

Toevalsbevinding van *Dirofilaria repens* in een hematoom bij een hond in België

Accidental diagnosis of *Dirofilaria repens* in a hematoma in a dog in Belgium

H. De Bosschere, E. Kindermans

MedLab Bruyland – Diergeneeskunde, Beneluxpark 2, B-8500 Kortrijk, Belgium

hendrik.de.bosschere@bruyland.be

SAMENVATTING

In deze casuïstiek wordt een tien jaar oude, vrouwelijke Mechelse herder beschreven die aangeboden werd met een grote zwelling caudaal van de mandibula en ter hoogte van de keelbasis. Op cytologisch onderzoek werd een hematoom gediagnosticeerd door middel van een fijnaaldaspiratie. Per toeval werden enkele *Dirofilaria repens* microfilariae aangetroffen in het uitstrijkje van deze zwelling. Naast de beschrijving van de casus wordt ook een literatuuroverzicht gegeven van *Dirofilaria repens*.

ABSTRACT

A ten-year-old, female Malinois shepherd was presented with a large swelling caudally of the mandibula and at the base of the throat. On cytological examination, a hematoma was diagnosed by means of a fine needle aspiration. Coincidentally, some *Dirofilaria repens* microfilariae were observed in the slide-out. Next to the case description, a review of the literature of *Dirofilaria repens* is given.

INLEIDING

Dirofilaria repens (*D. repens*) is een nematode die behoort tot het genus *Dirofilaria*, net als de meer bekende *Dirofilaria immitis*. De nematoden van dit genus hebben gedomesticeerde honden, katten en wilde carnivoren als voornaamste eindgastheer. Muggen behorende tot verschillende genera zijn de natuurlijke tussengastheer. *D. repens* veroorzaakt vaak subklinische, subcutane en oculaire dirofilariosis bij honden en katten. *D. immitis* daarentegen is wel van groot pathogeen belang in de diergeneeskunde omdat het de veroorzaker is van cardiopulmonaire dirofilariosis bij dieren. Beide *Dirofilaria* spp. hebben een bekend zoönotisch potentieel (Otranto et al., 2013; Fuehrer et al., 2016).

Dirofilaria repens (*D. repens*) komt voor in Europa, Afrika en Azië. Rusland is een van de belangrijkste gebieden waar *D. repens* endemisch is (Ermakova, 2014). In het zuiden en oosten van Europa is *D. repens* endemisch in Italië, Frankrijk, Griekenland, Kroatië en Spanje (Baneth et al., 2018). Miterpakova et al. (2008) hebben aangetoond dat *D. repens* ende-

misch is in Oost-Slovakije. Studies in Slovakije en Polen hebben aangetoond dat er een hoge prevalentie (34-60%) is van *D. repens* onder klinisch gezonde honden. Deze asymptomatische infecties worden niet gediagnosticeerd en bijgevolg ook niet behandeld (Bajer et al., 2014; Vichova et al., 2014). Recentelijk werden (vermoedelijk) autochtone besmettingen gerapporteerd in onder andere Oostenrijk (Duscher et al., 2009; Fuehrer et al., 2016) en Duitsland (Hermosilla et al., 2006; Pantchev et al., 2009). Het lijkt erop dat *D. repens* aan een opmars bezig is en zijn verspreidingsgebied aan het uitbreiden is naar Centraal-Europa (Genchi et al., 2011). Deze noordwaartse expansie zou het gevolg zijn van de klimaatwijziging en het toenemende verkeer van besmette honden binnen Europa (Genchi et al., 2011; Sassnau et al., 2014). De toename van de omgevingstemperatuur zorgt ervoor dat de ontwikkeling van de infectieuze L3-stadia van *Dirofilaria* spp. bij muggen noordelijker mogelijk wordt (Fortin en Slocombe, 1981).

D. repens is de belangrijkste veroorzaker van subcutane filariosis bij honden en katten in Europa (Genchi et al., 2013). De volwassen wormen vormen

nodules in het subcutane weefsel en de perimusculaire bindweefselfascii. Deze nodules kunnen over het volledige lichaam voorkomen (Genchi et al., 2013). Meestal verloopt een infectie met *D. repens* bij de hond asymptomatisch. De pijnloze subcutane nodules, met daarin de volwassen wormen, veroorzaken doorgaans geen klinische symptomen. Hierdoor worden veel infecties niet gediagnosticeerd. Als er wel klachten optreden zijn deze voornamelijk van dermatologische aard. Dermale zwelling, gegeneraliseerde dermatitis, lokale alopecie en jeuk worden beschreven (Rocconi et al., 2012; Baneth et al., 2018). Conjunctivitis wordt soms ook gezien (Genchi en Kramer, 2017). Allergische reacties kunnen voorkomen en zouden kunnen te wijten zijn aan allergische reacties door sensitisatie aan de microfilariae (Genchi et al., 2013). Bij honden met een zware systemische infectie kunnen histopathologische afwijkingen waargenomen worden in de lever, milt, nieren, longen, hart en hersenen (Baneth et al., 2018). Dergelijke systemische infecties zijn echter uitzonderlijk en mogelijk toe te schrijven aan immunosuppressie uitgelokt door een andere aandoening (Dzaja et al., 2008).

De vrouwelijke, volwassen wormen meten 13 tot 17 cm en hebben een diameter van 460-650 μm . De mannetjes zijn met hun 5 tot 7 cm lengte een stuk korter (Anderson, 1952). Microfilariae (L1-stadium, 300-360 μm lang en 6-8 μm diameter) worden door de volwassen vrouwtjes na het paren met een mannetje uitgescheiden en komen zo in de circulatie van de eindgastheer terecht. In het muggenseizoen kan een hogere concentratie microfilariae in het perifere bloed gevonden worden, alwaar ze door een tussengastheer opgenomen worden. Vrouwelijke muggen (van de genera *Aedes*, *Anopheles*, *Culex*, *Armigeres* en *Mansonioides*) doen dienst als tussengastheer en vector voor transmissie. De microfilariae verlaten de darm van de mug en komen in de lichaamsholte terecht. Ze vervellen tweemaal in de tubuli van Malpighi, tot respectievelijk het L2- en het infectieuze L3-stadium, en migreren dan naar de proboscis (Baneth et al., 2018). De ontwikkelingsduur van *Dirofilaria* spp. in de mug is temperatuursafhankelijk en loopt gelijk voor *D. repens* en *D. immitis* (Otranto et al., 2013). Onder experimentele omstandigheden werd aangetoond dat de ontwikkeling tot de infectieuze L3-larve acht tot tien dagen in beslag neemt bij een temperatuur van 28°C tot 30°C. Hoe lager de omgevingstemperatuur, hoe langer dit duurt. Onder de 14°C valt ze stil (Morchon et al., 2012). Tijdens een bloedmaal verlaat de L3-larve de mug actief en treedt ze in de eindgastheer binnen. De L3-larve komt vervolgens in het nabijgelegen subcutane weefsel terecht en vervelt er tot een L4-larve. De prepatente periode, waarin de L4-larve zich verder ontwikkelt tot een volwassen worm, neemt ongeveer 6,5-9 maanden in beslag. Volwassen wormen kunnen in een geschikte eindgastheer 4 tot 7 jaar (patente periode) overleven en microfilariae produceren (Genchi

et al., 2013; Genchi en Kramer, 2017; Baneth et al., 2018). Honden blijken hiervoor het meeste geschikt en vormen het voornaamste reservoir voor microfilariae. Katten zijn meer resistent tegen de infectie (Genchi et al., 2013). Ook de mens kan besmet worden als accidentele eindgastheer. *D. repens* kan zich bij de mens doorgaans niet ontwikkelen tot de seksueel mature vorm en in de letsels bevinden zich preadulte stadia (Genchi en Kramer, 2017). *Dirofilariosis* door *D. repens* is de voornaamste oorzaak van humane subcutane (voornamelijk mammae en scrotum) en oculaire *dirofilariosis*; zelden worden pulmonaire of paranasale nodules gezien (Otranto et al., 2013; Baneth et al., 2018). Deze kunnen verward worden met sebunkliercysten of tumoren. Er zijn in de literatuur gegevens beschikbaar van meer dan 3500 gevallen van humane *dirofilariose* door *D. repens* in Europa, van 1977 tot 2016 (Genchi en Kramer, 2017). In Europa wordt *dirofilariosis* door *D. repens* beschouwd als een opkomende zoönose. Omdat *D. repens* bij zijn belangrijkste eindgastheer de hond, die ook het voornaamste reservoir vormt, vaak subklinisch verloopt, wordt aan deze parasitaire infectie in de diergeneeskunde weinig aandacht besteed. De diagnose berust doorgaans op een toevalsbevinding (Fuehrer et al., 2016). Herkenning, behandeling en preventie van besmettingen met *D. repens* bij de hond zullen zeker helpen om humane *D. repens*-infecties onder controle te houden (Simon et al., 2009). Alles begint bij het identificeren van honden die een reservoir vormen. Een diagnose wordt bij de hond gesteld door het vaststellen van microfilariae in een bloeduitstrijkje. Dit is een snelle methode, maar ze mist sensitiviteit en is dus niet aanbevolen. De huidige, aangeraden en betere methode is de Knott-test. Voor deze test wordt 1 ml EDTA-bloed gemengd met 9 ml 2 %-formoloplossing. Dit mengsel wordt gecentrifugeerd, het sediment wordt op een draagglasje gekleurd met methyleenblauw, bedekt met een dekglasje en onder de microscoop bekeken. Differentiatie van de microfilariae kan gebeuren met een zure fosfatasekleuring (EDTA-bloed gemengd met 10 ml gedeïoniseerd water – gecentrifugeerd en sediment op draagglasje – gedroogd en gekleurd met zure fosfatase en gefixeerd met aceton). De microfilaria zijn ongeveer 300 – 360 μm lang en 6-8 μm dik. Meestal zijn ze te herkennen aan een parapluhandvatvormig en puntig staarteinde en een stompe kop met 2-3 nucleï (Liotta et al., 2013). Er bestaan geen serologische testkits voor de detectie van circulerende antistoffen of antigenen van *D. repens* (Genchi et al., 2013). Een PCR-test is wel mogelijk maar beperkt beschikbaar en wordt niet routinematig toegepast (Sævik et al., 2014). Het onderscheid tussen microfilariae van *D. immitis* en *D. repens* wordt gemaakt op basis van verschillende morfologische kenmerken. De microfilariae van *D. repens* zijn significant groter dan die van *D. immitis*, al heeft die laatste wel een langere kop.

CASE REPORT

Anamnese, algemeen onderzoek en analyses

Een tien jaar oude, vrouwelijke, intacte Mechelse herder werd aangeboden met een grote zwelling caudaal van de mandibula, ter hoogte van de keelbasis. De zwelling werd twee dagen voordien door de eigenaar opgemerkt. Deze hond leefde in een roedel en sinds kort was er een nieuwe teef bijgekomen. Hierdoor was er soms onrust en werd er onderling gevochten. Tot vier jaar voordien vergezelde de hond de eigenaar naar Zuid-Frankrijk. Op het moment van aanbieden verkeerde de hond in goede gezondheid. De eetlust was goed en stabiel, er was geen sprake van een afwijkend drinkgedrag. Urineren en defeceren verliepen normaal. Op het lichamelijk onderzoek was de hond alert, in goede algemene conditie en had ze een normale lichaamstemperatuur (38,8°C). Auscultatie van hart en longen en abdominale palpatie brachten geen afwijkingen aan het licht. Er werden geen opgezette lymfeknopen gevoeld, de gewrichten waren droog en de slijmvliezen roze met een normale capillaire vullingstijd (CVT). Aan de rechterzijde, vanaf de oorbasis tot tussen de kaaktakken, bevond zich een grote, niet-pijnlijke, fluctuerende, retromandibulaire zwelling van ongeveer 20cm op 10cm.

De dierenarts nam een fijneaaldaspiraats (FNA) van de zwelling. Het punctievocht was serohemoragisch van uitzicht en werd naar het labo gezonden voor verder onderzoek. Differentiaaldiagnostisch werd gedacht aan een abces, hematoom, sialadenitis en neoplasmie.

In het labo werd de punctie geanalyseerd met de hematologie-analyzer XTvet (Sysmex, Etten-Leur, Nederland), uitgestreken op een draagglasje, aan de lucht gedroogd en gekleurd met Hemacolor® (Merck, Darmstadt, Duitsland). Celtelling door de XTvet leverde $2,04 \times 10^3/\mu\text{l}$ leukocyten, $1,34 \times 10^6/\mu\text{l}$ erythrocyten, $18 \times 10^3/\mu\text{l}$ trombocyten op. Cytologisch werden zo goed als uitsluitend erythrocyten, een gering aantal leukocyten en sporadisch een trombocyt waargenomen. Daarnaast werden enkele microfilariae aangetroffen (Figuur 1). Deze waren ongeveer $350 \times 6-7\mu\text{m}$ groot. De cytologische diagnose van hematoom met aanwezigheid van microfilariae werd gesteld. Bacteriologisch onderzoek van de punctie was negatief. De dierenarts werd van de bevindingen op de hoogte gesteld en na overleg met de eigenaar werd een bloedstaal genomen van deze en van de drie andere honden. Uit het hematologisch onderzoek van alle vier de honden kwamen geen afwijkingen naar voor. Bijkomend werd van alle honden een bloeduitstrijkje bekeken als screening voor *Babesia*, *Ehrlichia* en *Anaplasma*. Het resultaat hiervan was negatief. Er werd daarnaast gezocht naar microfilariae door middel van de Knott-test (Marcos et al., 2016). In het staal van de hond met de zwelling werden microfilariae aangetroffen. De stalen van de andere honden waren negatief.



Figuur 1. *Dirofilaria repens* tussen de erythrocyten van het hematoom. Vergroting 500x.

Een algemeen biochemisch onderzoek werd niet uitgevoerd uit financiële overweging. Gezien de voorgeschiedenis van reizen naar het buitenland en het endemisch zijn van verschillende andere aandoeningen in die regio's waar ook *D. repens* endemisch is, werd een SNAP 4dx-sneltest (IDEXX, Ludwigsburg, Duitsland) uitgevoerd. Deze test detecteert antigenen van *Dirofilaria immitis* en antistoffen tegen *Borrelia burgdorferi*, *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia ewingii*, *Anaplasma phagocytophilum* en *Anaplasma platys*. De test was negatief, net als een sneltest voor *Angiostrongylus vasorum*-antigenen (IDEXX, Ludwigsburg, Duitsland).

Na deze onderzoeken en een literatuurstudie werd de diagnose van cutaan hematoom met de aanwezigheid van microfilariae gesteld. Gebaseerd op de afmetingen en karakteristieke kenmerken (Liotta et al., 2013) werd geconcludeerd dat het vermoedelijk om microfilariae van *D. repens* ging. Of de microfilariae of het migreren van de adulte wormen een rol hebben gespeeld in het ontstaan van het hematoom kan niet gezegd worden.

De hond werd behandeld met Advocate® (imidacloprid en moxidectin, Bayer, Leverkusen, Duitsland), één pipet per maand, toediening volgens aanwijzingen van de fabrikant gedurende drie opeenvolgende maanden.

Twee weken na de eerste consultatie was het hematoom gehalveerd in omvang en verder uitgezakt tussen de kaaktakken. De hond leek alerter dan bij het eerste bezoek. Het lichamelijk onderzoek was normaal en er werden geen nodules of andere afwijkingen gevonden tijdens het dermatologisch onderzoek. Nog twee weken later was de zwelling volledig verdwenen.

DISCUSSIE

Er zijn geen literatuurgegevens bekend van een diagnose van *D. repens* bij de hond in België. In onze contreien is er een gebrek aan ervaring met deze para-

siet. De prevalentie zou laag zijn en de meeste infecties verlopen subklinisch. Waarschijnlijk heeft deze hond de besmetting opgelopen tijdens een verblijf in Zuid-Frankrijk, al kan dat niet met zekerheid gesteld worden.

Honden met een voorgeschiedenis van reizen naar of leven in een gebied waar *D. repens* endemisch is, worden niet routinematig gescreend. Er is geen serologische testkit voor de detectie van circulerende antistoffen of antigenen beschikbaar (Genchi et al., 2013). Een PCR-test bestaat maar is niet overal uitvoerbaar. Hierdoor worden de meeste gevallen waarschijnlijk niet gediagnosticeerd en kunnen besmette honden gedurende lange tijd een actief reservoir zijn voor infectie voor mens en dier.

Verskillende factoren, zoals de omgevingstemperatuur, de aanwezigheid en concentratie van de vector en microfilarische honden, spelen een rol in de overdracht en de verspreiding van *Dirofilaria* spp. Momenteel is *D. repens* niet endemisch in België. Vooraleer dit zou kunnen gebeuren, moet er aan verschillende voorwaarden voldaan worden. De vector is aanwezig maar in het geval van *D. repens* moet de parasiet er zich kunnen ontwikkelen tot het infectieuze stadium (Fuehrer et al., 2016). Hierbij spelen de klimatologische omstandigheden een belangrijke rol. De parameter “growing degree-day” (GDD) wordt gebruikt om de geografische distributie en seizoensgebondenheid te voorspellen van *Dirofilaria* spp. in verschillende delen van de wereld. Deze modellen zijn gebaseerd op een minimumtemperatuur van 14°C voor de ontwikkeling van *Dirofilaria* tot het L3-stadium in de tussengastheer. Voor de larvale transformatie tot dit infectieus stadium zijn er 130 GDD nodig (Genchi et al., 2011). Deze voorwaarden komen steeds meer noordelijker voor. Door het transport van honden uit endemische gebieden in Europa naar meer noordelijke streken neemt de prevalentie van microfilarische honden in Centraal- en Noord-Europa toe en zou de cyclus zich ook in Noord-Europa kunnen voltrekken (Genchi et al., 2009). Er moet een minimumpopulatie van de eindgastheer aanwezig zijn opdat de besmetting zich binnen de populatie onder de dragers kan handhaven (Fuehrer et al., 2016).

Vanuit een zoönotisch standpunt is het belangrijk om dragerschap bij honden te voorkomen. Dit kan gebeuren door honden die leven of reizen in endemische zones te behandelen met producten op basis van macrocyclische lactones gedurende de periode waarin de muggen actief zijn (Otranto et al., 2013). In Europa is dit voornamelijk tijdens de lente en de zomer (Morchon et al., 2012). Het European Scientific Council on Companion Animal Parasites (ESCCAP) raadt echter aan om deze periode uit te breiden tot 7-8 maanden of zelfs het hele jaar door. Deze producten doden de larven vooraleer ze zich in de eindgastheer kunnen ontwikkelen tot volwassen wormen. Verschillende formuleringen en combinatiepreparaten zijn commercieel beschikbaar in België. Er kan gekozen worden voor milbemycine oxime (toediening per os; hond:

0,5-1 mg/kg, kat: 2-4 mg/kg), moxidectine (topicaal; hond: 2,5-6,25 mg/kg, kat: 1-2 mg/kg) of selamectine (topicaal; hond: 6-12 mg/kg, kat: 6-12 mg/kg). Een preventieve behandeling moet begonnen worden voor het begin van het muggenseizoen, ze moet maandelijks herhaald worden en moet voortgezet worden tot een maand na het einde van het muggenseizoen.

De identificatie en behandeling van honden die volwassen wormen herbergen, is aangewezen omdat deze honden dienst doen als reservoir en aanleiding geven tot de verspreiding van de nematode. Recentelijk werd de werkzaamheid van imidaclopride 10% / moxidectine 2,5% aangetoond voor de behandeling van *D. repens* (Fok et al., 2010; Genchi et al., 2010; Rocconi et al., 2012). Een microfilaricide effect werd bevestigd en een adulticide effect werd verondersteld, gebaseerd op het feit dat microfilaria niet werden waargenomen zes maanden tot een jaar na behandeling van geïnfecteerde honden.

Cutane nodules met daarin de volwassen stadia van *D. repens* kunnen chirurgisch worden weggenomen indien nodig.

Het onder controle houden van *D. repens* in de omgeving kan ook gebeuren door muggenbestrijding, daar muggen fungeren als tussengastheer. Muggenbestrijding is echter controversieel omwille van de effecten op het ecosysteem.

Samenvattend kan gesteld worden dat de practicus rekening moet houden met het mogelijke voorkomen van *D. repens* in België. Er wordt in de huidige praktijkomstandigheden vaak gescreend op vector-overdraagbare aandoeningen, zoals *B. canis*, *D. immitis*, *E. canis* en *E. ewingii*, *A. phagocytophilum*, *B. burgdorferi* en *Leishmania infantum*. Dit gebeurt met name bij honden met een voorgeschiedenis van reizen naar gebieden waar deze ziekten endemisch zijn en bij honden die uit een dergelijk gebied geadopteerd worden. Bij deze honden is het raadzaam ook een Knott-test uit te voeren om *D. repens* op te sporen en een behandeling in te stellen indien nodig. Een goede samenwerking tussen dierenartsen en humane artsen is belangrijk om deze opkomende zoönose in de toekomst het hoofd te bieden.

REFERENTIES

- Anderson R. C. (1952). Description and relationship of *Dirofilaria ursi* Yamaguty, 1941, and a review of the genus *Dirofilaria* Raillet and Henry, 1911. *Transactions of the Royal Canadian Institute* 29, 35-65.
- Bajer A., Mierzejewska E. J., Rodo A., Bednarska M., Kowalec M. Welc-Faleciak R. (2014). This risk of vector-borne infections in sled dogs associated with existing and new endemic areas in Poland: part I: A population study on sled dogs during the racing season. *Veterinary Parasitology* 202, 276-286.
- Baneth G., Duscher G., Joachim A. (2018). Vetstream Canis ISSN: 2398-2942 <https://www.vetstream.com/treat/canis/bug/dirofilaria-repens>
- Duscher G., Feiler A., Wille-Piazzai W., Bakonyi T., Les-

- chnik M., Miterpáková M., Kolodziejek J., Nowotny N., Joachim A. (2009). Detection of *Dirofilaria* in Austrian Dogs. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift* 122, 199-203.
- Dzaja P., Beck A., Kis G., Gudan Kurilj A., Zivicnjak T., Artukovic B., Beck R., Hohsteter M., Zuckermann Sostaric I. C., Grabarevic Z. (2008). *Dirofilaria repens* infection in a dog in Croatia – a case report. *Veterinarski Archiv* 78, 521-527.
- Ermakova L. A., Nagorny S. A., Krivorotova E. Y., Pshenichnaya N. Y., Matina O. N. (2014). *Dirofilaria repens* in the Russian Federation: current epidemiology, diagnosis, and treatment from a federal reference center perspective. *International Journal of Infectious Diseases* 23, 47-52.
- Fuehrer H. P., Auer H., Leschnik M., Silbermayr K., Düscher G., Joachim A. (2016). Review. *Dirofilaria* in humans, dogs, and vectors in Austria (1978-2014) – from imported pathogens to the endemicity of *Dirofilaria repens*. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 10 (5), e0004547. doi:10.1371/journal.pntd.0004547.
- Fok E., Jacsó O., Szebeni Z., Györffy A., Sükösd L., Lukács Z., Schaper R. (2010). Elimination of *Dirofilaria* (syn. *Nochtiella*) *repens* microfilariae in dogs with monthly treatments of moxidectin 2.5%/imidacloprid 10% (Advocate®, Bayer) spot-on. *Parasitology Research* 106, 1-9.
- Fortin J. F., Slocombe J. O. (1981). Temperature requirements for the development of *Dirofilaria immitis* in *Aedes triseriatus* and *Ae. vexans*. *Mosquito News* 41, 625-626.
- Genchi C., Rinaldi L., Mortarino M., Genchi M., Cringoli G. (2009). Climate and *Dirofilaria* infection in Europe. *Veterinary Parasitology* 163, 286-292.
- Genchi C., Kramer L. H., Rivasi F. (2011). *Dirofilarial* infections in Europe. *Vector Borne Zoonotic Diseases* 11, 1307-1317.
- Genchi C., Mortarino M., Rinaldi L., Cringoli G., Traldi G., Genchi M. (2011). Changing climate and changing vector-borne disease distribution: The example of *Dirofilaria* in Europe. *Veterinary Parasitology* 176, 295-299.
- Genchi C., Genchi M., Petry G. (2013). Evaluation of the efficacy of Imidacloprid 10% / Moxidectin 2.5% (Advocate®, Advantage® Multi, Bayer) for the prevention of *Dirofilaria repens* infection in dogs. *Parasitology Research* 112, 81-89.
- Genchi C., Kramer L. (2017). Review. Subcutaneous dirofilariosis (*Dirofilaria repens*): an infection spreading throughout the old world. *Parasites & Vectors* 10 (Suppl 2), 517.
- Genchi M., Pengo G., Genchi C. (2010). Efficacy of moxidectin microsphere sustained release formulation for the prevention of subcutaneous filarial (*Dirofilaria repens*) infection in dogs. *Veterinary Parasitology* 170, 167-169.
- Hermosilla C., Pantchev N., Dyachenko V., Gutmann M., Bauer C. (2006). First autochthonous case of canine ocular *Dirofilaria repens* infection in Germany. *Veterinary Record* 158, 134-135.
- Liotta J. L., Sandhu G. K., Rishniw M., Bowman D. D. (2013). Differentiation of the microfilariae of *Dirofilaria immitis* and *Dirofilaria repens* in stained blood films. *Journal of Parasitology* 99, 421-425.
- Marcos R., Pereira C., Santos M., Luzzago C., Lauzi S., Maia J. P., Faustino A., Puente-Payo P. (2016). Buffy coat smear or Knott's test : which to choose for canine microfilaria screening in field studies? *Veterinary Clinical Pathology* 45, 201-205.
- Miterpáková M., Antolová D., Hurníková Z., Dubinský P. (2008). *Dirofilariosis* in Slovakia - a new endemic area in Central Europe. *Helminthologia* 45, 20-23.
- Morchon R., Carreton E., Gonzalez-Miguel J., Mellado-Hernandez I. (2012). Heartworm disease (*Dirofilaria immitis*) and their vectors in Europe – new distribution trends. *Frontiers in Physiology* 3, 196.
- Otranto D., Dantas-Torres F., Brianti E., Traversa D., Petric D., Genchi C., Capelli G. (2013). Vector-borne helminths of dogs and humans in Europe. *Parasites & Vectors* 6, 16. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-6-16>.
- Pantchev N., Norden N., Lorentzen L., Rossi M., Rossi U., Brand B., Dyachenko V. (2009). Current surveys on the prevalence and distribution of *Dirofilaria* spp. in dogs in Germany. *Parasitology Research* 105, 63 - 74.
- Rocconi F., Di Tommaso M., Traversa D., Palmieri C., Pampurini F., Boari A. (2012). Allergic dermatitis by *Dirofilaria repens* in a dog: clinical picture and treatment. *Parasitology Research* 111, 493 - 496.
- Saevik B. K., Jörundsson E., Stachursk-Hagen T., Tynes K., Brun-Hansen H., Wikström H. C., Robertson L. (2014). *Dirofilaria repens* infection in a dog imported to Norway. *Acta Veterinaria Scandinavica* 56, 1-6.
- Sassnau R., Dauschies A., Lendner M., Genchi C. (2014). Climate suitability for the transmission of *Dirofilaria immitis* and *D. repens* in Germany. *Veterinary Parasitology* 205, 239-245.
- Simon F., Morchon R., Gonzalez-Miguel J., Marcos-Atxutegi C., Siles-Lucas M. (2009). What is new about animal and human dirofilariosis ? *Trends in Parasitology* 25, 404-409.
- Vichova B., Miterpakova M., Iglodyova A. (2014). Molecular detection of co-infections with *Anaplasma phagocytophilum* and / or *Babesia canis canis* in *Dirofilaria*-positive dogs from Slovakia. *Veterinary Parasitology* 203, 167-172.