

Nuove linee guida per
la prevenzione,
la diagnosi
e il trattamento della
filariosi cardiopolmonare
(*Dirofilaria immitis*)
nei cani



AMERICAN
HEARTWORM
SOCIETY
EST. 1974

Grazie ai nostri sponsor generosi:



Science For A Better Life



zoetis



Stampato con un sussidio alla formazione da parte di IDEXX Laboratories. Microfotografie per gentile concessione di Bayer HealthCare.
© 2014 American Heartworm Society | PO Box 8266 | Wilmington, DE 19803-8266 | E-mail: info@heartwormsociety.org



Nuove linee guida per
la prevenzione, la diagnosi
e il trattamento della
filariosi cardiopolmonare
(*Dirofilaria immitis*)
nei cani
(ultima revisione: luglio 2014)

CONTENUTO

Clicca sui link sottostanti per accedere a ciascuna sezione.

Premessa	3
CONSIDERAZIONI GENERALI	3
EPIDEMIOLOGIA	3
<i>Figura 1. Grafico del profilo di un' isola di calore urbana.</i>	
BIOLOGIA E CICLO DI VITA	5
<i>Figura 2. Il ciclo biologico della filaria cardiopolmonare.</i>	
PREVENZIONE DELLA FILARIOSI CARDIOPOLMONARE	6
Lattoni macrociclici	
Alcuni farmaci e altre sostanze che inibiscono le P-glicoproteine	
Segnalazioni di mancanza di efficacia	
SCREENING DIAGNOSTICO PRIMARIO	10
Tempistiche del test per ottenere risultati ottimali	
Test per la ricerca delle microfilarie e degli antigeni	
Test per la ricerca degli antigeni	
Test per la ricerca delle microfilarie	
<i>Figura 3. Acanthocheilonema reconditum (in alto) e Dirofilaria immitis (sotto).</i>	
Considerazioni sull'esecuzione del test in seguito di mancato rispetto della compliance e/o in seguito al passaggio ad un altro regime di profilassi	
<i>Figura 4. Il protocollo di esame in seguito a mancata compliance comprende l'esecuzione di tre test durante primo anno, successivamente test annuali.</i>	
ALTRI SISTEMI DIAGNOSTICI	13
Esame radiografico del torace	
<i>Figura 5. Infezione moderata.</i>	
<i>Figura 6. Infezione grave.</i>	
Ecocardiografia	
<i>Figura 7. Immagine ecocardiografica</i>	
VALUTAZIONE CLINICA PRIMA DELL'IMPIEGO DI UN ADULTICIDA	14

PRINCIPI DI TRATTAMENTO	15
<i>Tavola 1. S Segni clinici della filariosi cardiopolmonare nei cani</i>	
TERAPIA ADULTICIDA	16
Melarsomina dicloridrato	
Tromboembolismo polmonare	
TERAPIA AGGIUNTIVA	17
Steroidi	
FANS/Aspirina	
Doxiciclina	
<i>Figura 8. Lesioni polmonari associate alla morte delle filarie in cani infestati sperimentalmente, trattati con ivermectina e doxiciclina prima della somministrazione di melarsomina.</i>	
Lattoni macrociclici	
<i>Figura 9. Sequenza temporale dello sviluppo di D immitis, che mostra i periodi di sensibilità ai lattoni macrociclici e alla melarsomina. La linea tratteggiata rappresenta il periodo in cui D immitis è considerata non sensibile a entrambi i trattamenti.</i>	
Lattoni acrociclici/Doxiciclina	
PROTOCOLLO DI TRATTAMENTO RACCOMANDATO DALLA AMERICAN HEARTWORM SOCIETY	
<i>Tavola 2. Protocollo di trattamento raccomandato dall'American Heartworm Society</i>	
RIMOZIONE CHIRURGICA DELLE FILARIE ADULTE	20
Sindrome della vena cava (emoglobinuria da filariosi cardiopolmonare)	
<i>Figura 10. Sindrome della vena cava.</i>	
<i>Figura 11. Rimozione chirurgica delle filarie.</i>	
Infezione a livello dell'arteria polmonare	
TERAPIE ALTERNATIVE	22
Somministrazione a lungo termine di lattoni macrociclici	
Fitoterapie	
CONFERMA DELL'EFFICACIA ADULTICIDA	22
ELIMINAZIONE DELLE MICROFILARIE	23
INTERVENTI CHIRURGICI ELETTIVI IN CANI CON FILARIOSI CARDIOPOLMONARE	23
RIFERIMENTI	24

Realizzato dal **Dr. C. Thomas Nelson, Dr. John W. McCall** e dal **Dr. Doug Carithers** (supervisore) e approvato dal Comitato Esecutivo dell'American Heartworm Society (Componenti: **Dr. Stephen Jones**, Presidente; **Dr. Wallace Graham**, Past President; **Dr. Cristiano von Simson**, Vice Presidente; **Dr. Robert Stannard**, Tesoriere; **Dr. Doug Carithers**, supervisore **Dr. Patricia Payne, Dr. Chris Rehm, Dr. Charles Thomas Nelson, Dr. Martha Smith-Blackmore, Dr. Elizabeth Clyde e Dr. Bianca Zaffarano** Membri del Comitato; **Dr. Matthew Miller**, Presidente del Simposio; **Dr. Clarke Atkins**, Co-Presidente del Simposio; **Dr. John McCall**, Supervisore Aggiunto; **Dr. Mike Loenser e Dr. Tony Rumschlag**, Membri di Diritto). Riferimenti aggiunti ottobre 2015 da **Christopher Evans, MS**, Research Professional II, Department of Infectious Diseases, College of Veterinary Medicine, University of Georgia.

Premessa

Queste linee guida sostituiscono le edizioni precedenti e si basano sulle più recenti informazioni presentate al Simposio Triennale dell'American Heartworm Society del 2013, sulle nuove ricerche e su ulteriori esperienze cliniche. Le linee guida per la prevenzione, diagnosi e trattamento della filariosi cardiopolmonare nei gatti sono contenute in un documento simile relativo alla specie felina (<http://heartwormsociety.org/veterinary-resources/feline-guidelines.html>).

CONSIDERAZIONI GENERALI

- **Diagnostica:** L'American Heartworm Society raccomanda di eseguire il test per la ricerca degli antigeni e delle microfilarie una volta l'anno. (Poiché l'interpretazione dei risultati diagnostici è diventata più complessa, si consiglia di consultare la sezione "Test per la ricerca degli antigeni e delle microfilarie" per ottenere informazioni più complete).
- **Terapia preventiva:** L'American Heartworm Society raccomanda di effettuare la chemioprolifassi durante tutto il corso dell'anno per prevenire la filariosi cardiopolmonare, controllare altri parassiti patogeni e/o zoonotici e favorire il rispetto delle indicazioni terapeutiche. Quest'ultimo aspetto è particolarmente importante alla luce della presenza documentata di sotto popolazioni di *D immitis* resistenti.
- **Terapia adulticida:** L'American Heartworm Society raccomanda l'uso di doxiciclina e di un lattone macrociclico prima del trattamento con tre dosi

di melarsomina (una iniezione pari a 2.5 mg/kg seguita almeno un mese più tardi da due iniezioni alla stessa dose a 24 ore di distanza) per il trattamento della filariosi cardiopolmonare sia nei casi di cani sintomatici che asintomatici. Qualsiasi metodo che adotti l'utilizzo del solo lattone macrociclico come adulticida a lento effetto non è raccomandabile.

EPIDEMIOLOGIA

La filariosi cardiopolmonare del cane è stata diagnosticata in tutto il mondo, compreso i 50 stati americani. Negli Stati Uniti, la filariosi cardiopolmonare è considerata, almeno a livello regionale, endemica in ciascuno dei 48 stati contigui, Hawaii, Porto Rico, Isole Vergini Statunitensi e Guam (Bowman et al, 2009; Kozek et al, 1995; Ludlam et al, 1970). Non è stata documentata la trasmissione di filariosi cardiopolmonare in Alaska. In ogni caso ci sono regioni centrali dell'Alaska nelle quali si trovano zanzare vettori e condizioni climatiche che permettono la trasmissione della filariosi cardiopolmonare per brevi periodi (Darsie and Ward, 2005; Slocombe et al, 1995; Terrell, 1998). Pertanto, l'introduzione di cani microfilaremi o di canidi selvatici potrebbe costituire una fonte di infezione per la trasmissione della filariosi cardiopolmonare in questo stato. Il trasferimento di cani microfilaremi e l'espansione territoriale di canidi selvatici microfilaremi in altre zone degli Stati Uniti continuano a essere importanti fattori che contribuiscono a promuovere la diffusione del parassita, come la presenza ubiquitaria di una o più specie di zanzare vettore-competente che rende possibile la trasmissione ovunque vi siano contemporaneamente un serbatoio di infezione e condizioni climatiche favorevoli. Variazione in uno qualsiasi di questi fattori può avere un effetto significativo sul potenziale di trasmissione in un'area geografica specifica.

I cambiamenti ambientali, sia il naturale cambiamento climatico che quelli creati dall'uomo, e il movimento degli animali hanno accresciuto il potenziale infettivo della filariosi cardiopolmonare. Lo sviluppo immobiliare, commerciale e residenziale, in aree non endemiche e in aree di bassa incidenza ha portato alla diffusione e al conseguente aumento della prevalenza della filariosi cardiopolmonare grazie all'alterazione del drenaggio dei terreni incolti e la fornitura di acqua ai nuovi siti residenziali. Negli Stati Uniti occidentali, l'irrigazione e la piantumazione hanno ampliato l'habitat dell'*Aedes*

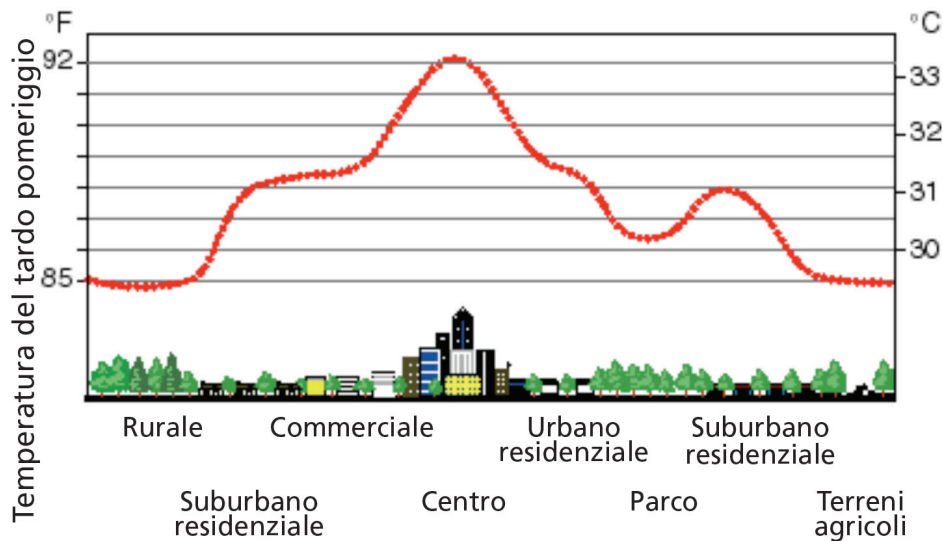


Figura 1. Grafico del profilo di un' isola di calore urbana. Da <http://eetd.lbl.gov/Heatsland/HighTemps/>.

sierrensis (Western treehole mosquito), ovvero il vettore principale per la trasmissione della filariosi cardiopolmonare in quegli stati (Scoles et al, 1993).

Aedes albopictus (zanzara tigre asiatica), che è stata introdotta nel Porto di Houston nel 1985, si è ormai diffusa al nord, avvicinandosi al Canada, e sono state identificate alcune colonie isolate in aree degli stati occidentali (Scoles and Dickson, 1995). Questa zanzara che abita le zone urbane è in grado di riprodursi in piccoli contenitori, come i vasi di fiori (Benedict et al, 2007). L'espansione urbana ha portato alla formazione di "isole di calore", come edifici e parcheggi che trattengono il calore durante il giorno (Figura 1), creando microclimi che facilitano lo sviluppo delle larve di filaria all'interno delle zanzare vettore durante i mesi più freddi, allungando così la stagione della trasmissione (Morchón et al, 2012).

Se i vettori espandono il loro territorio, il numero di animali infestati continuerà ad aumentare. Un prerequisito fondamentale per la trasmissione della filariosi cardiopolmonare è un clima che fornisce temperatura e umidità adeguate per mantenere in vita una colonia di zanzare, oltre a fornire il calore sufficiente per consentire la maturazione delle microfilarie ingerite in larve infestanti di terzo stadio all'interno dell'ospite intermedio. È stato dimostrato che la maturazione delle larve, all'interno di tre specie di zanzara, cessa a temperature inferiori a 14°C (Christensen and Hollander, 1978; Fortin and Slocombe, 1981). La trasmissione della filariosi cardiopolmonare si riduce nei mesi invernali ma la presenza di microclimi nelle zone urbane suggerisce che il rischio di trasmissione non è mai pari a zero.

Inoltre, alcune specie di zanzara sono in grado di svernare allo stadio adulto. Anche se lo sviluppo larvale della filariosi cardiopolmonare in queste zanzare può arrestarsi alle temperature più fredde, lo sviluppo riprende rapidamente non appena torna il caldo (Ernst and Slocombe, 1983).

La durata della stagione di trasmissione della filariosi cardiopolmonare alle latitudini temperate è strettamente dipendente dall'accumulo di calore sufficiente a permettere lo sviluppo delle larve allo stadio infestante all'interno della zanzara (Knight and Lok, 1998; Lok and Knight, 1998). I mesi più importanti per la trasmissione della filariosi cardiopolmonare nell'emisfero settentrionale sono in genere luglio e agosto. Alcuni modelli prevedono che la trasmissione della filariosi cardiopolmonare nel territorio continentale degli Stati Uniti sia limitata a circa 6 mesi al di sopra del 37° parallelo, che corrisponde al confine di stato tra la Virginia e la Carolina del Nord (Guerrero et al, 2004). Se, da un lato, le previsioni di trasmissione basate su modelli che utilizzano dati climatici suscitano l'interesse degli studiosi, in genere non riescono a prendere in considerazione diversi fattori potenzialmente importanti, come ad esempio l'influenza del microclima, abitudini biologiche uniche e adattamenti delle zanzare vettore, variazioni del tempo necessario allo sviluppo larvale, l'aspettativa di vita della zanzara, e le fluttuazioni della temperatura. Le mappe utilizzate per prevedere il rischio di trasmissione danno per scontato che le zanzare vettore vivano solo un mese, mentre alcuni importanti specie di zanzare vettore vivono e si riproducono per periodi molto più lunghi, compreso *Aedes albopictus* (3 mesi) (Löwenberg Neto and

Navarro-Silva, 2004), *Aedes sticticus* (3 mesi) (Gjullin et al, 1950), *Ochlerotatus* (precedentemente *Aedes*) *trivittatus* (2 mesi) (Christensen and Rowley, 1978), *Aedes vexans* (2 mesi) (Gjullin et al, 1950), e *Ochlerotatus* (precedentemente *Aedes*) *canadensis* (parecchi mesi) (Pratt and Moore, 1960). Ci sono anche documentati casi in cui *Anopheles quadrimaculatus* ibernata è sopravvissuta per 4-5 mesi (Hinman and Hurlbut, 1940), perciò le mappe utilizzate per prevedere il rischio di infezione solitamente riportano periodi di trasmissione più corti di quelli reali.

Studi condotti su zanzare catturate in modo casuale in differenti località hanno dimostrato che le zanzare mostrano percentuali di infezione da filariosi cardiopolmonare varianti dal 2% al 19.4% all'interno di aree riconosciute come endemiche. Quando il campionamento delle zanzare era ristretto a canili dove erano ospitati cani positivi, le percentuali di infezione delle zanzare risultavano pari al 30% nei luoghi adiacenti e al 74% all'interno delle strutture (McKay et al, 2013). Sulla base di questi dati, è importante proteggere gli animali domestici dall'esposizione alle zanzare. Ciò è possibile grazie a misure di controllo ambientale, tra cui il trattamento di bacini di acqua stagnante con insetticidi regolatori di crescita (cosiddetti IGR), combinati con sistemi per eliminare le zanzare adulte (spray, trappole di CO₂, ecc.). Oltre al controllo delle zanzare, tenere gli animali domestici all'interno durante le ore maggiore attività delle zanzare e/o utilizzare repellenti per zanzare sugli animali domestici possono essere misure per ridurre il rischio di infezione.

Una volta che un serbatoio di canidi microfilarici, domestici o selvatici, si è instaurato e sfugge alle cure veterinarie, la presenza ubiquitaria di una o più specie di zanzare vettore-competente rende possibile la trasmissione e l'eradicazione diventa improbabile.

BIOLOGIA E CICLO DI VITA

Il cane domestico e alcuni canidi selvatici sono i naturali ospiti definitivi per la filariosi cardiopolmonare e perciò rappresentano la principale fonte di infezione. Anche ospiti meno idonei, come gatti e furetti, di tanto in tanto hanno bassi e transitori livelli di microfilaremia, perciò, teoricamente, possono essere considerati come fonte limitata di infezione per le zanzare durante questi brevi periodi di microfilaremia (McCall et al, 2008b).

Il ciclo biologico di *Dirofilaria immitis* è relativamente

lungo (solitamente 7-9 mesi) se paragonato a quello dei principali nematodi parassiti (Figura 2) (Kotani and Powers, 1982). La zanzara ricettiva si infesta nel momento in cui assume un pasto ematico da un ospite microfilaricemo. Le microfilarie non possono svilupparsi in individui adulti senza prima essersi sviluppate in larve di primo stadio (L1) nei tubuli malpighiani della zanzara, successivamente mutano in larve di secondo stadio (L2), e infine mutano in un larve di terzo stadio (L3) infestante (Taylor, 1960). Le larve di terzo stadio poi migrano attraverso la cavità del corpo fino alla testa e all'apparato boccale della zanzara dove divengono infestanti. Il tempo necessario affinché le microfilarie raggiungano lo stadio infestante all'interno delle zanzare dipende dalla temperatura. A 27°C e con 80% di umidità relativa, lo sviluppo richiede circa da 10 a 14 giorni, mentre con temperature più basse richiede più tempo (Kartman, 1953; Slocombe et al, 1989).

Quando la zanzara assume un pasto ematico, le larve infestanti fuoriescono dalla parte terminale dell'apparato boccale della zanzara ed emergono all'interno di una gocciolina di emolinfa (il sangue della zanzara) sulla cute dell'ospite (McGreevy et al, 1974). Immediatamente dopo il pasto ematico, queste larve sessualmente differenziate penetrano all'interno dell'animale attraverso la ferita causata dall'apparato boccale della zanzara. Apparentemente, le larve di terzo e il quarto stadio (L3 e L4) viaggiano lungo le fibre muscolari durante la loro migrazione, mentre i giovani (adulti immaturi) penetrano i muscoli e infine le vene, che li trasportano verso il cuore e i polmoni (Kotani and Powers, 1982; Kume and Itagaki, 1955; Lichtenfels et al, 1985). La muta da L3 a L4 inizia fin dal giorno 3 e termina al più tardi verso il giorno 9 –12. Le L4 mutano nello stadio finale dal giorno 50 al 70. Gli adulti immaturi (quinto stadio) raggiungono i vasi polmonari a partire dal giorno 67 e saranno tutti arrivati tra il giorno 90 e 120. I vermi che raggiungono per primi i vasi polmonari tra il giorno 67 e 85 misurano da 25,4 mm a 38,1 mm di lunghezza. Successivamente, i vermi adulti aumentano in lunghezza, con le femmine che aumentano di almeno dieci volte divenendo sessualmente mature all'incirca il giorno 120 dopo l'infezione. I cani sviluppano infezioni patenti (cioè con microfilarie circolanti) già dopo 6 mesi ma di solito, tra i 7 e i 9 mesi dopo l'infezione (Kotani and Powers, 1982; Orihel, 1961).

Quando i giovani adulti raggiungono i polmoni, il flusso sanguigno li spinge all'interno delle arterie

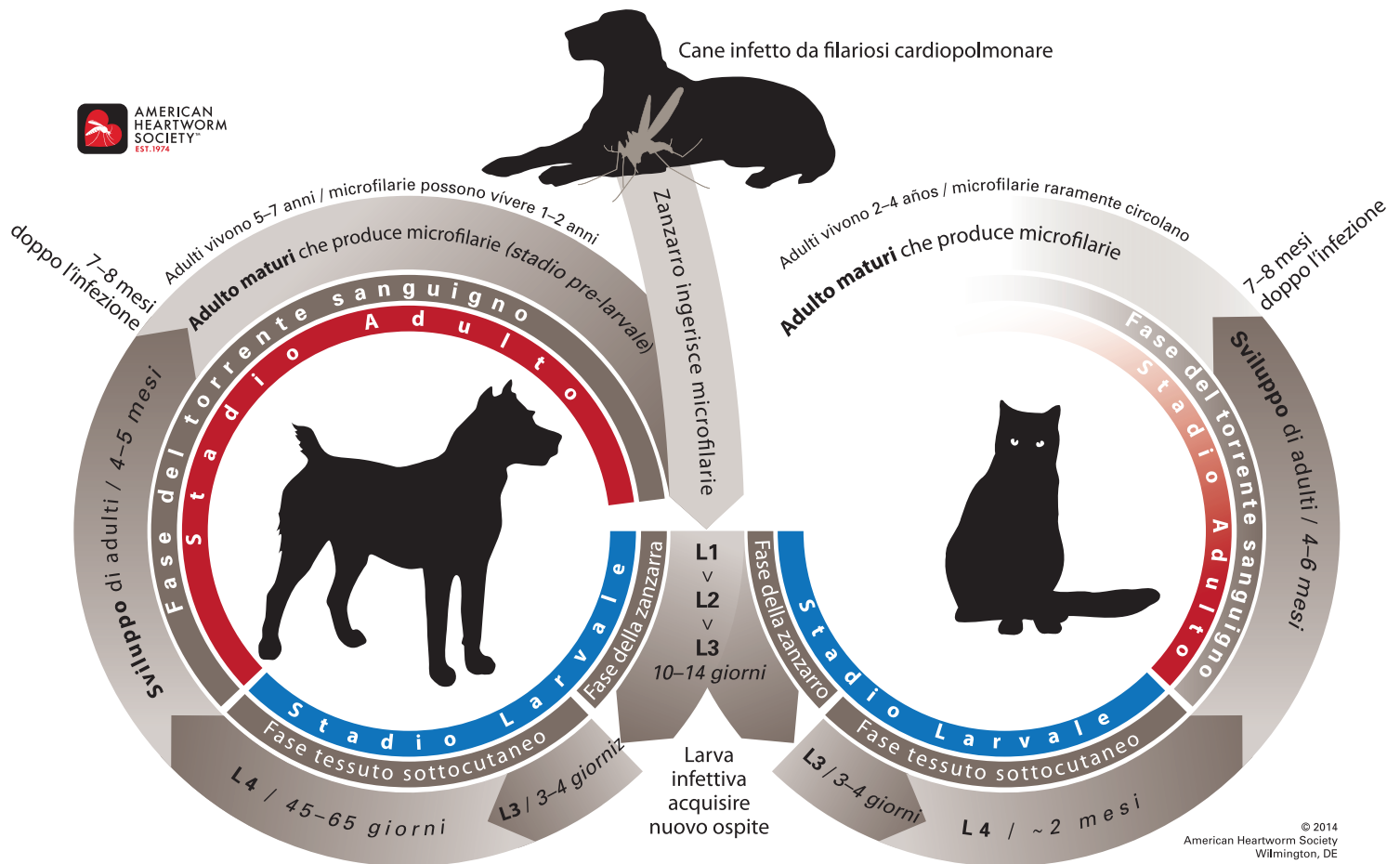


Figura 2. Il ciclo biologico della filaria cardiopolmonare.

polmonari (Rawlings, 1980). Poiché i vermi crescono e aumentano la loro taglia, vanno a occupare arterie di diametro sempre maggiore fino a che raggiungono il completo stadio di sviluppo. La localizzazione finale dei vermi adulti maturi sembra dipendere principalmente dalla taglia del cane e dal numero di parassiti. Un cane di taglia media (ad esempio il Beagle) con un numero ridotto di parassiti (≤ 5) di solito ha vermi principalmente localizzati nelle arterie lobari e nell'arteria polmonare principale. Quando il numero di parassiti aumenta, i vermi possono anche posizionarsi nel ventricolo destro. I cani con più di 40 parassiti adulti hanno un'elevata probabilità di mostrare i sintomi della cosiddetta sindrome della vena cava, dove i parassiti si muovono nel ventricolo destro, atrio destro e vena cava, interferendo perciò con le funzioni valvolari e/o con il flusso sanguigno e causando emolisi, insufficienza epatica e renale e scompenso cardiaco (Atwell and Buoro, 1988; Ishihara et al, 1978; Jackson, 1975).

È importante conoscere e comprendere le modalità di trasmissione della filariosi cardiopolmonare, lo

sviluppo e il periodo di prepatenza, oltre la sensibilità dei diversi stadi di vita del parassita ai farmaci attualmente disponibili. Queste informazioni di base sono necessarie per poter selezionare efficacemente il trattamento adultocida più appropriato e il momento della sua somministrazione, oltre a fornire aspettative realistiche per il veterinario e il cliente circa l'efficacia della terapia.

PREVENZIONE DELLA FILARIOSI CARDIOPOLMONARE

La somministrazione di farmaci per la profilassi della filariosi necessita della prescrizione di da parte di un medico veterinario che abbia instaurato un valido rapporto con il cliente e il paziente. Pertanto, il medico veterinario dovrebbe discutere ampiamente dell'argomento con il proprietario. Se non esistono informazioni riguardo un precedenti trattamenti o test, è necessario eseguire il test sul paziente prima di somministrare o prescrivere la chemioprolassi. Le opzioni disponibili comprendono diversi farmaci da somministrare mensilmente o per via orale o topica, oppure per via parenterale a intervalli di 6 mesi.

È possibile prevenire la filariosi cardiopolmonare nonostante l'intrinsecamente elevata sensibilità del cane. Poiché tutti i cani che vivono in aree endemiche per la filariosi cardiopolmonare sono a rischio, la chemiopprofilassi ha una elevata priorità. È opportuno iniziare la chemiopprofilassi nei cuccioli appena ciò si rende possibile, entro e non oltre le 8 settimane di età. I cuccioli che hanno iniziato la profilassi per la filariosi cardiopolmonare dopo le 8 settimane di vita, o quelli che vivono all'aperto in zone altamente endemiche, dovrebbero essere sottoposti al test 6 mesi dopo l'inizio della profilassi e successivamente ogni anno. Prima di iniziare la profilassi nei cani più anziani (7 mesi di età o oltre) è necessario eseguire il test per la ricerca dell'antigene e delle microfilarie (v. SCREENING DIAGNOSTICO PRIMARIO). Si evita così che vi possano essere ritardi nella diagnosi di infezioni subcliniche e possibile confusione riguardo all'efficacia della profilassi in atto se una infezione preesistente dovesse diventare evidente dopo l'inizio della chemiopprofilassi (ad esempio, chemiopprofilassi iniziata durante il periodo di prepatenza).

Evidenze dimostrano che se si riduce la popolazione che funge da serbatoio per il contagio aumentando i cani sottoposti a chemiopprofilassi, è possibile riscontrare una significativa diminuzione della prevalenza dell'infezione tra i cani *non protetti* (Theis et al, 1998). Questa protezione "collaterale" amplia la copertura della chemiopprofilassi più efficacemente in quelle comunità dove la prevalenza di filariosi cardiopolmonare e la densità della popolazione canina sono entrambe relativamente basse.

Anche se non in tutto il paese è possibile che la trasmissione si verifichi nel corso di tutto l'anno, la profilassi effettuata per 12 mesi l'anno, con prodotti ad ampio spettro efficaci contro endo e/o ectoparassiti, migliorerebbe la compliance e aiuterebbe a prevenire le infezioni parassitarie patogene e/o zoonotiche.

Lattoni macrociclici

I farmaci per la prevenzione della filariosi cardiopolmonare attualmente in commercio (ivermectina, milbemicina ossima, moxidectina e selamectina) appartengono alla classe di farmaci detti lattoni macrociclici. Questi farmaci sono efficaci sulle microfilarie, le larve di terzo e quarto stadio e, in alcuni casi, in seguito ad uso continuato, contro i gli adulti di *filaria cardiopolmonare* (McCall et al, 2001, 2008b). Poiché i loro effetti filaricidi sulle

larve precardiache si possono ottenere tramite somministrazione pulsate a dosi molto basse, hanno un eccellente rapporto tossico/terapeutico. I lattoni macrociclici, se somministrati secondo le indicazioni riportate sul foglio illustrativo, sono molto efficaci e sono tra i farmaci più sicuri tra quelli in uso nella medicina veterinaria.

Tutti i lattoni macrociclici utilizzati per la profilassi e somministrati via orale o topica sono indicati per un utilizzo mensile, cioè si devono somministrare con intervallo di 30 giorni tra una dose e l'altra (Paul et al, 1986). Oltre questo intervallo di tempo, l'efficacia contro le larve di tardo quarto stadio diminuisce e non è più prevedibile. I giovani adulti, che possono essere già presenti a partire dal 52° giorno dopo l'infezione, sono ancora meno sensibili a questo tipo di profilassi (McCall, 2005; McCall et al, 2001). Nel momento in cui maturano a parassiti adulti, è necessaria una somministrazione progressivamente più lunga per ottenere un elevato livello di protezione. L'estesa efficacia post-infezione dei lattoni macrociclici è una parziale tutela in caso di involontario ritardo o di omissione delle dosi programmate ma non giustifica l'allungamento dell'intervallo di 1 mese nella somministrazione delle formulazioni orali e topiche. L'efficacia contro le larve di tardo quarto stadio e i giovani adulti ha importanti implicazioni per la chemiopprofilassi in cani ai quali si è dimenticato di somministrare alcune dosi durante la stagione della trasmissione o che iniziano la profilassi durante la stagione della trasmissione e che potrebbero essere già infestati. La somministrazione continuata per 12 mesi all'annodi un farmaco per la profilassi della filariosi cardiopolmonare è estremamente importante nella maggior parte, se non in tutte, le aree degli Stati Uniti.

Alcuni cani di razza Collie e altri cani con alterata funzionalità della glicoproteina P sono particolarmente sensibili a diversi farmaci veterinari comunemente usati, compreso antidepressivi, agenti antimicrobici, oppioidi, immunosoppressori e farmaci cardiaci (v. nota laterale). Questa lista comprende anche i lattoni macrociclici essendo stati riferiti alcuni episodi di tossicità in seguito a sovradosaggio o associazioni con altri farmaci inibitori della glicoproteina P (Pulliam et al, 1985). Di solito, questi fenomeni di tossicità si verificano in seguito alla ingestione accidentale di preparazioni concentrate destinate agli animali da reddito o in seguito a errori di sovradosaggio delle medesime. Questa pratica costituisce un uso "off-label" dei

farmaci ed è, pertanto, da scoraggiare. Tutti i lattoni macrociclici, somministrati alle dosi indicate per la profilassi della filariosi, hanno dimostrato di essere sicuri per tutte le razze (Mealey, 2008).

Somministrazione orale: L'ivermectina e la milbemicina ossima sono disponibili per la somministrazione orale mensile. Alcune formulazioni sono aromatizzate e masticabili per favorire l'assunzione da parte del paziente e facilitarne la somministrazione. Le singole dosi sono confezionate in base al peso dei cani. **Per ottenere la massima efficacia, è importante effettuare la profilassi per la filariosi cardiopolmonare nel corso di tutto l'anno,** se, però, si sceglie un trattamento stagionale, è opportuno iniziare la somministrazione almeno un mese prima dell'inizio previsto della stagione della trasmissione della filariosi cardiopolmonare e, a seconda del prodotto usato, potrebbe essere necessario continuarla fino a 6 mesi dopo che la trasmissione solitamente cessa (v. la sezione sulla Mancanza di Efficacia).

Alcuni farmaci e altre sostanze che inibiscono le P-glicoproteine

Antidepressivi

Fluoxetina
Erba di San Giovanni
Paroxetina

Agenti antimicrobici

Eritromicina
Itraconazolo
Ketoconazolo

Oppioidi

Metadone
Pentazocina

Farmaci cardiaci

Verapamil
Amiodarone
Chinidina
Nicardipina

Immunosoppressori

Ciclosporina
Tacrolimus

Miscellanea

Bromocriptina
Clorpromazina
Tamoxifene
Succo di pompelmo

(Fonte: <http://www.vetmed.wsu.edu/depts-vcpl/drugs.aspx>)

Somministrazione topica: La moxidectina e la selamectina sono disponibili in formulazioni liquide per l'utilizzo topico. I parametri per il trattamento con prodotti topici sono gli stessi della chemiopprofilassi mensile a uso orale.

Somministrazione parenterale: Una singola dose di una formulazione di moxidectina a lento rilascio (SR) inoculata a livello sottocutaneo fornisce una protezione continua per 6 mesi, riuscendo così a migliorare la compliance. Per ottenere la massima protezione si raccomanda un trattamento ogni 6 mesi è raccomandato.

Segnalazioni di mancanza di efficacia

Il Centro di Medicina Veterinaria della U.S. Food and Drug Administration considera come mancanza di efficacia di un prodotto per la prevenzione della filariosi cardiopolmonare quando un cane risulta positivo al test per la filariosi cardiopolmonare nonostante la sua corretta somministrazione (dose e frequenza). Le segnalazioni di mancanza di efficacia sono conseguenza di diverse ragioni: prevenzione incompleta, mancata somministrazione del farmaco durante il periodo a rischio, mancata assunzione della dose da parte del cane, mancato assorbimento del principio attivo. Bisogna anche considerare la variabilità biologica tra gli ospiti riguardo la metabolizzazione dei farmaci e la risposta immunitaria, e la sensibilità al farmaco del parassita. Perciò risulta difficile o impossibile stabilire la causa esatta di una segnalazione di mancanza di efficacia.

Fortunatamente la maggior parte dei casi di mancanza di efficacia sono riferibili allo scarso rispetto della compliance, tra la clinica e il cliente o tra il cliente e il suo animale, piuttosto che alla inefficacia del prodotto. Un animale può infestarsi a causa della mancata o ritardata somministrazione di una singola dose preventiva, soprattutto in zone altamente endemiche. Tali aree solitamente hanno temperature miti durante la maggior parte dell'anno, abbondanza di acqua stagnante e un abbondante numero di zanzare. Di solito, in queste aree endemiche esiste anche una ampia popolazione di cani infetti e di canidi selvatici che costituiscono una riserva di infezione. Inoltre, il miglioramento della sensibilità dei test antigenici, in grado di indentificare anche infezioni sostenute da un ridotto numero di vermi femminili, può spiegare parte delle segnalazioni di mancata efficacia.

Quando si considera la possibilità di resistenza, è generalmente accettato che il polimorfismo genetico

è sempre stato presente all'interno delle popolazioni di *D immitis*, e che alleli responsabili della resistenza sono presenti in un gene o in geni multipli, questi alleli possono indurre la riduzione o la perdita di sensibilità nei confronti dei lattoni macrociclici (Bourguinat et al, 2011b). Ciò che non è noto è la frequenza di questi alleli che contribuiscono alla resistenza, il numero dei geni coinvolti e se questi alleli siano dominanti o recessivi nell'esprimere il fenotipo resistente. Il fenomeno dello sviluppo di resistenza in una popolazione è di gran lunga più complesso rispetto alla semplice presenza di alleli resistenti nei singoli individui. Altri fattori da considerare sono la biologia del parassita, l'estensione dei rifugi (popolazione di ospiti non trattata), la relativa idoneità di genotipi wild-type (sensibili) e resistenti in assenza e presenza di lattoni macrociclici. Si è visto che l'uso del prodotto in specifiche condizioni "off-label" seleziona geneticamente parassiti resistenti (Blagburn et al, 2013). I parassiti che sopravvivono possono diventare, generazione dopo generazione, una subpopolazione resistente.

Esperimenti in vitro hanno identificato microfilarie che si sono rivelate meno sensibili nei confronti di alte dosi di tutti i lattoni macrociclici (Blagburn et al, 2010, 2011). Queste microfilarie esibiscono un allele su un gene della glicoproteina-P che differisce da quello della popolazione generale. Successivi esperimenti in vitro sulla inibizione della migrazione larvale (Larval Migration Inhibition Assay – LMIA), che hanno utilizzato larve L3 derivate da quegli stessi ceppi di microfilarie, hanno dimostrato che non vi è una significativa differenza nella sensibilità di questi ceppi se li si confronta con altri ceppi sensibili (Evans, 2011). Questo suggerisce che, gli esperimenti in vitro sulla inibizione della migrazione larvale stanno valutando un fenotipo che non è associato alla resistenza, cioè i ceppi testati, presi tra quelli ottenuti in seguito ad un fallimento della profilassi, non sono resistenti, oppure sono coinvolti altri fattori che non sono ancora noti.

Diversi studi pubblicati hanno esaminato la sensibilità nei confronti dei farmaci per la profilassi della filariosi del ceppo MP3¹, rinvenuto nel nord est della Georgia. Uno studio ha confrontato

l'efficacia di una singola dose orale di ivermectina e milbemicina, somministrate alle dosi indicate per la profilassi, nel corso di una infezione sperimentale con 50 larve L3 del ceppo MP3 effettuata in gruppi di 14 cani da laboratorio ciascuno (Snyder et al, 2011b). Dal gruppo trattato con ivermectina e da quello trattato con milbemicina è stato isolato un singolo parassita adulto ciascuno, sviluppatosi dalle circa 700 larve L3 inoculate in totale. Uno secondo studio ha valutato l'efficacia di una singola dose orale di ivermectina o milbemicina o di una dose di moxidectina o selamectina per via topica, sempre somministrate alle dosi indicate per la profilassi, in seguito ad una infezione sperimentale con 100 larve L3 effettuata in gruppi di 8 cani ciascuno (Blagburn et al, 2011). In questo secondo studio, 7 cani su 8 appartenenti ai gruppi trattati con ivermectina, milbemicina, e selamectina risultavano infestati da 23 - 24 vermi adulti ciascuno, a partire dalle circa 800 larve L3 inoculate. Nessun verme adulto è stato rinvenuto nel gruppo di cani trattati con la moxidectina. Un terzo studio che utilizzava larve del ceppo MP3 ha valutato l'efficacia tre dosi mensili di milbemicina in seguito ad una infezione sperimentale effettuata con 40 larve L3 in 10 cani (Snyder et al, 2011a). Nessun verme adulto è stato rinvenuto in nessuno di questi 10 cani.

Considerando questi tre studi nel loro complesso, è evidente che isolati del ceppo MP3 hanno mostrato una minore sensibilità nei confronti di una singola dose di ivermectina, milbemicina e selamectina ma si sono dimostrati sensibili a tre dosi mensili consecutive di milbemicina e a una singola dose di moxidectina somministrata per via topica. Da notare come ad un numero doppio di larve L3 inoculate corrisponda un aumento di 20 volte del numero di parassiti adulti rinvenuti. Ciò porterebbe a ipotizzare che la mancanza di efficacia possa essere correlata a gradienti di infezione e che i problemi osservati nella valle del Mississippi siano multi-fattoriali. Geneticamente gli isolati del ceppo MP3 non esibiscono lo stesso allele sul gene della glicoproteina-P che era stato evidenziato negli campioni prelevati dalla valle del Mississippi, nei quali le microfilarie mostravano una ridotta sensibilità ai lattoni macrociclici, indicazione che

¹ Il termine *ceppo* è utilizzato per designare popolazioni di vermi mantenute in laboratori. Sarebbe più corretto definire queste popolazioni come *isolati propagati*. Queste popolazioni sono composte da numerosi vermi maschi e femmine, ognuno con il loro caratteristico tipo genetico, che in fase di riproduzione sessuale porta alla produzione di prole con il proprio caratteristico aspetto genetico. Il termine Ceppo descrive in maniera più appropriata il risultato di popolazione ottenuta in modo asessuale, come i batteri.

porta a pensare che possano essere coinvolti geni multipli (Bourguinat et al, 2011a).

Durante alcuni studi in vivo le zanzare sono state nutrite microfilarie prelevate da cani con filariosi cardiopolmonare. Molti di questi cani sottoposti ad un trattamento di profilassi, pertanto le microfilarie erano state esposte a concentrazioni microfilaricide di lattoni macrociclici, quindi pre-selezionate per sviluppare resistenza ai lattoni macrociclici (Bowman et al, 2013; Kaminsky et al, 2013; Pulaski et al, 2013, 2014). Le larve L3 sono poi state raccolte e successivamente inoculate in cani da laboratorio che erano stati trattati con diversi farmaci per la profilassi della filariosi. In questi cani gli studi hanno identificato la presenza di sotto-popolazioni di *D immitis* resistenti. Ogni molecola attualmente in commercio, in ogni forma di somministrazione (per via orale, topica e parenterale) ha mostrato qualche limite in almeno uno studio. Sembra che, sebbene i fenomeni di resistenza sembrino interessare tutti i lattoni macrociclici, differenze tra i principi attivi, dosi, e formulazione del prodotto possono influire sulla percentuale dei sospetti fallimenti (Blagburn et al, 2013).

Anche la relazione ospite-parassita può influenzare l'efficacia della profilassi. L'esatto meccanismo d'azione dei lattoni macrociclici quando utilizzati alle dosi indicate per la prevenzione non è del tutto noto. Uno studio effettuato su *Brugia malayi*, un nematode appartenente alla famiglia delle Filariidae responsabile della filariosi linfatica nell'uomo, indica che l'ivermectina è in grado di impedire al parassita di secernere una proteina immunomodulante dalla vescicola secretoria, esponendo le microfilarie alla risposta immunitaria dell'ospite (Moreno et al, 2010). Questa scoperta suggerisce che i lattoni macrociclici potrebbero agire in combinazione con il sistema immunitario dell'ospite per eliminare le microfilarie di *Brugia*. Un altro studio effettuato su microfilarie di *Dirofilaria immitis*, ha dimostrato che, in presenza di ivermectina nel sangue intero, i leucociti aderiscono alle microfilarie (Vatta et al, 2014). Al contrario, in assenza di ivermectina tale adesione dei globuli bianchi alle microfilarie non avviene. Inoltre, i ricercatori hanno riscontrato che in assenza di siero non si osservava adesione di cellule alle microfilarie anche in presenza di ivermectina (Abraham and Grieve, 1990; Abraham et al, 1988). In altri studi effettuati su larve di *D immitis* è stato osservato lo stesso schema di adesione. L'insieme di questi dati porta a credere che l'ivermectina, come gli altri lattoni macrociclici, agiscono su microfilarie e larve

di *D immitis* influenzando la loro capacità di inibire il riconoscimento da parte del sistema immunitario, esponendole così alla risposta immunitaria.

Attraverso uno studio attualmente in corso si sta cercando di capire perché la maggior parte delle segnalazioni di mancata efficacia sono prevalentemente localizzate nella valle del Mississippi. Ogni nuovo studio aggiunge ulteriore conoscenza e aumenta la nostra comprensione, ma genera anche nuove domande. La complessa biologia del parassita, l'effetto del cambiamento delle condizioni ambientali che colpiscono le popolazioni di vettori, le dinamiche delle popolazioni degli ospiti (selvatici e domestici), e persino le dinamiche delle interazioni umane con gli animali domestici sono altrettanto rilevanti. A fronte di numerosi e variabili fattori, è fondamentale che tutti, all'interno della professione veterinaria, si assicurino che i clienti comprendano le implicazioni della filariosi cardiopolmonare, conoscano il rischio di infezione presente nella loro area, sottopongano i loro animali a una corretta profilassi per dodici mesi l'anno. I lattoni macrociclici continuano a essere la migliore e la sola opzione per la prevenzione della filariosi cardiopolmonare e si devono intensificare gli sforzi per aumentare il numero di cani sottoposti a profilassi. Occorre mettere in pratica sistemi che aiutino i proprietari di animali domestici a ricordarsi di acquistare e somministrare i prodotti nei tempi corretti.

È ormai generalmente riconosciuta la presenza di isolati casi di resistenza nella popolazione di *D immitis*. L'estensione, il grado di diffusione, e le ragioni alla base dei fenomeni di resistenza non sono ancora completamente noti e ci sono ancora controversie attorno a questi argomenti. Tutti concordano sul fatto che la compliance del proprietario sia il fattore più importante nel "fallimento" della prevenzione. C'è un comune accordo nel sostenere che: è preoccupante la resistenza riscontrata nel corso di infezioni sperimentali effettuate con un numero elevato di larve, i prodotti attualmente disponibili sono altamente efficaci e che questi dovrebbero continuare a essere utilizzati secondo le indicazioni dei produttori.

SCREENING DIAGNOSTICO PRIMARIO

Il test annuale è parte integrante del processo che garantisce che la profilassi sia messa in atto e mantenuta correttamente. Qualora l'infezione venga diagnosticata, occorre effettuare per tempo un trattamento per ridurre al minimo la patologia e la

potenziale selezione di sotto-popolazioni resistenti.

Tempistiche del test per ottenere risultati ottimali

Attualmente i test disponibili per la ricerca degli antigeni della filariosi rilevano la proteina secreta principalmente da femmine adulte di *Dirofilaria immitis* (Courtney and Cornell, 1990), invece, riguardo il test per la ricerca delle microfilarie, molto utili sono quelli che si basano sulla concentrazione delle microfilarie stesse (test di Knott modificato o per filtrazione) poiché consentono maggiore sensibilità (Georgi and Georgi, 1992; Knott, 1939). Gli antigeni della filariosi e le microfilarie possono essere identificati a partire da 5 e 6 mesi dopo l'infezione, rispettivamente. L'antigenemia di solito precede di poche settimane la comparsa delle microfilarie, ma talvolta può comparire più tardi. È possibile che gli antigeni non vengano mai rilevati o siano rilevati solo sporadicamente nei cani infestati solamente da un limitato numero di parassiti femmina (Atkins, 2003; McCall, 1992). Inoltre, è possibile che nei cani infestati e sottoposti a profilassi con lattoni macrociclici gli antigeni non siano presenti nel sangue fino a circa 9 mesi dopo l'infezione (McCall et al, 2001). Per determinare quando il test potrebbe essere utile, è opportuno aggiungere un periodo di pre-rilevamento alla data approssimativa in cui potrebbe essere avvenuta l'infezione. Un intervallo ragionevole è 7 mesi. Pertanto, non vi è alcuna necessità o giustificazione per eseguire il test per l'antigene e le microfilarie su un cane prima dei 7 mesi di vita.

Test per la ricerca delle microfilarie e degli antigeni

Se si intende eseguire lo screening su una popolazione di cani asintomatici o si cerca di verificare una sospetta infezione, il metodo diagnostico più sensibile è rappresentato dal test per la ricerca degli antigeni. Tuttavia, ora si consiglia di eseguire il test per la ricerca delle microfilarie contemporaneamente al test antigenico. Ciò è particolarmente indicato quando il sospetto di infezione è elevato o in assenza di informazioni sullo stato della prevenzione (ad esempio, cani presi in adozione dai canili). Si è notato come in alcuni cani con filariosi cardiopolmonare, la formazione di complessi di antigene-anticorpo può portare a risultati falsi negativi al test antigenico. Questi cani saranno negativi per la ricerca dell'antigene ma positivi per le microfilarie; uno studio condotto su cani di un canile localizzato nel sud degli Stati Uniti ha riportato questo fenomeno con una percentuale del 71% (Velasquez et al, 2014). È importante che questi cani vengano identificati e trattati per ridurre

la potenziale che selezione di sotto-popolazioni di parassiti resistenti. Ci saranno anche casi in cui un cane infestato risulterà negativo sia all'antigene, sia alle microfilarie.

Test per la ricerca degli antigeni

Per l'identificazione degli antigeni circolanti di *D immitis* sono disponibili due metodiche: una che impiega la tecnologia ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) e l'altra che si basa sull'immunocromatografia. Ciascuna delle due tipologie di test ha dimostrato di essere clinicamente utile. I test per la ricerca degli antigeni della filariosi attualmente disponibili hanno una specificità vicina al 100% e sono in grado di identificare la maggior parte delle infezioni "occulte" (assenza di microfilarie circolanti in presenza di parassiti adulti) caratterizzate dalla presenza di almeno un parassita adulto di sesso femminile (Atkins, 2003; Courtney and Zeng, 2001; Lee et al, 2011; McCall et al, 2001). Esistono, invece, differenze di sensibilità specialmente nei casi in cui l'infezione è caratterizzata da un ridotto numero di parassiti adulti e/o bassa antigenemia. Al momento non vi sono test validati capaci di individuare infezioni sostenute da un solo parassita maschio adulto.

Per ottenere risultati affidabili e riproducibili, è necessario utilizzare il test antigenico in stretta conformità alle istruzioni del fabbricante. L'accuratezza di tutti i test per la ricerca della filariosi cardiopolmonare in condizioni reali è influenzata dal rispetto delle istruzioni, della modalità di conservazione e della manipolazione del kit per il test e del campione. Queste operazioni sono state semplificate per numerosi test che usano dispositivi che minimizzano il numero di passaggi e parzialmente automatizzano la procedura. È possibile riscontrare risultati falsi negativi e falsi positivi. Se il test fornisce un risultato imprevisto, occorre ripeterlo. Se il risultato del test è ancora ambiguo, è opportuno rivolgersi ad un laboratorio di riferimento per una conferma indipendente. Per convalidare risultati di test antigenici debolmente positivi è possibile utilizzare test per la concentrazione delle microfilarie, radiografie del torace per rilevare i segni della filariosi cardiopolmonare, o la visualizzazione ecografica dei parassiti. Nei casi di ridotta esposizione, per i cani asintomatici si consiglia di confermare tutti i test antigenici risultati positivi prima di instaurare qualsiasi terapia adulticida.

In caso di risultato positivo al test antigenico, l'intensità del colore non può essere utilizzata

per determinare in modo attendibile il numero di parassiti presenti. La concentrazione di antigeni circolanti ha una diretta, ma imprecisa, relazione con il numero di parassiti adulti femmina presenti (Courtney, 1987). I test che utilizzano metodiche ELISA possono riconoscere risultati quantitativi, ma questi non vengono visualizzati dai test immunocromatografici. L'utilità dei test ELISA per valutare il grado di parassitosi è limitata da fattori che possono confondere il risultato come ad esempio: il transitorio aumento di antigenemia associato a morte recente di un parassita oppure la ridotta antigenemia conseguente a infezioni sostenute da giovani adulti vermi di sesso femminile e/o solamente poche femmine adulte (Grieve and Knight, 1985; Wang, 1998). Pertanto, l'analisi quantitativa dei risultati di un test antigenico ha solamente un valore teorico ed è necessario metterla in relazione con altre informazioni pertinenti. Ad esempio, il riscontro radiografico dei segni di lesioni avanzate alle arterie polmonari, tipiche di una filariosi cardiopolmonare cronica, in associazione ad una ridotta o assente antigenemia, è coerente con gli esiti di una precedente infezione che è stata eliminata, in maniera naturale o mediante terapia.

I test possono dare risultati falsamente negativi in presenza di infezioni di grado lieve, in presenza di parassiti femmina ancora immaturi, in presenza solamente di parassiti maschio oppure per il mancato rispetto delle istruzioni del kit diagnostico. In alcuni casi, come è stato documentato, complessi antigene-anticorpo possono interferire con il test antigenico determinando, di conseguenza, risultati falsamente negativi. Alcuni studi di laboratorio hanno dimostrato che riscaldando il siero si possono rompere questi complessi, rilasciare l'antigene, e ottenere risultati più accurati (Velasquez et al, 2014). Però, il riscaldamento di routine dei campioni di sangue prima dell'esecuzione del test NON È RACCOMANDATO perché è contrario alle indicazioni riportate sul foglietto illustrativo di questi prodotti. Riscaldare il siero, inoltre, potrebbe anche interferire con i risultati di test combinati che includono test anticorpali per la rilevazione di altri agenti infettivi. A causa di queste possibili interferenze, e di altre considerazioni menzionate, i risultati dei test per la ricerca della filariosi cardiopolmonare dovrebbero essere registrati solo come positivo o nessun antigene rilevato (NAR), non dovrebbero essere registrati come "negativo". I risultati dei test antigenici devono essere interpretati attentamente, prendendo in considerazione le altre informazioni cliniche disponibili. In generale, tuttavia, è meglio

considerare validi anziché respingere i risultati positivi ai test antigenici.

Test per la ricerca delle microfilarie

Nelle aree con elevata prevalenza di filariosi cardiopolmonare, molti (~ 20%) cani infestati potrebbero non essere microfilaricemi, la percentuale potrebbe essere ancora più elevata nei cani sottoposti a profilassi con lattoni macrociclici (McCall, 2005). Considerando ciò, la maggior parte dei cani microfilaricemi possono essere identificati esaminando al microscopio una goccia di sangue fresco posta sotto un vetrino copri oggetto, con questa metodica si possono osservare le microfilarie o il movimento delle cellule causato dalle microfilarie mobili (Rawlings, 1986). Movimenti serpiginosi sul posto o movimenti di anteropulsione sono indicativi della specie di *Dirofilaria* osservata, quasi sempre *D immitis* negli Stati Uniti. Il movimento può essere osservato sotto il buffy coat in un tubo per microematocrito. Questi metodi non sono sufficientemente sensibili in presenza scarsa di microfilarie (50-100 microfilarie / ml); tuttavia, pazienti con scarsa microfilaremia incorrono in un minor rischio di gravi reazioni avverse dopo la somministrazione di un microfilaricida e hanno meno probabilità di costituire un serbatoio di infezione. Per ottenere risultati più attendibili verificare la presenza o meno delle microfilarie è opportuno utilizzare una tecnica di concentrazione (test di Knott modificato o per filtrazione) (Georgi and Georgi, 1992; Knott, 1939). Il test di Knott modificato rimane il metodo preferito per osservare la morfologia delle microfilarie e misurarne le dimensioni per differenziare *D immitis* da specie non patogene di filaria quali *Acanthocheilonema* (ex *Dipetalonema*) *reconditum*.

Il test di Knott modificato viene eseguito miscelando 1,0 ml di sangue EDTA con 9,0 ml di formalina al 2% in un tubo da centrifuga. La provetta viene capovolta più volte per mescolare il sangue con la soluzione di formalina, che lisa i globuli rossi. Il tubo viene quindi posto in una centrifuga, centrifugato a 1100-1500 giri al minuto per un tempo che va da 5 a 8 minuti, la parte liquida viene poi travasata lasciando il sedimento. Si aggiunge al sedimento una goccia di blu di metilene, si pone il sedimento colorato un vetrino e si copre con un copri-oggetti. Il vetrino viene esaminato a bassa ingrandimento (100X) per la ricerca delle microfilarie. Per osservare le caratteristiche delle microfilarie, il vetrino può essere esaminato a secco (400X). Le microfilarie di *Dirofilaria immitis* sono lunghe da 295 a 325

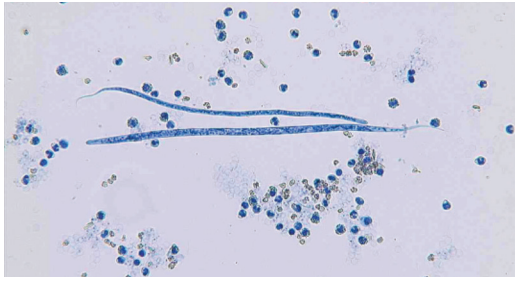


Figura 3. *Acanthocheilonema reconditum* (in alto) e *Dirofilaria immitis* (sotto). Immagine per gentile concessione di Byron Blagburn, PhD.

micron (μm) a hanno le teste coniche appuntite. Le microfilarie di *Acanthocheilonema reconditum* sono lunghe da 250 a 288 μm con le teste arrotondate e tozze e le code curve, talvolta ad uncino (Figura 3) (Rawlings, 1986).

È opportuno eseguire il test per la ricerca delle microfilarie in tutti i cani. Il test per la ricerca delle microfilarie convalida i risultati dei test sierologici, è diagnostico in cani con complessi antigene-anticorpo (nessun antigene rilevato al test antigenico), identifica il paziente come un potenziale serbatoio di infezione, e allerta il veterinario sulla presenza di una elevata concentrazione di microfilarie, in grado di scatenare una grave reazione avversa dopo la somministrazione di un farmaco microfilaricida.

Considerazioni sull'esecuzione del test in seguito di mancato rispetto della compliance e/o in seguito al passaggio ad un altro regime di profilassi

In caso di mancata compliance o quando si cambia il prodotto utilizzato per la profilassi, marca o tipologia di prodotto, è importante determinare lo stato del cane in relazione alla filariosi cardiopolmonare. Prima di iniziare la profilassi o cambiare prodotto sarebbe opportuno effettuare il test antigenico e quello per la ricerca delle microfilarie. Un risultato positivo al test indica la presenza di una infezione preesistente. Il cane, poi, dovrebbe *sempre* essere ancora sottoposto ai test 6 mesi più tardi (Figura 4). A questo punto, un risultato positivo al test indicherebbe, molto probabilmente, la presenza di

una infezione acquisita prima di iniziare o riprendere la profilassi; Tuttavia, in rari casi, è possibile che non si riesca ad evidenziare un'infezione esistente (cioè, test risultati falsamente negativi in presenza di un'infezione sostenuta da giovani parassiti o da un ridotto numero di parassiti). Il test antigenico e quello per la ricerca delle microfilarie devono essere eseguiti a un anno esatto dall'esame iniziale e, successivamente, a cadenza annuale.

ALTRI SISTEMI DIAGNOSTICI

Metodi di verifica aggiuntivi sono utili per confermare la diagnosi e stabilire la gravità della patologia.

Esame radiografico del torace

Per determinare la prognosi del paziente può essere utile valutarne lo stato cardiopolmonare. La radiografia costituisce il metodo più oggettivo per valutare la gravità della condizione cardiopolmonare indotta dalla filariosi. Segni tipici (quasi patognomonici) della malattia vascolare sostenuta dalla filariosi cardiopolmonare sono rappresentati dalle immagini dei rami intralobari periferici e interlobari delle arterie polmonari che appaiono allargati, tortuosi, e spesso troncati, in particolare nei lobi diaframmatici (caudali) (Figura 5). Questi riscontri sono accompagnati da gradi variabili di alterazione del parenchima polmonare. Le prime e più sottili alterazioni dell'arteria polmonare sono più comunemente rinvenute nel tronco dorso-caudale dei lobi polmonari diaframmatici. Poiché la gravità dell'infezione e la cronicità della malattia progrediscono, le alterazioni delle arterie polmonari sono visibili in rami sempre più grandi (Figura 6). Nei casi peggiori, la parte destra del cuore alla fine si dilata (Bowman and Atkins, 2009; Calvert and Rawlings, 1988; Rawlings, 1986).

Ecocardiografia

Il corpo delle filarie adulte è iperecogeno e produce caratteristiche immagini corte a lati paralleli con l'aspetto di un "segno uguale" dove la sezione dell'immagine passa attraverso le spirali del



Figura 4. Il protocollo di esame in seguito a mancata compliance comprende l'esecuzione di tre test durante primo anno, successivamente test annuali.

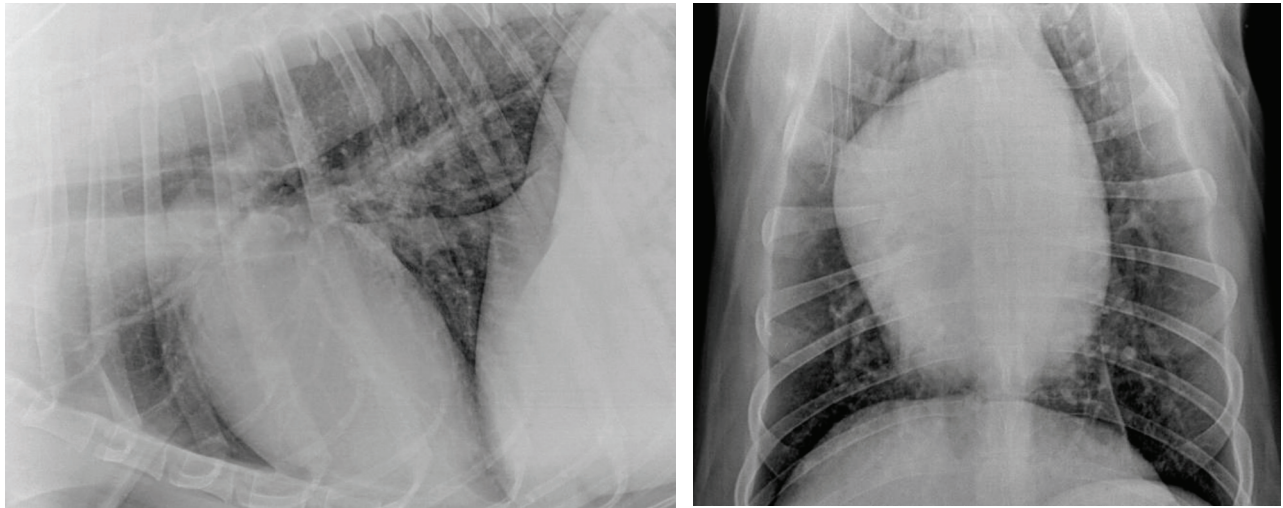


Figura 5. Infezione moderata. Immagini radiografiche per gentile concessione di C. Thomas Nelson, DVM.

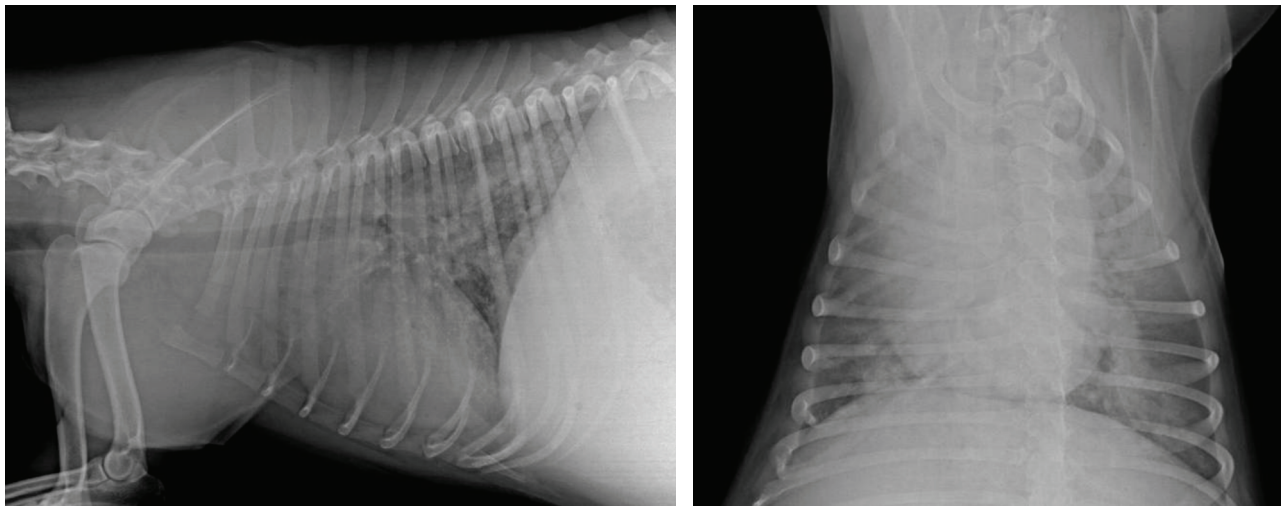


Figura 6. Infezione grave. Immagini radiografiche per gentile concessione di C. Thomas Nelson, DVM.

parassita. L'ecocardiografia può fornire la prova definitiva di una infezione in corso, nonché consentire la valutazione delle conseguenze cardiache anatomiche e funzionali della malattia (Figura 7). Non è, tuttavia, un metodo efficiente per la diagnosi, in particolare nei cani con un ridotto numero di parassiti, perché le filarie spesso si localizzano solamente nei rami periferici delle arterie polmonari, oltre il campo visivo dell'ecocardiografia. Quando le filarie sono numerose, è più probabile che localizzino nell'arteria polmonare principale, nei rami interlobari a destra e prossimale a sinistra, o all'interno del lato destro del cuore in cui possono essere facilmente visibili. Nei cani con emoglobinuria, la visualizzazione delle filare nel foro della valvola tricuspide fornisce la conferma definitiva della sindrome della vena cava (Badertscher et al, 1988; Moise, 1988; Venco et al, 2001).

VALUTAZIONE CLINICA PRIMA DELL'IMPIEGO DI UN ADULTICIDA

Le indagini diagnostiche necessarie alla valutazione che precede l'impiego di un adulticida sono differenti a seconda dello stato clinico di ciascun paziente. Gli esami clinici e di laboratorio prescelti devono essere eseguiti solo per completare le informazioni ottenute dall'anamnesi, dall'esame fisico, dal test antigenico e da quello per la ricerca delle microfilarie. È importante notare che alcuni fattori chiave che possono influenzare la comparsa di complicazioni tromboemboliche conseguenti l'uso di un adulticida e l'esito del trattamento non sono facilmente misurabili con procedure diagnostiche standard, compreso 1) il livello di attività del cane, 2) l'estensione della malattia vascolare polmonare concomitante, e 3) la gravità dell'infezione (elevato o ridotto numero di parassiti).

L'elevata attività del cane è uno dei fattori più importanti che contribuiscono all'insorgenza di complicazioni in seguito all'impiego di un adulticida (Dillon et al, 1995; Fukami et al, 1998). Prima del trattamento, devono essere accuratamente valutate la capacità e la volontà del proprietario di confinare adeguatamente i cani trattati. Limitare le attività, quali l'esercizio fisico, l'eccitazione e il surriscaldamento, che portano a complicanze è di fondamentale importanza.

L'esame radiografico del torace può aiutare a fornire una valutazione della situazione cardiopolmonare dell'animale e può essere utile nel valutare il rischio di complicanze dopo il trattamento adulticida (Calvert and Rawlings, 1988; Rawlings, 1986). Nei cani infestati che presentano segni radiografici di grave ostruzione arteriosa polmonare, soprattutto in quelli che mostrano segni clinici, si riscontra solitamente una malattia tromboembolica (Rawlings et al, 1993b). Indipendentemente dai referti radiografici, occorre eliminare le filarie adulte, anche se non necessariamente subito, in tutti i pazienti che possono tollerare la morte dei parassiti.

Quanto più elevato è il numero di filarie uccise durante il trattamento adulticida, tanto più è possibile il verificarsi di una patologia ostruttiva e infiammatoria (Venco et al, 2004). Purtroppo, nessun esame (o combinazione di esami) è disponibile per determinare con precisione il numero di filarie adulte presenti. Indipendentemente dal numero di parassiti presenti, i cani infestati possono apparire clinicamente asintomatici e mostrare minime alterazioni radiografiche. Quindi, anche con un ampio utilizzo di mezzi diagnostici, è difficile prevedere le complicazioni possibili dopo l'uso di un adulticida. Si deve sempre tener presente che complicanze post-trattamento sono possibili e che occorre gestire ogni animale infestato come se fosse presente un numero consistente di filarie o che si possa verificare una violenta reazione immunitaria individuale nei confronti delle filarie morte e/o morenti.

In passato, a causa delle limitate disponibilità finanziarie di alcuni proprietari di cani e dei rifugi per animali, un gran numero di trattamenti adulticidi sono stati eseguiti con successo senza il beneficio di una diagnostica completa. Mentre la diagnostica può svolgere un ruolo importante nella definizione dello stato dell'infezione in un soggetto, ogni piano di azione deve essere sviluppato tenendo in considerazione singolarmente sia l'animale sia il suo

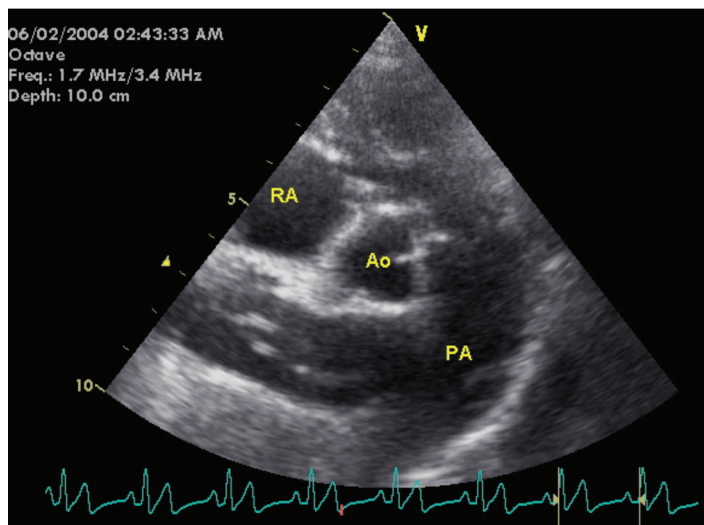


Figura 7. Immagine ecocardiografica per gentile concessione di Matthew Miller, DVM.

proprietario. Non esiste alcun protocollo prestabilito per le analisi da eseguire prima del trattamento, quindi, per ciascuna procedura diagnostica occorre quindi valutare attentamente la necessità, i vantaggi, e l'entità.

La presenza di filarie adulte costituisce un grave rischio per i nostri pazienti. Più a lungo rimangono in un animale, maggiore è il danno al sistema cardiopolmonare e il rischio di malattia e morte. Probabilmente, il trattamento eseguito in assenza di esami diagnostici, anche se non è ideale, è comunque meglio del rifiuto di eseguire un trattamento necessario.

PRINCIPI DI TRATTAMENTO

Nei pazienti asintomatici o che manifestano segni di malattia lieve, il trattamento della filariosi cardiopolmonare di solito non è un problema se si riesce a limitare l'esercizio fisico. Le infezioni associate a filariosi cardiopolmonare di grado moderato o grave (Tabella 1) o in pazienti con patologie concomitanti spesso sono impegnative.

Il trattamento nei confronti della filariosi cardiopolmonare ha lo scopo di migliorare le condizioni cliniche dell'animale ed eliminare tutti gli stadi vitali del parassita (microfilarie, stadi larvali, giovani adulti e adulti) con minime complicanze post-trattamento. I cani che presentano importanti segni clinici di filariosi cardiopolmonare devono essere stabilizzati prima del trattamento adulticida. In questi casi può essere utile somministrare corticosteroidi, diuretici, vasodilatatori, agenti inotropi positivi, e fluidoterapia.

Tavola 1. S Segni clinici della filariosi cardiopolmonare nei cani

Lieve	Asintomatico o tosse
Moderata	Tosse, intolleranza all'esercizio fisico, rumori polmonari anomali
Grave	Tosse, intolleranza all'esercizio fisico, dispnea, rumori cardiaci e polmonari anomali, ingrossamento del fegato (epatomegalia), sincope (perdita temporanea di coscienza dovuta alla riduzione del flusso sanguigno al cervello, ascite (accumulo di liquido nella cavità addominale), morte
Sindrome della vena cava	Improvvisa insorgenza di grave letargia e debolezza accompagnata da emoglobinemia ed emoglobinuriabinemia

Per gestire efficacemente tutti i casi è necessario conoscere accuratamente il rapporto ospite-parassita. Come ci si può aspettare, il numero di parassiti influenza la gravità della malattia, ma di pari, se non maggiore, importanza è il livello di attività fisica del cane. Alcuni studi con gruppo di controllo hanno dimostrato che i cani infestati sperimentalmente mediante trapianto chirurgico di 50 filarie e sottoposti a restrizione dell'esercizio fisico hanno impiegato più tempo a sviluppare la malattia clinica; inoltre, rispetto ai cani infestati con 14 filarie e ai quali si permetteva una moderata attività fisica, hanno sviluppato una malattia vascolare polmonare di minore gravità (Dillon et al, 1995). Questo aspetto è stato evidenziato anche nel corso di uno studio eseguito su cani con infezione naturale in cui non era stata riscontrata alcuna correlazione tra il numero di filarie presenti e la resistenza vascolare polmonare. Ciò conferma che l'interazione ospite-parassita svolge un ruolo significativo nella gravità della malattia (Calvert, 1986). Uno studio successivo ha riportato risultati simili nei cani trattati con melarsomina (Fukami et al, 1998).

Mentre la presenza di filarie vive può indurre endocardite e ipertrofia muscolare delle pareti arteriolari, soprattutto delle arterie polmonari caudali, la presenza di filarie morte o moribonde è responsabile della maggior parte dei segni patologici osservabili in corso di malattia clinica. Quando le filarie muoiono per cause naturali o in seguito alla somministrazione della terapia adulticida, si decompongono e i loro frammenti si localizzano nelle arteriole polmonari distali e nei capillari dei lobi polmonari caudali, bloccando il flusso di sangue. I frammenti delle filarie insieme al processo infiammatorio e all'aggregazione piastrinica causano il tromboembolismo. Durante i periodi di maggiore attività o di esercizio, l'aumento del flusso sanguigno

ai vasi ostruiti può causare delaminazione capillare, rottura, e successiva fibrosi (Case et al, 1995; Dillon et al, 1995; Hoskins et al, 1985; Rawlings et al, 1993a). Aumenta, così la resistenza vascolare polmonare e, potenzialmente, può insorgere uno stato di insufficienza cardiaca destra; dimostrando che vi è una correlazione diretta tra il livello di attività del cane e la gravità della malattia.

TERAPIA ADULTICIDA

Melarsomina dicloridrato

La melarsomina, somministrata tramite iniezione intramuscolare profonda nei muscoli lombari-dorsali (tra L3 ed L5), è l'unico farmaco adulticida approvato dalla U.S. Food and Drug Administration. È possibile la comparsa di edema e dolorabilità al punto di inoculo che scompaiono in alcuni giorni, è possibile ridurre l'entità di questi fenomeni inoculando il farmaco nel ventre dei muscoli, utilizzando un ago nuovo, sostituito dopo aver prelevato il farmaco stesso dal flacone. L'ago dovrà essere di lunghezza e calibro adeguati alla taglia del cane. Per la somministrazione è indispensabile attenersi alle istruzioni del produttore per. Limitare l'esercizio fisico durante la degenza è **ESSENZIALE** per limitare le complicazioni cardiopolmonari (v. tromboembolismo polmonare).

Non è dimostrata l'efficacia della melarsomina nei confronti dei parassiti di età inferiore a 4 mesi (Dzimianski et al, 1989, 1990); comunque, studi recenti non pubblicati suggeriscono che la melarsomina può essere efficace più di quanto si creda contro i giovani adulti di filaria (McCall et al, 2010). Il protocollo indicato dal foglio illustrativo del prodotto per il trattamento della filariosi cardiopolmonare di classe 1 (filariosi subclinica) e classe 2 (filariosi moderata) che prevede due iniezioni di melarsomina (cioè, due iniezioni pari a

2.5 mg/kg a distanza di 24 ore) elimina circa il 90% delle filarie adulte. Il protocollo, invece, indicato per il trattamento della filariosi di classe 3 (filariosi grave) che prevede la somministrazione di tre dosi di melarsomina (cioè una iniezione pari a 2.5 mg/kg seguita a distanza di 1-2 mesi da due iniezioni della stessa dose a 24 ore di distanza) elimina il 98% dei parassiti (Keister et al, 1992; Vezzoni et al, 1992). Questi valori complessivi di efficacia indicano la percentuale di parassiti eliminati in gruppi di cani, non indicano la percentuale di cani in cui i parassiti sono stati eliminati, percentuali notevolmente inferiori ai valori complessivi di efficacia. Il protocollo che prevede la somministrazione di tre dosi ha il vantaggio aggiuntivo di indurre una minore percentuale di complicanze e una più ampia sicurezza poiché una parte delle filarie adulte vengono uccise con la prima iniezione di melarsomina mentre la maggior parte, se non tutte, le restanti filarie vengono eliminate con la seconda e terza iniezione.

Identificare lo stadio della malattia e impiegare il protocollo a due dosi non garantisce un adeguato successo del trattamento. Pertanto, a prescindere dalla gravità della malattia (con l'eccezione della sindrome della vena cava), il protocollo di tre dosi è quello raccomandato dall'American Heartworm Society per via della maggiore sicurezza ed efficacia.

Tromboembolismo polmonare

La tromboembolia polmonare è una conseguenza inevitabile di una terapia adulticida andata a buon fine; può essere grave se l'infezione è massiva e le lesioni alle arterie polmonari sono estese. I segni di embolia (lieve febbre, tosse, emottisi, esacerbazione dell'insufficienza cardiaca), quando sono presenti, si manifestano entro 7 -10 giorni, ma a volte anche 4 settimane dopo la fine del trattamento adulticida (Hirano et al, 1992). Embolie di lieve entità, in aree relativamente sane del polmone, possono non essere clinicamente visibili. Un fattore fondamentale per ridurre il rischio di complicanze tromboemboliche è la RIGOROSA limitazione dell'esercizio fisico.

TERAPIA AGGIUNTIVA

Steroidi

La somministrazione di glucocorticosteroidi a dosi anti-infiammatorie decrescenti aiuta a controllare i segni clinici della tromboembolia polmonare (Atwell and Tarish, 1995). Se, da un lato, alcuni studi hanno dimostrato una riduzione dell'efficacia

della tiacetarsamide quando somministrata in concomitanza con i corticosteroidi (Rawlings et al, 1984), un altro studio ha mostrato che l'efficacia della melarsomina non si riduce quando impiegata insieme al prednisone (Dzimianski et al, 2010). Nelle aree altamente endemiche dove gli animali hanno più probabilità di avere significativi carichi di parassiti, possono essere utilizzati glucocorticoidi come il prednisone. Il prednisone di solito è prescritto ad una dose pari a 0.5 mg/kg due volte al giorno (BID) per la prima settimana, a 0.5 mg/kg una volta al giorno (SID) per la seconda settimana, seguito da 0.5 mg/kg a giorni alterni (EOD) per 1 - 2 settimane.

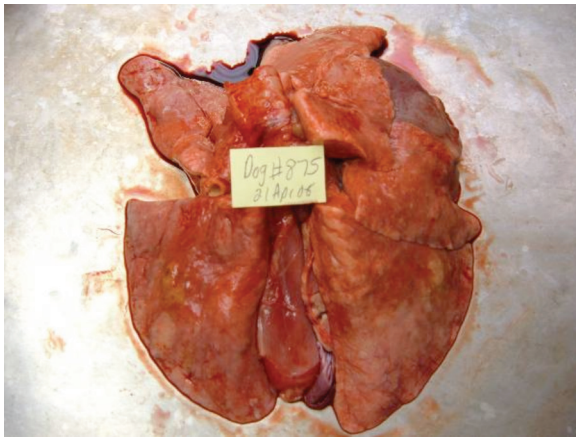
FANS/Aspirina

Nei cani con filariosi cardiopolmonari, l'uso empirico di aspirina per il suo effetto antitrombotico o per ridurre arterite polmonare non è raccomandato (Boudreaux et al, 1991). Mancano prove convincenti dei benefici clinici, inoltre, alcuni studi suggeriscono che l'aspirina può essere controindicata.

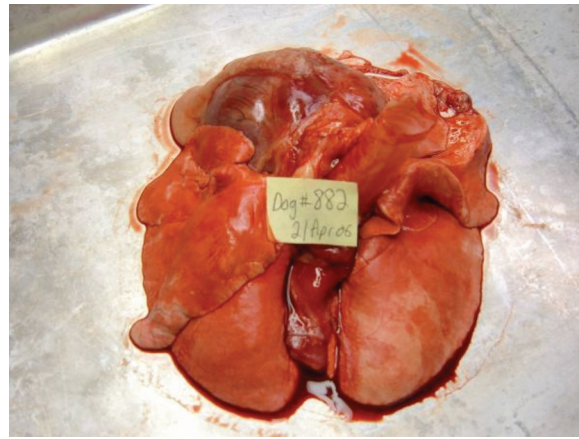
Doxiciclina

Varie specie di nematodi filaridi, tra cui *Dirofilaria immitis*, ospitano batteri intracellulari Gram-negativi endo-simbionti appartenenti al genere *Wolbachia* (*Rickettsiales*) (Kozek, 2005; Taylor et al, 2005). La doxiciclina è in grado di ridurre la popolazione di *Wolbachia* in tutti gli stadi della filariosi cardiopolmonare. La somministrazione di doxiciclina durante il primo o il secondo mese successivo ad una infezione sperimentale è risultata letale per larve L3 e L4 (McCall et al, 2011). Inoltre, nei cani con filarie adulte, la doxiciclina ha soppresso gradualmente la microfilaremia (Bazzocchi et al, 2008; McCall et al, 2008a). Microfilarie di cani trattati con doxiciclina, state ingerite da zanzare si sono sviluppate in larve di terzo stadio che sembravano essere normali in apparenza e motilità, queste larve, però, non sono state in grado di svilupparsi in parassiti adulti, riducendo così il rischio di selezionare sotto-popolazioni resistenti (McCall et al, 2008a, 2014b).

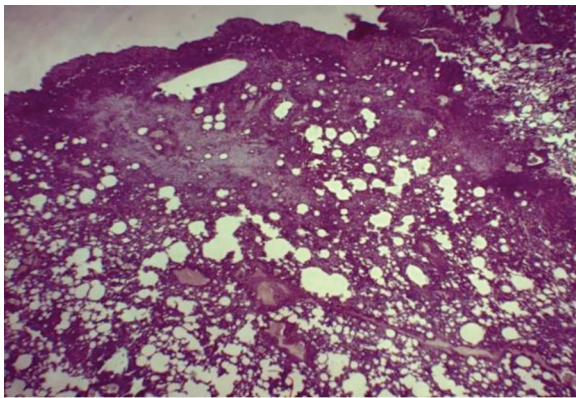
Si ritiene che *Wolbachia* possa essere implicata come componente nella patogenesi delle malattie da filaria, probabilmente tramite i suoi metaboliti (Bouchery et al, 2013; Kramer et al, 2005). Recenti studi hanno dimostrato che un antigene di superficie delle *Wolbachia* (WSP) è in grado di stimolare una risposta IgG specifica negli ospiti infestati da *D immitis* (Kramer et al, 2005). Si ipotizza che



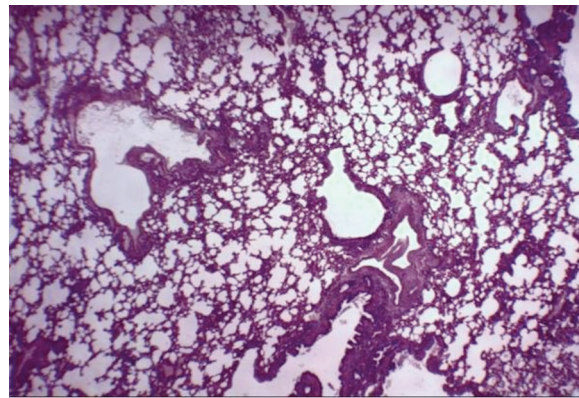
Solo melasormina



Ivermectina / Doxiciclina / Melasormina



Solo melasormina



Ivermectina / Doxiciclina / Melasormina

Figura 8. Lesioni polmonari associate alla morte delle filarie in cani infestati sperimentalmente, trattati con ivermectina e doxiciclina prima della somministrazione di melarsomina. Fotografie per gentile concessione di John McCall, PhD e Laura Kramer, DVM, PhD.

Wolbachia possa contribuire all'infiammazione polmonare e renale attraverso l'antigene di superficie WSP. Alcuni studi hanno mostrato che in cani infestati sperimentalmente e positivi alla filariosi cardiopolmonare, trattati con ivermectina e doxiciclina prima della somministrazione di melarsomina, la morte delle filarie ha indotto lesioni polmonari di minore entità (Figura 8) (Kramer et al, 2011; McCall et al, 2008a).

Quando inserita in un protocollo per il trattamento della filariosi, la doxiciclina deve essere somministrata prima del trattamento con melarsomina, in questo modo si può ridurre o eliminare la presenza di *Wolbachia* e dei loro metaboliti prima della morte e della frammentazione delle filarie. La doxiciclina si somministra alla dose di 10 mg/kg due volte al giorno per 4 settimane. Nel nematode filaride *Wuchereria bancrofti* la doxiciclina ha eliminato oltre il 95% delle *Wolbachia*, con conseguente assenza di microfilaremia per 12 mesi (Hoerauf et al, 2003). Questi risultati indicano l'assenza di *Wolbachia*, o almeno una ridotta

concentrazione, in quanto questi organismi sono necessari per embriogenesi. In *D immitis* (adulti e microfilarie) i dati suggeriscono una ridotta presenza di *Wolbachia* per almeno 12 mesi dopo la somministrazione di doxiciclina (Rossi et al, 2010).

La minociclina ha dimostrato di essere molto efficace nell'eliminare batteri del genere *Wolbachia* nel nematode filaride *Onchocerca gutturosa* (Townson et al, 2006). Non ci sono pubblicazioni relative a studi condotti su *D immitis* ma i dati farmacologici disponibili e alcuni rapporti aneddotici suggeriscono che si tratta di una valida alternativa quando la doxiciclina non è disponibile. La posologia è quella della doxiciclina.

Lattoni macrociclici

È molto probabile che un cane positivo alla filariosi cardiopolmonare ospiti parassiti di età compresa tra 1 mese e 7 anni. L'incompleta efficacia della melarsomina contro i giovani adulti di filaria potrebbe essere un problema nel raggiungere l'obiettivo di eliminare tutti i parassiti. La figura 9

mostra i differenti periodi di sensibilità ai lattoni macrociclici o alla melarsomina.

Il divario di sensibilità può essere ridotto mediante la somministrazione di un lattone macrociclico per 2 mesi prima del trattamento con melarsomina. Ciò consentirà di ridurre le nuove infezioni, eliminare le larve sensibili già esistenti e permettere ai parassiti più vecchi (2 e 4 mesi di età) di maturare fino all'età in cui diventano più sensibili alla melarsomina. È possibile ridurre ulteriormente il divario di sensibilità utilizzando la doxiciclina per un periodo di 30 giorni, questo protocollo consentirà di eliminare tutte le larve in via di sviluppo durante i primi 60 giorni dall'infezione.

L'utilizzo dei lattoni macrociclici come microfilaricidi può ridurre rapidamente il numero delle microfilarie circolanti, pertanto devono essere usati con cautela nei cani elevata microfilaremia. Un trattamento preventivo con antistaminici e corticosteroidi può ridurre le potenziali reazioni. La U.S. Food and Drug Administration ha recentemente approvato l'uso di una formulazione topica di moxidectina per eliminare le microfilarie nei cani positivi alla filariosi cardiopolmonare. Nel corso degli studi di campo e di laboratorio, effettuati per l'approvazione di questa nuova indicazione, non sono state osservate reazioni avverse conseguenti alla presenza di un elevato numero di microfilarie (McCall et al, 2014).

Lattoni macrociclici/Doxiciclina

Alcuni lattoni macrociclici, in associazione con doxiciclina sono in grado di sopprimere l'embriogenesi e sono in grado di indebolire le filarie adulte. Come accennato in precedenza, la doxiciclina

è in grado di ridurre le concentrazioni di *Wolbachia* da tutti gli stadi del ciclo vitale delle filarie. Alcuni studi hanno dimostrato che la somministrazione di doxiciclina in associazione con ivermectina ha fornito una più rapida attività adulticida rispetto all'ivermectina da sola, così come riduce in modo più efficiente le concentrazioni di *Wolbachia* rispetto alla doxiciclina da sola (Bazzocchi et al, 2008). Rapporti aneddotici compiuti su altri lattoni macrociclici con proprietà adulticide indicano risultati simili, ma nessuno studio di conferma è stato pubblicato.

Nei casi in cui la terapia arsenicale non è possibile o è controindicata, è possibile prendere in considerazione l'uso di farmaco mensile per la profilassi della filariosi in associazione con la doxiciclina, somministrata a 10 mg/kg due volte al giorno per un periodo di 4 settimane. Occorre poi eseguire ogni sei mesi un test antigenico e considerare il cane guarito solo dopo che due test antigenici consecutivi hanno fornito un risultato negativo (nessun antigene rilevato – No Antigen Detected, NAD). Se il cane è ancora positivo all'antigene dopo un anno, ripetere la terapia con la doxiciclina. Limitare drasticamente l'esercizio fisico per tutta la durata del ciclo di trattamento.

PROTOCOLLO DI TRATTAMENTO RACCOMANDATO DALLA AMERICAN HEARTWORM SOCIETY

L'American Heartworm Society raccomanda un approccio multi-modale per trattare la filariosi cardiopolmonare sulla base delle informazioni presentate in precedenza e descritte nel seguente esempio di protocollo di trattamento (Tabella 2) (Nelson, 2012).

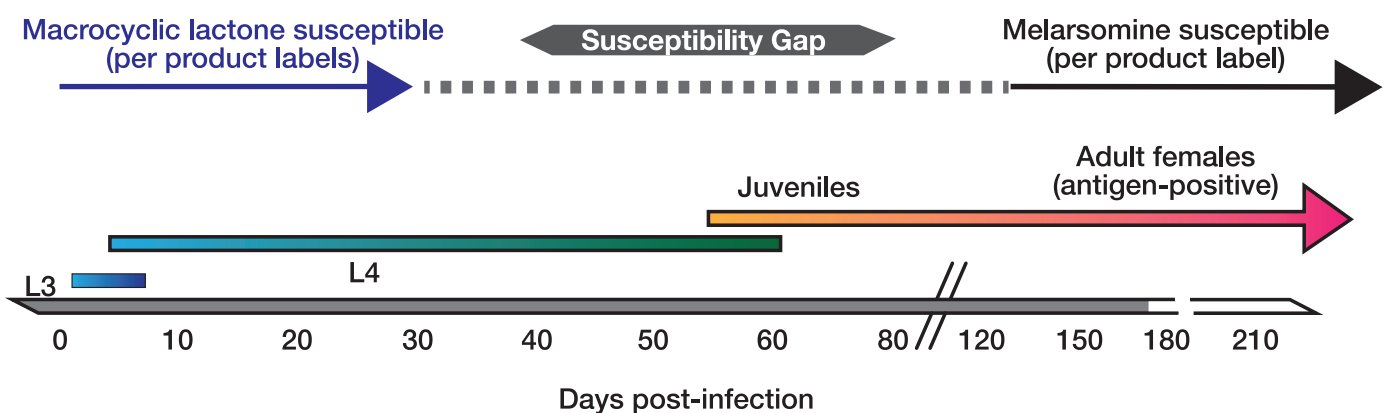


Figura 9. Sequenza temporale dello sviluppo di *D immitis*, che mostra i periodi di sensibilità ai lattoni macrociclici e alla melarsomina. La linea tratteggiata rappresenta il periodo in cui *D immitis* è considerata non sensibile a entrambi i trattamenti. Da Merial Limited, Duluth, GA. ©2008. Tutti i diritti riservati.

Uno studio retrospettivo, riassunto nella tabella 2, ha confrontato il protocollo elencato nella tabella 2 con un protocollo simile senza l'impiego di doxiciclina. I risultati mostrano una riduzione delle complicanze respiratorie e della mortalità quando la doxiciclina è stata inclusa nel protocollo (Nelson and Sellers, 2013).

RIMOZIONE CHIRURGICA DELLE FILARIE ADULTE

Sindrome della vena cava (emoglobinuria da filariosi cardiopolmonare)

La sindrome della vena cava si sviluppa in maniera acuta nei cani con elevato grado di infezione quando le filarie adulte ostruiscono parzialmente il flusso di sangue attraverso la valvola tricuspide e interferiscono anche con la chiusura della valvola stessa. Segni caratteristici della sindrome sono: grave congestione passiva del fegato, soffio sistolico da rigurgito tricuspide e pulsazioni giugulari. La diagnosi si basa su un esordio improvviso di letargia grave, dispnea, mucose pallide, e debolezza accompagnata da emoglobinemia ed emoglobinuria (Atwell and Buoro, 1988; Kitagawa et al, 1986; Venco, 1993). La sindrome della vena cava può essere confermata definitivamente grazie alla visualizzazione ecocardiografica delle filarie all'interno dell'orifizio della tricuspide e della vena cava posteriore (Figura 10)) (Atkins et al, 1988). Il decorso clinico solitamente ha esito fatale entro 2 giorni se non si provvede rapidamente alla rimozione chirurgica dei parassiti.

La rimozione chirurgica delle filarie dall'atrio destro e dall'orifizio della valvola tricuspide può essere eseguita utilizzando, dopo una sedazione e l'impiego di un anestetico locale, forbici a coccodrillo sia rigide che flessibili, o uno laccio intravascolare introdotto preferibilmente attraverso la vena giugulare esterna destra (Yoon et al, 2013). Con guida fluoroscopica, se disponibile, è necessario introdurre lo strumento fino a che non è possibile rimuovere ulteriori filarie (Figura 11) (Ishihara et al, 1988; Jackson et al, 1977). Dopo un intervento riuscito, il soffio cardiaco si dovrebbe attenuare o scomparire, così come, entro 12-24 ore, anche l'emoglobinuria. Nei cani ipovolemici e gravemente malati può essere necessaria una fluidoterapia, per ripristinare la funzione emodinamica e renale. Qualche settimana dopo che il cane si è ripreso dall'intervento chirurgico, si consiglia di effettuare un trattamento adulticida per eliminare le filarie eventualmente

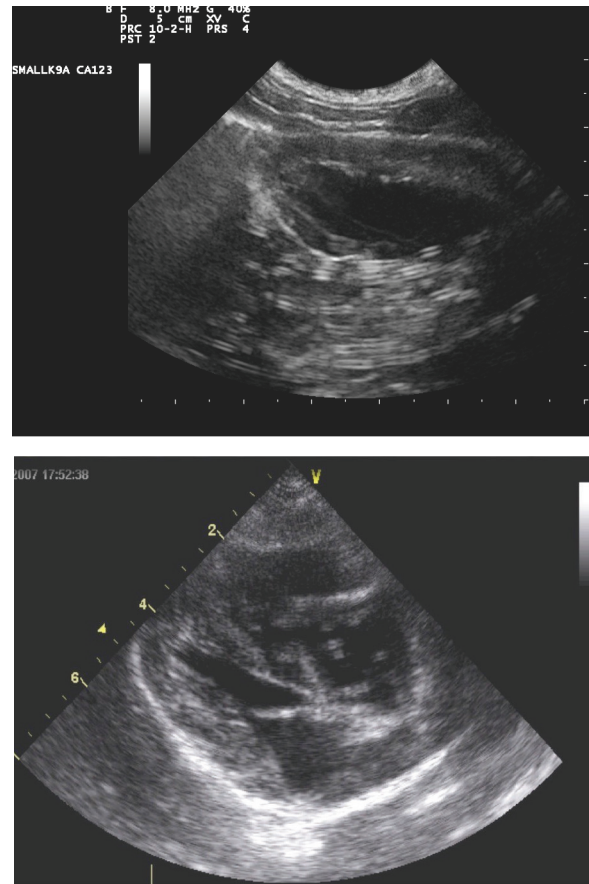


Figura 10. Sindrome della vena cava. Immagini ecocardiografiche per gentile concessioni di Stephen Jones, DVM (sopra) e Matthew Miller, DVM (sotto).

rimaste in sede, in particolare se molte sono ancora ecocardiograficamente visibili.

Infezione a livello dell'arteria polmonare

È possibile raggiungere le principali arterie polmonari e i rami lobari con l'aiuto di una pinza a coccodrillo flessibile e una guida fluoroscopica. La mortalità intraoperatoria con questa tecnica è molto bassa. Nel complesso la sopravvivenza e le percentuali di recupero dei cani ad alto rischio di tromboembolia polmonare sono migliorate in modo significativo grazie alla rimozione fisica di quanti più filarie è possibile prima di iniziare la terapia adulticida (Morini et al, 1998). Quando i mezzi sono disponibili, la rimozione delle filarie è la procedura da prediligere per i cani con elevata infezione e ad alto rischio. Prima di scegliere questo metodo di trattamento, tuttavia, è necessario eseguire una valutazione ecocardiografica del cuore destro e delle arterie polmonari per stabilire se un numero sufficiente di filarie si trova in localizzazioni accessibili.

Tavola 2. Protocollo di trattamento raccomandato dall'American Heartworm Society

Giorno	Trattamento
Giorno 0	<p>Cane confermato positivo alla filariosi cardiopolmonare:</p> <ul style="list-style-type: none">• Test con antigene positivo verificato con test per la ricerca delle microfilarie.• Se non si evidenziano microfilarie, confermare con un secondo test antigenico di altro produttore. <p>Limitare l'attività fisica.</p> <ul style="list-style-type: none">• Più pronunciati sono i sintomi, più rigorosa sarà la limitazione dell'esercizio fisico <p>Se il cane è sintomatico:</p> <ul style="list-style-type: none">• Stabilizzare con una terapia appropriata e assistenza infermieristica• Prescrivere Prednisone a 0,5 mg/kg due volte al giorno per la 1^a settimana; 0,5 mg/kg una volta al giorno per la 2^a settimana, 0,5 mg/kg a giorni alterni durante la 3^a e 4^a settimana.
Giorno 1	<p>Somministrare un farmaco per la profilassi della filariosi cardiopolmonare</p> <ul style="list-style-type: none">• Se sono presenti microfilarie, pretrattare con antistaminici e glucocorticoidi, se non è già trattato con prednisone, per ridurre il rischio di anafilassi• Osservare per almeno 8 ore i segni di reazione
Giorno 1-28	<p>Somministrare doxiciclina 10 mg/kg due volte al giorno per 4 settimane.</p> <ul style="list-style-type: none">• Riduce le lesioni associate alla morte delle filarie• Interrompe la trasmissione della filariosi cardiopolmonare
Giorno 30	<p>Somministrare un farmaco per la profilassi della filariosi cardiopolmonare.</p>
Giorno 60	<p>Somministrare un farmaco per la profilassi della filariosi cardiopolmonare.</p> <p>Prima iniezione intramuscolare pari a 2,5 mg/kg di melarsomina</p> <p>Prescrivere Prednisone a 0,5 mg/kg due volte al giorno per la 1^a settimana; 0,5 mg/kg una volta al giorno per la 2^a settimana, 0,5 mg/kg a giorni alterni durante la 3^a e 4^a settimana</p> <p>Ridurre ulteriormente l'attività fisica.</p> <ul style="list-style-type: none">• Utilizzo della gabbia/conduzione al guinzaglio
Giorno 90	<p>Somministrare un farmaco per la profilassi della filariosi cardiopolmonare.</p> <p>Seconda iniezione intramuscolare di melarsomina (2,5 mg/kg)</p>
Giorno 91	<p>Terza iniezione intramuscolare di melarsomina (2,5 mg/kg)</p> <p>Prescrivere Prednisone a 0,5 mg/kg due volte al giorno per la 1^a settimana; 0,5 mg/kg una volta al giorno per la 2^a settimana, 0,5 mg/kg a giorni alterni durante la 3^a e 4^a settimana</p> <p>Continuare la limitazione dell'attività fisica per 6-8 settimane successivamente alle ultime iniezioni di melarsomina.</p>
Giorno 120	<p>Test per verificare la presenza di microfilarie.</p> <ul style="list-style-type: none">• Se positivo, trattare con microfilaricida ed eseguire nuovamente il test dopo 4 settimane <p>Stabilire un trattamento di profilassi della filariosi cardiopolmonare per tutto l'anno.</p>
Giorno 271	<p>Test antigenico 6 mesi dopo il completamento; ricerca delle microfilarie.</p>

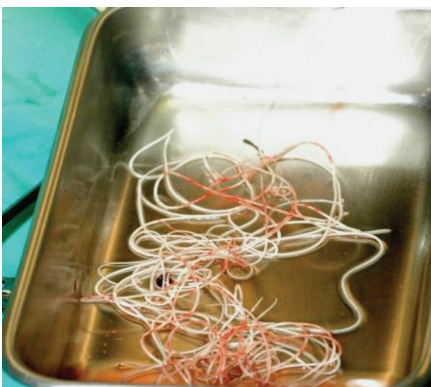
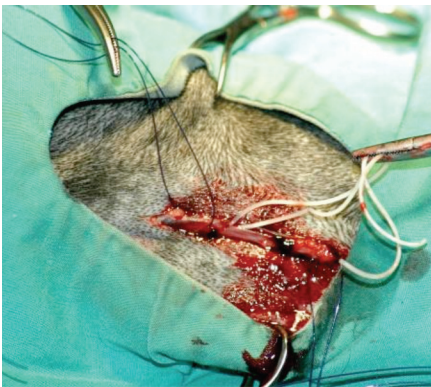
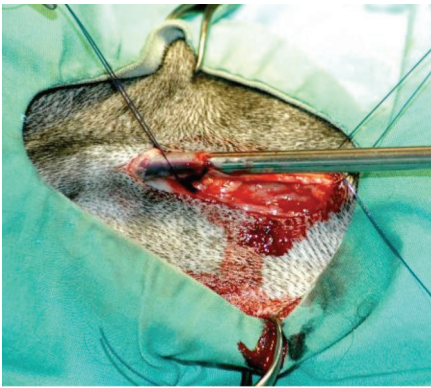
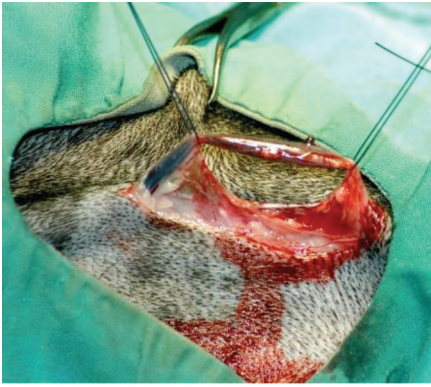


Figura 11. Rimozione chirurgica delle filarie. Fotografie gentilmente concesse da C. Thomas Nelson, DVM.

TERAPIE ALTERNATIVE

Somministrazione a lungo termine di lattoni macrociclici

NON SONO RACCOMANDATI i metodi di lenta uccisione (slow-kill) che prevedono l'utilizzo mensile continuativo di lattoni macrociclici a dosi indicate per la profilassi. Se, da un lato, questi metodi possono essere efficaci nel ridurre la durata della vita dei giovani adulti delle filarie, dall'altro lato, sembra che i parassiti più vecchi diventino meno sensibili, impiegando più tempo per morire. Si è visto che occorrono più di 2 anni di somministrazione continua prima che l'effetto adulticida dei lattoni macrociclici, riesca ad eliminare il 95% delle filarie adulte, inoltre, non ci sono indicazioni precise su come mettere in atto una rigida restrizione dell'esercizio fisico in questi casi (McCall et al, 2001). Durante il lungo periodo necessario all'eliminazione delle filarie, l'infezione persiste e la patologia continua a progredire (Rawlings et al, 2001). Inoltre, l'uso dei lattoni macrociclici come unica terapia per cani con filariosi cardiopolmonare potrebbe selezionare sotto-popolazioni di filarie resistenti (Bowman, 2012; Geary et al, 2011).

Fitoterapie

Nessuna terapia "naturale" o a base di erbe ha dimostrato di essere sicura ed efficace per la prevenzione e il trattamento della filariosi cardiopolmonare.

CONFERMA DELL'EFFICACIA ADULTICIDA

È possibile osservare un miglioramento clinico senza la completa eliminazione delle filarie adulte. I parassiti che sopravvivono al trattamento adulticida sono invariabilmente femmine che producono antigeni. Dopo un trattamento adulticida, la maggior parte dei cani microfilaremici in cui l'infezione è sostenuta da sole femmine diventano occulti entro 6-9 mesi, con o senza trattamento microfilaricida, in particolare se i cani erano stati trattati con doxiciclina erano stati sottoposti ad un trattamento con lattoni macrociclici durante e dopo la terapia adulticida (Grandi et al, 2010; McTier et al, 1994). Di conseguenza, il miglioramento clinico e l'eliminazione della microfilaremia non sono indice di un completo effetto adulticida. La ricomparsa della microfilaremia nei successivi 6 mesi potrebbe essere dovuta a un'incompleta eliminazione delle filarie adulte, dalla maturazione di filarie prima immature se la profilassi non era stata fatta durante la terapia adulticida, oppure essere indice di una nuova infezione dovuta ad un ritardo/errore nella profilassi.

Il test antigenico è il metodo più affidabile per confermare l'efficacia della terapia adulticida. Se sono state eliminate tutte le filarie femmine adulte i loro antigeni non dovrebbero più essere identificabili entro 6 mesi dal trattamento (Maxwell et al, 2014; McTier et al, 1994). In ogni caso il risultato di un singolo test non conferma che il cane sia realmente negativo per la filaria, poiché potrebbero essere presenti larve e/o giovani adulti, questi parassiti giovani potrebbero aver prodotto una quantità di antigeni insufficiente a far risultare positivo il risultato del test. Ciò è particolarmente importante se prima non sono stati somministrati lattoni macrociclici o se sono stati somministrati in

concomitanza alla terapia adulticida. Se si tratta con un adulticida un cane positivo alla filariosi senza somministrare lattoni macrociclici per 3 o 4 settimane dopo l'ultima dose di adulticida, questi, per essere considerato libero da filarie adulte dovrebbe risultare negativo al test antigenico 7 mesi dopo la prima dose di lattoni macrociclici. Poiché le filarie adulte continuano a morire per un periodo superiore ad un mese dopo la somministrazione dell'adulticida, i cani che sono ancora positivi al test antigenico prima che siano trascorsi 6 mesi dal trattamento, potrebbero aver bisogno di altro tempo prima che gli antigeni scompaiano e si possa prendere in considerazione un nuovo trattamento.

ELIMINAZIONE DELLE MICROFILARIE

I lattoni macrociclici impiegati come microfilaricidi possono causare una rapida diminuzione del numero di microfilarie circolanti e devono essere usati con cautela nei cani con elevata microfilaremia. Per ridurre al minimo le possibili reazioni in caso di elevata microfilaremia si consiglia di effettuare un trattamento preventivo con antistaminici e corticosteroidi (Bowman and Atkins, 2009). La U.S. Food and Drug Administration ha approvato l'uso della moxidectina per via topica per l'eliminazione delle microfilarie (McCall et al, 2014). Nel corso degli studi di campo e di laboratorio, effettuati per l'approvazione di questa nuova indicazione, non sono state osservate reazioni avverse conseguenti alla presenza di un elevato numero di microfilarie.

In precedenza, il trattamento microfilaricida veniva solitamente eseguito da 3 settimane a un mese dopo la terapia adulticida, con l'ipotesi che numerosi trattamenti settimanali fossero necessari per eliminare completamente le microfilarie circolanti (McCall et al, 2008b). I protocolli attuali che utilizzano la doxiciclina in combinazione con

lattoni macrociclici, utilizzati alle dosi indicate per la profilassi, hanno essenzialmente eliminato la necessità di un trattamento microfilaricida dopo un trattamento adulticida (Bazzocchi et al, 2008; McCall et al, 2008a). È opportuno somministrare un lattone macrociclico non appena al cane viene diagnosticata la filariosi cardiopolmonare. Includendo la doxiciclina nel protocollo di trattamento, così come descritto in precedenza, si accelera l'eliminazione della microfilarie.

Una volta ottenuta l'eliminazione delle microfilarie nel corso di un trattamento per la filariosi, nei cani trattati con l'adulticida è opportuno eseguire un test per la ricerca delle microfilarie insieme al test antigenico 6 mesi dopo il trattamento. Il controllo della diffusione della filariosi cardiopolmonare implica la diminuzione dei serbatoi microfilaricidi di infezione nella popolazione dei cani con i conseguenti vantaggi che sono stati spiegati (v. CHEMIOPROFILASSI DELLA FILARIOSI).

INTERVENTI CHIRURGICI ELETTIVI IN CANI CON FILARIOSI CARDIOPOLMONARE

Spesso i veterinari si trovano a dover decidere se eseguire un intervento chirurgico per sterilizzare un cane positivo alla filariosi cardiopolmonare. Uno studio ha dimostrato che non ci sono complicanze perioperatorie nei cani asintomatici o lievemente sintomatici positivi alla filariosi (Peterson et al, 2014). È, invece, opportuno evitare gli interventi chirurgici di sterilizzazione in quei cani che mostrano sintomi di malattia in stato avanzato. In questi cani è necessario impostare un protocollo di trattamento conforme a quello illustrato nella Tabella 2. L'intervento chirurgico può dunque essere eseguito 6 mesi dopo il trattamento adulticida se il cane si è ripreso adeguatamente.

RIFERIMENTI

- Abraham D, Grieve RB. Genetic control of murine immune responses to larval *Dirofilaria immitis*. *J Parasitol*. 1990;76:523-528.
- Abraham D, Grieve RB, Mika-Grieve M. *Dirofilaria immitis*: surface properties of third- and fourth-stage larvae. *Exp Parasitol*. 1988;65:157-167.
- Atkins CE. Comparison of results of three commercial heartworm antigen test kits in dogs with low heartworm burdens. *J Am Vet Med Assoc*. 2003;222:1221-1223.
- Atkins CE, Keene BW, McGuirk SM. Pathophysiologic mechanism of cardiac dysfunction in experimentally induced heartworm caval syndrome in dogs: an echocardiographic study. *Am J Vet Res*. 1988;49:403-410.
- Atwell RB, Buoro IBJ. Caval syndrome. In Boreman PFL, Atwell RB (eds): *Dirofilariasis*. Boca Raton, FL: CRC Press, 1988, pp 191-203.
- Atwell RB, Tarish JH. The effect of oral, low-dose prednisolone on the extent of pulmonary pathology associated with dead *Dirofilaria immitis* in a canine lung model. In *Proceedings of the Heartworm Symposium '95*, Auburn, AL. American Heartworm Society, 1995, pp 103-111.
- Badertscher RR, Losonsky JM, Paul AJ, Kneller SK. Two-dimensional echocardiography for diagnosis of dirofilariasis in nine dogs. *J Am Vet Med Assoc*. 1988;193:843-846.
- Bazzocchi C, Mortarino M, Grandi G, et al. Combined ivermectin and doxycycline treatment has microfilaricidal and adulticidal activity against *Dirofilaria immitis* in experimentally infected dogs. *Int J Parasitol*. 2008;38:1401-1410.
- Benedict MQ, Levine RS, Hawley WA, Lounibos LP. Spread of the tiger: global risk of invasion by the mosquito *Aedes albopictus*. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2007;7:76-85.
- Blagburn BL, Bowles J, Loechel R, et al. Evidence of genetic selection following treatment of a heartworm-infected, microfilaremic dog with increasing dosages of ivermectin. In *Proceedings of the AAVP 58th Annual Meeting*. Chicago, IL, 2013, p 64.
- Blagburn BL, Dillon AR, Arther RG, et al. Comparative efficacy of four commercially available heartworm preventive products against the MP3 laboratory strain of *Dirofilaria immitis*. *Vet Parasitol*. 2011;176:189-194.
- Blagburn BL, Dillon R, Prichard, R, et al. Characterization of heartworm prevention failures in the central United States. In *Proceedings of the 13th Triennial Heartworm Symposium*, Memphis, TN. American Heartworm Society, 2010, p 27.
- Blagburn BL, Dillon AR, et al. Comparative efficacy of four commercially available preventive products against JYD-34 laboratory strain of *Dirofilaria immitis*. In *Heartworms Today: Proceedings of the 2013 Triennial Symposium*, New Orleans, LA. American Heartworm Society, 2013.
- Blagburn B, Vaughan J, et al. Evaluation of susceptibility of heartworm (*Dirofilaria immitis*) biotypes to macrocyclic lactones using microfilariae-based single-dose and dose-mortality regression assays. *Proceedings of the AAVP 56th Annual Meeting*, St Louis, MO, 2011.
- Bouchery T, Lefoulon E, Karadjian G, et al. The symbiotic role of *Wolbachia* in Onchocercidae and its impact on filariasis. *Clin Microbiol Infect*. 2013;19:131-140.
- Boudreaux M, Dillon AR, Ravis WR, et al. Effects of treatment with aspirin or aspirin/dipyridamole combination in heartworm negative, heartworm infected, and embolized heartworm-infected dogs. *Am J Vet Res*. 1991;52(12):1992-1999.
- Bourguinat C, Keller K, Bhan A, et al. Macrocyclic lactone resistance in *Dirofilaria immitis*. In *Proceedings of the AAVP 56th Annual Meeting*, St. Louis, MO, 2011a, p 108.

- Bourguinat C, Keller K, Prichard RK, Geary TG. Genetic polymorphism in *Dirofilaria immitis*. *Vet Parasitol*. 2011b;176:368-373.
- Bowman DD. Heartworms, macrocyclic lactones, and the specter of resistance to prevention in the United States. *Parasites Vectors*. 2012;5:138.
- Bowman DD, Atkins CE. Heartworm biology, treatment, and control. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 2009;39:1127-1158.
- Bowman DD, Lee ACY, Harrington LC, et al. Testing the efficacy of an injectable moxidectin formulation (ProHeart® 6) against a field isolate of canine heartworm. In *Proceedings of the AAVP 58th Annual Meeting*. Chicago, IL, 2013.
- Bowman DD, Little SE, Lorentzen L, et al. Prevalence and geographic distribution of *Dirofilaria immitis*, *Borrelia burgdorferi*, *Ehrlichia canis*, and *Anaplasma phagocytophilum* in dogs in the United States: Results of a national clinic-based serologic survey. *Vet Parasitol*. 2009;160:138-148.
- Calvert CA. Treatment of heartworm disease with associated severe pulmonary arterial disease. In *Proceedings of the Heartworm Symposium '86*, New Orleans. American Heartworm Society, 1986, pp 125-129.
- Calvert CA, Rawlings CA. Canine heartworm disease. In Fox PR (ed): *Canine and Feline Cardiology*. New York: Churchill Livingstone, 1988, pp 519-549.
- Case JL, Tanner PA, Keister DM, Meo NJ. A clinical field trial of melarsomine dihydrochloride (RM340) in dogs with severe (class 3) heartworm disease. In *Proceedings of the Heartworm Symposium '95*, Auburn, AL. American Heartworm Society, 1995, pp 243-250.
- Christensen BM, Hollander AL. Effect of temperature on vector parasite relationships of *Aedes trivittatus* and *Dirofilaria immitis*. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*. 1978;45:115-119.
- Christensen BM, Rowley WA. Observations on the laboratory biology and maintenance of *Aedes trivittatus*. *Mosquito News*. 1978;38:9-14.
- Courtney CH. Predicting heartworm burdens with a heartworm antigen test kit. *JAAHA*. 1987;23:387-390.
- Courtney CH, Cornell JA. Evaluation of heartworm immunodiagnostic tests. *J Am Vet Med Assoc*. 1990;197:724-729.
- Courtney CH, Zeng Q-Y. Comparison of heartworm antigen test kit performance in dogs having low heartworm burdens. *Vet Parasitol*. 2001;96:317-322.
- Darsie R Jr, Ward R. *Identification and Geographical Distribution of the Mosquitoes of North America, North of Mexico*. University Press of Florida, Gainesville, FL, 2005.
- Dillon AR, Brawner WR, Hanrahan L. Influence of number of parasites and exercise on the severity of heartworm disease in dogs. In *Proceedings of the Heartworm Symposium '95*, Auburn, AL. American Heartworm Society, 1995, p 113.
- Dillon AR, Warner AE, Molina RM. Pulmonary parenchymal changes in dogs and cats after experimental transplantation of dead *Dirofilaria immitis*. In *Proceedings of the Heartworm Symposium '95*, Auburn, AL. American Heartworm Society, 1995, pp 97-101.
- Dzimianski MT, McCall JW, Mansour AM. The effect of prednisone on the efficacy of melarsomine dihydrochloride against adult *Dirofilaria immitis* in experimentally infected beagles. In *State of the Heartworm '10 Symposium*, Memphis, TN. American Heartworm Society, 2010.
- Dzimianski MT, McCall JW, McTier TL, Raynaud JP. Efficacy of RM 340 compared with thiacetarsamide judged by objective criteria. 1. Controlled laboratory tests in canine models. In *Proceedings of the AAVP 35th*

Annual Meeting. San Antonio, TX, 1990, p 51.

Dzimianski MT, McTier TL, McCall JW, Raynaud JP. Assessment of filaricidal activity of a new filaricide (RM 340) against immature and adult heartworms using experimental canine models. In *Proceedings of the Heartworm Symposium '89*, Washington, DC. American Heartworm Society, 1989, pp 147-153.

Ernst J, Slocombe JOD. The effect of low temperature on developing *Dirofilaria immitis* larvae in *Aedes triseriatus*. In *Proceedings of the Heartworm Symposium '83*, Orlando, FL. American Heartworm Society, 1983, pp 1-4.

Evans CC. An *in vitro* bioassay for measuring anthelmintic susceptibility in *Dirofilaria immitis*. Thesis for Master of Science Degree. University of Georgia, Athens, GA, 2011.

Fortin JF, Slocombe JOD. Temperature requirements for the development of *Dirofilaria immitis* in *Aedes triseriatus* and *Ae. vexans*. *Mosquito News*. 1981;41:625-633.

Fukami N, Hagio M, Okano S, Watanabe S. Influence of exercise on recovery of dogs following heartworm adulticide treatment with melarsomine. In *Recent Advances in Heartworm Disease: Symposium '98*, Tampa, FL. American Heartworm Society, 1998, pp 225-227.

Geary TG, Bourguinat C, Prichard RK. Evidence for macrocyclic lactone anthelmintic resistance in *Dirofilaria immitis*. *Topics Companion Anim Med*. 2011;26:186-192.

Georgi JR, Georgi ME. Heartworms and other filarids. In *Canine Clinical Parasitology*. Philadelphia, PA: Lea & Febiger, 1992, pp 192-198.

Gjullin CM, Yates WW, Stage HH. Studies on *Aedes vexans* (Meig.) and *Aedes sticticus* (Meig.) floodwater mosquitoes in the lower Columbia River Valley. *Ann Entomol Soc Am*. 1950;43:262-275.

Grandi G, Quintavalla C, Mavropoulou A, et al. A combination of doxycycline and ivermectin is adulticidal in dogs with naturally acquired heartworm disease (*Dirofilaria immitis*). *Vet Parasitol*. 2010;169:347-351.

Grieve RB, Knight DH. Anti-*Dirofilaria immitis* antibody levels before and after anthelmintic treatment of experimentally infected dogs. *J Parasitol*. 1985;71:56-61.

Guerrero J, McCall JW, Genchi C, et al. Recent advances in heartworm disease. *Vet Parasitol*. 2004;125:105-130.

Hinman EH, Hurlbut HS. A study of winter activities and hibernation of *Anopheles quadrimaculatus* in the Tennessee Valley. *Am J Trop Med Hyg*. 1940;20:431-446.

Hirano Y, Kitagawa H, Sasaki Y. Relationship between pulmonary arterial pressure and pulmonary thromboembolism associated with dead worms in canine heartworm disease. *J Vet Med Sci*. 1992;54:897-904.

Hoerauf A, Mand S, Fischer K, et al. Doxycycline as a novel strategy against bancroftian filariasis-depletion of *Wolbachia* endosymbionts from *Wuchereria bancrofti* and stop of microfilaria production. *Med Microbiol Immunol*. 2003;192:211-216.

Hoskins JD, Hribernik TN, Kearney MT. Complications following thiacetarsamide sodium therapy in Louisiana dogs with naturally-occurring heartworm disease. *Cornell Vet*. 1985;75:531-539.

Ishihara K, Kitagawa H, Ojima M, et al. Clinicopathological studies on canine dirofilarial hemoglobinuria. *Jap J Vet Sci*. 1978;40:525-537.

Ishihara K, Kitagawa H, Sasaki Y. Efficacy of heartworm removal in dogs with dirofilarial hemoglobinuria using flexible alligator forceps. *Jap J Vet Sci*. 1988;50:739-745.

Jackson RF. The venae cavae syndrome. In *Proceedings of the Heartworm Symposium 1974*, Auburn, AL.

American Heartworm Society, 1974, pp 48-50.

Jackson RF, Seymour WG, Growney PJ, Otto GF. Surgical treatment of the caval syndrome of canine heartworm disease. *J Am Vet Med Assoc.* 1977;171:1065-1069.

Kaminsky R, Lizundia R, Blagburn B, et al. Efficacy studies in dogs demonstrate resistance of *Dirofilaria* against ivermectin and other macrocyclic lactones. In *Proceedings of the AAVP 58th Annual Meeting.* Chicago, IL, 2013.

Kartman L. Factors influencing infection of the mosquito with *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856). *Exp Parasitol.* 1953;2:27-78.

Keister DM, Dzimianski MT, McTier TL, et al. Dose selection and confirmation of RM 340, a new filaricide for the treatment of dogs with immature and mature *Dirofilaria immitis*. In *Proceedings of the Heartworm Symposium '92*, Austin, TX. American Heartworm Society, 1992, pp 225-229.

Kitagawa H, Sasaki Y, Ishihara K. Clinical studies on canine *dirofilarial hemoglobinuria*: relationship between the presence of heartworm mass at the tricuspid valve orifice and plasma hemoglobin concentration. *Jap J Vet Sci.* 1986;48:99-103.

Knight DH, Lok JB. Seasonality of heartworm infection and implications for chemoprophylaxis. *Clin Tech Small Anim.* 1998;13:77-82.

Knott J. A method for making microfilarial surveys on day blood. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1939;33:191-196.

Kotani T, Powers KG. Developmental stages of *Dirofilaria immitis* in the dog. *Am J Vet Res.* 1982;43:2199-2206.

Kozek WJ. What is new in the *Wolbachia/Dirofilaria* interaction. *Vet Parasitol.* 2005;133(2-3):127-132.

Kozek WJ, Vazquez AE, Gonzalez C Jr, et al. Prevalence of canine filariae in Puerto Rico and the Caribbean. In *Proceedings of the Heartworm Symposium '95*, Auburn, AL. American Heartworm Society, 1995.

Kramer L, Grandi G, Passeri B, et al. Evaluation of lung pathology in *Dirofilaria immitis* – Experimentally infected dogs treated with doxycycline or a combination of doxycycline and ivermectin before administration of melarsomine dihydrochloride. *Vet Parasitol.* 2011;176:357-360.

Kramer L, Simon F, Tamarozzi F, et al. Is *Wolbachia* complicating the pathological effects of *Dirofilaria immitis* infections? *Vet Parasitol.* 2005;133(2-3):133-136.

Kramer LH, Tamarozzi F, Morchón R, et al. Immune response to and tissue localization of the *Wolbachia* surface protein (WSP) in dogs with natural heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection. *Vet Immunol Immunopathol.* 2005;106:303-308.

Kume S, Itagaki S. On the life-cycle of *Dirofilaria immitis* in the dog as the final host. *Br Vet J.* 1955;111:16-24.

Lee ACY, Bowman DD, Lucio-Forster A, et al. Evaluation of a new in-clinic method for the detection of canine heartworm antigen. *Vet Parasitol.* 2011;177:387-391.

Lichtenfels JR, Pilitt PA, Kotani T, Powers KG. Morphogenesis of developmental stages of *Dirofilaria immitis* (Nematoda) in the dog. *Proc Helm Soc Wash.* 1985;52:98-113.

Lok JB, Knight DH. Laboratory verification of a seasonal heartworm transmission model. In *Recent Advances in Heartworm Disease: Symposium '98*. American Heartworm Society, 1998, pp 15-20.

Löwenberg Neto P, Navarro-Silva MA. Development, longevity, gonotrophic cycle and oviposition of *Aedes albopictus* Skuse (Diptera: Culicidae) under cyclic temperatures. *Neotrop Entomol.* 2004;33:29-33.

- Ludlam KW, Jachowski LA Jr, Otto GF. Potential vectors of *Dirofilaria immitis*. *J Am Vet Med Assoc*. 1970;157:1354-1359.
- Maxwell E, Ryan K, Reynolds C, Pariaut R. Outcome of a heartworm treatment protocol in dogs presenting to Louisiana State University from 2008 to 2011: 50 cases. *Vet Parasitol*. 2014;206:71-77.
- McCall JW. A parallel between experimentally induced canine and feline heartworm disease. In *Proceedings of XVII World Small Animal Veterinary Association World Congress*. Rome, 1992, pp 255-261.
- McCall JW. The safety-net story about macrocyclic lactone heartworm preventives: A review, an update, and recommendations. *Vet Parasitol*. 2005;133:197-206.
- McCall JW, Arther R, Davis W, Settje T. Safety and efficacy of 10% imidacloprid + 2.5% moxidectin for the treatment of *Dirofilaria immitis* circulating microfilariae in experimentally infected dogs. *Vet Parasitol*. 2014a;206:5-13.
- McCall JW, Genchi C, Kramer L, et al. Heartworm and *Wolbachia*: therapeutic implications. *Vet Parasitol*. 2008a;158:204-214.
- McCall JW, Genchi C, Kramer LH, et al. Heartworm disease in animals and humans. In Rollinson D, Hay SI (eds): *Advances in Parasitology*. New York: Academic Press, 2008b, pp 193-285.
- McCall JW, Guerrero J, Roberts RE, et al. Further evidence of clinical prophylactic, retroactive (reach-back) and adulticidal activity of monthly administrations of ivermectin (Heartgard Plus) in dogs experimentally infected with heartworms. In *Recent Advances in Heartworm Disease Symposium '01*. American Heartworm Society, 2001, pp 198-200.
- McCall JW, Kramer L, Genchi C, et al. Effects of melarsomine dihydrochloride on 2-month-old infections of *Dirofilaria immitis* and *Brugia pahangi* in dogs with dual infections. In *State of the Heartworm '10 Symposium*, Memphis, TN. American Heartworm Society, 2010.
- McCall JW, Kramer L, Genchi C, et al. Effects of doxycycline on early infections of *Dirofilaria immitis* in dogs. *Vet Parasitol*. 2011;176:361-367.
- McCall JW, Kramer L, Genchi C, et al. Effects of doxycycline on heartworm embryogenesis, transmission, circulating microfilaria, and adult worms in microfilaremic dogs. *Vet Parasitol*. 2014b;206(1-2):5-13.
- McCall JW, Supakorndej N, Donoghue AR, et al. Evaluation of the performance of canine heartworm antigen test kits licensed for use by veterinarians and canine heartworm test kits conducted by diagnostic laboratories. In *Recent Advances in Heartworm Disease: Symposium '01*. American Heartworm Society, 2001, pp 97-104.
- McGreevy PB, Theis JH, Lavoipierre MM, Clark J. Studies on filariasis. III. *Dirofilaria immitis*: emergence of infective larvae from the mouthparts of *Aedes aegypti*. *J Helminthol*. 1974;48:221-228.
- McKay T, Bianco T, Rhodes L, Barnett S. Prevalence of *Dirofilaria immitis* (Nematoda: Filarioidea) in mosquitoes from northeast Arkansas, the United States. *J Med Entomol*. 2013;50:871-878.
- McTier TL, McCall JW, Dzimianski MT, et al. Use of melarsomine dihydrochloride (RM 340) for adulticidal treatment of dogs with naturally acquired infections of *Dirofilaria immitis* and for clinical prophylaxis during reexposure for 1 year. *Vet Parasitol*. 1994;55:221-233.
- Mealey KL. Canine *ABCB1* and macrocyclic lactones: Heartworm prevention and pharmacogenetics. *Vet Parasitol*. 2008;158:215-222.
- Moise NS. Echocardiography. In Fox PR (ed): *Canine and Feline Cardiology*. New York: Churchill Livingstone, 1988, pp 113-156.

Morchón R, Carretón E, González Miguel J, Mellado Hernández I. Heartworm disease (*Dirofilaria immitis*) and their vectors in Europe. New distribution trends. *Front Physiol.* 2012;3.

Moreno Y, Nabhan JF, Solomon J, et al. Ivermectin disrupts the function of the excretory-secretory apparatus in microfilariae of *Brugia malayi*. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2010;107:20120-20125.

Morini S, Venco L, Fagioli P, Genchi C. Surgical removal of heartworms versus melarsomine treatment of naturally-infected dogs with high risk of thromboembolism. In *Recent Advances in Heartworm Disease: Symposium '98*, Tampa, FL. American Heartworm Society, 1998, pp 235-240.

Nelson CT. Heartworm disease. In Greene C (ed): *Infectious Diseases of the Dog and Cat*, 4th ed. Elsevier, 2012, pp 865-877.

Nelson CT, Sellers EF. Current recommendation for doxycycline in heartworm treatment and its clinical benefits. In *Heartworms Today: Proceedings of the 2013 Triennial Symposium*, New Orleans, LA. American Heartworm Society, 2013, p 26.

Orihel TC. Morphology of the larval stages of *Dirofilaria immitis* in the dog. *J Parasitol.* 1961;47:251-262.

Paul AJ, et al. Efficacy of ivermectin against *Dirofilaria immitis* larvae in dogs 30 and 45 days after induced infection. *Am J Vet Res.* 1986;47:883-884.

Peterson KM, Chappell DE, Lewis B, et al. Heartworm-positive dogs recover without complications from surgical sterilization using cardiovascular sparing anesthesia protocol. *Vet Parasitol.* 2014; 206:83-85.

Pratt HD, Moore CD. *Mosquitoes of Public Health Importance and Their Control*. United States Government Printing Office, Washington, DC, 1960.

Pulaski CN, Malone JB, Bourguinat C. Establishment of macrocyclic lactone resistant *Dirofilaria immitis* isolates in experimentally infected laboratory dogs. *Parasit Vectors.* 2014;7:494.

Pulaski CN, Malone JB, Ward D, et al. The establishment of macrocyclic lactone resistant *Dirofilaria immitis* isolates in experimentally infected laboratory dogs. In *Proceedings of the AAVP 58th Annual Meeting*. Chicago, IL, 2013.

Pulliam JD, Seward RL, Henry RT, Steinberg SA. Investigating ivermectin toxicity in Collies. *Vet Med.* 1985;80:33-40.

Rawlings CA. Acute response of pulmonary blood flow and right ventricular function to *Dirofilaria immitis* adults and microfilaria. *Am J Vet Res.* 1980;41:244-249.

Rawlings CA. *Heartworm Disease in Dogs and Cats*. Philadelphia: Saunders, 1986.

Rawlings CA, Bowman DD, Howerth EW, et al. Response of dogs treated with ivermectin or milbemyacin starting at various intervals after *Dirofilaria immitis* infection. *Vet Therap Res Appl Vet Med.* 2001;2:193-207.

Rawlings CA, Keith JC Jr, Losonsky JM, McCall JM. An aspirin-prednisolone combination to modify postadulthood lung disease in heartworm-infected dogs. *Am J Vet Res.* 1984;45:2371-2375.

Rawlings CA, Raynaud JP, Lewis RE, Duncan JR. Pulmonary thromboembolism and hypertension after thiacetarsamide vs melarsomine dihydrochloride treatment of *Dirofilaria immitis* infection in dogs. *Am J Vet Res.* 1993a;54:920-925.

Rawlings CA, Tonelli Q, Lewis RE, Duncan JR. Semiquantitative test for *Dirofilaria immitis* as a predictor of thromboembolic complications associated with heartworm treatment in dogs. *Am J Vet Res.* 1993b;54:914-919.

Rossi MID, Paiva J, Bendas A, et al. Effects of doxycycline on the endosymbiont *Wolbachia* in *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856)—Naturally infected dogs. *Vet Parasitol.* 2010;174:119-123.

- Scoles GA, Dickson SL, Blackmore MS. Assessment of *Aedes sierrensis* as a vector of canine heartworm in Utah using a new technique for determining the infectivity rate. *J Am Mosq Control Assoc.* 1993;9:88-90.
- Slocombe J, Srivastava B, Surgeoner G. The transmission period for heartworm in Canada. In *Proceedings of the Heartworm Symposium '95*, Auburn, AL. American Heartworm Society, 1995, pp 43-48.
- Slocombe JOD, Surgeoner GA, Srivastava B. 1989. Determination of the heartworm transmission period and its used in diagnosis and control. In *Proceedings of the Heartworm Symposium '89*, Charleston, SC. American Heartworm Society, 1989, pp 19-26.
- Snyder DE, Wiseman S, Bowman DD, et al. Assessment of the effectiveness of a combination product of spinosad and milbemycin oxime on the prophylaxis of canine heartworm infection. *Vet Parasitol.* 2011a;180:262-266.
- Snyder DE, Wiseman S, Cruthers LR, Slone RL. 2011b. Ivermectin and milbemycin oxime in experimental adult heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection of dogs. *J Vet Intern Med.* 2011b;25:61-64.
- Taylor AE. The development of *Dirofilaria immitis* in the mosquito *Aedes aegypti*. *J Helminthol.* 1960;34:27-38.
- Taylor MJ, Bandi C, Hoerauf A. *Wolbachia* bacterial endosymbionts of filarial nematodes. *Adv Parasitol.* 2005;60:245-284.
- Terrell S. Heartworm in Alaska: Prevalence in domestic dogs and wild canids. In *Recent Advances in Heartworm Disease Symposium '98*, Tampa, FL. American Heartworm Society, 1988, pp 83-86.
- Theis JH, Kass PH, Stevens F. Effects of drought and chemoprophylaxis on heartworm transmission in domestic dogs in California (1983 to 1991). In *Recent Advances in Heartworm Disease Symposium '98*, Tampa, FL. American Heartworm Society, 1998, pp 37-50.
- Townson S, Tagboto S, McGarry HF, et al. Onchocerca parasites and *Wolbachia* endosymbionts: evaluation of a spectrum of antibiotic types for activity against *Onchocerca gutturosa* in vitro. *Filaria J.* 2006;5:4.
- Vatta AF, Dzimianski M, Storey BE, et al. Ivermectin-dependent attachment of neutrophils and peripheral blood mononuclear cells to *Dirofilaria immitis* microfilariae in vitro. *Vet Parasitol.* 2014;206:38-42.
- Velasquez L, Blagburn BL, Duncan-Decoq R, et al. Increased prevalence of *Dirofilaria immitis* antigen in canine samples after heat treatment. *Vet Parasitol.* 2014;206:67-70.
- Venco L. Diagnosis of vena cava syndrome. *Veterinaria.* 1993;7:11-18.
- Venco L, Genchi C, Vigevani Colson P, Kramer L. Relative utility of echocardiography, radiography, serologic testing and microfilariae counts to predict adult worm burden in dogs naturally infected with heartworms. In *Recent Advances in Heartworm Disease Symposium '01*. American Heartworm Society, 2001, pp 111-124.
- Venco L, McCall JW, Guerrero J, Genchi C. Efficacy of long-term monthly administration of ivermectin on the progress of naturally acquired heartworm infections in dogs. *Vet Parasitol.* 2004;124:259-268.
- Vezzoni A, Genchi C, Raynaud JP. Adulticide efficacy of RM 340 in dogs with mild and severe natural infections. In *Proceedings of the Heartworm Symposium '92*. Austin, TX. American Heartworm Society, 1992, pp 231-240.
- Wang LC. Comparison of a whole-blood agglutination test and an ELISA for the detection of the antigens of *Dirofilaria immitis* in dogs. *Ann Trop Med Parasitol.* 1998;92:73-77.
- Yoon WK, Choi R, Lee SG, et al. Comparison of two retrieval devices for heartworm removal in 52 dogs with heavy worm burden. *J Vet Intern Med.* 2013;27(3):469-473.



AMERICAN
HEARTWORM
SOCIETY
EST. 1974

Queste linee guida si basano sulle più recenti informazioni relative alla filariosi cardiopolmonare. In linea con l'obiettivo della Società di incoraggiare l'adozione di procedure standardizzate per la diagnosi, il trattamento e la prevenzione della filariosi cardiopolmonare, le linee guida continueranno a essere aggiornate non appena saranno disponibili delle nuove conoscenze.