

Heartworm disease in dogs and cats

Niziołek R., Rutkowska K., Private Cardiological Practice, Warsaw¹

Heartworm is a common name for *Dirofilaria immitis*. Heartworm disease is a syndrome of pulmonary artery disease with hypertension, heart failure (primarily cor pulmonare), and occasionally liver failure and renal lesions caused by infestation by *D. immitis*. It occurs in dogs in tropical and subtropical regions of the world. Its occurrence in the countries of Northern and Central Europe is occasional. Sometimes dogs traveling with their owners to the Southern Europe can get the heartworm disease. Adult *D. immitis* live in the right ventricle and pulmonary arteries where, as adults, they produce microfilariae which can be found circulating in the blood of infected dog or cat. Transmission of the infection occurs when mosquito ingests circulating microfilariae while feeding on infected dog. The microfilariae develop within mosquito to the infective, 3rd stage larvae which can be transmitted to another animal when the mosquito feeds again. Once infective larvae have been transmitted, they continue to develop and migrate until they reach the heart and pulmonary arteries as young, adult worms. Heartworms interfere with the function and cause congestive heart failure, they damage pulmonary vasculature and other organ systems. Serologic diagnosis of canine heartworm disease is based on detection of circulating antigens or microfilariae, each of which are detectable beginning at about 6 months post-infection. However, even in areas where the prevalence of this disease is high, many heartworm-infected dogs do not have a detectable microfilaraemia, therefore antigen testing is considered as primary diagnostic method. In this article pathogenesis, clinical findings, treatment and prevention of heartworm disease in dogs and cats were presented. Also the importance of dirofilariosis in humans was discussed.

Keywords: dirofilariosis, diagnosis, prevention, treatment, dogs, cats.

Pasożyt *Dirofilaria immitis* występuje powszechnie na całym świecie. Jest to nicien, który pierwotnie zasiedla tętnicę płucną psów. Przy dużej inwazji może pojawiać się również w prawej komorze serca. Nazwy robak sercowy (heartworm) i robaczka serca (heartworm disease) nie są do końca prawidłowe. Pomyłka wynika z tego, że nicienie te znajdowano pośmiertnie głównie w prawej komorze serca (ryc. 1), tymczasem sytuacja ta zdarza się dopiero przy nasilonych inwazjach. Zwykle dorosłe postaci nicieni przede wszystkim gromadzą się w naczyniach płucnych.

Odkrywcą pasożyta był Lauro Travassos, który jako pierwszy w 1921 r. opisał w Brazylii obecność tych nicieni w sercu

Dirofilarioza u psów i kotów

Rafał Niziołek¹, Katarzyna Rutkowska*

z Prywatnej Weterynaryjnej Praktyki Kardiologicznej w Warszawie¹

kota. Pierwsze doniesienia ze Stanów Zjednoczonych pochodzą z 1922 r. (1). Jest to pasożyt głównie psowatych, sporadycznie postaci dorosłe znajdowane są u innych gatunków zwierząt, takich jak koty czy fretki; w takich wypadkach inwazja przebiega zwykle dość ciężko, a pacjentów trudno się leczy.

Cykl życiowy pasożyta

Dirofilaria immitis w swoim cyklu życiowym bytuje u dwóch żywicieli – pośredniego i ostatecznego. Żywicielami pośrednimi są samice ponad 60 gatunków komarów, które żywią się krwią, by móc produkować jaja (2). W jednym osobniku komara może przebywać maksymalnie do 3 larw, większa ich liczba powoduje śmierć żywiciela (3). Samica komara poprzez ukłucie wprowadza do organizmu żywiciela ostatecznego: psa, kota lub innego mięsożercy larwę w trzecim stadium – L3 (4).

Komary zarażają się larwami pierwszego stadium – mikrofilariami L1 znajdującymi się we krwi zarażonych psów lub kotów. Larwy te pozostają w przewodzie pokarmowym komara przez krótki czas, a następnie przemieszczają się w ciągu 24–36 godzin do nabłonka cewek Malpighiego (5). W cewkach tych larwy ulegają dwukrotnemu linieniu ze stadium L1 do L2, a następnie od L2 do L3, co trwa około 14–16 dni (6). Łączny czas od przekształcenia połkniętej z krwią postaci L1, do postaci inwazyjnej L3 wynosi około 2–3 tygodnie. W niskich temperaturach otoczenia cykl przejścia do postaci inwazyjnej może się wydłużać nawet do 30 dni, co często przekracza czas życia komara nosiciela (7). Zazwyczaj w komórkach nabłonka cewek Malpighiego, pełniących u owadów funkcję układu wydalniczego, podczas pierwszych 4 dni pasożyty stają się nieruchliwe, krótsze i cieńsze. Do pierwszego linienia larw w świetle cewek dochodzi około 8 dnia. Larwa L2 linieje około 12 dnia do postaci L3, która przypomina miniaturę postaci dorosłej. Podczas następnych 2–3 dni larwy wzrastają na długość, niszczą cewki i migrują wzdłuż ciała do okolicy głowowej owada, gdzie gromadzą się w jego jamie gębowej. Larwa penetruje do koniuszka aparatu gębowego i podczas pobierania krwi przez komara przedostaje się do ranki. Krew wydostająca się z miejsca ukłucia chroni larwę

przed wyschnięciem zanim wniknie ona do organizmu żywiciela (1).

Po wnikięciu przez skórę larwa przechodzi do tkanki podskórnej, a następnie mięśni żywiciela ostatecznego. Podczas migracji przez tkanki larwa linieje dwukrotnie przez stadia rozwojowe od L3 do L4 i od L4 do L5 (4). Larwa w stadium L5 z tkanek dostaje się do żył i z prądem krwi przenoszona jest do tętnicy płucnej (1). Po 3,5–7 miesiącach od osiągnięcia tętnicy płucnej pasożyty osiągną dojrzałość płciową i są gotowe do wytwarzania mikrofilarii (ryc. 2; 4). Dorosłe pasożyty mogą mieć do 30 cm.

Koty są o około 80% bardziej odporne na zarażenie, ponieważ wiele gatunków komarów przenoszących mikrofilarie nie pobiera krwi od kotów. Wyjątkiem może być komar z gatunku *Culex pipiens*, który szczególnie upodobał sobie koty (8). Aby doszło do zarażenia kota, konieczna jest większa liczba larw w stadium L3. Ponadto liczba dorastających do postaci dorosłej larw w organizmie kota jest znacznie mniejsza niż u psów, co wydłuża okres prepatentny o 1–2 miesiące (9).

Rozmieszczenie geograficzne

Pasożyty z gatunku *Dirofilaria immitis* występują endemicznie w niektórych regionach USA. Wysoka zachorowalność obserwowana jest np. wzdłuż rzeki Missisipi oraz wybrzeża Atlantyku. Liczba chorych zwierząt wzrasta ze względu na brak zabezpieczania ich przed inwazją, w szczególności dotyczy to psów stale trzymanyh na dworze. W południowych stanach USA dotyczy to nawet 50% populacji (10).

Przypadki zachorowania zwierząt i ludzi odnotowywane też były w Kanadzie, Meksyku, Ameryce Południowej, Japonii, Australii i południowej Europie (11). Wskaźnik transmisji zależy w dużej mierze od gatunku komara, jaki występuje na danym obszarze. Niektóre komary mają długi okres rozrodczy, co sprawia, że transmisja dirofilarii jest bardziej efektywna, lub jak *Aedes vexans*, mogą latać na duże odległości (12). Znaczenie mają też warunki klimatyczne na danym obszarze, w szczególności duża wilgotność, w której żywicieli pośredni chętnie się rozmnażają. Na terenach suchych i ciepłych liczba zachorowań jest niższa.

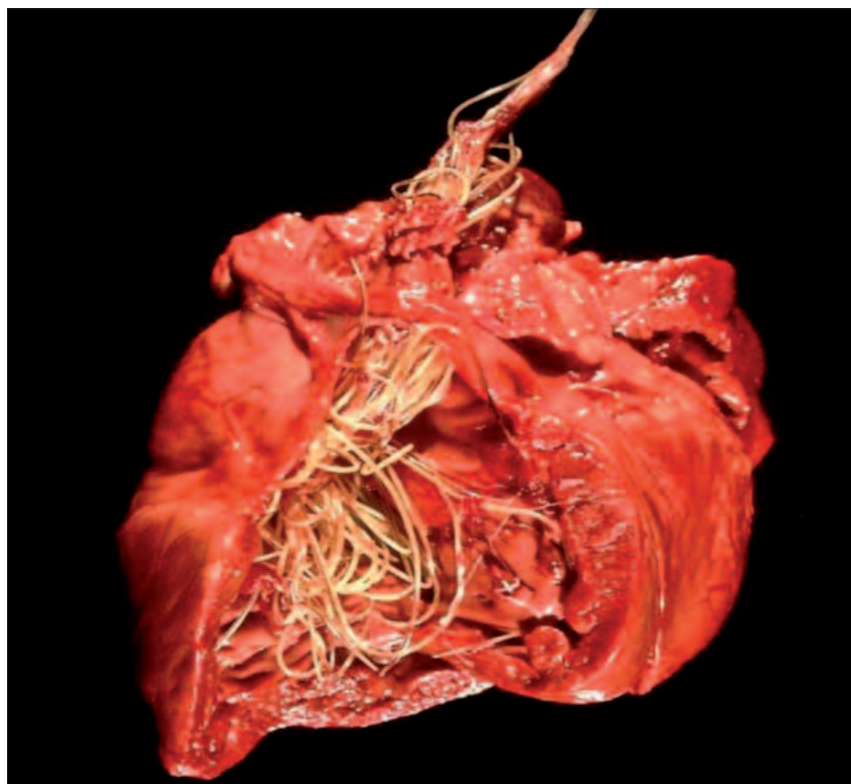
* Studentka VI roku Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie.

Ze względu na stopniowe ocieplanie się klimatu można przypuszczać, że pasożyty serca mogą w najbliższych 10–15 latach pojawić się na terenie naszego kraju. Pojedyncze przypadki dirofilariozy u psów odnotowano już w Czechach, na Słowacji i na Węgrzech. Szczególną uwagę należy zwrócić na zwierzęta, które wraz z właścicielami podróżują po krajach południowej Europy. Niebezpieczeństwo, jakie pasożyt niesie dla człowieka, sprawia, że jego rozprzestrzenianie się powinno być rejestrowane, a potwierdzone przypadki inwazji wnikliwie analizowane.

W krajach basenu Morza Śródziemnego, a w szczególności we Włoszech, gdzie inwazje *D. immitis* są częste, do mapowania miejsc występowania tej oraz innych chorób stosuje się specjalne programy, np. GIS (Geographical Information System) oraz RS (Remote Sensing). Oba programy są podstawowymi metodami analizowania zakażeń u zwierząt i ludzi (13).

Patogeneza

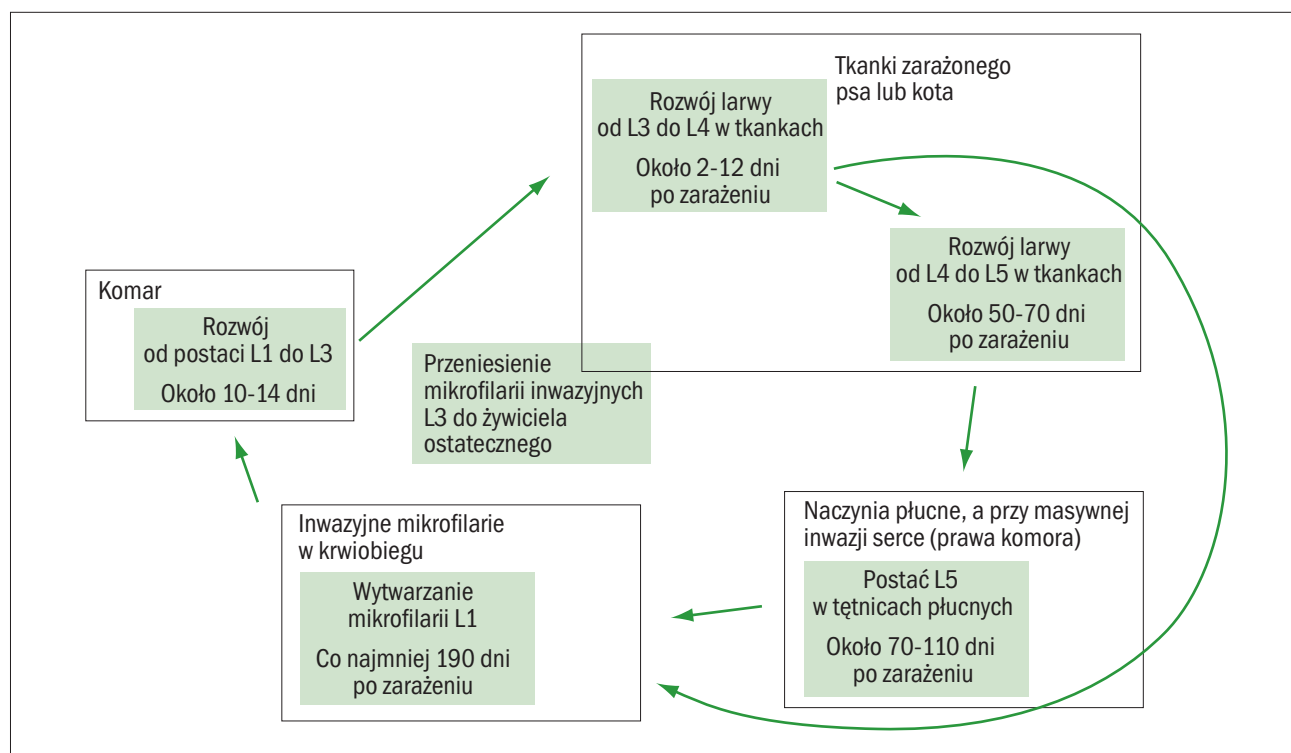
Uszkodzenia w przebiegu inwazji pojawiają się bardzo szybko, w zasadzie już po pierwszym kontakcie pasożyta w postaci larwy L3 z błoną wewnętrzną naczyń (1). Zmiany w mięszu i naczyniach włosowatych płuc pojawiają się wtórnie, gdy dorosłe pasożyty uwalniają w tym miejscu swoje antygeny. Zmiany w tętnicy płucnej są złożone. Najczęściej dochodzi do poszerzenia naczynia. Przyczynia się do tego zgrubienie jego błony wewnętrznej i środkowej. Uszkodzenie śródbłonna



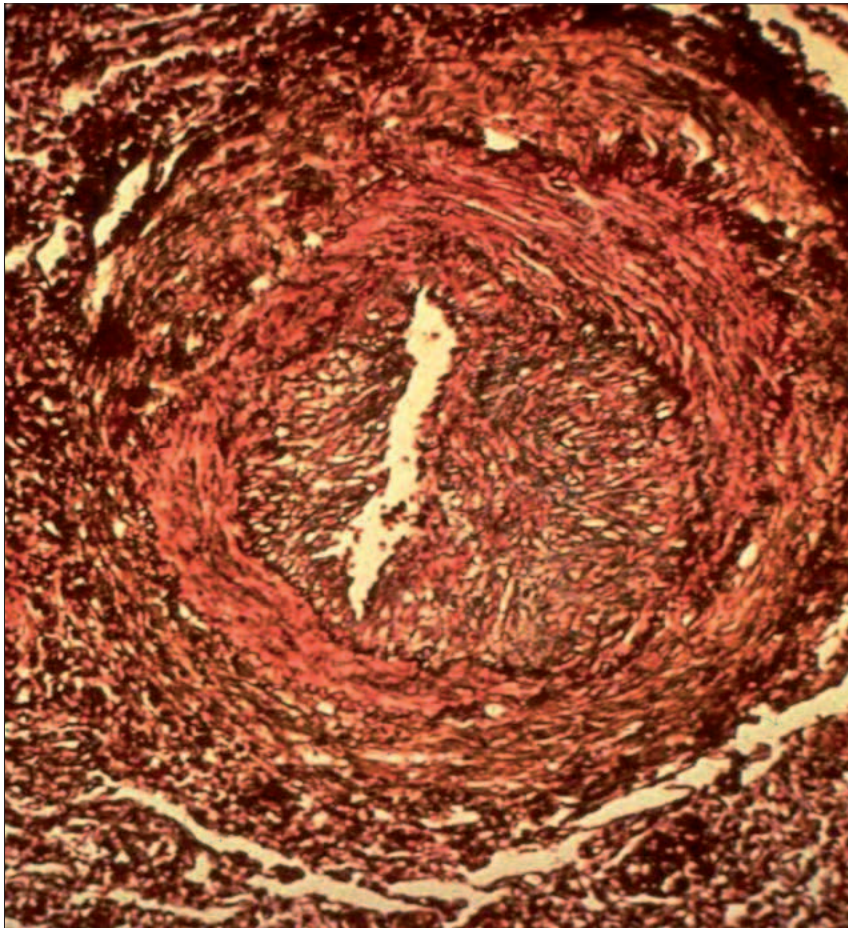
Ryc. 1. Charakterystyczny obraz pośmiertny serca psa z dużą liczbą pasożytów *Dirofilaria immitis* wypełniających komorę serca

naczyniowego zaczyna się bardzo wcześnie. Dochodzi do obrzęku komórek śródbłonna i przylegania płytek krwi (14). Zwiększa się ilość czynników krzepnięcia uwalnianych przez płytki krwi, które napływają w region uszkodzeń wywołanych przez migrujące pasożyty. Czynniki, takie jak płytkowy czynnik wzrostu (platelet-derived

growth factor – PDGF) stymulują rozplętkowanie komórek mięśni gładkich błony środkowej naczyń, migrację tych komórek do błony wewnętrznej i nagromadzenie kolagenu (ryc. 3). Rozrost miocytów gładkich w tym miejscu powoduje powstanie uwypukleń błony wewnętrznej tętnicy płucnej przypominające kosmki. Prowadzi to do



Ryc. 2. Cykl rozwojowy *Dirofilaria immitis*



Ryc. 3. Obraz histopatologiczny przekroju naczynia krwionośnego z typowymi zmianami dla inwazji *Dirofilaria immitis* – proliferacją błony mięśniowej naczynia oraz zgubieniem błony środkowej (zdjęcie dzięki uprzejmości prof. C. Lombarda)

zmniejszenia, a nawet zamknięcia światła małych naczyń tętniczych. Zmiany te zaczynają się w małych, dalszych odgałęzieniach tętnicy płucnej, gdzie gromadzą się niedojrzałe jeszcze pasożyty, które później, gdy dorosną, przemieszczają się w kierunku serca (1). Zmiany te dotyczą w pierwszej kolejności miejsc o największym przepływie krwi, to jest w naczyniach płatów płucnych tylnych i środkowych (7).

Naczynia, poza zmianami w błonie wewnętrznej i środkowej, ulegają poszerzeniu, a ich przebieg staje się kręty. Mniejsze naczynia mogą ulec zamknięciu przez zakrzepy lub zatory. Doprowadza to do powstania charakterystycznych zmian zauważalnych w badaniu radiograficznym lub angiograficznym, takich jak powiększenie światła naczyń lub ich kręty przebieg. Zmiany te pojawiają się w miejscach, w których pasożyty bezpośrednio kontaktują się ze śródbłonkiem naczynia i mogą znacząco przyczynić się do powstawania nadciśnienia w tętnicach płucnych. Suma zmian patologicznych w tętnicach zależy w dużej mierze od liczby pasożytów bytujących w danym miejscu i od odpowiedzi immunologicznej żywiciela. W konsekwencji najważniejsze zmiany obserwuje się u psów z silną inwazją lub nadmierną

odpowiedzią immunologiczną skierowaną przeciwko pasożytom (1).

Na skutek uszkodzeń ścian naczyń oraz zaburzeń przepływu krwi, a także gromadzenia się komórek nacieku zapalnego dochodzi do powstania nacieczeń śródmiąższowych i pęcherzykowych w mięszu płuc oraz zapalenia ziarniniakowego (7). Naciek komórkowy składa się głównie z neutrofilii i eozynofili. Przewlekłe zmiany w mięszu płuc prowadzą do wtórnych zwłóknień i rozwoju nadciśnienia płucnego (1).

Procesy zapalne mięszu płuc z rozległymi uszkodzeniami prowadzą do wystąpienia objawów klinicznych, takich jak gorączka, kaszel, niekiedy z krwiopluciem i duszność wydechowa. W obrazie krwi dominuje leukocytoza oraz trombocytopenia. Nasilenie objawów klinicznych zależne jest od liczby pasożytów oraz wielkości psa. Duże psy lepiej tolerują inwazję niż psy małe (7).

Zgubienie błony wewnętrznej i środkowej naczyń, w połączeniu z utrudnieniami jakie napotyka prąd płynącej krwi, przyczynia się do spadku sprężystości naczyń i wzrostu oporu naczyniowego w krążeniu płucnym, co powoduje wzrost ciśnienia w tętnicy płucnej (1).

W badaniach na kotach udowodniono, że tylko zwierzęta z zamkniętym

przepływem krwi w kierunku tylnych płatów płuc wykazywały objawy nadciśnienia w tętnicy płucnej (15). Trzy czwarte powierzchni łożyska naczyniowego płuc musi być zatkane, aby ujawniły się objawy nadciśnienia (16).

Nadciśnienie w tętnicy płucnej prawdopodobnie występuje u większości psów, u których obserwuje się zmiany w badaniu radiograficznym lub angiograficznym. Jednak nadciśnienie to u większości zwierząt ma łagodny charakter. Według Knight i wsp. (17) ciśnienie krwi zmienia się z 25/13 mm Hg na 45/30 mm Hg w ciągu 6–42 miesięcy od początku inwazji (17). W najnowszych badaniach wykazano, że psy, u których doszło do niewielkiej inwazji mają ciśnienie średnio na poziomie 14 mm Hg, co mieści się w granicach normy. Natomiast przy intensywnej inwazji rośnie ono średnio do wartości 22 mm Hg (18). Należy także pamiętać, że przepływ krwi przez naczynia płucne może wzrastać nawet trzykrotnie podczas stresu lub intensywnego wysiłku fizycznego, co przejawia się u psów z dirofilariozą nietolerancją wysiłkową (1). Dlatego przy podobnym nasileniu inwazji, psy o dużej aktywności fizycznej mają silniej wyrażone objawy kliniczne, niż psy nieaktywne. Zmiany ciśnienia tętniczego mogą być także przyczyną omdleń powodowanych przez stymulację mechanoreceptorów w prawej komorze serca związaną ze wzrostem ciśnienia w jej wnętrzu (1). Powstające nadciśnienie doprowadza do przeciążenia prawej komory i sprawia, że dochodzi do jej przerostu.

Nadciśnienie płucne może stać się niebezpieczne u psów, u których doszło do intensywnej inwazji. Średniego stopnia i znaczne nadciśnienie płucne prowadzi do powiększenia prawej komory i może w rezultacie doprowadzić do prawokomorowej niewydolności krążenia, które w ostateczności przejawiać się może nawet rozwojem wodobrzusza (1).

Choroba mięszu płuc, która manifestuje się kaszlem, jest bardzo częsta u psów z robaczką serca. Ostra choroba naczyń płucnych w rezultacie powoduje wzrost przepuszczalności małych naczyń. Dochodzi do wysiękania osocza i napływu komórek zapylenia (19). Zmiany w tkance płucnej są ściśle związane z nasileniem zmian w naczyniach płucnych. Przewlekła choroba doprowadza do nieodwracalnych zwłóknień w tkance płucnej (1).

Pojawia się także skłonność do występowania choroby zatorowo-zakrzepowej, która powoduje ogniskowe lub rozlane zęszczenia w tkance płucnej. Zmiany te lokalizują się w płatach doogonowych. Przyczyną są obumarłe pasożyty, które zatykają naczynia i blokują przepływ krwi do tkanki płucnej. Pasożyty powodują tworzenie się zakrzepów. Dochodzi do nasilenia się

choroby naczyń na skutek opisywanego wcześniej rozplemu komórek ich błony śródkowej. Niedostateczna perfuzja doprowadza z kolei do niedotlenienia (1).

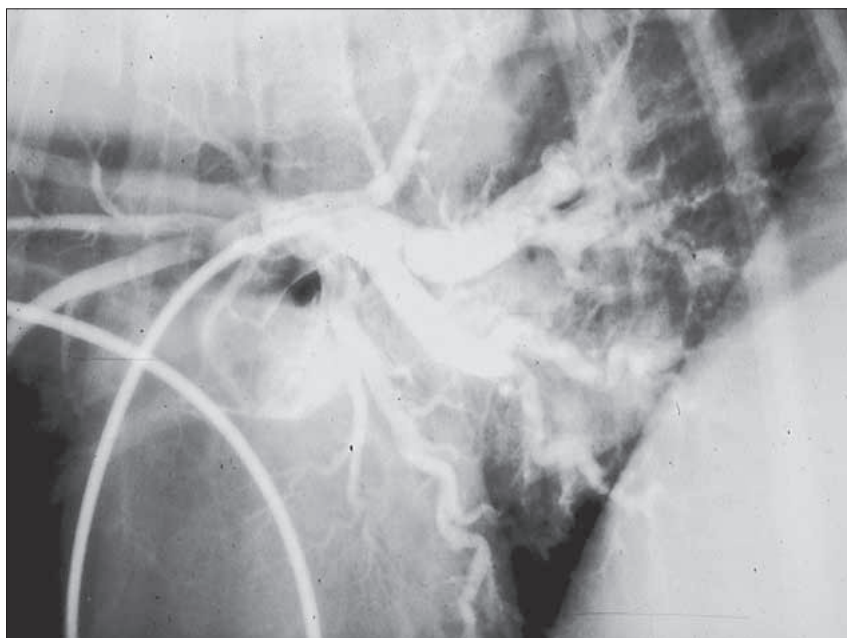
Sugeruje się, że w inwazji *D. immitis* może pojawić się alergiczne zapalenie płuc, charakteryzujące się naciekiem komórkowym z przewagą eozynofili, co przemawia za rozwojem nadwrażliwości typu wczesnego na antygeny uwalniane przez pasożyta (20). W tym przypadku zwierzęta dobrze reagują na terapię glikokortykosteroidową. (1)

W dirofilariozie może dochodzić do uszkodzenia nerek, wywołanego nadwrażliwością typu 3, a więc mającego związek z nadmiarem kompleksów antygen-przeciwciała. W przewlekłej inwazji dochodzi do znacznego pobudzenia humoralnej odpowiedzi immunologicznej. Przeciwciała wiążą antygeny uwalniane przez pasożyta, prowadząc do powstania krążących z krwią kompleksów immunologicznych. Kompleksy te wychwytywane są przede wszystkim w nerkach. Nadmiar kompleksów może prowadzić do nadmiernego rozplemu komórek mezangium, w wyniku czego rozwija się kłębuszkowe mezangialno-rozplemowe zapalenie nerek. Gdy kompleksy odkładają się w naczyniach włosowatych kłębuszków nerkowych, rozwija się kłębuszkowe błoniaste zapalenie nerek (7, 21). Dochodzi do uszkodzenia błony podstawnej naczyń kłębuszków i do wzrostu ich przepuszczalności. W badaniu moczu stwierdza się wtedy białkomocz. Zmniejszenie filtracji kłębuszkowej prowadzi do azotemii. Pojawia się nadciśnienie i dochodzi do wzrostu krzepliwości (1).

Badanie kliniczne

W związku z cyklem życiowym pasożyta należy pamiętać, że objawy kliniczne choroby występują u zwierząt, które skończyły, co najmniej 6 miesięcy życia. Jeśli dojdzie do inwazji w młodym wieku, pierwsze objawy pojawiają się najwcześniej po roku. Należy więc zacząć od dokładnego wywiadu uwzględniającego wiek zwierzęcia oraz środowisko, w jakim żyje. W wywiadzie należy dowiedzieć się, czy podejrzane zwierzę podróżowało (południowa Europa, Stany Zjednoczone, zwłaszcza część południowa). U młodych zwierząt należy też brać pod uwagę to, czy suka jeździła na krycie do krajów basenu Morza Śródziemnego.

W badaniu klinicznym sprawdza się temperaturę ciała, ocenia błony śluzowe i czas włośniczkowy, tętno i oddechy, omacuje dostępne węzły chłonne i brzuch. Bardzo wnikliwie osłuchuje się serce i płuca. W objawach klinicznych można zaobserwować: spadek masy ciała, pojawianie się kaszlu odruchowego, przyspieszone oddechy i duszność, gorączkę, czasem szmeru sercowe, objawy niewydolności serca,



Ryc. 4. Badanie angiograficzne płuc. Charakterystyczny obraz naczyń krwionośnych o krętym przebiegu wypełnionych pasożytami w tylnych polach płucnych (zdjęcie dzięki uprzejmości prof. C. Lombarda)

poszerzenie żył szyjnych, tętno żyłne dodatnie, wodobrzusze i nietolerancję wysiłkową. U większości psów występuje rozdwojenie drugiego tonu serca, a nie szmer sercowy, co ma związek z występującym nadciśnieniem w tętnicy płucnej. Wymaga to od lekarza dużego doświadczenia w osłuchiowaniu. Użyteczne może być badanie fonokardiograficzne, które ukazuje moment wystąpienia tonu S4. W zaawansowanym stadium choroby może pojawić się szmer związany z niedomykalnością zastawki trójdzielnej. Gorączka jest zazwyczaj efektem nagłego zatoru tętnicy płucnej na skutek silnej inwazji pasożyta. Czasem mogą pojawić się objawy nerwowe związane z migracją larw do ośrodkowego układu nerwowego (1)

U kotów można spotkać się dodatkowo z galopadą serca, zapaścią, objawami ze strony układu pokarmowego (wymioty, biegunka, nadmierne ślinienie się) i niekiedy objawami neurologicznymi (drgawki). Niektóre koty wykazują objawy przypominające astmę, czasem kaszlą (22). Reakcje o tym charakterze najczęściej występują 3–4 miesiące po zarażeniu. Występowanie u kotów triady objawów, takich jak wymioty, eozynofilia oraz hiperglobulinemia, uzasadniają podejrzenie o zarażenie dirofilariami (7).

Diagnozowanie

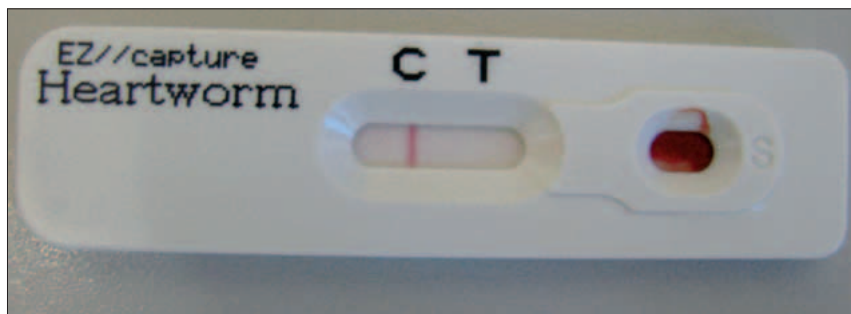
W dirofilariozie obraz krwi jest zwykle nieswoisty. Można obserwować niedokrwistość regeneratywną, bazofilię oraz monocytosę. Eozynofilia występuje u mniej niż połowy zarażonych pacjentów. Efektem zatorowości płucnej może być leukocytoza z przesunięciem obrazu białokrwinkowego

w lewo. W badaniach biochemicznych dominuje hiperglobulinemia (1).

Możliwe jest stwierdzenie mikrofilarii we krwi w rozmazach lub oglądając pod mikroskopem kroplę krwi lub kroplę krwi zhemolizowanej. Konieczne jest zbadanie kilku preparatów.

Przy podejrzeniu inwazji u psów rutynowo powinno być wykonane badanie radiologiczne klatki piersiowej (1). Jest to jedna z istotniejszych metod diagnozowania klinicznej postaci choroby, w szczególności u psów. Należy wykonać zawsze dwie projekcje: prawoboczną i AP. Zmiany obserwowane na zdjęciach to poszerzenie tętnicy płucnej i zmiany o charakterze nacieczeń okołoskrzelowych w międszu płuc. Zwykle pierwsze zmiany występują w płatach tylnych i środkowych. W zaawansowanym stadium choroby obserwuje się powiększenie prawego przedsionka lub prawej komory, a nawet powiększenie całej sylwetki serca. Zmiany te wynikają z przerostu prawej komory na skutek przeciążenia ciśnieniowego. Wielkość sylwetki serca ocenia się określając indeks VHS (vertebral heart score), czyli porównując wielkość serca z długością kręgów piersiowych. Długość i szerokość sylwetki serca porównuje się do długości kręgów. Suma tych pomiarów nie powinna przekraczać 10,5 kręgu (23). U kotów również powinno się wykonać rentgenodiagnostykę klatki piersiowej, jednak objawy radiologiczne są nieco inne. U kotów może pojawiać się wysięk chłonny (*chylothorax*), a w zaawansowanym stadium choroby powiększenie doogonowych odgałęzień tętnicy płucnej (24).

Angiografia jako metoda diagnostyczna stosowana jest niezwykle rzadko (ryc. 4).



Ryc. 5. Test EZ Capture Canine Heartworm One-step wykrywający metodą ELISA obecność antygenów *Dirofilaria immitis* w pełnej krwi

Badanie obciążone jest dużym ryzykiem. Należy poinformować właściciela o możliwych powikłaniach. Angiografię wykonuje się w pozycji leżącej, na prawym boku, a kontrast podaje dożylnie w powolnym wlewie do żyły szyjnej zewnętrznej. Badanie radiograficzne należy wykonać natychmiast po zakończeniu podawania kontrastu. Praktycznie nigdy nie jest wykonywana u psów, sporadycznie tę technikę diagnostyczną stosuje się u kotów (1).

Na podstawie badania elektrokardiograficznego nie można jednoznacznie stwierdzić występowania inwazji pasożytniczej. U zwierząt, u których choroba ma łagodny przebieg, w badaniu tym nie obserwuje się żadnych odchyłań od normy, w bardziej zaawansowanych stadiach choroby można czasem stwierdzić cechy powiększenia prawego przedsionka i prawej komory (1).

Często rozpoznanie inwazji *Dirofilaria immitis* stawia się przy użyciu badania echokardiograficznego. Pasożyty można zaobserwować w świetle tętnicy płucnej i jej odnogach. Uwidaczniają się one jako równoległe linie z wąskim hiperechogenicznym środkiem. U 50–60% badanych zwierząt na podstawie badania echokardiograficznego, wykonanego przez osobę z doświadczeniem, można było ustalić, czy pasożyty faktycznie są obecne w sercu (25). Ponadto obserwuje się rozstrzeń prawej komory. Używając echokardiografii

dopplerowskiej, można stwierdzić niedomykalność zastawki trójdzielnej z przepływem wstecznym oraz skurczowe nadciśnienie w komorze prawej, a rozkurczowe w tętnicy płucnej. Echokardiografia jest metodą z wyboru podczas rozpoznawania tzw. zespołu żyły głównej tylnej (caval syndrome), przy którym duża liczba pasożytów lokalizuje się w okolicy zastawki trójdzielnej i w żyłę główną tylną. Aby do tego doszło, liczba pasożytów musi przekroczyć 100 osobników.

Immunodiagnostyka

Do rozpoznawania dirofilariozy można stosować różne rodzaje testów. Dostępne są testy ELISA wykrywające przeciwciała lub antygeny pasożyta (ryc. 5), którymi są glikoproteiny pochodzące z układu rozrodczego samic. Testy wykrywające przeciwciała są rzadko stosowane w diagnostyce z uwagi na znaczną ilość wyników fałszywie dodatnich, ale ich zaletą jest możliwość ich stosowania u kotów (24). Wykrywanie antygenów jest znacznie bardziej dokładne, ich swoistość wynosi prawie 100%, a czułość przekracza 85%, nie są jednak zalecane do diagnozowania dirofilariozy u kotów.

Testy komercyjne zalecane przez American Heartworm Society wykrywają antygeny dorosłych osobników. Cechują się one większą czułością niż wykrywające mikrofilarie. Testy wykorzystują metody

immunochromatograficzne (IMC), hemaglutynację (HA) oraz metodę ELISA. Wykrywają antygeny samic pasożyta w 100%, natomiast nie wykrywają antygenów uwolnionych przez samce. Jeśli w organizmie psa występuje inwazja jedynie robaków samców (single sex), testy te mogą dać wynik fałszywie ujemny. Przeprowadzono badania, w których wszczepiono psom po 24 osobniki męskie i wykonano potem testy – otrzymano wynik negatywny (26). Gdy obecne są 1–2 samice, testy dają pozytywny wynik w 90%, a gdy 3 lub więcej – w 100%. Podobnie młode pasożyty poniżej 5 miesięcy życia nie są wykrywane. Granicą wykrywalności jest wiek pasożyta 8 miesięcy (27). Do testów immunochromatograficznych mogą być używane krew, surowica lub osocze. Dwa przeciwciała monoklonalne łączą się ze specyficznymi epitopami antygeny. Na płycie testowej antygeny pasożyta znajdujące w badanej próbce po absorpcji do nitrocelulozowego podłoża migrują i łączą się z koloidowym kompleksem monoklonalnym, tworząc kompleks przeciwciała-antygen-przeciwciała. Powstaje wówczas czerwona linia na teście. Aby być pewnym wyniku testu, należy przeprowadzić go zgodnie z zaleceniami producenta. Jeśli wynik jest wątpliwy, test należy powtórzyć. Wyniki fałszywie dodatnie wynikają najczęściej z błędów technicznych, natomiast wyniki fałszywie ujemne ze zbyt małej liczby pasożytów. U kotów wyniki fałszywie ujemne najczęściej wynikają z powodu małej liczby pasożytów lub inwazji jedнопłciowej osobnikami męskimi (24).

Klasyfikacja kliniczna pacjentów z dirofilariozą

Do ustalenia rokowania i odpowiedniej terapii pacjenci z postawionym rozpoznaniem powinni być zakwalifikowani do jednej z czterech grup-klas (28). Pacjenci kwalifikowani do klasy pierwszej najczęściej nie mają żadnych objawów klinicznych lub są one łagodne. Pacjenci kwalifikowani do klasy drugiej to zwierzęta z umiarkowanego stopnia objawami klinicznymi i zmianami w badaniu rentgenowskim. Zaawansowane objawy kliniczne z jednoczesnymi zmianami radiologicznymi, w tym niewydolność prawokomorowa, są podstawą do zaliczenia do klasy trzeciej (28, 29). Dla pacjentów z objawami zespołu żyły głównej tylnej (caval syndrome) wyodrębniono czwartą klasę. Nie jest to jednak kolejne stadium nasilenia objawów, ale zatkanie naczyń pasożytami i mechaniczna hemoliza oraz niewydolność wątroby spowodowana zastojem krwi w tym narządzie (7). Szczegółowy opis poszczególnych klas pacjentów podsumowano w tabeli 1.

Tabela 1. Klasyfikacja pacjentów z dirofilariozą

Klasa I	<ul style="list-style-type: none"> przebieg subkliniczny choroby lub objawy o niewielkim nasileniu brak zmian w obrazie radiologicznym lub zmiany nikłego stopnia 	<ul style="list-style-type: none"> młode psy, średnio do 3,8 roku życia u 75% pacjentów stężenie antygenów nicieni w surowicy utrzymuje się na poziomie 1,7 µg/ml
Klasa II	<ul style="list-style-type: none"> objawy o średnim nasileniu kaszel, średniozaawansowane zmiany radiologiczne, nietolerancja wysiłkowa, spadek masy ciała, zły stan okrywy włosowej może dochodzić do choroby zatorowo-zakrzepowej 	<ul style="list-style-type: none"> zwierzęta między 3,8 a 5,4 rokiem życia 55% z nich ma stężenie antygenów nicieni w surowicy powyżej 1,7 µg/ml
Klasa III	<ul style="list-style-type: none"> zaawansowane objawy chorobowe przewlekły kaszel, duszność, znaczny spadek masy ciała, niewydolność prawokomorowa, zaawansowane zmiany radiologiczne, może dojść do niedokrwistości duże ryzyko powikłań 	<ul style="list-style-type: none"> niższe stężenie antygenów nicieni w surowicy niż w klasie I i II; wynika to z faktu, że pasożyty ginąc wywołują silniejszą odpowiedź immunologiczną
Klasa IV	<ul style="list-style-type: none"> zespół żyły głównej 	<ul style="list-style-type: none"> niezbędna interwencja chirurgiczna

Leczenie dirofilariozy

Celem leczenia jest zabicie wszystkich dorosłych pasożytów, w dalszej kolejności zabicie wszystkich mikrofilarii, a także ograniczenie niekorzystnych efektów stosowanych leków i zmniejszenie do minimum zatorowości płucnej, która powstaje na skutek zabicia pasożytów. Leki stosowane w terapii dirofilariozy są niezwykle toksyczne. Dlatego w większości przypadków konieczne jest przygotowanie pacjenta. Należy wykonać dokładne badania morfologiczne i biochemiczne krwi. W szczególności należy zwrócić uwagę na stężenie mocznika i kreatyniny oraz na wskaźniki wątrobowe. Zawsze należy przeprowadzić najpierw terapię przeciwko dorosłym postaciom pasożyta, a następnie zastosować leki przeciwko mikrofilariom. Terapię przeciwko mikrofilariom nie musi być agresywna. Przeprowadza się stopniową eliminację larw przez 4–8 miesięcy. Psy z zespołem żyły głównej najpierw powinny być poddane zabiegowi chirurgicznego usunięcia pasożytów, a następnie podane farmakoterapii.

Leczenie likwidujące postaci dorosłe pasożytów

Lekiem pierwszego rzutu jest melarsomina (Immiticide), która działa na dorosłe postaci pasożyta. Należy unikać podskórnego podawania leku, gdyż melarsomina działa silnie drażniąco na tkanki, w związku z tym podawana jest w mięśnie wzdłuż kręgosłupa na wysokości kręgów lędźwiowych – L3-L5 (30). Stosowanie melarsominy może powodować miejscową reakcję w miejscu iniekcji. U niektórych psów lek ten może także powodować: zaburzenia behawioralne, neurologiczne, apatię, zaburzenia łaknienia, biegunkę i wymioty. Przedawkowanie leku jest niebezpieczne (trzykrotna dawka terapeutyczna) i może doprowadzić do zapalenia lub obrzęku płuc, a nawet do śmierci (1). Podczas leczenia należy ograniczyć ruch pacjenta na okres około miesiąca ze względu na ryzyko choroby zatorowo-zakrzepowej płuc, która może wystąpić na skutek śmierci pasożytów. Dawkowanie oraz schemat podania tego leku ustala się na podstawie stopnia zaawansowania choroby oraz koncentracji antygeny. (29) U psów w klasie I (przebieg choroby subkliniczny, niska koncentracja antygenów pasożyta) podaje się w odstępie 24 godzin dwie iniekcje po 2,5 mg/kg m.c. w mięśnie lędźwiowe w okolicach kręgów L3-L5, za każdym razem zmieniając stronę podania. Dawka dla psów z klasy II (średnio nasilone objawy, duża koncentracja antygenów pasożyta) i klasy III (zaawansowane objawy kliniczne oraz niska koncentracja antygenów pasożyta) jest

taka sama (2,5 mg/kg m.c.), ale podaje się ją jeden raz i po miesiącu powtarza podanie tyle, że dwukrotnie w odstępie 24 godzin jak w schemacie dla klasy I (29). Melarsomina jest lekiem nowej generacji, co powoduje, że leczenie jest bardzo kosztowne. Melarsominy nie wolno stosować w terapii dirofilariozy u kotów (1).

Drugim lekiem od dawna stosowanym w leczeniu jest tiacetersamid (Caparsolatte), który jest niezwykle toksyczny, dlatego psy poddawane terapii powinny być monitorowane przez minimum 48 godzin po jego zastosowaniu. Mogą pojawić się wymioty, gorączka, osłabienie, żółtaczka, biegunka. Podawany jest w formie czterech iniekcji dożylnych (2,2 mg/kg m.c.) w ciągu 48 godzin. Odstępy pomiędzy kolejnymi podaniami nie powinny być dłuższe niż 16 i nie krótsze niż 6 godzin. Mniejsza liczba podań powoduje brak skuteczności terapii, a zwiększenie liczby podań może nasilać objawy niepożądane (32, 33). Podanie leku poza naczynie powoduje bardzo poważne konsekwencje, albowiem podskórna depozycja roztworu tiacetersamidu wywołuje martwicę tkanek (1).

Leczenie likwidujące mikrofilarie

Po zabiciu postaci dorosłych przy zastosowaniu melarsominy lub tiacetersamidu można zacząć leczenie mające na celu pozbycie się krążących mikrofilarii. Po 3–4 tygodniach od podania leków działających na dorosłe pasożyty należy podać ivermektynę (Ivomec, Heartgard 30) w dawce 0,05 mg/kg m.c., *p.o.* (34) lub milbemycynę (Interceptor) w dawce 0,5–1 mg/kg m.c., *p.o.* w celu likwidacji mikrofilarii (35). Trzeba mieć na uwadze, że nagła śmierć pasożytów dorosłych i mikrofilarii ma wpływ na stan ogólny pacjenta, dlatego zwierzęta powinny być obserwowane w ciągu pierwszej doby od podania leków.

Profilaktyczne stosowanie leków przeciw pasożytniczych

W przypadku dirofilariozy leczenie choroby niesie za sobą poważne zagrożenie życia, podobnie jak sama choroba. Jednakże przeciwdziałanie inwazjom pasożyta jest bezpieczne i skuteczne. W przypadku zwierząt podróżujących z właścicielami na południe Europy lub do Stanów Zjednoczonych warto zastosować leczenie profilaktyczne. Obecnie na rynku znajdują się związki pochodne awermektyny – selamektyna (Revolution) stosowana w dawce 6–12 mg/kg m.c. na skórę, ivermektyna (Ivomec, Heartgard 30) w dawce 0,006–0,012 mg/kg m.c., *p.o.*, raz w miesiącu dla psa, a dla kota raz w miesiącu 0,024 mg/kg m.c., *p.o.* oraz milbemycyna (Interceptor) 0,5–1,0 mg/kg m.c., *p.o.*, raz

w miesiącu i dietylokarbamazyna (Filaribits) 3–5,5 mg/kg m.c., *p.o.*, raz dziennie (1). Ważnym elementem profilaktyki w krajach szczególnie narażonych na zakażenie pasożytami są okresowe badania.

Wtórne powikłania w dirofilariozy

Prawokomorowa niewydolność krążenia

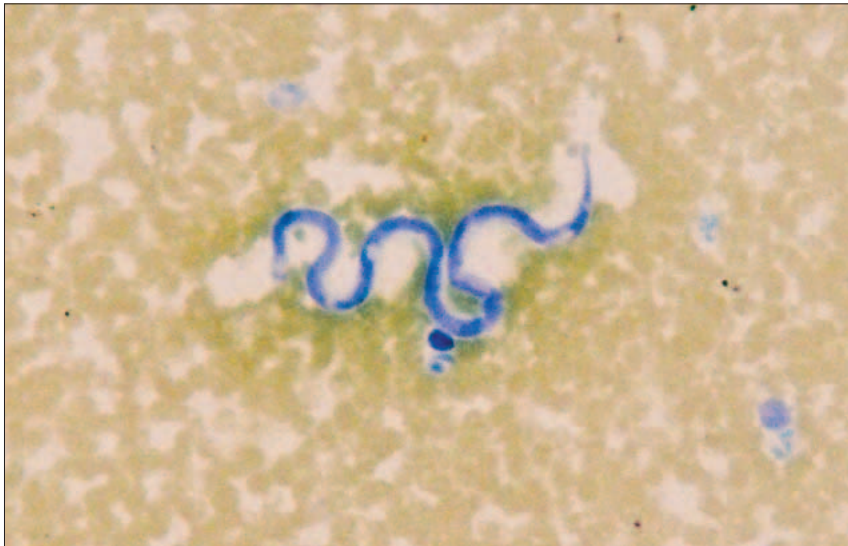
Nadciśnienie płucne prowadzi do niewydolności serca i w rezultacie może powodować wodobrzusze, wodosierdzie, omdlenia i zaburzenia rytmu serca. W leczeniu stosuje się standardową terapię typową dla niewydolności krążenia – furosemid (1–4 mg/kg m.c., co 8–24 godzin), spironolakton (2 mg/kg m.c. co 12 godzin) oraz inhibitory konwertazy angiotensyny (ACE), np: benazepril (0,25–0,5 mg/kg m.c., co 24 godziny), enalapril (0,5 mg/kg m.c., co 12 godzin), ewentualnie leki rozszerzające naczynia tętnicze, takie jak hydralazyna (1–3 mg/kg m.c., co 12 godzin).

Eozynofilowe zapalenie płuc (pneumonitis eosinophillca)

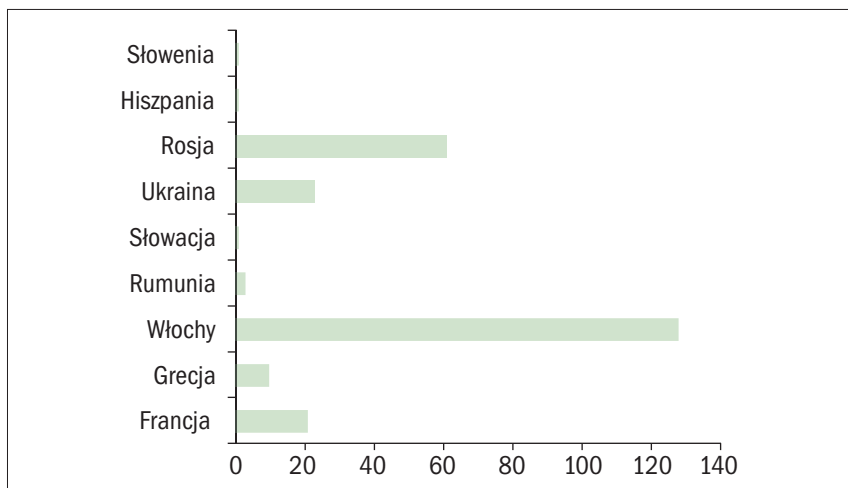
Może wystąpić 3–4 tygodnie po leczeniu. Wywołane jest obecnością żywych lub martwych dorosłych pasożytów w naczyniach płucnych (1, 23). Manifestuje się naciekaniem tkanki płucnej przez granulocyty kwasochłonne. Objawy chorobowe przypominają typowe objawy niewydolności oddechowej – przyspieszone i sflęcone oddychanie, kaszel i duszność (1). Zazwyczaj to powikłanie dirofilariozy skutecznie leczy się glikokortykosteroidami, na przykład prednizonem 1–2 mg/kg m.c., *p.o.*, ze stopniowym zmniejszaniem dawki (7). Inym rodzajem powikłań płucnych jest powstawanie zatorów z zabitych pasożytów, które rozpadają się na fragmenty blokujące małe naczynia. Przy dużej ich ilości, a więc w przypadku intensywnej inwazji, może dochodzić do zatkania dużych naczyń płucnych oraz objawów zatorowości płucnej. Nasilenie objawów może występować u psów o dużej aktywności fizycznej z uwagi na zwiększenie przepływu krwi przez tkankę płucną. Nasiloną zatorowość płuc w takim wypadku może powodować nawet zgon. Również w takim przypadku skuteczne okazuje się zastosowanie glikokortykosteroidów z ograniczeniem ruchu pacjenta i tlenoterapią (7).

Zespół żyły głównej

Jest to bardzo rzadkie powikłanie i ma miejsce tylko przy znacznych inwazjach w rejonach endemicznego występowania dirofilariozy. W przypadku dużej liczby pasożytów część z nich może przedostawać się do prawego przedsionka, utrudniając



Ryc. 6. Mikrofilaria wykryta podczas biopsji cienkoigłowej zmiany skórnej u psa. Z uwagi na lokalizację można podejrzewać obecność *Dirofilaria repens* (zdjęcie dzięki uprzejmości dr. Rafała Sapieryńskiego)



Ryc. 7. Występowanie przypadków inwazji *Dirofilaria repens* u ludzi w Europie w latach 1995–2000 (40)

dotływ krwi żyłnej. Z tego powodu może dochodzić do wstrząsu kardiogenego i rozwoju zespołu rozsianego krzepnięcia wewnątrznaczyniowego (disseminated intravascular coagulation – DIC), zmniejszenia objętości lewej komory. W tym przypadku należy poddać zwierzę jak najszybciej zabiegowi chirurgicznemu, jakim jest usunięcie pasożytów za pomocą długich kleszczyków wprowadzonych przez nacięcie wykonane w żyłę szyjnej zewnętrznej (7, 23). Podczas zabiegu ważna jest kontrola rytmu serca i ewentualnych jego zaburzeń. Należy kontrolować ośrodkowe ciśnienie żyłne oraz ilość podawanych płynów (nie przekraczać 10–20ml/kg m.c. roztworu Ringera z mleczanami). Po zabiegu wskazane jest zastosowanie antybiotyków.

Dirofilarioza jako zoonoza

Dirofilaria immitis jest także niebezpieczna dla człowieka. Larwy pasożyta mogą osiedlać się w prawym przedsionku i komorze serca, żyłę głównej górnej, tkance

podskórnej i gałkach ocznych. Zagrożenie niesie także inny gatunek nicienia – *Dirofilaria repens*, którego żywicielem pośrednim są również komary. *Dirofilaria* ta jest niebezpieczna dla psów, kotów, lisów oraz ludzi (36). W latach 2005–2006 wykryto w Czechach 7 przypadków inwazji *D. repens* u psów. Do badania zakwalifikowano 80 zwierząt, z czego aż 7 testów wykonanych metodą PCR dało pozytywny wynik (8,7%; 37). Niepokojące są także doniesienia ze Słowacji. Badano dwie grupy zwierząt, z okolic Bratysławy oraz Komarna. W pierwszej grupie na 15 badanych zwierząt u 6 stwierdzono mikrofilarie. W drugiej wykryto 6 przypadków inwazji *D. repens* na badanych 7 psów i inwazję *D. immitis* u 2 zwierząt (38). Opisane przypadki zarażeń mogą świadczyć o rosnącym zagrożeniu zwierząt tą inwazją w naszym rejonie Europy, a co za tym idzie również w Polsce (ryc. 6).

W 2007 r. w Zakładzie Biologii Ogólnej i Parazytologii oraz Zakładzie Anatomii Patologicznej Akademii Medycznej

w Warszawie rozpoznano pierwszy przypadek inwazji *D. repens* u człowieka w Polsce. Zdiagnozowany on został u 25-letniego mężczyzny. W badaniu histopatologicznym guzka w okolicy brzucha wykryto samice nicienia *D. repens* (39).

Na dirofilariozę najczęściej chorują osoby między 30 a 60 rokiem życia, wśród nich jest 55,4% kobiet (40). Miejsce ukąszenia przez zarażonego komara jest bardzo bolesne, gorące, zaczerwienione i obrzęknięte. Guzek może powstawać 2–12 miesięcy od ukąszenia i wprowadzenia pasożyta. Zazwyczaj są to guzki w tkance podskórnej w różnych częściach ciała, rzadziej mięśniach; guzki czasem mogą ropieć. Może dojść do powiększenia okolicznych węzłów chłonnych i wzrostu temperatury ciała. Najczęściej guzki umiejscawiają się w okolicy czoła – 14,4%, ud – 10,1%, pach – 11,9%, klatki piersiowej – 8,1, prząca – 6,5%. Ponad 30,5% przypadków to choroby, u których wykryto inwazję *D. repens* w gałce ocznej. Obecność pasożyta może powodować jaskrę, zapalenie błony naczyniowej oka, odklejenie siatkówki i zapalenie nadtwardówki (4). Udokumentowano przypadki migrowania larw będących pod skórą. Przemieszczają się one z prędkością 30 cm w ciągu 2 dni. U zwierząt zarażonych *D. repens* guzki zazwyczaj pojawiają się z okolicy mostka, szyi, powiek i kończyn. Często występuje świąd, wyłysienia i ropiejące zmiany (5).

Dirofilarioza jako choroba odzwierzęca stanowi coraz większe zagrożenie, co prawdopodobnie ma związek z ocieplającym się klimatem. Rolą lekarza weterynarii jest uświadomienie właścicieli, którzy podróżują ze swoimi zwierzętami o niebezpieczeństwie, które dotyczy nie tylko ich podopiecznych, ale także ich samych.

Piśmiennictwo

- Kittleson M.D., Kienle R.D.: Heartworm infestation and disease (dirofilariosis). W: Kittleson M.D., Kienle R. D. (edit): *Small Animal Cardiovascular Medicine*, The CV Mosby, St. Louis 1998, s. 370–400.
- Otto G.F.: Epizootiology of canine heartworm disease. W: Bradley R.E. (edit.): *Canine Heartworm Disease: the Current Knowledge*. University of Florida Press, Gainesville Florida 1972.
- Benrick W.J., Sandholm H.A.: Aedes vexans and other potential mosquito vectors of *Dirofilaria immitis* in Minnesota. *J. Parasitol.* 1966, 52, 762–766.
- Kotani T., Powers K.G.: Developmental stages of *Dirofilaria immitis* in the dog. *Am. J. Vet. Res.* 1982, 43, 2199–2202.
- Nayar J.K., Sauerman D.M.: Physiological basis of host susceptibility of Florida mosquitoes to *Dirofilaria immitis*. *J. Insect. Physiol.* 1975, 21, 1965–1968.
- Taylor E.R.: The development of *Dirofilaria immitis* in the mosquito *Aedes aegypti*. *J. Helminthol.* 1960, 34, 11–18.
- Calvert C.A., Thomason J.D.: Heartworm disease. W: Tilley R. (edit.): *Manual of Canine and Feline Cardiology*. 4th ed., Saunders Elsevier, 2008, s.183–199.
- Sacco B., di Cancruci G., Genchi C.: Study of tropism to dogs and cats of Diptera, potential vectors of filariasis in the province of Pavia. *XII Congr. Naz. Soc. Ital. Parasitol.* 1992, 34, 11–13.
- Donahoe J.M.R.: Experimental infection of cats with *Dirofilaria immitis*. *J. Parasitol.* 1975, 61, 599–604.

10. Courtney C.H.: Discussion 3. W: Soll M.D, Knight D.H. (edit.): *Proceedings of the Heartworm Symposium '95*, American Heartworm Society, Batavia, Ill, 1995
11. Knight D.H.: How current knowledge has affected the diagnosis, prevention and treatment of heartworm infection. W: Soll M.D. *Proceedings of the Heartworm Symposium '92*, American Heartworm Society, Batavia Ill, 1992.
12. Hendrix C.M., Bemrick W.J., Schlotthauer J.C.: Natural transmission of *D. immitis* by *Aedes vexans*. *Am. J. Vet. Res.* 1980, **41**, 1253-1255.
13. Genchi C., Rinaldi L., Cringoli L.: *Dirofilaria immitis* and *D. repens* in dog and cat and human infections. www.ivis.org.
14. Schaub R.G., Rawlings C.A., Keith J.C.: Platelet adhesion and myointimal proliferation in canine pulmonary arteries. *Am. J. Vet. Res.* 1983, **44**, 181-185.
15. Rawlings C.A., Farrell R.I., Mahood R.M.: Morphologic changes in the lungs of cats experimentally infected with *Dirofilaria immitis*: response to aspirin. *J Vet Intern Med* 1990, **4**, 292-297.
16. Yarns D.A., Tashjian R. J.: Cardiopulmonary changes in heartworm-infected dogs after 32-months interval. *Res. Vet. Sci.* 1970, **2**, 112-116.
17. Knight D.H.: Evolution of pulmonary artery disease in canine dirofilariosis: evaluation by blood pressure measurements and angiography. W: Otto G.F. (edit.): *Proceedings of the Heartworm Symposium' 80*, American Heartworm Society, Edwardsville, Kansas 1980.
18. Rawlings C.A., Raynaud J.P., Lewis R.E.: Pulmonary thromboembolism and hypertension after thiocercamide vs. melarsomine dihydrochloride treatment of *Dirofilaria immitis* infection in dogs. *Am. J. Vet. Res.* 1992, **54**, 920-926.
19. Calvert C.A., Rawlings C.A.: Pulmonary manifestations of heartworm disease. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 1995, **15**, 991-998.
20. Rawlings C.A., Losonsky J.M., Schaub R.G.: Postadulthood changes in *Dirofilaria immitis*-infected beagles. *Am. J. Vet. Res.* 1983, **44**, 8-13.
21. Osborne C.A., Hammer R.F., O'Leary T.P.: Renal manifestation of canine dirofilariosis. W: Otto G.F. (edit.): *Proceedings of the Heartworm Symposium' 80*, American Heartworm Society, Edwardsville, Kansas 1980.
22. Atkins C.E., Atwell R.B., Dillon A.R.: Guidelines for the diagnosis, treatment and prevention of heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection in cats. *Compend. Cont. Educ. Pract. Vet.* 1997, **19**, 422-428.
23. Miller M.W.: Canine heartworm disease. *Clinical Techniques in Small Animal Practice* 1998, **13**, 113-118.
24. Miller M.W.: Feline dirofilariosis. *Clinical Techniques in Small Animal Practice* 1998, **13**, 99-109.
25. Hagio M.: Two-dimensional echocardiography for the detection of *Dirofilaria immitis* in the right heart and adjacent vessels of the dogs. *J. Jpn. Vet. Med. Assoc* 1986, **39**, 74-79.
26. McTier T.L.: A guide to selecting adult heartworm antigen tests. *Vet. Med.* 1994, **89**, 528-533.
27. McCall J., McTier T.L., Supakorndej N.: Evaluation of the sensitivity of heartworm antigen test kits using whole blood and/or serum from heartworm-infected dogs. *Proc Ann. Meet. AAVP* 1994, 9.
28. DiSacco B., Vezzoni A.: Clinical classification of heartworm disease for the purpose of adding objectively to the assessment of therapeutic efficacy of adulticidal drugs in the field. W: Soll M. D. (edit.): *Proceedings of the Heartworm Symposium' 92*, American Heartworm Society, Batavia Ill 1992.
29. Dunavent B., Keister D.M., Tanner P.A.: Correlation between heartworm disease classification, serum antigen concentration and associated clinical pathology parameters. W: Soll M.D. (edit.): *Proceedings of the Heartworm Symposium' 95*, American Heartworm Society, Batavia Ill 1995.
30. Keister D.M., Tanner P.A., Neo N.J.: Immiticide: review of discovery, development and utility. W: Soll M.D. (edit.): *Proceedings of the Heartworm Symposium' 95*, American Heartworm Society, Batavia Ill 1995.
31. Miller M.W., Keister D.M., Tanner P.A.: Clinical efficacy of melarsomine dihydrochloride (RM340) and thiocercamide in dogs with moderate (class 2) heartworm disease. W: Soll M.D. (edit.): *Proceedings of the Heartworm Symposium' 95*, American Heartworm Society, Batavia Ill 1995.
32. Jackson R.F.: Two-day treatment with thiocercamide for canine heartworm disease. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1963, **142**, 23-27.
33. Courtney C.H., Sundlof S.F., Jackson R.F.: New dose schedule for the treatment of canine dirofilariasis with thiocercamide. W: Otto G.F. (edit.): *Proceedings of the Heartworm Symposium'86*, American Heartworm Society, Washington DC 1986.
34. Blair L.S., Malatesta P.F., Ewanciw D.V.: Dose-response of ivermectin against *Dirofilaria immitis* microfilariae in dogs with naturally acquired infections. *Am. J. Vet. Res.* 1984, **44**, 91-95.
35. Blagburn B.L., Hendrix C.M., Lindsay D.S.: Post-adulticide milbemycin oxime microfilaricidal activity in dogs naturally infected with *Dirofilaria immitis*. W: Soll M.D. (edit.): *Proceedings of the Heartworm Symposium' 95*, American Heartworm Society, Batavia Ill 1995.
36. Zygnier W.: Choroby pasożytnicze przenoszone przez stawonogi zagrażające psom wyjeżdżającym do europejskich krajów Basenu Morza Śródziemnego oraz Portugalii, Część I – Filariozy i leiszmaniazoza. *Życie Wet.* 2006, **81**, 530-535.
37. Svobodova Z, Svobodova V, Genchi C – *Dirofilaria repens* infection in dogs in the Czech Republic. 2007 (free communications – www.ivis.org/proceedings/dirofilaria/2007/svobodova.pdf).
38. Svobodova V, Svobodova Z., Beladicova V., Valentova D.: First cases of canine dirofilariosis in Slovakia: a case report. *Vet Med. – Czech* 2005, **50**, 510-512.
39. Cielecka D., Szymańska K., Salamatin R., Tomaszewska A.: Przypadek inwazji *Dirofilaria repens* (Leidy, 1856) (Nematoda: Filarioidea: Onchocercidae) u pacjenta w Warszawie. *Wiad. Parazyt.* 2007, **53** (suplement), 165.
40. Genchi C., Rinaldi C., Cringoli G.: Human dirofilariasis due to *Dirofilaria* (*Nochtiella*) *repens*: an update of world literature from 1995 to 2000. *Parasitologia* 2000, **42**, 231-254.