical, evitarea intervenției chirurgicale în cazul nodulilor pulmonari.

REFERINȚE BIBLIOGRAFICE

1. American Heartworm Society, *Current canine guidelines for the prevention, diagnosis and management 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 Dirofilaria immitis antigens with Spirocercalupi in dogs with benign esophageal spirocercosis*. *Vet. Parasitol.* 211, 3-4.
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, *Meditinskaya 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- Wolbachia infection and mitochondrial diversity in the canine heartworm (Dirofilaria immitis)*. *Dec;21(6):227-33*. doi: 10.3109/19401736.2010.533765.
11. 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. 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. 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.
14. Calvert CA, Losonsky JM, *Pneumonitis associated with occult heartworm disease in dogs*, 1985, J. Am Vet Med Assoc.;186 (10):1097-8
15. 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
16. Cancrini G., Kramer L., 2001- *Insect vectors of Dirofilaria spp,” in Heartworm Infection in Humans and Animals, Simón F, Genchi C, editors.* (Salamanca: Ediciones Universidad de Salamanca), p. 63–82.
17. 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
18. 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.
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. 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.
21. Castillo JC, Reynolds SE, Eleftherianos I. 2011. *Insect immune response to nematode parasites.* Trends Parasitol. 27:537–547.
22. Castillo JC, Reynolds SE, Eleftherianos I., *Insect immune response to nematode parasites*, 2011, Trends Parasitol. 27:537–547
23. Ciocan R, Mederle N, Jacsó O, Táncoz B, Fok É, 2013. *Autochthonous cases of Dirofilaria in dogs from Timiș County (Western Part) Romania.* Global Journal of Medical Research XIII, 29-34.
24. Ciocan R., Darăbuș G., Jascó O, Fok É, 2010- *Detection of Dirofilaria spp. in dogs by PCR*, USAMV Bull 67, p. 40–44.
25. Ciucă Lavinia -2016 – *Research regarding filariosis in dog in Moldova.* PhD thesis, UASMV IASI, 160 p.
26. 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.
27. 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
28. 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
 29. Coman S., Bacescu B., Coman T., 2007- Epidemiological and paraclinical aspects in dirofilariosis in dogs. In: First European *Dirofilaria* Days Abstract: p. 25.
 30. Cosoroabă I., Lidia Chițimia, 2008- Filarioze zoonotice: *Dirofilaria* cardiovasculară, Revista Română de Medicină Veterinară, 18, 3, p.18-35
 31. Dantas-Torres, F., & Otranto, D. (2013). *Dirofilariosis in the Americas: a more virulent *Dirofilaria immitis*?* Parasites & vectors, 6(1), 288.
 32. Dărăbuș GH., Oprescu I., Morariu S., Narcisa Mederle 2006- Parazitology and parazite diseases, Ed. Mirton Timisoara.
 33. 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.
 34. Darchenkova NN, et al. 2009. *Prevalence of human dirofilariosis in Russia.* Med. Parazitol. (Mosk.) 2:3–7
 35. Demiaszkiewicz, A.W., Polańczyk, G., Osińska, B., Pyziel, A.M., Kuligowska, I., Lachowicz, J., Sikorski, A., 2014. *The prevalence and distribution of *Dirofilaria repens* in dogs in the Mazovian Province of central-eastern Poland.* Ann. Agric. Environ. Med. 21, 701-704
 36. 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
 37. Dillon A.R., *Filariosi cardiopolmonare nel gatto*, 1996, Veterinaria 2:69–74
 38. 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
 39. Dillon R., *Clinical Significance of Feline Heartworm Disease*, 1998, Veterinary Clinics, Small Animal Practice, November 1988, Volume 28, Issue 6, Pages 1547-1565
 40. 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.
 41. 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
 42. 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. Association of Wolbachia with heartworm disease in cats and dogs.
43. Dissanaïke, 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
 44. 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
 45. Eccher A, et al. 2008. *Periorbital subcutaneous tumor-like lesion due to Dirofilaria repens*. *Int. J. Surg. Pathol*. 16:101–103
 46. 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.
 47. Fülleborn, F., 1912. *Zur morphologie der Dirofilaria immitis Leydi (sic) 1856*. *Zentralbl Bakt Parasitenk* 65, 341–349.
 48. 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.
 49. 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
 50. 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.
 51. Genchi C, Rinaldi L, Cascone C, Mortarino M, Cringoli G. 2005. *Is heartworm disease really spreading in Europe?* *Vet. Parasitol*. 133:137– 148
 52. 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
 53. Genchi C., Kramer LH., Rivasi F., *Dirofilarial infection in Europe, 2011*, *Vector Borne Zoonotic Dis*, nr. 11, p. 1307–1317
 54. 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.
 55. Genchi, C., Rinaldi, L., Mortarino, M., Genchi, M., Cringoli, G., 2009. *Climate and Dirofilaria infection in Europe*. *Vet. Parasitol*. 163, 286-292.
 56. Gillis, J.M., Smith, R.,D., Todd, K.S. Jr., 1984. *Diagnostic criteria for an enzyme-linked immunosorbent assay for occult heartworm disease: standardization of the test system in naturally exposed dogs*. *Am. J. Vet. Res*. 45, 2289-2292.
 57. Gioia, G., Lecová, L., Genchi, M., Ferri, E., Genchi, C., Mortarino, M., 2010. *Highly sensitive multiplex PCR for simultaneous detection and discrimination of Dirofilaria immitis and Dirofilariarepens in canine peripheral blood*. *Vet. Parasitol*. 172, 160-163.

58. 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
59. 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
60. 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 venerologie* (Vol. 125, No. 2, pp. 105-107).
61. 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.
62. Horst Aspöck 2003. *Dirofilariae* and *dirofilarioses*: Introductory remarks. Helminthologische Colloquium 5.
63. 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
64. Imre, M., Farkas, R., Ilie, M., Imre, K., Hotea, I., Morariu, S., Morar, D., Dărăbuș, G., 2013. Seroprevalence of *Babesiacanis* infection in clinically healthy dogs from western Romania. J. Parasitol. 99, 161-163.
65. Ionică, A.M., Matei, I.A., Mircean, V., Dumitrache, M.O., D’Amico, G., Györke, 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.
66. Ishihara K, Kitagawa H, Sasaki Y. 1990. Efficacy of heartworm removal in dogs with dirofilarial hemoglobinuria using flexible alligator forceps. Jpn. J. Vet. Sci. 53:591–599
67. 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.
68. Joseph E. Matthai A., Abraham L.K., Thomas S., 2011. Subcutaneous human dirofilariosis. Parasit Dis. 35 (2), 140-143
69. Kahn FW, Wester SM, Agger WA. 1983. *Pulmonary dirofilariosis and transitional cell carcinoma. Benign lung nodules mimicking metastatic malignant neoplasms*. Arch. Intern. Med. 143:1259–1260
70. 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.
71. 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.
72. 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
73. 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
 74. 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.
 75. Kitagawa et al., H. Kitagawa, Y. Sasaki, A. Matsui, K. Ishihara, T. Uchiyama (1987). Serum haptoglobin levels in canine dirofilariosis. *Nihon Juigaku Zasshi, (The Japanese Journal of Veterinary Science)*, 49(2), 261-266.
 76. 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.
 77. Knott, J., 1939. A method for making microfilarial surveys on day blood. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.* 33, 191–196.
 78. Kochar AS., *Human pulmonary dirofilariosis. Report of three cases and brief review of the literature*, 1985, *Am. J. Clin. Pathol.* 84:19–23
 79. 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.
 80. Konishi, E. (1989). Enzyme-linked immunosorbent assay to detect antigens of *Dirofilaria immitis* (Spirurida: Filariidae) larvae in *Aedes albopictus* and *Culex tritaeniorhynchus* (Diptera: Culicidae). *Journal of medical entomology*, 26(2), 113-117.
 81. 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.
 82. Korkhov AP, Temirov NE, Nagorniy SA, Ermakova LA, Dumbadze OS, Beskrovnaia luG, Chernikova EA. *A case of the rare intraocular site of Dirofilaria spp. in man*, 2009, *Med. Parazitol. (Mosk.)* 1:59
 83. Kramer L, Genchi C, 2014. Where are we with Wolbachia and doxycycline: An in-depth review of the current state of our knowledge. *Vet Parasitol* 206, 1-4.
 84. Kramer L, Genchi C. 2002. Feline heartworm infection: serological survey of asymptomatic cats living in northern Italy. *Vet. Parasitol.* 104: 43–50
 85. Kramer LH., Kartashev VV., Grandi G., Morchón R., Nagornii SA., Karanis P., Simón F., 2007, *Human subcutaneous dirofilariosis*, Russia. *Emerg. Infect. Dis.* 13 p. 150–152
 86. Lee et al., 2010, Understanding feline heartworm infection: disease, diagnosis, and treatment. *Top. Companion Anim. Med.* 25:224–230.

87. 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
88. 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*
89. 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.
90. 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
91. 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 *Dirofilaria immitis* in feline serum. Parasit. Vectors. 7, 1.
92. 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
93. 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.
94. 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.
95. 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 *Dirofilaria immitis* and *D. repens* species-specific and *Acanthocheilonema* (syn. *Dipetalonema*) genus-specific diagnosis. Parasit. Vectors. 6, 48.
96. Mandelli, G., & Mantovani, A. (1966). A Case of Massive Infection with *Dirofilaria repens* in a Dog. *Parassitologia, 8(1)*, 21-8.
97. Manfredi MT, Di Cerbo A, Genchi M., 2007. Biology of filarial worms parasitizing dogs and cats, Mappa parasitologiche, *Dirofilaria immitis* and *D. repens* in dog and cat and human infections. Rolando Editore, Italy, pp. 41-45.
98. Marks CA, Bloomfield TE. 1998. Canine heartworm (*Dirofilaria immitis*) detected in red foxes (*Vulpes vulpes*) in urban Melbourne. Vet. Parasitol. 78:147–154.
99. McCall JV, Genchi C, Kramer LH, Guerrero J, Venco L, *Heartworm disease in animals and humans.*, 2008 Adv Parasitol 66, 193–285
100. 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

101. McCall JW, McTier T.L., Dzimiński 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
102. 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
103. 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
104. 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.
105. 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.
106. Miller, L.L., and Crosbie, P.R., 2011. Canine heartworm (*Dirofilaria immitis*) in Fresno and Madera Counties, California: prevalence differences between foothill and valley habitats. *Vet Parasitol.* 175, 84-91.
107. 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
108. Mircean, V., Dumitrache, M.O., Györke, A., Pantchev, N., Jodies, R., Mihalca, A.D., Cozma, V., 2012. Seroprevalence and Geographic Distribution of *Dirofilaria immitis* and Tick-Borne Infections (*Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi sensu lato* and *Ehrlichia canis*) in dogs from Romania. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 12, 595–604.
109. 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.
110. Moise NS. 1991. Ecocardiografia, p 113–154 In Fox PR, editor. (ed), *Cardiologia nel cane en el gatto*. SBM Editore, Parma, Italy
111. 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
112. 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.
113. Moore W, Franceschi D. 2005. PET findings in pulmonary dirofilariosis. *J. Thorac. Imaging* 20:305–306.
114. Moorhouse, D. E. (1978). *Dirofilaria immitis*: A cause of human intra-ocular infection. *Infection*, 6(4), 192-193

115. Morar, D., Dărăbuș, G., Imre, M., Ilie, M.S., Imre, K., 2015. First record of autochthonous ehrlichiosis caused by *Ehrlichia canis* in Romania. *Vet. Clin. Pathol.* 44, 200-204.
116. 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.
117. 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.
118. Mumtaz H, Ozdemir A, Schaefer RC. 2004. Case of the month. A case report of human pulmonary dirofilariosis in Arkansas. *J. Ark. Med. Soc.* 100:240–242.
119. 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
120. Muro A, Genchi C, Cordero M, Simón F., *Human dirofilariosis in the European Union*, 1999, *Parasitol. Today* 15:386–389
121. Navarrete AR., *Pulmonary dirofilariosis*, 1972, *Chest* 61:51–54
122. Nelson TA, Gregory DG, Laursen JR. 2003. Canine heartworms in coyotes in Illinois. *J. Wildl. Dis.* 39:593–599
123. 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.
124. Orihel TC, Eberhard ML., 1998. *Zoonotic filariosis*. *Clin. Microbiol. Rev.* 11:366 – 381.316. Osborne J, Devaney E.1999. Interleuk
125. 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.
126. 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.
127. 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
128. Pampiglione S, Rivasi F, Vakalis N. 2000. Human pulmonary dirofilariosis: the first case observed in Greece. *Ann. Pathol.* 20:626 –628
129. Pampiglione S, Rivasi F., Angeli G., Boldorini R., Incensati RM., Pastormerlo M., Pavesi M., Ramponi A., 2001- *Dirofilariosis due to Dirofilaria repens in Italy, an emergent zoonosis: report of 60 new cases*. *Histopathology* nr. 38, p. 344–354.
130. Pampiglione S, Rivasi F., *Human dirofilariosis 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

131. Pantchev N, Etzold M, Dauguschies A, Dyachenko V.,2011. *Diagnosis of imported canine filarial infections in Germany 2008–2010*. Parasitol Res 109(Suppl 1):S61–S76
132. 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.
133. 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
134. Philipp M, Davis TB. 1986. *Biochemical and immunologic characterization of a major surface antigen of Dirofilaria immitis infective larvae*. J. Immunol. 136:2621–2627
135. 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
136. 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
137. 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
138. Rodríguez-Iglesias, M.A., Alvarez, J.R., Vergara, A., Garcia-Valdivia, M.S., Jesús, I., Mira J. 1992. *Improve detection of HIV p24 antigen in serum after acid pretreatment*. Eur. J. Microbiol. Infect. Dis. 11, 849-50
139. 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.
140. 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
141. Santamaria B, Cordero M, Muro A, Simón F. 1995. *Evaluation of Dirofilaria immitis excretory/secretory products for seroepidemiological studies on human dirofilariasis*. Parasite 2:269–273
142. 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
143. 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.
144. Schnyder, M., Deplazes, P., 2012. *Cross-reactions of sera from dogs infected with Angiostrongylus vasorum in commercially available Dirofilaria immitis test kits*. Parasit. Vectors 5, 258.

145. 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
146. 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
147. 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
148. Simón F, Morchón R, González-Miguel J, Rodes-Moltó D. 2009. *Dirofilariosis canina en La Coruña, Galicia.* *Argos* 106:10 –12.
149. 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
150. Simón F., Siles-Lucas M., Morchón R., González-Miguel J., Mellado I., Carreton E., Montoya-Alonso JA., 2012- Human and animal dirofilariosis: the emergence of a zoonotic mosaic. *Clin Microbiol Rev* 25, p. 507–544.
151. 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
152. 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
153. 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.
154. Skidmore JP, Dooley PD, Dewitt C. 2000. *Human extrapulmonary dirofilariosis in Texas.* *South. Med. J.* 93:1009–1010.
155. Slocombe JO. 1989. *Heartworm in dogs in Canada in 1989.* *Can. Vet. J.* 31:499 –505
156. Stringfellow GJ, Francis IC, Coroneo MT, Walker J., *Orbital dirofilariosis, 2002,* *Clin. Exp. Ophthalmol.*30:378–380
157. 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
158. Sun S, Sugane K. 1992. Immunodiagnosis of human dirofilariosis by enzyme linked immunosorbent assay using recombinant DNA-derived fusion protein. *J. Helminthol.* 66:220 226
159. 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
160. Tarello W. 2002. *Dermatitis associated with Dirofilaria (Nochtiella) repens microfilariae in dogs from central Italy.* *Acta Vet. Hung.* 50:63–78
161. Tarello W. 2002. *Dermatitis associated with Dirofilaria repens microfilariae in a dog in Dubai.* *Vet. Rec.* 151:738 –739.

162. Tarello W. 2010. *Clinical aspects of dermatitis associated with Dirofilaria repens in pets*. In *Dermatitis linked with helminthic infections*. Meril Pre-Congress of the ESVD ECVD Meeting, Florence, Italy
163. Tasiš-Otašević SA, Trenkiš Božinović, MS, Gabrielli SV, Genchi C, 2015- *Canine and human Dirofilaria immitis infections in the Balkan Peninsula*. *Vet Parasitol* 209, p. 151-156.
164. Taylor AE, 1960. *The development of Dirofilaria immitis in the mosquito Aedes aegypti*. *J Helminth* 34: 27-38.
165. Theis, J.H., 2005. Public health aspects of Dirofilariasis in the United States. *Vet. Parasitol.* 133, 157–180.
166. 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.
167. 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
168. 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
169. Tudor P., Mateescu R., Tudor N., 2013- *Dirofilaria immitis infection in dogs from Târgoviște area, Romania*. *Current Opinion in Biotechnology* 24, p. 51-52.
170. Uchida T e Saida K.(2005). *Elevated endothelin-1 expression in dogs with heartworm disease*. *J Vet Med Sci.* 67(11):1155-61
171. 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
172. Venco L, Furlanello F, Vezzoni A., *Orientamenti terapeutici*,1998, p 198 In Genchi C, Venco L, Vezzoni A, editors. (ed), *La filariosi cardiopolmonare del cane e del gatto*. Editorial Scivac, Cremona, Italy
173. Venco L, Genchi C, Simón F., *La filariosis cardiopolmonar (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*. Meril Laboratorios, Barcelona, Spain
174. 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
175. 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
176. 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.
177. 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.
178. Vezzani, D., & Carbajo, A. E. (2006). *Spatial and temporal transmission risk of Dirofilaria immitis in Argentina*. *International journal for parasitology*, 36(14), 1463-1472
 179. 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.
 180. Vogel, H. (1927). *Über Mikrofilaria demarquayi und die Mikrofilaria aus Tucuman in Argentinien*. *Abh. Geb. Auslandsk.*, 36, Reihe D, 2, 573.
 181. Weil, G. J., Malane, M. S., & Powers, K. G., *Detection of circulating parasite antigens in canine dirofilariasis by counter immunoelectrophoresis*, 1984, *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 33(3), 425-430
 182. 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
 183. Weil, G.J., Malane, M.S., Powers, K.G., 1984. *Detection of circulating parasite antigens in canine dirofilariasis by counter immunoelectrophoresis*. *Am. J. Trop. Hyg.* 33, 425-30.
 184. 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.