

Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei

**ÚJ LEHETŐSÉGEK A KUTYÁK
SZÍVFÉRGESSÉGÉNEK DIAGNOSZTIKÁJÁBAN
ÉS TERÁPIÁJÁBAN**

dr. Becker Zsolt

Témavezetők: Dr. Vörös Károly, CSc, DSc

Dr. Farkas Róbert, CSc, DSc



ÁLLATORVOSTUDOMÁNYI EGYETEM
Állatorvostudományi Doktori Iskola

Budapest, 2023

Témavezető:

.....

Dr. Vörös Károly

Professzor, CSc, DSc

Belgyógyászati Tanszék és Klinika

Állatorvostudományi Egyetem Budapest

Témavezető:

.....

Dr. Farkas Róbert

Professzor, CSc, DSc

Parazitológiai és Állattani Tanszék

Állatorvostudományi Egyetem Budapest

.....

dr. Becker Zsolt

Készült 8 példányban. Ez a(z) ... sz. példány.

1. A doktori értekezés előzményei és célkitűzései

A *Dirofilaria immitis* által okozott szívférgesség szúnyogok által közvetített, egyre gyakoribb kórkép a ragadozók, főleg a kutyák körében, amely a legtöbb kontinensen jelen van. Ez a betegség Magyarországon is terjed, és már több régió tekinthető endémiásnak, főleg a déli és keleti országrészekben. A bőrférgességet előidéző *Dirofilaria repens* megtalálható Ázsiában és Afrikában is, míg az amerikai kontinensen nem fordul elő. Ez a fonálféreg faj jelen van számos európai országban, többek között Magyarországon is, azokon a területeken, ahol a *D. immitis* is megtalálható. A két *Dirofilaria*-faj együttes előfordulása kiemelt jelentőséggel bír, eltérő kórjelzésük és terápiájuk miatt. A szívférgesség megfelelő kórjelzése, gyógykezelése és megelőzése elengedhetetlen a kutyák védelme, illetve a humán fertőzések megakadályozása szempontjából, melyet a fertőzött szúnyogok okozhatnak. Doktori értekezésemben bemutatom a szívférgesség diagnosztikájának és gyógykezelésének új lehetőségeire vonatkozó kutatómunkám eredményeit.

A doktori disszertációm alapját képző kutatások az alábbi célkitűzések köré csoportosíthatók:

1. Az értekezésem első része olyan szívférges kutyák szerodiagnosztikai módszereinek a lehetőségeit foglalja magában, amelyek azokról a területekről származtak, ahol a *D. immitis* és a *D. repens* egyaránt előfordul. A vizsgálatokat az indokolta, hogy ilyen esetekre vonatkozóan nem találtunk adatokat a szívférgesség antigéntesztjeinek validációjáról. Modellként a VetScan antigéntesztet használtuk, és a PCR eredménye szolgáltatta a parazitológiai diagnózis standardját. A vizsgálatok keretében az antigénteszt szenzitivitását és specificitását értékeltük. Szándékunkban állt annak tanulmányozása is, hogy a tényleges okkult dirofilariosis lehet-e az oka a pozitív eredményt mutató antigénteszteknek azokban a kutyákban, amelyekben a *D. immitis* PCR eredménye negatív volt. Ilyen esetekben nem található *D. immitis* mikrofiláriák a perifériás vérben. Az okkult szívférgességgel diagnosztizált

kutyáknál különböző gyártótól származó antigénteszteket használtunk. Hipotézisünk az volt, hogy a tévesen pozitív keresztreakciók esélye a *D. immitis* és más férgek (köztük a *D. repens*) között kisebb, amennyiben több antigénteszt is pozitív eredményt ad ugyanabban a vérmintában.

2. A szívférgesség standard terápiáját az Amerikai Szívférgesség Társaság (American Heartworm Society, AHS) ajánlása alapján végzik világszerte, amely hatékony módszernek mondható. Ez az összetett terápiás protokoll magában foglal egy makrociklikus laktont (napjainkig az ivermektint) a mikrofiláriák, valamint az L3 és az L4 lárvák elpusztítása céljából, valamint tartalmazza a doxiciklint a szimbionta *Wolbachia* baktériumokkal szemben és az adulticid hatású melarzomin-dihidrokloridot. Ezeknek a gyógyszereknek a használatakor azonban mellékhatások és komplikációk egyaránt előfordulhatnak. A kutatásunk során módosítottuk és kiegészítettük az AHS protokollt néhány, újonnan alkalmazott gyógykezelési eljárással,

annak érdekében, hogy csökkentsük a mellékhatásokat, és tovább fokozzuk a terápia hatékonyságát, illetve javítsuk a betegség kimenetelét. Ebből a célból, makrociklikus laktonként a moxidektint használtuk az ivermektin helyett, szakirodalmi adatok szerint tudomásunk szerint elsőként, ami a moxidektin alkalmazását illeti a szívférgesség komplex terápiájának keretében. A doxiciklinnel végzett kezelés mellé probiotikumokat adtunk annak érdekében, hogy csökkentsük a gyógyszer gastrointestinalis mellékhatásait. Pácienseinket butorfanollal bódítottuk a melarzomin injekció applikációja előtt. Az injekciós tű pontos helyét ultrahangvizsgálat segítségével állapítottuk meg a paralumbalis izmokban, és ezzel a módszerrel követtük nyomon a potenciális helyi szövődményeket is.

3. Az értekezés harmadik fejezete az okkult dirofilariosis okozta súlyos szívférgesség esetleírását tartalmazza, amelyet Magyarországon elsőként közöltünk. Ez a tanulmány példaként

szolgál az első és második fejezetben leírt, új tudományos eredmények klinikai alkalmazási lehetőségeire vonatkozóan.

2. Új tudományos eredmények

2.1. Szerodiagnosztikai nehézségek és lehetőségek a *D. immitis* okozta szívférgesség megállapításában, „*D. repens* környezetben”

Az általunk használt VetScan antigénteszt szenzitivitása kiváló (97,7%) volt a szívféreggel fertőzött 47 kutya vizsgálatkor, összehasonlítva a témában történt korábbi vizsgálatok eredményeivel (bővebben lásd az 1. táblázatban). A teszt specifitása azonban alacsonyabb (66,7%) volt abban a *D. repens*-szel fertőzött 24 egyedben, amelyekben a *D. immitis* antigén teszt negatív volt, összehasonlítva az Egyesült Államokban végzett vizsgálatokkal, ahol *D. repens* nem fordul elő. A pozitív *D. repens* és negatív *D. immitis* PCR-eredmények esetén a pozitív *D. immitis* antigénteszt eredmény oka az okkult szívférgesség lehet. Ez a megfigyelés alátámasztja több, különböző gyártótól származó antigénteszt egyidejű használatának szükségességét olyan környezetben, ahol mindkét *Dirofilaria*-faj megtalálható. Az utóbbi fokozott jelentőséggel bír azokban az esetekben, amelyeknél a PCR-vizsgálat nem indokolt a Knott-teszt negatív lelete

alapján, illetve negatív eredményt ad a vérben, a mikrofiláriák hiánya miatt, vagy ha a PCR-rel csak *D. repens* fertőzöttség mutatható ki.

	Jelen kutatás	Atkins 2003	Aron és mtsai. 2012**	Henry és mtsai. 2018
Szenzitivitás % (95% KI)	97,7 (89,0-99,9) n=47	78,0 (72,0-84,0) n=208	92,0 n=25	98,5 (95,7-99,7) n=200
Specificitás % (95% KI)	66,7 (45,6-83,1)* n=24	97,0 (84,0-100) n=32	100 n=24	94,0 (83,4-98,7) n=50

1. táblázat. A VetScan antigénteszt vizsgálatunkban kapott szenzitivitásának és specifitásának összehasonlítása más szakirodalmi adatokkal. KI: Blaker-féle 95%-os konfidencia intervallum; n: vizsgált állatok száma; *: PCR-vizsgálattal *D. repens* pozitív és *D. immitis* negatív páciensekre vetítve. **: KI nem volt megadva.

2.2. Moxidectin alkalmazása és a melarzomin injekció ultrahangvizsgálat segítségével történő applikációja az Amerikai Szívférgesség Társaság (American Heartworm Society, AHS) által javasolt kezelési protokoll során, *Dirofilaria immitis* fertőzöttségű kutyákban

A szívférgesség gyógykezelése során 44 *D. immitis* fertőzöttségű kutyának moxidectint applikáltunk ivermektin helyett, probiotikumot adtunk a doxiciklin mellé, illetve butorfanol szedációt alkalmaztunk a melarzomin injekció beadása előtt. Az injekciós tű pontos helyét ultrahangvizsgálat során határoztuk meg a melarzomin beadásakor. Az általunk alkalmazott változtatásokkal és módosításokkal (2. táblázat) kedvező eredményeket értünk el az AHS 2014-es protokolljához képest a gyógykezelés kimenetelében és különösen az enyhe posztterápiás szisztémás és helyi mellékhatások tekintetében. Mind a 44 páciensünk tünetmentes volt egy hónappal a harmadik melarzomin injekció beadását követően. Az összesen 44 kutya közül a 271. napon 33

esetben elvégzett antigénteszt negatív volt valamennyi vizsgált egyedben, utalva a parazitológiai gyógyulásra.

Nap	AHS által javasolt protokoll *	Változtatások és kiegészítések a jelen kutatásban**
0. nap	<p>Mozgáskorlátozás megkezdése.</p> <p>Ha van tünet: stabilizálás és megfelelő terápia.</p> <p>Prednizon adagolása szájon át, az 1. naptól kezdve 0,5 mg/kg/12h 1 hétig, majd 0,5 mg/kg/24h 1 hétig, majd 0,5/mg másnaponta 2 hétig.</p>	<p><i>Az anaphylaxia megelőzésére</i>, ha van mf: Prednizonon adagolása szájon át, 1 hétig az 1. napon megkezdett kezelés előtt, hasonló terápiás elrendezésben, 4 hétig.</p> <p><i>A thromboembolia megelőzése miatt</i>, melyet a mf okozhatnak: klopidoгрél 2-4 mg/kg/24h szájon át.</p> <p>A prednizonon gastrointestinalis mellékhatásainak megelőzése érdekében: famotidin 0,5-2,0 mg/kg/12-24h per os vagy omeprazol 0,5-1,0 mg/kg/12-24h per os.</p>

1. nap	<p>Szívférgességet megelőző szer ***</p> <p>Ha mf található, előkezelés antihisztaminnal és glükokortikoiddal, ha még nincs prednizon kezelés alatt. Megfigyelés 8 órán keresztül a lehetséges anaphylaxia miatt.</p>	<p>Szívférgességet megelőző szer: moxidektin topikálisan, a használati útmutató szerint.</p> <p><i>Az anaphylaxia megelőzésére, ha van mf: dexametazon 0,1-0,2 mg/kg im. a moxidektin applikációja előtt; kloropiramin 0,5-1,0 mg/kg im. 4 órával a moxidektin applikációja után.</i></p>
1-28. nap	<p>Doxiciklin 10 mg/kg/12h adagban, 4 hétig.</p>	<p><i>A prednizolon és doxiciklin GI mellékhatásainak megelőzése érdekében 1-28 nap között: famotidin vagy omeprazol a fent leírtak szerint.</i></p> <p><i>A doxiciklin GI mellékhatásainak megelőzése érdekében: állatorvosi felhasználásra szánt probiotikum 1-28 nap között, a használati útmutatónak megfelelően.</i></p>

30. nap	Szívférgességet megelőző szer	Szívférgességet megelőző szer: moxidektin topikálisan
60. nap	Szívférgességet megelőző szer. Első melarzomin injekció, 2,5 mg/kg im. Prednizon 4 hétig, a fent leírtak szerint.	60. 90. és 91. nap: Szívférgességet megelőző szer: moxidektin topikálisan <i>A melarzomin injekció</i>
90. nap	Szívférgességet megelőző szer. Második melarzomin injekció, 2,5 mg/kg im.	<i>előtt:</i> <i>Szedáció</i> butorfanollal 0,2-0,4 mg/kg im. Az epaxialis
91. nap	Harmadik melarzomin injekció, 2,5 mg/kg im. Prednizon 4 hétig, a fent leírtak szerint.	(lumbalis) izomzat <i>ultrahangvizsgálata</i> a tű pontos helyének meghatározása érdekében, a melarzomin injekcióhoz. <i>A tű helyben tartása 5 percig</i> , a beadást követően a melarzomin visszafolyásának megakadályozására. <i>A thromboembolia megelőzése érdekében:</i> dexametazon 0,1 (0,2) mg/kg im. a melarzomin inj. előtt.

		A 60-69. nap között: dalteparin-nátrium 100-150 NE/kg/22h sc. 10 napig.
120. nap	Teszt elvégzése mf detektálásra. Ha pozitív, mikrofilaricid szer adása, és a teszt ismétlése 4 héttel később.	Nincs változtatás vagy kiegészítés.
271. nap	Antigénteszt 6 hónappal a kezelést követően; mikrofilária szűrés.	Nincs változtatás vagy kiegészítés.

2. táblázat. A három-dózisú melarzomint tartalmazó AHS által ajánlott komplex terápiás protokoll összehasonlítása a jelen kutatás felépítésével. *: Nelson és mtsai. 2014; ** A prednizolon, a doxiciklin és a melarzomin dózisa azonos volt az AHS protokollban használttal; ***: Korábban csak az ivermektin használatát írták le az AHS terápiás protokoll részeként; mf: mikrofilária; im.: intramuszkulárisan; GI: gastrointestinalis; per os: szájon át; sc.: subcutan.

2.3. Okkult szívférgességben szenvedő kutya diagnosztikájának és terápiájának eseteírása

Az értekezésem harmadik részében egy valódi okkult dirofilariosis okozta, súlyos szívférgességben megbetegedett kutya esetét mutatom be, amelyet elsőként

publikáltunk hazánkban. Ez az esetismertetés egyúttal példát szolgáltat a diagnosztikai és gyógykezelési tevékenység lehetőségeire az okkult dirofilariosis által okozott súlyos szívférgesség során, különös tekintettel több antigénteszt egyidejű alkalmazhatóságára. Tudomásunk szerint ez utóbbiról még nem jelent meg közlemény, a nemzetközi szakirodalom áttekintése alapján.

2.4. Az új tudományos eredmények összefoglalása

1. Amennyiben egyidejű *D. immitis* és *D. repens* fertőzés is jelen volt, a VetScan antigénteszt szenzitivitása hasonló, míg a specificitás alacsonyabb volt az Egyesült Államokban elvégzett kutatásokhoz képest, ahol csak a *D. immitis* fordul elő.

2. Azokban az esetekben, amikor a *D. repens* PCR eredménye pozitív, míg a *D. immitis* negatív, az okkult dirofilariosis lehet a magyarázata a tanulmányozott antigénteszt alacsonyabb specificitásának, a vonatkozó, külföldi tanulmányokhoz képest. Ugyancsak az okkult dirofilariosis jelenlétével magyarázhatók a pozitív *D.*

immitis antigénteszt eredmények, negatív *D. immitis* PCR eredmény esetén.

3. Microfilaraemia hiányában, mint az okkult dirofilariosisban, több antigénteszt egyidejű használata javasolt ugyanabból a vérmintából, a szívférgesség diagnosztikai megbízhatóságának a növelése érdekében.

4. A szívférgesség komplex terápiájának összetevőjeként használt moxidektin nem csak a mikrofiláriák, az L3 és az L4 stádiumok ellen hatékony, hanem részleges adulticid hatással is rendelkezik, ami hozzájárulhat a gyógykezelés hatékonyságához.

5. A probiotikumok adagolása csökkenti a doxiciklin gastrointestinalis mellékhatásait a komplex szívférgesség elleni terápia kiegészítéseként.

6. A butorfanollal végzett szedálás és az injekciós tű pontos helyének ultrahangvizsgálattal történő meghatározása növeli a melarzomin beadásának biztonságát, ezáltal mérsékelve a helyi mellékhatások súlyosságát.

7. Elsőként írtuk le Magyarországon a kutyák okkult szívférgességének tüneteit, diagnosztikáját és gyógykezelését, egy klinikai eset kapcsán.

3. Az értekezés témájában született publikációk

Becker, Zs., Holló, N., Farkas, R., Gyurkovszky, M., Reiczigel, J., Olasz, K., Vári, Z. és Vörös, K. (2022a): Serodiagnostic difficulties and possibilities of heartworm disease in regions where both *Dirofilaria immitis* and *Dirofilaria repens* infections occur. *Acta Vet. Hung.* **70**, 92-99.

Becker, Zs., Vörös, K., Arany-Tóth, A. és Jerzsele, Á. (2022b): A kutyák súlyos szívférgességének klinikai jellemzői és gyógykezelése. Irodalmi összefoglaló és saját tapasztalatok. Clinical characteristics and treatment of severe heartworm disease in dogs. Literature review and own experiences. *Magy. Állatorvosok Lapja.* **144**, 473-492.

Vörös, K., **Becker, Zs.**, Dudás-Györki, Z., Gronover, B.S. és Szalay, F. (2022a): Ultrasonography of the paralumbar muscles as a new aid during melarsomine treatment in canine heartworm disease. *Acta Vet. Hung.* **70**, 263-268.

Vörös, K., **Becker, Zs.**, Kónya, R., Arany-Tóth, A. és Farkas, R. (2022b): Application of moxidectin and

ultrasound-aided injection of melarsomine during the American Heartworm Society recommended treatment protocol in *Dirofilaria immitis* infected dogs. Vector Borne Zoonotic Dis. **22**, 382-390.

Vörös, K., **Becker, Zs.**, Arany-Tóth, A., Gyurkovszky, M. és Farkas, R. (2017): Okkult *Dirofilaria immitis* szívférgesség kutyában. Esetismertetés és irodalmi áttekintés. (Occult *D. immitis* heartworm disease in a dog. Case report and literature review.) Magy. Állatorvosok Lapja. **139**, 675-685.

4. A dolgozat témájában tartott előadások

Becker, Zs., Vörös, K., Dudás-Györki, Z., Gyurkovszky, M. és Farkas, R.: A kutyák *D. immitis* okozta szívférgességének komplex gyógykezelése: előzetes tapasztalatok. MTA Áorv. Tud. Bizottsága, Akadémiai Beszámoló, Klinikumok Szekció, 2018, Budapest.

Becker, Zs., Vörös, K., Holló, N., Dudás-Györki, Z., Reiczigel, J. Takács, N. és Farkas, R.: A Vetscan Antigén-teszt diagnosztikai érzékenységének és specificitásának tanulmányozása, különös tekintettel a *D. immitis* és a *D.*

repens okozta egyidejű vagy önálló fertőzöttségre. MTA Áorv. Tud. Bizottsága, Akadémiai Beszámoló, Klinikumok Szekció, 2019, Budapest.

Szalay, F., Vörös, K., Gronover, B. S., **Becker, Zs.** és Dudás-Györki, Z.: A paralumbalis izomzat anatómiai és ultrahangvizsgálata a melarzomin injekció beadása során, a kutyák szívférgességének gyógykezelése céljából. MTA Áorv. Tud. Bizottsága, Akadémiai Beszámoló, Élettan és Biokémia, Gyógyszertan és Toxikológia, Morfológia Szekció, 2020, Budapest.