

SZENT ISTVÁN EGYETEM
ÁLLATORVOS-TUDOMÁNYI KAR
PARAZITOLÓGIAI ÉS ÁLLATTANI TANSZÉK

**A *Dirofilaria*-fajok hazai elterjedtsége és állatgyógyászati
jelentősége, a gyógykezelés tapasztalatai**

PhD értekezés

Készítette:
Dr. Jacsó Olga

2014

Szent István Egyetem
Állatorvos-tudományi Doktori Iskola

Témavezető: dr. Fok Éva tudományos főmunkatárs, PhD

Témabizottsági tagok: Dr. Rozgonyi Ferenc egyetemi tanár, MTA doktora

Dr. Szénási Zsuzsanna, PhD

Dr. Vörös Károly egyetemi tanár, MTA doktora

Készült 8 példányban. Ez a sz. példány.

.....
Dr. Jacsó Olga

Tartalomjegyzék

Tartalomjegyzék.....	3
Rövidítések jegyzéke	5
1. Összefoglalás.....	6
2. Bevezetés	8
3. Irodalmi áttekintés	10
3.1. A <i>Dirofilaria</i> -fajok biológiája.....	10
3.1.1. A <i>Dirofilaria repens</i> biológiája.....	11
3.1.2. A <i>Dirofilaria immitis</i> biológiája.....	14
3.2. A <i>Dirofilaria</i> -fajok vektorai	16
3.3. A <i>Dirofilaria</i> -fajok előfordulása	18
3.3.1. A <i>Dirofilaria repens</i> előfordulása	18
3.3.2. A <i>Dirofilaria immitis</i> előfordulása	20
3.3.3. Az <i>Acanthocheilonema reconditum</i> előfordulása	23
3.4. Klinikai vonatkozások.....	24
3.5. Közegészségügyi jelentőség.....	31
3.6. A dirofilariosisok diagnosztikája	35
3.6.1. Laboratóriumi módszerek a <i>Dirofilaria</i> -fertőzöttség megállapítására	35
3.6.2. Mikroszkópos vérvizsgálati módszerek mikrofilária kimutatására	36
3.6.3. Fajmeghatározásra szolgáló módszerek	37
3.6.4. Klinikai vizsgálatokon alapuló diagnosztikai módszerek	41
3.6.5. A dirofiláriák kimutatása a szúnyogokban.....	41
3.7. A dirofilariosisok gyógykezelése és megelőzése.....	43
3.7.1. A <i>D. immitis</i> okozta szívférgesség gyógykezelése	43
3.7.2. A <i>D. repens</i> okozta bőrférgesség gyógykezelése	46
3.7.3. A dirofilariosisok megelőzése	47
4. Anyag és módszer.....	49
4.1. A dirofilariosisok felmérése hazánkban	49
4.1.1. Országos felmérő vizsgálat	49
4.1.2. Laboratóriumi módszerek összehasonlítása.....	52
4.1.3. Vemhes szukák és kölykeik vérvizsgálata	53
4.1.4. Statisztikai elemzés.....	53
4.1.5. Szúnyoggyűjtés, szúnyoghatározás, DNS kimutatás.....	54
4.2. Klinikai vizsgálatok.....	56

4.2.1. Laboratóriumi vizsgálatok elemzése.....	56
4.2.2. A <i>D. repens</i> fertőzöttség és veseelváltozás közötti összefüggés vizsgálata ..	57
4.3. Terápiás vizsgálatok	58
4.3.1. Moxidectin (Advocate spot on)	58
4.3.2. Szelamektin (Stronghold spot on).....	60
5. Eredmények	62
5.1. A dirofilariosisok felmérése hazánkban	62
5.1.1. Országos felmérő vizsgálat	62
5.1.2. Görényben talált <i>D. immitis</i> morfológiai és molekuláris vizsgálata	65
5.1.3. Laboratóriumi módszerek összehasonlítása.....	66
5.1.4. Adatlapelemzés kutyák esetében	66
5.1.5. Vemhes szukák és kölykeik vérvizsgálata	77
5.1.6. Szúnyoggyűjtés, szúnyoghatározás, DNS kimutatás	77
5.2. Klinikai vizsgálatok.....	80
5.2.1. Laboratóriumi vizsgálatok elemzése.....	80
5.2.2. A <i>D. repens</i> fertőzöttség és veseelváltozás közötti összefüggés vizsgálata ..	81
5.3. Terápiás vizsgálatok	83
5.3.1. Moxidectin (Advocate spot on)	83
5.3.2. Szelamektin (Stronghold spot on).....	84
6. Megbeszélés	85
Konklúzió.....	98
7. Új tudományos eredmények	99
8. Irodalom	100
9. A doktori kutatás eredményeinek közlései	118
9.1. A témában megjelent tudományos közlemények	118
9.2. Egyéb tudományos közlemény	118
9.3. A témában tartott előadások, poszterek	119
10. Köszönetnyilvánítás.....	121
11. Mellékletek	123
11.1. Adatlap	123
11.2. Táblázatok	125
11.3. Ábrák és képek	137

Rövidítések jegyzéke

AHS	American Heartworm Society (Amerikai Szívféreg Társaság)
ALKP	alkalikus foszfatáz
ALT	alanin-aminotranszferáz
AST	aszpartát-aminotranszferáz
CK	kreatin-kináz
ELISA	enzymelinked immunosorbent assay
GGT	gamma-glutamil-transzferáz
HA	haemagglutinatio
IFA	immunofluorescence assay
L3	harmadik stádiumú fertőző lárva
LDH	laktát-dehidrogenáz
MCV	vörösvérsejt-térfogat
MCH	vörösvérsejt-hemoglobin
MCHC	vörösvérsejt hemoglobin koncentráció
mkfi	microfilaraemia / mikrofilarémia
mf	microfilaria / mikrofilária
ML	makrociklikus laktonok
PP	prepátens periódus
WSP	<i>Wolbachia</i> Surface Protein

1. Összefoglalás

A *Dirofilaria*-fajok gyakori féregélősködői a házi és a vadon élő állatoknak, különösen a ragadozóknak (Carnivora), elsősorban Európa földközi-tengeri országaiban, Amerikában, Ausztráliában, Ázsiában és Afrika jelentős részén. Az igazi szúnyogok (Culicidae) terjesztette Filarioidea főcsaládba, az Onchocercidae családba tartozó *Dirofilaria* (syn. *Noctiella*) *repens* /Railliet és Henry, 1911/ fonálféregnek nemcsak a végleges gazda ragadozóknak, így elsősorban kutyákban, macskákban, hanem az emberekben való egyre gyakoribb előfordulásáról számolnak be közleményekben. A *D. repens* indirekt fejlődésű parazita, a köztigazda szúnyogokban (pl.: *Aedes*-, *Culex*-, *Anopheles*-fajok) a vérszívással felvett mikrofiláriák fertőzővé válnak, majd az újabb vérszívás során a végleges gazdába szubkután beoltott fertőző harmadik stádiumú lárvákból kb. 8-9 hónap után fejlődnek ki az adult férgek. Az általa kialakított bőrférgesség az esetek nagy részében tünetmentes, de esetenként a féreg megtelepedésének helyén csomó, ritkábban bőrgyulladás alakulhat ki. A nagyobb állategészségügyi jelentőséggel bíró *Dirofilaria immitis* a kutyák szívférgességét okozza, mely akár elhulláshoz vezető, súlyos beszámítás alá eső parazitózis. Mindkét *Dirofilaria*-fajnak komoly zoonotikus jelentősége van. Magyarországon 1998-ban megállapították a *D. repens* autochton jelenlétét, de *D. immitis* fertőzöttséget kutatásaink megkezdéséig csak importált esetek kapcsán írtak le.

Vizsgálataink során célul tűztük ki a *Dirofilaria*-fajok hazai előfordulásának felmérését kutyák és macskák körében, ennek érdekében 2005 és 2009 között országos szintű szűrővizsgálatot végeztünk mikrofilária kimutatás céljából. Ennek során 3104 kutya és 78 macska vérmintáját gyűjtöttük össze, továbbá 2260 eb tulajdonos kérésünkre adatlapot is kitöltött. Módosított Knott-féle módszerrel átlagosan 18,1%-os (0-46,7%) *D. repens* előfordulási arányt mutattunk ki kutyáknál, míg a vizsgált macskák 3,8% (3 egyed) bizonyult mikrofilariásnak. A vérminták egy részéből PCR vizsgálatokat is végeztünk. 2007-ben egyetlen esetben sikerült *D. immitis* jelenlétét kimutatni, ezzel bizonyítottuk a szívférgesség magyarországi autochton jelenlétét kutyák esetében. Vizsgálataink idején egy görényben talált nematoda identifikálásával megállapítottuk az első autochton görény *D. immitis* fertőzöttséget is. Az adatlapok válaszainak statisztikai elemzésével arra a következtetésre jutottunk, hogy a bőrférgesség gyakrabban jelentkezik hím ivarú, idősebb életkorú, szabadban tartott, parazita ellenes kezelésben nem részesült kutyáknál. Felmérésünk idején 3 helyen végeztünk szúnyogcsapdázást, melynek során gyűjtött szúnyogok faji besorolása után, 217 nőstény példányból pool mintákat alkotva *D. repens* fajspecifikus PCR vizsgálatot futtatunk le. Ennek

eredményeként bebizonyítottuk, hogy hazai körülmények között az *A. maculipennis*, az *Ae. vexans* és a *C. pipiens* vektorszerepet tölt be a *D. repens* esetében.

Annak érdekében, hogy többet tudjunk meg a bőrférgesség klinikai vonatkozásairól, melyről a szakirodalomban csak kevés adat található, 457 kutya vérparamétereit (hematológia és biokémiai paraméterek) elemeztük, melyek közül 57 volt mikrofilariémiás. Eredményül azt kaptuk, hogy a *D. repens*szel fertőzött ebek körében szignifikánsan magasabb a karbamid szint, nem számottevő mértékben, de emelkedett az ALT, ALKP és CK enzimek szintje, valamint thrombocytopeniát, neutrophiliát és eosinophiliát tapasztaltunk. Ezekből az eredményekből, és a szakirodalomban a szívférges kutyáknál leírt veseelváltozás figyelembe vételével további vizsgálatokat végeztünk, melynek során két, *D. repens* fertőzöttségen kívül mással nem magyarázható esetben találtunk súlyos veseelfajulást.

Mivel a bőrférgesség terápiája kevésbé tanulmányozott terület a szívférgességhez viszonyítva, és sem hazánkban, sem külföldön nem állt rendelkezésre semmilyen engedélyezett készítmény bőrférges kutyák gyógykezelésére illetve a keringő mikrofilariák számának csökkentésére, két gyógyszerhatékonysági vizsgálatot végeztünk. Egyik esetben a moxidektin tartalmú Advocate® spot on (2,5% moxidektin és 10% imidakloprid) havonkénti hosszú távú alkalmazásával sikerült 64 kutya bevonásával kiirtani a keringő mikrofilariákat, valamint feltételezhetően elpusztítani a kifejlett férgeket. Másik vizsgálatunk során szelamektin hatóanyagú (Stronghold® spot on) készítmény hosszú távú használatával 23 eb esetében csökkent a mikrofilariémi mértéke a fertőzött egyedek körében.

Vizsgálatainkkal igyekeztünk alaposan tanulmányozni a dirofilariosis hazai helyzetét és jelentőségét, és átfogó ismereteket gyűjtöttünk a dirofilariák magyarországi előfordulásáról, klinikai vonatkozásairól, valamint az ellenük alkalmazható gyógyszerkészítmények használatáról.

2. Bevezetés

A *Dirofilaria*-fajok gyakori féregélősködői a házi és a vadon élő állatoknak, különösen a ragadozóknak (Carnivora), elsősorban Európa földközi-tengeri országaiban, az Egyesült Államokban, Ausztráliában, Japánban (Kassai, 2011). Az igazi szúnyogok (Culicidae) terjesztette *Dirofilaria* (syn. *Noctiella*) *repens* /Railliet és Henry, 1911/ fonálféregnek nemcsak a végleges gazda ragadozóknak, így elsősorban kutyákban, macskákban (Baneth és mtsai., 2002; Tarello, 2011; Mazurkevich és mtsai., 2004; Genchi és mtsai., 2005), hanem az emberekben való egyre gyakoribb előfordulásáról számolnak be közleményekben (Pampiglione és mtsai., 1995; Pampiglione és mtsai., 1999; Muró és mtsai., 1999; Kartashev és mtsai., 2011; Simón és mtsai., 2012). A *D. repens* indirekt fejlődésű parazita, a köztigazda szúnyogokban a vérszívással felvett mf-k fertőzővé válnak, majd az újabb vérszívás során a végleges gazdába szubkután beoltott L3-kból kb. 8-9 hónap után fejlődnek ki az adult férgek. Gyakran a férgek megtelepedése helyén a bőr nem mutat elváltozást, azonban pruritus előfordulhat (Tarello, 2011). A kifejlett férgek több éven keresztül életben maradhatnak, és ezen idő alatt a bőr alatti szövetekben vándorolhatnak. Az ivarérett nőstény férgek a perifériás vérbe és a nyirokkeringésbe ürítik a mf-kat, amelyek akár évekig is perzisztálhatnak a végleges gazdában (Genchi és mtsai., 2007). Ismert, hogy a mediterrán terület (Spanyolország, Franciaország, Olaszország, Görögország, Törökország), valamint Európa keleti országai többségében nem ritka a *D. repens* előfordulása a kutyákban (Mazurkievich és mtsai., 2004; Genchi és mtsai., 2005; Simón és mtsai., 2012). Az utóbbi tíz évben egyre gyakrabban írják le ennek az ún. filarioida féregnek a jelenlétét olyan országokban is, ahol korábban nem állapították meg, illetve az első leírás után évtizedek múlva jelent meg hír újabb *D. repens* kutyában való kimutatásáról (Genchi és mtsai., 2005; Dobesova és Svobodova, 2009; Duscher és mtsai., 2009; Pantchev és mtsai., 2009; Simón és mtsai., 2012). Ennek több magyarázata lehet, így az okok között szerepelhet az éghajlat globális változása, a fertőzött köztigazda szúnyogok terjedése, a kutyákkal való különféle országokba való gyakoribb utazgatás, a turizmus ugrásszerű növekedése, a fertőzöttség fel nem ismerése. A *D. repens* kozmopolita parazitája a kutyának, nem kifejezetten gazda-specifikus, azaz leírták már a bőr dirofilariosist macskában, rókában, és más emlősökben is (Kassai, 2011; Magi és mtsai., 2008; Hurníková és mtsai., 2012). A végleges gazdában ritkán okoznak komolyabb tüneteket, viszont emberekben az esetek többségében a tünetek kifejezettebbek lehetnek, attól függően, hogy milyen testtájon jelentkeznek (Muró és mtsai., 1999; Pampiglione és mtsai., 1999). A *D. repens* emberben, mint akcidentális megtelepedő általában szöveti elváltozásokat okoz, azaz a bőr alatti, ill. más kötőszövetben is

borsónyi-mogyorónyi daganatszerű képletekben fordul elő. A férgek leggyakrabban az archoz, a szemhez vándorolnak, de a test bármely részén okozhatnak csomókat, továbbá visceralis (pl. tüdő, *ligamentum gastrosplenicum*), lágyéki (pl. scrotum) előfordulását is leírták (Pampiglione és mtsai., 1995; 1999).

Magyarországon a *D. repens* jelenlétéről először emberi esetek bemutatásával Kotlán Sándor akadémikus számolt be (1951). A kifejlett férgek hazai kutyákban történt első megállapítása (Fok és mtsai., 1998; Széll és mtsai., 1999) óta a kisállatpraxisban dolgozó állatorvosok szakmai fórumain egyre többször téma a dirofilariosis. Nemcsak azért, mert a rutin vérvizsgálatok során egyre gyakoribb a *D. repens* mf-k kimutatása, hanem különféle műtétek elvégzésekor szintén mellékletként talált férgek száma szaporodik. A tervezett kutatások célja a gyakoribb végleges gazda kutya (és macska) fertőzöttségének a feltérképezése, továbbá a hazai vektorok járványtani szerepének és az emberre való terjedési lehetőségeknek a tanulmányozása a hatékony védekezés elérése érdekében.

1. Országos szintű epidemiológiai vizsgálatunkkal igen fontosnak tartjuk megismerni a különféle földrajzi és tartási körülmények között lévő hazai végleges gazda ragadozóknak, elsősorban kutyában és macskában a *D. repens* gyakoriságát és a vektorszűnyogok fertőzöttségét, illetve kideríteni, hogy a nagyobb állategészségügyi jelentőséggel bíró *D. immitis* (AHS, 2013) jelen van-e hazánkban autochton módon. Tanulmányozni kívánjuk azt, hogy a diagnosztizálás segítségét szolgáló vérvizsgálatok mennyire megbízhatók a mf-k kimutatására.

2. További célunk a bőr-dirofilariosis klinikai hátterének a vizsgálata is kutyákban (és macskákban). Kevés közlemény foglalkozik a *D. repens* patogén hatásával, a fertőzöttséggel együtt járó bőrtünetekkel (Tarello, 2002a; Tarello, 2002b) valamint egyéb elváltozásokkal (Kamalu és mtsai., 1991; Schwan és mtsai., 2000).

3. Ezen túlmenően pedig gyógyszerhatékonysági vizsgálatot végzünk annak érdekében, hogy megfelelő, hazánkban is engedélyezett készítményt találjunk kutyák bőrférgességének kezelésére, illetve a mkfi mértékének csökkentésére. Ez utóbbi nagyon fontos annak érdekében, hogy kisebb legyen az emberi fertőzések kialakulását elősegítő dirofiláriás kutyák alkotta rezervoár bázis.

3. Irodalmi áttekintés

3.1. *Dirofilaria*-fajok biológiája

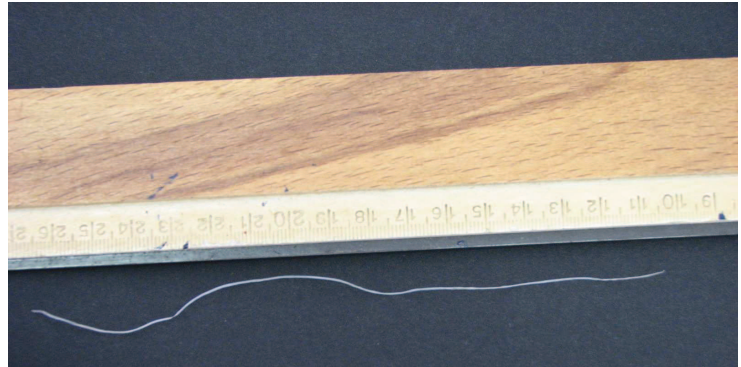
A dirofiláriák rendszertanilag a Nematoda törzsbe, Spirurida rendbe, Filarioidea főcsaládba, Onchocercidae családba, *Dirofilaria* nembe tartozó, vékony, fehér színű, parazitikus életmódot folytató fonálféreg (Kassai, 2011). A *Dirofilaria* nem két alnemre különül el, egyik a *Dirofilaria* alnem, ahova a *Dirofilaria immitis* tartozik, a másik a *Nochtiella* alnem, ahova a *Dirofilaria repens*. A *D. repens* és a *D. immitis* féregfajokon kívül a Filarioidea főcsaládba tartozó néhány egyéb nematodának is differenciál diagnosztikai jelentősége lehet, bár hazai előfordulásukról jelenleg nincs elérhető adat a szakirodalomban. A filarioidák közös tulajdonsága, hogy fejlődésükhöz köztigazdát igényelnek, melyek különböző arthropoda fajokból kerülnek ki, továbbá, hogy a végleges gazda szervezetében, jelen esetben kutyákban és más ragadozó állatokban az ivarérett nőstény féreg mf-kat termel (Kassai, 2011; Manfredi és mtsai., 2001; McCall és mtsai., 2008). Az **1. táblázat**ban összefoglalom a kutatásom szempontjából fontosabb filarioida férgek jellemzőit.

1. táblázat: Filarioidea fajok jellemzői (McCall és mtsai., 2008)

Filarioidea-fajok	Vektor	Prepatens periódus	Adult féreg méret (♀)	Lokalizáció
<i>Dirofilaria immitis</i>	Culicidae	120-180 nap	25-30 cm	Szív, szívhez térő nagyerek
<i>Dirofilaria repens</i>	Culicidae	189-259 nap	10-17 cm	Bőr alatti kötőszövet
<i>Acanthocheilonema (Dipetalonema) reconditum</i>	Bolhák, tetvek, kullancsok	427-476 nap	21-25 mm	Bőr alatti kötőszövet
<i>Acanthocheilonema (Dipetalonema) dracunculoides</i>	Bolhák, kullancsok	?	33-55 mm	Hasüreg

3.1.1. *Dirofilaria repens* biológiája

A *Nochtiella* alnembe tartozó *D. repens* kutikuláján markáns hosszanti és vékony haránt redők futnak a test egész felületén (3. kép, melléklet 1. kép). A kifejlett hím 50-70 mm hosszú, és 0,37-0,45 mm vastagságú. Farki vége tompa, enyhén a hasi oldal felé hajlik, amelyen két laterális redő,



1. kép: kifejlett *D. repens* nőtény (saját felvétel)

valamint jellegzetes papillák láthatók (2. kép). Spiculumai egyenlőtlenek, nagyfokú aszimmetriát mutatnak, a hosszabbik 0,43 mm hosszú és hegyes végben végződik, míg a rövidebbik 0,175 mm, erősen kitinizált, tompa hegyben végződik. A kifejlett nőtény 100-170 mm hosszú, és 0,46-0,65 mm vastagságú (1. kép). Feji vége lekerekedett (melléklet 2. kép), ivarnyílása (vulva) a feji végtől 1,84-1,92 mm-re található, és egy keskeny ajakszerű képlet veszi körül. Ovovivipara féreg, azaz az ivarérett nőtény 300-370 μm hosszú, 6-8 μm széles, burok nélküli, embriókat (ún. mikrofiláriákat, mf) termel, amelyek a gazdaszervezet perifériás vér- és nyirokkeringésébe kerülnek, mikrofilariémiát (mkfi) okozva (Manfredi és mtsai., 2007).



2. kép: *D. repens* hím farki vége (forrás: internet)

Számos tényező gyakorol befolyást arra, hogy a mf-k megjelennek-e a gazdaállat perifériás vérkeringésében. Kísérletes körülmények között kimutatták, hogy a vérben keringő mf-k száma napszakos és éves periodicitást is mutat (Webber és Hawking, 1955), bár az előbbi állítással bizonyos szerzők nem értenek

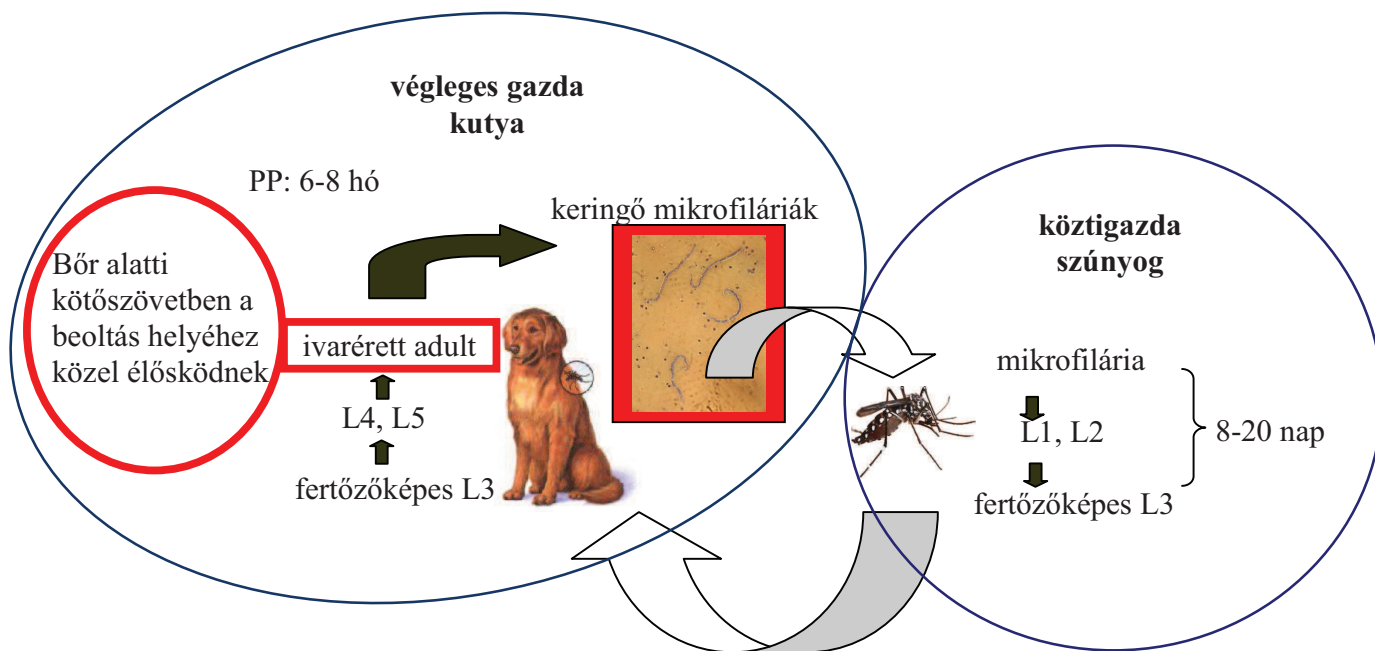


3. kép: *D. repens* nőtény átmetszeti képe (saját felvétel)

egyed (Manfredi és mtsai., 2007). A mf-k jelenléte többek között függ a gazdaszervezet immunválaszától, valamint az esetleges korábbi gyógyszeres kezeléstől (Rawlings, 1986). Szintén nincs mf a vérben, ha csak egy hím adult féreg található az állatban, vagy ha a jelen lévő nőtény féreg még nem ivarérett (AHS, 2005).

Mindenestre a tapasztalatok azt mutatják, hogy a perifériás vérben lévő mf-k koncentrációja a késő esti órákban éri el a csúcspontot, ezzel szemben a délelőtti folyamán számottevően kevesebb mf kering a perifériás erekben (Webber és Hawking, 1955). Ez a jelenség a parazita evolúciós adaptálódásának egy olyan formája, amely révén képes alkalmazkodni a vektorként nélkülözhetetlen szerepet játszó szúnyogok aktivitásának idejéhez (cirkadián ritmusához), megnövelve ezzel a fertőzés valószínűségét.

A *D. repens* indirekt fejlődésű parazita, azaz a fertőző harmadik stádiumú lárva (L3) kifejlődéséhez köztigazda szúnyogok, így például *Culex*-, *Aedes*- és *Anopheles*-fajok szükségesek (Cancrini és Gabrielli, 2007; Pampiglione és mtsai., 2000). A vektorba a vérszívás során jutnak be a mf-k, amelyek a szúnyog Malpighi csöveiben 8-20 nap alatt alakulnak át L3-má (Webber és Hawking 1955; Genchi és mtsai., 2009a). Azt, hogy mennyi idő alatt fejlődik ki a szúnyog szervezetében az L3, elsősorban a környezeti hőmérséklet határozza meg. Körülbelül 14°C az a hőmérsékleti küszöbérték, amely alatt a fejlődési folyamat nem megy végbe (Genchi, 2006; Simón és mtsai., 2012), 22°C-on 16-20 nap, 26 °C-on 10-11 nap míg 28-30°C-on csak 8-10 nap szükséges a fertőzőképes stádium kialakulásához (Webber és Hawking 1955; Genchi és mtsai., 2009a; Simón és mtsai., 2012). Az L3 alakok a köztigazda újabb vérszívása során jutnak a végleges gazdába. A beoltott lárvák a bőr alatti kötőszövetben vándorolnak, a beoltás helyétől azonban nem távolodnak el számottevő mértékben. A negyedik stádiumú lárvává való vedlés 1-15 napon belül megtörténik, majd további 3-70 nap elteltével kifejlődik az ötödik stádiumú lárva. Ezt követi az ivarézési periódus, amely mintegy 70-150 napot vesz igénybe (Manfredi és mtsai., 2007). A kifejlett féreg a bőr alatti kötőszövetben, izompólyák mentén helyezkedik el a gazdaszervezetben (**melléklet 3. kép**). A prepatens periódus (PP) (a gazda fertőződésétől az ivari produktumok – lárvák – ürítésének kezdetéig tartó időszak) összesen 6-8 hónap, vagyis a fertőzéstől számítva ennyi időnek kell eltelnie ahhoz, hogy a gazdaszervezetben az immár ivarérett nőtények megkezdjék a mf-k ürítését (**1. ábra, 2. táblázat**). A *D. repens* élettartama hosszú, több mint 2-3 év, a mf-k pedig 26-68 napig is perzisztálhatnak az adott gazda szervezetében (Webber és Hawking, 1955).



1. ábra: *D. repens* fejlődésmenete

2. táblázat: A *D. repens* fejlődése a kutyában

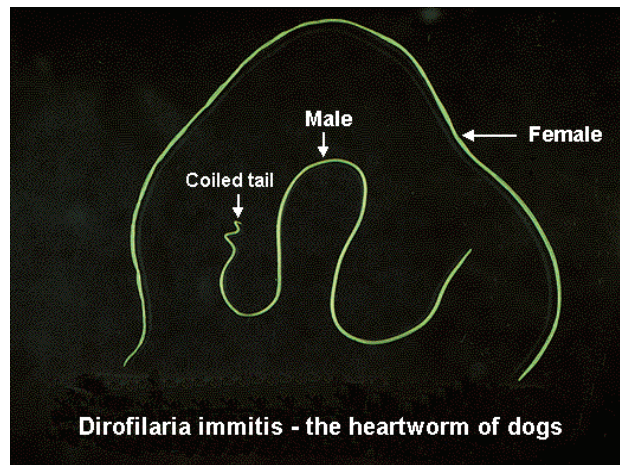
(Manfredi és mtsai., 2007; Webber és Hawking, 1955)

Napok a gazdában	Fejlődési alak	Hosszúság (cm)	Lokalizáció
1-15	L3	1	bőr alatti kötőszövet
3-70	L4	1	nincs adat
70-150	L5	nincs adat	nincs adat
180-240	ivarérett nőstény	nincs adat	bőr alatti kötőszövet / izompólya
26-68	mikrofilária	0,035	vér

Bár a kutyafélék családjába tartozó fajok számítanak a *D. repens* valódi végleges gazdáinak, de egyéb ragadozó állatokat, sőt az embert is képes megfertőzni szúnyogcsípés útján. Hazánkban is vannak adatok *D. repens*szel fertőzött rókák előfordulásáról (saját adat), bár széleskörű felmérés során még nem találtak fertőzött populációt (Sréter és mtsai., 2003). Ennek fontosságát leginkább az adja, hogy a mkfi-s rókaállomány rezervoár bázist jelent a szúnyogok számára, ahonnan átolthatják a parazitát kutyákba vagy akár emberbe is (Simón és mtsai., 2012).

3.1.2. *Dirofilaria immitis* biológiája

A *D. immitis* más néven szívféreg adultok hosszú, fehér színű férgek, melyek a szívhez térő nagy erekben és a jobb szívfélben élősködnek, az általuk kialakított parazitózist szívférgességnek nevezzük. A kifejlett *D. immitis* fonálféregnek lényegesen nagyobb méretet érnek el, mint a *D. repens* egyedei. Az adult nőtény 250-310 mm hosszú és 1-1,3 mm vastagságú. Szájnyílásuk terminálisan helyeződik, ajkak és mélyedések nélkül nyílik az oesophagus. A szájnyílás körül hat kicsi medián papilla és 2 laterális papilla található. A nőtény féreg farki vége tompa hegyben végződik, anus nyílása subterminalis elhelyezkedésű, a vulva nyílás pedig az oesophagus és a bél átmenet utáni területen található. A hím egyedek itt is jelentősen kisebbek, csak 120-200 mm hosszúak és 0,7-0,9 mm vastagságúak. Farki végük jellegzetesen spirálisan csavarodik (4. kép, melléklet 4. kép), rajta két keskeny laterális lebeny található. A kloáka 0,13 mm távolságra nyílik a farkivég csúcsától. A féreg ventrális oldalán pre-, per- és postanálisan helyeződő papillák figyelhetők meg.



4. kép: *D. immitis* adult nőtény és hím
(forrás: internet)

Egyenlőtlen spiculumai vannak, a bal oldali 300-375 μm , míg a jobb oldali 175-299 μm hosszúságú. Kutikulájuk felszíne sima és merev, csak a hímek farki végének ventrális oldalán mutat finom barázdáltságot, a *D. repens*nél megtalálható markáns mélyedések és kidomborodások hiányoznak. A *D. immitis* vérplazmával táplálkozik, és hónapokig-évekig életképes a gazda szervezetében. Ovovivipara féregként a *D. repens*hez hasonlóan burok nélküli mf-kat bocsát a véráramba, melyek azonban kisebb méretűek 290-330 μm hosszúak és 5-7 μm szélességűek (Manfredi és mtsai., 2007.).

A *D. immitis* fejlődésmenete nagymértékben hasonlít a *D. repens*ére, leszámítva azt a lényeges különbséget, hogy az L3-k a gazdaszervezetbe való beoltásukat követően viszonylag nagy távolságokra vándorolnak. A szúnyogcsípés során a vektor szájszervéből a bőr felszínére, majd a csípés helyén keletkezett folytonossági hiányon keresztül a bőr alá kerülő L3-k néhány napig még a környező kötőszövetben találhatóak, de a 21. napra, a caudalisan helyeződő szúnyogcsípés esetén már elérik a hasi, illetve a cranialis irányból pedig a mellkasi szöveteket. Vándorlásuk során az L3, L4 stádiumok jellemzően az izomrostok között helyezkednek el, és

haladnak a mellkasi erek felé. Az L3-ból L4 stádiummá válás 3-12 napot vesz igénybe, majd a következő vedlés átlagosan az 50-70. napon történik. A juvenilis férgek a beoltást követő 120. napra a mellüregben vándorolva, illetve a vénás keringéssel elérik a jobb szívfelet és az ide térő nagy ereket, ahol végül megtelepsznek. Itt érik el végleges nagyságukat, majd itt válnak ivaréretté, itt történik a párosodás, és végül 6-9 hónapos PP-t követően – a nőtény férgek megkezdik a mf-k ürítését (**3. táblázat**). (AHS, 2013; Manfredi és mtsai., 2007.)

3. táblázat: A *D. immitis* fejlődése a kutyában (Manfredi és mtsai., 2007)

Napok a gazdában	Fejlődési alak	Hosszúság (cm)	Lokalizáció
1-15	L3	1,5	bőr alatti kötőszövet
3-80	L4	3-7	bőr alatti kötőszövet / izomszövet
70-150	L4-L5	4-13	izomszövet / bőr alatti kötőszövet
100-160	L5	4-20	mellüreg / hasüreg / tüdőerek / jobb szívfél
150-270	ivarérett nőtény	25-30	tüdőerek / jobb szívfél
60-540	mikrofilária	0,030	vér

A *D. immitis* gazdaspektruma hasonló a *D. repens*éhez, de ebben az esetben is a kutyaféléken kívüli egyéb ragadozó fajok, mint a macska vagy a vadászgörény abnormális végleges gazdának tekinthető (McCall, 1998). Ez utóbbi gazdafajoknál a fogékonyság illetve a spontán gyógyulási hajlam különbözik. Mesterséges fertőzések során a bőr alá bejuttatott L3-k és a belőlük kifejlődő szívférgesek arányát vizsgálták. Vagyis számokban meghatározták a fertőzöttségi arányt (infection rate), ahol a mesterségesen megfertőzött állatok valahány %-ában fejlődött ki adult féreg, valamint a gyógyulási arányt (worm recovery %), ahol a 100 beoltott L3-ból valahány % fejlődött adult féreggé. Ezeket az eredményeket foglalja össze a **4. táblázat** összehasonlítva a kutya, a macska és a vadászgörény szívférgességét (McCall, 1998).

4. táblázat: Gazdafajok szerinti fertőzöttségi arány és gyógyulási arány (McCall, 1998 nyomán)

Gazdafaj	Mkfi mérték / időtartam	Fertőzöttségi arány %	Gyógyulási arány %
Kutya	nagy / hosszán	100	56
Macska	kis / átmeneti	56-90	6
Vadászgörény	kis / átmeneti	100	34-54

3.2. A *Dirofilaria*-fajok vektorai

A *Dirofilaria*-fajok fejlődéséhez köztigazda szükséges, mely szerepet különböző csípőszúnyog (Culicidae) fajok tölthetik be. Az *Aedes*-, *Anopheles*-, *Culex*-, *Mansonoides*-, *Armigeres*-, *Psorophora*-nembe tartozó szúnyogok közül sok faj szóba jöhet potenciális vektorként az eddigi vizsgálatok szerint, mégis csupán néhánynak van komoly szerepe a dirofilariosis terjesztése szempontjából (Manfredi és mtsai., 2007). Ennek több oka is van, egyik fontos tényező a szúnyog aktivitási ideje és táplálkozási szokása, mely meghatározza, hogy milyen gazdaállatot preferál, vagyis csak azok a fajok jönnek szóba, melyek rendszeresen nagyobb emlősökből (kutyából, macskából, emberből), egymás után többször szívnak vért. További ok lehet, hogy az adott szúnyogfaj mennyire tudja blokkolni bizonyos mechanizmusokkal a féreg fejlődését, illetve méreténél fogva mennyire károsodik a parazita jelenlététől (Cancrini és Gabrielli, 2007).

A két *Dirofilaria*-faj esetében szóba jöhető vektorok részben azonosak, részben eltérnek egymástól, valamint földrajzi régióként is változik a lehetséges szúnyog köztigazda fajok előfordulása (Cancrini és Gabrielli, 2007).

D. repens esetében a legfontosabb vektorok a következők: *Aedes albopictus*, *Culex pipiens*, *Anopheles maculipennis*, *Ae. aegypti*, *Mansonia uniformis*, *M. annulifera*, *Armigeres obturans* (Cancrini és Gabrielli, 2007; Simon és mtsai., 2012). Ezen kívül még egyéb fajokat is említ a szakirodalom, vagy mesterséges fertőzés vagy a szúnyogban talált féreg DNS alapján, ezek a következők: *A. claviger*, *A. pseudopictus*, *A. superpictus*, *A. bradley*, *A. quadrimaculatus*, *A. stephensi*, *Ae. vexans*, *Ae. canadensis*, *Ae. cantator*, *Ae. caspius*, *Ae. crucians*, *Ae. pambaensis*, *Ae. sierrensis*, *Ae. sollicitans*, *Ae. sticticus*, *Ae. taeniorhynchus*, *Ae. triseriatus*, *Ae. trivittatus*, *C. nigripalpis*, *C. quinquefasciatus* (Cancrini és Gabrielli, 2007; Kuzmin és mtsai., 2005; Webber és Hawking, 1955).

D. immitis esetében a következő szúnyogfajoknak bizonyított a vektor szerepe: *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus*, *Ae. caspius*, *Ae. crucians*, *Ae. notoscriptus*, *Ae. ochlerotatus*, *Ae. punctipennis*, *Ae. punctor*, *Ae. scapularis*, *Ae. sierrensis*, *Ae. taeniorhynchus*, *Ae. triseriatus*, *Ae. vexans*, *A. maculipennis*, *C. incidens*, *C. annulirostris*, *C. pipiens*, *C. quinquefasciatus*, *C. theileri*, *C. Richiardii*, *Armigeres subalbus* (Cancrini és Gabrielli, 2007; Simon és mtsai., 2012).

Jelenleg hazánkban 49 csípőszúnyog faj előfordulásáról tudunk, ezek közül az irodalmi adatok alapján a *D. repens* vektoraként 6 szúnyogfaj jöhet számításba, mégpedig *A. claviger*, *A. maculipennis*, *Ae. vexans*, *C. modestus*, *C. pipiens pipiens*, *C. pipiens modestus*. *D. immitis* vektoraként szintén 6 faj szerepelhet: *Ae. vexans*, *A. maculipennis*, *C. pipiens pipiens*, *C. pipiens*

molestus, *C. theileri*, *C. richiardii* (**melléklet 1. táblázat**) (Bogyó, 2006; Manfredi és mtsai., 2001).

A két *Dirofilaria*-faj fejlődése a köztigazda szúnyogban hasonló módon zajlik, de a vektor és a féreg faja is befolyásolja annak időtartamát. Általánosságban elmondható, hogy a fertőzött állaton táplálkozó szúnyog a vérszívás során veszi fel a mf-kat, melyek a garaton keresztül a középélbe kerülnek, ahol átlagosan 24 órát töltenek. Utána a szúnyog Malphigi csöveibe vándorolnak, ahol behatolnak a csövek distalis végén lévő sejtekbe, és jellegzetes "sausage" (kolbász) alakot vesznek fel (L1). 1 hét múlva elhagyják a sejteket és a csövek lumenébe hatolnak, ahol kétszer vedlenek L2, majd L3 stádiummá. Az utolsó vedlés után 1-2 nappal elhagyják a Malphigi csöveket és a hemolimfával a labiumhoz jutnak. Amikor a szúnyog újra vért szív, a labiumon keresztül az 1100 µm hosszúságú L3 stádiumú lárvák 1 csepp hemolimfában, a kiszáradás elkerülése végett, a gazdaállat bőrére kerülve várakoznak, majd amikor a szúnyog felsérti a bőrt, kerülnek a gazdaállatba. A szúnyogban lezajló fejlődés pontos adatait a két *Dirofilaria*-faj esetében az **melléklet 2. táblázata** mutatja (Manfredi és mtsai., 2007).

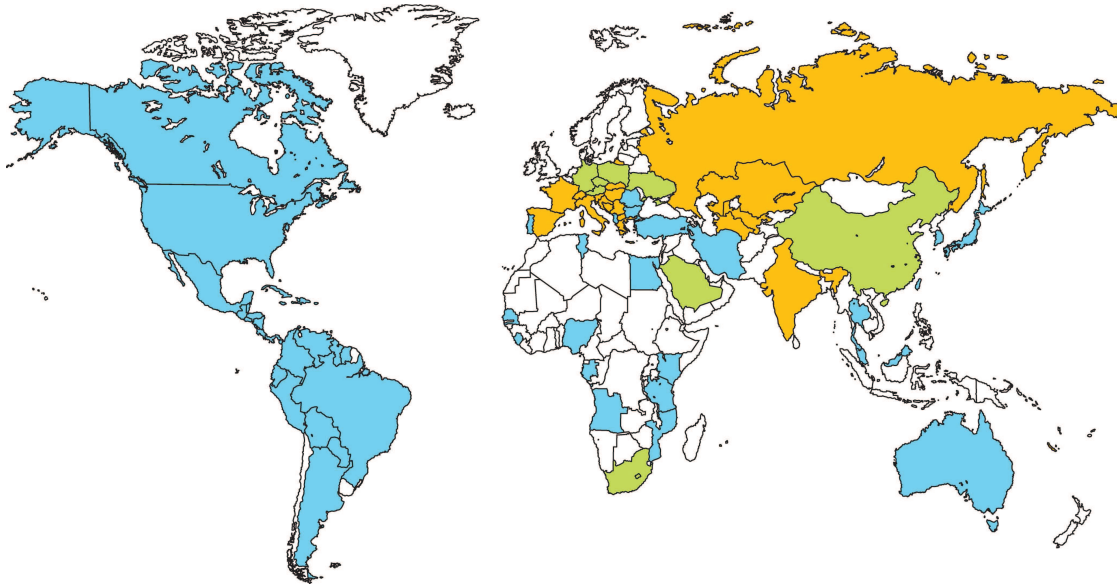
Azt hogy a fejlődési ciklus pontosan hány napot vesz igénybe, nagyban befolyásolják a környezet klimatikus viszonyai. Ismert tény, hogy a *D. repens* és a *D. immitis* fejlődése leáll 14°C alatt, és a hőmérséklet emelkedésével rövidül a fertőzőképes alak kialakulásához szükséges idő (8-10 nap 28-30°C-on, 11-12 nap 24°C-on, 16-20 nap 22°C-on) (Simón és mtsai., 2012; Genchi és mtsai., 2007). Egy adott földrajzi területre vonatkoztatva az átlag hőmérsékletek és a jellemző páratartalom ismeretében meg tudjuk mondani, hogy egy évben mennyi ideig mehet végbe a *Dirofilaria*-fajok fejlődése. Ezeket a transzmissziós zónákat ábrázolja az alábbi térkép az európai országok esetében (**5. kép**). A tudományos vélekedés szerint az évszázad végére várhatóan 1,1-6,4°C-ot fog emelkedni világszinten az átlaghőmérséklet. Ennek ismeretében a jövőben várhatóan nem csak új vektor fajok tenyésztőterülete húzódhat északi irányba, hanem az emelkedő átlaghőmérséklettel a *Dirofilaria*-fajok fejlődése is nagyobb területen mehet végbe, mint korábban.



5. kép: Transzmissziós periódus hossza *Dirofilaria*-fajok esetében (Simón és mtsai., 2012)

3.3. A *Dirofilaria*-fajok előfordulása

A *D. repens* jellemzően az Óvilágban fordul elő, így Európában, Ázsiában és Afrikában, míg a *D. immitis* világszerte megtalálható a trópusi, szubtrópusi és kontinentális éghajlat alatt (Genchi és mtsai., 2007; Simón és mtsai., 2012) (6. kép).



6. kép: A kutyák dirofilariosisának jelenlegi előfordulása világszerte.

Kék a *D. immitis*, zöld a *D. repens*, a narancssárga mindkét faj együttes jelenlétét jelzi (Simón és mtsai., 2012).

3.3.1. A *D. repens* előfordulása

A múlt századi közlemények szerint a *D. repens* tradicionálisan Európában a mediterrán régióban fordul elő endémiásan, így Spanyolországban, Olaszországban és Görögországban. A legkorábbi adatok szerint Spanyolországban és a Kanári-szigeteken a Földközi-tenger partvidékéhez közeli területeken található *D. repens*, néhol kiugró prevalencia értékekkel (37,1%) (Simón és mtsai., 2012), Olaszországban a Pó folyó völgyében a gyakoriság eléri a 30%-t (Genchi és mtsai., 2005), Görögországban szintén 30%-os az előfordulási arány (Genchi és mtsai., 2005), míg Franciaországban inkább sporadikus esetekről számoltak be (Simón és mtsai., 2012). Ezen kívül a 20. század elején szakirodalmi források említést tesznek Ukrajna és

Oroszország területén a *D. repens* jelenlétéről. A nyolcvanas években közölt adatok szerint az akkori Jugoszlávia területén a bőrférgesség sporadikusan fordult elő (Simón és mtsai., 2012).

Az elmúlt egy-két évtizedben fokozódott az érdeklődés a *Dirofilaria*-fajok valós elterjedésének megismerése iránt, a dirofilariosis növekvő köz- és állategészségügyi jelentősége miatt. Ennek következtében nemcsak a mediterrán, hanem az északabbra fekvő országok területén is nőtt a szűrővizsgálatok száma. A Földközi-tenger partvidékén az újabb felmérések szerint Spanyolországban 5,1-84,6 %, Görögországban 12-37 % és Olaszországban 2-21,1 % a prevalencia (Scaramozzino és mtsai., 2005). Az elmúlt húsz év publikációi szemléltetik, hogy a korábban nem ismert helyzetű országok több esetben valójában endémiás területek, továbbá a dirofilariosis északi irányú terjedésének tendenciáját is felfedik. Bebizonyosodott, hogy endémiásnak tekinthető Horvátország (7-18%, 47,3%) (Genchi és mtsai., 2005; Pilat és mtsai., 2012), Szerbia (49,2%) (Tasič és mtsai., 2008), Törökország (2,5-7%) (Toparlak és mtsai., 2005), Románia (7%) (Ciocan és mtsai., 2012), Szlovákia 12,1% (Svobodova és mtsai., 2005; Iglódyova és Miterpáková, 2012), Csehország (20,7-23,7%) (Dobesova és Svobodova, 2009), Oroszország déli része (Rostov régió) (44,7%) (Kartashev és mtsai., 2011), Ausztria (8,4%) (Duscher és mtsai., 2009), Németország (6,8%) (Hermosilla és mtsai., 2006; Pantchev és mtsai., 2009) és Svájc (6%) (Simón és mtsai., 2012) is. Sporadikusan előforduló esetekről pedig Hollandiában (Overgauw és van Dijk, 2009) és Lengyelországban (Osinska és mtsai., 2010; Masny és mtsai., 2011) is beszámoltak. Európán kívül a *D. repens* előfordul Dél-Afrikában, Ázsia jelentős részén, ezen belül Iránban 61%-os, míg Sri Lankán 60%-os is lehet a fertőzöttség mértéke (Simón és mtsai., 2012).

Magyarországon már az 1950-es évek elején feltételezték a humán esetek alapján a kutyákban jelen lévő fertőzöttséget (Kotlán, 1951), de csak az 1990-es évek végén írták le az első hazai autochton eseteket (Fok és mtsai., 1998; Széll és mtsai., 1999). Ezt követően történt 101 kutya vérmintájának vizsgálata az egyik fertőzött állat élőhelyének környékén, mivel feltételezték, hogy hazánkban is endémiás terület alakult ki, ugyanis az állat korábban soha nem hagyta el a tartási helyét. Itt, a Tolna megyei régióban 9 %-os prevalenciát állapítottak meg (Széll és mtsai., 1999).

A macskák *D. repens*szel való fertőzöttségével is több közlemény foglalkozik, bár a ritkán megjelenő és kis mértékű microfilaraemia miatt kevesebbet tudunk a parazita valós előfordulási arányáról. Felmérő vizsgálatot 300 macska bevonásával 2008-tól 2009-ig Közép-Olaszországban végeztek, aminek során 1,6%-os prevalenciát állapítottak meg (Traversa és mtsai., 2010). Ezen kívül egyedi esetleírásokat ismerünk, melyek beszámolnak a bőrférgesség előfordulásáról macskák esetében, így Ukrajnában (Mazurkevich és mtsai., 2004),

Olaszországban (Tarello, 2002c; Tarello, 2011), Dél-Afrikában (Schwann és mtsai., 2000) és Sri Lankán (Mazurkevich és mtsai., 2004).

Vadon élő ragadozók rezervoár bázist jelentenek a kutyák és az emberek tovább fertőződéséhez, főleg azokban a vidéki régiókban, ahol a szúnyogok könnyen közvetíthetik a parazitát a különböző gazdafajok között. *D. repens* fertőzöttséget vörös rókák körében diagnosztizáltak Olaszországban (Simón és mtsai., 2012; Magi és mtsai., 2008), szintén rókák vizsgálatával 57,4%-os prevalenciát állapítottak meg Szlovákiában (Hurníková és mtsai., 2012). Szlovákia északi részén a Tátrai Nemzeti Parkban egy nyest lépének molekuláris biológiai vizsgálata során mutatták ki a *D. repens* DNS-ét (Miterpáková és mtsai., 2013).

3.3.2. A *D. immitis* előfordulása

A szívférgességet a szakirodalomban először 1626-ban Birago említi, egy Olaszországban, a Pó folyó völgyében élő kutyánál. Ez a terület napjainkban is hyperendémiásnak számít, mivel a vizsgálatok szerint a kezeletlen kutyák körében a *D. immitis* prevalenciája eléri az 50%-ot (Genchi és mtsai., 2005). Ezenkívül Európában régóta endémiásnak tekintett országok Spanyolország, Portugália, Görögország, Franciaország és Törökország. A szívférgesség esetében, csakúgy, mint a bőrférgességnél megfigyelhető, hogy a parazita új területeken jelent meg az elmúlt évtizedben. Ez jelent egyrészt egy erőteljes északi irányú terjedést, másrészt korábban endémiás országokon belül való terjeszkedést is. Így Olaszországban megfigyelhető, hogy a Pó folyó völgyén kívüli észak- és közép-itáliai területeken is magas fertőzöttségi arány állapítható meg kutyák körében, többek között Umbriában 5-15%-os előfordulási arány, Szardínián pedig a korábbi 2% alatti értékhez képest 17%-ra emelkedett a prevalencia (Genchi és mtsai., 2005). Spanyolország több területén végeztek szűrővizsgálatokat (8-37%), de a legkiugróbb értékeket Gran Canaria-n találták, ráadásul itt rendelkezésre áll több évtizednyi ismételt szerológiai felmérésnek az eredménye. Eszerint 1989-ben 36,7%, 1994-ben 67%, 2000-ben 30,2% és 2008-ban 19,36% volt a fertőzöttségi arány. A magas érték oka a kiegyenlített klíma, mely kedvez a szúnyogpopuláció és a *D. immitis* fejlődésének is, a csökkenés pedig valószínűleg a kilencvenes évek második felében a Kanári-szigeteki kutyaállomány körében elkezdett preventív kezelésnek tudható be (Montoya-Alonso és mtsai., 2010). Portugália vonatkozásában Madeira szigetén nagy a fertőzöttség mértéke (30%), Franciaország területén a bőrférgesség dominál, de a Földközi-tenger partvidékén a szívférgesség is előfordul (Genchi és mtsai., 2005; Simón és mtsai., 2012). Görögországban a fertőzöttség mértéke kutyák körében 10-34% közötti (Genchi és mtsai.,

2005), míg Törökország egyes részei között nagy a különbség, a különböző tanulmányok 0,8-29,6%-os értékeket közölnek (Yldirim és mtsai., 2006; Toparlak és mtsai., 2005).

Az elmúlt évtized fokozott tudományos érdeklődésének köszönhetően több európai országról bizonyosodott be, hogy endémiásan jelen van a *D. immitis* határaikon belül. Így Bulgáriában 8,6% (Kirkova és mtsai., 2007), Szerbiában 4,9-54,8% (Pavlovič és mtsai., 2012), Horvátországban 8-16% (Genchi és mtsai., 2007), Dél-Oroszország Rostov régiójában 30,3% (Kartashev és mtsai., 2011). Csehországban, (Svobodova és mtsai., 2006; Dobesova és Svobodova, 2009), Szlovákiában (0,3%) (Svobodova és mtsai., 2005; Iglódyová és Miterpáková, 2012) és Romániában (0,2%) (Ciocan és mtsai., 2012) az eddigi adatok inkább sporadikus előfordulást mutatnak, bár a romániai vizsgálat Temes megyében végzett felmérés eredménye, ami nem jellemzi a Fekete-tenger partjának környékét, ahol valószínűleg magasabb prevalencia mérhető. Jól detektálható a fertőzöttség prevalenciájának emelkedése Svájc déli részén, ahol a kilencvenes évekbeli 0,6%-ról a kétezres évek elejére 6%-ra növekedett ez az érték (Genchi és mtsai., 2005).

Magyarországon a vizsgálataink megkezdéséig csak importált esetekről számoltak be, ahol a kutyák a diagnózist megelőzően az Amerikai Egyesült Államokban vagy Olaszországban tartózkodtak (Boros és mtsai., 1982; Vörös és mtsai., 2000).

Az amerikai kontinens valamennyi országában előfordul a szívférgesség Chile kivételével, ahol nem tudták a jelenlétét kimutatni többszöri vizsgálattal sem, illetve Francia Guyana és Uruguay kivételével, ahol pedig nem végeztek erre irányuló felmérést. Az Egyesült Államok területén átlagosan 1-12% a fertőzöttség mértéke, de az Atlanti-óceán partvidékén (48,8%) és újabban néhány középső és nyugati államban is hyperendémiás területek találhatóak. Közép- és Dél-Amerika országaiban is nagy a *D. immitis* előfordulási aránya, Mexikó atlanti partvidékén 20-42%, a Karib-térségben 20,4-63,2%, Brazíliában 2,3-45%, Argentínában 5-74%. Ennél jelentősen alacsonyabb a fertőzöttség mértéke a hidegebb klímájú területeken, így Kanadában 0,24% (Simón és mtsai., 2012).

Afrika országairól kevesebb adat áll rendelkezésre, de a szakirodalom szerint a szívférgesség előfordul Marokkóban, Tunéziában, Egyiptomban, Tanzániában, Kenyában, Mozambikban, Malawiban, Szenegálban, Angolában, Gabonban, Nigériában és Sierra Leoneban. Ázsiában a fertőzöttség jelen van Iránban, Indiában, Thaiföldön, Dél-Koreában és Taiwanon. Malaysiában a *D. immitis* prevalenciája egyes területeken elérheti a 70%-ot, Japánban pedig az 59%-ot. Ausztrália partvidéke szintén endémiás terület szívférgesség szempontjából (Simón és mtsai., 2012).

Macskák körében is széles körűen előfordul a *D. immitis* okozta parazitózis, bár a diagnózist itt is nehezíti a gyakori okkult fertőzöttség, mely miatt a mikrofilária kimutatás nem lehetséges. Viszont szívférgességnél, szemben a *D. repens* fertőzöttséggel, rendelkezésre állnak megbízható szerológiai módszerek a széles körű szűrővizsgálatok elvégzéséhez. Emiatt tudjuk, hogy Észak-Olaszországban, a Pó folyó hyperendémiás völgyében, ahol 1045 macska vérmintájának szerológiai elemzését végezték el és 9-27%-os pozitívítást mutattak ki (Kramer és Genchi, 2002), a Kanári-szigeteken pedig 2004-ről 2011-re emelkedő prevalencia értékeket mértek 18,3%-ról 33%-ra növekedett értékkel (Simón és mtsai., 2012). Az Amerikai Egyesült Államok 29 tagállamában bizonyították a *D. immitis* jelenlétét macskák körében 3-19%-os előfordulási aránnyal, ami általában az adott területen élő kutyák fertőzöttségi arányának az 5-20%-nak felel meg. Ezen kívül a macskák szívférgessége az amerikai kontinensen jelen van Brazíliában, Venezuelában és Kanadában is. Japánban 2%-nak, Dél-Koreában 2,6%-nak (Liu és mtsai., 2005.), Ausztráliában Sydneyben 2%-nak mérték a prevalencia értéket. Továbbá ismert a féreg jelenléte macskákban Sierra Leoneban, Örményországban, Kínában, Malaysiában, a Fülöp-szigeteken, Tahitin és Pápua-Új-Guineában is (Simón és mtsai., 2012).

Vadászgörényekben ritkábban kimutatható a szívférgesség, mint kutyákban vagy macskákban, de Amerikában mind a természetes, mind a mesterséges fertőzésről beszámoltak már (McCall, 1998). Japánban szintén többször diagnosztizáltak *D. immitis* fertőzöttséget görények körében (Sasai és mtsai., 2000; Fukase, 1999).

Vadon élő ragadozók között világszerte széleskörben elterjedt parazitózis a szívférgesség, így Európa számos országában kimutatták rókák esetében, többek között Olaszországban, ahol 6%-os (Magi és mtsai., 2008), Spanyolországban 0,5%-os prevalenciát állapítottak meg (Simón és mtsai., 2012). Bulgáriában sakálok között 8,9 %-os és rókák körében pedig 3%-os előfordulási arányt diagnosztizáltak (Kirkova és mtsai., 2007). Az Egyesült Államokban rókák mellett prérifarkasokban is kifejezetten magas a szívférgesség előfordulása, egyes helyeken a coyote populációk 100%-a érintett. Dél-Amerikában és Ausztráliában is végeztek felméréseket, mely szerint Sydney környékén 6,4%-os a fertőzöttségi arány rókák között (Simón és mtsai., 2012). A kutyafélék mellett több macskafélében (tigris, ocelot, jaguár, oroszlán, leopárd, puma) és fekete medvében is kimutatták a *D. immitis* jelenlétét, de járványtani szempontból ennek kisebb a jelentősége, mivel a mkfi mértéke, hasonlóan a házi macskában megfigyeltékhez, elenyésző (Simón és mtsai., 2012).

3.3.3. *Acanthocheilonema reconditum* előfordulása

Kutyák *A. reconditum* fertőzöttségéről kevesebb információval rendelkezünk, mint a *Dirofilaria*-fajok esetében, ennek oka, hogy az általa okozott bőrférgesség szinte mindig tünetmentes. Pedig több szerző szerint bizonyos régiókban ez a nematoda fordul elő kizárólag, vagy a leggyakrabban a filarioidák közül kutyák körében (Brianti és mtsai., 2012). Világszerte megtalálható, kimutatták már a Közel-Keleten, Dél-Afrikában, Dél-Amerikában és Óceániában is. Európa több mediterrán országában megtalálható, így Spanyolországban, Olaszországban és Görögországban is (Otranto és mtsai., 2013; Brianti és mtsai., 2012). Importált esetekről beszámoltak Ausztriában és Németországban is, ez utóbbinak az az érdekessége, hogy a vizsgálatok szerint az egyik *A. reconditum*mal fertőződött kutya Magyarországról származott (Pantchev és mtsai., 2011; Otranto és mtsai., 2013).

3.4. Klinikai vonatkozások

A *D. repens* okozta fertőzöttség klinikai megnyilvánulásairól viszonylag kevés szakirodalmi adat áll rendelkezésre. Ezt a parazitát korábban apatogénnek hitték, de az elmúlt évek megfigyelései alapján ma már inkább a „potenciálisan patogén” vagy „enyhén patogén” kifejezést tartják helytállónak. Az eddigi kutatási eredményekből az derül ki, hogy a fertőzöttség lefolyása gyakran valóban teljesen tünetmentes, egyes esetekben azonban az állat bőrére korlátozódó tünetek figyelhetőek meg. A *D. repens* által kiváltott tüneteket illetően a szakkönyvi leírásokon felül csak néhány tudományos cikkre lehet hagyatkozni (Venco, 2007b; Tarello, 2003a; Tarello, 2003b). A témában megjelent közlemények szinte kivétel nélkül konkrét, egyedi eseteket írnak le; széleskörű felméréseken alapuló, a fertőzöttséggel összefüggésbe hozható, jellemzően előforduló klinikai tüneteket összesítő vizsgálatokat azonban nem közöltek (Kamalu, 1991). Ezzel szemben a súlyosabb állategészségügyi besorolás alá eső *D. immitis* okozta fertőzöttség klinikumára vonatkozóan számos szakirodalmi adat elérhető (Simón és mtsai., 2012).

A *D. repens*szel fertőződött egyedeken alkalmanként megfigyelhető kóros elváltozások egy részét a vérben keringő mf-k, más részüket a bőr alatti kötőszövetben élősködő kifejlett férgek okozta kártételnek tulajdoníthatjuk. Az adultok a bőrben részben helyileg, részben a testfelszínen kiterjedt formában idézhetnek elő kóros folyamatokat (Fok és Varga, 2006; Tarello, 2003a; Tarello, 2003b). Az adult férgek egyedei többnyire a bőr alatti kötőszövetben tartózkodnak, ahol akár nagyobb számban is előfordulhatnak, és egyes esetekben jól tapintható, a környező szövetektől könnyen elmozdítható, nem fájdalmas, bőr alatti csomók formájában jelennek meg. Esetenként a noduláris elváltozást viszketés, erythema vagy akár súlyosabb gyulladásos reakció is kísérheti. A csomók aspirációs citológiai illetve szövettani vizsgálata során gyakran mf-k és kifejlett férgek találhatók a mintákban (Albanese és mtsai., 2013; Venco és mtsai., 2011). Egy közleményben egyedüli kóros tényezőként említik a *D. repens* fonálférget egy kutyánál kialakult allergiás dermatitis háttérében (Rocconi és mtsai., 2012).

A külföldi eseteleírások nagy része a *D. repens* opportunista tulajdonságát hangsúlyozzák, és a klinikai tünetek megjelenését egyéb társfertőzésekkel, elsősorban babesiosissal, ehrlichiosissal, illetve leishmaniosissal hozzák összefüggésbe. Két olaszországi tanulmányban *D. repens*szel fertőződött, jellegzetes klinikai tüneteket mutató kutyákat vizsgáltak, és azt találták, hogy a tanulmányba bevont összes eb (n=50) esetében egyéb fertőzöttség is fennáll. Az 50 megvizsgált kutya közül 47-nél *Babesia*-, 27-nél *Ehrlichia*-, 4-nél *Leishmania* spp., 4-nél galandféregfajok, egynél pedig *Hepatozoon canis* okozta társfertőzöttséget állapítottak meg. Az

ebek 100 %-ánál figyeltek meg pruritust, 90 %-nál erythemát, 50 %-nál papulákat, 44 %-nál alopeciát, 24 %-nál korpázást, 20 %-nál bőr alatti csomókat, 4 %-nál ekcémát, valamint 2-2 %-nál hematomát, acnét, pododermatitist, pyodermát, és lichenifikációt. A szóban forgó felmérést megelőzően a vizsgált állatok közül 32 részesült bőrgyógyászati kezelésben (kortikoszteroid, illetve antibiotikum terápia, ektoparaziták elleni kezelés, diéta stb.), de ezek egyik esetben sem eredményeztek maradandó javulást. A bőrtüneteken felül conjunctivitist állapítottak meg a megfigyelt ebek 50 %-ánál, anorexiát 26 %-nál, krónikus hányást 20 %-nál, lázas állapotot 20 %-nál, levertséget 18 %-nál, lymphadenopathiát 6 %-nál, sántítást 4 %-nál, izom- és ízületi fájdalmat 4 %-nál, otitist 4 %-nál, továbbá tenesmust, hasmenést, asthmát, pharyngitist és stomatitist 2-2 %-nál. Az elsődleges terápiás beavatkozás minden esetben a fennálló társfertőzések megszüntetésére irányult. Ennek hatására minden esetben megszűntek a szisztémás tünetek (levertség, étvágytalanság, hányás, láz, illetve a conjunctivitis). Ezután a *D. repens* adultjai ellen irányuló makrofilaricid kezelés következett, amit a bőrtünetek szembetűnő javulása kísért. Tíz nappal később mikrofilaricid terápiában részesítették a kutyákat, majd ettől számítva egy hónap elteltével kontroll klinikai vizsgálatot hajtottak végre rajtuk. Ennek eredményeként megállapították, hogy a felmérésbe bevont 50 eb mindegyikénél megszűntek a bőrre kiterjedő tünetek és elváltozások (Tarello, 2002a; Tarello, 2002b).

Az előbbiekkal megegyező eredményekről számol be két másik olaszországi és egy szaúd-arábiai esettanulmány is. Az ezekben leírt összesen öt *D. repens*szel fertőződött kutya mindegyikénél fennállt *Babesia* spp. (4 esetben), illetve *Ehrlichia canis* (1 esetben) okozta társfertőzöttség. Az ebeknél több héten át fennálló étvágytalanságot, conjunctivitist, levertséget, visszatérő hányást, hasmenést és epistaxist, valamint pruritust, hyperkeratosis, alopeciát, erythemát, dermatitist, papulákat és bőr alatti csomókat lehetett megfigyelni. Az elsődleges (babesiosis/ehrlichiosis elleni) kezelés után makrofilaricid, majd később mikrofilaricid terápiában részesítették a kutyákat. A szisztémás tünetek az elsődleges kezelés hatására számottevően enyhültek, a makrofilaricid kezelés pedig megszüntette a bőrtüneteket is. Az egy hónappal később elvégzett klinikai vizsgálat során tünet- és kórokozómentesnek találták az állatokat (Tarello, 2000; Tarello, 2003a; Tarello 2003b).

Egy nigériai esettanulmány a *D. repens* okozta fertőzöttségnek tulajdonítható szervi elváltozásokról számol be. A tanulmányban szereplő kutya általános levertséggel, gyengeséggel, anorexiával és anémiával érkezett a helyi egyetemi klinikára. A vérből mf-k jelenlétét lehetett kimutatni, ugyanakkor a leletek babesiosis vagy trypanosomosis fennállását nem támasztották alá. Az eosinophil granulocyták aránya a normális tartományba esett. A kezelés ellenére az állat állapota rosszabbodott, ezért a végleges elaltatás mellett döntöttek.

Kórszövetteni vizsgálatot végeztek a tüdő, a szívizomzat, a máj, a lép és a vesék szövetéből. A legszembetűnőbb elváltozás a nagyfokú erythrophagocytosis és hemosiderosis volt, amelyet minden szervben meg lehetett figyelni. Ezenkívül feltűnő volt a mf-k nagy tömege a kapillárisokban, ami összefüggésbe hozható az erőteljes vörösvérsejt-roncsolódással. A szívizomban számos apró infarktusz terület is megfigyelhető volt, amelyeket az elhalt mf-kból kialakuló embolusok okozta érelzáródás idézett elő (Kamalu, 1991).

Egy lengyel közleményben egy olyan esetről számolnak be, melyben egy 8 éves keverék kan kutyát boncoltak fel, miután még életében mkfi-snak bizonyult a vérvizsgálat során. Emellett emelkedett ALT és bilirubin, továbbá csökkent összfehérje, albumin és kreatinin értéket mértek a vérszérumban. A máj, vese, tüdő, szív és a bélrendszer kórszövetteni vizsgálata során nagy mennyiségű mf-t találtak a vérerekben, emellett májchirrhosist, nephritist és myocarditist diagnosztizáltak. A parenchim szervekben elhalásos góccokat és gyulladásosejtet, főleg eosinophil granulocytás infiltrációt mutattak ki (Osinska és mtsai., 2010).

A mf-k által kiváltott krónikus endothel-irritáció a kis erekben akár daganatos transzformációhoz is vezethet, mely a *Dirofilaria*-fertőzöttséggel összefüggésbe hozott vascularis daganatok kórélettani alapját adja (Martano és mtsai., 2004). Egy esettanulmány bőrférgességgel kapcsolatba hozható emlődaganatról számolt be. A vékonytű-aspirációs mintában a daganatsejtek, és gyulladásosejtek mellett *D. repens* lárvákat is találtak (Acierno és mtsai., 2009). Egy másik esetben egy 12 éves macskánál diagnosztizáltak akut májelégtelenséget citológiai mintavétel után, ahol szintén nagyszámú mf-t találtak a kenetben (Schwann és mtsai., 2000).

A *D. repens* okozta fertőzöttség okuláris formáját is leírták már kutyáknál. Egy németországi esettanulmányban olvasható, hogy egy kétéves pointer kötőhártyája alól egy 15 cm hosszú, ivarérett nőstény férget távolítottak el sebészeti úton, amelyről PCR vizsgálattal bebizonyosodott, hogy *D. repens* (Hermosilla és mtsai., 2006).

A *D. immitis*szel kapcsolatban – nagyobb állategészségügyi jelentőségénél fogva – számottevően több kutatási eredmény és szakirodalmi adat áll rendelkezésre. Ezen kívül biológiai jellemzői miatt sokkal jobban nyomon követhető a féreg fejlődése a gazda szervezetben, így az általa okozott kórkép lefolyásáról, a közvetlenül általa kiváltott tünetekről is többet tudunk. Amíg a *D. repens* fonálféregről gyakran, mint apatogén kórokozóról beszélnek, addig a szívférget, mint súlyos, akár életet veszélyeztető elváltozásokat okozó parazitaként ismerjük. Bár a szívféreg elnevezéséből azt gondolnánk, hogy elsődlegesen kardiális elváltozást indukál, pedig valójában elsőként a tüdőereket károsítja, kialakul a pulmonális rendellenesség,

és csak a kórlefolyás utolsó lépéseként jelentkeznek a szívelégtelenség. A juvenilis féreg először a kisebb tüdőér ágakba hatol, majd a fejlődése során fokozatosan proximalisabban helyeződő szegmens felé halad, míg végül eléri a nagy tüdőereket (Kramer, 2009). A féreg által okozott trauma hatására már néhány nappal később az endothel sejtek megduzzadnak, az intracelluláris kapcsolatok meglazulnak, megnyúlnak, a sejtek közötti tér megszélesbedik. Fokozódik a neutrophil granulocyták tapadási aktivitása az endothel sejtek felszínére, és belépnek a sejt közötti térbe. Következésképpen a subendothelialis réteg lecsupaszodik és hozzáférhetővé válik, így a vérlemezkék kötődési aktivitása jelentősen fokozódik. A sérült érfalon keresztül albumin, vérplazma és vérsejtek lépnek ki a perivascularis térbe. Az endothelium változásait követi az intima megvastagodása a kilépő folyadék és fehérvérsejtek miatt. Az érfal belső felszínén villózus növedékek képződnek, melyeket a simaizom sejteken kívül kollagén alkot, és endothelszerű sejtek borítanak. A proliferáció mértéke közvetlenül arányos a fertőzés fennállásának idejével és a féreg terhelés mértékével. Az erősen fertőzött kutyák érfalának felszíne bársonyosan kiemelkedő és mind a tüdőerek lumene, mind a teljesítőképessége csökken. Az elsődlegesen jelentkező vasculáris változások idézik elő a tüdőelváltozást. Ennek során folyadék és fehérje lép ki az érintett erek falán, ami a tüdőparenchyma ödémáját okozza. Néhány féreg spontán elhalása súlyos gyulladást és thromboembóliát eredményezhet. Az akár a thromboembolia, akár a súlyos fokú villus proliferáció miatt kialakuló csökkent teljesítőképesség valamint szűkülő érlumen végül tüdőhypertoniát idéz elő. A jobb kamrára háruló növekvő after load miatt „cor pulmonale” alakul ki, továbbá következményes jobb szívelégtelenség. (Venco, 2007a)

Lefolyását tekintve a szívférgesség jellemzően krónikus betegség, sokszor hónapokig, évekig tünetmentes vagy csak enyhe, fokozatosan súlyosbodó tüneteket tapasztalhatunk a fertőzött kutyánál. Eleinte köhögés majd fokozódó dyspnoe, gyengeség, néha megterhelésre jelentkező ájulás fordulhat elő. Később a romló jobb szívelégtelenség következtében ascites, a végtagok ödémája, étvágytalanság, testsúlyvesztés és dehidráció jelentkezhet. Végül ritkán elhullásig súlyosbodhat a respirációs zavar és az általános gyengeség. A krónikus lefolyást néha akut tünetek zavarják meg, így nagy mennyiségű féreg elpusztulását súlyos thromboembolia követheti, ami azonnali életet veszélyeztető elváltozást jelent. Kisebb testű kutyáknál tipikus esemény lehet a féreg átjutása az arteria pulmonalisból a jobb kamrába a pulmonális hypertensio miatt. Ezt a jelenséget caval szindrómának nevezik a szakirodalomban, tünetei a súlyos dyspnoe, tricuspidalis zörej és a mechanikai haemolysis miatti haemoglobinuria, melyet gyakran elhullás követ (Venco, 2007a). A szívférgesség tüneteit súlyosságuk szerint négy csoportba sorolja az AHS, ezt a felosztást mutatja a **5. táblázat**.

5. táblázat: A szívférgesség klinikai stádiumai kutyáknál (AHS, 2013)

Stádiumok	Klinikai jellemzők
kezdeti stádium	nincs kóros tünet
enyhe fokú szívférgesség	köhögés
közepes fokú szívférgesség	köhögés, csökkent teljesítőképesség, kóros légzési zörejek
súlyos fokú szívférgesség	köhögés, csökkent teljesítőképesség, kóros légzési zörejek, dyspnoe, hepatomegalia, syncope, ascites, kóros szívzörej, elhullás

Macskáknál a szívférgesség klinikai képe jelentősen eltér a kutyáknál tapasztalhatóktól, bár a férgek kártétele a tüdőerekben hasonló kórszövettani elváltozásokat indukál. Azonban macskák esetében jellemzően kevesebb számú kifejlett féreg (1-8 szívféreg/macska) található a nagy erekben, emiatt a fertőzöttséget általában nem kísérik tünetek, hanem gyakran a férgek pusztulásával spontán gyógyulnak. Esetenként a spontán féregpusztulás akut tüneteket okoz, ennek során köhögés, dyspnoe, haemoptysis és sokszor hányás jelentkezik. Ilyen esetben nem ritka a látszólag egészséges macska hirtelen elhullása sem. Azonban a kutyákra oly jellemző krónikus kórlefolyás macskák esetében nem tipikus, továbbá a jobb szívfél elégtelenség tünetei sem jellemzőek. A megfigyelések azt mutatják, hogy macskák esetében a kórképet inkább a tüdőerekben élősködő L5 stádiumok, valamint a spontán elpusztuló adultok alakítják ki (Venco, 2007c).

Kutyán és macskán kívül egyéb ragadozó fajoknál is kialakulhat *D. immitis* fertőzöttség, többek között gyakori vadászgörényekben, ahol a szívférgesség klinikai képe hasonló a macskáknál tapasztaltakhoz. A féreg fejlődése során az L5 stádium itt is bejut a nagy erekbe, ahol a korábban leírt elváltozásokat alakítja ki, majd az adult az arteria pulmonalisban, a jobb szívfélben és a vena cava-ban élősködik. A kórképet ebben az esetben is köhögés, dyspnoe, teljesítménycsökkenés, súlyos esetben thromboembolia és akár fatális kimenetel is jellemezheti. Az aberráns lárvavándorlást az eddigi szakirodalomban nem írták le (McCall, 1998).

A szívférgesek légző és keringési rendszerre kifejtett súlyos hatásuk mellett egyéb szerveket is károsítanak. Az összetett kórkép kialakításában nem csak a kifejlett férgek, hanem a vérben keringő mf-k is részt vesznek. *D. immitis* esetében számos tanulmány foglalkozik természetes úton kialakult és kísérletes fertőzések során tapasztalt tünetek, laborvizsgálattal mért eltérések valamint kórszövettani elváltozások elemzésével. Továbbá nagy egyedszámú retrospektív felmérések is fellelhetők a szakirodalomban.

Ezek közül kiemelendő egy thaiföldi tanulmány, amelyben *D. immitis*szel fertőződött ebek hematológiai és vérbiokémiai paramétereinek eltéréseit vizsgálták (Niwetpathomwat és mtsai., 2007). A retrospektív vizsgálatba 1023 kutyát vontak be, amelyek közül 923 egyednél fennállt a *D. immitis* fertőzöttség (ezek közül 35 egyednél mkfi nélküli, ún. okkult szívférgesség állt fenn), de más betegségben nem szenvedtek. A fennmaradó 100 egészséges kutya a kontroll csoportot képezte. Az összehasonlító elemzések során vizsgálták a vörösvérsejtszámot, a hematokrit értéket, a hemoglobinn koncentrációt, a fehérvérsejtszámot, a thrombocytaszámot, továbbá az MCV, az MCH, az MCHC, az AST, az ALT, az ALKP, a karbamid és a kreatinin értékét. A vizsgálat értékelése szerint a *D. immitis*szel fertőződött ebek esetében az alábbi eltéréseket lehetett tapasztalni: enyhe-közepes fokú anémia (a normálnál alacsonyabb vörösvérsejtszám, hematokrit érték és hemoglobinn koncentráció), microcytosis, thrombocytopenia (immun-mediált thrombocytá-destrukció), kifejezett leukocytosis, közepes-kifejezett neutrophilia, eosinophilia és monocytosis, továbbá emelkedett ALKP, karbamid és kreatinin értékek. Ezenkívül számos állatnál figyeltek meg emelkedett májenzim-értékeket. A tanulmány mindemellett kiemeli azt a tényt, hogy az állatorvosi kezelés, a környezetváltozás, az emocionális állapot, az étrend és az individuális eltérések befolyásolhatják a mért értékeket, és részben ennek tudható be az, hogy a fertőzött állatok esetében is mértek normális értékeket, ugyanakkor az egészséges kontroll csoportban is akadtak olyan ebek, amelyek egyes vizsgálati paramétereit a normális tartományon kívül estek.

Ismert, hogy a kutyák szívférgessége során nem csak a kifejlett féreg és fejlődési alakjai felelősek közvetlenül a kialakított kórképért, hanem fontos szerepet játszik a dirofiláriákkal szimbiózisban élő *Wolbachia*-baktérium is. A kutatások azt bizonyítják, hogy a baktérium felszíni fehérjéje (WSP – *Wolbachia* Surface Protein) specifikus IgG immunválaszt vált ki a *D. immitis*szel fertőzött gazdaállatban. Valószínűsíthető, hogy a tüdőben és a vesében kialakuló gyulladásos reakciók a WSP fehérjének köszönhetőek. (AHS, 2013; Kramer és mtsai., 2008; Morchón és mtsai., 2012) A pátenst módon fertőzött kutyák vérében keringő mf-k folyamatos *Wolbachia*-antigén terhelést jelentenek a szervezetre. Az elpusztuló mf-kból kiszabaduló baktériumok pedig kialakítják az előbb leírt gyulladásos folyamatokat a különböző szervekben, köztük a vesékben is (Kramer és mtsai., 2008, Morchón és mtsai., 2012).

D. immitis esetében számos veseelváltozást leírtak, így immunmediált glomerulopathiát, glomerulosclerosist, krónikus interstitiális nephritist és amyloidosist. A veseelváltozások patogenezisében az adult férgek antigénjei mellett a mf-k is szerepet játszanak. Kísérletesen fertőzött kutyáknál azt is kimutatták, hogy a mikroszkópos elváltozások súlyossága egyenes arányban van a fertőzöttség fennállásának időtartamával, és a mkfi mértékével. Az előbb

említett kísérletben 16 kutyából 12-öt L3-k bőr alá oltásával, 4-et pedig intravénásan beoltott kifejlett férgekkel fertőztek és egy kontroll csoporttal hasonlították össze a vesében talált elváltozásokat. Az eredményeket értékelve megállapították, hogy a fertőzöttség 111. napja után lehetett mkfi-t diagnosztizálni, egy évnél tartósabb fertőzöttség esetén pedig interstitialis nephritis is kialakult. A vesék elektronmikroszkópos vizsgálata során a leggyakoribb elváltozások a glomeruláris basalmembrán megvastagodása, és vakuolizáltsága, benne elektrondenz lerakódás, a mesangiális mátrix kitágulása és a glomeruláris epithelsejtek nyúlványainak részleges, vagy teljes eltűnése voltak. Ezek az elváltozások eredményezhetik a glomerulus szelektív szemipermeabilitásának megváltozását és a következményes proteinuriát (Paes-de-Almeida és mtsai., 2003). Kimutatott tény továbbá az is, hogy a mkfi-s kutyáknál magasabb vizelet fehérje szint mérhető, mint okkult fertőzöttség fennállásakor (Carretón és mtsai., 2013; Morchón és mtsai., 2012). Hasonló eredményt mutattak ki egy másik tanulmányban is, ahol *D. immitis*szel kísérletesen fertőzött és természetes úton fertőződött kutyákat is vizsgáltak. Mindkét esetben bebizonyosodott, hogy a vesék kapillárisaiban akkor figyelhető meg nagyobb számban microthrombosis és következményes glomerulus elváltozás, amennyiben a vizsgált állatok mkfi-sok voltak. A közleményben kiemelik, hogy a glomerulusokban felhalmozódó mf-k okozzák a microthrombosisist és ezáltal a veseelváltozásokat (Carretón és mtsai., 2013).

3.5. Közegészségügyi jelentőség

A különféle *Dirofilaria*-fajok embert is megfertőzhetnek, azaz zoonózist okozó nematodák. A szúnyogban kifejlődő L3 szúnyogcsípés során az emberi szervezetbe kerülhet, ahol fejlődésnek indul, bár az esetek nagy részében abortív fertőzés lesz a végeredmény. A humán dirofilariosis kialakításában több *Dirofilaria*-faj vehet részt, így *D. repens*, *D. immitis*, *D. ursi*, *D. tenuis*. Európai vonatkozása csak a két előbbinek van, de az amerikai kontinensen illetve Ázsiában és Japánban a két utóbbi féregfaj is zoonotikus jelentőséggel bír (Pampiglione és mtsai., 1995). Klinikai megjelenésében három kórformát különítünk el, a *D. repens* okozta fertőzöttség szubkután vagy okuláris dirofilariosist, a *D. immitis* pedig pulmonáris dirofilariosist alakíthat ki. A szakirodalmi adatok szerint Európában a szubkután kórforma jellemző, amely főleg a felső testfélen okoz elváltozást (75,9%), ezen belül is tipikusan, az esetek mintegy harmadában, a fejen fordul elő (Tzanetou és mtsai., 2009; Maraghi és mtsai., 2006; Athari, 2003; Logar és mtsai., 2000). Ezen kívül gyakran érinti még a nyakat, a mellkasi területet és a nemi szerveket is (Stayerman és mtsai., 1999; Fleck és mtsai., 2008; Pampiglione és mtsai., 1999). A féreg okozta elváltozás többféle lehet, az esetek egy jelentős részénél tüneteket nem okoz, csak véletlenszerűen bukkannak rá műtéti beavatkozások vagy kórszövettani vizsgálatok során. Más esetben a bőr alatti kötőszövetben élősködő nematoda körül nodularis elváltozás figyelhető meg, mely alkalmanként látható allergiás vagy gyulladásszerű folyamatokkal társul (Pónyai és mtsai., 2006; Kucsera és Szénási, 2009). Az okuláris formánál a férget jellemzően a szemhéjak vagy a konjunktíva alatt lehet megtalálni (Jaksič és mtsai., 2011; Maraghi és mtsai., 2006; Koltas és mtsai., 2002; Elek és mtsai., 2000; Dang és mtsai., 2010; Groell és mtsai., 1999; Zoric és mtsai., 2011), ritkábban érinti magát a szemet az elváltozás, de már közöltek olyan esetet, amikor magából az üvegtestből került elő egy *D. repens* fonálféreg (Pampiglione és mtsai., 1995). A pulmonáris dirofilariosisért felelős *D. immitis* az emberi szervezetben is bejuthat az érrendszerbe, ahol általában elhal a féreg, és már élettelenül jut el a tüdő kisebb ereibe, ahol thrombotikus folyamatokat generál maga körül, és így kialakul a „coin lesion”-nek nevezett elváltozás a tüdőben. Ennek az apró gócnak klinikai jelentősége nincs, de fontos differenciál diagnosztikai tényező, mivel a mellkas radiológiai vizsgálata során gyakran tévesen tüdődaganatnak vélik az elváltozást (Pampiglione és mtsai., 1995).

Az emberben kialakuló dirofilariosis abortív jellege abban nyilvánul meg, hogy a nőstény féreg vagy el sem jut az ivaréérésig vagy a mf-k nem kerülnek be a véráramba (Pampiglione és mtsai., 1995). Emiatt a diagnózis felállítása jóval nehezebb, mint kutyák esetében, ha nem találják meg a férget a vizsgálatok során. Emiatt a tanulmányok nagy része retrospektív jellegű

összefoglaló felméréseket vagy egyedi eseteleírásokat tartalmaz. Továbbá mivel a klinikai tünetek csak elenyésző mértékben mutatkoznak, ezért az ismert esetek száma a valódi előfordulási arányhoz képest igen kicsi, ahogy mondani szokták csak a „jéghegy csúcса”. A modern diagnosztikai technikáknak köszönhetően viszont újabban lehetőség nyílik szerológiai vizsgálatok segítségével felderíteni egy adott populáció valós mértékű fertőzöttségét, így pontosabb képet kaphatunk a humán dirofilariosis epidemiológiájáról. Az emberi vérből mind a *D. immitis*, mind a *D. repens* ellen termelődött ellenanyag kimutatására van mód (Simón és mtsai., 2012), de hangsúlyozzuk, hogy ez a szerológiai módszer egyelőre nem a mindennapi gyakorlatban használt diagnosztikai eszköz, csak populáció szinten ad valós eredményt.

A világszerte feljegyzett humán esetek száma 1782 egy 2012-es összefoglaló közlemény szerint, melynek jelentős hányadát (1410 eset) a szubkután és az okuláris dirofilariosis képezi, a maradék 372 alkalommal pulmonáris kórformát állapítottak meg (Simón és mtsai., 2012). Annak ellenére, hogy az Óvilág legtöbb területén mind a *D. immitis*, mind a *D. repens* jelen van a helyi kutyák és vadon élő ragadozók rezervoár bázisában, azt tapasztaljuk, hogy 1370 esetben bőrférgesség és csak 35 esetben szívférgesség áll az emberi megbetegedések hátterében. Ez a tény még azokban az országokban is igaz, ahol kutyák körében a *D. immitis* fertőzöttség erősen dominál. Így Olaszországban, ahol 2000-ben már 168 közölt esetről tudtunk, majd napjainkra ez a szám elérte a 323-t, míg a pulmonáris dirofilariosis csak 13 alkalommal fordult elő (Pampiglione és mtsai., 1995; Simón és mtsai., 2012). Oroszország déli részén (Rostov régió) összesen 622-szer diagnosztizáltak *D. repens* és csak kétszer *D. immitis* fertőzöttséget (Kartashev és mtsai., 2011; Simón és mtsai., 2012). Franciaországban ez a két szám 87 és 4 (De Boysson és mtsai., 2012, Argy és mtsai., 2011), Szerbiában 22 és 0 esetben, Törökországban 22 és 0 alkalommal, és Görögországban 35 és 3 embernél állapítottak meg szubkután / okuláris illetve pulmonáris kórformát (Simón és mtsai., 2012). Spanyolországban retrospektív módon 8-8 esetről tudunk (Simón és mtsai., 2012), de beszámoltak már humán megbetegedésről Lengyelországban (Cielecka és mtsai., 2012), Romániában (Popescu és mtsai., 2012), Horvátországban (Simón és mtsai., 2012), Ausztriában (Auer és Susani, 2008; Groell és mtsai., 1999), Szlovákiában (Nováková és mtsai., 2011), Ukrajnában (Simón és mtsai., 2012), míg Szlovéniában (Logar és mtsai., 2000) és Németországban (Poppert és mtsai., 2009) importált eseteket találtak.

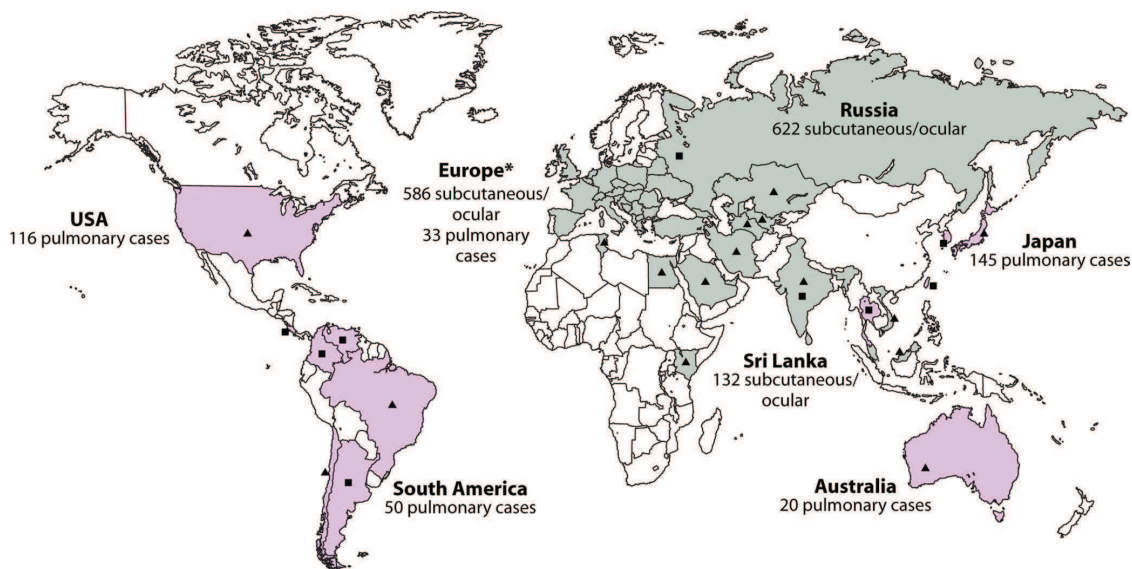
Szeroprevalenciát felmérő vizsgálatokat a közelmúltban több országban végeztek, így Spanyolországban az Ibériai-félszigeten és Tenerifén 21-28%-os, Gran Canarián 10-30%-os, Olaszországban 32,3%-os értéket találtak *D. immitis* és 19,5%-ot *D. repens* vonatkozásában. Ezek az értékek már jól korrelálnak az érintett terület kutyapopulációjában mérhető

pozitivitással, és segítségükkel valós képet alkothatunk a humán dirofilariosis előfordulási arányáról (Simón és mtsai., 2012; Miguel és mtsai., 2012; González-Miguel és mtsai., 2010).

Magyarországon már nagyon régóta gyanítható a dirofilariosis autochton előfordulása a humán népességben, de bizonyítottan hazai fertőzödést csak 2000-ben sikerült igazolni. Az első feltételezhetően *D. repens* fertőzöttséget Babes publikálta 1879-ben, amikor egy általa *Filaria peritonei hominis*nek nevezett nematodát találtak egy páciens gyomorbél szalagjában. A tudomány jelenlegi állása mellett elfogadott tény, hogy az Addario által *Filaria conjunctiva*nek nevezett fonálféreg valójában *D. repens*nek felel meg. Ennek alapján és Desportes közleményei szerint tekinthetjük Babes esetét a legelső *D. repens*nek hazánkban. Ezután 1920-ban Kotlán Sándor akadémikus publikációjában szerepel a következő kután dirofilariosisnak tekinthető eset. Majd ezt követte még a negyvenes-hatvanas években 4 leírás, melyeket mai tudásunk szerint szintén *D. repens* okozta parazitózisnak fogadunk el (Szénási és mtsai., 2008). A modern parazitológiai tudománynak és technológiának köszönhetően 1999 óta megbízható faji identifikálás végezhető akár a páciensekből előkerülő féreg, akár a szövettani metszetekben fellelhető féregátmetszetek vizsgálata során. Továbbá a javuló információáramlás és az Országos Epidemiológiai Központ munkájának köszönhetően, bár nem bejelentési kötelezettség alá tartozó betegségről van szó, de egyre több esetről készül feljegyzés, bár még így is csak igen kis mértékben látható tisztán a magyarországi epidemiológiai helyzet. 1999 és 2008 között 51 humán *D. repens* okozta dirofilariosist diagnosztizáltak hazánkban, ebből 26 okuláris, 25 szubkután lokalizációjú volt, az utóbbiak között előfordult, hogy egy férget találtak az ondóvezetőben (Pampiglione és mtsai., 1999), egy másik esetenél a hónalj nyirokcsomóban (Szénási és mtsai., 2008; Elek és mtsai., 2000, Kucsera és Szénási, 2009), valamint olyan páciensről is tudunk, akinek a hasüregében a nagycsepleszben fedeztek fel egy adult dirofiláriát (Révész és mtsai., 2008). 2007-ben egy 69 éves, ráckevei, juhászként dolgozó nőbetegnél, szubkután dirofilariosist állapítottak meg, miután az alhasi tájékon viszkető, ödémás tüneteket mutatott, majd az ott megjelenő csomó eltávolítása után szövettani vizsgálattal igazolták a *D. repens* féregátmetszetek jelenlétét. Az eset egyik érdekessége, hogy ismételt bőrgyógyászati panaszok jelentkezése során még 4 további férget találtak, illetve, hogy vérvételt követő Knott-féle vizsgálat elvégzése után alacsony mértékű mkfi-t állapítottak meg. A vizsgálatokat követő évben Non-Hodgkin lymphomát diagnosztizáltak a betegnél, ami magyarázhatja a mf-k megjelenését a vérkeringésben. Bár általános vélemény, hogy emberben nem alakul ki mkfi a dirofilariosis során, mégis néhány közleményben beszámolnak az előbbieken leírtakhoz hasonló esetről (Petrocheilou és mtsai., 1998; Genchi és mtsai., 2009b). Közös jellemzőjük ezeknek az eseteknek, hogy a páciensek valamilyen immunszuppresszív folyamattól szenvedtek,

feltételezhető, hogy az immunrendszer csökkent működése eredményezhette a mf-k bejutását az érpályába (Kucsera és Szénási, 2009).

Európán kívül a *D. repens* fertőzöttséget 132 esetben diagnosztizáltak Sri Lankán, megállapították már Indiában, Iránban és még több ázsiai és afrikai országban. Ezzel szemben Japánban, Ausztráliában és az amerikai kontinensen a *D. immitis* okozta pulmonáris dirofilariosissal találkozni, és csak importált eseteknél fordul elő *D. repens* okozta parazitózis (Simón és mtsai., 2012). Ezekon a területeken a szubkután, valamint az okuláris formát az egyéb *Dirofilaria*-fajok, így a *D. ursi* és a *D. tenuis* alakíthatja ki (Pampiglione és mtsai., 1995). A 7. képen a humán dirofilariosis országokénti megoszlását szemléltetem.



7. kép: A humán dirofilariosis megoszlása világszerte. Lila színnel jelölt területeken a *D. immitis*, szürkével jelölt területeken a *D. repens* dominál, ▲ sporadikus szubkután / okuláris esetek, ■ sporadikus pulmonáris esetek (Simón és mtsai., 2012)

3.6. A dirofilariosisok diagnosztikája

3.6.1. Laboratóriumi módszerek a *Dirofilaria*-fertőzöttség megállapítására

A szívférgesség kiemelkedő állat-egészségügyi jelentősége miatt a fertőzöttség kimutatására sok módszer ismert és rutinszerűen használt, különösen az endémiás területeken (AHS, 2005). Ezeknek egy része az Onchocercidae családba tartozó többi faj meghatározására is használható, de a specifikusabb vizsgálatok közül van, amelyik csak a *D. immitis* jelenlétének kimutatására alkalmas. A bőr-dirofilariosist okozó *D. repens* egyre gyakoribb előfordulása, valamint közegészségügyi jelentősége (Muró és mtsai., 1999; Pampiglione és mtsai., 1995) miatt növekszik az igény a kórokozó gyors, specifikus és minél egyszerűbb diagnosztizálására. Az utóbbi években kifejlesztettek néhány, ennek a fajnak a meghatározására specifikusan alkalmas vizsgálati módszert.

A filarioida-fertőzöttség kiderítésére rutinszerűen használt módszerek közé tartoznak a mf-k kimutatását célzó vérvizsgálatok: vérkenet készítése, hematokritmódszer, módosított Knott-féle módszer és mikroszűrés. A mf-k faji meghatározására a következő vizsgálatok használhatók: festési eljárások (savanyú foszfátáz), szerológiai módszerek, valamint a legspecifikusabbnak tekinthető, a kórokozó DNS-ének meghatározására alkalmas molekuláris biológiai vizsgálatok. Fontos része a diagnosztikának (amennyiben lehetőség van rá) a kifejlett férgek morfológiai és PCR-vizsgálata. A ragadozóknál előforduló legfontosabb négy faj identifikálását segítő néhány morfológiai bélyeg a **6. táblázat**ban látható.

6. táblázat: Ragadozóknál élő néhány filarioida faj jellemzőbb morfológiai bélyegei

		<i>D. repens</i>	<i>D. immitis</i>	<i>A. reconditum</i>	<i>A. dracunculoides</i>
Féreghossz (mm)					
ivarérett	nőstény	106-170	250-300	21-25,5	35-55
ivarérett	hím	50-70	120-180	9-17	15-31
Féregátmérő (µm)		370-650	480-1510	92-168	120-280
----- mikrofilária -----					
Morfológiai bélyeg		feji vég: lekerekedett, sima, a szájnyílás környéke üres farki vég: kampós, széles	feji vég: szájnyílás tájékán behúzóadás, kis kampó farki vég: egyenes, vékony	feji vég: kampós, farki vég: hajlott, vékony	feji vég: lekerekedett, hajlott, farki vég: egyenes, széles
Méret (µm)	Manfredi, 2001	300-360X6-8	290-330X5-7	269-283X4	190-247X4,2-6,5
	Eckert, 2005	205-360	220-340	220-280	185-260
	Tarello, 1999	325-375X7-8,3			

3.6.2. Mikroszkópos vérvizsgálati módszerek mikrofilária kimutatására

A közvetlen mikroszkópos vérvizsgálatok a legegyszerűbben kivitelezhető, gyors, különleges eszközöket nem igénylő módszerek. A vastagcsepp vizsgálat nagyon egyszerű diagnosztikai módszer, amely nem igényel nagy szaktudást, de alkalmas a fertőzöttség gyors kimutatására. Egy csepp vért helyezünk a tárgylemez felületére, majd natívan fénymikroszkóp alatt keressük a mozgó mf-kat. Vékony vérkenet készítése során egy kis csepp vért oszlatunk el a tárgylemez felületén, majd szárítás, fixálás (metil-alkohol) és festés (Giemsa, hematoxilín-eozin) után vizsgáljuk fénymikroszkóppal. Vastag vérkenet esetében három csepp vért a tárgylemez 2 cm²-es területére húzunk szét, majd szárítás után, a kenet világossá válásáig (a hemoglobin kioldódásáig) desztillált vízbe mártva tartjuk. Ennél az eljárásnál is a szárítást, fixálást és a festést követően mutathatjuk ki a mf-kat. A vérkenetvizsgálatok nagy hátránya, hogy csak néhány csepp vérnek a mf-tartalmát tudjuk vizsgálni, így enyhébb fertőzöttség esetén nagy az esély, hogy nem kerül a vizsgálandó mintába mf (Kassai, 2011). A hematokritmódszer során a heparinos vért mikrohematokrit-csőben történt centrifugálás (1500-as fordulatszámmal, 1 percig) után vizsgáljuk. Ezzel a technikával csak akkor tudjuk megállapítani a fertőzöttséget, ha nagyszámú, élő mf található a vérmintában. Amennyiben a fehérvérsejtréteg táján élénk mozgást tapasztalunk, akkor a mkfi mértéke eléri az 50 mf/ml értéket. A módosított Knott-módszer (Knott, 1939) széles körben alkalmazott eljárás a mkfi kimutatására. A legtöbb laboratórium ezt a technikát használja a *Dirofilaria*-fertőzöttség felderítésére. Viszonylag gyorsan és egyszerűen kivitelezhető eljárás, mellyel a mf-k jelenlétének kimutatása mellett a fajmeghatározás is lehetséges. A módszer kivitelezésében vannak apró eltérések laboratóriumoktól függően. A folyamat alapvetően négy lépésből áll, melyekkel a vérminta hemolízise, a mf-k rögzítése és festése végezhető el. Az alvadásban gátolt vér 1 ml-ét 9 ml 2%-os formalinoldattal rázás nélkül összekeverjük, majd 1500 fordulat/perc értéken 5 percig centrifugáljuk. A felülúszó leöntését követően az üledéket alaposan összekeverjük 1-2 csepp 0,1 %-os metilénkékoldattal. Az így kapott mintából tárgylemezre cseppentünk, a cseppet fedőlemezzel lefedjük, és fénymikroszkóppal vizsgáljuk (Kassai, 2011). Ha a mintánk tartalmaz mf-t, akkor a festés segítségével annak morfológiai jegyei alapján (**6. táblázat**) meghatározható a faji hovatartozás is, de ehhez nagy tapasztalat szükséges.

Mikroszűrés során alvadásban gátolt és hemolizált vérből 1 ml-t 3-5 µm-es pórusméretű szűrőn átréselünk, majd a szűrőt tárgylemezre helyezzük, festés, lefedés után mikroszkóppal vizsgáljuk (Difil-teszt volt a kereskedelmi forgalomban kapható változat neve, jelenleg nem

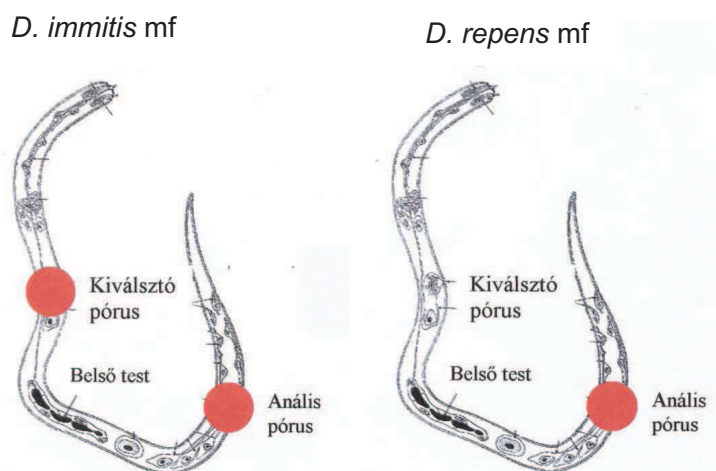
elérhető). Hasonlóan a módosított Knott-módszerhez, megfelelő tapasztalat birtokában használható (Kassai, 2011).

Mind a módosított Knott-módszernek, mind a mikroszűrésnek az előnye az előtte tárgyalt technikákkal szemben az, hogy koncentrációeljárásokról van szó. Vagyis nagyobb mennyiségű vérmintát tudunk a biztosabb mf keresés céljából könnyen és gyorsan átvizsgálni. Ahhoz, hogy egyéb specifikus módszerek használata nélkül meghatározzuk a mf faji hovatartozását, ismernünk kell a kutyákban előforduló filarioida mf-k morfológiai jellemzőit (**6. táblázat**). Ezeknek az adatoknak az ismeretében sem lesz azonban teljesen biztonságos az azonosítás, mivel a mf mérete és néhány egyéb jellemzője a fixálási eljárás függvényében változhat (Simón és mtsai., 2012; Manfredi és mtsai., 2001).

3.6.3. Fajmeghatározásra szolgáló módszerek

A festési eljárások, bonyolultságuk miatt, a PCR-technika térhódításával lassan kiszorulnak a laboratóriumi használatból. Magyarországi szakirodalmi adat nincs a módszer használatáról, de azokban az országokban, ahol a *D. immitis* gyakori, többféle festési eljárást is alkalmaznak. Ezek közül leggyakrabban használt a savanyúfoszfatáz-aktivitáson alapuló eljárás. Az utóbbi módszer lényege, hogy az Oncochercidae családba tartozó különböző filarioida fajok mf-i a festés után a testük más-más részén mutatnak áteső fényben pirosan fénylő (savanyúfoszfatáz-aktív) területeket (**2. ábra**).

A *D. repens* mf-eknek az anális póruson, a *D. immitis* mf-eknek a kiválasztó és az anális póruson, a *A. dracunculoides* egyedeinek pedig három helyen, a kiválasztó és az anális póruson, valamint az ún. belső testen vannak ilyen területei. *A. reconditum* esetében az egész mf diffúzan festődik. Ezt a festési eljárást a Barka-módszer (Barka és

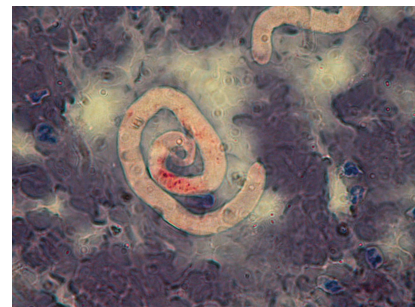


2. ábra: Savanyúfoszfatáz-aktív területek *D. immitis* és *D. repens* mf-n (McLaren, 1972 nyomán)

Anderson, 1962) szerint szokták elvégezni. A technika lényege, hogy az enzim a foszforsav-észtereket hidrolizálja savanyú közegben. A szubsztrátként használt különböző naphtol-foszfat

vegyületekből felszabaduló naphtol az inkubáló keverékben levő hexazóniumsóval (hexazotált fukszin) oldhatatlan azofestéket képez (Krutsay, 1980). Maga a festési folyamat igen hosszú, legalább tíz vegyületet tartalmazó, öt különféle reagens összekeveréséből áll. Ez a bonyolult eljárás képzett szakembert, megfelelő laborhátteret és sok időt követel, melyek miatt használata igen nehézkes. Tény azonban, hogy a módszerrel pontos fajmeghatározás lehetséges (Chaufoux és Hunt, 1978). Újabban néhány tudományos cikkben már olvashatunk az előbbi eljárás egyszerűsített változatáról is, amely hasonlóan megbízhatónak bizonyult (Lee és mtsai., 2004; Peribanez és mtsai., 2001).

A kereskedelmi forgalomban kapható egy, eredetileg a leukaemia diagnosztizálására szolgáló, szintén a savanyúfoszfátáz-aktivitás kimutatásán alapuló gyorseszteszt (Leucognost SP®, Merck, Darmstadt, Németország), mely lényegesen egyszerűsíti az eljárást (**8. kép**). Ennek alkalmazása alternatív lehetőség olyan laboratóriumok számára, ahol a PCR-módszer anyagi vagy technikai okokból nem áll rendelkezésre, de szükség van a *Dirofilaria*-fajok pontos meghatározására (Lee és mtsai., 2004; Peribanez és mtsai., 2001). Megjegyzendő azonban, hogy az eredmény értékeléséhez ebben az esetben is gyakorlott vizsgálóra van szükség, aki a mf morfológiájáról részletes ismeretekkel rendelkezik. Erre a gyakorlatban szerzett tapasztalatra pedig nem endémiás országokban nem könnyű szert tenni.



8. kép: *D. repens* mf Leucognost SP-vel festve (saját felvétel)

A szerológiai próbákat régóta rutinszerűen alkalmazzák a *D. immitis* fertőzöttség megállapítására. Ezeknek a vizsgálatoknak alapvetően három típusa ismeretes, azaz egyrészt a *Dirofilaria*-antigének (adult nőstény féreg antigénje), másrészt az ellenük termelődött ellenanyagok, harmadrészt pedig a *Dirofilaria*-fajokban élő endoszimbionta baktériumfajra (*Wolbachia* sp.) jellemző antigének ellen termelődött ellenanyagok kimutatása. Ezek a szerológiai próbák sokfélék lehetnek: IFA, ELISA, HA, immunkromatográfia. A gyakorlatban elterjedt, rövid idő alatt eredményre vezető gyorsesztesztek (kitek) (PetCheck, Dirocheck ELISA, IFA Heartworm Kit, Witness stb.) elérhetők. Jóval kevesebb a specifikusan *D. repens* meghatározására alkalmas szerológiai próba. Kereskedelmi forgalomban pedig egyáltalán nem lehet *D. repens* kimutatására alkalmas kitet találni. Egyes kutatóhelyek saját használatra kifejlesztettek egy-egy eljárást, de ezek a többi felhasználó számára nem hozzáférhetők. Egy amerikai felmérés során a vérben esetlegesen jelenlévő ellenanyag kimutatására *D. repens* antigénnel fedett polisztirollemezt használtak (Corning Incorporated, NY, USA) (Cancrini és

mtsai., 2000). A fajmeghatározás során sokszor úgy járnak el, főleg azokon a területeken, ahol a szívférgesség komoly állat-egészségügyi problémát jelent, hogy a *D. immitis* fertőződés felderítésére helyezik a hangsúlyt, azaz a kereskedelmi forgalomban szép számban kapható gyorsesztek egyikével határozzák meg vagy zárják ki a szívféreg jelenlétét, és a továbbiakban nem fordítanak figyelmet a *D. repens* kimutatására. A jövő útja mindenképp egy megfelelő gyorsesztt kifejlesztése lenne, mellyel könnyen, gyorsan és nagy biztonsággal lehetne megállapítani a *D. repens* fertőzöttséget. A dirofilariosis kórlefolyása miatt fontos a szerológiai próbák használata, főleg a szívférgesség esetében. Mivel hosszú, 6-7 hónapos PP időszak eltelte után alakul csak ki az egyéb módszerekkel kimutatható mkfi, fontos tudni, hogy a *D. immitis* specifikus ellenanyagok már néhány héttel korábban megjelennek a véráramban. Gyógykezelés után viszont sokáig kimutathatóak a már gyógyult egyedekben is az ellenanyagok, ezért a kezelés utáni 6. hónapban történő rutinellenőrzésre célszerű antigéntesztet alkalmazni (AHS, 2005). Másik gyakori probléma, hogy a szívférges esetek 30%-a okkult, vagyis nem jelentkezik mkfi, emiatt ilyenkor megint csak az antigén kimutatására hagyatkozhatunk (Simón és mtsai., 2012). Azokban az országokban, ahol a *D. repens* előfordulása dominál a *D. immitis*ével szemben, általában csak kevés szívféreg élőszködik egy gazdaszervezetben. Ez jelentheti, hogy csak egy adult nőstény féreg vagy csak egy hím példány található a szívben. Az AHS honlapja (AHS, 2013) szerint egy, míg olasz vizsgálatok alapján legalább kettő ivarérett nőstény szívféreg jelenlétére van szükség a pozitív eredményhez (Genchi, 2006). Így sajnos pont a tünetileg is kétséges, enyhe esetek diagnosztizálása bizonyul nehéznek.

A PCR-technika jelenti a legspecifikusabb kimutatási módszert, érzékenysége meghaladja a szerológiai eljárásokét. Terjedésével lehetőség nyílt a *Dirofilaria*-fajok egyértelmű elkülönítésére. A sikeres DNS-kimutatáshoz elegendő egyetlen mf jelenléte a vérmintában. Eddig legalább hat filarioida faj (*D. immitis*, *D. repens*, *A. reconditum*, *A. dracunculoides*, *Brugia pahangi*, *Brugia malayi*) egyedeinek jelenlétét tudják PCR-technikával vizsgálni (Rishniw és mtsai., 2006). Ez igen fontos lehet egyes területeken a vegyes fertőzöttségek elkülönítéséhez is. Továbbá ez a fajmeghatározásra alkalmas módszer hasznos lehet akkor, ha hiányzik a vizsgálók megfelelő tapasztalata a morfológiai jellemzők alapján történő elkülönítéshez. A vizsgálat során alapvetően kétféleképpen járhatunk el. Ha egy genusspecifikus (vagyis a nem valamennyi fajára jellemző) génszakaszt erősítünk fel (multiplex PCR), akkor további molekuláris biológiai módszerek szükségesek a pontos fajmeghatározáshoz. Az első módszer szerint a megfelelő restriktációs enzimekkel kisebb szakaszokra hasítjuk a PCR-terméket, majd az így létrejött nukleotidszakaszokat elektroforézis útján kimutatjuk. A fajmeghatározás a gélen

megjelenő jellegzetes mintázat alapján lehetséges (restrikciós térkép). Másik esetben a felerősített DNS-szakasz szekvenciáját határozzuk meg. Másrészt, ha egy fajra specifikus DNS-szakaszt választunk ki, ezt primerek segítségével sokszorosítjuk, majd az így kapott PCR-terméket elektroforézis útján kimutatjuk, ezzel igazolni tudjuk az adott kórokozó jelenlétét. Specifikus, csak a *D. repens* fejlődési alakjaiban meglévő génszakaszt találtak (Chandrasekharan és mtsai., 1994), melynek vizsgálatával a parazita bizonyítottan elkülöníthető más filarioida fajoktól. Összességében elmondható, hogy a *Dirofilaria*-fajok kimutatására több sikeresen alkalmazott klasszikus PCR alapú eljárást dolgoztak ki az elmúlt két évtizedben (Favia és mtsai., 1996; Mar és mtsai., 2002; Cancrini és mtsai., 2003; Casiraghi és mtsai., 2006; Rishniw és mtsai., 2006; Lee és mtsai., 2007). Ezek a módszerek bár jól használhatók a parazita DNS kimutatására, de sokszor bonyolult, lassú az elvégzésük, főleg abban az esetben, ha szimultán több féregfaj okozta fertőzöttséget kell igazolni. 2010-ben Gioia és munkatársai kifejlesztettek egy egylépcsős multiplex PCR módszert, mely már gyorsabb identifikációt tesz lehetővé, emellett meghatározták az eljárás érzékenységi küszöbét is, eszerint 4 mf/ml vér mennyiségnél már kimutatja a mintában lévő DNS-t. Ennél is egyszerűbb diagnózist ad a valós idejű (real-time) PCR módszer alkalmazása, mely *D. immitis* meghatározására 2010 (Thanchomnang és mtsai., 2010), *D. repens* meghatározására 2009 (Duscher és mtsai., 2009), a két faj koinfekciójának duplex módon történő vizsgálatára pedig 2012 óta ismert (Latrofa és mtsai., 2012a). Továbbá 2012 óta multiplex rendszerben már az *A. reconditum*tól is elkülöníthetőek a *Dirofilaria*-fajok real-time módszerrel (Latrofa és mtsai., 2012b).

Külön nehézséget jelent a dirofilariosis diagnózisa egyéb állatfajok, így macska, vadászgörény esetében. A fertőzöttség fennállásának kimutatása azért nem könnyű, mert ezekben a gazdafajokban a mkfi sokszor hiányzik vagy csak néhány mf kerül a véráramba. Ezért macska és görény szívférgességének kiderítésére nem is a keringő mf kimutatáson alapuló eljárások ajánlottak, hanem elsősorban a szerológiai próbák. További nehézséget jelent viszont, hogy macskákban gyakran elakad a féreg fejlődése illetve csak egy adult hím található a szervezetben, így az ivarérett nőstény féreg antigént detektáló rendszerek fals negatív eredményt adhatnak. Sajnos bőrférgesség gyanújakor ezek a módszerek nem állnak rendelkezésre, emiatt a diagnózis felállítása a fertőzött állatok csak kis százalékában lehetséges (Simón és mtsai., 2012).

3.6.4. Klinikai vizsgálatokon alapuló diagnosztikai módszerek

D. repens fertőzöttség esetén klinikai tünetek általában nincsenek, vagy jellegtelenek, esetleg olyan sokszervi elváltozások jelentkeznek, melynél nem gondolunk elsődlegesen a bőrférgességre. Emiatt klinikai diagnózisról csak abban az esetben beszélhetünk, ha az adult miatt kialakuló noduláris bőrelváltozás sebészi feltárásakor kihúzható a féreg, vagy szövettani minta elemzésekor vizualizálható a féregátmetszet (Albanese és mtsai., 2013; Rocconi és mtsai., 2012).

D. immitis fertőzöttség esetében viszont több klinikai vizsgálati módszer alkalmazható sikeresen szívférgesség gyanújakor. Az egyszerű fizikális vizsgálattal tapasztalható elváltozások együttes észlelésekor, így a levertség, fáradékonyság, dyspnoe, köhögés, súlyos esetben ájulás, ascites, végtag ödéma felmerül a szívférgesség lehetősége, és célzott további klinikai és laboratóriumi vizsgálatok elvégzése javasolt. Képkötő eljárásokkal segíthetjük a diagnózis kialakítását, továbbá információt nyújtanak a kórkép súlyosságáról. Röntgen vizsgálattal láthatóvá tehetjük a kitágult tüdőereket, a tüdőparenchymában lévő elváltozásokat, a jobb szívfélmeagnagyobbodást, valamint a mellúri folyadékgyülem jelenlétét. A parazitaterhelés megítéléséhez már echocardiographiás vizsgálatra van szükség, mellyel vizualizálhatjuk a szívben és az arteria pulmonalisban lévő férgeket, melyek ilyenkor két párhuzamos echodús vonalként ábrázolódnak. Szívultrahanggal természetesen a szívférgesség stádiumának megfelelő szívelváltozásokat is vizsgálhatjuk. Doppler módszerrel a pulmonáris nyomásfokozódás mértékét tudjuk megállapítani. Súlyos fokú szívférgesség esetén mindenképp szükség van az echocardiographiás vizsgálat elvégzésére, mivel a megfelelő terápiás megoldáshoz ismerni kell a féregterhelés mértékét és a kórkép súlyosságát (Simón és mtsai., 2012).

Macskák *D. immitis* fertőzöttségénél 6 hónappal az L3-k beoltását követően röntgennel detektálható tüdőelváltozások jelentkeznek, így tüdőrajzolatbeli eltérés valamint a tüdőparechimában radiodenz területek figyelhetők meg (Simón és mtsai., 2012).

3.6.5. A dirofiláriák kimutatása a szúnyogokban

A szúnyogok begyűjtése után a fajmeghatározásig, molekuláris vizsgálatokig az egyedek tárolhatók száraz vagy fagyasztott mintaként valamint fiziológiás sóoldatban, 70%-os alkoholban és isopropanolban. Egyedül a formalinos tartósítás kerülendő, mert az csökkenti a PCR hatékonyságát (Anyanwu és mtsai., 2000; Cancrini és mtsai., 1996; Cancrini és mtsai., 2003;

Lee és mtsai., 2007; Manfredi és mtsai., 2001). Szúnyogok boncolása során, elválasztva a fejtőri részt a potrohtól– néhány csepp metilénkéket tartalmazó fiziológiás sóoldatban, alacsony nagyítású mikroszkóppal vizsgálva – találhatunk bennük féreglárvákat. A féreg fejlődési stádiumától függően vagy a középbélben vagy Malphigi-csővekben (L1-L2), vagy a tori részben illetve a szívócsőben (proboscis) (L3) találhatóak meg a lárvák. Azt azonban, hogy *D. repens* vagy *D. immitis* fajról van szó, csak molekuláris vizsgálattal lehet megkülönböztetni, makroszkóposan nem (Anyanwu és mtsai., 2000; Cancrini és mtsai., 1996; Cancrini és mtsai., 2003; Kuzmin és mtsai., 2005; Lee és mtsai., 2007). A kutyák dirofilariosisának diagnosztikájánál leírt molekuláris módszerek közül valamennyi rendelkezésre áll a szúnyogból kivont DNS meghatározására is (Cancrini és mtsai., 1996; Lee és mtsai., 2007; Latrofa és mtsai., 2012a).

A szúnyogok esetében, ha szeretnénk tudni, hogy milyen fejlődési alakot találhatunk a vektorban, akkor először el kell választanunk a fej-tőri részt a potrohtól, majd ezeket kell 1 mm-es darabokra aprítanunk. A szúnyog fertőzöttnek tekinthető, ha a potrohában találunk a féregre jellemző DNS szakaszt, és fertőzőképesnek mondhatjuk, ha a fejtőri rész ad pozitív eredményt. A DNS kivonás kereskedelmi kit-tel vagy fenol-kloroformos eljárással történhet (Anyanwu és mtsai., 2000; Cancrini és mtsai., 1996; Cancrini és mtsai., 2003; Kuzmin és mtsai., 2005; Lee és mtsai., 2007).

3.7. A dirofilariosisok gyógykezelése és megelőzése

3.7.1. A *D. immitis* okozta szívférgesség gyógykezelése

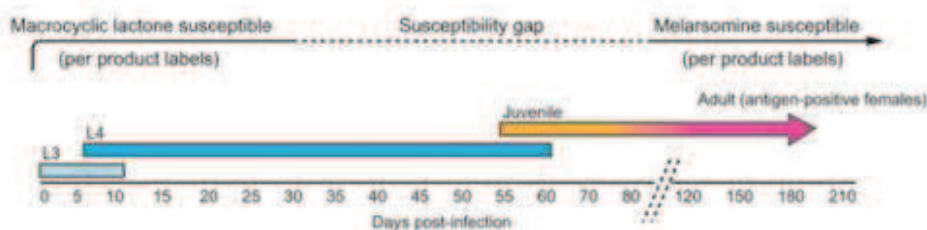
A szívférgesség gyógykezelésének mindenkor célja, hogy javítsunk a páciens klinikai állapotán, miközben valamennyi parazita fejlődési alaktól (mf, lárva stádiumok, juvenilis és adult féreg) mentesítjük lehetőleg minél kevesebb mellékhatás kiváltásával. Elsődleges feladat, hogy felmérjük a fertőzött kutya klinikai státuszát és meghatározzuk a szívférgesség súlyosságának stádiumát. A korábban részletesen ismertetett kórfejlődést felidézve az AHS felosztása szerint négy fokozatot különböztetünk meg, az enyhe, gyakran tünetmentes szakaszt, a közepes fokú, mérsékelt tünetekkel kísért szakaszt, a súlyos fokú szívférgességet, amikor már komoly, több szervrendszert érintő elváltozások alakultak ki, és az életet veszélyeztető „caval szindrómának” nevezett állapotot. Abban az esetben, ha a vizsgált kutya tünetmentes vagy enyhe stádiumban van, akkor a kezelés viszonylag kockázatmentesnek tekinthető, és akár halasztható is. Amennyiben viszont mérsékelt, súlyos vagy életet veszélyeztető állapotban érkezik kezelésre, akkor a stabilizálást követően nyomban meg kell kezdeni az adulticid kezelést. Ilyen esetben gyakrabban lép fel a kezelést követően mellékhatás, ezért már előre kiegészítő terápiában javasolt részesíteni a beteget. Ahhoz, hogy korrekt módon felmérhető legyen egy szívférges állat státusza és a thromboembolia kialakulási esélye, három dolgot érdemes vizsgálni. Egyrészt ismerni kell az esetlegesen jelenlévő társbetegségeket, mivel egy egyidejűleg fennálló egyéb kórfolyamat súlyosbíthatja a szívférgesség lefolyását, valamint rontja a kezelés eredményességét. Továbbá a prognózis megfelelő meghatározásához javasolt felmérni a kutya életmódját is, mivel a kórlefolást ismerten súlyosbítja a fokozott megterhelés. Aktív munkakutyáknál illetve sokat mozgó egyedeknél várhatóan komolyabb klinikai tünetek jelentkeznek. Harmadrészt pedig meg kell határozni a féregterhelés mértékét, mely nagyban befolyásolja az alkalmazott terápiás protokollt (AHS, 2013). A féregterhelés megállapításához két vizsgálati módszert kell alkalmazni, szerológiai teszttel megállapítani az antigén mennyiségét, valamint ultrahanggal felmérni a féregszámot. Ezen kívül fontos befolyásoló tényező lehet a kutya mérete, mivel kistestű ebek körében jellemző a „caval szindróma” kialakulása (Venco, 2007a).

Ahhoz, hogy valamennyi fejlődési alakot eltávolítsuk a fertőzött kutya szervezetéből összetett kezelési protokollt célszerű használni. Az adult férgek eltávolítása két úton történhet, egyrészt gyógyszeresen, másrészt sebészi úton. A sebészi megoldást általában akkor javasolt elvégezni, ha kifejezetten nagy számú féreg található a szívhez térő nagy erekben, valamint ha

ezek átkerülnek a jobb kamrába a pulmonáris billentyűn keresztül, életveszélyes „caval szindrómát” kialakítva ezzel. Ilyenkor a jobb oldali véna jugularison keresztül bevezetett rigid krokodilcsipesszel ellátott katéterrel fluoroscope-os vizualizációval eltávolíthatóak a férgek a szív üregéből illetve az arteria pulmonalisból (AHS, 2013; Venco, 2007a).

A kifejlett férgek elpusztítására széleskörűen a melarzomin-dihidroklorid hatóanyagot tartalmazó (Immiticide®) injekciós készítményt alkalmazzák. A gyártó leírása szerint 2,5 mg/ttkg dózisban mélyen az ágyéki epaxonalis izmokba kell beadni a szert, majd 24 óra múlva megismételni a kezelést. Gyakori az injekció helyén jelentkező fájdalmas duzzanat kialakulása, melyet csökkenteni lehet a gyógyszer megfelelően mélyre történő beszúrásával. Újabb kutatások javasolnak egy harmadik kezelést is egy hónappal az első injekciót követően. A háromszor ismételt melarzomin terápia 98%-ban elpusztítja az adult férgeket a kutya szervezetében. Nagyon lényeges, hogy a kezelt kutyákat szigorú ketrecnyugalomban kell tartani, mert ilyenkor az elpusztuló férgek miatt megnő a thromboembolia kialakulási esélye, melyet az aktív fizikai tevékenység tovább fokoz (AHS, 2013). Emellett néhány kiegészítő terápiás megoldást is javasolt alkalmazni mielőtt beadjuk a injekciót a fertőzött kutyának. Így a glükokortikoidok közül a szakirodalom a prednizolon használatát hatékonynak tartja 2 mg/ttkg dózisban a tüdőbeli gyulladással és thromboemboliás folyamatok megakadályozására. Abban az esetben, ha a szívelégtelenség tünetekben is megnyilvánul, szükség lehet vízhajtók (furoszemid 1 mg/ttkg) és inotróp szerek (digoxin pitvar fibrillációkor) alkalmazására is (Venco, 2007a). A melarzomin csak a 4 hónapnál idősebb stádiumokra hat, az ennél fiatalabb alakokat nem pusztítja el. A makrociklikus-laktonok viszont csak a 2 hónapnál fiatalabb lárvákra vannak hatással. Emiatt létezik egy olyan 2 hónapos időintervallum, amikor nem tudjuk elpusztítani a férget. Ezt a terápiás rést szemlélteti a **3. ábra**.

A pontozott vonal mutatja a terápiás rést, amikor a *D. immitis* nem fogékony egyik hatóanyagra sem.



3. ábra: A *D. immitis* fejlődését szemléltető idővonal, feltüntetve a makrociklikus-laktonokkal és a melarzomin hatóanyaggal szembeni érzékenységet (AHS, 2013 nyomán)

A terápiás rés okozta problémát, úgy tudjuk megoldani, ha az adulticid terápia előtt 2-3 hónappal makrociklikus-laktonokat kezdünk adni havi rendszerességgel a szívférges állatnak. Így mire elkezdjük a melarzomin kezelést, már nem lesz olyan fiatal alak, melyre nem hatékony a készítmény, illetve ez alatt 2-3 hónap alatt azok a lárvastádiumok, melyeket nem pusztított el a makrociklikus-lakton kezelés már fogékonyak lesznek az adulticid terápiára (AHS, 2013).

A makrociklikus-laktonok (ML) közé tartozó ivermektin, milbemicin-oxim, moxidektin és szelamektin hatóanyagú gyógyszereket manapság széles körben használják a dirofilariosisok megelőzésére. Ezek a hatóanyagok nagyon jó terápiás és toxikus hatással rendelkeznek az L3, L4 és a mf-kkal szemben, továbbá elnyújtott alkalmazás mellett a fiatal féregalakokkal szemben is (AHS, 2013). Gyógykezelésre a korábban említett terápiás rés megszüntetése miatt használjuk, illetve a keringő mf-k elpusztítására. Ez utóbbi két ok miatt is fontos, egyrészt a mf-k szervezetet károsító hatását akadályozzuk meg, másrészt a mkfi-s kutyák rezervoár szerepét számoljuk fel.

Abban az esetben, ha nem áll rendelkezésre melarzomin hatóanyagú készítmény, létezik néhány alternatív lehetőség a szívférges ebek kezelésére. A napjainkban zajló *Dirofilaria*-fajokkal kapcsolatos kutatás jelentős része a *Wolbachia*-baktériumra irányul. Ennek oka, hogy antigenitásbeli tulajdonságai miatt szervesen részt vesz a dirofilariosis lefolyásának és a klinikai tüneteinek a súlyosításában, diagnosztikai célra felhasználható, valamint a baktériumra ható szerek egyben a fertőzött állat gyógykezelését is szolgálják. Az endoszimbionta baktériumra szükség van a féreg embrió termeléséhez, fejlődéséhez és életben maradásához is (Bazzocchi és mtsai., 2008). Szakirodalmi adatok szerint a tetraciklin és a doxiciklin antibiotikumok sikeresen használhatók a baktérium elpusztítására, ezáltal igazoltan gátolják a szívféreg mf termelését (Bandi és mtsai., 1999; Bazzocchi és mtsai., 2008; Smith és Rajan, 2000). Kutatások azt is igazolják, hogy bizonyos hosszán alkalmazott ML hatóanyagoknak van adulticid hatása *D. immitis* esetében. 16 hónapig tartó ivermektin kezelésnek részleges, míg legalább 30 hónapig tartó használatnak 100%-os adulticid aktivitása van (McCall, 2008; Venco, 2007a). A fentiek figyelembevételével abban az esetben, ha nem áll rendelkezésre melarzomin készítmény jelenleg a javasolt terápia ML és doxiciklin együttes alkalmazása. A kezelési protokoll szerint doxiciklint adunk a kutyának 10 mg/ttkg dózisban napi kétszer a 0-6., 10-12., 16-18. 22-26., 28-34. héten; mellette párhuzamosan havonta ML tartalmú készítményt alkalmazunk. A két szer kombinált használata szignifikánsan csökkenti a mkfi megszüntetéséhez szükséges időt valamint fokozza az adulticid aktivitást összehasonlítva az önálló ML vagy doxiciklin kezeléssel szemben (Bazzocchi és mtsai., 2008).

3.7.2. A *D. repens* okozta bőrférgesség gyógykezelése

Laboratóriumi vizsgálatokkal megállapított *D. repens* fertőzöttség esetén, ha klinikai tünetek nem tapasztalhatók, a gyakorlatban legtöbbször nem alkalmaznak semmilyen terápiás megoldást. Ha a kutya testfelületén csomó képződik bőrférgesség miatt, akkor a kezelés sebészi jellegű, vagyis eltávolítják a férget a bőr alatti kötőszövetből, sokszor a csomóval együtt (Simón és mtsai., 2012). Bár a bőrférgesség sokszor tünetmentes parazitózis, mégis javasolt lenne a fertőzött állatokat adekvát terápiában részesíteni, részben azért, hogy elkerüljük a keringő mf-k által kiváltott kórfolyamatokat, részben a mkfi-s kutyák jelentette rezervoár bázis felszámolására (Baneth és mtsai., 2002).

A kutatásaink megkezdésekor Magyarországon nem volt elérhető olyan engedélyezett gyógyszerkészítmény, melynek indikációjában a bőrférgesség terápiája szerepelt volna. A szakirodalomban fellelhető néhány közlemény szerint melarzomin és ML kombinációjával sikeresen kezelték a tüneteket mutató bőrférges kutyákat (Baneth és mtsai., 2002; Tarello, 1999). Egyik esetben doramektin injekciót (Baneth és mtsai., 2002), másik esetben ivermektin injekciót (Tarello, 1999) használtak a terápia során. A melarzomin beadását követően azonban erős mellékhatások jelentkeztek, úgy, mint általános gyengeség, vérhányás, étvágytalanság, tachypnoe, melyek több napon keresztül fennálltak (Baneth és mtsai., 2002).

D. repens embriótermelésére is hatással vannak a tetraciklin-típusú antibiotikumok a szívféreg kezelésénél leírtaknak megfelelően. Bőrférgesség alternatív kezelési megoldása lehet egy 30 napon keresztül napi kétszer alkalmazott doxiciklin kúra 10 mg/ttkg adagban. Bár arra nincsenek adatok, hogy a kifejlett férget elpusztítaná, de a keringő mf-k számát csökkenti (Genchi, 2006).

A saját vizsgálataink publikálása óta több egyéb közleményben is leírnak olyan kezelési megoldásokat, melyek sikeresen és biztonságosan használhatók a *D. repens* fertőzött egyedek terápiájánál. Így önállóan alkalmazott ML tartalmú készítményekkel a mf redukcióját lehet elérni, az adult feltételezett eliminációját a gyógyszer használat utáni 3-6 hónapos nyomonkövetési idővel lehet gyanítani. Moxidectin hatóanyag egyszeri és több hónapon keresztül tartó alkalmazását is vizsgálták, melynek során azt tapasztalták, hogy kifejezett mikrofilaricid és valószínűsíthető adulticid aktivitással is rendelkezik (Traversa és mtsai., 2011; Dobesová és mtsai., 2011). Ugyanezt az eredményt kapták egy tanulmányban, melyben moxidectin és melarzomin kombinációját használták (Pingen és mtsai., 2009). A közelmúltban a doxiciklin és ivermektin szimultán alkalmazását is vizsgálták, az eredmények megerősítik a korábbi

Wolbachia-baktériummal kapcsolatos kutatások alapján feltételezett *D. repens* elleni hatékonyságot (Gianelli és mtsai., 2013).

3.7.3. A dirofilariosisok megelőzése

A dirofilariosisok prevenciójának két alapvető módja van, egyrészt védekezhetünk repellens hatású szerekkel a szúnyogok támadása ellen (Morchón, 2009), másrészt ML-okkal (vagy dietilkarbamazin-citráttal) a szervezetbe jutó fiatal *Dirofilaria*-alakok kiirtásával megelőzhetjük a féreg kifejlődését (AHS, 2013; Genchi és mtsai. 2007; Bowman és Mannella, 2011). A *Dirofilaria*-fajok fejlődésének és életmódjának valamint egy adott ország klimatikus viszonyainak ismeretével meghatározhatjuk azt az időintervallumot, amely alatt a preventív készítmények alkalmazása szükséges. Ez hazánk vonatkozásában a kora tavasztól késő ősziig terjedő időszakot jelenti, mely idő alatt a vektor szúnyogok aktívak és fertőzőképes lárvákat ölthetnek be a gazdaszervezetbe. A kemoprofilaktikus szerek egész éven át tartó folyamatos alkalmazása általában nem javasolt (AHS, 2013), de van ezzel ellentétes vélemény is (Genchi és mtsai., 2007).

A szúnyogok távoltartásával csökkenthetjük a dirofiláriákkal való fertőződés esélyét, de teljes védelmet nem tudunk biztosítani. A vektorszám csökkenést okozó mezőgazdasági szúnyogirtás általában nem elegendő, hanem repellens hatású szerekkel egyedi kezelést is alkalmazni kell (Morchón, 2009). Igazi eredményt azoktól az inszekticid készítményektől várhatunk, melyek hosszú hatásúak. Magyarországon egy nyakörv és két rácseppentő oldat van kereskedelmi forgalomban, mely bizonyítottan tartós szúnyogellenes hatással rendelkezik (**7. táblázat**)

7. táblázat: Magyarországon kapható szúnyogellenes tartós hatású készítmények (Morchón, 2009 nyomán).

Hatóanyag	Készítmény	Gyógyszerforma	Mire hat?	Meddig hat?
Deltametrin	Scalibor	Nyakörv	repellens hatás inszekticid hatás	27 hét 16 hét
Permetrin (50%)+ Imidakloprid	Advantix	Rácseppentő oldat	repellens hatás (<i>Ae. aegypti</i> - <i>C. pipiens</i>)	2-4 hét
Permetrin (65%)+ Imidakloprid	Exspot	Rácseppentő oldat	inszekticid hatás repellens hatás	1-4 hét (90-50%) 1-4 hét (90-60%)

Kutatások kimutatták, hogy a doxiciklinnel kezelt mkfi-s kutyákból vért szívó szúnyogokban ugyan kialakul az L3, de nem lesz fertőzőképes (Morchón, 2009).

A kemoprofilaxis legfontosabb szereit a ML hatóanyagot tartalmazó készítmények. A ML vegyületek elpusztítják a szervezetben a 2 hónapnál fiatalabb fejlődési alakokat (L3 és korai L4), ezáltal gátolva a dirofilariosis megeredését a gazdaszervezetben (AHS, 2013; Bowman és Mannella, 2011). Az ivermektin, milbemicin-oxim, moxidektin és szelamektin hatékonyságát a dirofilariosis prevenció céljára számtalan tanulmány bizonyítja (Rossi és mtsai., 2002; Rossi és mtsai., 2004; Genchi és mtsai., 2002; Venco és mtsai., 2008; Arther és mtsai., 2005; Bowman és Mannella, 2011). A javasolt alkalmazási protokoll szerint 8 hetes életkorban kell kezdeni, majd havonta megismételni a kezelést a szűnyogszezon ideje alatt (AHS, 2013). Abban az esetben, ha mentes területről endémiás országba utazik egy kutya, akkor már az utazást megelőző hónaptól, a hazaérkezést követő hónapig profilaktikus kezelésben kell részesíteni.

Ha a profilaxis hiánya vagy nem megfelelő preventív kezelés miatt már kialakult pátens dirofilariosis áll fenn, akkor a ML-k óvatos alkalmazást igényelnek. Ha nagy mennyiségű mf kering a véráramban, azok hirtelen pusztulása mellékhatásokat válthat ki a kezelt állatnál (AHS, 2013). Ez a reakció jóval erősebb dietilkarbamazin-citrát tartalmú szer használatakor, tanulmányok azt mutatták, hogy ilyen esetben 10-ből 7 kutya súlyos tüneteket mutatott, egy pedig el is pusztult a kezelés után néhány órával. A ML hatóanyagok sokkal biztonságosabbak, még emelt dózis alkalmazásakor is csupán kevés állatnál alakultak ki enyhe elváltozások (Bowman és Mannella, 2011).

A ML tartalmú szerek alkalmazásánál arra is figyelni kell, hogy vannak olyan „collie” típusú kutyafajták, melyekben a P-glükoprotein zavara miatt az ivermektin származékok hiperszenzitivitási reakciót válthatnak ki. Gyógyszerbiztonsági vizsgálatok ellenben azt bizonyítják, hogy az előírt profilaktikus dózis betartásánál az érzékeny fajtákban sem keletkezett kóros válaszreakció (AHS, 2013).

A Magyarországon törzskönyvezett gyógyszerek közül három alkalmas a *Dirofilaria*-fajok elleni preventív kezelésre. Ezen készítmények adatait a **8. táblázat**ban mutatom be.

8. táblázat: Szívférgesség és bőrférgesség prevenciójára használható készítmények Magyarországon.

	Advocate®	Stronghold®	Milbemax®
Gyógyszerforma	rácseppentő oldat	rácseppentő oldat	tabletta
Hatóanyag	Moxidektin 2,5% + Imidakloprid 10%	Szelamektin	Milbemicin-oxim 1% + Prazikvantel 10%
Dózis	3 µg/ ttkg	6 mg/ ttkg	500-1000 µg/ ttkg
Törzskönyvi leírás	<i>D. repens</i> , <i>D. immitis</i> megelőzés	<i>D. immitis</i> megelőzés	<i>D. immitis</i> megelőzés

4. Anyag és módszer

4.1. A dirofilariosisok előfordulásának felmérése hazánkban

4.1.1. Országos felmérő vizsgálat

2005 és 2009 között országos szintű felmérést végeztünk (a Pfizer cég támogatásával). Eredeti terv szerint minden megyéből meghatározott számú mintát vártunk a helyi praktizáló kollégáktól. Ennek érdekében szakmai ismeretterjesztő előadás sorozatot tartottunk, felhívva a figyelmet a *Dirofilaria*-fajok növekvő jelentőségére hazánkban. Végül a felmérés során bizonyos megyékből a tervezettet jóval meghaladó számú minta érkezett, míg sajnos némelyikből csak igen kevés. Összességében 3104 kutya és 78 macska vérmintáját vizsgáltuk meg a felmérés keretében. Ezek közül 2260 kutya tulajdonos adatlapot (lásd **1. melléklet**) is kitöltött, melynek segítségével további információkat gyűjthettünk, úgy, mint a beküldő állatorvos adatai, tulajdonos lakhelye, kutya neve, neme, fajtája, kora, klinikai státusza, kiemelve a bőrgyógyászati panaszokat, esetleges laborvizsgálatai, különös tekintettel az eosinophil granulocytaszámra, a vizsgálatot megelőző parazita ellenes kezelése, továbbá az élőhely közelében lévő potenciális szúnyogtenyésző helyek, valamint az esetleges utazások belföldön illetve külföldön.

A levett 2-3 ml vért EDTA-s csövekben 4°C-on tároltuk a vérvizsgálat elvégzéséig. Minden beérkező vérmintát **módosított Knott-féle módszerrel** vizsgáltuk meg. Ehhez 1 ml vért használtunk fel, amelyhez hozzáadtunk néhány csepp 2 %-os szaponin oldatot és 5 ml desztillált vizet. Az immár hemolizált vérmintát 1000 min⁻¹ fordulatszámon 2 percig centrifugáltuk, majd az üledékből vett 0,5 ml-nyi mennyiséget tárgylemezen szélesztetve, fénymikroszkóppal 100-szoros nagyítás mellett vizsgáltuk. A megtalált mf-akat a meghatározott morfológiai bélyegek alapján 200-szoros nagyítással azonosítottuk. A mf-koncentráció szemikvantitatív meghatározását is elvégeztük a látóterenként megfigyelhető sűrűségüket elemezve. Ez alapján a pozitív eseteket három osztályba soroltuk (+, ++, ill. +++), melynek során egy kereszttel jelöltük a 0-tól 1-2 mf/ látótér koncentrációt, két kereszttel a 3-4, és három kereszttel az ennél nagyobb számú mf sűrűséget. A vérminták egy részét – amelyeknél elegendő mennyiség állt rendelkezésre – a későbbi vizsgálatokig -20°C-on tároltuk.

Molekuláris vizsgálatok:

A fagyasztott EDTA-s mintákból 143-at, továbbá kettő beküldött férget is PCR vizsgálatnak vetettünk alá. Közülük a molekuláris biológiai vizsgálatokat megelőzően módosított Knott-féle módszerrel pozitívnak 119, míg negatívnak 24 vérmintát találtunk. 143 vérmintánál *D. repens*, 24 mintánál *D. immitis* és 7 mintánál *A. reconditum* fajspecifikus PCR technikát alkalmaztunk. A

munkánk során használt PCR módszert a Milánói Állami Egyetem, Állatorvosi Fakultásának segítségével vezettük be és alkalmaztuk a felmérés során. A minták egy részének molekuláris biológiai elemzését Milánóban (Dipartimento di Patologia Animale Igiene e Sanità Pubblica Veterinaria, Sezione di Patologia Generale e Parassitologia, Università di Milano) végeztem.

A DNS kivonására két különböző technikát használtunk. 55 pozitív mintából DNeasy Blood & Tissue kit (Qiagen) segítségével vontuk ki a DNS-t a gyártó által megadott használati utasításnak megfelelően, a fennmaradó 88 mintából pedig fenol-kloroformos technikával, a következők szerint. 300 µl vérmintához hozzáadtunk 600 µl TNNT puffert (saját készítésű, detergens hatású oldat) és 40 µl proteináz K enzimet (20 mg/ml, Qiagen). 16 órás 56°C-os inkubációt követően 10 percig 95°C-on inkubáltuk a keveréket, hogy inaktiváljuk az enzim működését. Ezután 5 percre 20°C-os vízfürdőbe helyeztük, majd 700 µl fenol-kloroform-izoamil alkoholt (25:24:1, Sigma) adtunk hozzá. 1 percig tartó, 14000 min⁻¹ fordulatszámú centrifugálást követően a hidrofíll DNS-t tartalmazó felülúszót leszívtuk, az üledéket pedig eldobtuk. Az így nyert DNS-tartalmú oldathoz 900 µl 96 %-os etanolt és 45 µl LiCl-oldatot (3 M, saját készítésű oldat) adtunk, majd a keveréket 20 percig -25°C-on inkubáltuk. Ezt követően 20 percig 14000 min⁻¹ fordulatszámon centrifugáltuk, majd a felülúszót elöntöttük. Ezután hozzáadtuk 900 µl 70 %-os etanolt, 10 percig 14000 min⁻¹ fordulatszámon centrifugáltuk, majd ismét elöntöttük a felülúszót. A 10 perces száradási idő leteltével a kivont DNS-t 20 µl steril desztillált vízben reszuszpendáltuk.

A PCR reakció során a 12S riboszómális DNS régiót szaporítottunk fel. Ehhez egy fajspecifikus, nem konzervált régióhoz tervezett forward primert, valamint a filarioida férgekre jellemző szakaszra tervezett általános reverse primert használtunk (**9. táblázat**) (Casiraghi és mtsai., 2004; Casiraghi és mtsai., 2006).

9. táblázat: A fajspecifikus PCR-hez használt primerek *D. repens* és *D. immitis* esetében.

Faj	<i>D. immitis</i>	<i>D. repens</i>
Forward primer	(D. imm. - 12S F) 5'-ATTTGTTGTAATATTACGA-3'	(D. rep. - 12S F) 5'-ATGTTTTGATTTTTTTGTAT-3'
Reverse primer	5'-ATTGACGGATG(AG)TTTGTACC-3'	

A PCR reakcióelegyet a **10. táblázat**ban látható receptúra szerint állítottuk össze.

10. táblázat: 1 mintára vonatkozó PCR reakcióelegy (20 µl/minta végtérfogat)

		Mennyiség (µl)
Reagensek (Promega Corporation)	5x Green GoTaq Reaction puffer	4
	10 mM-os dNTP oldat	0,4
	100 µM-os reverse primer	0,2
	100 µM-os forward primer	0,2
	GoTaq polimeráz enzim (5U/µl)	0,2
	steril desztillált víz	14
	DNS izolátum	1
Összesen:	20	

Az amplifikálást T-Personal 48 (Biometra GmbH, Németország) típusú készülékkel végeztük, a **11. táblázat**ban látható amplifikációs hőmérsékleti profillal.

11. táblázat: PCR hőprofil

Lépések	<i>D. immitis</i>	<i>D. repens</i>
1. Denaturáció	94°C-on 45 másodperc	94°C-on 45 másodperc
2. Primer-kapcsolódás	48°C-on 45 másodperc	50°C-on 45 másodperc
3. Elongáció	72°C-on 90 másodperc	72°C-on 90 másodperc
Ciklusok száma	38	38

Az amplifikált termékekből 5-5 µl-t 1,5 %-os, 0,5µg/ml etidium-bromid tartalmú gélben, 80V feszültség mellett 35 percen át futtattunk. A gélt 0,75 g agarózból és 50 ml 1x-es TBE pufferből készítettük. Az elektroforézist követően a gélben megjelenő sávokat 312 nm-es UV fényforrással és Kodak Digital Science 1 D szoftvert alkalmazó Kodak DS Electrophoresis (Eastman Kodak Company, USA) dokumentációs rendszerrel fényképeztük. A képződött termék nagyságát GeneRuler 100-bp DNS molekulatömeg marker (MBI Fermentas) segítségével határoztuk meg.

Összehasonlításképpen 8 vérminta kivont DNS-ét nem csak a fent leírt fajspecifikus PCR technikával szaporítottuk fel, hanem kipróbáltunk egy ugyanezen az elven működő genuszspecifikus módszert is. Ebben az esetben a filarioida férgerekre jellemző szakaszra tervezett általános forward és reverse primert használtunk, ezáltal az így kapott, majd tisztított PCR terméket még szekvenálásnak kellett alávetni (Casiraghi és mtsai., 2006).

Ezen kívül két fajspecifikus módszerrel pozitívnak talált minta szekvencia-meghatározását végeztettük el a SZIE ÁOTK Állattenyésztési, Takarmányozástani és Laborállat-tudományi Intézetének Genetikai laboratóriumában. Ehhez előzőleg Wizard SV gel and PCR clean-up system kit (Promega Corporation) segítségével kitisztítottuk a két adott PCR terméket, a gyártó által megadott használati utasításnak megfelelően. A szekvencia-meghatározás BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) felhasználásával, ABI Prism 310 szekvenáló berendezéssel, mindkét irányban megtörtént. Az analízis eredményeként megkapott szekvenciát Chromas Lite v2.01 (Technelysium Pty Ltd) szoftver segítségével elemeztük, majd az NCBI génbank BLAST 2.2.15. programjának (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi>) segítségével azonosítottuk.

Szerológiai vizsgálatok:

Továbbá 125 mintát immunkromatográfiás szendvics elven működő antigén kimutató gyorstesztel (Speed ® Diro, BVT, Franciaország) is megvizsgáltunk. 56 vérminta a Knott módszer alkalmazásával előzetesen mikrofilária pozitív, míg 69 esetben negatív eredményű volt.

4.1.2. Laboratóriumi módszerek összehasonlítása

Az országos szűrővizsgálat során gyűjtött vérminták egy részénél több kimutatási módszert is alkalmaztunk annak eldöntésére, hogy mely eljárás bizonyul érzékenyebbnek a dirofilariosis detektálására. A módosított Knott-féle módszerrel valamennyi mintát megvizsgáltuk, ebből a korábban leírtaknak megfelelően 143-at *D. repens* specifikus PCR-nek is alávetettük. A gyakorlatban néhány diagnosztikai laboratórium illetve parazitológiai vizsgálatokat végző állatorvos vérkenet elemzéssel szokott következtetni a dirofilariosis fennállására. Emiatt igyekeztünk felmérni az érzékenységbeli különbséget a módosított Knott-féle módszer és a vérkenet vizsgálat között. E célból 58 mintából vérkenetet készítettünk és a SZIE ÁOTK Belgyógyászati Tanszék Laboratóriumával rutin hematológiai vérkenet elemzést kértünk, figyelemmel a mf-k jelenlétére.

4.1.3. Vemhes szukák és kölykeik vérvizsgálata

A felmérő vizsgálat során két alkalommal is találtunk féléves életkor alatti fertőzött egyedeket, mindkét esetben 2 hónapos kutyát. Az a tény, hogy a PP alatt mkfi mutatható ki, arra a lehetőségre engedett következtetni, hogy a fertőződés az anyaméhben keresztül következhetett be. Emiatt 22 vemhes szuka vérének vizsgáltuk meg módosított Knott-féle módszerrel (lásd előbb), továbbá a fertőzöttek bizonyult szukák kölykeiből is vért gyűjtöttünk még féléves koruk előtt, és ezekben a mintákban is mf-kat kerestünk.

4.1.4. Statisztikai elemzés

Az adatlapok statisztikai elemzéséhez Fisher-féle egyoldali próbát használtunk annak vizsgálatára, hogy van-e összefüggés a fertőzöttség mértéke és a kutyák neme, életkora, fajtája, életmódja és szőrhossza között. Binomiális egyoldali próba segítségével néztük, hogy az országos átlagtól való eltérés mértéke szignifikáns-e az élőhely, az életkor valamint az alkalmazott parazitaellenes kezeléstől függően (IDRE, 2013).

Az előző elemzés a kutyák nemének, korának, lakhelyének, életmódjának, kapott kezeléseinek a *Dirofilaria*-fertőzöttség előfordulásával való kapcsolatát vizsgálta. Azonban ezen változók korrelálnak egymással. Például az olyan kutyák, amelyeknek bőrtünetük van, gyakrabban kapnak bolha-kullancs elleni szert (korreláció=0,156). A vadászatra vitt kutyák és a vizslák között is jelentős a korreláció (0,299). Ezért amikor a vadászat hatásáról beszélünk, akkor áttételesen a vizslákról is szó van. Így a fertőzöttség mértékét befolyásoló hatások keverednek az előzőekben ismertetett próbák használatakor. Regresszió elemzéssel ezek a hatások jól elkülöníthetők, hiszen ott az adott változó hatását a többi változó változatlansága mellett értelmezhetjük. Mivel a cél annak megértése, hogy az előző változók miként befolyásolják, hogy egy kutya fertőzött lesz-e, ezért probit regressziót használtunk (Wooldridge, 2000). A függő változónk az, hogy a kutya fertőzött-e vagy sem, azaz ez egy kétértékű változó (értéke 1, ha fertőzött és 0 különben). A magyarázó változóink táblázatosan összefoglalva a **melléklet 7. táblázatában** láthatók.

4.1.5. Szúnyoggyűjtés, szúnyoghatározás, DNS kimutatás

Csípőszúnyogokat 2008 júniusától szeptemberig gyűjtöttünk Budapest és Miskolc területén. A helyszínek kiválasztása az országos *Dirofilaria*-szűrővizsgálat eredményei alapján történt, de a csapdák kihelyezhetőségét befolyásolta az időjárás és a közreműködő személyek elérhetősége. A csapdázást a SZIE ÁOTK Parazitológiai és Állattani Tanszék tulajdonát képező, John W. Hock Company által készített New Standard Miniature Fény Csapda 1012-es modelljével végeztük. A csapda előzőleg feltöltött akkumulátorral működik, amely egy fényforrást és egy ventilátort lát el energiával. A fény a csapdához vonzza a szúnyogokat, azok pedig a fényforrás alatt elhelyezkedő ventilátor szívó hatása miatt, beleesnek a gyűjtőhálóba. A ventilátor akadályozza meg azt is, hogy a már csapdába esett egyedek elrepüljenek.

Helyszínek:

1. Rákosliget, XVII. kerület, WOBE kft üzemeltette beagle tenyésztelep.

A gyűjtés időpontjai: 2008. augusztus 04., aug.15., aug.19. és aug. 27.

Itt a csapdát egy olyan épületen belül helyeztük el, ahol a kutyák éjszakai pihenőhelyei voltak szabad kijárással a kifutóikhoz. A csapdát szürkületkor üzemeltük be, ami körülbelül 180 cm magasságban lógott a talajtól. Reggelente a kutyák gondozója állította le a szerkezetet.

2. Csepel-sziget, XXI. kerület, Százszorszép utca (Ráckevei-Soroksári Duna-ágtól mintegy 500 méterre)

A gyűjtés időpontjai: 2008. június 21., 22., 23., augusztus 13., 18., 25., 28., szeptember 03., 10.

A csapdát a földtől kb. 30-50 cm-re faágakra akasztottuk.

3. Csepel-sziget, XXI. kerület, Szilvafa utca (magánház)

A gyűjtés időpontjai: 2008. szeptember 06 és 13.

A csapdát itt a ház előtt lévő teraszon helyeztük el.

4. Miskolc, Állatsegítő Alapítvány kutyamenhely

2008. augusztus 14-15-16-án.

Itt a csapdázást Dr. Farkas Róbert végezte.

A szúnyog meghatározást a SZIE ÁOTK Parazitológiai és Állattani Tanszékén végeztük Zelenka Éva szakdolgozatos hallgató és Nyárády Kata segítségével, Kenyeres és Tóth: Csípőszúnyog határozója (2008) valamint Mihályi (1955) kiadványa alapján. Először külön válogattuk a hím és nőstény egyedeket, ami az alapján lehetséges, hogy a hímek csápszőrei

erősen megnyúltak és dúsabban állók, így szabad szemmel is könnyen megállapítható az egyedek neme. Ezután sztereomikroszkóp alatt csak a nőstény egyedeket vizsgáltuk a további genus- és fajszintű meghatározás céljából.

A nembe sorolás legfontosabb határozó bélyegei a következők:

- a tapogató hossza a szívókához viszonyítva
- a szárny végső ere miként éri el a csúcsi (apikális) szárnysegélyt
- az elülső légzőnyílás előtti (prespiracularis) sörték megléte
- az elülső lábak 1. lábfejjének hossza a 2-5. lábfejekhez képest
- a farktoldalék (cercus) hossza
- a szárnypikkelyek szélesek vagy keskenyek

Kenyeres és Tóth: Csípőszúnyog határozó (2008) lépéseit követve jutottunk el a fajszintű meghatározásig, amit csak az *Anopheles*, *Aedes*, *Culex* nemekbe tartozó szúnyogokon végeztünk el. Az *Ochlerotatus* nembe tartozó egyedeket nem vizsgáltuk tovább, mert faji szintű meghatározásukat nem tudtuk elvégezni. A *Culiseta* nembe tartozó csípőszúnyogokat illetően pedig nem találtunk irodalmi adatot, ami a *D. repens* vektoraként említené.

A csípőszúnyogok beazonosítása után előkészítettük a molekuláris vizsgálatokhoz szükséges mintákat. A pool-mintákat a gyűjtés helye és a szúnyogok faja szerint alakítottuk ki, illetve a szúnyogok fejtőri részét elválasztottuk a potrohtól, így ezek is külön - külön mintákat alkottak. A mintákat **R**-rel és sorszámokkal jelöltük. Az **R** a *repens*-re utaló megnevezés. A mintacsoportok listáját részletesen a mellékletben tüntetem fel (**melléklet 3. táblázat**).

A szúnyog szövetmintákat 100 µl PBS oldatba helyeztük, és rögtön megkezdtük a DNS kivonást, amit a DNeasy Blood & Tissue kit (Qiagen) segítségével végeztünk el, a gyártó által megadott használati utasításnak megfelelően.

Valamennyi pool-mintán *D. repens* specifikus PCR módszert alkalmaztunk. A PCR reakció során a 12S riboszómális DNS régiót szaporítottuk fel. Ehhez egy fajspecifikus, nem konzervált régióhoz tervezett forward primert, valamint a filarioida férgekre jellemző szakaszra tervezett általános reverse primert használtunk (Casiraghi és mtsai., 2006).

Az amplifikált termékekből 4-4 µl-t 1,5 %-os, GelRed (Biotium, USA) tartalmú gélben, 100V feszültség mellett 30 percen át futtattuk. A gélt 0,75 g agarózból és 50 ml 1x-es TBE pufferből készítettük. Az elektroforézist követően a gélben megjelenő sávokat 312 nm-es UV fényforrással és Kodak Digital Science 1 D szoftvert alkalmazó Kodak DS Electrophoresis (Eastman Kodak Company, USA) dokumentációs rendszerrel fényképeztük. A képződött termék nagyságát GeneRuler 100-bp DNS molekulatömeg marker (MBI Fermentas) segítségével határoztuk meg.

4.2. Klinikai vizsgálatok

4.2.1. Laboratóriumi vizsgálatok elemzése

2007 októbere és 2008 augusztusa között 457 kutyától származó vérmintát gyűjtöttünk össze, amelyek mindegyikét a SZIE ÁOTK Központi Oktató Kisállat Kórház és Klinikájának betegforgalmából véletlenszerűen választottuk ki. A vizsgálatra szánt vérmintákat a Klinikán dolgozó állatorvosok vették le EDTA-s vérvételi csövekbe. A mintákat +4°C-on tároltuk, majd két napon belül feldolgoztuk.

A *Dirofilaria*-fertőzöttség fennállását módosított Knott-féle módszerrel vizsgáltuk meg. A vérminták egy részét – amelyeknél elegendő mennyiség állt rendelkezésre – a későbbi PCR vizsgálatokig -20°C-on tároltuk. PCR technikával összesen 75 vérmintát vizsgáltunk meg, amelyek közül előzőleg módosított Knott-féle módszerrel 51-et pozitívnak, 24-et pedig negatívnak találtunk. A *D. repens* specifikus PCR-t mind a 75 mintán lefuttattuk, illetve ezek közül 18 mintán a *D. immitis* specifikus PCR-t is elvégeztük.

Ez a 457 vérminta részét képezi az országos felmérő vizsgálatnak is, ezért most csak a klinikai vonatkozásait fogom elemezni. A vizsgálati módszerek leírása megegyezik az előző fejezetben találhatóakkal.

A Klinika elektronikus betegnyilvántartó rendszerét használva nyomon követtük a fertőzött egyedek egyéb betegségeit és tüneteit. Az összegyűjtött 457 vérminta esetében rendelkezésünkre állt a SZIE ÁOTK Belgyógyászati Laboratóriumában elkészített hematológiai és biokémiai vizsgálati eredmény is. A leletekből kigyűjtött adatokat feldolgozva, táblázatokban foglaltuk össze a vizsgálatba bevont kutyák vérvizsgálati eredményeit. A *D. repens* okozta fertőzöttségen kívül figyelemmel kísértük a vörösvérsejtszámot, a hemoglobin koncentrációt, a hematokrit értéket, a fehérvérsejtszámot, a neutrophil granulocyták százalékos arányát, az eosinophil granulocyták számát és százalékos arányát, a thrombocytaszámot, a *Babesia*-fertőzöttség fennállását, valamint az ALT, az ALKP, a GGT, az epesavak, az amiláz, a lipáz, a karbamid, a kreatinin, a CK és az LDH értékét.

A vérvizsgálati eredmények összesítése után nyert adatokat statisztikai elemzésnek vetettük alá. A szignifikancia-szintek meghatározása az ivararány és a *Babesia*-fertőzöttség esetében Fisher-féle egzakt próbával, a többi vérparaméter esetében a mediánok felhasználásával számított Mann-Whitney-Wilcoxon próbával történt (Conover, 1999).

4.2.2. *Dirofilaria repens* fertőzöttség és veseelváltozás közötti összefüggés vizsgálata

Az *D. repens* fertőzöttség esetén tapasztalható laborelváltozások elemzése során kapott eredmények miatt indokoltnak éreztük további klinikai vonatkozású vizsgálatok elvégzését. Így elkezdtük gyűjteni a SZIE ÁOTK Központi Oktató Kisállat Kórház és Klinika dolgozóinak segítségével azokat a vérmintákat, amelyeknél a Belgyógyászati Laboratórium előzetes vizsgálata során emelkedett veseparaméter értékeket találtak (karbamid, kreatinin). Továbbá szempont volt, hogy lehetőleg fiatalabb (kevesebb, mint 7 év) és egyéb ismert betegségben nem szenvedő állatoktól származzanak a vérminták. Összesen 13, a kritériumoknak megfelelő egyedet találtunk, melyek mintáit módosított Knott-féle módszerrel vizsgáltuk meg mf-kat keresve. Az általunk fertőzöttnek diagnosztizált egyedek közül két kutya elhullott a vizsgálat időszaka alatt. Az egyik eset külső klinikáról érkezett, csak *Dirofilaria*-vérvizsgálat és az elhullás utáni diagnosztikai boncolás történt az egyetemen. A másik esetről viszont az ambuláns kezelés, a diagnosztikai vizsgálatok, a kórházi kezelés is a SZIE ÁOTK Központi Oktató Kisállat Kórház és Klinikán zajlott. Az elhullott állatok a SZIE ÁOTK Kórbonctani és Igazságügyi állatorvostani Tanszéken kerültek kórbonctani és kórszövettani vizsgálatra. Itt vizsgálták a bőr alatti kötőszövetben esetleg megtalálható kifejlett férgek jelenlétét, valamint az elhulláshoz vezető okokat. A kórszövettani vizsgálat során, a formalinnal fixált metszeteket hematoxilin-eozinnal festve, és PAS-reakciót alkalmazva fénymikroszkóp alatt vizsgálták, kiemelt hangsúlyt helyezve a veseszövetben található elváltozások felderítésére. Mindkettőt részletesen tárgyalom az eredményeknél esetleírás formájában.

4.3. Terápiás vizsgálatok

4.3.1. Moxidectin (Advocate spot on)

Kutyák csoportosítása

Két terepkísérlet keretében hatékonysági vizsgálatot hajtottunk végre, egyiket (1. próba) Budapesten, másikat (2. próba) Pécsen (a Bayer gyógyszercég támogatásával). Az 1. próbában közvetlenül kiválasztott 28 kutya szerepelt, míg a 2. próbába véletlenszerűen válogatott 36 eb tartozott. A felmérésben különböző korú, fajtájú valamint mindkét nembe tartozó állatok vettek részt. A 64 kutya kiválogatásánál alapszempont volt, hogy valamennyi egyed legalább 6 hónapos, több mint 1 kg testtömegű legyen, továbbá pozitív eredményt adjon keringő *D. repens* mf vizsgálata során.

A kísérletben szereplő kutyák különböző körülmények között saját gazdáikkal éltek az 1. próba során, míg a 2. próbában résztvevő állatok valamennyien egy állatmenhely lakói voltak. Általános klinikai vizsgálatot hajtottunk végre minden vérvétel és kezelés alkalmával a teljes procedúra alatt. Kizáró tényezőnek számított, ha a kutya vemhes vagy szoptató, ha rossz általános állapotban lévő vagy súlyos szervi elváltozást mutató esetleg egyéb parazitás betegségben szenvedett, továbbá ha a vizsgálatot megelőzően 2 hónapon belül parazita ellenes kezelésben részesült. Mind a kísérlet kezdetén, mind a befejezésnél klinikai vizsgálatot végeztünk valamennyi állaton. Minden kezelés után figyelemmel kísértük az esetlegesen felmerülő káros mellékhatásokat.

Laboratóriumi vizsgálatok

A pozitív minták diagnosztizálásához módosított Knott-féle módszert használtunk. A mf-k identifikálásához a morfológiai kritériumokat vettük figyelembe, úgy, mint a méret (hossz és szélesség), valamint a feji és a farki vég alakulása. Az eredmények megerősítése érdekében a fertőzöttnek talált kutyák vérmintáit később egy multi-species PCR módszerrel vizsgálták meg. A DNS identifikálást Rishniw és mtsai. (2006) szerint Münchenben (Department of Comparative Tropical Veterinary Medicine, Munich, Németország) végezték. Mf számlálást 0,5 ml homogenizált EDTA-s vérből végeztünk, ennek során 5 csepp szaponin oldatot és 1 ml desztillált vizet adtunk a mintához, majd Nílus kézzel festettük. Centrifugálást követően a teljes minta mennyiségét fénymikroszkóp alatt 125x nagyításon vizsgáltuk.

Terápiás eljárás

A állatok kezelése különböző protokollok szerint Advocate® spot on készítménnyel történt, illetve voltak kezeletlen kontroll csoportok is. A dozírozást a gyártó által javasoltak szerint végeztük: 2,5-6,25 mg moxidectin / testtömeg kg, és 10-25 mg imidakloprid / testtömeg kg. A 44 kezelésben részesült kutya közül volt, amelyik 6 hónapon keresztül havi egyszer (összesen 22 eb: ebből 10 az 1. próba során, 12 a 2. próba során), mások 6 hónapon keresztül 2 hetente (összesen 17 eb: ebből 5 az 1. próba során, 12 a 2. próba során), illetve 3 hónapon át havi egyszer (összesen 5 eb az 1. próba során) kapott gyógyszert. 20 egyed maradt kezeletlenül, 8 az 1. próba és 12 a 2. próba során. Mf számlálást végeztünk az első kezelést megelőzően, a 2. héten, a 4. héten, majd azt követően 4 hetente egészen a 6. havi utolsó kezelésig. Ezeket az adatokat részletesen a melléklet **4. táblázat**ában mutatom be.

Hatékonysági mutatók és statisztikai elemzés

Két különböző hatékonysági mutatót számoltunk a hatékonyság elemzésénél. Az extenzeffektivitás (EE) esetében a mf mentes kutyák arányát néztük a 6 hónapig tartó megfigyelési időszak alatt kezdve az első hónaptól egészen az utolsó kezelésig. Az EE kiszámítása a különböző protokollú csoportoknál a következő formula alapján történt: $EE \% = (a \text{ kontroll csoportban lévő pozitív kutyák száma} - a \text{ kezelt csoportban lévő pozitív kutyák száma}) / (a \text{ kontroll csoportban lévő pozitív kutyák száma}) \times 100$. Az intenzeffektivitás (IE) a kutyákban keringő mf-k számának változását mutatja a 6 hónapos vizsgálati időszak alatt az első hónaptól az utolsó kezelésig. Az IE értékét a különböző protokollú csoportoknál a következő formula alapján számoltuk: $IE \% = (a \text{ kontroll csoportban lévő kutyák mf száma} - a \text{ kezelt csoportban lévő kutyák mf száma}) / (a \text{ kontroll csoportban lévő kutyák mf száma}) \times 100$.

A 2. próbában résztvevő kutyákat véletlenszerűen osztottuk három csoportba, így lehetőségünk volt statisztikai elemzés elvégzésére. Az értékelés megerősítése azon az elsődleges követelményen alapult, hogy a gyógyszer utolsó alkalmazását követő egy hónappal kezdődő hat hónapos megfigyelési időszak alatt fenn áll-e a mf-hiány. A statisztikai elemzést az IDV Gauting által gyártott Testimate Version 6.4 validált programmal végeztük.

Az 1. próba eredményeinek elemzését a véletlenszerű csoportba sorolás hiánya miatt csak szemléltető jelleggel végeztük el.

4.3.2. Szelamektin (Stronghold spot on)

Kutyák csoportosítása

A felmérést 2007. áprilisa és 2008. márciusa között végeztük egy beagle tenyésztelepen (a Pfizer gyógyszercég támogatásával). A kutyatelep Budapest külterületén található, közelében patak folyik, és nagy kiterjedésű nádas borította térség veszi körül, melynek köszönhetően a szúnyog sűrűség igen nagy. Az előzetes vizsgálatainkból tudtuk, hogy a telepen tartott kutyák *D. repens* fertőzöttségének mértéke nagyon magas, 46%-os. Összesen 78 félévesnél idősebb kutya vérmintáját vizsgáltuk meg módosított Knott-féle módszerrel mkfi kimutatás céljából. Ennek során 36 (46%) vérminta adott pozitív eredményt, közülük 23 egyedet (3 kant és 20 nőtényt, valamennyi életkora 6 hó és 5 év közötti) véletlenszerűen kiválasztottunk, hogy részt vegyenek a kísérletben. A résztvevő ebeket négy csoportba soroltuk a **12. táblázat** szerint:

12. táblázat: A kísérletben résztvevő kutyák csoportba sorolása.

	Szelamektines kezelés (Stronghold spot-on)			Kezelt kutyák száma
	Adag	Gyakoriság	Időtartam	
1. csoport	6 mg/ttkg	havonta	6 hónap	5
2. csoport	6 mg/ttkg	havonta	9 hónap	8
3. csoport	6 mg/ttkg	két hetente	6 hónap	5
4. csoport	6 mg/ttkg	két hetente	9 hónap	5

Laboratóriumi vizsgálatok

A szűrővizsgálatra alkalmazott módosított Knott-féle módszerrel pozitívnak talált mintákban lévő mf-k faji hovatartozását morfológiai kritériumok (méret, feji és farki vég alakulása) alapján elemeztük. Pontos faj identifikáció céljából a kísérletbe vont 23 kutya vérmintáját PCR technikával vizsgáltuk meg. A DNS kivonást 100 µl EDTA-s vérből DNeasy blood and tissue kit (Qiagen) használatával végeztük. Fajspecifikus PCR reakciót alkalmaztunk a *D. repens* és *D. immitis* mf-k diagnosztizálásához, és ehhez 12S általános reverse primert és fajspecifikus forward primert használtunk Casiraghi és mtsai. (2006) leírása szerint.

A résztvevő kutyáktól vérmintát vettünk a 0., 16., 28., 56., 84., 112., 140., 168., 196., 224., 252., 280., 308. és a 336. napon. Az 1. és a 3. csoport tagjaitól a 252. napig a 2. és a 4.

csoportba tartozó ebektől pedig a 336. napig gyűjtöttünk vért. A mintákból minden esetben mf számlálást végeztünk a korábban leírt módszer szerint.

Statisztikai elemzés

Az egyes csoportok között eltérést kerestünk Mann-Whitney-Wilcoxon teszttel arra vonatkozóan, hogy a csoportokon belüli egyedek kezdeti mf-száma, az első nullás mf számú illetve az először öt mf-nál kevesebbet tartalmazó minta megjelenéséhez szükséges idő milyen különbséget mutat. Sign tesztet alkalmaztunk a parazitaszám időbeli alakulásának vizsgálatához (Conover, 1999).

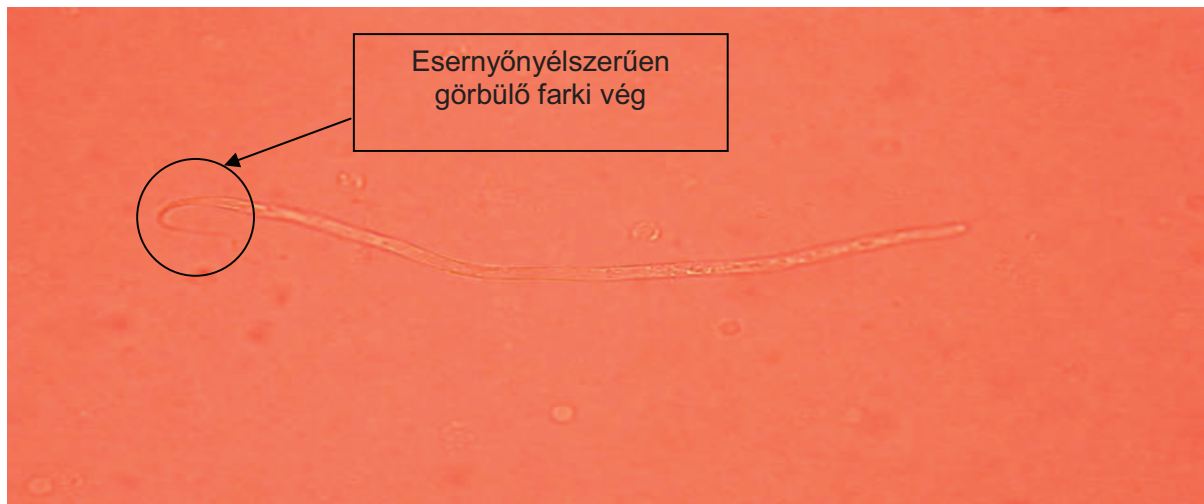
5. Eredmények

5.1. A dirofilariosisok előfordulásának felmérése hazánkban

5.1.1. Országos felmérő vizsgálat

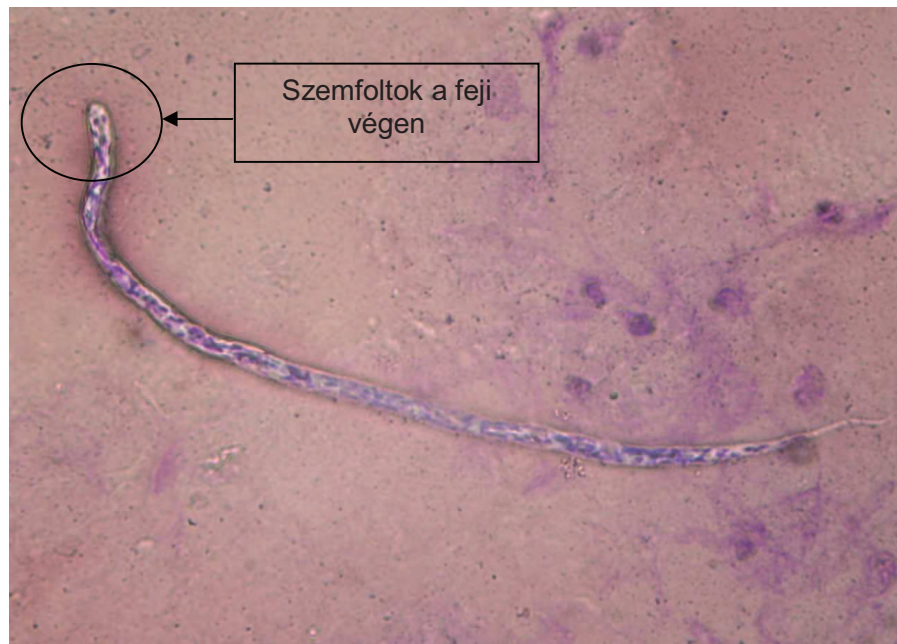
A módosított Knott-féle módszerrel megvizsgált 3104 kutya vérminta közül 563 bizonyult mf pozitívnak, ami 18,1%-os prevalenciát jelent. A 78 macskától származott minta elemzésekor 3 esetben (3,8%) állapítottunk meg mkfi-t. A mf-k morfológiai bélyegeit figyelembe véve 563 esetben *D. repens* jelenlétét diagnosztizáltunk, 2 esetben felmerült a *A. reconditum* fertőződés lehetősége. A két utóbbi vérmintában igen kis számú (egyik 1 mf/tárgylemez, másikonál 9 mf/tárgylemez) mf-át találtunk, melyek mérete jelentősen kisebb, alakja karcsúbb volt a *D. repens* esetében megszokottakhoz képest.

Az általunk megfigyelt morfológiai jellemzőknél figyelembe kell venni, hogy ezek a méretek a módosított Knott-féle módszer alkalmazása során, vagyis formalin helyett szaponin használatakor mérhető értékek. Mintáinkban a *D. repens*nek diagnosztizált mf-k mérete jellemzően a 360-390 µm x 6-8 µm-es tartományba esett, feji végükön megfigyelhető volt a jellegzetes két szemfolt, melyet egy kis, kevésbé festődő üres terület vett körbe (**10. kép**), továbbá a farki vég esernyőnyél szerű görbülete is általában felfedezhető volt (**9. kép**).



9. kép: a *D. repens* mf esernyőnyél szerűen görbülő farki vége (saját felvétel)

Ezzel szemben a két *A. reconditum* gyanús mintában a mf-k jóval kisebbek, körülbelül 260 µm hosszúságúak voltak, alakjuk vékonyabb, kevésbé vaskos volt, mint a megszokott *D. repens* morfológia, ezen kívül, ahogy a képen is látszik, a feji vég gyakorlatilag nem festődött, jelentős „üres” területet tartalmaz (**11. kép**).



10. kép: a *D. repens* mf feji vége, HE festett vérkenet (saját felvétel)



11. kép: az *A. reconditum* gyanús mf morfológiája, Nílus késsel festve (saját felvétel)

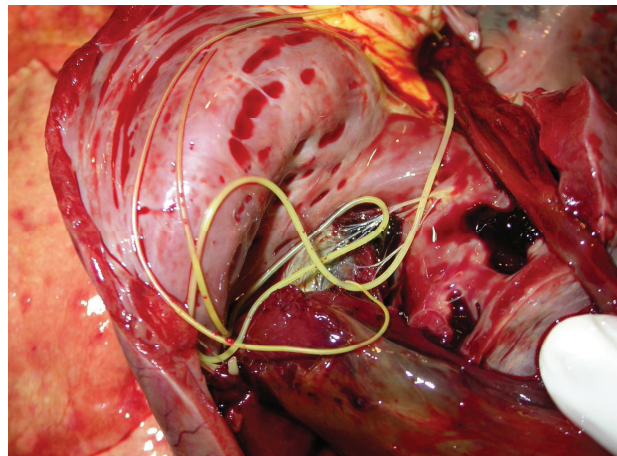
A vizsgálatunk 4 éven keresztül zajlott, így megvizsgáltuk az évenként elemzett minták prevalenciáját külön is. E szerint emelkedést figyelhetünk meg, a 2007-es és a 2009-es évben, vagyis az első két év 15% körüli értékéről jelentős növekedés tapasztalható (23,7% és 18,4%) (13. táblázat).

13. táblázat: Az országos felmérés kutyákra vonatkozó adatai a vizsgálat éve szerint

Vizsgálat éve	Összes minta	Pozitív minta	Prevalencia
2005	447	67	15%
2006	504	72	14,3%
2007	1064	252	23,7%
2008	812	121	14,9%
2009	277	51	18,4%

Szerológiai vizsgálataink során a gyorsteszt 124 esetben negatív, míg egyetlen alkalommal kétséges (halvány) pozitív elszíneződést mutatott. A kétséges minta esetében a vizsgált állattól ismételt vérvétel útján új mintát gyűjtöttünk, majd a teszt reprodukálását követően már negatív eredményt kaptunk. A *D. repens* fertőzöttséget támasztják alá a Knott vizsgálat során megfigyelt morfológiai jellegzetességek is.

Molekuláris biológiai vizsgálataink során a 143 vérmintából (Knott-féle módszerrel mf pozitívnek 119, míg negatívnek 24 bizonyult) 87 esetben a fajspecifikus *D. repens* PCR-rel pozitív, 56 esetben negatív eredményt kaptunk. A negatív eredmények 24 minta kivételével a szemikvantitatív Knott módszerrel korábban + vagy ++ mf koncentrációjúak voltak. A másik 24 vérminta a Knott-módszer szerint is negatív eredményt adott. *D. immitis* specifikus primerrel végzett vizsgálat során csupán egy alkalommal eredményeztek pozitív eredményt. Ugyanez a minta fajspecifikus *D. repens* PCR-rel is pozitív lett. A Knott módszer során felfedezett nagy számú (+++), morfológiai kritériumok alapján összességében inkább *D. repens* faji bélyegeket mutató mf-akat találtunk. Ebben az esetben kettős fertőzöttséggel álltunk szemben, melyet a kórbonctani vizsgálat is megerősített, melynek során két adult szívféreg került elő a jobb szívfélből (12. kép). Ez a 2007-



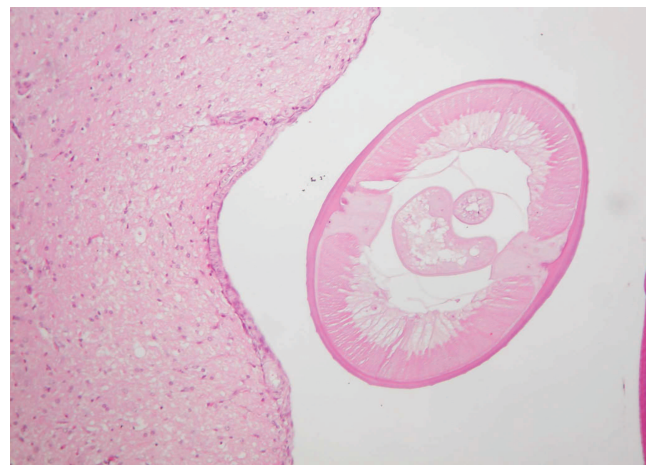
12. kép: Kifejlett *D. immitis* férgek a jobb szívfélben (fotó: Dobos-Kovács Mihály)

ben elhullott, *D. immitis*szel fertőzött magyar vizsla az első bizonyítottan autochton módon fertőződött kutya hazánkban. A két feltételezetten *A. reconditum* mf-akat tartalmazó vérminta közül az egyik esetében a fajspecifikus *D. repens* PCR vizsgálat pozitív lett, az *A. reconditum* specifikus PCR viszont egyik esetben sem adott pozitív eredményt. A szekvenálás során a vizsgált 8 mintából 7 *D. repens*nek bizonyult, egy esetben értékelhetetlen eredményt kaptunk. Ez utóbbi abból az *A. reconditum* gyanús mintából származott, mely fajspecifikus vizsgálattal nem lett *D. repens* pozitív. A két féreg PCR vizsgálata, a morfológiai jellemzők alapján végzett fajmeghatározással egyezően, *D. repens* eredményű volt.

5.1.2. Görényben talált *D. immitis* morfológiai és molekuláris vizsgálata

Bár vizsgálataink nagyrészt kutyák és macskák *Dirofilaria*-fajokkal történő fertőzöttségére irányult, más lehetséges gazdafajoknál is előfordulhat, mind *D. immitis*, mind *D. repens* fertőzöttség. 2009 elején egy görényből származó *Dirofilaria*-féreg valamint féregátmetszetet tartalmazó preparátum érkezett laborunkba további elemzésre. A fajmeghatározást egyrészt a féreg morfológiai bélyegeinek figyelembevételével, másrészt PCR vizsgálat alapján végeztük.

A kórbonctani vizsgálat során egy 23,2 cm hosszú és 0,5-0,6 mm átmérőjű, spirálisan csavarodott farki véggel rendelkező férget távolítottak el az arteria pulmonalisból, melynek kutikulája hosszirányban finom barázdáltságot mutatott. A feji vég közelében egy lekerekedett túske, míg a farki végnél 2 asszimmetrikus spiculum, egyik 153, másik 255 µm hosszúságú, továbbá öt preanálisan helyezkedő papilla volt megfigyelhető. A görény koponyájának megnyitásakor a foramen magnum területén subduralisan egy másik hasonló jellegű fonálférget találtak. Ez a nematoda nem került eltávolításra, hanem szövettani vizsgálat céljából az aggyal együtt 10%-os formalinoldatban fixálták. A szövettani metszeteken féreg harántmetszet látható a nyúltagy és a kisagy melletti subduralis részben (**13. kép**).



13. kép: *D. immitis* átmetszeti képe HE festéssel készült szövettani metszeten (fotó: Fok Éva)

A nematoda fénymikroszkópos morfológiai vizsgálata során *Dirofilaria*-féregnek bizonyult, azonban pontos faji hovatartozását nem tudtuk egyértelműen meghatározni. Ennek

oka két, egymásnak látszólag ellentmondó faji bélyegben keresendő, melyet az alaktani elemzés során találtunk. Miszerint, a kutikula hosszanti barázdáltsága, mely főleg a *D. repens*-re jellemző, és a méret illetve a jellegzetesen csavarodó farki vég, mely jellemzően *D. immitis*-nél fordul elő. Emiatt molekuláris biológiai módszert alkalmaztunk a kérdés eldöntésére. A mellkasból eltávolított fonálféreg egy darabjából DNeasy blood and tissue kit (Qiagen) segítségével kivontuk a DNS-t, majd 12S genus specifikus reverse és *D. repens* és *D. immitis* fajspecifikus forward primert használó PCR reakciót végeztünk (Casiraghi és mtsai., 2006). A PCR terméket 1,5%-os agarózgélen megfuttattuk, majd UV-fény segítségével vizualizáltuk az eredményt. Az elektroforézis után a *D. immitis*-re jellemző sávképződést figyeltünk meg, de a biztonság kedvéért a kivágott géldarabból kivont PCR-termék szekvenálására is sor került (Biomi kft, Gödöllő). A szekvenálás során 100%-os egyezést találtunk a *D. immitis* vonatkozó genomjával.

5.1.3. Laboratóriumi módszerek összehasonlítása

A 143 molekuláris módszerrel is vizsgált vérmintából 119 pozitív és 24 negatív eredményű volt a módosított Knott-féle módszer alkalmazása során. A 24 negatív minta közül PCR vizsgálattal egyik sem lett *D. repens* vagy *D. immitis* pozitív. A 119 Knott pozitív vérmintából csupán 87 esetben tudtunk *D. repens* DNS-t kimutatni. A másik 32 mintában sem *D. repens*, sem *D. immitis* pozitivitást nem detektáltunk. A korábban leírtaknak megfelelően ezek a negatív minták a módosított Knott-féle módszer során látóterenként kevesebb, mint 4 mf-t tartalmaztak. Százalékosan kifejezve a vizsgálataink alapján az általunk használt Casiraghi-féle fajspecifikus PCR módszer érzékenysége csak 73,1%-a a módosított Knott-féle módszernek.

A vérkenet vizsgálat érzékenységének elemzéséhez gyűjtött 58 vérmintából módosított Knott-féle módszerrel 40-ben találtunk mf-t, míg a vérkenetek laboratóriumi értékelése során csupán egyben fedeztek fel mf-t. Vagyis a vérkenet vizsgálat érzékenysége csak 2,5%-a a módosított Knott-féle módszernek.

5.1.4. Adatlapelemzés kutyák esetében

A lakóhelyét valamennyi, a vizsgálatban résztvevő állatnak ismertük, így erre vonatkozólag 3104 megfigyelésünk lett. Ez alapján a megyénként megfigyelhető prevalencia értékeket az alábbi **14. táblázat** és a **14. kép** szemlélteti. A 19 megyét illetve Budapestet figyelembe véve 20 egységre osztottuk az országot. Így tekintve 11 megyéből elegendő számú

(50 feletti) vérmintát kaptunk, míg 9 megyéből sajnos 50-nél kevesebbet. Kiemelkedően sok vérmintát sikerült gyűjteni Budapest, Pest, Baranya megyéből, megfelelően nagyszámút pedig Komárom-Esztergom, Fejér, Győr-Moson-Sopron, Hajdú-Bihar és Szabolcs-Szatmár-Bereg megyéből.

14. táblázat: A vizsgált minták megoszlása megyék szerint.

(Pirossal jelölve a kifejezetten nagy mintaszámú (200 feletti) megyéket, kékkel jelölve a 90-nél több mintát adó megyéket)

Megye	Vizsgált minták száma	Pozitív minták száma	Prevalencia
Budapest	1280	198	15,5%
Szabolcs-Szatmár-Bereg	149	40	26,8%
Borsod-Abaúj-Zemplén	53	9	17%
Hajdu-Bihar	92	11	12%
Heves	29	2	6,9%
Nógrád	15	7	46,7%
Jász-Nagykun-Szolnok	52	10	19,2%
Pest	274	72	26,3%
Békés	7	3	42,9%
Csongrád	54	17	31,5%
Bács-Kiskun	26	6	23,1%
Komárom-Esztergom	151	12	7,9%
Fejér	146	22	15,1%
Tolna	48	10	20,8%
Baranya	566	125	22,1%
Somogy	13	1	7,7%
Zala	8	0	0%
Veszprém	19	1	5,3%
Vas	23	0	0%
Győr-Moson-Sopron	99	17	17,2%

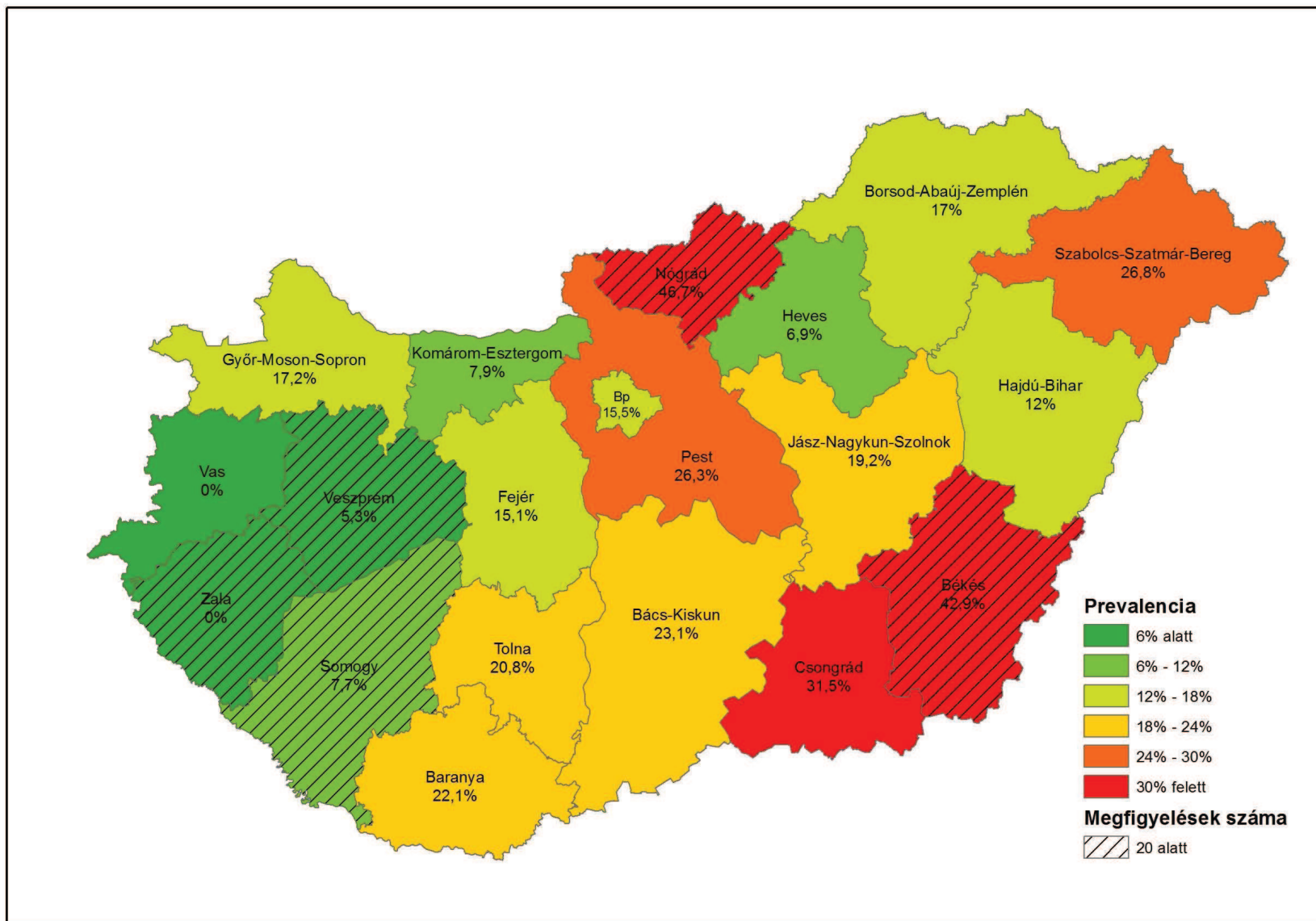
Érdekes megvizsgálni, hogy az országos prevalenciánál (18,1%) mely megyékben szignifikánsan nagyobb a fertőzöttség. Az egyoldali binomiális teszt azt mutatja, hogy 5 százalékos szignifikanciaszinten Szabolcs-Szatmár-Bereg, Nógrád, Pest, Csongrád és Baranya megyében nagyobb a prevalencia az országos átlagnál. Budapesten, Komárom-Esztergom és Vas megyében pedig számottevően alacsonyabb (szintén az egyoldali binomiális teszt alapján, 5 százalékos szignifikanciaszint mellett). A többi megyében a prevalencia nem különbözik szignifikáns mértékben az országos átlagtól. Bár több esetben az adott megyében tapasztalt prevalencia érték jelentősen eltér az országos átlagtól, szignifikáns különbséget nem tudtunk megállapítani az alacsony megfigyelési szám miatt.

A lakóhely ismeretével meghatározhatjuk azt a nagyobb folyót illetve tavat, amelynek vízgyűjtő területén élnek a vizsgálatban résztvevő kutyák. Így itt is megállapíthatunk prevalencia értékeket. A legtöbb vérmintát a Duna és a Tisza körzetében élő egyedektől gyűjtöttük, de érdekességképpen a Balaton és a Velencei-tó partjairól származó ebek vizsgálati eredményeit is kiemeltük (**15. táblázat**). Eszerint a Dunához közeli területeken 17,5%-os, a Tiszához tartozó részeken 22,3%-os, a Velencei-tó partján 18,2%-os, míg a Balaton környékén csupán 6,5%-os fertőzöttséget találtunk.

15. táblázat: A vizsgált minták megoszlása vízgyűjtőterületek szerint

Vízgyűjtő	Vizsgált minták	Pozitív minták	Prevalencia
Balaton	31	2	6,5%
Velencei-tó	22	4	18,2%
Duna	2513	440	17,5%
Tisza	422	94	22,3%

Míg a Tiszánál a fertőzöttség mértéke szignifikánsan magasabb (egyoldali binomiális teszt, 5 százalékos szignifikanciaszint mellett), addig a másik három vízgyűjtő terület esetén a prevalencia érték nem különbözik szignifikánsan ($p < 0,05$) az országos átlagtól. A Balaton esetén a p-érték 6,2%, azaz 10 százalékos szignifikancia szint mellett elmondhatnánk, hogy számottevően alacsonyabb a fertőzöttség mértéke.

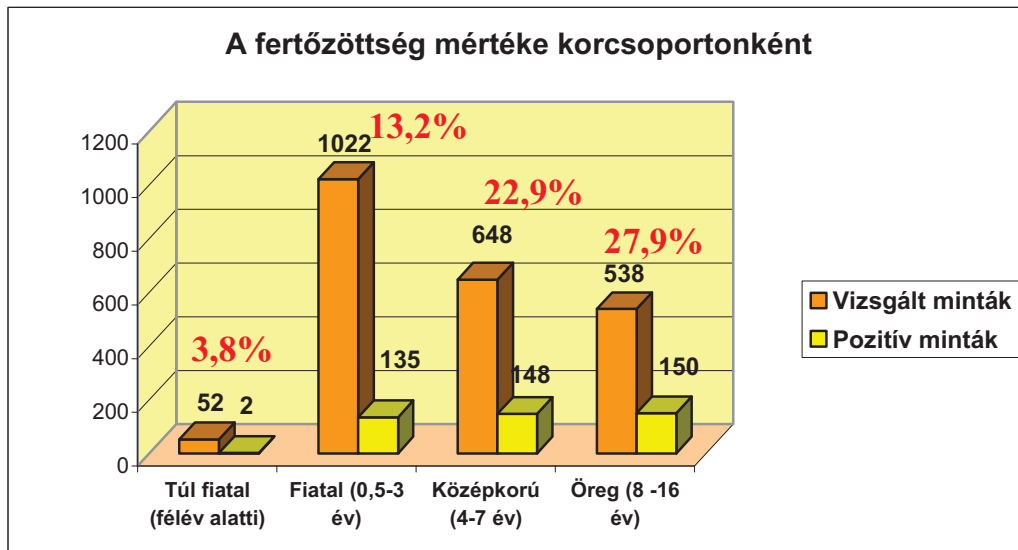


14. kép: A fertőzöttség mértéke hazánkban megyénként

A többi elemzési szempontnál már csak a teljes adatlappal rendelkező kutyákat vettük figyelembe, így összesen 2260 egyed. Közülük 435 bizonyult mkfi-snak, ami 19,2%-nak felel meg.

A vizsgálatba bevont kutyák között 1158 kan és 1102 szuka szerepelt. A kanok 21,7%-a (251 eb), a szukáknak viszont csupán 16,7%-a (184 eb) bizonyult fertőzöttnek. Az egyoldali Fisher-teszt egyértelműen azt mutatja, hogy a nőstények fertőzöttsége szignifikáns mértékben alacsonyabb (p -érték=0,002) a kanokénál.

A vizsgált és a pozitív minták életkor szerinti megoszlását is elemeztük, eszerint a legfiatalabb felmérésben résztvevő állat 5 hetes, míg a legidősebb 16 éves volt. A prepatens perióduson belül 2 egyednél már 2 hónapos korban mkfi-t diagnosztizáltunk. Rajtuk kívül a legfiatalabb fertőzött egyed 9 hónapos, a legidősebb 15 éves volt. A részletes eloszlást és a fertőzöttség mértékét a **melléklet 5. táblázata** és a **melléklet 1. ábrája** szemlélteti. Az alábbi diagramon (**4. ábra**) túl fiatal, fiatal, középkorú és öreg korcsoportokra bontva tüntetjük fel az eredményeket.



4. ábra: A vizsgált minták megoszlása korcsoportonként

Látható, hogy a különböző korcsoportokban a fertőzöttség mértéke nagyon eltér, és ezt az összefüggést a Fisher-teszt is alátámasztja (p -érték=0, ami azt jelenti, hogy a nullhipotézisünk, miszerint a kor nem befolyásolja a dirofilariosis előfordulását, és így

valamennyi korcsoportban hasonló a fertőzöttség mértéke, nem igaz). Az egyoldali binomiális teszt azt mutatja, hogy 5 százalékos szignifikanciaszint mellett a fertőzöttség szignifikánsan nő a korrall. Azaz a nagyon fiatal kutyákhoz képest az összes többi korcsoportban szignifikánsan magasabb a fertőzöttség. A fiatal kutyákhoz képest a középkorú és az öreg kutyáknál magasabb, míg a középkorú kutyákhoz viszonyítva az öreg kutyáknál számottevően nagyobb a dirofilariosis előfordulása.

Az egyoldali binomiális teszt azt mutatja, hogy 1 százalékos szignifikanciaszint mellett a túl fiatal, illetve a fiatal kutyák prevalencia-értékei (3,8%, valamint 13,2%) szignifikánsan kisebbek az országos átlagnál (19,2%). Ugyanez a teszt azt is mutatja, hogy a középkorú és az öreg kutyák fertőzöttségének mértéke (22,9% és 27,9%) szignifikánsan az országos átlag felett van.

A felmérésben elemzett vérminták összesen 109 különböző fajtájú kutyához tartoztak. Közülük a legtöbb egyed (775) keverék volt, ezt követte létszámban a német juhász (212), a golden retriever (73), a magyar vizsla (70) a labrador retriever (61), a tacsó (61), a spániel (50), a rottweiler (49), a boxer (45) és a staffordshire terrier (41) fajta. Az alábbi táblázatban tüntettük fel a minimum 10 egyedszámmal szereplő kutyafajták mintaszámát és fertőzöttségének mértékét (**melléklet 6. táblázat**).

A 109 fajta közül olyan csoportokat alkottunk, melyeknél feltételezhető a hasonló hasznosítás és testméret miatti közel azonos tartásmódjuk. Így egy csoportba soroltuk, mint nagy testű, hosszú szőrű, jellemzően extenzíven tartott őrkutyákat, a bernáthegyit, a berni pásztort, a kaukázusi juhászt, a komondort, a kuvaszt, a közép-ázsiai juhászt, a leonbergit, a moszkvai őrkutyát, a pireneusi hegyikutyát, a sárhegyit és az újfundlandit. Az ily módon létrehozott csoport 94 ebet tartalmazott, melynek 33%-a, azaz 31 kutya bizonyult fertőzöttnek. Ezzel szemben a kis testű, jellemzően kedvtelésből és lakásban tartott kutyák csoportjában, bár ez összesen 241 egyedet jelentett, mindössze 8, tehát 3,3% volt mkfi-s. Ebben az esetben a pekingi palotakutya, a shi-tzu, a spániel, a tacsó, a bichon havanese, a bichon bolognese, a brüsszeli griffon, a csivava, a kínai meztelen kutya, a máltai selyemkutya, a mopsz, az uszkár, a west highland white terrier, a pincser és a yorkshire terrier fajták egyedeit vettük figyelembe. Hasonló módon összeszámoltuk a vizslákból (magyar vizsla, német vizsla, pointer, olasz vizsla, weimari vizsla) vett vérminták eredményeit is, és így a 105 kutya közül 28 adott mf-át tartalmazó vért, ami 26,7%-nak felel meg. A vizslák közül 15 egyedet aktívan vadásztattak, és a megfigyelések szerint mintegy harmaduk, tehát 5 kutya fertőzött volt. Összevontuk a rövid szőrű, házőrzésre használt kutyafajtákat is, eszerint a rottweilert, a staffordshire terriert, a bullterriert, a

bullmasztiffot, a dobermannt, a tosa inut, az argentin dogot, a bordeaux-i dogot, a kanári-szigeteki kutyát, a fila brasileirot, a nápolyi masztiffot, a cane corsot és a német dogot tekintve 208 mintát vizsgáltunk meg, melyek 19,2%-a, azaz 40 bizonyult pozitívnak. Az előbb felsorolt 4 kategória szerinti eredményeket szemlélteti a **16. táblázat**.

16. táblázat: A vizsgált minták megoszlása fajtacsoportonként

Fajtacsoport	Vizsgált minták	Pozitív minták	Prevalencia
Óriás testű, hosszú szőrű őrző-védő fajták	94	31	33%
Kis testű, lakásban tartott fajták	241	8	3,3%
Vizslák	105	28	26,7%
Rövid szőrű őrző-védő fajták	208	40	19,2%

A Fisher-teszt alapján kijelenthetjük, hogy van kapcsolat a fajtacsoportok és a fertőzöttség mértéke között. Az országos átlaghoz képest az egyoldali binomiális teszt alapján 5 százalékos szignifikancia szint mellett az óriás testű, hosszú szőrű őrző-védőfajták és a vizslák esetében szignifikánsan magasabb, míg a kis testű, lakásban tartott fajták esetén számottevően alacsonyabb a fertőzöttség. A rövid szőrű őrző-védő fajták fertőzöttsége nem tér el szignifikáns módon az átlagtól. Ha egymáshoz hasonlítjuk a fajtacsoportokat ugyanezen teszt segítségével, akkor a kis testű, lakásban tartott fajták esetén a legkisebb a fertőzöttség, amelyeknél számottevően magasabb a rövid szőrű őrző-védő fajták fertőzöttsége. A másik két fajtacsoport fertőzöttsége számottevően meghaladja ezen utóbbi csoportét, de az óriás testű kutyák és a vizslák között már nem található szignifikáns különbség.

Megnéztük azt is, hogy önmagában a szőrhossznak mennyire van befolyásoló szerepe a fertőződés szempontjából. Eszerint a rövidszőrű fajták 673 példányát állítottuk szembe a hosszú szőrűek 811 egyedével. Első esetben 123 második esetben 160 pozitív vérmintát eredményezett, ami prevalencia értékben kifejezve 18,3% és 19,7%. A Fisher-teszt alapján kijelenthetjük, hogy a fertőzöttség mértéke és a szőrhossz között nincs kapcsolat (p -érték=0,507), vagyis nem különbözik szignifikáns mértékben a két csoport prevalencia értéke.

A *Dirofilaria*-fajokkal való fertőződés elengedhetetlen feltétele a szúnyog köztigazdákkal való találkozás és a vérszívás általi kontamináció. Ezért fontosnak tartottuk a kutyák közvetlen élőhelyének jellemzőit feljegyezni, hogy ezáltal következtethessünk számszerűen a potenciálisan szúnyogtenyésző helyek fertőződést kialakító szerepére. Emiatt az adatlapon

választ kértünk a kutyatulajdonosoktól, hogy található-e valamilyen folyó- vagy állóvíz a lakóhelyük közvetlen közelében. Ezen kívül az is érdekelt minket, hogy időszakosan ellátogatnak-e kutyájukkal valamilyen vízpartra, esetleg külföldre. Az adatok elemzése azt mutatta, hogy a 2260 felmérésbe vont kutya közül 1032 lakóhelye valamilyen vizes terület mellett feküdt. Az itt élő ebek 21 %-a, vagyis 217 példány bizonyult fertőzöttnek, míg a vízparttól távolabb lakó 1228 állat közül csupán 218, azaz 17,8%. Arra a kérdésre, hogy utaznak-e a kutyájukkal belföldön elhelyezkedő vízpartra, a tulajdonosok 327 esetben válaszoltak igennel. Közülük 50 egyed vérében találtunk mf-t, ami 15,3%-os fertőzöttséget jelent. Dirofilariosis szempontjából endémiásnak tekintett országba 74 kutyával látogattak el, közülük 12 eb vérmintáját találtuk pozitívnak (16,2%). A fertőződés körülményeit vizsgálva még további két kategóriát is alkottunk az adatlapos válaszok alapján. Az egyik a vadászni járó kutyák csoportja, ide mindössze 22 példány tartozott, melyeknek 31,8%-a bizonyult fertőzöttnek. A másik szempont szerint a hosszabb ideig menhelyen tartózkodó kutyáktól származó mintákat összegeztük, amelynek eredménye az lett, hogy 334 vizsgálatból 77, tehát 23,1% lett pozitív. Ezt az öt megfigyelést mutatja a **17. táblázat**.

17. táblázat: A vizsgált minták megoszlása élőhely/életmód szerint

Kategória	Vizsgált minták	Pozitív minták	Prevalencia
Vizes élőhely	1032	217	21%
Utazás vízpartra	327	50	15,3%
Utazás endémiás országba	74	12	16,2%
Vadászat	22	7	31,8%
Menhely	334	77	23,1%
Országos prevalencia (adatlapal rendelkezők)	2260	435	19,2%

A Fisher-teszt azt mutatja, hogy a fertőzöttség mértéke és az előző változók között van összefüggés (p -érték=0,035). Az egyoldali binomiális teszt azt mutatja, hogy 5 százalékos szignifikanciaszint mellett a vízpartra utazók között szignifikánsan alacsonyabb, a menhelyi kutyák között viszont számottevően magasabb a fertőzöttek aránya az országos átlaghoz képest. Bár a rendszeresen vadászó kutyák fertőzöttsége első látásra jóval meghaladja az országos átlagot, az alacsony mintaszám miatt a különbség nem szignifikáns.

A fent elemzett öt tényező figyelembevételével alkotott csoportok mellett elkülönítettünk egy hatodik csoportot is, melybe kenneles tartásmódú tenyésztelepen tartott rókakopó fajtájú

kutyák tartoztak. Ez a kutyatelep Budapest külterületén található, közvetlen környezetét nádas borítja, ahol a szúnyog sűrűség kifejezetten nagy. Bár ebbe a csoportba csupán 22 állat tartozik, de a közöttük tapasztalható nagyon magas prevalencia érték (22/15 pozitív = 68,2%) miatt indokoltnak éreztük a megkülönböztetésüket.

A *D. repens* okozta fertőzöttség klinikai vonatkozásában először általában a bőrgyógyászati elváltozásokat említik. A kérdőíven ezért szerepeltettünk egy erre vonatkozó szakaszt, melyen feltüntették a mintát beküldő állatorvosok az adott kutyánál előforduló bőrelváltozást, ideértve a bőr alatti csomókat is. 499 eb mutatott valamilyen dermatológiai problémát, közülük 80, tehát 16% volt mkfi-s is. A bőrgyógyászati elváltozással nem rendelkező kutyák között a fertőzöttek aránya 20,2%. A Fisher-teszt alapján a bőrtünet és a fertőzöttség között van kapcsolat (p-érték=0,04), azonban a számok azt mutatják, hogy a megfigyelt mintában a bőrtünettel nem rendelkező kutyák körében volt gyakoribb a fertőzöttség! Más szempontból nézve az összes 435 fertőzött kutya közül 18,4% szenvedett valamilyen bőrpanasztól.

Felmérésünk során figyelembe vettük, hogy a vizsgált állatok közül melyek kaptak a vérvételt megelőző hónapban parazita ellenes kezelést. Ez a tényező két szempontból is fontos, egyrészt a dirofiláriákat közvetlenül pusztító, másrészt a szúnyogcsípést megakadályozó hatása miatt befolyásolhatja a fertőzöttség mértékét. A kezelt kutyákat három részre osztottuk, egyrészt számoltuk azokat, amelyek csak bolha-kullancs elleni hatással rendelkező készítményt, másodsorban amelyek valamilyen mikrofilaricid hatóanyag tartalmú, harmadsorban pedig amelyek szúnyog elleni repellens hatást biztosító szert kaptak. Eszerint 201 eb részesült bolha-kullancs elleni kezelésben, közülük 30 bizonyult fertőzöttnek (14,9%). További 98 kutya kapott valamilyen mf-ára ható készítményt, és így 19,4%-uk vagyis 19 egyed mintája lett pozitív. A repellens kezelésben részesült 81 állatból csupán kettő esetében találtunk mf-át a vérmintában, ami szerint a fertőzöttség mértéke 2,5%. Attól az 1880 kutyától, amelyen semmilyen antiparazitikus szert nem alkalmaztak 20,4%-ban, tehát 384 esetben származott pozitív vérminta. Ezeket az eredményeket lásd a **18. táblázatban**.

18. táblázat: A vizsgált minták megoszlása az alkalmazott parazita ellenes kezelés szerint

Kategória	Vizsgált minták	Pozitív minták	Prevalencia
Bolha-kullancs elleni szer	201	30	14,9%
Mikrofilaricid hatóanyag tartalmú szer	98	19	19,4%
Szúnyog elleni repellens szer	81	2	2,5%
Semmilyen antiparazitikus szer	1880	384	20,4%
Országos prevalencia (adatlappal rendelkezők)	2260	435	19,2%

Az egyoldali binomiális teszt azt mutatja, hogy 5 százalékos szignifikanciaszint mellett csupán a repellens szer használata csökkenti szignifikáns mértékben a fertőzöttség mértékét, a bolha-kullancs elleni szerek és a mikrofilaricid hatóanyagú szerek esetén a fertőzöttség nem számottevően alacsonyabb az országos átlagnál. A bolha-kullancs elleni szerek esetén a p-érték 0,07, azaz 10 százalékos szignifikanciaszint mellett már számottevő a hatása.

Az eddig említett változókat együttesen probit regresszióval vizsgáltuk statisztikai szempontból. A következő regressziós táblázatban (**melléklet 8. táblázat**) a változók marginális hatásait ábrázoljuk. Ezek azt mutatják, hogy ha a többi változó átlagos értékeit vesszük, akkor a szóban forgó változó mennyivel növeli vagy csökkenti a fertőzöttség valószínűségét. Mivel nehéz értelmezni a többi változó átlagát (például a Tisza vízgyűjtő területéről származik a minták 18%-a, de nincsen 18%-ban a Tisza mellett élő kutya), így nem a konkrét számértékekre koncentrálnak, hanem csupán az előjelekre (pozitív/negatív előjel fertőzöttséget növelő/csökkentő változóra utal), illetve arra, hogy az adott változó hatása szignifikáns-e.

Meg szeretnénk ragadni a földrajzi elhelyezkedés hatását a regresszióban, amit a vízgyűjtő területekre vonatkozó kétértékű változókkal érhetünk el. Ha egyszerre szerepeltetnénk a felsorolt vízgyűjtő területeket a regresszióban, akkor hatásukat az a felsorolt vízgyűjtő területekhez nem tartozó megfigyelésekhez viszonyítanánk. Azonban ez az összehasonlítás nem természetes, hiszen nem egyértelmű, hogy a be nem sorolt megfigyelések prevalenciája mennyi és nem is világos, hogy miért ahhoz a mintához érdemes hasonlítani a felsorolt vízgyűjtő területekről származó mintákat. Úgy döntöttünk, hogy minden regresszióba csak egy vízgyűjtő területet szerepeltetünk, így az adott vízgyűjtő terület prevalenciáját az ország többi részéhez hasonlítjuk.¹

¹ A földrajzi elhelyezkedés hatásának vizsgálatához a regresszióba azért nem a megyéket választottuk, mert egyes megyékben nem volt pozitív megfigyelés, amiket a regresszió automatikusan kivesz és így az összehasonlítás a vízgyűjtő területekhez hasonló megfontolások miatt nehézkessé válik.

Az érthetőség kedvéért a regresszió készítésekor figyelembe vett változókat táblázatos formában összefoglaltam a mellékletben (**melléklet 7. táblázat**).

Az eredmények azt mutatják, hogy az összes felsorolt változó együttes vizsgálata mellett 5 százalékos szignifikanciaszintet használva a vizes élőhely, a kutyatelep és a menhely számottevően növeli a fertőzöttség valószínűségét. A kutyatelep hatása abból adódik, hogy az egyetlen - Budapest melletti - kutyatelepről származó minták túlnyomó része pozitív volt. A vízpartra illetve endémiás országba történő utazás és a vadászat nem hatott jelentősen a fertőzöttség kialakulására. A nőstények esetén szignifikánsan alacsonyabb volt a fertőzöttség kialakulása. A szőrhosszt tekintve a rövid szőr nem befolyásolta számottevően a fertőzöttség előfordulását, azonban a hosszú szőrű kutyák szignifikánsan nagyobb mértékben fertőződtek a minta adatai szerint. Itt meg kell jegyezni, hogy mivel a keverék ebek szőrhosszát nem ismertük, ezért ezeket a kutyákat nem soroltuk egyik csoportba sem. Emiatt a regressziós elemzés során ez a csoport képezte a viszonyítási alapot. A kor fontos tényező. A regresszióból a középkorú kutyák kétértékű változóját hagytuk ki, így a többi korra vonatkozó változó hatását ezen korcsoporthoz mérjük. A középkorú kutyákhoz hasonlítva a nagyon fiatal, illetve a fiatal kutyák esetén szignifikáns mértékben kisebb a fertőzöttség kialakulásának esélye. Az öreg kutyáknál azonban számottevően nagyobb az esély a középkorúakhoz képest. A bolha-kullancs elleni szerek, valamint a mikrofilaricid készítmények nem befolyásolják szignifikáns módon a fertőzöttség mértékét. A szúnyog elleni repellensek használata azonban számottevően csökkenti a dirofilariosis előfordulását. A bőrtünet szignifikáns módon befolyásolja a fertőzöttséget, meglepő módon számottevően csökkenti azt.² A rövidszőrű, nagytestű őrző-védő kutyák és a vizslák esetében az összes többi tényező változatlansága mellett nem nagyobb a fertőzöttek aránya. Az ölebeknél azonban szignifikáns módon ritkább, míg az óriástestű, hosszú szőrű őrző-védő kutyáknál gyakoribb a dirofilariosis előfordulása. A vízgyűjtő területeket tekintve, minden egyéb tényező hatását figyelembe véve kijelenthetjük, hogy a Balaton környékén kisebb a fertőzöttség mértéke, mint az ország többi részében, a többi vízgyűjtő terület esetén azonban nem találunk szignifikáns különbséget az adott terület és az ország többi része között.

Az együttthatók relatív nagysága megmutatja, hogy mely változók vannak a legnagyobb hatással a fertőzöttség kialakulására, illetve melyek hatnak ez ellen a leginkább. A kialakulást elősegítő változók közül kiemelkedik a kutyatelep, azonban ez az eredmény annyiban művi, hogy egy kutyatelepről vannak adatok, ahol nagyon magas volt a prevalencia. A második

² Az egyik regresszióban a bőrtünet csak 10 százalékos szignifikancia szint mellett szignifikáns.

legjelentősebb hatást az óriás őrző-védő kutyáknál figyelhetjük meg, az ilyen kutyák 10 százalékponttal valószínűbb, hogy fertőzöttek. Ez a hatás majdnem kétszerese az öregkor hatásának. A kialakulás ellen leginkább ható tényező az, hogy ölebről van-e szó. Az ebbe a kategóriába sorolt kutyák majdnem 17 százalékponttal kisebb eséllyel lesznek fertőzöttek. A szúnyog elleni repellens használatának hatása nagyságrendileg megegyezik az előző hatással. Jelentősen (több, mint 10 százalékponttal) csökkenti a fertőzöttség kialakulását, ha a kutya nagyon fiatal, illetve ha a Balaton vízgyűjtő területén él (**melléklet 8. táblázat**).

5.1.5. Vemhes szukák és kölykeik vérvizsgálata

A 22 vemhes szuka közül kettőt találtunk fertőzöttnek, kölykeik vérmintáiban azonban nem tudtuk mf-t kimutatni.

5.1.6. Szúnyoggyűjtés, szúnyoghatározás, DNS kimutatás

A 2008 júniusától szeptemberéig gyűjtött szúnyogok közül 235 nőstény csípőszúnyogot határoztunk meg genus szinten és 217-et faj szinten. Az általunk gyűjtött szúnyogok 5 nembe sorolhatók: *Anopheles*, *Aedes*, *Ochlerotatus*, *Culex*, *Culiseta*. A szúnyogcsapdázás eredményeit táblázatokban foglaltuk össze a könnyebb áttekinthetőség kedvéért (**19-22. táblázat**).

19. táblázat: A csapdázott csípőszúnyogok fajonkénti összesítése

<i>Culex pipiens</i>	150
<i>Aedes vexans</i>	45
<i>Anopheles maculipennis</i>	22
<i>Ochlerotatus</i> genus	14
<i>Culiseta</i> genus	4

20. táblázat: Rákosligeten gyűjtött szúnyogok: összesen 71 egyed

Gyűjtés időpontja	<i>C. pipiens</i>	<i>Ae. vexans</i>	<i>A. maculipennis</i>	<i>Ochlerotatus</i> sp
2008.08.04.	6	2	13	0
2008.08.15.	8	5	2	7
2008.08.19.	8	2	1	2
2008.08.27.	4	4	5	2
Összesen	26	13	21	11

21. táblázat: Csepel-szigeten gyűjtött szúnyogok: összesen 110 egyed

Gyűjtés időpontja	<i>C. pipiens</i>	<i>Ae. vexans</i>	<i>A. maculipennis</i>	<i>Ochlerotatus</i> sp	<i>Culiseta</i> sp
2008.06.21.	5	0	0	0	0
2008.06.22.	1	0	0	0	0
2008.06.23.	2	0	0	1	0
2008.08.13.	2	0	0	0	2
2008.08.18.	1	1	0	0	0
2008.08.25.	2	0	0	1	0
2008.08.28.	0	2	0	0	0
2008.09.03.	1	0	1	0	0
2008.09.06.	58	5	0	0	0
2008.09.10.	5	0	0	0	0
2008.09.13.	20	0	0	0	0
Összesen	97	8	1	2	2

22. táblázat: Miskolcon gyűjtött szúnyogok: összesen 54 egyed

Gyűjtés időpontja	<i>C. pipiens</i>	<i>Ae. vexans</i>	<i>Ochlerotatus</i> sp	<i>Culiseta</i> sp
2008.08.14-16.	27	24	1	2

Molekuláris vizsgálatokkal összesen 42 pool-mintában dolgoztunk fel 217 nőstény csípőszúnyogot, ezek közül 150 *C. pipiens*, 45 *Ae. vexans* és 22 *A. maculipennis* volt. A *D. repens* specifikus PCR-vizsgálat során a 42 mintából 14 (33,3%) bizonyult pozitívnak, a maradék 28 negatívnak. Az elektroforézist követően a gélben megjelenő sávokat lefényképezve, a képződött termékek nagysága elmaradt a kívánt 400-450 bázispártól. Termékeink a pozitív kontrollal együtt a 150-350 bázispárnyi nagyságokba estek. Pozitív kontrollként kutya vérből kivont *D. repens* DNS-t használtunk. Annak ellenére, hogy termékeink elmaradtak a kívánt bázispárnyi nagyságtól, a PCR vizsgálat érzékenysége és a használt primerek faj specifikussága miatt, továbbá, hogy a pozitív kontroll is alacsonyabb tartományba esett, pozitív eredménynek fogadtuk el ezeket (**melléklet 9. táblázat**).

A pozitív minták aránya szúnyogfajonként a következőképpen alakult:

A. maculipennis a 6 vizsgált mintából az összesben detektálható volt a *D. repens* specifikus DNS. Mind a fejtöri, mind a potrohi részekben, ami ebben az esetben azt mutatja, hogy a féreg fejlődése végigment a szúnyogokban, és L3-k beoltására lettek volna képesek.

Ae. vexans 10 vizsgált mintából 6 volt pozitív (60%), ebből két esetben (R2, R8) csak a potrohból volt detektálható a *D. repens*-re jellemző DNS szakasz, ezért feltételezhető, hogy ezekben a mintákban olyan szúnyog, vagy szúnyogok voltak, amelyek 10 napnál nem régebben szívhattak vért *D. repens*-szel fertőzött kutyából. Az R5-R6, R9-R10 párban vizsgált mintákban az, hogy az R5-tel és R9-cel jelzett fejtőri részeket tartalmazó minták is pozitívak lettek, azt mutatja, hogy ezek között a szúnyogok között, volt olyan, amelyben, vagy amelyekben végigment a parazita fejlődése, azaz L1-ből L3-má fejlődött a szúnyogban, és azt a következő vérszíváskor áldozatába juttathatta volna.

C. pipiens esetében a 26 mintából csak kettő volt pozitív (7,69%). A két minta ugyanazon egyedek egymáshoz tartozó fejtőri (R25)- potrohi (R26) részeit tartalmazta, így ebben az esetben is elmondható, hogy a mintákban lévő szúnyogok közül valamelyikben végigment a *D. repens* köztigazdához kötött fejlődése.

A pozitív minták gyűjtési hely szerinti megoszlása a következőképpen alakult:

Rákosligetén gyűjtött szúnyogokból 10 poolmintát vizsgáltunk, ezek közül 5 lett pozitív (50%).

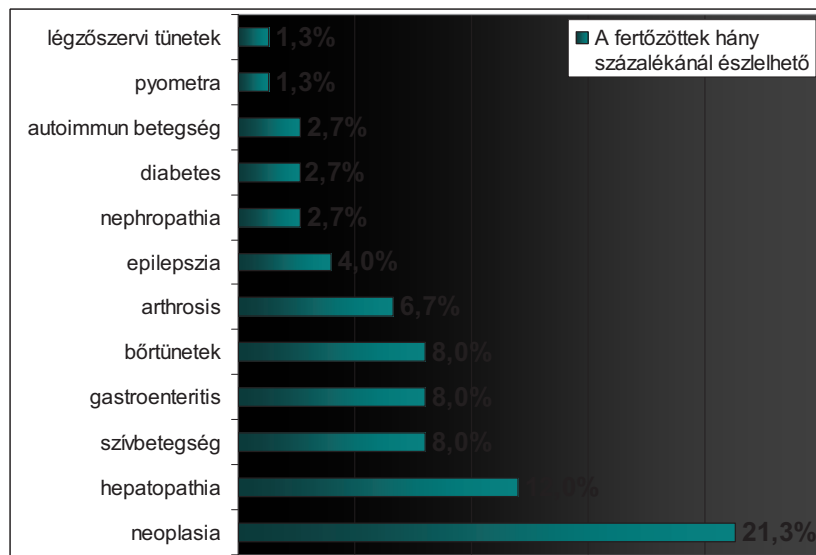
Csepelen összesen 24 mintacsoportot gyűjtöttünk, melyből 8 lett pozitív (33,3%).

Miskolcra 8 poolmintánk származott, melyeknél csupán 1 esetben tapasztaltunk pozitívítást (12,5%).

5.2. Klinikai vizsgálatok

5.2.1. Laboratóriumi vizsgálatok elemzése

A vizsgálatba bevont ebek túlnyomó többségét különféle tünetek, alkalmanként ismert fennálló betegség miatt hozták be a Klinikára. Egy esetben fordult csak elő, hogy a kutya kifejezetten dirofilariosis gyanújával érkezett, amikor is bőr alatti csomók jelentek meg az állaton, és a tulajdonosok az egyikből egy adult férget tudtak kihúzni simogatás közben. A fertőzöttnek talált kutyák tüneteit, illetve betegségeit foglalja össze a **5. ábra**.



5. ábra: A fertőzöttséghez társult egyéb betegségek, ill. tünetek

A vérvizsgálati (hematológiai és biokémiai) eredmények összesítését a **melléklet 10. táblázata** tartalmazza. Az összehasonlítás alapjául a fertőződött, illetve a nem fertőződött egyedek körében mért értékek mediánjai szolgáltak, tekintettel arra, hogy meglehetősen gyakoriak voltak a kiugró nagy értékek, illetve az értékek eloszlásai erőteljesen jobbra ferdeek mutatkoztak. Az átlag helyett a medián ilyen esetben jobban reprezentálja a valós eltéréseket. Az adatokból kiolvasható, hogy a *D. repens*szel fertőződött egyedek esetében a fehérvérsejtszám, az eosinophil granulocyták száma, valamint az ALT, a GGT, a karbamid és a CK értéke a normálisnál magasabb. Azonban a karbamidtól eltekintve ezek az értékek a *D. repens*szel nem fertőződött csoportban is hasonló irányú eltéréseket mutatnak. Függetlenül attól, hogy az adott értékek a normális tartományon belül vannak-e, elmondható, hogy a

fertőződött ebek körében számottevően magasabb az eosinophil granulocyták aránya, valamint az ALT, az ALKP, a lipáz, a karbamid és a CK értéke, mint a nem fertőződötteknél. Emellett a thrombocytaszám és az LDH értéke jelentősen alacsonyabb a fertőződöttek esetében, mint a nem fertőződöttekében.

A két vizsgált csoport közötti eltérések egyedül a karbamid esetében szignifikánsak ($p=0,014$), amennyiben a $p \leq 0,05$ eseteket tekintjük szignifikánsnak. Ezt a határt még a thrombocytaszámban mutatkozó eltérés közelíti meg ($p=0,055$), azonban ez nem tekintendő szignifikánsnak.

5.2.2. *Dirofilaria repens* fertőzöttség és veseelváltozás közötti összefüggés vizsgálata

A 13 vérminta közül 2 tartalmazott *D. repens* mf-kat. Mindkét esetben részletes kórbonctani vizsgálatot is végrehajtottak a kutyák elhullását követően. A következőkben ezt a két esetet ismertetem részletesen.

Az első esetben két hete folyamatosan romló általános állapotú 5 éves szuka komondort altattak el véglegesen egy külső állatorvosi klinikán. A kutya karbamid szintje jelentősen emelkedett, 50 mmol/l volt. Diagnosztikai boncolásra a SZIE ÁOTK Kórbonctani és Igazságügyi állatorvostani Tanszékére küldték. A hulla boncolása során a száj nyálkahártyája alatt és a méh függesztőszalagjaiban fehér színű fonálférgeket találtak, melyeket a Parazitológiai és Állattani Tanszékre küldtek azonosításra. A morfológiai bélyegek alapján a férgek kifejlett *D. repens* nőtényeknek bizonyultak. Ezzel párhuzamosan a vér parazitológiai vizsgálata során nagy számú mf-t találtunk. Az elhullás közvetlen oka a kétoldali vesefibrózis volt, melynek következményeként veseelégtelenség és urémia alakult ki. Mindkét vese megkisebbedett, dudorzos, egyenetlen felületű, állománya pedig szívós, nehezen szakítható volt. Az urémia következtében a száj nyálkahártyáján fekélyek képződtek, a gyomorfal fundusi területe pedig megvastagodott, savós-véresen beivódott, emiatt a nyálkahártya sötétvörös, kocsonyásan rezgő ráncokat vetett. Kórszövettanilag a nephronok számának drasztikus csökkenése, helyükön kollagénrostos kötőszövet megjelenése volt tapasztalható. A tubulusok és glomerulusok alaphártyái megvastagodtak, hullámos lefutásúak voltak, helyenként pedig a zsugorodó kötőszövet a még működő nephronok üregét szűkítette, mely a tubulusok kitágulásához és ciszták kialakulásához vezetett.

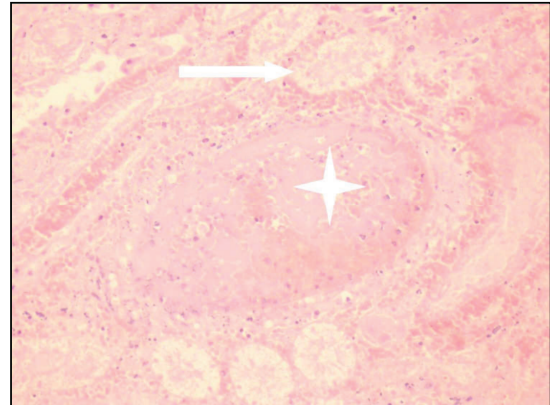
A második esetben egy súlyosbodó anaemiától, thrombocytopeniától és leukocytosistól szenvedő 5 éves kan bearded collie hullott el hosszas kórházi kezelést követően a SZIE ÁOTK

Központi Oktató Kisállat Kórház és Klinikáján. Ennél az ebnél is emelkedett, 12,7 mmol/l-es karbamidszintet mértek.

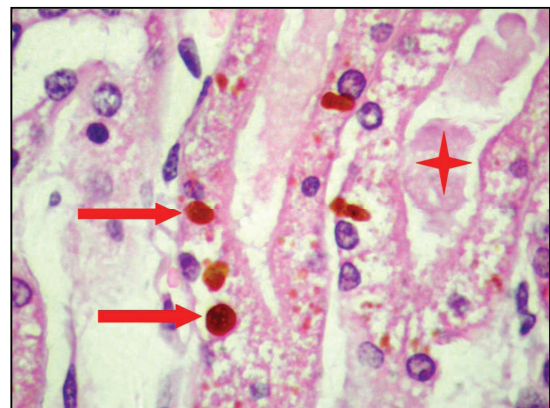
A kórbonctani vizsgálat során megállapították, hogy a halál oka a mikrocirkuláció összetett zavara, disszeminált intravascularis coagulatio volt. A folyamat során a fokozott trombusképződési hajlam miatt felhasználnak a véralvadási faktorok, ezért testszerte vérzések alakulnak ki.

Az agyvelőben ennek megfelelően kiterjedt apoplektikus vérzést, és következményes encephalomalatiát diagnosztizáltak kórszövettanilag. A lépben intrapulparis vérzések, és az extramedulláris heamatopoesis jelei voltak láthatók. A vesékben a trombusképződés miatt haemorrhagiás infarktuskok keletkeztek. Ezekon a területeken az erek vörösvérsejtekkel teltek voltak, és a tubulusok elhaltak (15. kép). Emellett megerősítést nyert a biopsziás mintavétel során is igazolt hemoglobin tubulonephrosis (16. kép).

A károsodott tubulushámsejtek cytoplasmájában változatos méretű, kerekded alakú haemoglobin rögök képződtek (a képen nyíllal jelölve). A tubulusok üregében az eozinnal élénken festődő, fehérjetermészetű anyag proteinuriára utalt (a képen csillaggal jelölve). A véralvadási zavartól függetlenül membranous glomerulonephritisre jellemző elváltozásokat is találtak. A kapillárisok fala megvastagodott, emellett fehérjetermészetű, eosinophil anyag kiválása is megfigyelhető a Bowman-tok üregén belül. A PAS reakcióval készített metszeten látszik a glomerulusok alaphártyáján lerakódott PAS-pozitív anyag.



15. kép: Thrombus okozta haemorrhagiás infarktus a vesében (HE, x100)
(fotó: Balka Gyula)



16. kép: Haemoglobin tubulonephrosis (HE, x200)
(fotó: Balka Gyula)

5.3. Terápiás vizsgálatok

5.3.1. Moxidectin (Advocate spot on)

Az eredményeket az alábbi két táblázatban összegzem. Két héttel a kezelés megkezdése után a 44 fertőzött kutyából 38 mf mentesnek bizonyult. Négy héttel a kísérlet indítását követően pedig már csak egyetlen eb (1. próba, 3. csoport) vérmintájában lehetett néhány mf-t találni. A második Advocate spot on alkalmazása után mindkét próbában szereplő valamennyi kezelt állat vérmintája negatív lett.

Az első kezelést követő 14. napon az extenzeffektivitás 75% volt, 75% és 87,5% (1., 2. és 3. csoport) a budapesti (1. próba), és 100% és 90,9% (1. és 2. csoport) a pécsi (2. próba) kísérlet esetében. Az első kezelés utáni 28. napon minden csoportban 100% volt az extenzeffektivitás, kivéve a budapesti (1. próba) 3. csoportban, ahol ez az érték 85,7%-nak adódott. Az 56. naptól az EE a felmérés végéig valamennyi csoportnál 100% volt. Az intenzeffektivitás mindegyik csoportnál 99,4% felett volt az első kezelést követő 14. napon. Az IE ötből négy csoportnál 100%-ra növekedett a 28. napra, míg az 56. naptól már az összes csoport esetében 100%-os értéket lehetett számítani egészen a kísérlet végéig.

A kontroll csoportok átlagos milliliterenkénti mf száma az 1. próbában szereplőknél alacsonyabb volt (86,5-667), mint a 2. próbában résztvevő kóbor kutyák (124-1653,4) esetében, ahol az állatok egy pécsi menhelyen éltek (**melléklet 11. táblázat, melléklet 12. táblázat**).

A megerősítő statisztikai elemzés magasan szignifikáns értéket ($p < 0,0001$) eredményezett a 2. próba esetében azt az elsődleges szempontot figyelembe véve, hogy ne jelentkezzen mkfi azon a 6 hónapos megfigyelési perióduson belül, mely az utolsó kezelést követően egy hónappal kezdődik.

Az 1. próba kontroll csoportjában szereplő német juhász kutyát a kísérlet 224. napján kiemeltük a felmérésből. Az átlagos mfszámot 636,7 (198-1910) értékre számítottuk ennél a kutyánál a vizsgálati szakasz alatt. Néhány hónappal a felmérés indítását követően egy növekvő csomó alakult ki az eb orrháti területén (**17. kép, 95. oldal**), ami miatt a tulajdonos kérésére Advocate spot on készítménnyel kezeltük, és ezt követően kizártuk a kísérletből.

A 66 résztvevő kutya vérmintája közül 14 kevesebb, mint 20 mf-t tartalmazott fél ml-enként, ezért ezeket a mintákat nem elemeztük PCR vizsgálattal. A maradék 52 vérmintát multispecies PCR módszerrel vizsgálva megerősítettük, hogy valamennyi *D. repens*szel fertőzött. Más filarioida fajt nem tudunk azonosítani a vérmintákban.

Semmilyen káros mellékhatást nem diagnosztizáltunk a hosszú vizsgálati periódus alatt, kivéve az 1. próba 3. csoportjában résztvevő két szibériai husky kutyánál megfigyelhető hányinger, rossz közérzet és csökkent étvágy tüneteit, melyeket mindhárom kezelés utáni napon produkáltak.

5.3.2. Szelamektin (Stronghold spot on)

A PCR vizsgálat megerősítette, hogy valamennyi résztvevő kutya vérmintája kizárólag *D. repens* mf-kat tartalmazott. A nulladik napon az egyes mintákban mérhető mf szám jelentősen különbözött (4-2279 mf / 0,5 ml vér). A 16. napon a mf szám több mintában csökkent, míg néhányban növekedett. A 84. naptól általános mf szám csökkenés volt tapasztalható, továbbá jelentős mennyiségű minta vált negatívvá (**melléklet 13. táblázat**).

Két kutya az 1. és a 3. csoportból, melyek 6 hónapig kaptak gyógyszert, és 5 eb a 2. és 4. csoportból, melyek 9 hónapon át részesültek kezelésben, a kísérlet utolsó napján, egyik esetben a 252., másik esetben a 336. napon még mkfi-sok voltak. Bár valamennyi vérmintája már csupán kevés mf-t tartalmazott (1-125/0,5 ml).

A kísérlet ideje alatt egyik kutyánál sem tapasztaltunk a hosszú ideig tartó szelamektin kezeléssel összefüggő mellékhatásokat. A statisztikai elemzés nem mutatott szignifikáns különbséget a nulladik napon az egyes csoportok mintáinál tapasztalható mf számok között. Továbbá a négy csoport eltérő kezelési sémája ellenére sem volt szignifikáns különbség a mintáknál először mérhető nulla illetve ötnél alacsonyabb mf szám megjelenéséhez szükséges időintervallum között. Sign teszttel végzett elemzés szerint a 84. és a 112. napon mérhető mf szám statisztikai értelemben csökkent a nulladik napon tapasztalhatóhoz képest.

6. Megbeszélés

A 2005 és 2009 között végzett országos szintű, a kutyák és macskák *Dirofilaria*-fajokkal való fertőzöttségét vizsgáló felmérésünk egyedülálló. Ezt megelőzően csupán egyetlen kis létszámú szűrővizsgálatot végeztek 101 kutya bevonásával Tolna megyében, melynél 8 %-os *D. repens* fertőzöttségi arányt állapítottak meg (Széll és mtsai., 1999); *D. immitis* vonatkozásában pedig csak importált esetekről számolt be a szakirodalom (Boros és mtsai., 1982; Vörös és mtsai., 2000). Macskák körében felmérést korábban nem végeztek Magyarországon. Vizsgálataink során országos szinten 18,1 %-os fertőzöttségi arányt állapítottunk meg a kutyák körében. Ez az érték jóval magasabb a korábban Tolna megyében mérténél (Széll és mtsai., 1999), valamint általában magasabb a tőlünk északabbra illetve nyugati irányban fekvő országokban tapasztalhatóknál. Ausztriában 8,4% (Duscher és mtsai., 2009), Szlovákiában 12,1% (Svobodova és mtsai., 2005; Iglódyova és mtsai., 2012), Németországban 6,8 % (Hermosilla és mtsai., 2006; Pantchev és mtsai., 2009), Svájcban 6% (Simón és mtsai. 2012), Csehországban pedig azért mértek 20% feletti prevalencia értéket, mert az országnak csupán egy körzetében fordul elő a dirofilariosis, de ott nagy számban (Dobesova és mtsai., 2009). A Magyarországtól délre elhelyezkedő országokban az előfordulási arány hasonló vagy néhol magasabb a nálunk megfigyelténél (Tasič és mtsai., 2008; Genchi és mtsai., 2005). A macskák szűrővizsgálatával 3,8%-os fertőzöttségi arányt állapítottunk meg, mely érték, figyelembe véve az egyetlen publikált nagy létszámú felmérést, melyben 1,6%-os prevalenciát mértek (Traversa és mtsai., 2010), nem tér el jelentősen az Olaszországban tapasztalhatóktól. Ezek az eredmények mutatják, hogy hazánkban a *D. repens* előfordulási gyakorisága hasonló a mediterrán országokéhoz (Scaramozzino és mtsai., 2005; Genchi és mtsai., 2005), sőt bizonyos esetekben nagyobb is annál (Toparlak, 2005). Összehasonlítva a kutyáknál mért prevalencia értéket a macskáknál tapasztalhatókkal, azt láthatjuk, hogy sokkal ritkábban alakul ki pátenis fertőzöttség. Ennek egyik oka lehet, hogy irodalmi adatok szerint, a kutya sokkal vonzóbb gazda számos szúnyog faj számára, hiszen éppen pihenő periódusában van akkor, amikor a szúnyogok aktívak. Ezzel szemben a macska éjjeli aktivitása és kisebb testtömege miatt kevesebb kontaktusra ad lehetőséget, így a dirofiláriákkal való fertőződésre is ritkábban van esélye (Manfredi és mtsai., 2001; Cancrini és Gabrielli, 2007). Emellett még immunológiai okokat feltételeznek a macskák esetében, amely miatt csak kevés féreg fejlődik ki, továbbá a mikrofiláriák megjelenése is ritka (Simón és mtsai., 2012).

Felmérésünk során az *A. reconditum* jelenlétét Magyarországon igazolni nem tudtuk, viszont az első bizonyítottan autochton *D. immitis* fertőzöttséget kutyában leírtuk, továbbá

diagnosztizáltuk a *D. immitis* jelenlétét görényben. A kutyák szívférgessége komoly állategészségügyi jelentőséggel bíró parazitózis, melynek kimutatása hazánkban nagy fontossággal bír a praktizáló állatorvosok számára. Bár 2009-ig csak egy igazoltan *D. immitis*es kutyát találtunk, de az azóta eltelt években végzett felméréseink szerint rohamosan emelkedik a szívférges esetek száma Magyarországon. Görényben Európában még nem írtak le *D. immitis*-fertőzöttséget, aberráns lárvavándorlással járó esetet pedig egyáltalán nem találtunk a szakirodalomban.

A szívférgesség megjelenésével hazánkban nőtt a jelentősége a dirofilariosis kimutatásának kutyák körében, bár azt fontos kiemelni, hogy a *D. repens* fertőzöttség magas prevalenciája önmagában is indokoltá teszi a pontos parazitológiai diagnózis felállítását, kiemelve ez utóbbi szerepét a humán fertőzések létrejöttében. A hazai kutyák 18,1%-a mkf-i-s, mely a szűnyogok számára kifejezetten nagy rezervoár bázist jelent. Ezért rendkívül fontos a keringő mf-k kimutatása, és ezáltal a fertőzött egyedek kiszűrése, majd gyógykezelése. Ez az egyetlen módja, hogy a humán fertőzések számát is csökkenthessük. A faji identifikáció elengedhetetlen a dirofiláriás kutyák terápiás protokolljának felállításához, valamint a sikeres kezeléshez. Ennek érdekében a megfelelő diagnosztikai módszert célszerű választani, mely vizsgálataink szerint a keringő mf-k kimutatására mindenképp valamilyen koncentráció eljárás, esetünkben módosított Knott-féle módszer, míg a pontos fajmeghatározásra a PCR technikát javasoljuk. Az általunk végzett a összehasonlító elemzés szerint a módosított Knott-féle módszer a legérzékenyebb a mf-k kimutatására, a vérkenet elemzés szenzitivitása csupán 2,5%-a, a Casiraghi-féle PCR technikáé pedig 73,1%-a a Knott-módszernek. A szívférgesség egyre gyakoribb előfordulásával még a megfelelően megválasztott diagnosztikai módszerek mellett is nehézségekbe ütközhetünk a *Dirofilaria*-fajok elkülönítésében. Ennek oka az, hogy amint az az általunk leírt *D. immitis*es esetben is előfordult, hazánkban a szívférgesség gyakran vegyes fertőzöttség formájában fordul elő, ami nehezíti a diagnózist. Koinfekció esetében az egyik faj mf-ái – jelen esetben a bőrféregé – számban elnyomhatják a másik faj mf-ait, így a rutin Knott-módszer során tévesen *D. repens* fertőzöttségnek vélhetjük az esetet, másrészt a sok *D. repens* mf-DNS miatt akár a PCR eredmény is torzulhat. Emellett a mi régióinkban gyakoribb az enyhe féregterheléssel járó *D. immitis* fertőzöttség, így történt ez az általunk leírt esetben is, valamint Csehországban is ilyen egyedeket találtak (Dobesova és mtsai., 2009). Ha egy kutyában csupán egy-két féreg élőszködik, akkor a szerológiai teszt eredménye általában negatív, mivel a pozitívításhoz legalább két adult nőstény szívféreg jelenléte szükséges (Genchi, 2006), bár egyes publikációk 10 férget említenek (Roth és mtsai., 1993). A fent leírtakat figyelembe véve hangsúlyozzuk a megfelelő diagnosztikai módszerek megválasztásának

fontosságát, valamint azok kritikus szemmel való értékelését. Feltételezhetően az elmúlt néhány évben kifejlesztett új real-time PCR módszerek (Latrofa és mtsai., 2012a.) pontosabb és gyorsabb faji identifikációt tesznek lehetővé a mkfi-val járó esetekben.

A felmérő vizsgálat időtartama alatt évenként eltérő fertőzöttségi arányt diagnosztizáltunk. A kezdeti 2005 és 2006-ban tapasztalható 15% körüli értékről 2007-ben 23% fölé ugrott a prevalencia. Bár 2008-ban összességében ismét csak 15%-os előfordulási arányt mértünk, de ennek oka valószínűleg abban keresendő, hogy ebben az évben rendkívül sok budapesti kutyát vizsgáltunk, a 812 eb közül 603 egyed (74,3%) származott a fővárosból. Mivel a budapesti kutyák körében átlagosan csak 15,5%-os fertőzöttségi arányt mértünk az öt év alatt, így nem meglepő, ha ebben az esetben is csak 15% körüli eredményt kaptunk. 2009-ben ismét magasabb, 18,4%-os prevalenciát állapítottunk meg. Felmerül a kérdés, hogy a vizsgálataink szerint mért évenkénti növekedés jele-e egy valódi emelkedő tendenciának. Erre egyértelmű választ egy ismételt több éven át tartó, hasonlóan nagy létszámú felmérés adhat csak. Mindenesetre a dirofilariosis magas előfordulási aránya hazánkban komoly állategészségügyi és közegészségügyi jelentőséggel bír.

Az országos eloszlást vizsgálva találtunk olyan megyéket, melyekben a prevalencia szignifikánsan magasabb a hazai átlaghoz viszonyítva, így Szabolcs-Szatmár-Bereg, Pest, Nógrád, Csongrád és Baranya megyében. Ezek a megyék nem alkotnak összefüggő egységet, Magyarország déli, keleti és középső területein épp úgy gyakran fordul elő a dirofilariosis. Azt viszont megállapíthatjuk, hogy hazánk nyugati megyéiben ritkábban találkozunk bőrférgességgel, ez főleg igaz a Balaton környékére, mely a statisztikai elemzés szerint kifejezetten alacsony prevalenciájú régió. Győr-Moson-Sopron megye kivételt képez, mert itt az előfordulási arány megfelel az országos átlagértéknek. Felmerül a lehetősége annak, hogy ez az eltérő eloszlás esetleg bizonyos folyók fekvésének megfelelően képződött, ám a statisztikai vizsgálat szerint bár a Tisza vízgyűjtőterületén szignifikánsan magasabb értékek mérhetőek, a Duna mentén elhelyezkedő megyékben megállapított prevalencia összességében nem különbözik számottevően az országos átlagtól. Pedig a magas előfordulási rátával rendelkező megyék közül több (Baranya, Pest, Nógrád) a Duna mentén helyeződik. A korábban leírtaknak megfelelően viszont a Balaton közelében kisebb eséllyel fordul elő a fertőzöttség, bár azt meg kell említenünk, hogy erről a területről kifejezetten kevés mintát sikerült gyűjtenünk, így ez az eredmény a statisztikai elemzés ellenére sem tekinthető teljesen egyértelműnek. Feltételezhetjük tehát, hogy a földrajzi elhelyezkedés meghatározó, de inkább azáltal, hogy a megfelelő mikrokörnyezet hatására szúnyogtenyésztő helyek jönnek létre, mely növeli a dirofilariosis terjedésének esélyét. Ezt támasztja alá az a megfigyelés is, miszerint a Budapest

külterületén lévő kutyatelepen, melyet nádas és így szúnyogtenyészőhely vesz körül, 68,2%-os fertőzöttségi arány volt, míg a fővárosban átlagosan csak 15,5% a bőrférgesség előfordulási aránya. Hasonló okokból jelent magasabb fertőződési kockázatot a menhelyi környezet, ahol az állatok általában szabadtéri kenneles tartásban élnek, ezáltal jobban kiteve a szúnyogok támadásának. Ugyanígy a vadászó kutyáknál is több lehetőség van a szúnyogokkal való találkozásra, ezáltal a fertőzésre is. Ezt próbáltuk felmérni azzal a kérdéssel, mely arra keresett választ, hogy víz közelében lakik-e a vizsgált kutya. Sajnos azonban itt jelentősen torzította az eredményt az a tény, hogy igen választ kaptunk azoktól a tulajdonosoktól is, akiknek kedvence egy városi lakásban él néhány kilométerre a Dunaparttól, és azoktól a gazdáktól is, akik kutyájukat valóban egy tó vagy patak partján lévő kertben tartják. Így a vízparton élő állatok csoportja az országos átlaghoz hasonló fertőzöttségi arányt mutatott. A vízpartra történő utazás és az endémiás országba látogatás nem eredményezett prevalencia emelkedést. Ez utóbbi érthető is annak fényében, miszerint hazánkban közel hasonló előfordulási gyakoriságot tapasztalhatunk bőrférgesség esetében, mint a legtöbb mediterrán országban (Genchi és mtsai., 2005; Scaramozzino és mtsai., 2005).

Felmérésünk során közel azonos számú vérmintát gyűjtöttünk nőstény és hím ivarú egyedekből, mégis azt tapasztaltuk, hogy a szukák körében szignifikánsan kevesebb a fertőzött kutya. A kanok magasabb fertőződési kockázatának magyarázatát nem tudjuk, lehetséges, hogy életmódbeli eltérés okozza, nagyobb csavargási hajlam miatt, vagy tartásbeli különbségek, amennyiben vidéken preferálják a hím egyedek kertben tartását. Vizsgálataink alapján erre választ nem tudunk adni, de az tény, hogy a kanok bőrférgességgel való fertőzésének esélye, ha minden más tényező azonos, akkor 3,8%-kal nagyobb, mint a szukáké. Hasonló eredményre jutottak egy dél-amerikai *D. immitis*-re irányuló szűrővizsgálatban, amelyben az eltérés okának szintén a tartásmódbeli különbséget vélik, magyarázatképpen említenek egy korábbi felmérést, amelyben csak kertben tartott kutyáktól gyűjtöttek vérmintát, és ekkor nem volt különbség a kanok és a szukák fertőzöttségének mértéke között (Vezzani és mtsai., 2011). Bár olvashatunk ezzel ellentétes véleményt is, egy iráni közleményben 100 kóbor kutyát vizsgáltak meg *D. immitis* mf jelenlétére, és a kanok között szintén magasabb volt a mkfi mértéke (Nematollahi és Barazandeh, 2010).

Az életkor szerinti eloszlást tanulmányozva jelentős különbségeket észleltünk. A könnyebb értelmezhetőség kedvéért négy korcsoportot alakítottunk ki, fiatal, középkorú és öreg valamint túl fiatal elnevezéssel. Ez utóbbi azokat a kutyákat jelölte, amelyek életkora kevesebb, mint a *Dirofilaria*-fajok PP ideje, vagyis természetes fertőzés esetén még páterns, kimutatható fertőzöttség nem alakulhatott ki. Mégis találtunk két mkfi-s egyedet, melyek életkora csupán két

hónap volt. Az anamnézisükben nem szerepelt korábbi vérátömlesztés, így a művi fertőzés lehetőségét kizártuk. Egyetlen lehetséges magyarázatként a transzplacentáris fertőződés létrejöttét fogadtuk el, ezért további vizsgálatokat végeztünk vemhes szukák és kölykeik körében. Sajnos, a megvizsgált 22 vemhes kutya közül csak kettő egyed vérmintája bizonyult pozitívnak, és e két eb kölykeiből nem tudtunk keringő mf-kat kimutatni. Így felmérésünk során nem tudtuk megerősíteni a méhen keresztüli fertőződés tényét, de szakirodalmi adatok alapján feltételezhetően okozhat mkfi-t (Bowman és Mannella, 2011; Kassai, 2011; Tarello, 2000). A másik három korcsoport esetében azt tapasztaltuk, hogy az életkor előrehaladtával növekszik a dirofilariosis előfordulásának gyakorisága. Ez nagyjából megfelel az általunk vártnak, hiszen fiatal kutyanál a hosszú PP idő miatt a fertőzöttség mértéke még nem olyan magas, de minél idősebb egy állat, annál nagyobb valószínűséggel találkozott fertőzött szúnyoggal, és volt idő pátens parazitózis kialakulására. Mivel a *D. repens* évekig életképes a gazdaszervezetben, és az újrafertőződés ellen immunitás nem jön létre, ezért minél öregebb egy kutya, annál nagyobb eséllyel fertőzött. A korábban említett dél-amerikai felmérésben is ennek megfelelő eredményt kaptak, a szerzők ebben az esetben is a mi feltételezésünkhöz hasonló okokat vélnek az eloszlás hátterében (Vezzani és mtsai., 2011).

Felmérésünk során 109 különböző fajtájú kutyától származó mintát elemeztünk. A kis egyedszámok miatt nem fajtánként értékeltük a kapott eredményt, hanem fajtacsoportokat alakítottunk ki, melyekre hasonló életmód és tartási körülmények jellemzők. Ezeknek a csoportoknak a fertőzöttségét hasonlítottuk össze egymással és az országos átlaggal. Ennek során azt az eredményt kaptuk, hogy a kutya életmódja erősen befolyásolja a dirofilariosis előfordulásának mértékét. Ez markánsan kifejeződik annak a két fajtacsoportnak a prevalenciájában, melyek a két végletet képviselik. Egyrészt az óriástestű, hosszúszőrű őrző-védő kutyáknál gyakorlatilag azokat a fajtákat igyekeztünk egy csoportba sorolni, amelyeket tipikusan a szabadban, kertben, tanyán vagy egyéb helyen tartanak. Ennél a csoportnál szignifikánsan magas a bőrférgesség előfordulása, szemben a lakásban tartott, kistestű kutyáknál tapasztalhatókkal, amelyeknél kifejezetten alacsony esélye van a dirofilariosis kialakulásának. Azt mindenképp ki kell emelni, hogy a fajta csak annyiban befolyásolja a fertőzöttség mértékét, amennyiben meghatározza a kutya tartásmódját. Tehát nem attól lesz egy bizonyos eb kisebb eséllyel bőrférges, mert mondjuk csivava fajtájú, hanem mert ezt a fajtát jellemzően lakásban tartják, kis területen mozog, kisebb a szúnyogtámadás lehetősége. A vizslákat hasonló okból elemeztük külön csoportban, egy részüket rendszeresen vadászni hordták, és valószínűleg a fajta szükségletei kielégítésére hosszan sétáltatták is, emellett tipikusan rövid, néha drótszőrű egyedek tartoznak ide. Így az általunk vártnak megfelelően itt is

az országos átlagnál szignifikánsan magasabb fertőzöttségi arányt mutattunk ki. A negyedik kategóriába besorolt rövidszőrű, nagytestű, őrző-védő kutyáknál már nem találtunk szignifikáns különbséget, ennek oka lehet, hogy ezen fajták egyedeit is gyakran tartják lakásban, vagy vegyesen kertben és lakásban, ahol kisebb az esélye a szúnyogcsípésnek. A hosszú és a rövid szőrzet hatását vizsgálva azt tapasztaltuk, hogy bár a két csoport egymáshoz hasonlítva nem különbözik szignifikánsan a Fisher-féle teszt szerint, de meglepő módon a hosszúsőrű ebek körében számottevő mértékben gyakoribb a fertőzöttség előfordulása a regressziós elemzés alapján. Magyarázat arra, hogy miért nem a rövidszőrű kutyák körében nagyobb a fertőzöttség mértéke, amelyeket pedig feltételezhetően kevésbé véd a szúnyogcsípéstől a szőrtakaró, talán az lehet, hogy ezeket az ebeket éjszakára gyakrabban engedik be a lakásba, mint hosszúsőrű társaikat, márpedig a szúnyogtámadások jellemzően az alkonyi és a hajnali órákban észlelhetők.

A bőrférgesség dermatológiai tünetekben megnyilvánuló hatását vizsgálva kaptuk azt a nem várt eredményt, miszerint a bőrpanaszokat mutató kutyák között ritkább a fertőzöttség, mint az egészséges társaik között. Szakirodalmi adatok és a saját tapasztalatunk alapján tudjuk, hogy a *D. repens*szel fertőzött kutyák egy részénél a féreg csomókat képez a bőr alatti kötőszövetben, és ritkán egyéb gyulladással vagy allergiás elváltozást is indukál (Simón és mtsai., 2012; Tarello, 2002a; Tarello, 2002b; Albanese és mtsai., 2013). Meglepő tehát az adatlapos elemzés eredménye, miszerint nem hogy nem hajlamosít, de még ritkábban is jelentkezik bőrgyógyászati panasz a fertőzötteknél. Ennek a kimutatásnak az lehet a hátterében, hogy a szűrővizsgálatunkban résztvevő menhelyi kutyáknál, a tulajdonos észrevételei hiányában, a beküldő állatorvos fizikális vizsgálat során nem fedezett fel minden kis csomót az állat bőrén. Ezt a torzító hatást is figyelembe véve azonban az egyértelmű, hogy a bőrférges kutyák csupán egy kis részénél tapasztalható bőrelváltozás, az esetek nagy része tünetmentes bőrgyógyászati szempontból.

Az antiparazitikus kezelésnek a fertőzöttség kialakulására kifejtett hatását vizsgálva azt tapasztaltuk, hogy a szúnyog elleni repellens készítmények szignifikáns mértékben csökkentik azt, ami nem meglepő, hiszen ha kevesebb szúnyogcsípés éri a kutyát, akkor kisebb eséllyel fertőződik dirofilariaikkal. Ennél meglepőbb, hogy a mikrofilaricid kezelésben részesült ebek között viszont nem tapasztaltunk számottevően kisebb előfordulási arányt. Ennek oka lehet, hogy ezeknek az állatoknak egy része gyanús bőrtüneteket mutatott, ami miatt egyszer kezelésben részesült, majd vérmintát küldtek nekünk, hogy kiderítsük valóban dirofilariosisról van-e szó. Ez felhívja a figyelmet arra, hogy a makrociklikus lakton tartalmú készítmények kiváló preventív hatással bírnak, ám a valódi mikrofilaricid hatás eléréséhez több hónapon keresztül

alkalmazásra van szükség. A bolha-kullancs elleni kezelésben részesült kutyák körében, bár nem szignifikáns mértékben, de csökkent a dirofilariosis előfordulása az országos átlaghoz képest. Ennek több oka is lehet, egyrészt ezek a szerek rendelkezhetnek kis fokú szúnyog ellenes hatással is, másrészt a kezelt állatok nyilvánvalóan szorosabb gazda-kutya kapcsolatban élnek, mint kezeletlen társaik, tehát valószínűbb, hogy életmódjukban is jellemző lehet a gyakoribb lakásban tartás.

A kutyák és macskák szűrővizsgálatához szervesen kapcsolódik a hazai szúnyogpopuláció *Dirofilaria*-fajokkal való fertőzöttségének felmérése. Bár ebben az esetben a mintaszám nem érte el a kutyáktól gyűjtött vérmintákét, de tájékoztató jelleggel bír a magyarországi vektorhelyzetet illetően. Tudomásunk szerint ezt megelőzően senki nem végzett a dirofiláriákra irányuló szúnyogvizsgálatokat hazánkban. Jelen felmérés szerint, a három csípőszúnyog faj közül az *A. maculipennis* lehet a *D. repens* legfontosabb vektora a vizsgált területeken, hiszen az összes minta pozitívnak bizonyult. A faj vektor képességét alátámasztja Kuzmin és munkatársainak (2005) kísérletes szúnyogfertőzése is, amelyben az *A. maculipennis* tűnt a féreg lárvájának fejlődésére legalkalmasabb gazdának. Az *Ae. vexans* vektorképességét igazolja a 60%-os pozitívítás. Egyéb tanulmányokban az *Ae. aegypti* (Anyanwu és mtsai., 2000; Kuzmin és mtsai., 2005), *Ae. vittatus* (Anyanwu és mtsai., 2000) és *Ae. albopictus* (Cancrini és mtsai., 2003) szerepel a *D. repens* vektoraként, de ezek a fajok Magyarországon nem találhatók meg (Bogyó) így feltehetően ebből a genusból az *Ae. vexans* hazánk fő *D. repens* vektora. A *C. pipiens* esetében a nagyon alacsony pozitívítás magyarázható azzal, hogy a peterakáshoz nem feltétlenül kell vért szívnia, így kisebb valószínűséggel találkozhat fertőzött kutya vérével.

A három gyűjtési területet összehasonlítva figyelmet érdemel az, hogy a Csepel-szigeti mintákban a vizsgált szúnyog fajok közül mindegyikből kimutatható volt *D. repens*-re jellemző DNS szakasz. Itt a legtöbb példányszámban (97 egyed) *C. pipienst* sikerült csapdázni, ezeket 24 mintában dolgoztuk fel. A viszonylag nagy mintaszám ellenére, csak két minta lett pozitív (R25, R26). Ez az eredmény, a *C. pipiens* csekély vektor szerepét bizonyíthatja. Az, hogy viszonylag kis egyedszámú minta is pozitív lett az *A. maculipennis* és az *Ae. vexans* esetében is, arra enged következtetni, hogy a Csepel-szigeti szúnyogok nagy szerepet tölthetnek be a *D. repens* terjesztésében. A rákosligeti kutyatelep szúnyog populációja jóval kiegyenlítettebb volt a három faj tekintetében, azaz nagyjából azonos számú egyedet csapdáztuk az ott élő fajok közül. Itt egyértelműen az *A. maculipennis* bizonyult a legfontosabb *D. repens* vektornak. A miskolci szúnyog gyűjtés során körülbelül azonos számú *Ae. vexans* és *C. pipiens* került a csapdába, itt két faj közül az *Ae. vexans* tekinthető a dirofilariosis terjesztőjének.

A bőr-dirofilariosis klinikai vonatkozásait vizsgálva több érdekes és a nemzetközi szakirodalmi adatokhoz képest is új eredményt kaptunk. Először is meg kell említeni azt a tényt, amelyet már az országos felmérés elemzésénél is kifejtettünk, miszerint a fertőzött egyedek mindössze 8 %-át kezelték valamilyen bőrelváltozás miatt, ami – a szakirodalommal összevetve – alulmúlja a várakozásainkat. Meglepő viszont, hogy a fertőzött kutyák 21,3 %-a szenvedett valamilyen daganatos betegségben. A dirofilariosis és a neoplasia esetleges kapcsolatáról újabban több közleményben is említést tesznek (Martano és mtsai., 2004; Acierno és mtsai., 2009), de ennek a kérdésnek az eldöntése további vizsgálatokat igényel, hiszen esetünkben a magas előfordulási arányhoz hozzájárulhatott a daganatos egyedek idős kora is. A dirofilariosis felmérésünk szerint gyakoribb a magasabb életkorú ebek körében, ezért ennek következtében a daganatos kutyák között halmozottan fordulhat elő a bőrférgesség.

A vérvizsgálati paraméterek összehasonlításából származó eredmények nagyjából a várakozásainknak megfelelőek. Ugyanakkor a kapott adatokat nem volt lehetőségünk összevetni más erre vonatkozó tanulmányokkal, mivel a nemzetközi szakirodalomban nem találtunk ilyet. Az értékekben mutatkozó eltérések részben megegyeznek a *D. immitis* okozta fertőzöttséget vizsgáló hasonló felmérésben szereplőkkel, ami azzal állhat összefüggésben, hogy a vérvizsgálati paraméterekben bekövetkező változásokban vélhetően nem az adult férgek, hanem a mf-k által okozott kártétel játszik nagyobb szerepet. Az általunk végzett vizsgálat a *D. repens* okozta fertőzöttség esetében úgyszintén neutrophiliát, eosinophiliát, thrombocytopeniát és emelkedett májenzim-értékeket igazolt. Emellett kiemelkedő a karbamid magas értéke a fertőzöttek körében, amely abszolút értelemben, a referenciatartományhoz képest is magas, ugyanakkor a nem fertőzött egyedek eredményei alapján számított mediánhoz viszonyítva is – statisztikailag szignifikáns módon – magas ($p=0,014$). Habár a karbamidszint emelkedett voltában sokféle tényező, adott esetben akár fokozott fizikai megterhelés vagy szénhidrátszegény, fehérjében gazdag étrend (ún. prerénális faktor) is szerepet játszhat, a *D. repens* fertőzöttséggel összefüggésben renális okok valószínűsíthetők. Bizonyos, a vesékre kiterjedő elváltozásokat a *D. immitis* esetében már több alkalommal is leírtak, nevezetesen immunmediált glomerulonephropathiát, glomerulosclerosist, idült interstitialis nephritist, valamint veseamyloidosist (Niwetpathomwat és mtsai., 2007). Amennyiben ezen elváltozások hátterében a mf-k által okozott kártétel áll, akkor valószínűsíthető, hogy ezek a *D. repens* okozta fertőzöttség fennállása esetében is kialakulhatnak. Márpedig szívférgességgel kapcsolatban kimutatták, hogy a mkfi-s kutyák körében fokozott a microthrombosis, ezáltal a vesekárosodás létrejöttének az esélye (Carretón és mtsai., 2013). Ez magyarázatként szolgálhat a vizsgálataink során mért magas karbamid értékre.

Mindenesetre le kell szögezni, hogy az általunk végzett felmérés nem egy célzott klinikai vizsgálat volt, hiszen a vizsgálati alanyok valamilyen egyéb betegség vagy állatorvosi beavatkozás miatt jelentek meg a Klinikán. A kutyáktól származó vérminták többségét pedig nem elsősorban a *Dirofilaria*-szűrés céljára, hanem az adott állat egészségügyi státuszának megfelelő vérvizsgálati tesztek elvégzése érdekében vették le. A kapott eredményeket ennek tükrében kell értékelni. Tisztább képet kaphatnánk a *D. repens* által előidézett vérparaméter-változásokról, ha kizárólag egyéb betegségektől mentes állatokon végeznénk el ugyanezeket a vizsgálatokat, azonban ilyen feltételek mellett csak lényegesen kevesebb mintát tudtunk volna begyűjteni.

Diagnosztikai nehézséget jelent, hogy természetes úton, ismeretlen időpontban fertőződött kutyáknál nem könnyű bizonyítani a mkfi és a veseszövet károsodása közti összefüggést. Ezért a két részletes eseteírás során igyekeztünk minden más, a veseműködést károsan befolyásoló tényezőt a rendelkezésünkre álló kiegészítő klinikai vizsgálatok, valamint a kórbonctani és kórszövettani eredmények alapján kizárni. Alapvető kitétel volt, hogy csak fiatal kutyát lehetett a vizsgálatba bevonni, így valószínűsíthettük, hogy az időskorra kialakuló vesekárosodás kizárható. Az első esetben az elhullás oka a vesefibrózis volt. Ennek oka lehet hosszabb időn keresztül fennálló vérpangás, súlyos veseparenchyma pusztulással járó, túlélt nephrosis, idült vesegyulladás, valamint multiplex infarktus-képződés. A kórelőzményi adatok azonban nem utaltak korábbi vesebetegségekre, sem babesiosira, ami szintén okozhatna vesekárosodást. A vérvizsgálat is negatív lett *B. canis* fertőzöttségre. A kétoldali vesefibrózist kiváltó vérpangás okait és kiváltó szervi elváltozásokat a kórbonctani vizsgálat során nem tapasztalták. A súlyos fokú mkfi viszont arra enged következtetni, hogy a vérben keringő immunkomplexek károsíthatták a glomerulusokat, és a nagy mennyiségű mf multiplex infarktusokat hozhatott létre. A második esetről a tünetek nagy része a véralvadási zavar következménye volt. A glomerulonephritis kialakulásában azonban nem ez, hanem az esetek többségében immunkomplexek lerakódása játszik szerepet. Általában ismeretlen antigén miatt alakul ki a kórforma, de kiválthatják vírusok (Rubarth-kór), baktériumok, daganatok, és paraziták ellen termelt ellenanyagok is. A vírusos, bakteriális, és neoplasztikus eredet kizárható a klinikum és a kórbonctan alapján. A szerológiai vizsgálat kizárta a *Giardia*-, *Ehrlichia*-, és *D. immitis* fertőzöttséget is. A vér parazitológiai vizsgálatával azonban súlyos fokú mkfi-t tudtunk diagnosztizálni, ami a szívférgesség esetében már igazolta a glomerulonephritis kialakulását (Paes-de-Almeida és mtsai., 2003).

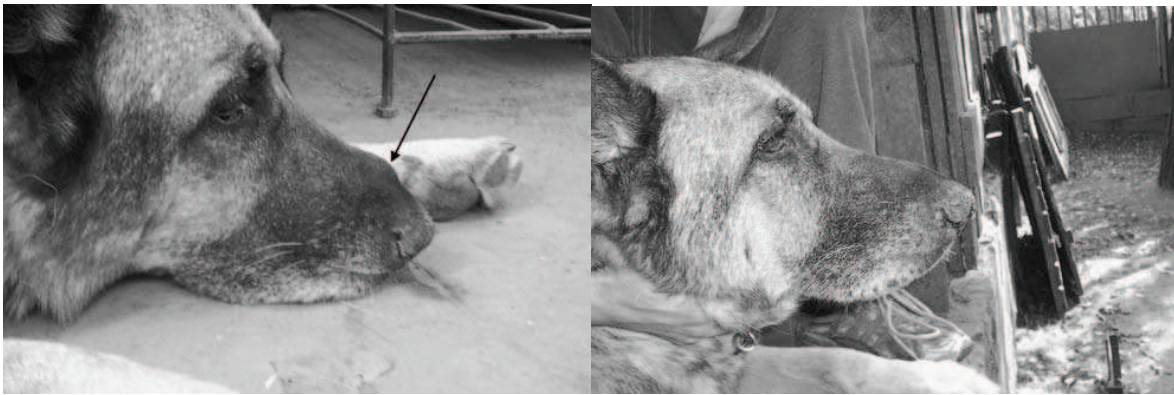
A *D. repens* terjedését megakadályozni két módon lehet, egyfelől a fertőzöttség kialakulásának megelőzésével, másfelől a keringő mf-k és az adult férgek szervezetből való eltávolításával. A gyógyszerhatékonysági vizsgálataink elvégzésének idején sem profilaktikus, sem mikrofilaricid, sem gyógykezelésre használható törzskönyvezett készítmény bőrférgességre nem volt forgalomban. Ezért a felmérésünkkel választ kerestünk először arra a kérdésre, hogy *D. immitis* preventív kezelésére törzskönyvezett gyógyszer hatékony-e a *D. repens* mkfi megszüntetésére, valamint amennyiben rendelkezik ilyen hatással, ez meddig tart a kezelés befejezése után.

Az általunk végzett vizsgálat igazolta, hogy a 2,5% moxidectin és 10% imidakloprid tartalmú spot on készítmény (Advocate®, Bayer) havonkénti hosszú távú alkalmazása sikeresen elpusztította a kutyákban keringő *D. repens* mf-kat. Egy esetleírás alapján melarzomin és doramectin kombinációjának off-label alkalmazását javasolták mf pozitív kutya kezelésének céljából (Baneth és mtsai., 2002). Egy másik közleményben szájon át adott milbemicin D készítményt használtak szívférges kutyánál, amely 1-5 hónap alatt mf mentességhez vezetett. Ennek ellenére kimutatták, hogy a milbemicin D nem pusztítja el az intaruterin lévő mf-kat, csak gátolja a szívféreg embriók fejlődését. Ezen túl a mkfi-s kutyák profilaktikus kezelésekor növeli az okkult szívférges esetek számát (Sasaki és Kitagawa, 1993). A szűnyogszezonban öt alkalommal, havonta adott moxidectin 3 µg/ttkg adagban 100%-ban hatékonynak bizonyult a természetes *D. repens* fertőzöttség kialakulásának megelőzésére kutyákban egy olaszországi enzootiás területen (Rossi és mtsai., 2002). Emellett egy hosszan felszívódó injekciós moxidectin készítmény alkalmazása is biztonságosan meggátolja a *D. repens* fertőzöttség létrejöttét ugyanezen az endémiás olasz vidéken (Rossi és mtsai., 2004).

D. immitis fertőzöttség esetében a makrociklikus laktonok kifejlett féreg elleni hatékonyságáról több közleményben is beszámolnak, amelyet McCall és munkatársai összefoglaltak 2005-ben. Ezekben a vizsgálatokban egy bizonyos arányú effektivitást mutattak ki az adult szívférges ellen *D. immitis* kutyák hosszú távú, kis, profilaktikus dózisú (3-6 µg/ttkg) ivermectin kezelésével. A havonként adott 16 profilaktikus dózis 8 hónapos férgek elleni alkalmazása során 56,3%-kal csökkent a féregterhelés, míg 7 hónapos férgek elleni 29 dózis 94,5%-át pusztította el a szívférgeseknek. Nem ismert, hogy milyen életkorú szívférgesek érzékenyebbek a havonta bejuttatott gyógyszerekre. Az általunk végzett felmérésben jelentősen nagyobb adagban használtuk a moxidectint (2,5-6,25 mg/ttkg), mint az előzőekben taglalt profilaktikus dózist alkalmazó tanulmányokban.

A *D. repens* fertőzöttség jelentősége kutyákban csak kis mértékben átlátható, ennek egyik oka, hogy a bőrférgesség kórfejlődéséről is keveset tudunk, melynek jellemző megjelenési

formája lehet a kifejlett féreg által indukált fájdalommal nem járó bőr alatti csomó (Genchi és mtsai., 2007). Egy, a kezeletlen kontroll csoportban szereplő német juhász orrán a 196. napon csomó jelent meg (**17. kép**). Advocate adása után az elváltozás eltűnt a kutya orráról (**18. kép**), és a következő 4 kezelés ideje alatt sem mutatkozott újra. A különböző ML hatóanyagok közül az ivermektin rendelkezik a leghatékonyabb adulticid hatással, a milbemicin a legkisebbel, a szelamektin és a moxidektin pedig a kettő közötti effektivitással bír a *D. immitis* ellen (Venco és mtsai., 2004; McCall és mtsai., 2005). Vizsgálataink alapján feltételezzük, hogy az emelt dóziszú moxidektin kezelés hatékony volt a kifejlett *D. repens* férgek ellen, mivel a mf-k eltűntek a véráramból a kezelés után, és nem is jelentek meg az azt követő 6 hónapos megfigyelési



17. kép: Német juhász orrhátán kialakult csomó. **18. kép:** A kezelés után a csomó eltűnt.
(fotó: Fok Éva) (fotó: Fok Éva)

periódusban. A 2. próbában résztvevő három kezelt kutya a vizsgálati időszak után, feltételezve a *Dirofilaria*-mentességüket, Németországba került. Közülük kettőt 12 hónappal később módosított Knott-féle módszerrel megvizsgálták a keringő mf-k kimutatása céljából. Egyik eb vérében sem lehetett mf-kat találni, ami alátámasztja azt a feltételezésünket, hogy a 6 hónapig alkalmazott kezelés a 2,5% moxidektin és 10% imidakloprid tartalmú rácseppentő oldattal (Advocate, Bayer) nem csak a keringő mf-kat, hanem valószínűleg a kifejlett *D. repens* férget is elpusztítja.

A *Wolbachia*-baktériumok hatása a fonálféreg fejlődésére és életben maradására, új lehetséges irányt ad a dirofilariosis kezelésének. Doxyciklint alkalmaztak önállóan és kombinációban is ivermektinnel *D. immitis*szel fertőzött kutyákon. Az önmagában adott antibiotikum nem csökkentette a tüdő elváltozások mértékét, de ivermektinnel kombinálva elnyújtott kezeléssel a perivaszkuláris gyulladás foka kisebb lett (Kramer és mtsai., 2008). Azonban a szükséges kezelés hossza és költsége valószínűleg elveszi a kedvét a gyakorló állatorvosoknak attól, hogy a melarzomin alternatívájaként vegyék igénybe szívférgesség esetén

(Bazzocchi és mtsai., 2008). Vizsgálataink azt mutatják, hogy a rácseppentő oldat formájában alkalmazott moxidektin biztonságosabban és egyszerűbben használható a bőr-dirofilariosis kezelésére a doxiciklin és ivermektin kombinációjához képest (Sassnau és mtsai., 2009).

A felmérésünk alatt az ismételten alkalmazott kezelésre szinte egyáltalán nem tapasztaltunk mellékhatást. Mindössze két kutya mutatott kóros tüneteket, úgy, mint hányás, csökkent étvágy és gyengeség. A megfigyelt tünetek megfelelnek a szájon át történő Advocate bejutáskor jelentkező mellékhatásoknak, ám erre nagy mértékben nem volt mód, mivel az előírásoknak megfelelően alkalmaztuk a szert. Ez a két kutya szibériai husky fajtájú volt, és egyikük még a felmérést megelőzően állatorvosi kezelésben részesült általános gyenge állapota, így csökkent étvágy és soványság miatt. Az elvégzett vérvizsgálat során nagyszámú (>8000 mf/ml vér) *D. repens* mf-t találtunk. Néhány nappal később, a tüneti kezelést követően a kutya általános állapota javult, ezért bevettük a kísérletbe, ahol a kezelésre kóros tüneteket mutatott. Feltételezhető, hogy a gyógyulási idő túl rövid volt a kezelést megelőzően. Figyelembe véve ezt az esetet, a nagy számú *D. repens* mf-val fertőzött kutyák, melyek általános állapota gyenge, óvatosan kezelendők.

A zoonotikus fertőzések száma drámaian növekedett az elmúlt évtizedben, így a dirofilariosist növekvő fontosságú zoonózisnak tekintjük (Pampiglione és Rivasi, 2008). Mindent összevetve korábban nem volt elérhető szakirodalmi adat a moxidektin terápiás alkalmazásáról *D. repens* mf pozitív kutyák esetében. Az általunk végrehajtott vizsgálatban a hosszú ideig, kombinációban használt hatóanyag (Advocate) biztonságosnak és 100%-ban hatékonynak bizonyult a féreg mf-ái ellen a 44 kutya bevonásával végzett terepi kísérlet során. Farmakokinetikus vizsgálatok szerint az állandó hatóanyag szint a kutyák szervezetében 4-5 hónapos havonkénti kezelés után alakul ki (Anonymus, 2006). Összességében a 6 hónapig alkalmazott havonként egyszeri kezelés tűnik a legjobb választásnak, míg a gyakoribb, 6 hónapon át két hetente adott gyógyszer nem eredményezett nagyobb hatásfokot. A 3 hónapon keresztül tartó havonkénti gyógyszerelés hasonlóan hatékonynak bizonyult, de ezt a protokollt csak 5 kutyán próbáltuk ki, ezzel szemben 22 kutyát részesítettünk hatszori kezelésben, amely számunkra meggyőzőbb eredményt nyújtott. A vizsgálataink során hosszú időre sikerült kiirtanunk a keringő mf-kat, továbbá feltételezhetjük, hogy elpusztítottuk a kifejlett *D. repens* férgeket is, hiszen a kezelési periódus végétől számított 6 hónapon belüli megfigyelési időszakban nem jelentkezett mkfi. Véleményünk szerint egy ilyen terápiás eljárás segíthet csökkenteni a *D. repens* terjedését olyan területeken, ahol korábban nem fordult elő ez a parazita, de a klímatis viszonyok és a jelenlévő vektor fajok lehetővé teszik a dirofilariosis kialakulását.

A szelamektin hatóanyagú Stronghold® spot on hosszan tartó adásával végzett hatékonysági vizsgálatunk során markáns mf szám csökkenést értünk el valamennyi kezelt csoport esetében. Sajnos kezeletlen kontroll csoport bevonására nem volt módunk, így nem állíthatjuk biztosan, hogy a mf szám csökkenés kizárólag a kezelés eredményeként jött létre. A PP periódus *D. repens* esetében 6-8 hónap, a kifejlett férgek pedig több évig életképesek lehetnek a kutya szervezetében (Manfredi és mtsai., 2007). Ezalatt az idő alatt a vérben keringő mf-k mennyisége jelentősen ingadozik, ami járhat komoly számbeli emelkedéssel és spontán csökkenéssel is, az ivarérett nőtényű féreg életkorának és állapotának megfelelően. Ez önmagában is befolyásolja a mkfi mértékét, ahogy láttuk azt az Advocate készítménnyel végzett kísérletünkben szereplő kezeletlen kontroll csoport egyedeinél. Ez a tényező is hozzájárulhatott a csökkenő mf számhoz, ám ennek pontos mértékét nem tudjuk meghatározni. 2-5 hónappal a kezelés megkezdése után a keringő mf mennyisége valamennyi mintában alacsony értéket mutatott. Összehasonlítva az 1. és 2. havonként kezelt csoportnál mérhető mf számot a 3. és 4. csoportnál tapasztalhatókkal, melyeket kéthetente gyógyszereltünk, ezáltal a gyártó által javasolt dózis dupláját kapták, az figyelhető meg, hogy hamarabb kezdett csökkenni a mkfi mértéke, bár a különbség nem szignifikáns. Ez az észrevétel arra utal, hogy a mfszám csökkenésében mégis a szelamektin kezelés játszik szerepet. A dupla dózisban részesült kutyák egyikénél sem jelentkezett mellékhatás, ami azt mutatja, hogy a szelamektin rácseppentő oldat formájában alkalmazva teljesen biztonságos. A vizsgálat alatt a mkfi mértéke lassan csökkent valamennyi résztvevő kutyában, bár a kísérlet végén 7 minta a 23-ból még mindig pozitív volt. Ez a megfigyelés azt bizonyítja, hogy a 6-9 hónapig tartó kezelési periódus nem elegendő a teljes mf mentesség eléréséhez. A hosszú idő alatti, lassú mfszám csökkentés segíthet elkerülni a hirtelen nagy mennyiségben elpusztuló mf-k okozta súlyosabb mellékhatások kialakulását.

Szakirodalmi adatok alapján tudjuk, hogy a szelamektinnek van mikrofilaricid hatása *D. immitis* esetében, csak viszonylag lassan pusztítja el a keringő mf-kat (McCall és mtsai., 2007). Ezen tapasztalatok alapján feltételezhetjük, hogy a vizsgálataink során megfigyelt *D. repens* mfszám csökkenés nagyrészt a szelamektin kezelés következménye volt. A Stronghold® spot on előírt profilaktikus alkalmazása esetén, a szelamektin hatóanyag nincs hatással a kifejlett szívféregre. Azonban a szívféreg elhelyezkedése eltér a *D. repens* féregétől, hiszen a *D. immitis* a jobb szívfélben és az odatérő nagy erekben élőszködik, míg az adult bőrféreg jellemzően a bőr alatti kötőszövetben fordul elő. Mivel a makrociklikus laktonok nagyobb koncentrációt érnek el a kötőszövetben (Lifschitz és mtsai., 2000), ezért nem kizárható, hogy nagyobb hatással bír az ott élőszködő fonálférgek kifejlett példányaira. Összességében elmondható, hogy a szelamektin

hatóanyaggal végzett hosszantartó spot on kezelés hasznos eszköze a bőrférgesség elleni védekezésnek, bár további vizsgálatok lennének szükségesek a hatás pontosabb megismerésének céljából.

Vizsgálataink alapján javasolhatjuk, hogy azokat a kutyákat, melyek vérében nagy számú keringő mf található, érdemes lehet először szelamektin tartalmú készítménnyel kezelni a hirtelen elpusztuló mf-k által kiváltott mellékhatások elkerülése végett. A moxidektin hatóanyag több hónapon át való alkalmazása pedig teljes mértékben elpusztítja a keringő mf-akat valamint valószínűleg a kifejlett férget is. Emiatt a *D. repens* fertőzöttség terápíájára kiválóan alkalmas.

Konklúzió

Vizsgálataink bebizonyították, hogy hazánkban a dirofilariosis előfordulása a kutyák között lényegesen gyakoribb, mint korábban vélték, valamint macskáknál is megfigyelhető látens bőrférgesség. A *D. repens* fertőzöttség mértéke átlagosan is meghaladja a 18%-ot, de bizonyos területeken ennél jóval magasabb, így 30-40% is lehet. Ezen túl sikerült igazolnunk a szívférgesség autochton jelenlétét Magyarországon, mind kutya, mind görény esetében. Klinikai vonatkozású felmérésünk felhívja a figyelmet a gyakran apatogénnek minősített *D. repens* fertőzöttség okozta laboratóriumi és kórtani eltérésekre. Így a bőrférges kutyák körében thrombocytopenia, eosinophilia, neutrophilia, és szignifikáns mértékű karbamid szint továbbá mérsékelt májenzim emelkedés volt megfigyelhető. Emellett pedig két esettanulmány alátámasztja a *D. repens* fertőzöttség vesekárosító hatását is. Vektor vizsgálataink alapján elmondhatjuk, hogy a hazai szúnyogfauna tagjai között megtalálható több faj, mely bizonyítottan köztigazda szerepet tölt be a *Dirofilaria*-fajok fejlődésében. Az *A. maculipennis*, az *Ae. vexans* és a *C. pipiens* szúnyogfajokban detektáltuk a *D. repens* jelenlétét, valamint igazoltuk vektorszerepüket. A dirofilariosis terjedésének megakadályozására és az előfordulás gyakoriságának csökkentésére több terápiás stratégiát próbáltunk ki, melyek alkalmasak a mkfi csökkentésére, sőt feltételezhetően a kifejlett nematoda elpusztítására is használhatók. Ezáltal visszaszorítható lenne a mkfi-s kutyák száma, melyek rezervoár bázisként részt vesznek az emberi dirofilariosis kialakításában is.

7. Új tudományos eredmények

A felmérő vizsgálatunk a következő **hazai szempontból** fontos új ismereteket eredményezte:

1. Megállapítottuk, hogy a *D. repens* fertőzöttség kutyák körében országos szinten 18,1%-os, macskáknál pedig 3,8%-os. Hazánk különböző területein ez a prevalencia érték 0-42,9% között ingadozott ebek esetében.
2. Hazánkban először kimutattuk a *D. immitis* autochton jelenlétét kutyában és görényben.
3. Az adatlapok elemzésével kimutattuk, hogy a bőrférgesség gyakoribb a kanok, az idősebb életkorú, a szabadban tartott valamint a parazita ellenes kezelésben nem részesült kutyák körében.
4. Hazánkban először végeztünk a dirofiláriákra vonatkozó szúnyogvizsgálatokat, mely azt mutatta, hogy a szúnyogfaunánk tagjai közül az *A. maculipennis*, az *Ae. vexans* és a *C. pipiens* fajok vektorként szerepet játszanak a *D. repens* fejlődésmenetében és terjesztésében.

A bőr-dirofilariosis klinikai vonatkozásait vizsgálva a következő **nemzetközi szempontból** is új eredményeket tapasztaltuk:

1. A bőrférges kutyáknál laboratóriumi vizsgálattal eosinophilia, thrombocytopenia, neutrophilia, továbbá a karbamid szint szignifikáns mértékű emelkedése detektálható. Nem szignifikáns mértékben az ALT, az ALKP és a CK biokémiai paraméterek értéke is növekedett.
2. Két kórbonctani eset részletes elemzésével további kapcsolatot találtunk a *D. repens* fertőzöttség és kutyáknál tapasztalható veseelváltozás között.
3. Vizsgálataink során a bőrgyógyászati eltérések megjelenése nem követte szignifikáns mértékben a bőrférgesség kialakulását.

A *D. repens* fertőzöttség terápiájával kapcsolatos vizsgálataink a következő **nemzetközi szempontból** is fontos új tudományos ismereteket adták:

1. Az Advocate spot on (2,5% moxidectin és 10% imidakloprid) havonként ismételt hosszú távú alkalmazása sikeresen elpusztítja a keringő mf-kat, valamint hatékony volt a kifejlett férgek ellen is.
2. A Stronghold spot on (szelamektin) hosszú távú használatával jelentős mf szám csökkenést értünk el, miközben mellékhatást egyáltalán nem tapasztaltunk a kezelt kutyáknál.

8. Irodalom

Acierno, C., Russo, V., Paciello, O., Santaniello, A., Loizio, R., Rinaldi, L.: **Breast tumour in a dog infected by *Dirofilaria repens***, Second European *Dirofilaria* Days, Salamanca, 16-18 September, Abstract, p. 196., 2009. ISBN-13: 978-84-692-3583-6

Albanese, F., Abramo, F., Braglia, C., Caporali, C., Venco, L., Vercelli, A., Ghibauda, G., Leone, F., Carrani, F., Giannelli, A., Otranto, D.: **Nodular lesions due to infestation by *Dirofilaria repens* in dogs from Italy**, Vet. Dermatol., 2. 255-256., 2013.

American Heartworm Society (Executive Board): **Guidelines for the diagnosis, prevention and management of heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection in dogs**, Vet. Parasitol., 133. 255-266., 2005.

American Heartworm Society honlapja: www.heartwormsociety.org, 2013-as irányelvek.

Anonymous: **Serum pharmacokinetics of imidacloprid 10% w/v/moxidectin 2.5% w/v spot-on in dogs applied once per month for three consecutive intervals, freedom of information summary, Advantage Multi for dogs**, NADA 141–251, Federal Drug Administration, 53–55., 2006.

Anyanwu, I. N., Agbede, R. I. S., Ajanusi, O. J., Umoh, J. U., Ibrahim, N. D. G.: **The incrimination of *Aedes (stegomyia) aegypti* as vector of *Dirofilaria repens* in Nigeria**, Vet. Parasitol., 92. 319-327., 2000.

Argy, N., Sabou, M., Billing, A., Hermsdorff, C., Candolfi, E., Abou-Bacar, A.: **A first human case of ocular dirofilariosis due to *Dirofilaria repens* in Northeastern France**, J. Trop. Med., 2011, 1-3. ID 698647, 2011.

Arther, R. G., Charles, S., Ciszewski, D. K., Davis, W. L., Settje, T. S.: **Imidacloprid/moxidectin topical solution for the prevention of heartworm disease and the treatment and control of flea and intestinal nematodes of cats**, Vet. Parasitol., 133. 219–225., 2005.

Athari, A.: **Zoonotic subcutaneous dirofilariasis in Iran**, Arch. Iranian. Med., 6. (1), 63-65., 2003.

Auer, H. Susani, M.: **The first autochthonous case of subcutaneous dirofilariosis in Austria**, Wien. Klin. Wochenschr., 120. [Suppl 4], 104-106., 2008.

Bandi, C., McCall, J. W., Genchi, C., Corona, S., Venco, L., Sacchi, L.: **Effects of tetracycline on the filarial worms *Brugia pahangi* and *Dirofilaria immitis* and their bacterial endosymbionts *Wolbachia***, Int. J. Parasitol., 29. (2) 357-364., 1999.

Baneth, G., Volansky, Z., Anug, Y., Favia, G., Bain, O., Goldstein, R. E., Harrus, S.: ***Dirofilaria repens* infection in a dog: diagnosis and treatment with melarsomine and doramectin**, Vet. Parasitol., 105. 173–178., 2002

Barka, T., Anderson, P. J.: **Histochemical methods for acid phosphatase using hexasonium pararosanilin as coupler**, J. Histochem. Cytochem., 10. 741-753., 1962.

Bazzocchi, C., Mortarino, M., Grandi, G., Kramer, L. H., Genchi, C., Bandi, C., Genchi, M., Sacchi, L., McCall, J. W.: **Combined ivermectin and doxycycline treatment has microfilaricidal and adulticidal activity against *Dirofilaria immitis* in experimentally infected dogs**, Int. J. Parasitol., 38. (12) 1401-10., 2008.

Bogyó D.: **A csípőszúnyogok (Diptera: Culicidae) hazai fajainak névjegyzéke**, 2006. www.freeweb.hu Makroszkópikus vízi gerinctelenek portál

Boros G., Janisch M., Sebestyén Gy.: ***Dirofilaria immitis* kutyában**, Magy. Állatorv. Lapja, 37. 313-316., 1982.

Bowman, D., Mannella, C.: **Macrocyclic lactones and *Dirofilaria immitis* microfilariae**, Top. Companion Anim. Med., 26. (4) 160-172., 2011.

Brianti, E., Gaglio, G., Napoli, E., Giannetto, S., Dantas-Torres, F., Bain, O., Otranto, D.: **New insights into the ecology and biology of *Acanthocheilonema reconditum* (Grassi, 1889) causing canine subcutaneous filariosis**, Parasitology, 139. (4) 530-536., 2012.

Cancrini, G., Allende, E., Favia, G., Bornay, F., Antón, F., Simón, F.: **Canine dirofilariosis in two cities of southeastern Spain**, Vet. Parasitol., 92. 81-86., 2000.

Cancrini, G., Coluzzi, M., Della Torre, A., Favia, G., Lanfrancotti, A.: **Polymerase chain reaction – identification of *Dirofilaria repens* and *Dirofilaria immitis***, Parasitology, 113. 567-571., 1996.

Cancrini, G., Gabrielli, S., Di Paolo, M., Romi, R., Scaramozzino, P., Toma, L.: **First finding of *Dirofilaria repens* in a natural population of *Aedes albopictus***, Med. Vet. Entomol., 217. 448-451., 2003.

Cancrini, G., Gabrielli, S.: **Vectors of *Dirofilaria* nematodes: biology, behaviour and host/parasite relationships**, Mappe Parassitologiche 8, Rolando Editore, szerk.: Cringoli G., Naples, pp. 47-58., 2007., ISBN: 88-89132-14-0

Carretón, E., González-Miguel, J., Montoya-Alonso, J. A., Morchón, R., Simón, F., Passeri, B., Cantoni, A. M., Kramer, L.: **D-dimer deposits in lungs and kidneys suggest its use as a marker in the clinical workup of dogs with heartworm (*Dirofilaria immitis*) disease**, Vet. Parasitol., 191.182-186., 2013.

Casiraghi, M., Bain, O., Guerrero, R., Martin, C., Pocacqua, V., Gardner, S. L., Franceschi, A., Bandi, C.: **Mapping the presence of *Wolbachia pipientis* on the phylogeny of filarial nematodes: evidence for symbiont loss during evolution**, Int. J. Parasitol., 34. 191-203., 2004.

Casiraghi, M., Bazzocchi, C., Mortarino, M., Ottina, E., Genchi, C.: **A simple molecular method for discriminating common filarial nematodes of dogs (*Canis familiaris*)**, Vet. Parasitol., 141. 368-372., 2006.

Chandrasekharan, N. V., Karunanayake, E. H., Franzen L., Abeyewickreme, W., Petterson, U.: ***Dirofilaria repens*: cloning and characterization of a repeated DNA sequence for the diagnosis of dirofilariosis in dogs, *Canis familiáris***, Exp. Parasitol., 78. 279-286., 1994.

Chaufoux, L., Hunt, R. D.: **Histochemical differentiation of *Dirofilaria immitis* and *Dipetalonema reconditum***, J. Am. Vet. Med. Assoc., 158. 601-605., 1978.

Cielecka, D., Żarnowska-Prymek, H., Masny, A., Salamatin, R., Wesolowska, M., Gołab, E.: **Human dirofilariosis in Poland: the first cases of autochthonous infections with *Dirofilaria repens***, Ann. Agric. Environ. Med., 19. (3) 445-450., 2012.

Ciocan, R., Jacsó, O., Tánczos, B., Fok, É.: **Prevalence of *Dirofilaria* in dogs from Timiș county (western part) Romania**, Third European *Dirofilaria* Days, 20-22 June, Parma, Abstracts, p. 62., 2012.

Conover, W. J.: **Practical nonparametric statistics**. 3rd edition, Wiley, New York, pp. 188-191; 272-286, 1999.

Dang, T. C. Th., Nguyen, Th. H., Do, T. D., Uga, Sh., Morishima, Y., Sugiyama, H., Yamasaki, H.: **A human case of subcutaneous dirofilariosis caused by *Dirofilaria repens* in Vietnam: histologic and molecular confirmation**, Parasitol. Res., 107. 1003-1007., 2010.

De Boysson, H., Duhamel, C., Heuzé-Lecornu, L., Bonhomme, J., de La Blanchardière, A.: **Human dirofilariosis: A new French case report with *Dirofilaria repens***, Rev. Med. Interne., 33. (4) 19-21, 2012.

Dobesova Paran, R., Svobodova, V.: **Effect of therapy by using Advocate Spot-On combination (imidacloprid 10% and moxidectin 2.5%) on subcutaneous dirofilariosis in dogs**, Vet. Med. Int., 2011., 1-4. 2011. doi: 10.4061/2011/482746

Dobesova, R., Svobodova, V.: **Progressive spread of *Dirofilaria* infections in dogs along rivers in the southeastern Czech Republic**, Second European *Dirofilaria* Days, 16-18 September, Salamanca, Abstracts, p. 190., 2009.
doi:10.1053/jinf.2000.0759, available online at <http://www.idealibrary.com> on IDEAL

Duscher, G., Feiler, A., Wille-Piazzai, W., Bakonyi, T., Leschnik, M., Miterpáková, M., Kolodziejek, J., Nowotny, N., Joachim, A.: **Detection of *Dirofilaria* in Austrian dogs**, Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr., 122. 199–203., 2009.

Eckert, J., Friedhoff, K. T., Zahner, H., Deplazes, P.: **Lehrbruch der Parasitologie für die Tiermedizin**. EnkeVerlag. Stuttgart, pp. 318-319., 2005.

Elek, G., Minik, K., Pajor, L., Parlagi, Gy., Varga, I., Vetési, F., Zombori, J.: **New Human Dirofilarioses in Hungary**, Pathol. Oncol. Res., 6. (2) 141-145., 2000.

Favia, G., Lanfrancotti, A., Della Torre, A., Cancrini, G., Coluzzi, M.: **Polymerase chain reaction-identification of *Dirofilaria repens* and *Dirofilaria immitis***, Parasitology, 113. 567–571., 1996.

Fleck, R., Kurz, W., Quade, B., Geginat, G., Hof, H.: **Human Dirofilariasis Due To *Dirofilaria repens* Mimicking a Scrotal Tumor**, Urology, 73. (1) 209., 2009.

Fok É., Szabó Z., Farkas R.: ***Dirofilaria repens* fertőzöttség első hazai diagnosztizálása - kutyában sebészeti beavatkozás során**. Kisállatorvoslás, 4. 218-219., 1998.

Fok É., Varga Zs.: **Klinikai parazitológia I. – Klinikai helmintológia**, Porta-Vet Kiadó, Kapuvár, pp.175-180., 197-200., 2006. ISBN: 963-06-1496-0

Fukase, T.: **A case of *Dirofilaria immitis* infection in a ferret**, Jap. J. Small Anim. Pract., 18. (3). 91-95., 1999.

Gioia, G., Lecová, L., Genchi, M., Ferri, E., Genchi, C., Mortarino, M.: **Highly sensitive multiplex PCR for simultaneous detection and discrimination of *Dirofilaria immitis* and *Dirofilaria repens* in canine peripheral blood**, Vet. Parasitol., 172. 160–163., 2010.

Genchi, C., Poglayen, G., Kramer, L., Casiraghi, M., Venco, L., Brianti, E.: **Efficacia di selamectin nella profilassi delle infestazioni da *Dirofilaria repens* del cane**, Veterinaria, 16. 69-71., 2002.

Genchi, C.: ***Dirofilaria*-fertőzés társállatokban: nyugatról keletre? A dirofilariosis, mint egyre növekvő állategészségügyi és közegészségügyi probléma hazánkban.**” c. a Magyar

Parazitológusok Társasága, a Magyar Zoonózis Társaság és Pfizer Kft. Állategészségügy közös rendezvénye, Budapest, 2006. március 24.

Genchi, C., Guerrero, J., McCall, J.W., Venco, L.: **Epidemiology and prevention of *Dirofilaria* infections in dogs and cats**, In: Genchi, C., Rinaldi, L. and Cringoli, G. (eds), *Mappe Parassitologiche* 8. Rolando Editore, Naples, pp.145-161., 2007.

Genchi, C., Mortarino, M., Genchi, M., Rinaldi, L.: **The spreading of *Dirofilaria* infections in the European countries**, Second European *Dirofilaria* Days, 16-18 September, Salamanca, Abstracts, pp. 54-67., 2009a.

Genchi, C., Rinaldi, L., Mortarino, M., Genchi, M., Cringoli, G.: **Climate and *Dirofilaria* infection in Europe**, *Vet. Parasitol.*, 163. 286–292., 2009b

Genchi, C., Rinaldi, L., Cascone, C., Mortarino, M., Cringoli, G.: **Is heartworm disease really spreading in Europe?** *Vet. Parasitol.*, 133. 137–148., 2005.

Genchi, M., Pengo, G., Genchi, C.: **Efficacy of moxidectin microsphere sustained release formulation for the prevention of subcutaneous filarial (*Dirofilaria repens*) infection in dogs**, *Vet. Parasitol.*, 170. 167–169., 2010.

Giannellia, A., Ramosa, R. A. N., Traversa, D., Brianti, E., Annoscia, G., Bastelli, F., Dantas-Torres, F., Otranto, D.: **Treatment of *Dirofilaria repens* microfilariaemia with a combination of doxycycline hyclate and ivermectin**, *Vet. Parasitol.*, 197. (3-4) 702-704., 2013.

González-Miguel, J., Rosario, L., Rota-Nodari, E., Morchón, R., Simón, F.: **Identification of immunoreactive proteins of *Dirofilaria immitis* and *D. repens* recognized by sera from patients with pulmonary and subcutaneous dirofilariosis**, *Parasitol. Int.*, 59. 248–256., 2010.

Groell, R., Ranner, G., Uggowitzner, M. M., Braun, H.: **Orbital Dirofilariosis: MR Findings**, *Am. J. Neuroradiol.*, 20. 285–286., 1999.

Hermosilla, C., Pantchev, N., Dyachenko, V., Gutmann, M., Bauer, C.: **First autochthonous case of canine ocular *Dirofilaria repens* infection in Germany**, Vet. Rec., 158. 134-135., 2006.

Hurníková, Z., Zalešny, G., Miterpáková, M.: **Red fox (*Vulpes vulpes*) as an important reservoir of *Dirofilaria repens* in slovak wildlife**, Third European *Dirofilaria* Days, 20-22 June, Parma, Abstracts, p. 68., 2012.

IDRE: Institute for Digital Research and Education: **What statistical analysis should I use?** 2013. <http://www.ats.ucla.edu/stat/stata/whatstat/default.htm>

Iglódyová, A., Miterpáková, M.: **Canine *Dirofilaria* Infections in Slovakia**, Third European *Dirofilaria* Days, 20-22 June, Parma, Abstracts, p. 42, 2012.

Jaksic, V., Mitic, N., Pavlovic, I., Vitosevic, Z., Mirkovic, M., Zoric, L., Stamenkovic, D., Vuksa, D., Đokic, O.: **Discrete eyelid swelling caused by live subconjunctival *Dirofilaria repens***, Cent. Eur. J. Med., 6. (2) 177-180., 2011.

Kamalu, B. T.: **Canine filariasis caused by *Dirofilaria repens* in Southeastern Nigeria**, Vet. Parazitol., 40. (3-4) 335-338., 1991.

Kartashev, K., Batashova, I., Kartashov, S., Ermakov, A., Mironova, A., Kuleshova, Y., Ilyasov, B., Kolodiy, I., Klyuchnikov, A., Ryabikina, E., Babicheva, M., Levchenko, Y., Pavlova, R., Pantchev, N., Morchón, R., Simón, F.: **Canine and human dirofilariosis in the Rostov region (Southern Russia)**, Vet. Med. Int., 2011, Article ID 685713, 5 pages

Kassai T.: **Helmintológia**, Magyar Állatorvosi Kamara, Budapest, pp. 186-195., 2011.

Kenyeres Z., Tóth S.: **Csípőszúnyog határozó II**. Keszthely, Pannónia Központ Szakértői és Tanácsadói Koordinációs Kft., 2008.

Kirkova, Z., Ivanov, A., Georgieva, D.: **Dirofilariosis in dogs and wild carnivores in Bulgaria**, In: Genchi, C., Rinaldi, L. and Cringoli, G. (eds), *Mappe Parassitologiche* 8. Rolando Editore, Naples, p. 204., 2007.

Knott, J.: **A method for making microfilarial surveys on day blood**, Transactions of the Royal Society of Trop. Med. Hyg., 33. 191-196., 1939.

Koltas, I. S., Özcan, K., Duran, N.: **Subconjunctival Infection with *Dirofilaria repens***, Ann. Saudi Med., 22. (1-2) 75-76., 2002.

Kotlán, S.: **On a new case of human filariidosis in Hungary**, Acta Vet. Acad. Sci. Hung., 1. 69-79., 1951.

Kramer, L., Genchi, C.: **Feline heartworm infection: serological survey of asymptomatic cats living in northern Italy**, Vet. Parasitol., 104. (1) 43-50., 2002.

Kramer, L., Grandi, G., Leoni, M., Passeri, B., McCall, J., Genchi, C., Mortarino, M., Bazzocchi, C.: ***Wolbachia* and its influence on the pathology and immunology of *Dirofilaria immitis* infection**, Vet Parasitol., 158. (3)191-195., 2008.

Kramer, L.: **Pathogenesis of *Dirofilaria* spp. Infections**, Second European *Dirofilaria* Days, 16-18 September, Salamanca, Abstracts, pp. 116-123., ISBN-13: 978-84-692-3583-6, 2009.

Krutsay M.: **Szövevény technika**, Medicina, p. 124., 1980.

Kucsera, I., Szénási, Zs.: **Human *Dirofilaria repens* infection in Hungary**, Second European *Dirofilaria* Days, 16-18 September, Salamanca, Abstracts, pp. 175-181., ISBN-13: 978-84-692-3583-6, 2009.

Kuzmin, Y., Varodi, E., Vasylyk, N., Kononko, G.: **Experimental infection of mosquitoes with *Dirofilaria repens* (Nematoda, Filarioidea) larvae**, Vestnik zoologii, 39. (6) 19-24., 2005.

Latrofa, M. S., Dantas-Torres, F., Annoscia, G., Genchi, M., Traversa, D., Otranto, D.: **A duplex real-time polymerase chain reaction assay for the detection of and differentiation between *Dirofilaria immitis* and *Dirofilaria repens* in dogs and mosquitoes**, Vet. Parasitol., 185. (2-4)181-185., 2012a.

Latrofa, M. S., Weigl, S., Dantas-Torres, F., Annoscia, G., Traversa, D., Brianti, E., Otranto, D.: **A multiplex PCR for the simultaneous detection of species of filarioids infesting dogs**, *Acta Trop.*, 122. 150-154., 2012b.

Lee, S., Song, K., Liu, J., Kim, M. C., Park, B. K., Cho, K. W., Hasegawa, A., Kim, D. H.: **Comparison of the acidphosphatase staining and polymerase chain reaction for detection of *Dirofilaria repens* infection in dog in Korea**, *J. Vet. Med. Sci.*, 66. 1087-1089., 2004.

Lee, S.E., Kim, H.C., Chong, S.T., Klein, T.A., Lee, W.J.: **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., 2007.

Lifschitz, A., Virkel, G., Sallovitz, J., Sutra, J.F., Galtier, P., Alvinerie, M. and Lanusse, C.: **Comparative distribution of ivermectin and doramectin to parasite location tissues in cattle**, *Vet. Parasitol.*, 87. 327–338., 2000.

Liu, J., Song, K. H., Lee, S. E., Lee, J. Y., Lee, J. I., Hayasaki, M., You, M. J., Kim, D. H.: **Serological and molecular survey of *Dirofilaria immitis* infection in stray cats in Gyunggi province, South Korea**, *Vet. Parasitol.*, 130. (1–2) 125–129., 2005.

Logar, J., Novšak, V., Rakovec, S., Staniša, O.: **Subcutaneous infection caused by *Dirofilaria repens* imported to Slovenia**, *J. Infect.*, 42. (1) 72-74., 2001.

Magi, M., Calderini, P., Gabrielli, S., Dell'Omodarme, M., Macchioni, F., Prati, M. C., Cancrini, G.: ***Vulpes vulpes*: a possible wild reservoir for zoonotic filariae**, *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 8. (2) 249-252. 2008. doi: 10.1089/vbz.2007.0207.

Manfredi, M. T., Di Cerbo, A., Genchi, M.: **Biology of filarial worms parasitizing dogs and cats**, In: Genchi, C., Rinaldi, L. and Cringoli, G. (eds), *Mappe Parassitologiche* 8. Rolando Editore, Naples, pp. 41-45., 2007.

Manfredi, M. T., Vieira, C., Bandi, C., Casiraghi, M., Simón, F.: **Phylogeny, systematics and structural aspects**, in: Simón, F. and Genchi, C (eds), *Heartworm Infection in Humans and Animals*. Ediciones Universidad de Salamanca. Salamanca, 23-26., 2001.

Mar, P.H., Yang, I.C., Chang, G.N., Fei, A.C.: **Specific polymerase chain reaction for differential diagnosis of *Dirofilaria immitis* and *Dipetalonema reconditum* using primers derived from internal transcribed spacer region 2 (ITS2)**, Vet. Parasitol., 106. 243–252. 2002.

Maraghi, S., Rahdar, M., Akbari, H., Radmanesh, M., Saberi, A. A.: **Human dirofilariasis due to *Dirofilaria repens* in Ahvaz - Iran: A report of three cases**, Pak. J. Med. Sci. April-June, 22. No. 2. 211-213., 2006.

Martano, M., Veneziano, V., Santaniello, M., Carbone, S., Paciello, O., Cataldi, M., Russo, V., Maiolono, P.: **Vascular tumors associated with *Dirofilaria repens* infection in a dog**, Parassitologia, 46. 117., 2004.

Masny, A., Lewin, T., Salamatin, R., Golab, E.: **Autochthonous canine *Dirofilaria repens* in the vicinity of Warsaw**, Pol. J. Vet. Sci., 14. No. 4. 659-661., 2011.

Mazurkevich, A., Vasylyk, N., Avramenko, T., Velichko, S., Tarello, W., Varodi E.: **Adult *Dirofilaria repens* nematodes in a cat from Kiev, Ukraine**, Vet. Rec., 155, 638-639., 2004.

McCall, J.: **Dirofilariasis in the domestic ferret**, Clinical Techniques in Small Animal Practice, 13. No 2 (May), 109-112., 1998.

McCall, J.W., Genci, C., Kramer, L.H., Guerrero, J., Venco, L.: **Heartworm disease in animals and humans**, Adv. Parasitol., 66. Chapter 4., 193-285., 2008.

Mclaren, D. J.: **Ultrastructural studies on microfilariae (Nematoda: Filarioidea)**, Parasitol., 65. 317-332. 1972.

Miguel, G., Mellado, I., Carretón, E., Simón, J.F., Siles-Lucas, M., Morchón, R., Montoya-Alonso, J.A.: **Human and animal dirofilariasis: the emergence of a zoonotic mosaic**, Clin. Microbiol. Rev., 25 (3). 507. 2012.

Mihályi F.: **Igazi szúnyogok Culicidae**, Budapest, Akadémiai Kiadó, 1955.

Miterpáková, M., Hurníková, Z., Zalešny, G., Chovancová, B.: **Molecular evidence for the presence of *Dirofilaria repens* in beech marten (*Martes foina*) from Slovakia**, Vet. Parasitol., 196. Issues 3–4, 23 September, 544-546., 2013.

Montoya-Alonso, J. A., Carretón, E., Juste, M.C., Mellado, I., Morchón, R., Simón, F.: **Epidemiological survey of canine heartworm disease on the island of Gran Canaria (Canary Islands-Spain) between 2000 and 2008**, Vet. Parasitol., 173. 165-168., 2010.

Morchón, R.: **The use of insecticides: an alternative or complementary way in the control of dirofilariosis?** Second European *Dirofilaria* Days, Salamanca, 16-18 September, Abstract., pp. 116-123. 2009., ISBN-13: 978-84-692-3583-6

Morchón, R., Carretón, E., Grandi, G., Gonzalez-Miguel, J., Montoya-Alonso, J. A., Simón, F., Genchi, C., Kramer, L. H.: **Anti-Wolbachia surface protein antibodies are present in the urine of dogs naturally infected with *Dirofilaria immitis* with circulating microfilariae but not in dogs with occult infections**, Vector Borne Zoonotic Dis., 12. (1) 2012.

Muró, A., Genchi, C., Cordero, M., Simón, F.: **Humán dirofilariosis in the European Union**. Parasitol. Today, 15. 386-389., 1999.

Nematollahi, A., Barazandeh, M. A. J.: **A survey on *Dirofilaria immitis* occurrence in stray dogs of Tabriz (Iran)**, Acta Vet. Brno, 79. 449-451., 2010.

Niwetpathomwat A., Kaewthamasorn M., Tiawsirisup S., Techangamsuwan S., Suvarnvibhaja S.: **A retrospective study of the clinical hematology and the serum biochemistry tests made on canine dirofilariosis cases in an animal hospital population in Bangkok, Thailand**, J. Vet. Sci., 82. 364-369. 2007.

Nováková, E., Kinceková, J., Adamicová, K., Kompaniková, J., Švihrová, V., Šimeková, K., Krause, J., Pavlinová, J., Dvorožnáková, E.: **Human dirofilariosis: The report of subcutaneous *Dirofilaria repens* infection in the Slovak Republic**, Helminthologia, 48, (1) 13-16., 2011.

Osinska, B., Demiaszkiewicz, A. W., Lachowicz, J.: **Dirofilariosis in Poland: A description of microscopical lesions in a dog infected with *Dirofilaria repens***, ESVP/ECVP 8-11 September, Belgrade, Proceedings, p. 329., 2010.

Otranto, D., Dantas-Torres, F., Brianti, E., Traversa, D., Petrić, D., Genchi, C., Capelli, G.: **Vector-borne helminths of dogs and humans in Europe**, Parasites and Vectors, 6.16., 2013.

Overgaaauw, P., van Dijk, E.: **Autochthonous case of *Dirofilaria repens* in a dog in the Netherlands**, Vet. Rec., January 31, letter, 2009.

Paes-de-Almeida, E. C., Ferreira, A. M. R., Labarthe, N. V., Caldas, M. L. R., McCall, J. W.: **Kidney ultrastructural lesions in dogs experimentally infected with *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856)**, Vet. Parasitol., 113. 157-168., 2003.

Pampiglione, S., Canestri Trotti, G., Rivasi, F.: **Human dirofilariasis due to *Dirofilaria (Nochtiella) repens*: A review of world literature**, Parassitologia, 57. 149-193., 1995.

Pampiglione, S., Canestri Trotti, G., Rivasi, F.: **Human dirofilariosis due to *Dirofilaria repens*: update of world literature from 1995 to 2000**, Parassitologia 42. 231-254., 2000.

Pampiglione, S., Elek, G., Pálfi, P., Vetési, F., Varga, I.: **Human *Dirofilaria repens* Infection in Hungary: A case in the spermatic cord and a review of the literature**, Acta Vet. Hung., 47. (1) 77-83., 1999.

Pampiglione, S., Rivasi, F.: **Human dirofilariosis due to *Dirofilaria (Nochtiella) repens*: an update of world literature from 1995 to 2000**, Xth European Multicolloquium of Parasitology, 24-28 August, Paris, Program and Abstract Book, p. 81. 2008.

Pantchev, N., Sassnau, R., Lorentzen, L., Rossi, M., Brand, B., Dauschies, A., Dyachenko, V.: **Is *Dirofilaria repens* spreading in Germany?** Second European *Dirofilaria* Days, 16-18 September, Salamanca, Abstracts, p. 205., 2009.

Pantchev, N., Etzold, M., Dauschies, A., Dyachenko, V.: **Diagnosis of imported canine filarial infections in Germany 2008-2010**, Parasitol. Res., 109. Suppl 1:S61-76. 2011.

Pavlović, I., Milojković, N., Ćurčin, L., Kovacevic, M., Novak, N., Ivanovic, O.: **Prevalance of *Dirofilaria immitis* in Serbia**, Third European *Dirofilaria* Days, 20-22 June, Parma, Abstracts, p. 53, 2012. ISBN-13: 978-88-903582-6-5

Peribanez, M. A., Lucientes, J., Arce, S., Morales, M., Castillo, J. A., Gracia, M. J.: **Histochemical differentiation of *Dirofilaria immitis*, *Dirofilaria repens* and *Acanthocheilonema dracunculoides* microfilariae by staining with a commercial kit, Leucognost-SP®**, Vet. Parasitol., 102. 173-175., 2001.

Petrocheilou, V., Theodorakis, M., Williams J, Prifti, H, Georgilis, K, Apostolopoulou, I, Mavrikakis, M.: **Microfilaremia from a *Dirofilaria-like* parasite in Greece**, APMS, 106. 315-318., 1998.

Pilat, M., Kobaš, M., Beck, R., Mihaljević, Ž., Marinculić, A.: **Study on the prevalence of *Dirofilaria repens* in native dogs from previously unknown foci in Slavonia, Croatia**, Third European *Dirofilaria* Days, 20-22 June, Parma, Abstracts, p. 54., 2012.

Pingen, C. H., Lorentz, S., Magnis, J., Menn, B., Schaper, R., Naucke, T. J.: **Successful treatment of *Dirofilaria repens* infections in dogs with melarsomine (Immiticide® Merial) against adults and a combination of moxidectin 2.5 % / imidacloprid 10% (Advocate®, Bayer) against microfilaria**, Second European *Dirofilaria* Days, 16-18 September, Salamanca, Abstracts, p. 208., 2009., ISBN-13: 978-84-692-3583-6

Pónyai, K., Wikonkál, N., Bottlik, Gy., Hársing, J., Kucsera, I., Horváth, A., Kárpáti, S.: ***Dirofilaria repens* infection case in Hungary: a case report**, J. Dtsch. Dermatol. Ges., 4. 1051-1053., 2006.

Popescu, I., Tudose, I., Racz, P., Muntau, B., Giurcaneanu, C., Poppert, S.: **Human *Dirofilaria repens* infection in Romania: A case report**, Case Rep. Infect. Dis., 2012, Article ID 472976, 4 pages, 2012.

Poppert, S., Hodapp, M., Krueger, A., Hegasy, G., Niesen, W. D., Kern, W. V., Tannich, E.: ***Dirofilaria repens* infection and concomitant meningoencephalitis**, Emerg. Infect. Dis., 15. (11) 1844-1846., 2009.

Rawlings, A., C.: **Heartworm disease in dogs and cats**, W. B. Saunders Company, Philadelphia, 209-227., 1986. ISBN: 0-7216-1221-0,

Révész E., Markovics G., Darabos Z., Tóth I., Fok É.: **Hasüregi diroflariosis**, Magyar Sebészet, 61. (5) 281-284., 2008.

Rishniw, M., Barr, S. C., Simpson, K. W., Frongillo, M. F., Franz, M., Luis, J., Alpizar, D.: **Discrimination between six species of canine microfilariae by a single polymerase chain reaction**, Vet. Parasitol., 135. 303-314., 2006.

Rocconi, F., Di Tommaso, M., Traversa, D., Palmieri, C., Pampurini, F., Boari, A.: **Allergic dermatitis by *Dirofilaria repens* in a dog: clinical picture and treatment**, Parasitol. Res., 111. 493-496., 2012.

Rossi, L., Ferroglio, E., Agostini, A.: **Use of an injectable, sustained-release formulation of moxidectin to prevent canine subcutaneous dirofilariosis**, Vet. Rec., 154. 26-27., 2004.

Rossi, L., Ferroglio, E., Agostini, A.: **Use of moxidectin tablets in the control of canine subcutaneous dirofilariosis**, Vet., Rec., 150. (12) p. 383. 2002.

Roth, L., Brown, L., Brum, S., Foster, L., Nelson, M., Reczeck, D., von Schantz, D.: **Comparison of three diagnostic tests for *Dirofilaria immitis* in a low-incidence area**, J. Vet. Diagn. Invest., 5. 647-648., 1993.

Sasai, H., Kato, K., Sasaki, T., Koyama, S., Kotani, T., Fukata, T.: **Echocardiographic diagnosis of dirofilariasis in a ferret**, J. Small Anim. Pract., 41. 172-174., 2000.

Sasaki, Y., Kitagawa, H.: **Effects of milbemycin D on microfilarial number and reproduction of *Dirofilaria immitis* in dogs**, J. Vet. Med. Sci., 55. 763-769., 1993.

Scaramozzino, P., Gabrielli, S., Paolo, M., Sala, M., Scholl, F., Cancrini, G.: **Dog filariasis in the Lazio region (Central Italy): first report on the presence of *Dirofilaria repens***, BMC Infect. Dis., 5. p. 75., 2005.

Schwan, E. V., Miller, D. B., de Kock, D., van Heerden, A.: ***Dirofilaria repens* in a cat with acute liver failure**, J. S. Afr. Vet. Assoc., 71.(3) 197-200., 2000.

Simón, F., Siles-Lucas, M., Morchón, R., González-Miguel, J., Mellado, I., Carretón, E., Montoya-Alonso, J. A.: **Human and animal dirofilariasis: the emergence of a zoonotic mosaic**, Clin. Microbiol. Rev., 25. (3) p. 507., 2012.

Smith, H. L., Rajan, T. V.: **Tetracycline inhibits development of the infective-stage larvae of filarial nematodes *in Vitro***, Exp. Parasitol., 95. 265-270., 2000.

Sréter, T., Széll, Z., Marucci, G., Pozio, E., Varga, I.: **Extraintestinal nematode infections of red foxes (*Vulpes vulpes*) in Hungary**, Vet. Parasitol., 115. 329-334., 2003.,

Stayerman, C., Szvalb, S., Szabon, A.: ***Dirofilaria repens* presenting as a subcutaneous nodule in the penis**, BJU International, 84. 746-747., 1999.

Svobodova, V., Svobodova, Z., Beladicova, V., Valentova, D.: **First cases of canine dirofilariasis in Slovakia: a case report**, Vet. Med. (Praha), 50. (11) 510-512., 2005.

Svobodova, Z., Svobodova, V., Genchi, C., Forejtek, P.: **The first report of autochthonous dirofilariasis in dogs in the Czech Republic**, Helminthologia, 43. (4) 242-245., 2006.

Széll Z., Sréter T., Csikós K., Kátai Z., Dobos-Kovács M., Vetési F., Varga I.: **Autochton *Dirofilaria repens* fertőzöttség kutyákban**, Magy. Állatorv. Lapja, 121. 100-104., 1999.

Szénási, Zs., Hári, Kovács A., Pampiglione, S., Fioravanti, M.L., Kucsera, I., Tánccos, B., Tizslavitz, L.: **Human dirofilariasis in Hungary: an emerging zoonosis in central Europe**, Wien. Klin. Wochenschr., 120. 96-102., 2008.

Tarello, W.: **Subcutaneous canine dirofilariasis due to *Dirofilaria (Nochtiella) repens* of american origin in Italy: case report**, *Revue Méd. Vét.*, 151. (11) 1053-1058., 2000.

Tarello, W.: **Dermatitis associated with *Dirofilaria (Nochtiella) repens* microfilariae in dogs from Central Italy**, *Acta Vet. Hung.*, 50. 63-78., 2002a.

Tarello, W.: **Case report – Cutaneous lesions in dogs with *Dirofilaria (Nochtiella) repens* infestation and concurrent tick-borne transmitted disease**, *Vet. Dermatol.*, 13. 267-74., 2002b.

Tarello, W.: **Infestation with the zoonotic nematode *Dirofilaria repens* in cats from central Italy**, *Vet On-Line*, 2002c., URL: <http://priory.com/vet/filiarisis.htm>

Tarello, W.: **Dermatitis associated with *Dirofilaria (Nochtiella) repens* microfilariae in a dog from Rome**, *Vet. J.*, 165. 175-177., 2003a.

Tarello, W.: **Dermatitis associated with *Dirofilaria repens* microfilariae in three dogs in Saudi Arabia**, *J. Small Anim. Pract.*, 44. 132-134., 2003b.

Tarello, W.: **Clinical aspects of dermatitis associated with *Dirofilaria repens* in pets: A review of 100 canine and 31 feline cases (1990–2010) and a report of a new clinic case imported from Italy to Dubai**, *J. Parasitol. Res.*, 2011, Article ID 578385, 7 pages

Tasič, A., Rossi, L., Tasič, S., Tasič, N.M., Ilic, T., Dimitrijevic, T.: **Survey of canine dirofilariosis in Vojvodina, Serbia**, *Parasitol. Res.*, 103. (6) 1297-1302., 2008.

Thanchomnang, T., Intapan, P.M., Lulitanond, V., Sangmaneedet, S., Chung-pivat, S., Taweethavonsawat, P., Choochote, W., Maleewong, W.: **Rapid detection of *Dirofilaria immitis* in mosquito vectors and dogs using a real-time fluorescence resonance energy transfer PCR and melting curve analysis**, *Vet. Parasitol.*, 168. 255–260., 2010.

Toparlak, M., Gargili, A., Ulutas Esatgil, M., Cetinkaya, H.: **Canine filariosis around Istanbul, Turkey employing Naphtol AS-TR Phosphatase**, *Acta Vet. (Brno)*, 74. 233-236., 2005.

Traversa, D., Aste, G., Di Cesare, A., Paoletti, B., Di Tommaso, M., Di Giulio, E., Pampurini, F., Tunesi, C., Boari, A.: **Efficacy of a single administration of a spot-on solution containing imidacloprid 10%/moxidectin 2.5% in eliminating *Dirofilaria repens* microfilariae in naturally infected dogs**, Vet. Parasitol., 179. 107-112., 2011.

Traversa, D., Aste, G., Milillo, P., Capelli, G., Pampurini, F., Tunesi, C., Santori, D., Paoletti, B., Boari, A.: **Autochthonous foci of canine and feline infections by *Dirofilaria immitis* and *Dirofilaria repens* in central Italy**, Vet. Parasitol., 169. (1-2) 128-132., 2010.

Tzanetou, K., Gogou, C., Giannouloupoulos, A., Patralexis, C., Fragia, K.: **Fibrous subcutaneous nodule caused by *Dirofilaria repens***, Travel. Med. Infect. Dis., 7. 318-322., 2009.

Venco, L., Mortarino, M., Carro, C., Genchi, M., Pampurini, F., Genchi, C.: **Field efficacy and safety of a combination of moxidectin and imidacloprid for the prevention of feline heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection**, Vet. Parasitol., 154. 67-70., 2008.

Venco, L.: **Heartworm disease in dogs**, In: Genchi, C., Rinaldi, L. and Cringoli, G. (eds), Mappe Parassitologiche 8. Rolando Editore, Naples, pp. 117-125., 2007a.

Venco, L.: ***Dirofilaria (Noctiella) repens* infection in dogs and cats**, In: Genchi, C., Rinaldi, L. and Cringoli, G. (eds), Mappe Parassitologiche 8. Rolando Editore, Naples, pp. 133-136., 2007b.

Venco, L.: **Heartworm disease in cats**, In: Genchi, C., Rinaldi, L. and Cringoli, G. (eds), Mappe Parassitologiche 8. Rolando Editore, Naples, pp. 127-132., 2007c.

Venco, L., Valenti, V., Bertazzolo, W., Genchi, M., Grandi, G.: **A mini-Invasive procedure for removal of adult *Dirofilaria repens* from subcutaneous nodules in dogs**, Intern. J. Appl. Res. Vet. Med., 9. (2) 217-223., 2011.

Vezzani, D., Carbajo, A. E., Fontanarrosa, M. F., Scodellaro, C. F., Basabe, J., Cangiano, G., Eiras, D. F.: **Epidemiology of canine heartworm in its southern distribution limit in South**

America: Risk factors, inter-annual trend and spatial patterns, Vet. Parasitol., 176. 240-249., 2011.

Vörös K., Kiss G., Baska F., Bagdi N., Széll Z.: **Szívférgesség kutyában**, Magy. Állatorv. Lapja, 122. 707-716., 2000.

Webber, W. A. F., Hawking, F.: **Experimental maintenance of *Dirofilaria repens* and *Dirofilaria immitis* in dogs**, Exp. Parasitol., 4. 143-164., 1955.

Wooldrige, J. M.: **Introductory econometrics, A modern approach**, South – Western College Publishing, USA, pp. 530-540., 2000.

Yildirim, A., Ica, A., Atalay, O., Duzlu, O., Inci, A.: **Prevalence and epidemiological aspects of *Dirofilaria immitis* in dogs from Kayseri Province, Turkey**, Res. Vet. Sci., 82. (3) 358-363., 2007.

Zoric, L., Stamenkovic, D., Vuksa, D., Đokić, O.: **Discrete eyelid swelling caused by live subconjunctival *Dirofilaria repens***, Cent. Eur. J. Med., 6. (2) 177-180., 2011.

9. A doktori kutatás eredményeinek közlései

9.1. A témában megjelent tudományos közlemények

Jacsó O., Fok É.: A kutyák és a macskák *Dirofilaria repens* fertőzöttségének kimutatása laboratóriumi módszerekkel, Magy. Állatorv. Lapja, 128. 683-690., 2006. IF: 0,155

Jacsó, O., Mándoki, M., Majoros, G., Pétsch, M., Mortarino, M., Genchi, C., Fok, É.: First autochthonous *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856) infection in a dog in Hungary, Helminthologia, 46. (3) 159-161., 2009. IF: 0,951

Jacsó, O., Fok, É., Kiss, G., Kökény, G., Lang, Zs.: Preliminary findings on the efficacy of selamectin in the treatment of dogs naturally infected with *Dirofilaria repens*, Acta Vet. Hung., 58. (4) 405-412., 2010. IF: 1,264

Fok, É., Jacsó, O., Szabeni, Zs., Györffy, A., Sükösd, L., Lukács, Z., Schaper, R.: Long lasting elimination of *Dirofilaria repens* microfilariae in dogs with monthly treatments of moxidectin 2.5 % /imidacloprid 10% (Advocate®, Bayer) spot on. Parasitol. Res., 106. 1141–1149., 2010. IF: 1,812

Molnár, V., Pazár, P., Rigó, D., Máthé, D., Fok, É., Glávits, R., Vajdovich, P., Jacsó, O., Balogh, L., Sós, E.: Autochthonous *Dirofilaria immitis* infection in a ferret with aberrant larval migration in Europe, J. Small Anim. Pract., 51. 393-396., 2010. IF: 1,173

Összes impakt faktor: 5,355

9.2. Egyéb tudományos közlemény:

Bölcskei M. A., Gál J., Jacsó O., Jánosi K., Adrián E.: *Foleyella furcata* (L. 1889) fertőzés és *Salmonella Usaramo* okozta, idült petefészek gyulladás importált szenegáli kaméleonban (*Chamaeleo senegalensis*), Magyar Állatorv. Lapja 131. (2) 120-124., 2009. IF: 0,200

Impakt faktor: 0,200

9.3. A témában tartott előadások, poszterek

Fok, É., Majoros, G., **Jacsó, O.**, Farkas, R., Gyurkovszky, M., Kiss, G.: **Preliminary results of an epidemiological survey on dirofilariosis of dogs and cats in Hungary**, First European *Dirofilaria* Days, 22-25 February, Zagreb, In: Genchi, C., Rinaldi, L. and Cringoli, G. (eds), *Mappe Parassitologiche* 8. Rolando Editore, Naples, p. 195., 2007.

Jacsó O., Krassóvári D., Sükösd L., Fok É.: **A zoonotikus *Dirofilaria repens* előfordulása a Budapesten és környékén élő kutyákban**, Szent-Iványi - Binder Napok, május 30.-június 01., Visegrád, Absztrakt könyv pp. 191-196., 2007.

Fok, É., **Jacsó, O.**, Kiss, G., Majoros, G., Gyurkovszky, M.: **Prevalence of *Dirofilaria repens* in dogs between 2005-2009 in Hungary**, Xth European Multicolloquium of Parasitology, 24-28 August, Paris, Abstract Book p. 135., 2008.

Fok, É., **Jacsó, O.**: ***Dirofilaria* infestations in pets in Hungary**, Parasitologische Fachgesprache, Pet-borne Diseases, 5 June, Wien, Abstract Book p. 1., 2009.

Fok, É., **Jacsó, O.**, Szebeni, Zs., Györffy, A., Sükösd, L., Lukács, Z., Schaper, R.: **Long Lasting Elimination of *Dirofilaria repens* Microfilariae in Dogs with Monthly Treatments of Moxidectin 2,5% / Imidacloprid 10 (Advocate, Bayer) Spot On**, WAAVP, 9-13 August, Calgary, Abstract Book pp. 144-145., 2009.

Jacsó, O., Mándoki, M., Majoros, G., Pétsch, M., Mortarino, M., Genchi, C., Fok, É.: ***Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856) Infection in a Dog, First Autochthonous Case in Hungary**, WAAVP, 9-13 August, Calgary, Abstract Book p. 164., 2009.

Jacsó, O., Mándoki, M., Majoros, G., Pétsch, M., Mortarino, M., Genchi, C., Fok, É.: ***Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856) Infection in a Dog, First Autochthonous Case in Hungary**, Second European *Dirofilaria* Days, 16-18 September, Salamanca, Abstract Book p. 223., 2009.

Jacsó, O., Fok, É., Kiss, G., Kökény, G., Lang, Zs.: **Long lasting efficacy of selamectin (Stronghold® Pfizer) in the treatment of dogs infected with *Dirofilaria repens***, Second European *Dirofilaria* Days, 16-18 September, Salamanca, Abstract Book p. 224., 2009.

Ciocan, R., **Jacsó, O.**, Tánzos, B., Fok, É.: **Prevalence of *Dirofilaria* in dogs from Timiș county (western part) Romania**, Third European *Dirofilaria* Days, 21-22 June, Parma, Abstract Book p. 62., 2012.

10. Köszönetnyilvánítás

Mindenek előtt köszönettel tartozom témavezetőmnek, Dr. Fok Évának, akinek a PhD munkámban nyújtott fáradságot nem ismerő, önzetlen segítségéért mindig hálás leszek, továbbá az elmúlt 10 évben mind szakmailag, mind emberileg adott iránymutatásáért és támogatásáért is.

Köszönöm Dr. Farkas Róbert tanszékvezető egyetemi tanárnak a doktori munkám támogatását és a mintagyűjtésben nyújtott segítségét. Köszönettel tartozom Dr. Majoros Gábornak a minták elemzéséhez szolgáltatott nélkülözhetetlen ötleteiért és újításaiért, melyek megkönnyítették munkám elvégzését, és mindenkor gondolatébresztőek voltak. Rendkívül hálás vagyok Dr. Földvári Gábornak és Dr. Tánczos Balázsnak, akik molekuláris biológiai ismeretei és segítése nélkül doktori munkám nem készülhetett volna el; valamint a Parazitológiai tanszék többi munkatársának, így Gyurkovszky Mónikának, Csillagné Bozzai Juditnak és Balázs Istvánnának, akik áldozatos munkája mind hozzájárult a dolgozatom létrejöttéhez.

Nagyra értékelem Dr. Kassai Tibor, nyugalmazott egyetemi tanár úrtól kapott építő kritikákat, és a szakmai támogatást. Köszönöm Dr. Kucsera Istvánnak az együttműködést, melynek során bővítette a dirofilariosis közegészségügyi vonatkozásairól való ismereteimet, valamint társaságát számtalan „dirofiláriás” összejöveten, melyen közösen vettünk részt.

Hálás köszönettel tartozom valamennyi klinikus állatorvosnak, akik a felmérő vizsgálatunk során mintákat gyűjtöttek és küldtek számunkra, és kitöltötték adatlapunkat. Külön köszönöm a Dunakeszi Állatorvosi Rendelőintézet munkatársainak, így főnökeimnek és kollegáimnak, amiért mindenkor beleegyeztek és segítettek a terepkísérletek elvégzésében. Ugyanígy hálás vagyok valamennyi kutyatulajdonosnak, akik lelkesen és rendületlenül hordták hozzám vérvételre kedvenceiket a gyógyszerhatékonysági vizsgálataink során. Továbbá köszönöm a Wobe kft tulajdonában lévő beagle tenyésztő cég vezetőinek, amiért hozzájárultak, és alkalmazottainak, amiért segítettek kísérleteink lebonyolításában.

Köszönöm társszerzőimnek az együttműködést és a segítséget. Köszönettel tartozom továbbá Dr. Kiss Gabriellának és a Pfizer (Zoetis) gyógyszercégnek, amiért kitartóan támogatták munkánkat. Hálás vagyok Dr. Lukács Zoltánnak és Roland Scharpernek, akik a Bayer cég által nyújtottak szakmai és anyagi segítséget kísérleteink elvégzéséhez és közzétételéhez. Együttműködéséért köszönet illeti Claudio Genchi professzort, a Milánói Állatorvos-tudományi Egyetem Parazitológiai és Kórbonctani Tanszékének vezetőjét, valamint munkatársait Chiara Bazzocchit és Michele Mortarino, akik a dirofiláriákkal kapcsolatos molekuláris biológiai

vizsgálatok elsajátításában önzetlenül segítettek. Köszönöm továbbá Sápi Zoltánnak a térképes megjelenítésben nyújtott segítségét.

Kiemelkedően nagy köszönet illeti szakdolgozatos és TDK-s hallgatóinkat, Krassóvári Dianát, Dr. Kenéz Ákost, Dr. Polgár Viktóriát és Dr. Zelenka Évát, amiért kitartó szorgalommal vettek részt munkánkban.

Hálás vagyok Dr. Vörös Károly tanszékvezető egyetemi tanárnak, amiért műhelyvitám idejére átolvasta, és találó észrevételeivel színvonalasabbá tette dolgozatomat.

Végül, de nem utolsó sorban pedig szeretném kifejezni hálámat családomnak, amiért mindig támogattak tudományos pályámon, így szüleimnek, akik lehetővé tették továbbtanulásomat, férjemnek, amiért helyettem elmélyedt a statisztika rejtelseiben, továbbá kisfiamnak, Benedeknek, amiért néha dolgozni is hagyott.

11. Melléklet

11.1. Adatlap

A *Dirofilaria repens* és *Dirofilaria immitis* hazai előfordulását célzó szűrőprogram

Azonosító szám:.....

Beküldő állatorvos neve:.....

címe:.....

elérhetősége (telefon és/vagy e-mail):.....

Tulajdonos neve:.....

címe:.....

elérhetősége (telefon és/vagy e-mail):.....

Kutya neve:.....

fajtája:.....

neme:.....

kora:.....

honnan származik:

külföld

Magyarország

ismeretlen



ország (város) neve:

mely területéről (hely neve):

tartási módja: lakás kert vegyes

más állattal együtt: nincs van → kutya macska

Tartási helye közelében van-e folyó/patak/tó vagy más állandó vízfelület?

nincs van a vízfelület megnevezése:

Viszik-e víz mellé („nyaralni”) vagy külföldre(tengerpartra)?

nem igen hova:

Használtak-e féreghajtót vagy/és külső élősködő elleni szert az állaton 1 hónapon belül?

nem igen, mit:

Féreghajtó:

Külső élősködő ellen:

Mintavétel dátuma (hó, nap, óra): 2007.

Klinikai adatlap

1. Oltással kapcsolatos általános vizsgálat: igen nem

2. Sebészeti beavatkozás: igen nem

3. Egyéb (kórelőzmény):

Jelen állapot

Kondíció: jó közepes rossz

Bőrtünet: nincs van

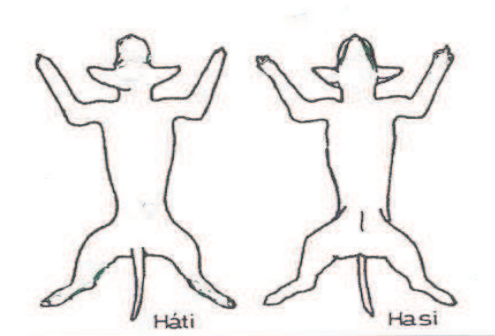
Jellege:

pruritus erythema papula/ák

alopecia korpázás csomó/k

acanthosis ekcéma pyoderma

Bőrelváltozás helye:



Egyéb tünet:

conjunctivitis

étvágytalanság

hányás

láz

bágyadság

nyirokcsomó megnagyobbodás

hasmenés

egyéb:

Vérkép vizsgálat volt-e korábban? nem

igen

ha igen, volt-e:

eosinophilia neutropenia

Az adatlap kitöltésének dátuma:.....

A minta szállításának dátuma:

Módja: hűtve 4 °C-on

nem hűtve

postán

területi képviselő által

egyéb

A minta beérkezésének/átvétele dátuma:

(SZIE ÁOTK-ra)

A minta átvevője:

11.2. Táblázatok

Melléklet 1. táblázat: Magyarországon előforduló csípőszúnyog-fajok (Bogyó, 2006 nyomán)

Anopheles spp.	Aedes spp.	Culex spp.	Ochlerotatus spp.	Culiseta spp.	Egyéb
<i>A. algeriensis</i>	<i>Ae. cinereus</i>	<i>C. modestus</i>	<i>O. geniculatus</i>	<i>C. longiareolata</i>	<i>Coquilletidia richiardi</i>
<i>A. atroparvus</i>	<i>Ae. rossicus</i>	<i>C. mimeticus</i>	<i>O. annulipes</i>	<i>C. fumipennis</i>	<i>Orthopodomyia pulchripalpis</i>
<i>A. clavinger</i>	<i>Ae. vexans</i>	<i>C. pipiens pipiens</i>	<i>O. cantans</i>	<i>C. morsitans</i>	<i>Uranotaenia unguiculata</i>
<i>A. hyrcanus</i>		<i>C. pipiens molestus</i>	<i>O. caspius</i>	<i>C. ochroptera</i>	
<i>A. maculipennis</i>		<i>C. torrentium</i>	<i>O. cataphylla</i>	<i>C. alaskaensis</i>	
<i>A. messeae</i>		<i>C. theileri</i>	<i>O. communis</i>	<i>C. annulata</i>	
<i>A. plumbeus</i>		<i>C. hortensis</i>	<i>O. detritus</i>	<i>C. glaphyroptera</i>	
		<i>C. martinii</i>	<i>O. dorsalis</i>	<i>C. subochrea</i>	
		<i>C. territans</i>	<i>O. excrucians</i>		
			<i>O. flavescens</i>		
			<i>O. hungaricus</i>		
			<i>O. leucomelas</i>		
			<i>O. nigrinus</i>		
			<i>O. pulchritarsis</i>		
			<i>O. pullatus</i>		
			<i>O. punctor</i>		
			<i>O. sticticus</i>		
			<i>O. refiki</i>		
			<i>O. rusticus</i>		

Jelmagyarázat: pirossal a lehetséges *D. repens*, kézzel a lehetséges *D. immitis*, lilával pedig a közös vektorokat jelöltük

Melléklet 2. táblázat: A *D. repens* és *D. immitis* fejlődése a köztigazda szúnyogban (Manfredi és mtsai., 2007)

Fejlődési alak	Lokalizáció	<i>D. repens</i>		<i>D. immitis</i>	
		eltöltött napok	méret (cm)	eltöltött napok	méret (cm)
mikrofilária	középbél	1	0,035	1	0,030
“sausage”-forma	Malphigi-cső sejt	2-7	0,015	5	0,015
L2	Malphigi-cső lumen	6-9	0,05	10	0,05
L3	proboscis	10-20	1	15	1

Melléklet 3. táblázata a szúnyogokból végzett PCR vizsgálat mintáiról

mintaszám	faj	db		gyűjtés helye
R1	<i>Ae. vexans</i>	12	fejtor	Miskolc 2008.08.
R2	<i>Ae. vexans</i>	12	potroh	Miskolc 2008.08.
R3	<i>Ae. vexans</i>	12	fejtor	Miskolc 2008.08.
R4	<i>Ae. vexans</i>	12	potroh	Miskolc 2008.08.
R5	<i>Ae. vexans</i>	3	fejtor	Csepel, Százszorszép u. 2008.
R6	<i>Ae. vexans</i>	3	potroh	Csepel, Százszorszép u. 2008.
R7	<i>Ae. vexans</i>	13	fejtor	Rákosliget 2008.08.
R8	<i>Ae. vexans</i>	13	potroh	Rákosliget 2008.08.
R9	<i>Ae. vexans</i>	5	fejtor	Csepel, Szilvafa u. 2008.09.06
R10	<i>Ae. vexans</i>	5	potroh	Csepel, Szilvafa u. 2008.09.06
R11	<i>A. maculipennis</i>	8	fejtor	Rákosliget 2008.08.
R12	<i>A. maculipennis</i>	8	potroh	Rákosliget 2008.08.
R13	<i>A. maculipennis</i>	13	fejtor	Rákosliget 2008.08.04.
R14	<i>A. maculipennis</i>	9	potroh	Rákosliget 2008.08.04.
R15	<i>A. maculipennis</i>	1	fejtor	Csepel, Százszorszép u. 2008.09.03.
R16	<i>A. maculipennis</i>	1	potroh	Csepel, Százszorszép u. 2008.09.03.
R17	<i>C. pipiens</i>	14	fejtor	Miskolc 2008.08.14-16.
R18	<i>C. pipiens</i>	14	potroh	Miskolc 2008.08.14-16.
R19	<i>C. pipiens</i>	13	fejtor	Miskolc 2008.08.14-16.
R20	<i>C. pipiens</i>	13	potroh	Miskolc 2008.08.14-16.
R21	<i>C. pipiens</i>	7	fejtor	Csepel, Százszorszép u. 2008.06.
R22	<i>C. pipiens</i>	6	potroh	Csepel, Százszorszép u. 2008.06.
R23	<i>C. pipiens</i>	6	fejtor	Csepel, Százszorszép u. 2008.08.
R24	<i>C. pipiens</i>	6	potroh	Csepel, Százszorszép u. 2008.08.
R25	<i>C. pipiens</i>	5	fejtor	Csepel, Százszorszép u. 2008.09.
R26	<i>C. pipiens</i>	5	potroh	Csepel, Százszorszép u. 2008.09.
R27	<i>C. pipiens</i>	14	fejtor	Csepel, Szilvafa u. 2008.09.06
R28	<i>C. pipiens</i>	14	potroh	Csepel, Szilvafa u. 2008.09.06
R29	<i>C. pipiens</i>	15	fejtor	Csepel, Szilvafa u. 2008.09.06
R30	<i>C. pipiens</i>	15	potroh	Csepel, Szilvafa u. 2008.09.06
R31	<i>C. pipiens</i>	15	fejtor	Csepel, Szilvafa u. 2008.09.06
R32	<i>C. pipiens</i>	15	potroh	Csepel, Szilvafa u. 2008.09.06
R33	<i>C. pipiens</i>	14	fejtor	Csepel, Szilvafa u. 2008.09.06
R34	<i>C. pipiens</i>	14	potroh	Csepel, Szilvafa u. 2008.09.06
R35	<i>C. pipiens</i>	14	fejtor	Rákosliget, 2008.08.04 és 15.
R36	<i>C. pipiens</i>	14	potroh	Rákosliget, 2008.08.04 és 15.
R37	<i>C. pipiens</i>	12	fejtor	Rákosliget, 2008.08.19 és 27.

R38	<i>C. pipiens</i>	12	potroh	Rákosliget, 2008.08.19 és 27.
R39	<i>C. pipiens</i>	10	fejtor	Csepel, Szilvafa u. 2008.09.13.
R40	<i>C. pipiens</i>	10	potroh	Csepel, Szilvafa u. 2008.09.13.
R41	<i>C. pipiens</i>	10	fejtor	Csepel, Szilvafa u. 2008.09.13.
R42	<i>C. pipiens</i>	10	potroh	Csepel, Szilvafa u. 2008.09.13.

Melléklet 4. táblázat: A vizsgálat és a kezelés protokollja a különböző csoportoknál, 1. próba (Budapest) és 2. próba (Pécs)

Hónap	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12						
Nap	0	14	28	42	56	70	84	98	112	126	140	154	168	196	224	252	280	308
szórás		+/- 2	+/- 2	+/- 2	+/- 2	+/- 2	+/- 2	+/- 2	+/- 2	+/- 2	+/- 2	+/- 2	+/- 2	+/- 2	+/- 2	+/- 2	+/- 2	+/- 2

Kezeletlen kontrol csoport

n = 8 (1. próba)
n = 12 (2. próba)

Klinikai vizsgálat	X																		X
Kezelés																			
Mellékhatások regisztrálása																			
Vérvétel	X	X	X		X		X		X		X		X	X	X	X	X	X	X
Mikrofilária számlálás	X	X	X		X		X		X		X		X	X	X	X	X	X	X

Kezelés havonta egyszer

6 hónapon át

1. csoport, n = 10 (1. próba)
1. csoport, n = 12 (2. próba)

Klinikai vizsgálat	X																		X
Kezelés	X		X		X		X		X		X								
Mellékhatások regisztrálása	X		X		X		X		X		X								
Vérvétel	X	X	X		X		X		X		X		X	X	X	X	X	X	X
Mikrofilária számlálás	X	X	X		X		X		X		X		X	X	X	X	X	X	X

Kezelés 2 hetente

6 hónapon át

2. csoport, n = 5 (1. próba)
2. csoport, n = 12 (2. próba)

Klinikai vizsgálat	X																		X
Kezelés	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X							
Mellékhatások regisztrálása	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X							
Vérvétel	X	X	X		X		X		X		X		X	X	X	X	X	X	X
Mikrofilária számlálás	X	X	X		X		X		X		X		X	X	X	X	X	X	X

Kezelés havonta egyszer

3 hónapon át

3. csoport, n = 5 (1. próba)

Klinikai vizsgálat	X														X				
Kezelés	X		X		X														
Mellékhatások regisztrálása	X		X		X														
Vérvétel	X	X	X		X		X		X		X		X	X	X				
Mikrofilária számlálás	X	X	X		X		X		X		X		X	X	X				

Melléklet 5. táblázat: A vizsgált minták megoszlása életkor szerint

Életkor	Vizsgált egyed	Pozitív minta	Prevalencia
5 hét-5 hó	52	2	3,8%
6-8 hó	77	0	0%
9-11 hó	45	4	8,9%
1 éves	368	30	8,2%
2 éves	299	50	16,7%
3 éves	233	51	21,9%
4 éves	191	29	15,2%
5 éves	184	50	27,1%
6 éves	160	42	26,3%
7 éves	113	27	23,9%
8 éves	125	41	32,8%
9 éves	92	25	27,2%
10 éves	131	38	29%
11 éves	73	11	15,1%
12 éves	57	14	24,6%
13 éves	28	9	32,1%
14 éves	16	3	18,8%
15 éves	10	2	20%
16 éves	6	0	0%

Melléklet 6. táblázat: A vizsgált minták megoszlása fajtánként (folytatás a következő oldalon)

Fajta	Vizsgált minta	Pozitív minta	Prevalencia
Keverék	775	152	19,6%
Német juhász	212	67	31,6%
Golden retriever	73	14	19,2%
Magyar vizsla	70	18	25,7%
Labrador retriever	61	11	18%
Tacskó	61	4	6,6%
Spániel	50	1	2%
Rottweiler	49	15	30,6%
Boxer	45	4	8,9%
Staffordshire terrier	41	5	12,2%
Buldog	41	5	12,2%
Uszkár	33	2	6,1%
Német dog	31	8	25,8%
Német vizsla	30	9	30%
Foxterrier	26	3	11,5%
Puli	24	4	16,7%

Fajta	Vizsgált minta	Pozitív minta	Prevalencia
Agár	23	3	13%
Beagle	23	5	21,7%
Szetter	23	4	17,4%
Schnauzer	23	1	4,3%
Bullmasztiff	22	3	13,6%
Rókakopó	22	15	68,2%
Kaukázusi juhászkutya	20	10	50%
Belga juhász	18	5	27,8%
Újfundlandi	18	4	22,2%
West highland white terrier	18	0	0
Berni pásztor	17	5	29,4%
Dobermann	16	4	25%
Husky	16	5	31,3%
Pekingi palotakutya	16	0	0
Bullterrier	14	1	7,1%
Mudi	14	4	28,6%
Skót juhász	13	8	61,5%
Yorkshire terrier	12	0	0
Argentín dog	11	1	9,1%
Dalmata	11	2	18,2%
Komondor	11	2	18,2%
Shi-tzu	10	0	0
Bichon havanese	10	0	0
Pincher	10	1	10%

Melléklet 7. táblázat: A regresszióban használt magyarázó változók (folytatás a köv. oldalon)

Vizsgált változó	1	0
Vizes élőhely	ha vizes élőhelyen lakik	különben
Utazás vízpartra	ha utazott vízpartra	különben
Utazás endémiás országba	ha utazott külföldre	különben
Vadászat	ha vadászik	különben
Menhely	ha menhelyi	különben
Kutyatelep	ha kutyatelepen él	különben
Nőstény	ha nőstény	különben
Rövidszőrű	ha rövidszőrű	különben
Hosszúszőrű	ha hosszúszőrű	különben
Nagyon fiatal	ha fiatalabb, mint félév	különben
Fiatal	ha félév-3 év közötti	különben
Középkorú	ha 4 év-7 év közötti	különben
Öreg	ha 7 évnél öregebb	különben
Bolha-kullancs elleni szer	ha kapott bolha-kullancs elleni szert	különben
Mikrofilaricid szer	ha kapott mikrofilaricid szert	különben
Szúnyogrepellens szer	ha kapott repellens szert	különben
Bőrtünet	ha volt bőrtünete	különben
Duna vízgyűjtő	ha a Duna vízgyűjtőterületén lakik	különben

Vizsgált változó	1	0
Tisza vízgyűjtő	ha a Tisza vízgyűjtőterületén lakik	különben
Balaton vízgyűjtő	ha a Balaton vízgyűjtőterületén lakik	különben
Velencei-tó vízgyűjtő	ha a Velencei-tó vízgyűjtőterületén lakik	különben
Rövidszőrű őrző	ha rövidszőrű, nagytestű őrző-védő	különben
Öleb	ha kistestű, lakásban tartott	különben
Vizslák	ha vizsla fajtájú	különben
Óriás őrző	ha óriás testű, hosszúszőrű, őrző-védő	különben

Melléklet 8. táblázat: A regresszióból számított marginális hatás értékek és a hozzájuk tartozó p-értékek

Változó	Marginális hatás (p-érték)	Marginális hatás (p-érték)	Marginális hatás (p-érték)	Marginális hatás (p-érték)
vizes élőhely	0,043 (0,02)	0,042 (0,02)	0,046 (0,01)	0,044 (0,01)
utazás vízpartra	-0,014 (0,55)	-0,015 (0,54)	-0,015 (0,53)	-0,014 (0,55)
utazás endémiás országba	-0,032 (0,43)	-0,031 (0,44)	-0,028 (0,49)	-0,032 (0,41)
vadászat	0,054 (0,55)	0,051 (0,58)	0,068 (0,47)	0,058 (0,53)
menhely	0,69 (0,03)	0,71 (0,02)	0,67 (0,03)	0,67 (0,03)
kutyatelep	0,462 (0,00)	0,465 (0,00)	0,456 (0,00)	0,457 (0,00)
nőstény	-0,038 (0,02)	-0,038 (0,02)	-0,040 (0,01)	-0,038 (0,02)
rövidszőrű	0,005 (0,87)	0,006 (0,84)	0,004 (0,88)	0,005 (0,85)
hosszúszőrű	0,044 (0,05)	0,043 (0,06)	0,044 (0,05)	0,044 (0,05)
nagyon fiatal	-0,146 (0,00)	-0,145 (0,00)	-0,145 (0,00)	-0,146 (0,00)
fiatal	-0,090 (0,00)	-0,090 (0,00)	-0,090 (0,00)	-0,091 (0,00)
öreg	0,059 (0,01)	0,060 (0,01)	0,058 (0,01)	0,058 (0,01)
bolha-kullancs	-0,041 (0,11)	-0,041 (0,11)	-0,041 (0,11)	-0,041 (0,11)
mikrofilaricid	-0,004 (0,93)	-0,007 (0,86)	-0,005 (0,90)	-0,002 (0,95)
szúnyogrepellens	-0,153 (0,00)	-0,153 (0,00)	-0,153 (0,00)	-0,154 (0,00)
bőrtünet	-0,037 (0,05)	-0,036 (0,05)	-0,033 (0,09)	-0,037 (0,05)
öleb	-0,166 (0,00)	-0,165 (0,00)	-0,165 (0,00)	-0,166 (0,00)
vizsla	0,079 (0,13)	0,079 (0,14)	0,090 (0,10)	0,080 (0,13)
óriás őrző	0,100 (0,04)	0,103 (0,04)	0,098 (0,04)	0,101 (0,04)
rövidszőrű őrző	0,036 (0,34)	0,036 (0,35)	0,037 (0,34)	0,036 (0,35)
Duna vízgyűjtő	-0,009 (0,66)	-	-	-
Tisza vízgyűjtő	-	0,020 (0,36)	-	-
Balaton vízgyűjtő	-	-	-0,121 (0,00)	-
Velence vízgyűjtő	-	-	-	-0,024 (0,75)

Melléklet 9. táblázat: PCR technikával *D. repens* pozitív minták

Minta	Bázispárnyi nagyságok	Faj	n*	Potroh/ fejtor	Gyűjtés helye
R2	350	<i>Ae. vexans</i>	12	potroh	Miskolc 2008.08. 14-16.
R5	150	<i>Ae. vexans</i>	3	fejtor	Csepel, Százsorszép u. 2008.
R6	150	<i>Ae. vexans</i>	3	potroh	Csepel, Százsorszép u. 2008.
R8	150	<i>Ae. vexans</i>	13	potroh	Rákosliget 2008.08.
R9	150	<i>Ae. vexans</i>	5	fejtor	Csepel, Szilvafa u. 2008.09.06
R10	150	<i>Ae. vexans</i>	5	potroh	Csepel, Szilvafa u. 2008.09.06.
R11	250	<i>A. maculipennis</i>	8	fejtor	Rákosliget 2008.08.15/19/27.
R12	250	<i>A. maculipennis</i>	8	potroh	Rákosliget 2008.08.15/19/27.
R13	250	<i>A. maculipennis</i>	13	fejtor	Rákosliget 2008.08.04.
R14	250	<i>A. maculipennis</i>	9	potroh	Rákosliget 2008.08.04.
R15	250	<i>A. maculipennis</i>	1	fejtor	Csepel, Százsorszép u. 2008.09.03.
R16	250	<i>A. maculipennis</i>	1	potroh	Csepel, Százsorszép u. 2008.09.03.
R25	150	<i>C. pipiens</i>	5	fejtor	Csepel, Százsorszép u. 2008.09.
R26	150	<i>C. pipiens</i>	5	potroh	Csepel, Százsorszép u. 2008.09.

*n: a poolmintában feldolgozott egyedek száma

Melléklet 10. táblázat: A fertőzött és a nem fertőzött csoport vérvizsgálati eredményeinek összehasonlítása a mediánok alapján

Fertőzött és nem fertőzött kutyák vérvizsgálati eredményeinek összesített értékelése					
	<i>D. repens</i> pozitív (n=57)		<i>D. repens</i> negatív (n=400)		Referencia
	MEDIÁN ± SZÓRÁS	MEGFIGYELT SZÉLSŐÉRTÉKEK	MEDIÁN ± SZÓRÁS	MEGFIGYELT SZÉLSŐÉRTÉKEK	NORMÁL TARTOMÁNY
vörösvérsejtszám (T/l)	6,7 ± 1,8	1,9 - 10,8	7,0 ± 1,9	0,3 - 13,8	5,5 - 8,5
hemoglobin (g/l)	141,0 ± 33,4	43 - 199	147,0 ± 35,2	32 - 231	120 - 180
hematokrit (l/l)	0,4 ± 0,1	0,1 - 0,6	0,4 ± 0,1	0 - 0,8	0,35 - 0,55
fehérvérsejtszám (G/l)	15,1 ± 11,2	4,4 - 60,4	13,7 ± 13,1	1,3 - 82,6	6 - 12
neutrophil gr. aránya (%)	80,0 ± 13,5	39 - 97	78,0 ± 14,0	15 - 98	60 - 85
eosinophil gr. aránya (%)	4,0 ± 5,8	0 - 33	2,0 ± 5,7	0 - 68	1 - 6
eosinophil gr. száma (G/l)	0,4 ± 1,0	0 - 4,3	0,3 ± 1,1	0 - 13,4	0,1 - 0,3
thrombocytaszám (G/l)	216,0 ± 154,8	12 - 716	280,0 ± 184,6	0 - 1559	200 - 800
babesiosis (poz.=1; neg.=0)	0,0 ± 0,3	0 - 1	0,0 ± 0,2	0 - 1	0 - 0
ALT (U/l)	75,0 ± 132,8	10 - 704	62,5 ± 187,9	2 - 1680	0 - 60
ALKP (U/l)	252,5 ± 835,9	57 - 3957	207,0 ± 818,1	2,6 - 3957	30 - 280
GGT (U/l)	17,6 ± 17,8	1,9 - 78,4	15,9 ± 51,3	0,3 - 676	0 - 10
epesavak (µmol/l)	10,6 ± 143,7	1 - 525,3	9,9 ± 47,2	1 - 334,1	0 - 20
amiláz (U/l)	654,0 ± 265,8	170 - 1323	669,5 ± 650,2	6,4 - 4106	0 - 900
lipáz (U/l)	37,5 ± 47,3	10 - 195	28,0 ± 162,6	5 - 1434	0 - 800
karbamid (mmol/l)	9,8 ± 24,6	1,8 - 88,6	6,7 ± 15,4	1,1 - 117	4 - 9
kreatinin (µmol/l)	122,5 ± 516,1	65 - 3608	113,0 ± 141,1	41 - 1748	40 - 140
CK (U/l)	235,5 ± 403,8	74 - 1207	160,5 ± 373,6	35 - 2010	30 - 100
LDH (U/l)	182,5 ± 453,2	77 - 1440	221,0 ± 239,2	11 - 1152	0 - 200

Melléklet 11. táblázat: Az 1. próba (Budapest) eredményei

Csoportok	Mintavétel napja	0	14	28	56	84	112	140	168	196	224	252	280	308	
Kezeletlen kontrol csoport	Teljes mfszám ^a / n1 ^b /n2 ^c	1230/ 8/8	970/ 8/8	1726/ 7/8	5336/ 6/8	2326/ 6/8	5418/ 6/8	2226/ 5/8	4914/ 5/8	782/ 7 ^d /8	820/ 4/7 ^e	884/ 4/7	346/ 2/7	838/ 2/7	
	Átlag± Szórás min.-max.	153.8± 156.1 (4-380)	122.5± 181.5 (12-552)	215.9± 329.4 (0-840)	667± 1122.3 (0-2920)	290.8± 478.0 (0-1410)	677.3± 1547.7 (0-4474)	278.3± 541.2 (0-1588)	614.3± 1379.8 (0-4000)	111.7± 142.1 (0-266)	117.1± 200.9 (0-532)	126.3± 245.3 (0-666)	86.5± 154.9 (0-318)	209.5± 408.4 (0-822)	
Kezelés Havi egyszer 6 hónapon át 1. csoport	Teljes mfszám ^a / n1 ^b /n2 ^c	25480/ 10/10	4/ 2/10	0/ 0/10	0/ 0/10	0/ 0/10	0/ 0/10	0/ 0/10	0/ 0/10	0/0/10	0/ 0/10	0/ 0/10	0/ 0/10	0/ 0/10	0/ 0/8 ^e
	Átlag± Szórás min.-max.	2548± 2457.3 (220-7692)	0.4± 0.8 (0-2)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	EE%		75.0	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	
	IE%		99.7	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	
Kezelés 2 hetente 6 hónapon át 2. csoport	Teljes mszám ^a / n1 ^b /n2 ^{c,f}	10486/ 5/5	8/ 2/5	0/ 0/5	0/ 0/5	0/ 0/5	0/ 0/5	0/ 0/5	0/ 0/5	0/ 0/5	0/ 0/5	0/ 0/5	0/ 0/5	0/ 0/5	
	Átlag± Szórás min.-max.	2097.2± 1197.6 (1170-3744)	1.6± 2.2 (0-4)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	EE%		75.0	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	
	IE%		98.7	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	
Kezelés Havi egyszer 3 hónapon át 3. csoport	Teljes mfszám ^a / n1 ^b /n2 ^c	14394/ 5/5	4/ 1/5	2/ 1/5	0/ 0/5	0/ 0/5	0/ 0/5	0/ 0/5	0/ 0/4 ^f	0/ 0/4 ^f	0/ 0/4 ^f				
	Átlag± Szórás min.-max.	2878.8± 5599.7 (22-12876)	0.8± 1.8 (0-4)	0.4± 0.9 (0-2)	0	0	0	0	0	0	0				
	EE%		87.5	85.7	100	100	100	100	100	100	100				
	IE%		99.4	99.8	100	100	100	100	100	100	100				

^a= teljes mfszám/1 ml vér; n1^b = mkfi-s állatok száma; n2^c = csoportonkénti állatszám ^d=hiányzó vérvétel; ^e = Kezelés miatt egy kutyát kizártunk ^f= hiányzó kutyák

Melléklet 12. táblázat: A 2. próba (Pécs) eredményei

Csoportok	Mintavétel napja	0	14	28	56	84	112	140	168	196	224	252	280	308
Kezeletlen Kontrol csoport	Teljes mfszám ^a / n1 ^b /n2 ^c	3256/ 12/12	4860/ 11/12	5780/ 11/12	5256/ 11/12	5630/ 10/12	3204/ 7/12	4344/ 6/12	13494/ 6/12	12636/ 6/12	16534/ 4/10 ^c	8414/ 6/12	1488/ 5/12	2420/ 6/12
	Átlag± Szórás min.-max.	271.3± 296.1 (2-1050)	403.3± 595.7 (0-2062)	473.3± 549.3 (0-1488)	438± 532.4 (0-1656)	234.6± 480.6 (0-3462)	267± 560.3 (0-1884)	362± 549.2 (0-1646)	1124.5± 2207.2 (0-7608)	1053± 2245.3 (0-7666)	1653.4± 3356.6 (0-10698)	701.2± 1500.9 (2-4622)	124± 275.1 (2-898)	201.7± 418.5 (2-1360)
Kezelés Havi egyszer 6 hónapon át 1. csoport	Teljes mfszám ^a / n1 ^b /n2 ^c	15884/ 12/12	0/ 0/12	0/ 0/12	0/ 11 ^d /12	0/ 0/12	0/ 0/12	0/ 0/12	0/ 0/12	0/ 0/12	0/ 0/12	0/ 0/12	0/ 0/12	0/ 0/11 ^d
	Átlag± Szórás min.-max.	1323.7± 1718.2 (12-5216)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	EE%		100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	IE%		100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Kezelés 2 hetente 6 hónapon át 2. csoport	Teljes mfszám ^a / n1 ^b /n2 ^c	5798/ 12/12	2/ 1/12	0/ 0/12	0/ 0/12	0/ 0/12	0/ 0/12	0/ 0/12	0/ 0/12	0/ 0/12	0/ 0/12	0/ 0/10 ^d	0/ 0/12	0/ 0/12
	Átlag± Szórás min.-max.	614.8± 807.0 (4-2636)	0.2± 0.6 (0-2)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	EE%		99.9	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	IE%		99.96	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

^a = teljes mfszám/1 ml vér; n1^b = mkfi-s állatok száma; n2^c = csoportonkénti állatszám; ^d = hiányzó vérvétel.

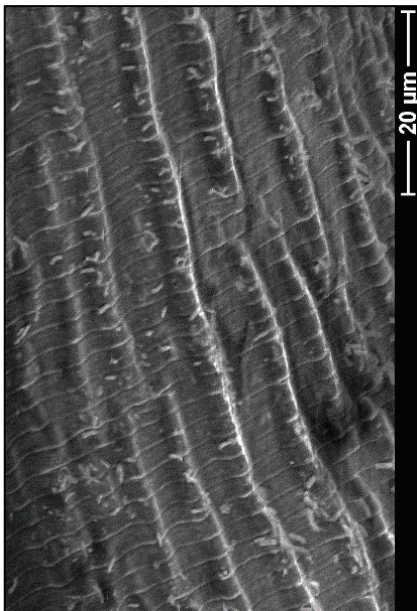
Melléklet 13. táblázat: Kezelési csoportonként mérhető mf számok a szelamektinnel kezelt kutyáknál (–: az adat nem áll rendelkezésre)

		0. nap	16. nap	28. nap	56. nap	84. nap	112. nap	140. nap	168. nap	196. nap	224. nap	252. nap	280. nap	308. nap	336. nap
1. csoport	1	2279	582	610	582	-	46	49	8	5	16	7			
	2	299	3862	2305	945	842	135	25	7	-	-	-			
	3	13	7	11	12	14	13	0	0	0	0	0			
	4	4	0	2	1	3	4	5	1	0	0	0			
	5	366	17	26	18	2	1	-	0	-	-	-			
	Átlag± Szórás	592,2± 957,1	893,6± 1677,9	590,8± 992,6	311,6± 432,1	215,3± 417,9	39,8± 56,1	19,8± 22,3	3,2± 4,0	1,7± 2,9	5,3± 9,2	2,3± 4,0			
2. csoport	1	187	378	2073	563	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	35	631	1032	1091	1393	880	273	219	5	0	19	13	68	125
	3	39	688	563	134	129	1	0	0	0	0	0	3	0	6
	4	5	17	31	3	9	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	71	18	11	1	12	4	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	565	6	25	9	23	0	0	1	0	-	-	-	-	-
	7	403	0	0	0	0	0	-	-	0	0	0	0	0	1
	8	97	133	107	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1
	Átlag± Szórás	175,3± 202,9	233,9± 291,6	480,3± 741,4	225,1± 399,9	199± 484,3	110,8± 310,8	39± 103,2	31,6± 82,6	0,6± 1,8	0±0	2,7± 7,2	2,4± 4,8	9,9± 25,6	19± 46,8
3. csoport	1	349	1128	2076	326	23	4	1	2	0	0	0			
	2	278	1342	193	-	55	31	0	-	0	0	0			
	3	32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
	4	214	1	0	0	0	0	-	0	0	0	0			
	5	14	64	2	0	4	0	0	0	1	0	3			
	Átlag± Szórás	177,4± 149,0	507± 669,4	454,2± 910,4	81,5± 163	16,4± 23,6	7± 13,5	0,25± 0,5	0,5± 1,0	0,2± 0,4	0±0	0,6± 1,3			
4. csoport	1	46	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-
	2	48	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	325	1963	1398	100	2	1	0	2	0	0	0	0	0	0
	4	143	1657	2332	837	191	0	0	1	3	0	0	2	5	1
	5	172	440	1176	67	95	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	Átlag± Szórás	146,8± 114,4	813± 933,8	981,2± 995,2	200,8± 358,3	57,6± 85,0	0,2± 0,4	0±0	0,8± 0,8	0,6± 1,3	0±0	0±0	0,4± 0,9	1,3± 2,5	0,3± 0,5

11.3. Ábrák és képek



Melléklet 1. ábra: A vizsgált minták megoszlása életkor szerint



Melléklet 1. kép: *D. repens* kutikula szerkezete
(fotó: Vági Pál)



Melléklet 2. kép: *D. repens* nőstény feji vége
(fotó: Fok Éva)



Melléklet 3. kép: *D. repens* nőstény féreg kutya bőr alatti kötőszövetében (saját felvétel)



Melléklet 4. kép: *D. immitis* farki vége (♀,♂) (fotó: Fok Éva)