



Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni
Bulletin of Veterinary Pharmacology and Toxicology Association
e-ISSN: 2667-8381

Dilge Sıla YALÇIN^a
Nermin IŞIK USLU^b

Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Veterinerlik Parazitolojisi Anabilim
Dalı, Konya

ORCID^a: 0000-0002-9343-9842
ORCID^b: 0000-0001-7466-7068

***Sorumlu Yazar:** Dilge Sıla YALÇIN
E-Posta: dilge.davulcu@lisansustu.selcuk.edu.tr

Geliş Tarihi: 07.11.2022
Kabul Tarihi: 31.12.2022

13 (3): 174-186, 2022
DOI: 10.38137/vftd.1200566

PULMONER ARTERİYAL DİROFİLARİASİS TEDAVİ EDİLEBİLİR Mİ? GEÇMİŞTEN GÜNÜMÜZE TEDAVİ SEÇENEKLERİ

ÖZET. Pulmoner arteriyal dirofilariasis, özellikle evcil/yabani köpek ve kedilerde sıklıkla pulmoner sistem ve dolaşım sistemine yerleşim göstererek ölümlü sonuçlanabilen zoonoz karakterde bir filarial nematod enfeksiyonudur. Dünyada iklimlerin değişmesiyle etkenin yaygınlığı artmış ve bu nedenle hastalık önem kazanmıştır. Dirofilariasisi tedavi etmek ve hastalıktan korunmak için son yıllarda farklı ilaç/ilaç kombinasyonları ve tedavi protokolleri üzerinde çalışılmaktadır. Bu derlemede, pulmoner arteriyal dirofilariasisin tedavisi ve hastalıktan korunma yolları hakkında bilgiler verilmeye çalışılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Dirofilaria immitis*, Korunma, Köpek, Sivrisinek, Tedavi.

IS IT POSSIBLE FOR PULMONER ARTERIAL DIROFILARIASIS TO BE TREATED? TREATMENT OPTIONS FROM PAST TO PRESENT

ABSTRACT. Pulmoner arterial dirofilariasis, especially in domestic/wild dogs and cats, is a severe disease that can result in death by frequently localizing to the pulmonary and circulatory system. The prevalence of the agent has increased with the change of climates in the world; therefore, the disease has gained importance. In recent years, different drug/drug combinations and treatment protocols have been studied to treat dirofilariasis and prevent the disease. In this review, it might be tried to give information about the treatment and prevention of pulmoner arterial dirofilariasis.

Keywords: *Dirofilaria immitis*, Dog, Mosquito, Prevention, Treatment.

Makale atfı

Yalçın, D.S. ve Işık Uslu N. (2022). Pulmoner Arteriyal Dirofilariasis Tedavi Edilebilir Mi? Geçmişten Günümüze Tedavi Seçenekleri, Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni, 13 (3), 174-186. DOI: 10.38137/vftd.1200566

GİRİŞ

Pulmoner arteriyel dirofilariasis, halk arasında bilinen ismiyle kalp kurdu hastalığı özellikle kalp, akciğerler ve dolaşım sistemini etkileyen zoonoz karakterde bir filarial nematod enfeksiyonudur. Hastalığın etkeni Onchocercidae familyasından *Dirofilaria immitis* türü olup evcil ve vahşi karnivorlar etken için en duyarlı türlerdir. *D.immitis* erişkinleri omurgalı konakta sıklıkla kalbin sağ ventrikülüsü, arteria pulmonalis ve vena cava'ya yerleşmektedir. Nadiren göz, periton boşluğu ve merkezi sinir sisteminde de bu nematoda rastlanabilmektedir. Mikrofilere ise yine omurgalı konağın dolaşım kanında bulunmaktadır (Umur ve ark., 2006; Latrofa ve ark., 2012; Foster ve Walker, 2019).

D.immitis, parazitik nematodlar arasında gelişmesi en uzun sürede tamamlanan parazitlerden birisi olup heteroksen gelişim göstermektedir. Vektörleri, Culicidae familyasına bağlı sivrisineklerin dişileridir. Bulaşma, dişi sivrisinek proboscisini (hortum) omurgalı konağın derisinden çıkardıktan sonra kalan delinme yarasından enfektif larvaların deriye girmesi ile gerçekleşmektedir (Abraham, 1988; Nayar ve Connelly, 2017). Mikrofilerler plasental yolla veya mikrofilaremik kan transfüzyonu ile bulaşabilmekte fakat erişkin (L5) forma ulaşamamaktadırlar. Larvaların (L1) gelişimlerini tamamlayabilmeleri için mutlaka bir sivrisinek tarafından beslenme sırasında alınarak, vektör vücudunda enfektif L3 formuna dönüşmeleri gerekmektedir (Bowman ve Mannella, 2011).

Sivrisinek tarafından alınan L1'ler, 10-14 gün içerisinde iki gömlek değiştirerek L3 formuna dönüşmektedirler. Bu mikrofilerler sivrisineğin ağız organlarına yerleşerek enfektif L3 olarak son konağa naklini beklerler (Umur ve ark., 2006; Nayar ve Connelly, 2017). Sivrisineğin omurgalı konaktan kan emmesi ile son konaktaki gelişim dönemi başlamaktadır. Deri altı dokuya penetre olan larvalar 6-10. günlerde üçüncü kez kılıf değiştirerek, abdomen ve toraksa göç ederler (Abraham, 1988). Bu L4'ler enfeksiyondan sonraki 50-70. günler arasında son kez gömlek değiştirerek 'genç erişkin' olarak adlandırılan, 1-2 cm boyundaki L5'e dönüşürler (Dillon ve ark., 2017). Genç erişkinler enfeksiyondan sonraki 90-120. günlerde direkt olarak ya da venöz dolaşım ile pulmoner arter ve sağ ventriküle gelirler (Nayar ve Connelly, 2017). Asıl yerleşim yerlerine geldiklerinde boyları uzamaya devam ederek 25-30 cm'ye ulaşmakta ve üreme

organları oluşmaya başlamaktadır. Parazitlerin üreme organlarının tam olarak gelişip larva üretmeye başlaması en erken enfeksiyondan sonraki 6. ayda görülmektedir. Ancak yapılan çalışmalarda dolaşımdaki mikrofilerlerin genellikle enfeksiyondan sonraki 7-9. aylardan itibaren görüldüğü bildirilmiştir (Abraham, 1988; Simón ve ark., 2012; American Heartworm Society, 2020).

Az sayıda etken ile enfekte köpeklerde hastalık herhangi bir klinik belirti göstermeden ilerleyebilmektedir (Umur ve ark., 2006). Hastalığın en tipik klinik belirtileri ise; letarji, anoreksiya, egzersiz intolerans, öksürük, haemoptysis, epistaksis, böbrek disfonksiyonu, kalp ve akciğerlerde patolojik sesler, karaciğer yetmezliği, asites, sarılık, idrarda safra tuzlarının görülmesi, hemoglobinuri, kollaps, organ yetmezliği, glomerulonefritis sonucu şekillenen proteinüri ve ölüme seyreden vena cava sendromudur (Sutton, 1988; Umur ve ark., 2006; McCall ve ark., 2008b; Simón ve ark., 2012; American Heartworm Society, 2020). Kediler genellikle bu enfeksiyonu tolere edebilmekte (González -Miguel ve ark., 2010) ve spesifik bir klinik belirti göstermemektedir. Kedilerde astımın en önemli sebeplerinden biri *D.immitis* olmakla birlikte (Côté ve ark., 2011), genellikle astım veya alerjik bronşitis olarak yanlış teşhis edilebilmekte, ancak gerçekte 'kalp kurdu ile ilişkili solunum hastalığı' (HARD; Heartworm Associated Respiratory Disease) olarak bilinen sendromun bir parçası olabilmektedir (Blagburn ve Dillon, 2007; Bowman ve Atkins, 2009; Dillon ve ark., 2014).

D.immitis dahil birçok filarial nematod, *Wolbachia* (Rickettsia sınıfı) cinsine ait zorunlu hücre içi, gram negatif, endo-simbiyotik bakterileri barındırmaktadır (Kozek, 2005; Taylor ve ark., 2005). Filarial nematodlar ile *Wolbachia* arasındaki ilişki hakkında az bilgi bulunmasına rağmen, filarial hastalıkların immüno-patogenezinde önemli bir yeri olduğu düşünülmektedir (Taylor ve ark., 2001; Simón ve ark., 2003; Hise ve ark., 2004; Kramer ve ark., 2005a; Kramer ve ark., 2005b). Bunun nedeni olarak anti-wolbachial ilaçların filarial nematodlarda embriyogenesisin bloklanması, larval gelişimde defektler, dişi parazitlerin sterilizasyonu ve erişkin parazitlerin ölmesi gibi etkileri gösterilmektedir. Bunlar da aralarında mutualistik bir ilişki olduğunun kanıtı olarak gösterilmektedir (Pfarr ve Hoerauf, 2006).

Pulmoner arteriyel dirofilariasis, dünya çapında tropikal ve ılıman iklimlere sahip bölgelerde yayılmakta olup son yıllarda etken için sporadik olan bölgeler hızla endemik

olma eğilimindedir. Bu durumun nedenleri arasında ise çevresel faktörlere (küresel iklim değişiklikleri) ek olarak vektör (varlığı, dağılımı, habitatu vb.) ve konak (turizm, seyahat vb.) ile ilgili faktörler de dikkat çekmektedir (Colwell ve ark., 2011). İnsanlarla birlikte köpeklerin de kıtalar arası seyahat oranının artması (sahiplenme, yarışma, avlanma vb.) hastalığın yayılımını etkileyen önemli bir faktör olarak görülmektedir (American Heartworm Society, 2020). Evcil ve yabani köpekgillerin bu etken için rezervuar görevi görmesinin yanında kırsal ve kentsel yaşamda köpek-insan ilişkisinin artması da zoonoz karakterdeki etken için yeni endişelere neden olmaktadır (Otranto ve ark., 2009). Dirofilariasis dünya çapında yaygın olarak bulunmasına rağmen, gelişmiş teşhis yöntemleri, farklı tedavi seçenekleri ve koruyucu uygulamaların varlığı, özellikle ölümcül sonuçları olan şiddetli klinik vakaların sayısının azaltılmasına büyük katkı sağlamaktadır (McCall ve ark., 2008b; Simón ve ark., 2012).

TEDAVİ

Pulmoner arteriyal dirofilariasis tedavisinin amacı, hastanın klinik durumunu iyileştirmek ve tedavi sonrası oluşabilecek komplikasyonları minimize ederek parazitin tüm yaşam evrelerini ortadan kaldırmaktır (American Heartworm Society, 2020).

Dirofilariasis tedavisinde adultusit (yetişkin parazitleri öldüren) ve mikrofilarisit (mikrofilerleri öldüren) etkili olmak üzere iki aşamalı tedavi uygulanmalıdır. Sadece adultusit aktiviteye sahip ilaç kullanımı, gelişmekte olan larvalar üzerine etkisiz olacağı için tedavide tam anlamıyla başarı sağlanamamaktadır. Gelişmekte olan larvalar gelişimlerini tamamlayıp mikrofiler üretmeye başlamaktadır. Bu nedenle hem erişkinleri hem de mikrofilerleri öldürmek, sürekli tekrarlayan enfeksiyonları engellemeyi sağlamaktadır (American Heartworm Society, 2020).

Köpeklerde Tedavi

Köpeklerde hastalığın tedavisi pahalı olabilmekte ve özellikle orta veya şiddetli vakalarda yaşamı tehdit eden komplikasyonlarla karşılaşabilmektedir (Hoch ve Strickland, 2008). Bir adultusit tedavisi sırasında öldürülen parazitlerin sayısı ne kadar fazla olursa, obstrüktif ve inflamatuvar patoloji potansiyeli o kadar önemli olmaktadır (Venco ve ark., 2004). Ancak, mevcut

parazit sayısını doğru bir şekilde belirlemek için bir test veya test kombinasyonu mevcut değildir. Düşük veya yüksek parazit yükü taşıyan enfekte köpekler klinik olarak asemptomatik olabilmekte ve minimum radyografik değişiklik gösterebilmektedir. Bu nedenle tedavi sonrası oluşabilecek komplikasyonları tahmin etmek her zaman mümkün olmamaktadır. Fakat her hayvana yüksek parazit yüküne sahipmiş ve tedavi sırasında veya sonrasında ciddi komplikasyonlar oluşabilecekmiş gibi bir yaklaşımda bulunarak tedavi süreci iyi bir şekilde yönetilebilir (American Heartworm Society, 2020).

Köpeklerde dirofilariasisin tedavisinde geçmişten günümüze çok sayıda ilaç ve tedavi protokolü üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Sarnıç ve Alkan (1986) enfekte köpeklerde thiabendazolün mikrofilerlere etkinliği üzerine yaptıkları çalışmada; ilacı 50mg/kg dozda 3 günlük kürler şeklinde, 1 ay arayla iki uygulama şeklinde kullanmış fakat tedavi sonrasında yapılan kan muayeneleri mikrofiler pozitif sonuç vermiştir. Şahal ve ark. (1986) enfekte 2 köpekte mikrofilerlere karşı levamizol ve erişkinlere karşı organik arsenik bileşiğinin etkinliğini araştırmışlardır. İlk 14 gün boyunca her gün 2,5 mg/kg dozda, daha sonra 14 gün arayla 2 defa 5 mg/kg dozda SC yolla levamizol uygulaması ve bundan 45 gün sonra da erişkin formlara karşı organik arsenik bileşiğini 2 gün boyunca günde 2 kez 2,2 mg/kg dozda IV yolla uygulamışlardır. Çalışmanın sonucunda levamizolün mikrofilerlere etkili olduğu fakat erişkinlere karşı iki ilacın da etkinliğinin yetersiz olduğunu belirtmişlerdir. Aynı ilaçların parazitin mikrofiler ve erişkin formlarına etkinliğini araştıran Dik ve ark. (1992) 14 gün boyunca 2,5 mg/kg dozda ve 15 gün sonra 5 mg/kg tek doz PO levamizol uygulaması, tedavinin 1 ve 30. günlerinde ise 50 mg dozda SC organik arsenik bileşiği uygulaması yapmışlardır. Tedavi başlangıcından 1 ay sonra yapılan kontrollerde tedavi grubundaki 3 köpekte mikrofilaremi tespit edilemezken, 7 köpek mikrofiler yönden pozitif bulunmuştur. Çalışma sonucunda uygulanan levamizol doz ve süresi yetersiz bulunmuştur. Börkü ve ark. (1996)'nın thiasetarsamid sodyumun etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında, 2 gün boyunca günde 2 kez 2,2 mg/kg dozda IV yolla uyguladıkları ilacın erişkinlere karşı etkili olduğu fakat dikkatli kullanılması gerektiğini belirtmişlerdir. İlaç kelebek katater ile yavaş bir şekilde uygulanmalı ve sonrasında fizyolojik tuzlu su verilmelidir. Toksikitesi yüksek ve terapötik indeksi dar olan ilacın komplikasyon riski yüksektir ve damar

dışına kaçırıldığı durumlarda doku reaksiyonlarına neden olmaktadır. Powers ve ark. (1981) tarafından yapılan bir çalışmada, mikrofilaremik köpeklerde dietilkarbamazin sitrat ile tedavi sonrası köpeklerde ani kollaps gelişimi ve ölüm gözlenmiştir.

Günümüzde dirofilariasis tedavisinde USFDA (US Food and Drug Administration) tarafından adultisit etkili melarsomin dihidroklorid ve mikrofilarisit etkili makrosiklik lakton (ML)'ların kullanılması önerilmektedir (American Heartworm Society, 2020).

Melarsomin dihidroklorid

Epeksiyal lomber kasların (L3 ve L5 arasında) orta kısmından derin IM yolla uygulanan ve USFDA tarafından onaylanan tek adultisit ilaçtır. Bu uygulamadan sonra birkaç gün süreyle bölgede ağrı ve şişlik oluşabilmektedir. Bu durumu ortadan kaldırmak amacıyla enjeksiyon sırasında kanülü değiştirmek ve lokal anesteziyelerden yardım almak ortaya çıkabilecek akut ağrıyı önlemeye yardımcı olmaktadır (American Heartworm Society, 2020). Melarsomin ile tedavide önerilen 2 protokol mevcuttur;

I) 24 saat arayla 2,5 mg/kg dozda 2 enjeksiyon uygulanmakta ve erişkin parazitlerin %90'ını öldürmede başarılı olmaktadır. Bu protokole alternatif olarak uygulanan diğer tedavi protokolünde ise;

II) İlk melarsomin enjeksiyonundan 1 ay sonra 2. doz ve 24 saat sonra 3. doz, yani toplam 3 doz olmak üzere, 2,5 mg/kg dozda kullanılmakta ve erişkin parazitleri öldürmedeki başarı oranı %98 olmaktadır (Vezzoni ve ark., 1992). Üç doz protokolü, azaltılmış komplikasyon oranları ve artan güvenlik avantajlarına sahiptir, çünkü erişkin parazitlerin birçoğu ilk melarsomin enjeksiyonu ile kalan parazitler de ikinci ve üçüncü enjeksiyonlarla öldürülmektedir (American Heartworm Society, 2020).

Melarsomin tedavisine uygun olmayan köpeklerin, arsenik bazlı olmayan tedavi protokolleri araştırılmaktadır. Arsenik bazlı olmayan tedavi protokolleri ile yetişkin parazitleri öldürmek çok daha uzun sürebilmekte, bu süre zarfında hastalık patolojisi ve hasarının da ilerleyebileceği belirtilmektedir (American Heartworm Society, 2020).

Ayrıca şiddetli klinik bulgulara sahip köpekler adultisit tedavide başlamadan önce stabilize edilmelidir ki bu da glukokortikosteroidler, diüretikler, vazodilatörler,

pozitif inotropik ajanlar ve sıvı tedavisi uygulanmalarını gerektirebilmektedir (American Heartworm Society, 2020). Köpeğin tedavi sırasında ve son melarsomin uygulamasından sonra 6 ila 8 hafta boyunca yüksek aktivite göstermesi, adultisit tedavi sonrası oluşabilecek komplikasyon oranını artırması nedeni ile köpeğin hareket alanını kısıtlamak gereklidir (Dillon ve ark., 1995; Fukami ve ark., 1998).

Arsenik bileşikler grubunda yer alan melarsomin dihidroklorid, enjeksiyon bölgesinde reaksiyonlara ve bazen de toksisiteye neden olabilmekte, ayrıca ilaç kaynaklı parazit ölümlerinin yol açtığı tromboembolizm gibi komplikasyonlara neden olabilmektedir (Kramer ve ark., 2011; Simón ve ark., 2012).

Azalan anti-inflamatuar dozlarda glukokortikosteroidlerin kullanımı, pulmoner tromboembolinin klinik belirtilerinin kontrolüne yardımcı olmaktadır (Atwell ve Tarish, 1995). Yapılan bir çalışma, glukokortikosteroidler ile eşzamanlı olarak uygulandığında arsenik tiasetarsamidin etkinliğinde bir azalma gösterirken (Rawlings ve ark., 1984), başka bir çalışma prednison ile kullanıldığında melarsominin etkinliğinde bir azalma göstermemiştir (Dzimianski ve ark., 2010).

Aspirinin antitrombotik etkisi veya pulmoner arteriti azaltmak için ampirik kullanımı enfekte köpekler için önerilmemekte ve klinik olarak etkili olduğunu gösteren çalışmalar bulunmamaktadır (Boudreaux ve ark., 1991).

Enfekte bir köpekte parazitin birçok yaşam evresi aynı anda bulunabildiği için melarsomin, erken dönem larvalarda zayıf etkinlik gösterebilmektedir. American Heartworm Society (AHS), acil klinik müdahale gerekmediği sürece, adultisit tedaviye başlamadan önce 3 aya kadar ML uygulamalarını önermektedir. Bu uygulamanın mantığı, duyarlı larvaları öldürmek ve böylece re-enfeksiyonları önlemek; daha az duyarlı genç parazitlerin gelişmesi ve böylece duyarlı hale gelmesi için zaman sağlamaktır. Bu taktik sayesinde, daha sonra uygulanacak adultisit tedavi ile mevcut enfeksiyon tamamen ortadan kaldırılmış olur. Bu protokolün diğer yararı ise, dolaşımdaki mikrofilere ortadan kaldıramasa da dişilerin genital sistemine zarar vermesi nedeniyle parazitin yeni mikrofilere oluşturamamasıdır (American Heartworm Society, 2020).

Makrosiklik Laktonlar (ML)

Günümüzde USFDA onaylı ML sınıfı ilaçlar (ivermektin, milbemis oksim, moksidektin, selamektin) duyarlı larva aşamalarını öldürmek için köpeklerin immün sistemi ile uyumlu çalışmaktadır (Moreno ve ark., 2010; Vatta ve ark., 2014). Prekardiyak (göç eden) larvalar üzerindeki filarisidal etkileri, çok düşük dozlarda ve kısa aralıklarla ya da uzun süreler boyunca ve küçük miktarların sürekli salınmasıyla elde edilebildiğinden, mükemmel terapötik/toksik oranlara sahiptirler (Wolstenholme ve ark., 2015; Prichard ve Geary, 2019). ML'lar, prospektüve uygun olarak verildiğinde oldukça etkili olmakta ve veteriner hekimlikte kullanılan en güvenli ilaçlar arasında yer almaktadır. Fakat ML'ların aşırı doz veya diğer P-glikoproteinini inhibe eden ilaçlarla birlikte kullanımı, bazı Collie ırkı ve P-glikoprotein eksikliği olan (MDR1 mutasyonuna sahip) köpeklerde intoksisiteye neden olabileceği için dikkatli kullanılmalıdır (Pulliam ve ark., 1985). Ayrıca oral ivermektin kullanımı sonucu köpeklerde kusma ve aşırı salivasyon görülebileceği bildirilmiştir (Schlotthauer ve ark., 1986).

Bu nedenle de araştırmacılar tedavi ve korunmada kullanılacak yeni ilaç kombinasyonları üzerine çok sayıda çalışmalar yapmışlardır. ML'ların mikrofilere etkinliği bilinmekte olup (Moreno ve ark., 2010; Vatta ve ark., 2014) yakın geçmişte bu ilaç grubunun uzun süreli aylık uygulamalarının adultisidal aktivitesini araştıran çalışmalar bulunmaktadır (McCall ve ark., 2001; Venco ve ark., 2004). McCall ve ark. (2001) bu amaçla aylık profilaktik ivermektin dozlarının (minimum 6 µg/kg), 36 ayda deneysel enfekte köpeklerde etkeni elimine edebileceğini bildirmişlerdir. Venco ve ark. (2004) ise doğal enfekte köpeklerde, aylık ivermektin uygulamaları ile 4 ay sonra mikrofilaremiye %99 oranında bir düşüş; 14, 19 ve 24. aylarda sırasıyla %28,5, %43 ve %71 oranında antijen tespit edilemediğini belirtmişlerdir.

Aynı zamanda ML'lar ile sinerjik çalışan tetrasiklin grubu antibiyotiklerin de adultisidal aktivitesini inceleyen çalışmalar bulunmaktadır (Bazzocchi ve ark., 2008; Grandi ve ark., 2010; Chandrashekar ve ark., 2014). Bazzocchi ve ark. (2008) haftalık profilaktik ivermektin dozları (6 µg/kg) ile uzun süreli doksisisiklin (10 mg/kg) kullanımının, 34. haftada etkene karşı %78 oranında etkili olduğu ve *Wolbachia* titrelerini %99,9 oranında azalttığını belirtmişlerdir. Grandi ve ark. (2010) ise deneysel enfekte köpeklere, 30 gün boyunca günlük 10 mg/kg dozda

doksisisiklin ile 6 ay boyunca 15 günde bir 6 µg/kg-14mg/kg arasında değişen dozlarda ivermektin uygulamışlardır. Bu kombinasyonun, tedavi başlangıcından itibaren mikrofilaremiye hızlı bir düşüş sağlayarak 30, 60 ve 90. günlerde sırasıyla %37,5, %87,5 ve %100 oranında mikrofilere; 90, 120, 180 ve 300. günlerde sırasıyla %18,1, %36,2, %45,4 ve %72,7 oranında erişkin parazitlere etkili olduğunu kanıtlamışlardır (Grandi ve ark., 2010).

Chandrashekar ve ark. (2014) ise 30 gün boyunca günde iki defa 10 mg/kg dozda doksisisiklin ile ML'lardan moksidektinin aylık topikal uygulamasını (1 mg/kg) kombine kullandıkları çalışmalarında, tedavi başlangıcından 10 ay sonra yetişkin parazitlerin tamamının elimine edildiğini belirtmişlerdir.

İmidaklopidrid %10 ve moksidektin %2,5'luk formülasyonlarının bir arada bulunduğu ticari bir ilacın etkinliğini araştıran Di Regalbono ve ark. (2019), doğal enfekte köpeklerde tek doz spot-on uygulamanın 30. gününde mikrofilere %99,97 oranında etkili olduğunu belirtmişlerdir. Genchi ve ark. (2019), doğal enfekte köpeklerde farklı ilaçların mikrofilere ve erişkin parazitlere karşı tedavi etkinliğini karşılaştırmışlardır. İlk grupta spot-on imidaklopidrid %10/moksidektin %2,5 kombinasyonunu 9 ay boyunca 30 günde bir ve doksisisiklini ilk 30 gün boyunca günde iki defa 10 mg/kg dozda, ikinci grupta ise melarsomini 2,5 mg/kg dozda 3 defa uygulamışlardır. İlk grupta kullanılan ilaç kombinasyonunun tedavi başlangıcından 30 gün sonra %99,9 oranında mikrofilaremiye etkili olduğu, 9 ay sonra ise antijen tespit edilemediği belirtmişlerdir. İkinci grupta kullanılan melarsominin ise mikrofilere etkili olmadığı ve antijenemide dolayısıyla erişkin parazit sayısında ani düşüşlere yol açarak 6 ay sonra antijen tespit edilemediğini bildirmişlerdir (Genchi ve ark., 2019). Son yıllarda doksisisiklin+moksidektin kombinasyonunun tedavi etkinliğinin, (doğal enfekte köpeklerde 12 aylık tedavi sonucunda) melarsomine eşdeğer olduğu ve tedavinin daha az komplikasyon ile sonuçlandığı kanıtlanmıştır (Chandrashekar ve ark., 2014; Genchi ve ark., 2019).

Kryda ve ark. (2019) yaptıkları çalışmada ilaç uygulamalarından 30 gün önce köpeklere larva inokulasyonu yaparak ilk grupta 24 µg/kg dozda moksidektin, 2 mg/kg dozda sarolaner ve 5 mg/kg dozda pirantel pomat kombinasyonu, ikinci grupta tek başına 2 mg/kg dozda sarolaner veya 24 µg/kg dozda moksidektin

uygulamışlardır. Çalışma sonucunda ilaçların adultisidal aktivitelerini nekropsi (ilk grupta 122. günde, ikinci grupta 118. günde) sonucuna göre değerlendirmiş; ilk grupta parazit tespit edilmemiş, ikinci grupta ise moksidedin uygulanan köpeklerde parazit tespit edilmezken sarolaner uygulanan köpeklerde 20-44 arası erişkin parazit bulunmuştur (Kryda ve ark., 2019).

Doksisiklin

ML'un etkinliği, 4 hafta boyunca eşzamanlı doksisiklin kullanımı ile de güçlendirilebilmektedir. Bu uygulama, tedavinin ilk 60 günü boyunca gelişen tüm larvaları ortadan kaldırmaktadır. Mikrofilarisit olarak uygulanan ML'lar, mikrofiliserlerin sayısında hızlı bir azalmaya neden olabilmektedir, bu nedenle yüksek mikrofiliser yüküne sahip olan köpeklerde dikkatli kullanılmalıdır. Antihistaminikler ve glukokortikosteroidlerle ön tedavi, potansiyel reaksiyonları en aza indirmeyi sağlamaktadır (American Heartworm Society, 2020).

Tetrasiklin grubu antibiyotiklerden doksisiklin, parazitin tüm yaşam evrelerinde *Wolbachia* sayısının azalmasını sağlamaktadır (American Heartworm Society, 2020). *D.immitis* ile deneysel enfeksiyonu takip eden birinci veya ikinci ay boyunca doksisiklin uygulaması L3 ve L4'ler üzerinde ölümcül etkiye sahip olmuştur (McCall ve ark., 2011). Ek olarak, erişkin parazitlerle enfekte köpeklerde, doksisiklin uygulamaları kademeli olarak mikrofiliseri bastırmaktadır (Bazzocchi ve ark., 2008; McCall ve ark., 2008a). Melarsomin enjeksiyonundan önce doksisiklin uygulaması tedavi protokolüne dahil edildiğinde, parazitlerin ölümüyle birlikte *Wolbachia* ve metabolitlerinin azalması veya ortadan kalkmasına yardımcı olmaktadır (American Heartworm Society, 2020). Doksisiklin 4 hafta boyunca 10 mg/kg dozda günde 2 kere (12 saat arayla) uygulanmalıdır (Bandi ve ark., 1999; Kramer ve ark., 2011; Nelson ve ark., 2017). Daha az doz veya daha kısa süreli protokoller oluşturulmamıştır. Doksisiklin uygulaması ile melarsomin uygulanması arasında bir aylık bekleme süresi önerilmektedir, çünkü erişkin parazitleri öldürmeden önce WSP'lerin ve diğer metabolitlerin azalması için zaman tanınması gerektiği düşünülmektedir. Ayrıca *Wolbachia* endosimbiontları elimine edildikten sonra parazitlerin kendiliğinden ölmeleri için zaman tanınmış olur (American Heartworm Society, 2020). *D.immitis* enfeksiyonlarında, doksisiklin uygulamasını takiben en az 12 ay boyunca *Wolbachia*

sayısının düşük kaldığı tespit edilmiştir (Rossi ve ark., 2010).

Çalışmalar, melarsomin enjeksiyonlarından önce ivermektin ve doksisiklin ile tedavi edilen deneysel enfekte köpeklerin, parazitlerin ölümü ile ilişkili daha az pulmoner patolojiye sahip olduğunu göstermektedir (McCall ve ark., 2008; Kramer ve ark., 2011).

Nelson ve ark. (2017) doksisiklinin solunum komplikasyonları üzerine aktivitesini araştırdıkları çalışmalarında, ilacı 4 hafta boyunca 10 mg/kg dozda günde 2 defa uygulamışlardır. Doksisiklin ile tedavi edilmeyen gruptaki köpeklerin %19,14'ünde solunum komplikasyonları ve %4,25'inde ölüm gözlenirken; doksisiklin uygulanan gruptaki köpeklerde ise solunum komplikasyonları daha az (köpeklerin %6,52'sinde) görülmüş, ölüm olmamıştır (Nelson ve ark., 2017).

Başka bir çalışma ise, doksisiklin ile ivermektinin kombinasyon halinde uygulanmasının sadece ivermektin uygulamasından daha hızlı adultisit aktivite sağladığını ve *Wolbachia* sayılarını tek başına doksisiklin uygulamasına göre daha etkili bir şekilde azalttığını göstermektedir (Bazzocchi ve ark., 2008). Patent enfeksiyonlu köpeklere tekrar tekrar uygulanan ML'ların 10-12 ay süren uygulama sonucunda bile dolaşımdaki mikrofiliserlerin belli bir yüzdesini temizleyemediği, bu nedenle bu köpeklerin ML-dirençli mikrofiliser kaynağı olabileceği düşünülmektedir. Vektör sivrisinekler bu dirençli mikrofiliserleri diğer hayvanlara taşıyabilmektedir (Blagburn ve ark., 2010).

AHS tarafından önerilen tedavi protokolü, 1 ay süren bir bekleme süresinin ardından ML ve doksisiklin ile bir ön tedaviyi, ardından 60, 90 ve 91. günlerde toplam 3 doz melarsomin uygulamasını içermektedir. Bu tedavi protokolünün;

I) *Wolbachia* üzerinde, ML+doksisiklin uygulamasının tek başına doksisiklin uygulamasından daha etkili olduğu,

II) Melarsomine ile tedavi için 60. güne kadar beklemek *Wolbachia* yüzey proteinlerinin (WSP) ve diğer metabolitlerin dağılması için zaman tanınmanın yanı sıra parazitlerin kendiliğinden ölmeleri için de zaman sağladığı,

III) Bu protokolün uygulanmasının, parazit tedavisiyle ilişkili respiratorik komplikasyonları ve mortaliteyi azalttığı görülmüştür (American Heartworm Society, 2020).

Kedilerde Tedavi

Köpeklerde ML direnci belirlenmiş olup kedilerde *D. immitis*'e karşı ML direncinin rolü bilinmemekte ve koruyucu amaçlı ML uygulamalarını araştıran yayınlamış çalışmalar bulunmamaktadır (Pullins ve ark., 2020). Fakat son yıllarda kediler için de tedavi ve korunmada ilaç etkinliklerini araştıran çalışmalar bulunmaktadır (McTier ve ark., 2019; Pullins ve ark., 2020).

McTier ve ark. (2019) kedilerde hastalığı önlemek amacıyla inceleyecekleri ilaç uygulamalarından 30 gün önce kedilere pleural veya peritoneal larva (L3) inokulasyonu yapılmıştır. Bu amaçla 2 çalışma grubu ve her çalışma grubu içinde de tedavi grupları oluşturularak spot-on selamektin 6 mg/kg dozda, sarolaner ise 1 mg/kg dozda kullanılmış ve ilaç uygulamalarından 145-146 gün sonra (post-enfeksiyon 175-176. günlerde) kedilerin nekropsileri yapılmıştır. Birinci çalışma grubunda ilaç kombinasyonu ilk tedavi grubunda sadece 0. günde, ikinci tedavi grubunda ise 0, 28 ve 56. günlerde uygulanmış; kontrol grubunda 1-21 adet (7/10'sinde 4 veya daha fazla) parazit bulunurken tedavi uygulanan gruplarda parazit tespit edilememiştir. İkinci çalışma grubunda, birinci çalışma grubundaki tedavi gruplarına ek olarak 0. günde sadece sarolaner uygulanan bir tedavi grubu daha bulunmakta olup bu gruptaki kedilerde nekropsisi sonucunda 5/10'inde 2 veya daha fazla parazit tespit edilmiştir. Sonuç olarak 6 mg/kg selamektin + 1 mg/kg sarolaner kombinasyonunun post-enfeksiyon 30. günde tek doz uygulanmasının kedilerde %100 etkili olduğu ve diğer endo/ekzoparazitlere karşı koruma sağladığı bildirilmiştir (McTier ve ark., 2019).

Pullins ve ark. (2020) çalışmalarında aynı ilaçları spot-on formda, 6 mg/kg dozda selamektin ve 2 mg/kg dozda sarolaner, kullanmışlar ve tedaviden 30 gün önce kedilere mikrofil (L3) inokule etmişlerdir. Çalışmada kontrol grubu dışında 3 tedavi grubu bulunmakta olup ilk grupta bu ilaç kombinasyonu 0. günde, ikinci grupta 0, 28 ve 56. günlerde uygulanmış, üçüncü grupta ise tek başına selamektin uygulaması 0. günde kullanılmıştır. Tedaviden 145 gün sonra (post-enfeksiyon 175. günde) kedilere nekropsisi uygulanmış; kontrol grubundaki kedilerin 9/10'unda 1-23 adet arası erişkin parazit bulunmuş ve tedavi gruplarının hiçbirinde erişkin parazit tespit edilememiştir. Sonuçlar ELISA ile değerlendirildiğinde ise tek başına selamektin veya selamektin+sarolaner kombinasyonunun tek bir dozunun yüksek düzeyde (>%93,5) ancak tam

olarak etkili olmamasına karşın, selamektin+ sarolaner kombinasyonunun arka arkaya üç doz uygulanmasının ML'lara dirençli *D.immitis* enfeksiyonlarını önlemede %100 etkili olduğu kanıtlanmıştır (Pullins ve ark., 2020).

KORUNMA VE KONTROL

Köpeklerin doğası gereği parazite karşı yüksek hassasiyete sahip olmasına rağmen kalp kurdu hastalığını önlemek mümkündür. Hastalıktan korunma, son konak olan köpeklerin korunması ve vektör sivrisinek kontrolü olarak iki kısımda uygulanabilmektedir.

Köpeklerde korunma, özellikle endemik bölgelerde yaşayan tüm köpekler risk altında olduğu için ilaçlar büyük önceliğe sahiptir. Korunmada en etkili ve güvenli ilaç grubu olarak ML'lar önerilmektedir. Bu ilaçların birçok formda kullanımı mevcuttur. Yavru köpeklerde mümkün olan en kısa sürede (en geç 8 haftalık yaşta) ML koruyucu uygulamalarına başlanmalıdır. Endeminin yüksek olduğu bölgelerde bu uygulamaya ek olarak insektisit veya sivrisinek kovucu gibi uygulamalar da kullanılmalıdır. İlk koruyucu uygulama yapılan yavru köpeklere 6 ay sonra bir test ve ikinci uygulama yapılmalı, daha sonra yılda bir kez test ve koruyucu uygulamalar tekrarlanmalıdır. 7 ay ve daha büyük yaştaki köpeklerde ise koruyucu uygulamalara başlamadan önce antijen ve mikrofil testleri yapılmalıdır (American Heartworm Society, 2020).

Oral ve topikal ML uygulamaları 30 gün süreyle koruyuculuğa sahiptir. ML kullanımında 3 yol izlenebilir:

Oral kullanımda ivermektin ve milbemisin oksim 30 gün süreli koruma sağlamaktadır. Doz birimleri, köpeklerin belirtilen aralıktaki ağırlıklarına göre paketli formlarda bulunmaktadır. Endeminin yüksek olduğu bölgelerde yıl boyu kullanım önerilmektedir. Fakat mevsimsel kullanım uygulanacaksa; sivrisinek sezonundan 1 ay önce uygulamaya başlanmalı ve sezon bitiminden sonra 6 aya kadar kullanım gerekebilmektedir (American Heartworm Society, 2020).

Topikal kullanım için moksidektin ve selamektinin sıvı formları bulunmakta ve 30 gün süreyle koruyuculuk sağlamaktadır. Oral kullanımda olduğu gibi hayvanın belirtilen aralıktaki ağırlığına göre paketli formlarda bulunmakta ve spot-on (ense damlası) olarak kullanılmaktadırlar. Bu uygulamalar güneşin etkisini yitirdiği akşam üzeri saatlerinde kullanılarak deriden daha

iyi emilmesi sağlanmalı ve uygulamadan sonra köpek iki gün süreyle yıkanmamalıdır (American Heartworm Society, 2020).

Parenteral uygulamada yavaş salınım formülasyonuna sahip moksidektin preparatlarının 6 ay koruyuculuğu bulunmaktadır. Maksimum koruma için 6 ayda bir uygulamanın tekrarlanması önerilmektedir (American Heartworm Society, 2020).

Repellent (kovucu) kullanımı da enfeksiyonun yayılımını azaltan uygulamalardan biridir. Repellentlerin kullanım amacı, parazitin enfekte olmayan hayvana veya enfekte hayvandan vektöre bulaşmasını önlemektir. Enfekte olmamış köpeklerin enfekte olma olasılığını veya mikrofilaremik köpeklerin mikrofilere sivrisineğe aktarmasını ve diğer hayvanları enfekte etmek için rezervuar görevi görmesini azaltmaktadır. Bir repellentin laboratuvar çalışmalarında köpeklerde %95 oranında yüksek etki sağladığı gözlemlenmiştir (McCall ve ark., 2017a). Sivrisinekler ektoparaziter uygulanan köpeklerle temastan sonraki 3 gün içinde öldükleri için paraziti bulaştıramamaktadırlar. Bu da köpeklerin rezervuar görevi görmesini önlemekte ve dişi sivrisinekleri öldürerek bölgedeki sivrisinek popülasyonunun artmasının önüne geçmektedir (American Heartworm Society, 2020).

Kovucular ve ektoparaziter uygulamaların tek başına veya birlikte kullanımı korunmaya yardımcı olsa da yüksek endemik bölgelerde enfeksiyonu önleme için monoterapi olarak tamamen etkili değildirler (American Heartworm Society, 2020). Bununla birlikte, ML ile birlikte kovucu/ektoparaziter uygulama kullanan yakın tarihli bir çalışmada, yüksek oranda ML'ye dirençli bir kalp kurdu suşu taşıyan sivrisineklerle mücadele edilen köpekler enfeksiyondan %100 oranında korunmuştur (McCall ve ark., 2017b). Bu nedenle, topikal bir sivrisinek kovucu veya ektoparaziter uygulama ile eşzamanlı olarak ML önleyici kullanımı, dirençli ve duyarlı parazitlere karşı daha etkili koruma sağlayabilmektedir (American Heartworm Society, 2020).

Vektör sivrisinek mücadelesi, sivrisineklerin gelişim formlarına karşı fiziksel, kimyasal ve biyolojik metotlarla yapılmaktadır.

Fiziksel mücadelede, sivrisineklerin üreme ortamları olan su birikintileri kurutulmaya ve/veya ıslah edilmeye çalışılmalıdır (Dik, 2015).

Kimyasal mücadelede, sivrisineklerin üreme yerleri periyodik olarak insektisitlerle ilaçlanabilmektedir. Larva ve pupalarının gelişimlerini engellemek amacıyla IGR (Insect Growth Regulator: Böcek Gelişim Düzenleyiciler) kullanılmaktadır. Bu insektisitler kitin sentezi inhibitörü olarak larva mücadelesinde kullanılmaktadır. Türkiye'de bu amaçla kullanılmak üzere piyasada bulunan triflumuron ve diflubenzuron etken maddelerine sahip insektisitler mevcuttur. Ayrıca larva ve ergin sivrisineklere karşı sentetik pretroidli insektisitler, üreme ve saklanma yerlerine uygulanabilmektedir. Bu amaçla sıklıkla deltametrin, cyflutrin ve sipermetrin etken maddelerine sahip insektisitler, sıcak sisleme veya ULV (Ultra Low Volume: düşük hacim) yöntemleriyle kullanılmaktadır. Bu uygulamaların bireysel mücadeleden çok belediyeler tarafından ve sivrisineklerin aktif olduğu saatlerde yapılması önerilmektedir (Dik, 2015).

Biyolojik mücadelede, larvalarla beslenen *Gambusia* ve *Poecilia* cinslerindeki balıklar durgun su ve göletlerde yetiştirilerek, oluşacak sivrisinek sayısı azaltılmaya çalışılmalıdır. Larvalarla biyolojik mücadele amacıyla *Bacillus thuringiensis* (Bt-14 suşu) ve *Bacillus sphaericus* gibi bazı bakteri türleri, *Culicinympes* ve *Coelomomyces* cinslerindeki bazı mantarlar ve entomopatojenik nematodlar (mermithid nematodlar) kullanılabilir (Dik, 2015).

SONUÇ VE ÖNERİLER

Pulmoner arteriyel dirofilariasisin tedavisi için geçmişten günümüze çok sayıda ilaç, ilaç kombinasyonu ve tedavi protokolü üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Enfekte bir köpekte doğru ilaç ve tedavi protokolü seçimi sayesinde oluşabilecek komplikasyonların önüne geçilerek etkenin bütün yaşam evreleri ortadan kaldırılabilir. Şu ana kadar thiabendazol, levamisol, thiasetarsamid sodyum ve dietilkarbamazin sitrat ile ilgili etkili doz ve tam bir tedavi protokolü hazırlanmamıştır. Melarsomin adultisit tedavi için en etkili ilaç olarak görülmesine rağmen yüksek komplikasyon riskine sahip olup Türkiye'de ruhsatlı preparatı bulunmamaktadır. Fakat ilaca ulaşım olanağı varsa etkinliği yüksek 3 doz tedavi protokolü takip edilerek, öncesinde ML ve doksisisiklin ile ön tedavi ve destek tedavi seçenekleri ile birlikte kullanılması önerilmektedir. Bunun yerine kısa süreli kullanımı ile mikrofilarisit, uzun süreli kullanımı ile adultisit etkili

ML'lar ve doksisisiklin kombinasyonunu içeren tedavi protokolleri tercih edilebilir. Bu amaçla ML'lerden köpeklerde ivermektin ve moksidektin, kedilerde ise selamektin kullanılmaktadır. Bu ilaçlar aynı zamanda etkenden korunmada da kullanılmaktadır. Fakat ML'lar Collie ırkı ve P-glikoprotein sentez inhibitörü mutasyonuna sahip olan hayvanlarda kullanılmamalıdır.

Pulmoner arteriyal dirofilariasisin tedavisinde karşılaşılan; tedavi süresinin uzunluğu ve maliyeti, tedavi sırasında karşılaşılabilecek komplikasyonlar gibi zorluklar nedeniyle hastalıktan korunma konusu önem kazanmalıdır. Bu amaçla sivrisineklerin üreme ortamları ortadan kaldırılarak etkenin yayılımı önlenmelidir. Ayrıca aylık profilaktik antiparaziter uygulamalar özellikle bahar ve yaz aylarında önem kazanmalı ve *D. immitis*'e karşı etkili preparatlar da uygulamaya dahil edilmelidir.

KAYNAKLAR

- Abraham, D. (1988). Biology of *Dirofilaria immitis*. In, Boreham PFL, Atwell RB. Editors. Dirofilariasis. 2nd ed. USA: CRC Press; 1988. pp. 30-46.
- American Heartworm Society (2020). Prevention, diagnosis and management of Heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection in dogs. American Heartworm Society Canine Guidelines. Erişim adresi: https://d3ft8sckhnqim2.cloudfront.net/images/pdf/2020_AHS_Canine_Guidelines.pdf?1580934824.
- Atwell, R. B. & Tarish J. H. (1995). The effect of oral, low-dose prednisolone on the extent of pulmonary pathology associated with dead *Dirofilaria immitis* in a canine lung model. Proceedings of the Heartworm Symposium '95, Auburn, AL, USA, 1995, 103-111.
- Bandi, C., McCall, J. W., Genchi, C., Corona, S., Venco, L. & Sacchi, L. (1999). Effects of tetracycline on the filarial worms *Brugia pahangi* and *Dirofilaria immitis* and their bacterial endosymbionts *Wolbachia*. Int J Parasitol, 29, 357-364. doi:10.1016/s0020-7519(98)00200-8.
- Bazzocchi, C., Mortarino, M., Grandi, G., Kramer, L. H., Genchi, C., Bandi, C., Genchi, M., Sacchi, L. & McCall, J. W. (2008). Combined ivermectin and doxycycline treatment has microfilaricidal and adulticidal activity against *Dirofilaria immitis* in experimentally infected dogs. Int J Parasitol, 38, 1401-1410. doi: 10.1016/j.ijpara.2008.03.002.
- Blagburn, B., Dillon, R., Prichard, R., Geary, T., Mount, J., Land, T., Butler, J. & Bourguinat, C. (2010). Characterization of Heartworm Prevention Failures in the Central United States [abstract]. Proceedings of the State of the Heartworm Symposium '10, Batavia, IL, USA, 2010, 27-28.
- Blagburn, B. L. & Dillon, A. R. (2007). Feline heartworm disease: solving the puzzle. Vet Med, 102 (1), 7-14.
- Boudreaux, M., Dillon, A. R., Ravis, W. R., Sartin, E. A. & Spano, J. S. (1991). Effects of treatment with aspirin or aspirin/dipyridamole combination in heartworm-negative, heartworm infected, and embolized heartworm-infected dogs. Am J Vet Res, 52 (12), 1992-1999.
- Bowman, D. D. & Atkins, C. E. (2009). Heartworm biology, treatment, and control. Vet Clin North Am Small Anim Pract, 39 (6), 1127-1158.
- Bowman, D. D. & Mannella, C. (2011). Macrocyclic lactones and *Dirofilaria immitis* microfilariae. Top Companion Anim Med, 26 (4), 160-172. doi:10.1053/j.tcam.2011.07.001.
- Börkür, M. K., Kurtde, A., Azizoğlu, D. & Kilit, M. (1996). *Dirofilaria immitis* ile doğal enfekte köpeklerde thiacetarsamide sodium uygulamaları. Ankara Üniv Vet Fak Derg, 43, 247-256.
- Chandrashekar, R., Beall, M. J., Saucier, J., O'Connor, T., McCall, J. W. & McCall, S. D. (2014). Experimental *Dirofilaria immitis* infection in dogs: effects of doxycycline and Advantage Multi(R) administration on immature adult parasites. Vet Parasitol, 206, 93-98.
- Colwell, D. D., Dantas-Torres, F. & Otranto, D. (2011). Vector-borne parasitic zoonoses: Emerging scenarios and new perspectives. Vet Parasitol, 182, 14-21. doi: 10.1016/j.vetpar.2011.07.012.
- Côté, E., MacDonald, K. A., Meurs, K. M. & Sleeper, M. M. (2011). Feline Cardiology. 1st ed. Iowa, USA: Wiley-Blackwell Publishing.
- Di Regalbono, A. F., Di Cesare, A., Traversa, D., Simonato, G., Poser, H., Danesi, P., Furnari, C., Russi, I., Raelle, D. A., Crisi, P., Pampurini, F. & Pietrobelli, M. (2016). Microfilaricidal efficacy of a single administration of Advocate®

- (Bayer Animal Health) in dogs naturally infected with *Dirofilaria immitis* or *Dirofilaria repens*. *Vet Parasitol*, 226, 30–34. doi:10.1016/j.vetpar.2016.06.024.
- Dik, B. (2015). *Veteriner Entomoloji*, 2nd ed. Konya, Turkey: Ofset Hazırlık/Baskı.
- Dik, B., Başoğlu, A. & Kaya, M. (1992). Köpeklerde *Dirofilaria immitis*'in sağıtımında levamisol ve ivermektin'in etkileri. *SÜ Vet Fak Derg*, 8 (2), 48-50.
- Dillon, A. R., Blagburn, B. L., Tillson, M., Brawner, W., Welles, B., Johnson, C., Cattlet, R., Rynders, P. & Barney, S. (2017). Heartworm-associated respiratory disease (HARD) induced by immature adult *Dirofilaria immitis* in cats. *Parasit Vectors*, 10 (2), 514-529. doi:10.1186/s13071-017-2452-6.
- Dillon, A. R., Brawner, W. R. & Hanrahan, L. (1995). Influence of number of parasites and exercise on the severity of heartworm disease in dogs. *Proceedings of the Heartworm Symposium'95*. Auburn, AL, USA, 1995, 113.
- Dillon, A. R., Tillson, D. M., Wooldridge, A., Cattley, R., Hathcock, J., Brawner, W. R., Cole, R., Welles, B., Christopherson, P. W., Lee-Fowler, T., Bordelon, S., Barney, S., Sermersheim, M., Garbarino, R., Wells, S. Z., Diffie, E. B. & Schachner, E. R. (2014). Effect of pre-cardiac and adult stages of *Dirofilaria immitis* in pulmonary disease of cats: CBC, bronchial lavage cytology, serology, radiographs, CT images, bronchial reactivity, and histopathology. *Vet Parasitol*, 206 (1-2), 24-37. doi:10.1016/j.vetpar.2014.09.007.
- Dzimianski, M. T., McCall, J. W. & Mansour, A. M. (2010). The effect of prednisone on the efficacy of melarsomine dihydrochloride against adult *Dirofilaria immitis*'in experimentally infected beagles. *State of the Heartworm '10 Symposium*, Memphis, TN, USA, 2010.
- Foster, W. A. & Walker, E. D. (2019). Mosquitoes (Culicidae). In, Mullen GR, Durden LA. Editors. *Medical and Veterinary Entomology*, 3rd ed. UK: Academic Press; 2019. pp. 261–325. doi:10.1016/b978-0-12-814043-7.00015-7.
- Fukami, N., Hagio, M., Okano, S. & Watanabe, S. (1998). Influence of exercise on recovery of dogs following heartworm adulticide treatment with melarsomine. *Recent Advances in Heartworm Disease: Symposium'98*. Tampa, FL, USA, 1998, 225-227.
- Genchi, M., Vismarra, A., Lucchetti, C., Viglietti, A., Crosara, S., Gnudi, G., Quintavalla, C., Schaper, R. & Kramer, L. (2019). Efficacy of imidacloprid 10%/moxidectin 2.5% spot on (Advocate®, Advantage Multi®) and doxycycline for the treatment of natural *Dirofilaria immitis* infections in dogs. *Vet Parasitol*, 273, 11–16. doi: 10.1016/j.vetpar.2019.07.011.
- González-Miguel, J., Morchón, R., Siles-Luca, M., Oleaga, A. & Simón, F. (2010). Identification of *Dirofilaria immitis* immunoreactive proteins recognized by sera from infected cats using two-dimensional electrophoresis and mass spectrometry. *Mol Biochem Parasitol*, 174 (1), 78–82. doi:10.1016/j.molbiopara.2010.06.013.
- Grandi, G., Quintavalla, C., Mavropoulou, A., Genchi, M., Gnudi, G., Bertoni, G. & Kramer, L. (2010). A combination of doxycycline and ivermectin is adulticidal in dogs with naturally acquired heartworm disease (*Dirofilaria immitis*). *Vet Parasitol*, 169, 347-351. doi: 10.1016/j.vetpar.2010.01.025.
- Hise, A. G., Ferguson, I. G. & Pearlman, E. (2004). The role endosymbiotic *Wolbachia* bacteria in filarial disease. *Cel Microbiol*, 6 (2), 97-104. doi:10.1046/j.1462-5822.2003.00350.x.
- Hoch, H. & Strickland, K. (2008). Canine and feline dirofilariasis: prophylaxis, treatment, and complications of treatment. *Compendium*, 30, 146-151.
- Kozek, W. J. (2005). What is new in the *Wolbachia/Dirofilaria* interaction? *Vet Parasitol*, 133, 127–132. doi:10.1016/j.vetpar.2005.02.005.
- Kramer, L., Grandi, G., Passeri, B., Gianelli, P., Genchi, M., Dzimianski, M. T., Supakorndej, P., Mansour, A. M., McCall, S. D. & McCall, J. W. (2011). 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*, 176, 357–360. doi:10.1016/j.vetpar.2011.01.021.

- Kramer, L., Simón, F., Tamarozzi, F., Gechi, M. & Bazzocchi, C. (2005a). Is *Wolbachia* complicating the pathological effects of *Dirofilaria immitis* infections? *Vet Parasitol*, 133, 133-136. doi:10.1016/j.vetpar.2005.04.011.
- Kramer, L. H., Tamarozzi, F., Morchón, R., López-Belmonte, J., Marcos-Atxutegi, C., Martín-Pacho, R. & Simón, F. (2005b). Immune response to and tissue localization of the *Wolbachia* surface protein (WSP) in dogs with natural heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection. *Vet Immunol Immunopathol*, 106, 303-308. doi:10.1016/j.vetimm.2005.03.011.
- Kryda, K., Six, R. H., Walsh, K. F., Holzmer, S. J., Chapin, S., Mahabir, S. P., Myers, M., Inskeep, T., Rugg, J., Cundiff, B., Pullins, A., Ulrich, M., McCall, J. W., McTier, T. L. & Maeder, S. J. (2019). Laboratory and field studies to investigate the efficacy of a novel, orally administered combination product containing moxidectin, sarolaner and pyrantel for the prevention of heartworm disease (*Dirofilaria immitis*) in dogs. *Parasites Vectors*, 12 (1), 445-456. doi:10.1186/s13071-019-3702-6.
- Latrofa, M., Montarsi, F., Ciocchetta, S., Annoscia, G., Dantas-Torres, F., Ravagnan, S., Capelli, G. & Otranto, D. (2012). Molecular xenomonitoring of *Dirofilaria immitis* and *Dirofilaria repens* in mosquitoes from north-eastern Italy by real-time PCR coupled with melting curve analysis. *Parasites Vectors*, 5 (1), 76-83. doi:10.1186/1756-3305-5-76.
- McCall, J. W., Genchi, C., Kramer, L., Guerrero, J., Dzimiński, M. T., Supakorndej, P., Mansour, A. M., McCall, S. D., Supakorndej, N., Grandi, G. & Carson, B. (2008a). Heartworm and *Wolbachia*: Therapeutic implications. *Vet Parasitol*, 158, 204-214. doi:10.1016/j.vetpar.2008.09.008.
- McCall, J. W., Genchi, C., Kramer, L. H., Guerrero, J., Venco, L. (2008b). Heartworm disease in animals and humans. In: Rollinson D, Hay SI. Editors., *Advances in Parasitology*. 1st ed. Vol 66. New York, US: Academic Press; 2008b. Pp.193-285.
- McCall, J. W., Guerrero, J., Roberts, R. E., Supakorndej, N., Mansour, A. E., Dzimiński, M. T. & McCall, S. D. (2001). Further evidence of clinical prophylactic, retro-active (reach-back) and adulticidal activity of monthly administrations of ivermectin (Heartgard Plus™) in dogs experimentally infected with heartworms. *Recent Advances in Heartworm Disease: Symposium'01*. IL, USA, 2001, 189-200.
- McCall, J. W., Hodgkins, E., Varloud, M., Mansour, A. & DiCosty, U. (2017b). Blocking the transmission of heartworm (*Dirofilaria immitis*) to mosquitoes (*Aedes aegypti*) by weekly exposure for one month to microfilaremic dogs treated once topically with dinotefuran-permethrin-pyriproxyfen. *Parasites Vectors*, 10, 511-519. doi:10.1186/s13071-017-2439-3.
- McCall, J. W., Kramer, L., Genchi, C., Guerrero, J., Dzimiński, M. T., Supakorndej, P., Mansour, A., McCall, S. D., Supakorndej, N., Grandi, G. & Carson, B. (2011). Effects of doxycycline on early infections of *Dirofilaria immitis* in dogs. *Vet Parasitol*, 176, 361-367. doi:10.1016/j.vetpar.2011.01.022.
- McCall, J. W., Varloud, M., Hodgkins, E., Mansour, A., DiCosty, U., McCall, S. D., Carmichael, J., Carson, B. & Carter, J. (2017a). Shifting the paradigm in *Dirofilaria immitis* prevention: blocking transmission from mosquitoes to dogs using repellents/insecticides and macrocyclic lactone prevention as part of a multimodal approach. *Parasites Vectors*, 10, 525-535. doi:10.1186/s13071-017-2438-4.
- McTier, T. L., Pullins, A., Chapin, S., Rugg, J., Von Reitzenstein, M., McCall, J. W., King, V. L. & Vatta, A. F. (2019). The efficacy of a novel topical formulation of selamectin plus sarolaner (Revolution® Plus/Stronghold® Plus) in preventing the development of *Dirofilaria immitis* in cats. *Vet Parasitol*, 270, 56-62. doi:10.1016/j.vetpar.2018.10.010.
- Moreno, Y., Nabhan, J. F., Solomon, J., Mackenzie, C. D. & Geary, T. G. (2010). Ivermectin disrupts the function of the excretory-secretory apparatus in microfilariae of *Brugia malayi*. *Proc Natl Acad Sci*, 107, 20120-20125. doi:10.1073/pnas.1011983107.
- Nayar, J. K. & Connelly, C. R. (2017). Mosquito-borne dog heartworm disease. In: *Pests in and around*

- the southern home. University of Florida, UF/IFAS Extension, erişim adresi: <http://ifasbooks.ifas.ufl.edu/p-1222-pests-in-and-aroundthe-southern-home.aspx>.
- Nelson, C. T., Myrick, E. S. & Nelson, T. A. (2017). Clinical benefits of incorporating doxycycline into a canine heartworm treatment protocol. *Parasites Vectors*, 10, 515-518. doi:10.1186/s13071-017-2446-4.
- Otranto, D., Dantas-Torres, F. & Breitschwerdt, E. B. (2009). Managing canine vector-borne diseases of zoonotic concern: part one. *Trends Parasitol*, 25 (4), 157–163. doi:10.1016/j.pt.2009.01.003.
- Pfarr, K. M. & Hoerauf, A. (2006). A niche for *Wolbachia*. *Trends Parasitol*, 23, 5-7. doi:10.1016/j.pt.2006.11.002.
- Powers, K. G., Parbuoni, E. L. & Furrow, R. D. (1981). *Dirofilaria immitis*: 1. Adverse reactions associated with diethylcarbamazine therapy in microfilaremic dogs, in Otto GF. Proceedings of the Heartworm Symposium'80. Batavia, IL, USA, 108-111.
- Prichard, R. K. & Geary, T. G. (2019). Perspectives on the utility of moxidectin for the control of parasitic nematodes in the face of developing anthelmintic resistance. *Int J Parasitol Drugs Drug Resist*, 10, 69–83. doi:10.1016/j.ijpddr.2019.06.002.
- Pulliam, J. D., Seward, R. L., Henry, R. T. & Steinberg, S. A. (1985). Investigating ivermectin toxicity in Collies. *Vet Med*, 80, 33-40.
- Pullins, A., McTier, T. L., Mahabir, S., DeRose, G. & Hedges, L. (2020). The efficacy of a topical formulation of selamectin plus sarolaner in preventing the development of a macrocyclic lactone-resistant strain of *Dirofilaria immitis* in cats. *Vet Parasitol*, 282/109122. doi: 10.1016/j.vetpar.2020.109122.
- Rawlings, C. A., Keith, J. C. Jr., Losonsky, J. M. & McCall, J. M. (1984). An aspirin-prednisolone combination to modify post adulticide lung disease in heartworm-infected dogs. *Am J Vet Res*, 45, 2371-2375.
- Rossi, M. I. D., Paiva, J., Bendas, A., Mendes-de-Almeida, F., Knackfuss, F., Miranda, M., Guerrero, J., Fernandes, O. & Labarthe, N. (2010). Effects of doxycycline on the endosymbiont *Wolbachia* in *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856)-Naturally infected dogs. *Vet Parasitol*, 174 (1-2), 119-123. doi:10.1016/j.vetpar.2010.07.019.
- Sarıncı, H. & Alkan, M. (1986). Köpeklerde Dirofilariasis olguları ve insan sağlığı yönünden önemi. *Türk Parazit Derg*, 1-2, 169-174.
- Schlotthauer, J. C., Stromberg, B. E. & Paul, A. J. (1986). Safety and acceptability of ivermectin in dogs with naturally acquired patent infection of *Dirofilaria immitis*. Ed.: Otto GF. Proceedings of the Heartworm Symposium'86. Batavia, IL, USA, 1986, 29-32.
- Simón, F., Prieto, G., Morchón, R., Bazzocchi, C., Bandi, C. & Genchi, C. (2003). Immunoglobulin G antibodies against the endosymbionts of filarial nematodes (*Wolbachia*) in patients with pulmonary dirofilariasis. *Clin Diagn Lab Immunol*, 10, 180-181. doi:10.1128/CDLI.10.1.180-181.2003.
- Simón, F., Siles-Lucas, M., Morchon, R., Gonzalez-Miguel, J., Mellado, I., Carreton, E. & Montoya-Alonso, J. A. (2012). Human and animal Dirofilariasis: the emergence of a zoonotic mosaic. *Clin Microbiol Rev*, 25, 507–544. doi:10.1128/cmr.00012-12.
- Şahal, M., Doğanay, A. & İmren, H. (1986). Untersuchungen auf die wirksamkeit der präparate Citarin-L und Aricyl gegen microfilarien und adulte würmer von *Dirofilaria immitis* und *Dirofilaria repens* bei natürlich infizierten hunden. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 33 (3), 297-308.
- Taylor, M. J., Bandi, C. & Hoerauf, A. (2005). *Wolbachia* bacterial endosymbionts of filarial nematodes. *Adv Parasitol*, 60, 245–284. doi:10.1016/s0065-308x(05)60004-8.
- Taylor, M. J., Cross, H. F., Ford, L., Makunde, W. H., Prasad, G. B. K. S. & Biló, K. (2001). *Wolbachia* bacteria in filaria immunity and disease. *Parasite Immunol*, 23, 401-409. doi:10.1046/j.1365-3024.2001.00400.x
- Umur, Ş., Köroğlu, E., Güçlü, F. & Tınar, R. (2006). Nematoda. In: Tınar R. Editors. *Helmintoloji*. 1st ed. Ankara, Turkey: Nobel Yayın Dağıtım; 2006, pp. 213-441.
- Vatta, A. F., Dzimianski, M., Storey, B. E., Camus, M. S., Moorhead, A. R., Kaplan, R. M. & Wolstenholme,

- A. J. (2014). Ivermectin-dependent attachment of neutrophils and peripheral blood mononuclear cells to *Dirofilaria immitis* microfilariae in vitro. *Vet Parasitol*, 206, 38–42. doi:10.1016/j.vetpar.2014.02.004.
- Venco, L., McCall, J. W., Guerrero, J. & Genchi, C. (2004). Efficacy of long-term monthly administration of ivermectin on the progress of naturally acquired heartworm infections in dogs. *Vet Parasitol*, 124, 259–268. doi:10.1016/j.vetpar.2004.06.024.
- Vezzoni, A., Genchi, C. & Raynaud, J. P. (1992). Adulticide efficacy of RM 340 in dogs with mild and severe natural infections. *Proceedings of the Heartworm Symposium'92*. Austin, TX, USA, 1992, 231-240.
- Wolstenholme, A. J., Evans, C. C., Jimenez, P. D. & Moorhead, A. R. (2015). The emergence of macrocyclic lactone resistance in the canine heartworm, *Dirofilaria immitis*. *Parasitology*, 142, 1249–1259. doi:10.1017/S003118201500061X.