

인천지역 공원 채집 모기에서 심장사상충 감염도 조사

정철* · 송재성 · 김명덕 · 김경호 · 이정구 · 이성모

인천광역시 보건환경연구원

Molecular survey of *Dirofilaria immitis* in mosquitoes collected from parks the in the Incheon metropolitan city in Korea

Cheol Jeong*, Jae-Sung Song, Myung-Deok Kim-Jeon,
Jung-Goo Lee, Kyoung-Ho Kim, Sung-Mo Lee

Incheon Metropolitan City Institute of Health & Environment, Incheon 400-102, Korea

Abstract

Unlike previous studies that reported the infection rates of *Dirofilaria immitis* in companion dogs, *D. immitis* genes were tested directly on mosquitoes to see how many mosquitoes actually carry larvae. Mosquito samples were collected from six parks in Incheon from March to August 2018. A total of 18,589 mosquitoes was collected, classified by type and then made 575 sample pools based on 50 mosquitoes. The PCR method was used to detect *Dirofilaria immitis* genes of sample pools. *Dirofilaria immitis* genes were detected in 7 of the 575 pools, and these positive mosquito samples were collected in 4 out of the 6 parks. The types of detected mosquitoes were *Aedes dorsalis* and *Ochlerotatus koreanus* which have been identified to act as a vector for heart worm propagation in Incheon. Based on these results, it was concluded that *D. immitis* genes were found in mosquitoes in the neighborhood park.

Key words : *Dirofilaria immitis*, PCR, Mosquito

서론

개 심장사상충(*Dirofilaria immitis*)은 개, 고양이, 여우 및 다른 포유류동물에 기생하며 특히 개과에 속하는 동물이 중요한 숙주의 역할을 하며 열대, 아열대지방 중심으로 유행하는 질병이다(Lee 등, 2007). 개 심장사상충은 모기를 매개로 전파되는데 감염된 모기가 흡혈하는 과정에서 개에게 전염되며, 개의 근육 등에 발현되거나 정맥을 통해 침입하여 성장 발육하여 제3기 유충(감염유충)이 된다. 이 감염 유충은 개의 체내에서 이동과 성장, 탈피하여 미성숙 성충이 되어 우심방에 도달하고, 이 곳에서 마이크로필라리아(제1기 유충)를 생성하게 된다(Prescott 등, 1986; 이 등, 1987; 이 등, 1996;). 개에서의 심장사상충은 폐동

맥, 우심실, 우심방에 기생하여 혈액 순환장애를 일으키고 급성으로는 혈색소뇨, 빈혈, 황달, 식욕부진을 일으킨다(Jubb 등, 1993; 이, 1996; Mutaz 등, 2004).

D. immitis 인체감염에 대한 보고는 최초 1954년 미국에서 보고된 이후, 일본, 호주, 브라질, 프랑스 등에서 알려져 왔으며 증상으로 X선 검사에서 coin lesion 으로 발견되거나 어린 유충은 피하나 기타 부위에 이행하여 종괴를 형성한다(Yoshimura 등 1970; Cifferi, 1982; Adkins 등 1984; Monchy 등, 1993; 문, 1996; Mutaz 등, 2004). 우리나라에서도 사람의 폐 및 간에 형성된 결절에서 심장사상충의 감염의 예가 보고되었다(Lee, 등 2000; Kim, 등 2002). 개 심장사상충은 *Culex*, *Aedes*, *Ochlerotatus*, *Anopheles*, *Armigeres* 및 *Mansonia* 등 다양한 속에 속하는 모기 종을 통해 감염된다.(Canrini 등, 1995; Pampiglione 등, 2000).

우리나라에서는 최초로 1962년 경남 진주 지방의 사육된 개를 대상으로 자충의 감염상태를 검사한 결과 21%의 감염률을 확인 이후, 1997년 인천에서 2.7%, 2003년 대전에서 12%, 2002년 충남 동부지역에서 19%, 2003년 경기지역에서 69.5%, 2004년 전주에서 14%, 2009년 경남 남부지역에서 22.5%, 2007년 광주 지역에서 12.4%, 2010년 울산지역에서 7.2%의 개심장사상충 감염률을 확인하였다(박 등, 1962; Lee 등, 1999; 이 등, 2003; Song 등, 2003; 장 등, 2004; Lee 등, 2005; Liu 등, 2005; Koh 등, 2007; Kim 등, 2009; Park 등, 2010)

일반적인 모기 채집 방법은 유문등(誘蚊燈)을 이용한 방법으로 빛(블랙라이트, UV-Light, 356nm)에 모기가 유인되는 원리이나 불빛을 이용하여 모기를 유인하기 때문에 주간 활동성 모기의 유인 효율이 낮은 단점이 있다. 최근 새로 개발된 디지털모기측정기 시스템(DMS, Digital Mosquito Monitoring System)은 이산화탄소를 유인 물질로 사용하여 질병 매개의 원인이 되는 암컷 모기 유인의 선택성을 높인 방식으로 유문등을 이용한 방법의 한계인 주간 활동 모기 채집의 효율성도 높였으며, 채집된 모기를 자동으로 계수하고 정보를 실시간으로 모니터링하는 방식의 채집기로 감염병 매개모기 계측에 있어 새로 급부상하는 방식이다(유 등, 2015).

현재까지 국내 연구결과 사육하는 개에서 심장사상충의 감염 정도에 대한 연구는 전국적으로 확인이 되었지만 모기에서 직접 심장사상충 자충의 감염 정도를 연구한 결과는 경기도와 강원도로 한정되어 있다. 본 연구는 인천지역에 위치한 반려동물들의 출입이 잦은 공원 6곳에서 채집된 암모기에서 개 심장사상충 유전자를 확인하였다. 심장사상충 항원 진단방법 중 간편하고 신속하게 사용할 수 있는 PCR 방법을 사용하여 심장사상충 항원을 확인함으로써 인천지역 공원 내에 살고 있는 모기에서 심장사상충 감염 정도 확인을 통해 심장사상충 발생 위험도를 조사하였다.

재료 및 방법

1. 모기채집 및 분류

실험에 사용된 모기는 디지털모기측정기(주식회사 이티엔디)를 사용하여 채취하였다. 디지털모기측정기는 모기의 동물이 호흡을 통해 내뿜는 이산화탄소에 끌리는 특성을 이용하여 암모기 유인의 선택성을 높인 채집기이다. 인천광역시 내에 위치한 6곳의 공원(중구 자유공원, 송현 근린공원, 송도 센트럴파크, 인천대공원, 계양구 다남체육공원, 청라 1호문화공원)에 설치된 디지털모기측정기에서 채집한 모기를 이용하여 실험을 실시하였다(Fig. 1). 모기는 5월 1일부터 8월 30일까지 모기 활동성이 높은 계절에 1주일 단위로 총 16번에 걸쳐 채집하였다. 모기는 실체현미경을 이용하여 전 수에 대하여 형태학적 분류기준(전염성매개체 생체 및 분류, 질병관리본부)에 따라 분류하였다.

2. DNA 추출 및 PCR 분석

D. immitis 감염 확인을 위해 genomic DNA를 추출하였으며 genomic DNA 추출은 QIAamp DNA

Mini Kit (QIAGEN, USA)를 사용하였다. 채집한 모기는 기간별, 종별로 구분하여 1~50마리 단위로 pool로 만들어 실험을 수행하였다. DNA 추출물은 50ul TE buffer 에 녹여 각 분석에 4ul를 사용하였다. *D. immitis* 확인을 위해 사용한 Watt등이 사용한 프라이머를 사용하였다(Watts 등 1999; Liu 등 2005). PCR 반응은 AccuPower[®] HotStart PCR PreMix(BIONEER, Korea)에 template DNA 4ul와 각각 10pmol/ul primer 1ul를 넣고 DNA free water 를 총량이 20ul 되게 첨가하였다. PCR반응 조건은 94°C 5분 initial denaturation을 실시하고 denaturation 94°C에서 40초, annealing 55°C 40초, elongation 72°C 40초를 40회 반복하였다. 증폭된 PCR 산물은 1.5% agarose gel에 전기영동한 후 red safe(iNtRON, Korea) 20,000배 희석 염색하여 UV transilluminator (Gel DOCTM XR+, BIO-RAD)로 440bp의 양성밴드를 확인하였다.

인천수의사회에서 운영하는 유기견보호소에 보호 중인 개에서 혈액을 채취하여 심장사상충 항원 진단 키트(Antigen Rapid Canine Heartworm Ag Test Kit 2.0, Anigen)을 사용하여 정기검사를 실시하였다. 양성이 확인된 개에서 혈액을 1ml를 헤파린 튜브에 채혈하여 혈구도말(blood cell smear)법을 이용, 광학현미경으로 심장사상충 자충의 유무를 확인하였다. 자충이 확인된 혈액에서 DNA 추출 및 PCR 분석을 통해 실험에 사용된 프라이머의 적합성 여부를 검증하였다(Fig. 2.).

최소감염률(minimum field infection rates, MFIR)은 number infected pools/total number of mosquitoes x 1000 을 나타낸다.

결 과

2018년 5월 1일부터 8월 30일까지 총 16주 동안 1주일 간격으로 1회씩 모기를 채집하였으며 중구 자유공원에서 2,139마리, 동구 송현공원에서 2,539마리, 송도 중앙공원에서 6,196마리, 인천대공원에서 1,193마리, 계양구 다남체육공원에서 3,902마리 그리고 청라 1호 문화공원에서 2,620마리로 총 18,589마리의 암모기를 채취하였다. 채집한 모기는 채집 지역, 시기별로 1-50마리 단위로 575개의 pool로 만들어 심장사상충 자충 항원검사를 실시하였으며 그 결과, 중구 자유공원 등줄숲모기(*Aedes dorsalis*)에서 1개, 인천대공원 한국숲모기(*Ochlerotatus koreicus*)에서 1개, 계양구 다남체육공원 등줄숲모기(*Aedes dorsalis*)에서 1개 그리고 청라 1호 문화공원 한국숲모기(*Ochlerotatus koreicus*)에서 4개 pool에서 양성이 확인되었다. 각 공원별 최소감염률은 중구 자유공원이 0.47, 인천대공원은 0.84, 계양구 다남체육공원이 0.26 그리고 청라 1호문화공원에서 1.53으로 나타났으며 공원에서 채집된 전체 모기에서 최소감염률은 0.38로 나타났다(Table 1).

채집한 모기는 총 9종이 관찰되었으며 얼룩날개모기속(*Anopheles* spp) 283마리(1.52%), 반점날개집모기(*Culex bitaeniorhynchus*) 100마리(0.54%), 동양집모기(*Culex orientalis*) 15마리(0.08%), 빨간집모기(*Culex pipens*) 16,409마리(88.27%), 반점날개늪모기(*Mansonia uniformis*) 8마리(0.04%), 금빛숲모기(*Aedes vexans nipponi*) 811마리(4.36%), 한국숲모기(*Ochlerotatus koreicus*) 904마리(4.86%), 등줄숲모기(*Aedes dorsalis*) 40마리(0.22%), 큰검정들모기(*Armigeres subalbatus*) 20마리(0.11%)로 분포하였다(Table 2). 각 모기 종별 심장사상충 최소감염률은 중구 자유공원 등줄숲모기에서 25, 인천대공원 한국숲모기에서 1.1, 계양구 다남체육공원 등줄숲모기에서 25, 청라 1호문화공원 한국숲모기에서 4.4로 나타났다. 인천 지역 공원에서 채집한 모기 중 중 한국숲모기에서 최소감염률은 5.5, 등줄숲모기에서는 50으로 나타났다(Table 2).

고 찰

최근 국민들의 삶의 질이 향상되고 1인 가구가 증가하는 등 사회의 변화에 따른 애완동물의 사육이 증가하고 있는 이 시점에 반려동물에 대한 질병 관리의 중요성이 높아지고 있다. 개 심장사상충증은 모

기가 매개하는 질병으로 주로 온대지방에서 발생하며 실제 우리나라에서도 임상에서 흔히 접할 수 있는 매우 중요한 전염성 질환 중 하나이다. 지리적 위치, 실험방법 및 실내·외 사육 등 실험 조건의 차이에 따라 전국적으로 최소 2.7% 에서 최대 69.5%로 높은 감염률을 나타내고 있으며 더욱이 고양이와 동물과 사람에게도 감염사례가 있어 임상수의사들이 예방과 치료에 많은 관심을 기울이고 있는 질병이다(Liu 등 2005).

본 실험을 통해 인천지역에 시민들이 자주 왕래하는 큰 규모의 공원 6곳에서 채집한 모기 중 암모기에서의 심장사상충 감염 여부를 확인해보았다. 총 6곳의 공원 중 4곳에서 채집된 모기에서 *D. immitis*에서 *D. immitis*에 대한 유전자를 확인하였고, 이를 바탕으로 확인한 최소감염률은 0.26~1.53로 나타났으며 인천지역 6곳 전체 공원 모기에 대한 최소감염률은 0.38으로 나타났다. 최소감염률(MFIR)은 모기 1,000마리당 감염률을 계산하는데 사용되었다. 실험에 사용한 모기는 50마리씩 pool로 만들었기 때문에 최소감염률이 1이라는 의미는 최소 1000마리당 1마리의 감염 모기가 있으며 최대 50마리까지 존재할 수 있다는 의미이다. 동구 송현공원과 송도 중앙공원은 감염은 확인되지 않았으며 청라 1호 문화공원에서 최소감염률이 1.53으로 심장사상충 감염에 가장 높은 위험도를 나타내는 것으로 확인되었다. 심장사상충을 매개하는 모기는 종 특이성이 없이 대부분 모기에 의해 이뤄지는 것으로 알려져 있으나(Cancrini 등, 1995; Pampiglioni 등, 2000) 인천지역에서 한국숲모기(*Ochlerotatus koreicus*)의 최소감염률은 5.5, 등줄숲모기(*Aedes dorsalis*)의 최소감염률은 50으로 나타나 종 특이적인 양상을 나타냈다.

현재까지 사육하고 있는 개에서 혈액 혹은 혈청검사를 통해 심장사상충의 감염여부와 통계를 확인한 연구는 많았으며 이는 이미 심장사상충이 만연되어 있음을 지역별로 확인하고 있는 수준이다. 현재까지 국내 모기에서 직접 심장사상충의 감염여부를 확인한 결과는 경기도와 강원도로 극히 한정되어 있었다. 특히 본 연구는 시민들의 일상생활과 밀접한 거주 지역 주변 공원에서 채집한 모기를 대상으로 실험을 진행한 국내 최초 보고이다. 본 실험을 토대로, 인천 지역과 같은 대도시의 공원에서 반려견과 산책을 통해서 심장사상충 감염의 위험성이 있을 것으로 판단된다.

지금까지 모기 채집은 주로 조사지역에 유문등과 같은 채집기구를 설치하여 채집하는 방법으로 모기에 대한 선택적인 구분 없이 블랙라이트(UV-light, 356nm)에 유인되는 곤충에 대하여 전부 채집하여 분류하는 방법이었다. 본 실험에 사용된 디지털모기측정기 시스템 방식은 모기 유인의 선택적인 증대를 위해 이산화탄소(CO₂)를 주 유인제로 사용하였기 때문에 암모기에 대한 선택성을 높여 채집할 수 있다. 설치와 철거를 반복해야하는 유문등과 달리 고정식으로 설치되어 일정지역에서 장기간 모기 발생 모니터링에 유리하며 이산화탄소를 유인제로 사용하기 때문에 유문등을 이용한 채집방법과는 달리 주간 활동성 모기 종에 대한 채집과 채집 모기수를 자동으로 계측할 수 있어 실시간 모기 모니터링에 효율적인 방식이다.

개 심장사상충증은 감염이 되어 체내에서 성충으로 성장하면 치료가 어렵고 많은 비용이 소요되기 때문에 심장사상충 자충에 대한 예방약 투약과 감염 매개체인 모기에 대한 구제가 질병 예방에 중요한 요소라고 할 수 있겠다. 현재까지는 광범위한 모기에 대한 구제는 쉽지 않기 때문에 심장사상충 예방약 복용에 대한 홍보와 실행이 심장사상충 예방에 있어 가장 효율적이며 실현 가능한 예방법이라 하겠다. 본 연구로 대도시에서 반려동물과 삶을 공유하는 일반 시민들에게 심장사상충 감염의 위험도가 상당히 높다는 사실을 인식시킬 수 있는 계기가 마련되었으며, 앞으로 심장사상충 유전자 검출 모기가 확인되었을 경우 인터넷과 방송 매체 등을 통해 심장사상충 감염 모기 발생 등을 시민에게 알리는 발생 예보제 시스템 구축과 해당 지역 모기 구제 방역차량 운행 등을 위한 기초자료로 활용된다면 심장사상충 예방 효과에 큰 역할이 될 것으로 생각한다.

결 론

2018년 5월 1일부터 8월 30일까지 인천지역 공원 6곳에서 모기를 채집하여 PCR 방법을 통해 심장사상충 유전자 확인을 통해 다음과 같은 결과를 도출하였다.

1. 인천지역 총 6곳의 공원에서 총 18,589마리의 암모기를 채집하여 공원 4곳 7건의 pool에서 심장사상충 유전자 양성을 확인하였다.
2. 채집한 모기는 총 9종이며 심장사상충 최소감염률은 총 0.38로 중구 자유공원이 0.47, 인천대공원은 0.84, 계양구 다남체육공원이 0.26 그리고 청라 1호문화공원에서 1.53으로 나타났으며 한국숲모기 (*Ochlerotatus koreicus*)에서 최소감염률은 5.5, 등줄숲모기(*Aedes dorsalis*)에서는 50으로 나타났다.
3. 본 실험에서 확인된 채집 모기 내 심장사상충 유전자 확인 결과는 모기 발생 예보제 시스템 구축과 모기 구제 및 방역실시 등을 위한 기초 자료로 활용할 수 있을 것으로 생각되며 개 심장사상충 감염 예방에 큰 효과를 얻을 수 있을 것이다.

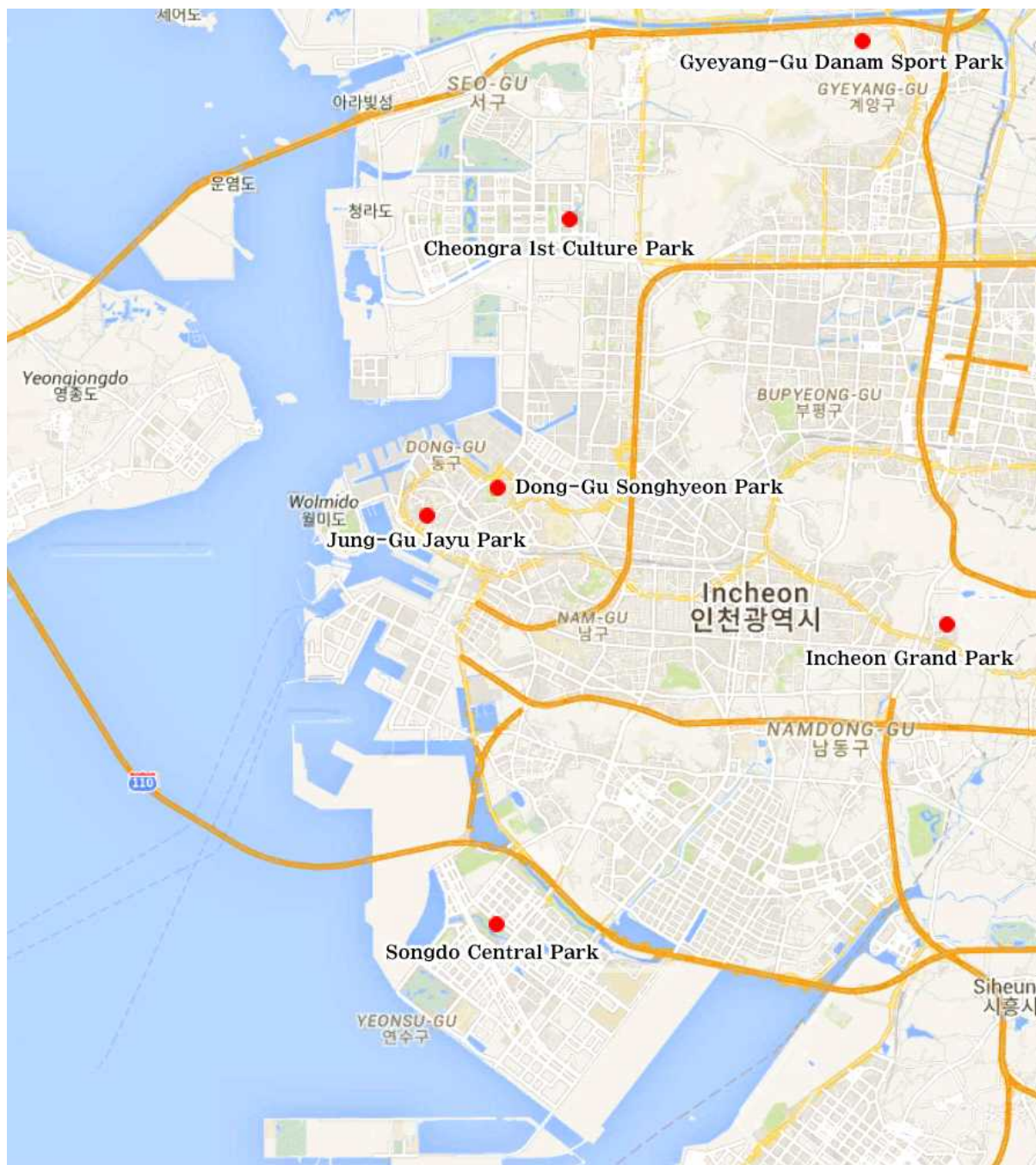


Fig. 1. Location of mosquito collection sites at Incheon metropolitan city (google map)

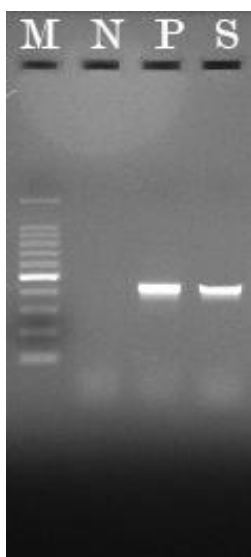


Fig. 2. The PCR-based detection of *D. immitis* DNA in mosquitoes in South Korea. A 100bp ladder was lane M and a positive control of *D. immitis* was lane P. Lane N is negative control and lane S is positive test sample.

Table 1. Results of PCR analysis for *Dirofilaria immitis* infection in parks of mosquito pool collected from May to August, 2018 in Incheon metropolitan city, Republic of Korea

Location	Jung-Gu Jayu Park	Dong-Gu Songhyeon Park	Songdo Central Park	Incheon Grand Park	Gyeyang-Gu Dadam Sport Park	Cheongra 1 st Culture Park	Total
No. Mosquitoes	2,139	2,539	6,196	1,193	3,902	2,620	18,589
No. Pools	71	84	157	55	115	93	757
Positive Pools	1	0	0	1	1	4	7
MFIR ^a	0.47	0	0	0.84	0.26	1.53	0.38

^a Minimum field infection rate (MFIR) = (number infected pools/total number mosquitoes) x 1,000

Table 2.

Results of PCR analysis for *Dirofilaria immitis* infection by mosquito species in mosquito pool collected from May to August, 2018 in Incheon metropolitan city, Republic of Korea.

Species	No. Mosquitoes	pools	Jung-Gu Jayu Park		Dong-Gu Songhyeon Park		Songdo Central Park		Incheon Grand Park		Gyeyang-Gu Daeam Sport Park		Cheongra 1st Culture Park		Total	
			positive	MFIR	positive	MFIR	positive	MFIR	positive	MFIR	positive	MFIR	positive	MFIR	positive	MFIR
<i>Anopheles spp</i> ^a	283	33	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Culex bitaeniorhynchus</i>	100	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Culex orientalis</i>	15	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Culex pipiens</i>	16,409	377	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Mansonia uniformis</i>	8	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Aedes vexans nipponii</i>	811	51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Ochlerotatus koreicus</i>	904	78	0	0	0	0	0	0	1	1.1	0	0	4	4.4	5	5.5
<i>Aedes dorsalis</i>	40	14	1	25	0	0	0	0	0	0	1	25	0	0	2	50
<i>Armigeres subalbatus</i>	20	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	18,589	575													7	0.38

^a Members of the *Anopheles spp* (*An. belenrae*, *An. Kleini*, *An. koreicus*, *An. lesteri*, *An. lindesavi japonicus*, *An. pullus*, *An. sinesis*, *An. sineroides*) cannot be identified to species by current morphological techniques.

참고문헌

- 문희주. 1996. 인체기생충학. 고문사: 68-69.
- 박응복, 이희성. 1962. 진주지방 축견의 견사상충 조사. 진주농대 연구보고 1: 34-58.
- 유재승, 신이현, 주영란. 2015. 감염병 매개모기 원격 계측기 개발. 주간 건강과 질병. 8(38): 902-905.
- 이재구. 1987. 최신수의기생충학. 대한교과서주식회사: 234-239.
- 이병인, 조영웅. 1996. 개심장사상충증(canine heartworm disease). 대한수의사회지 32(8): 495-502.
- 이종훈, 심상원, 김희 등. 2003. 충남지역 집단 번식농장 사육견의 심장사상충 감염률 조사. 한가위지 26(1): 19-26.
- 장승익, 송운재, 하숙희 등. 2004. 대전지역 사육견의 심장사상충 감염실태 조사. 한가위지 27(2): 133-137.
- Adkins RB Jr, Dao AH. 1984. Pulmonary dirofilariasis: a diagnostic challenge. South Med J 77(3): 327-374.
- Cancrini G, Pietrobulli M, Frangipane di Redalbono AF, Tampieri MP, della Torre A. 1995. Development of *Dirofilaria* and *Setaria* nematodes in *Aedes albopictus*. Parasitologia 37: 141-145.
- Cifferi F. 1982. Human pulmonary dirofilariasis in the United States: A critical review. Am J Trop Med Hyg 31(2): 302-308.
- Jubb KVF, Kennedy PC, Palmer N. 1993. Pathology of domestic animal. 4ed 3: 68-71.
- Kim MK, Kim CK, Yeom BW, Park SH, Choi SY, Choi JS. 2002. The first human case of hepatic dirofilariasis. J Korean Med Sci 17: 686-690.
- Kim TK, Jo MH, Park MN, Jo EJ, Nam TS, Son SK, Heo JH. 2009. Prevalence of heartworm infection among dogs on breeding farms in southern Gyeongnam area. Korean J Vet Serv 32(4): 369-375.
- Koh BRD, Na HM, Jang MS, Kim JY, Park SD. 2007. Investigation of canine dirofilariasis and brucellosis in free roaming dogs from public animal shelters in Gwangju area. Korean J Vet Serv 30(1): 155-164.
- Lee JW, Eum SS, Park IG, Bea JJ, Joung DS. 2005. Prevalence of heartworms, scabies and demodicosis of pet dogs in Jeonju area. Korean J Vet Serv 28(1): 39-47.
- Lee KJ, Park GM, Yong TS. 2000. The first Korean case of human pulmonary dirofilariasis. Yonsei Med J 41: 285-288.
- Lee SE, Kim HC, Chong ST, Klein TA, Lee WJ. 2007. Molecular survey of *Dirofilaria immitis* and *Dirofilaria repens* by direct PCR for wild caught mosquitoes in the Republic of Korea. Vet Parasitol 148: 149-155.
- Lee SM, Hwang HS, Kim HJ. 1999. Studies of infection rate and histopathological findings of canine heartworms in Incheon city. Korean J Vet Serv 22(1): 25-35.
- Liu J, Song KH, Lee SE, Lee JY, Lee JI, Hayasaki M, You MJ, Kim DH. 2005. Serological and molecular survey of *Dirofilaria immitis* infection in stray cats in Gyeonggi Province, South Korea. Vet Parasitol. 130: 125-129.
- Monchy D, Levenes H, Guegan H. et al. 1993. Pulmonary dirofilariasis(French). Med Trop 53(3): 366-371.

- Mutaz H, Ozdemir A, Schaefer RC. 2004. Case of the month. A case report of human pulmonary dirofilariasis in Arkansas. J Ark Med Soc 100(7): 240-242.
- Park CE. 2010. Epidemiological survey on prevalence of *Dirofilaria immitis* infection in dogs of Ulsan area. Korean J Vet Serv 33(2): 157-165.
- Pampiglione S, Rivasi F. 2000. Human dirofilariasis due to *Dirofilaria (Nochtiella) repens*: an update of world literature from 1995 to 2000. Parasitologia 42: 231-254.
- Prescott CW. 1986. Diseases of dogs. The University of Sydney Post-Graduate Foundation in Veterinary Science 7: 52-54.
- Song KH, Lee SE, Hayasaki M, Shiramizu K, Kim DH, Cho KW. 2003. Seroprevalence of canine dirofilariosis in South Korea. Vet Parasitol 114: 231-236.
- Watt KJ, Courteny CH, Reddy GR. 1999. Development of a PCR and probe-based test for the sensitive and specific detection of the dog heartworm *Dirofilaria immitis*, in its mosquito intermediate host. Mol Cell Probes 13: 425-430.
- Yoshimura H, Yokogawa M. 1970. *Dirofilaria* causing infarct in human lung. Am J Trop Med Hyg 19(1): 63-67.