

HDU MODEL IDENTIFIKÁCIE RIZIKOVÝCH OBLASTÍ VÝSKYTU DIROFILÁRIOZY NA SLOVENSKU

EDUARD STLOUKAL, VIKTÓRIA ČABANOVÁ & VIERA STLOUKALOVÁ

Department of Zoology, Faculty of Natural Sciences, Comenius University,
Mlynská dolina B-1, SK – 842 15 Bratislava, Slovakia
[stloukal@fns.uniba.sk; viktor.cabanova33@gmail.com]

Abstract: Heartworm Development Units – HDU became a standard method for identification of the infection risk by larvae of *Dirofilaria* spp. Calculated as the access value of environmental temperature, HDU enables to analyse the date, when biting mosquitoes can transfer parasites into mammals. By analysis of available meteorological data, we found out potentially any settlement from lowlands to submontane regions is warm enough to enable the development of parasites and spreading of autochthonous infection. Analysis of few years data sets revealed that annually several generation of parasites can develop and path through life cycle. Automated calculation and chart producing tool for standard spreadsheet processor enables analysis of almost any set of meteorological data for local information on risk of dirofilariosis.

Key words: HDU, predictive model, dirofilariosis, dog hearth worm, Slovakia.

ÚVOD

Parazitické nematódy patria medzi najzávažnejšie parazity cicavcov a z nich je pre psy obzvlášť nebezpečná *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856), ktorá je označovaná aj ako „červ psieho srdca“ (dog-heartworm). Ďalším zástupcom tohto rodu je *D. repens* Railliet et Henry, 1911, ktorá najčastejšie spôsobuje podkožné ochorenia. V posledných dvoch desaťročiach sa v Európe začali intenzívne šíriť parazity z teplých južných oblastí na sever – či už v dôsledku klimatických zmien alebo zvýšeného cestovania do dovolenkových destinácií. Prenos parazitov na psy, mačky, voľne žijúce cicavce i človeka je podmienený niekoľkými dobre známymi epidemiologickými faktormi, z ktorých najvýznamnejší je teplota prostredia (environmentálne teplo).

Nevyhnutnosť venovať pozornosť druhom rodu *Dirofilaria* Railliet et Henry, 1911 a dirofilarióze aj u nás podčiarkujú zistené prípady infekcie

človeka (na Slovensku zatiaľ len prípady výskytu v oku a pod kožou).

Vývin lariev vo vektorovi je závislý od teploty. Experimentálnymi štúdiami na vektoroch bolo dokázané, že hraničnou teplotou pre vývin lariev – mikrofilárií je teplota 14 °C. Vďaka tomu bol zostavený model, pomocou ktorého vieme vypočítať možnosť úspešného dokončenia larválneho vývinu vo vektorovi a z toho vyplývajúce obdobie, keď hrozí riziko infekcie. Tento model je tvorený HDU jednotkami (heartworm development units), ktoré sú vypočítané pomocou vzorca: $x - 14\text{ °C} = y\text{ HDU}$, kde x predstavuje hodinovú teplotu a y výslednú hodnotu HDU pre danú hodinu (napr. aktuálne HDU pri nameranej teplote 20 °C je 6 HDU – na základe výpočtu $20\text{ °C} - 14\text{ °C} = 6\text{ HDU}$). Súčtom HDU hodnôt jednotlivých hodín tak vypočítame celkovú hodnotu HDU za celý mesiac (resp. časový interval 30 dní). Pre vývoj mikrofilárií vo vektorovi



STLOUKAL E, ČABANOVÁ V & STLOUKALOVÁ V, 2013: HDU model for identification of the risk regions on dirofilariosis occurrence in Slovakia. *Folia faunistica Slovaca*, 18 (3): 303–308.

[in Slovak, with English abstract]

Received 1 September 2013

~ Accepted 18 September 2013

~ Published 16 December 2013



potrebujeme dosiahnuť minimálnu hodnotu 130 HDU počas 30 dní.

Vývoj lariev *D. immitis* (do štádia L3) v komároch závisí od teploty okolitého prostredia a zastavuje sa pri teplote nižšej ako 14 °C (FORTIN & SLOCOMBE 1981; SLOCOMBE et al. 1989). Vplyv teploty na larválny vývin má tak kumulatívny účinok – a možno ho vypočítať pomocou tzv. stupňo-dní nad zlomovou teplotou. Vývinový model predpokladá dosiahnutie hodnoty 130 HDU (°C), počas ktorých v priebehu 30 dní prebehne celý vývinový cyklus dirofilárií (SLOCOMBE et al. 1989). Pomocou testovania v laboratórnych modeloch bola potvrdená presnosť výpočtov, vďaka ktorým je možné optimalizovať harmonogram preventívnych chemoprophylaktických opatrení a optimálne nastaviť harmonogram kontrol zvierat vystavených riziku infekcie (GENCHI et al. 2005). Laboratórne modely pochopiteľne nezohľadňujú mikroklimatické faktory a špecifiká prostredia, adaptácie vektorov a larválneho vývinu.

Mapovaniu šírenia parazitárnych ochorení sa venuje vysoká pozornosť (GENCHI et al. 2011) a v poslednom desaťročí sa na globálnej úrovni využívajú geoinformačné technológie (MORCHÓN et al. 2012, MORTARINO et al. 2008, RINALDI et al. 2006, 2013).

GENCHI et al. (2005, 2009, 2010) podrobili údaje z 1846 európskych meteorologických staníc testu na HDU a zistili, že dirofilárie sa potenciálne môžu vyvíjať v ktorejkoľvek európskej krajine, pričom dostatok environmentálneho tepla potrebného na vývoj zistili aj v severnej Škandinávií, na pobreží Botnického zálivu.

Prvý výskyt dirofilárií na území Slovenska bol zistený na psoch z oblasti Komárna už v roku

2005 (SVOBODOVÁ et al. 2005) a postupne sa stali bežným a takmer všadeprítomným parazitom (LECOVÁ & LETKOVÁ 2009, MITERPÁKOVÁ et al. 2009, 2010, 2012). Už v roku 2008 MITERPÁKOVÁ et al. (2008) zaznamenala endemický prípad dirofilariózy a zaznamenala obidva druhy (*D. repens* a *D. immitis*). V roku 2013 bola na Slovensku zistená infekcia dirofiláriami (dirofilarióza) aj v kunách (*Martes foina*) v oblasti Popradu, čo bol prvý zaznamenaný prípad autochtónnej infekcie v oblasti Vysokých Tatier (MITERPÁKOVÁ et al. 2013).

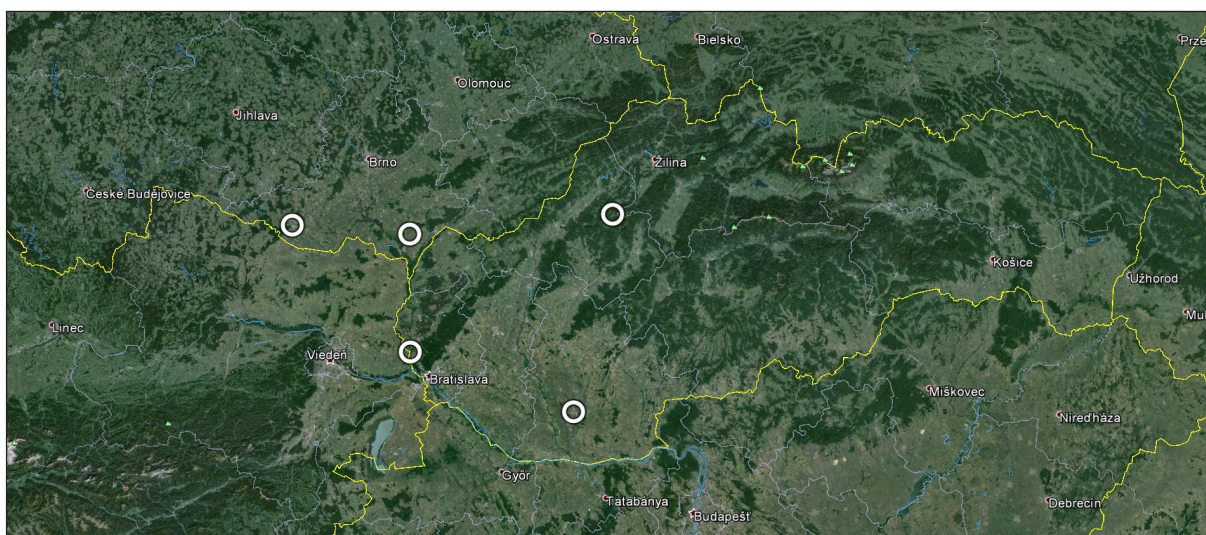
Subkutánnu infekcie človeka na Slovensku ako prví zaznamenali BABÁL et al. (2008) v oblasti, kde bolo v predošlých rokoch zaznamenaných 5 infekcií psov rovnakým druhom parazita. Ďalšie nálezy dirofilárií v človeku na území Slovenska zaznamenali ONDRISKA et al. (2010) a NOVÁKOVÁ et al. (2011).

MATERIÁL A METÓDY

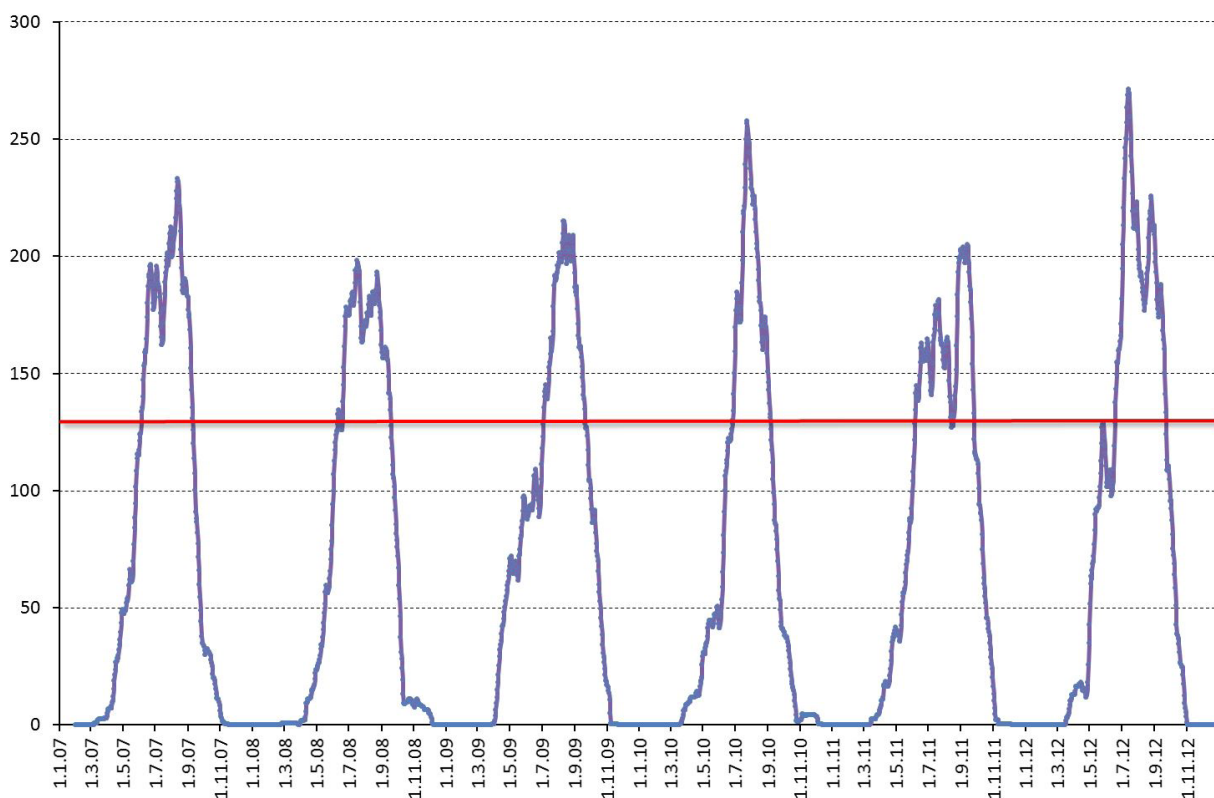
Meteorologické údaje (nameraná teplota vzduchu) pochádzajú od prevádzkovateľov piatich metostaníc na západnom Slovensku (Devínske Jazero, Nové Zámky a Zliechov) a Južnej Morave (Moravský Žižkov a Znojmo) v nadmorskej výške od 130 po 620 metrov. V prípade meteostaníc zaznamenávajúcich údaje vo frekvencii vyššej ako 1 hodina bola pre stanovenie HDU použitá minimálna nameraná teplota, aby nedošlo k nadhodnoteniu výsledného HDU.

Poskytnuté údaje zahŕňajú jedno- až päťročné obdobie s podrobnými hodnotami nameranej teploty.

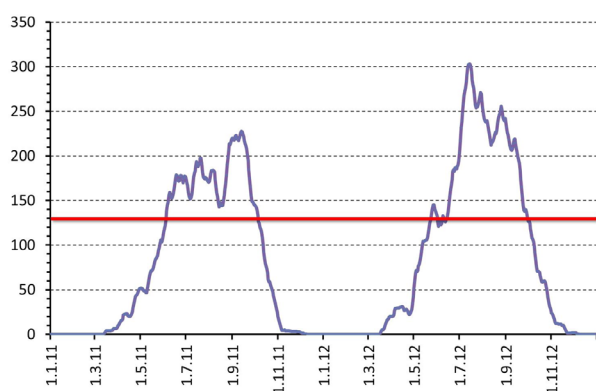
Model výpočtu HDU bol naprogramovaný pomocou štandardného softvéru Microsoft Excel 2013, umožňuje konverziu údajov z rôznych



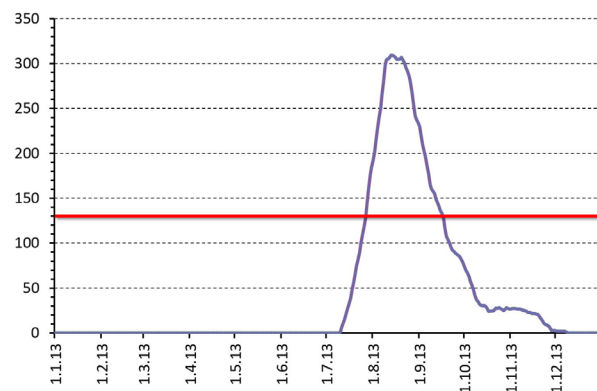
Obrázok 1. Mapa umiestnenia meteorologických staníc, ktorých dáta boli použité pre výpočet HDU.



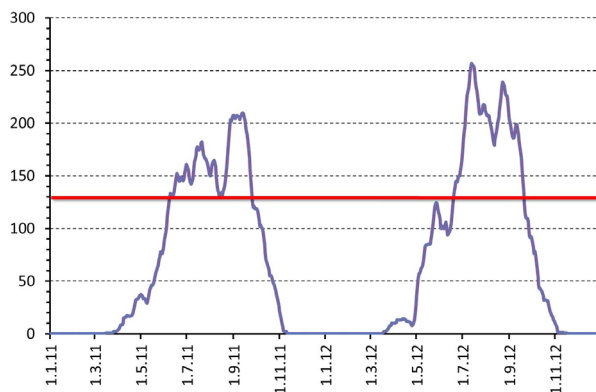
Obrázok 2. Vývoj päťročných hodnôt HDU (2007–2012) v oblasti južnej Moravy (meteorologická stanica Moravský Žižkov).



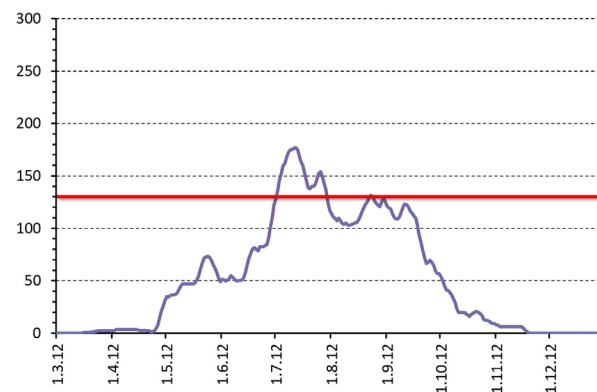
Obrázok 3. Dvojiročné hodnoty HDU – meteorologická stanica Nové Zámky, roky 2011–2012.



Obrázok 5. Ročný vývoj hodnôt HDU – meteorologická stanica Devínske Jazero, rok 2013.



Obrázok 4. Dvojiročné hodnoty HDU – meteorologická stanica Znojmo, roky 2011–2012.



Obrázok 6. Ročný vývoj hodnôt HDU – meteorologická stanica Zliechov, rok 2012.

vstupných formátov, filtrovanie dát (v prípade údajov zaznamenaných v intervale sekúnd alebo minút) a ich výslednú grafickú prezentáciu na časovej osi v rozpätí jedného až piatich rokov.

Model je voľne šíriteľný a dostupný na serveri časopisu *Folia faunistica Slovaca*, www.ffs.sk.

VÝSLEDKY

Zistené údaje ukazujú, že v nížinných a podhorských oblastiach Slovenska a Moravy je minimálne počas krátkeho obdobia možný vývoj parazitov a ich šírenie vektormi, pričom v teplých nížinných oblastiach je rizikovým celé letné obdobie, no úplný vývojový cyklus vo vektorovi môže prebehnúť od skorého jarného obdobia do neskorého jesene alebo zimy.

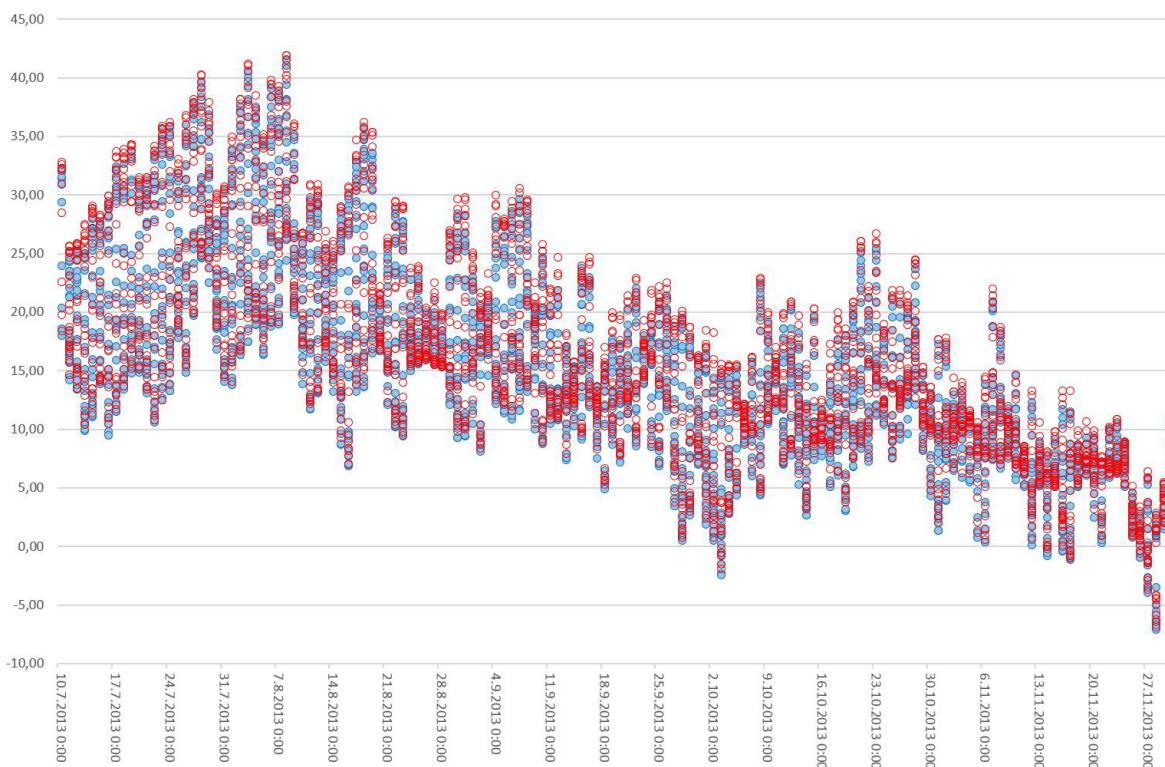
Údaje z južného Slovenska (Devínske Jazero, obrázok 5 a Nové Zámky, obrázok 3) vykazujú dlhodobé prekračovanie prahovej hodnoty HDU 130, pričom krátkodobá hodnota presiahla až úroveň 300. Prevádzka súkromnej meteorologickej stanice v Devínskom Jazere (Bratislava, katastrálna časť Záhorská Bystrica) začala 10. 7. 2013 a nameraná hodnota HDU dosiahla už po 17 dňoch kritickú hodnotu, pri ktorej je možný vývin a prenos dirofilariózy z vektorov na hostiteľov.

Takmer rovnako vysoké hodnoty a dlhé obdobie nad prahovou hodnotou bolo zistené na lokalitách z Južnej Moravy (Znojmo, obrázok 4 a Moravský Žižkov, obrázok 2).

Mierne nižšie hodnoty HDU a kratší časový úsek prekročenej prahovej hodnoty bol zistený v podhorskej oblasti severozápadného Slovenska (Zliechov, obrázok 6), avšak aj v tejto oblasti, ktorá sa nachádza v nadmorskej výške okolo 620 m, je na základe zistených údajov možný vývoj autochtónneho ochorenia a šírenie endemickej zoonózy.

DISKUSIA

Analýza celkového tepla prostredia (total environment heat) z dostupných meteorologických meraní z rôznych oblastí západného Slovenska a južnej Moravy vyjadrená v jednotkách HDU (heartworm development units podľa FORTIN & SLOCOMBE 1981 a SLOCOMBE et al. 1989), ktoré prekračujú zlomovú líniu pre rozvoj ochorenia ukazuje, že prakticky celé územie nížin a podhorských oblastí umožňuje rozvoj autochtónneho ochorenia a prenosu *Dirofilaria repens* a *D. immitis*, ako aj potenciálne ďalších introdukovaných druhov tohto rodu. Je pozoruhodné, že v teplých južných oblastiach Slovenska hodnota HDU dosahuje kritickú hodnotu 130 (SLOCOMBE



Obrázok 7. Oscilácia maximálnych a minimálnych hodinových hodnôt nameraných teplôt v meteorologickej stanici Devínske Jazero od júla do decembra 2013.

Čierne body – maximálna hodinová teplota; biele body – minimálna hodinová teplota.

et al. 1989 a LOK & KNIGHT 1998) už v máji, takže infikovanie cicavcov mikrofiláriami je možné už v relatívne ranej fáze sezóny a pretrváva aj do neskorých jesenných mesiacov – prakticky až do konca obdobia lietania komárov, keďže maximálna dĺžka života vektora je odhadovaná na 30 dní.

GENCHI et al. 2005 aplikovali model HDU na záznamy teploty zo 1846 meteorologických staníc z celej Európy z rozpätia 14 rokov a zistili, že teoretický areál rozšírenia dirofilárií v Európe v súčasnosti siaha až za polárny kruh.

Vytvorenie prediktívnej mapy výskytu autochtónneho ochorenia na základe teplotného režimu v oblasti Strednej Európy by pomohlo upozorniť majiteľov psov, mačiek, veterinárnych lekárov ale i humánnych lekárov na reálne riziko výskytu ochorenia v oblasti ich pôsobenia a na nutnosť preventívnych kontrol a pravidelnej chemoprophylaxie. Aplikácia výsledkov podrobnej analýzy územia pomocou HDU umožňuje správne načasovanie podávania profilaktických prípravkov proti vývoju mikrofilárií ako aj efektívne diagnostické testovanie dirofilariózy.

Počítačový model vytvorený v rámci tejto štúdie umožňuje zistiť hodnotu HDU ktorejkoľvek oblasti na báze hodinových meraní teploty a automaticky zaznamenávajúcích meteostaníc. Spracovanie údajov však odhalilo aj problém s prístupom k spoľahlivým meteorologickým údajom, keďže meteorologické merania od Slovenského hydrometeorologického ústavu ako aj od Českého hydrometeorologického ústavu nie sú verejne prístupné a poskytujú ich len za neúmerne vysoké poplatky. Formát a rozsah údajov, ktoré sú tieto inštitúcie financované z verejných prostriedkov (štátneho rozpočtu a projektov EÚ) ochotné poskytovať nekomerčne, nepostačujú na výpočet HDU (poskytujú len údaje z krátkočasového úseku alebo priemerné denné teploty) a sú tak nepoužiteľné na tento účel.

Na výpočet HDU tak boli použité údaje, ktoré bezplatne poskytli prevádzkovatelia neštátnych meteorologických staníc. Napriek tomu, že niektoré z amatérskych staníc nie sú kalibrované, údaje nimi namerané sú v plnej miere použiteľné a poskytujú spoľahlivú informáciu o vývoji HDU v oblasti ich umiestnenia.

Získanie údajov z väčšieho počtu meteostaníc v budúcnosti by umožnilo vytvoriť mapy ukazujúce miesta, kde aktuálna hodnota HDU prekročila hodnotu 130 a vytvoriť tak systém varovania pre majiteľov ohrozených zvierat i veterinárov, informovať epidemiológov a predpovedať počet generácií dirofilárií vyvíjajúcich sa v jednotlivých oblastiach, ako aj zobrazit' rizikové obdobie pre jednotlivé lokality a mikroregióny.

Aplikácia modelu indikácie HDU by mohla pomôcť aj pri rozhodovaní o správnom načasovaní postrekov proti komárom, aby sa predišlo šíreniu filárií.

Model vývoja HDU v skúmaných oblastiach ukázal, že vývoj dirofilárií je záležitosťou sezóny a najvyššie hodnoty dosahuje v letných mesiacoch, keď v niektorých oblastiach v priebehu júla a augusta hodnoty HDU prekročili hodnotu 300.

Namerané maximálne a minimálne hodinové hodnoty teploty v meteorologickej stanici Devínske Jazero zobrazené na obrázku 7 ukazujú dynamiku zmien teploty v priebehu jednotlivých dní a maximálne hodnoty blížiacie sa alebo presahujúce 40 °C indikujú, že rozvoj dirofilariózy v teplých oblastiach Slovenska je možný už skorých jarných mesiacoch alebo hneď začiatkom leta.

V súvislosti so súčasným trendom postupného nárastu teploty tak možno očakávať predĺžovanie intervalu, keď hodnota HDU bude prekračovať kritickú hodnotu 130 a infekcia filáriami sa bude šíriť do ďalších oblastí, kde sa v minulosti nevyskytovala (GENCHI et al. 2005; VEZZANI & CARBAJO 2006), čoho dôkazom je aj nedávne zistenie autochtónneho ochorenia v oblasti Vysokých Tatier (MITERPAKOVÁ et al. 2013).

POĎAKOVANIE

Ďakujeme za bezplatné poskytnutie meteorologických údajov potrebných na stanovenie HDU Tomášovi Litschmanovi a Martinovi Hruškovi. Štúdia bola uskutočnená vďaka podpore projektu „Centrum excelentnosti pre ochranu a využívanie krajiny a biodiverzitu“ (KRABIO, ITMS 26240120014) financovaného zo štrukturálnych fondov EU v rámci prioritnej osi 4 – Podpora výskumu a vývoja v Bratislavskom kraji, opatrenie 4.1 – Podpora sietí excelentných pracovísk výskumu a vývoja ako pilierov rozvoja regiónu v Bratislavskom kraji), výzva OPVaV-2008/4.1/01-SORO.

LITERATÚRA

- BABÁL P, KOBZOVÁ D, NOVÁK I, DUBINSKÝ P & JALILI N. 2008: First case of cutaneous human dirofilariosis in Slovak Republic. *Bratisl. Lek. Listy*, 109 (11): 486–488.
- BOCKOVÁ E, RUDOLF I, KOČIŠOVÁ A, BETÁŠOVÁ L, VENCÍKOVÁ K, MENDEL J & HUBÁLEK Z, 2013: *Dirofilaria repens* microfilariae in *Aedes vexans* mosquitoes in Slovakia. *Parasitol Res*, 112: 3465–3470. DOI 10.1007/s00436-013-3526-9
- DUSCHER G, FEILER A, WILLE-PIAZZAI W, BAKONYI T, LESCHNIK M, MITERPAKOVA M, KOLODZIEJEK J, NOWOTNY N & JOACHIM A, 2009: Detection of *Diro-*

- filaria in Austrian Dogs. *Berliner und Munchener Tierarztliche Wochenschrift*, 122: 199–203.
- FORTIN JF, SLOCOMBE JOD, 1981: Temperature requirements for the development of *Dirofilaria immitis* in *Aedes triseriatus* and *Ae. vexans*. *Mosq News*, 41: 625–633.
- GENCHI C, MORTARINO M, RINALDI L, CRINGOLI G, TRALDI G & GENCHI M, 2010: Changing climate and changing vector-borne disease distribution: The example of *Dirofilaria* in Europe. *Vet. Parasitol.*, 176: 295–299.
- GENCHI C, RINALDI L, CASCONI C, MORTARINO M & CRINGOLI G, 2005: Is heartworm disease really spreading in Europe? *Vet. Parasitol.*, 133: 137–148.
- GENCHI C, RINALDI L, MORTARINO M, GENCHI M & CRINGOLI G, 2009: Climate and *Dirofilaria* infection in Europe. *Vet. Parasitol.*, 163: 286–292.
- HRČKOVÁ G, KUČTOVÁ H, MITERPÁKOVÁ M, ONDRISKA F, CIBÍČEK J & KOVACS Š, 2013: Histological and molecular confirmation of the fourth human case caused by *Dirofilaria repens* in a new endemic region of Slovakia. *Journal of Helminthology*, 87: 85–90.
- IGLÓDYOVÁ A, MITERPÁKOVÁ M & BAKSIOVÁ M, 2012a: *Dirofilariosis* in Košice district. Preveda – Interaktívna konferencia mladých vedcov 2012 – Zborník Abstraktov. *Občianske združenie: Banská Bystrica*, 53 pp.
- IGLÓDYOVÁ A, MITERPÁKOVÁ M, HURNÍKOVÁ Z, ANTOLOVÁ D, DUBINSKÝ P & LETKOVÁ V, 2012b: Canine dirofilariosis under specific environmental conditions of the Eastern Slovak Lowland. *Ann Agric Environ. Med.*, 19: 57–60.
- JALILI N, KOBZOVÁ D, NOVÁK L, DUBINSKÝ P & BABÁL P 2007: The first case of human dirofilariosis in Slovakia. *Acta Tropica*, 5: 75–78.
- JALILI N, ONDRISKA F, NOVÁK I, MITERPÁKOVÁ M, DUBINSKÝ P, VALENTOVÁ D, BELADIČOVÁ V & BABÁL P, 2008: *Dirofilariózy v Slovenskej republike*. In: *Zoonózy – spoločná ochrana zdravia ľudí a zdravia zvierat. Bratislava*.
- LOK JB & KNIGHT DH, 1998: Laboratory verification of a seasonal heartworm transmission model. In: SEWARD RL (Ed.): *Proceedings of the Heartworm Advances in Heartworm Disease – Symposium '98*, pp. 15–20.
- MITERPÁKOVÁ M, ANTOLOVÁ D & DUBINSKÝ P, 2007: *Dirofilarióza – klinické príznaky, diagnostika, liečba a prevencia. InfoVet*, 2.
- MITERPÁKOVÁ M, ANTOLOVÁ D, HURNÍKOVÁ Z & DUBINSKÝ P, 2008: *Dirofilariosis* in Slovakia – a new endemic area in Central Europe. *Helminthologia*, 45: 20–23.
- MITERPÁKOVÁ M, ANTOLOVÁ D, HURNÍKOVÁ Z, DUBINSKÝ P, PAVLACKA A & NÉMETH J, 2010: *Dirofilaria* infections in working dogs in Slovakia. *Journal of Helminthology*, 84: 173–176.
- MITERPÁKOVÁ M, HURNÍKOVÁ Z, ANTOLOVÁ D & DUBINSKÝ P, 2009: Climate changes implicated for *Dirofilaria* dissemination in Slovakia. *Wiadomości Parazytologiczne*, 55: 429–431.
- MITERPÁKOVÁ M, HURNÍKOVÁ Z, ZALEŠŇY G & CHOVAŇOVÁ B, 2013: Molecular evidence for the presence of *Dirofilaria repens* in beech marten (*Martes foina*) from Slovakia. *Vet. Parasitol.*, 196 (3–4): 544–546. doi: 10.1016/j.vetpar.2013.02.028.
- MITERPÁKOVÁ M, IGLÓDYOVÁ A & HURNÍKOVÁ Z, 2012: Canine subcutaneous dirofilariosis – noteless and neglected (Difficulties in disease monitoring). *Helminthologia*, 49: 225–228.
- MORCHÓN R, CARRETÓN E, GONZÁLEZ-MIGUEL J & MELLADO-HERNÁNDEZ IM, 2012: Heartworm disease (*Dirofilaria immitis*) and their vectors in Europe – new distribution trends. *Front. Physio.*, 3: 196. doi: 10.3389/fphys.2012.00196
- MORTARINO M, VINCENZO MUSELLA V, COSTA V, GENCHI C, CRINGOLI G & RINALDI L, 2008: GIS modeling for canine dirofilariosis risk assessment in central Italy. *Geospatial Health*, 2 (2): 253–261.
- MUSELLA L, RINALDI G, MARZATICO S, PENNACCHIO P, PEPE M, MORTARINO L, DEL PRETE C, GENCHI G & CRINGOLI G, 2013: Mapping and modeling *Dirofilaria* infections in Europe. In: RINALDI L, MCCARROLL J & CRINGOLI G (Eds): *7th International Symposium on Geospatial Health, "Methods and Tools for Geospatial Health"*. Napoli, 5.–6. 9. 2013.
- NOVÁKOVÁ E, KINČEKOVÁ J, ADAMICOVÁ K, KOMPANÍKOVÁ J, ŠVIHROVÁ V, ŠIMEKOVÁ K, KRAUSE J, PAVLINOVÁ J, DVOROŽŇÁKOVÁ E, 2011: Human *Dirofilariosis*: The report of subcutaneous *Dirofilaria repens* infection in the Slovak Republic. *Helminthologia*, 48 (1): 13–16.
- ONDRISKA F, LENGYEL D, MITERPÁKOVÁ M, LENGYELOVÁ B, STREHÁROVÁ A & DUBINSKÝ P, 2010: Human dirofilariosis in the Slovak Republic – a case report. *Ann. Agric. Environ. Med.*, 17 (1): 169–171.
- RINALDI L, MUSELLA V, BIGGERI A & CRINGOLI G, 2006: New insights into the application of geographical information systems and remote sensing in veterinary parasitology. *Geospat. Health*, 1: 33–47.
- RINALDI L, MUSELLA V, MARZATICO G, MORTARINO M, CRINGOLI G & GENCHI C, 2013: Mapping and modeling *Dirofilaria* infections in Europe. *Tropical Medicine & International Health*, 18: 105.
- SLOCOMBE JOD, SURGEONER GA & SRIVASTAVA B, 1989: Determination of the heartworm transmission period and its use in diagnosis and control. In: OTTO GF (Ed.): *Proceedings of the Heartworm Symposium '89*: pp 19–26.
- SVOBODOVÁ V, SVOBODOVÁ Z, BELADIČOVÁ V, VALENTOVÁ D, 2005: First cases of canine dirofilariosis in Slovakia: a case report. *Vet. Med. – Czech.*, 50: 510–512.
- VEZZANI D & CARBAJO AE, 2006: Spatial and temporal transmission risk of *Dirofilaria immitis* in Argentina. *Int. J. Parasitol.*, 36: 1463–1472.