

Állatorvostudományi Egyetem  
Patológiai Tanszék



***Demodex* atkák jelenlétének vizsgálata egészséges kutyákban és  
magzatokban**

**Készítette:** Balogh Sára

**Témavezetők:**

Dr. Mándoki Míra

ÁTE, Patológiai Tanszék, Tanszékvezető, Egyetemi docens

Dr. Juhász Alexandra

LSTM, Molecular and Biochemical Parasitology Group, Post-Doctoral  
Research Associate

SOTE, Mikrobiológiai Intézet, Egyetemi adjunktus

Budapest, 2021

# 1. Tartalomjegyzék

<b>1. Tartalomjegyzék</b>	2
<b>2. Rövidítések jegyzéke</b>	3
<b>3. Bevezetés</b>	4
<b>4. Irodalmi áttekintés</b>	5
4.1. A <i>Demodex</i> faj sajátosságai	5
4.1.1. Morfológia	5
4.1.2. Előfordulás	7
4.1.3. Predilekciós helyek	7
4.1.4. Demodikózis	8
4.1.4.1. Tünetek	9
4.1.4.2. Diagnózis	9
4.1.4.3. Kezelés	10
4.1.5. Transzmisszió	10
<b>6. Célkitűzések</b>	12
<b>7. Anyag és Módszer</b>	13
7.1. A minták	13
7.2. A kültakaró és a belső szervek vizsgálata	13
7.3. Az alkalmazott kimutatási módszerek hatékonyságának vizsgálata	15
7.4. Problémák a mintaelőkészítés során	16
<b>9. Eredmények</b>	17
9.1. A kontrollként használt emberben lévő <i>Demodex</i> atkák kimutatása	17
9.2. A <i>Demodex</i> atkák kimutatása magzatokból	18
9.3. A kutyatetemek vizsgálatnak eredményei	20
9.3.1. A kültakaró vizsgálata	20
9.3.1.1. Bőr kaparék	20
9.3.1.2. Hideggyanta	21
9.3.1.3. Pillanatragasztó	21
9.3.2. Külső hallójárat	21
<b>10. Következtetések</b>	23
<b>11. Összefoglaló</b>	26
<b>12. Summary</b>	27
<b>13. Irodalom</b>	28
<b>14. Köszönetnyilvánítás</b>	31

## 2. Rövidítések jegyzéke

*D. canis* - *Demodex canis*

*D. cornei* - *Demodex cornei*

*E. coli* - *Escherichia coli*

*E. fecalis* - *Enterococcus fecalis*

Mtsai - munkatársai

NaOH - nátrium-hidroxid

PCR - polymerase chain reaction

*S. epidermidis* - *Staphylococcus epidermidis*

### **Mértékegységek rövidítései**

μm - mikrométer

mm - milliméter

### 3. Bevezetés

A *Demodex* atka, vagyis a szórtüsző atkák által okozott betegség, a demodikózis, hazánkban is előforduló, súlyos bőrbetegség, amelynek diagnosztizálásával és kezelésével számos külföldi és hazai szakirodalom foglalkozik. Ennek ellenére magáról a kórokozó életmódjáról és fejlődéséről hiányosak a jelenlegi ismereteink. Ezért időszerű a *Demodex* atka részletesebb vizsgálata, magának a betegségnek az átfogóbb megértése érdekében.

Számos szakirodalmi cikk foglalkozik a *Demodex* atka egyik kutyáról a másik egyedre történő átjutásával. Ismertetik az anyáról kölyökre való terjedés lehetséges módjait. Eddigi tudásunk szerint a fertőződés a fialás után történik közvetlen kontaktus útján. Ezen elmélet alapján, amíg a szuka a kölyköket szoptatja, a bőréről az atka átmászik a kölyök pofájára, majd innen az egész testen elterjed. Egyes kutatások már megemlítették a *Demodex* atka véráram útján való terjedésének lehetőségét. Ennek oka, hogy magát az atkát már megtalálták a kutya véráramában és nyirokcsomójában is, annak ellenére, hogy ektoparazitaként tartják számon. Így felmerül az a lehetőség, hogy az atka képes a vérárammal utazni, és ilyen módon akár intrauterin megfertőzni az utódokat.

Kutatásunk során a *Demodex* atka vertikális úton való terjedését vizsgáltuk. Az Állatorvostudományi Egyetem Szülészeti Klinikáján gyűjtötték össze a magzatokat, a menhelyi kutyák ivartalanítása során. Arra voltunk kíváncsiak, képes-e az atka átjutni a vemhes állatból a kölyökbe még az ellés előtt. Ezért a magzatok kültakaróját, belső szerveit és a meconiumot vizsgáltuk, hogy véráramba került esetlegesen elakadt *Demodex* atkákat vagy petéiket kimutassuk.

Mivel a *Demodex* atkák jelenléte nem feltétlenül jár együtt klinikai vagy akár szubklinikai tünetekkel, sok esetben nagyon nehéz kimutatni a fertőzöttséget a bőrről vagy a külső hallójáratból. Ezért megvizsgáltuk, hogy a kutyák köztakarójáról milyen módszerekkel lehet hatékonyan megtalálni és felismerni a szórtüsző atkákat. Arra is kíváncsiak voltunk, hogy az egyébként faggyúmirigyekbe ágyazottan élő atkák mozgó állapotban jelen lehetnek-e a bőr felületén.

## 4. Irodalmi áttekintés

A *Demodex canis* egy régóta ismert élősködője a kutyának, első leírására 1859-ben került sor Franz Leydig által. Azóta számos tudományos szakcikk foglalkozott már az atkával és az általa okozott betegséggel, a demodikózissal. Az első leírást követően az atka morfológiája újra részletezésre került Nutting és Desch 1978-as szakcikkében. Az atka által okozott betegség, a demodikózis és kezelése már 1970-ben került leírásra Baker K. P. által. Annak ellenére, hogy régóta ismert parazitáról van szó, mégis a *Demodex* életmódjával kapcsolatban még számos megválaszolatlan kérdés van.

### 4.1. A *Demodex* faj sajátosságai

A *Demodex* faj egyedei a *Demodicidae* genusba, *Trombidiformes* alrendbe és az *Acariformes* rendbe tartozó kommenzalistaként számon tartott ízeltlábúak. Az emlős állatok nagy részében, valamint az emberben is megtalálhatóak. A *Demodex* atkák rendkívül gazdaspecifikus paraziták, amik a szőr-follikulusokban élnek. Míg magát a *Demodex* atkát a normális bőr mikrofauna részeként tartják számon, túlszaporodása betegséget okozhat, amelyet demodikózisnak nevez az állatorvos-tudomány (Foley, et al., 2020).

#### 4.1.1. Morfológia

A *Demodex* atka egy hosszan megnyúlt testű arthropoda. Hossza 0.1-0.4 mm-ig (azaz 100-400  $\mu\text{m}$ -ig) terjed, a nőtény általában nagyobb méretű, mint a hím. Teste a következő részekből áll össze: gnathosoma, ami a voltaképpen szájnak, podosoma, ami a rovarok thoraxának és opisthosoma, ami a hasi résznek felel meg (Foley, et al., 2020).

A *Demodex* atka gnathosomája trapéz alakú. Az adult alak podosomáján 4 pár láb helyezkedik el, amelyek végén karmok találhatóak. Hímeknél az első és a második pár láb között a ventrális genitális nyílás található, amely egy csepp alakú kiemelkedésként észlelhető. Az opisthosoma hosszan megnyúlt és tompa hegyben végződő.

A nőtények gnathosomája és lábai a hímekéhez hasonlóak, azzal a különbséggel, hogy az első és második pár láb között a csepp alakú kiemelkedés hiányzik. A vulva egy medioventrális hosszanti hasadék a negyedik ventrális lemeznél. Az opisthosomán ujjszerű behúzódnások találhatóak (Nutting és Desch, 1978).

Az atka morfológiája különösen fontos lehet a demodikózis tekintetében is, mert annak alapján az egyes fajok egymástól elkülöníthetők. Veena és mtsai, 2017-es kutatása alapján az Indiában előforduló demodikózisos esetek többségében mutatták ki a *Demodex canis*-t, mint a kutyákban szintén előforduló *Demodex cornei*-t. A két faj morfológiája között a testhosszban és az ophisthosoma méretében találtak szignifikáns különbséget (Veena, et al., 2017). Korábbi kutatások is foglalkoznak a kutyában leggyakrabban megtalálható két *Demodex* faj, a *D. canis* és *D. cornei* közötti legszignifikánsabb morfológiai különbségeivel. A vizsgált *Demodex canis* egyedek hosszú ophisthosomával rendelkeztek, átlagos testhosszukat így 156-269 µm hosszúságúnak mérték. A vizsgált *Demodex cornei* egyedek rövidebb ophisthosomával rendelkeztek, így testhosszuk 96-164 µm közötti tartományba esett. A két faj ezen szerve között nem csak méret, hanem alakbeli különbséget is megfigyeltek. Míg a *Demodex canis* ophisthosomájának hátsó része elvékonyodó és hegyes, addig a *Demodex cornei* ugyanezen szervének vége tömzsi és lekerekített (Sivajothi, et al., 2013).

A kutyán a fentebb említett fajokon kívül előfordul egy harmadik *Demodex* faj, a *Demodex injai*. Ez a faj a *D. canis*-nál hosszabb testtel rendelkezik, a hímek átlagosan 361 µm hosszúságúak. A többi fajjal ellentétben a nőstények kisebbek, mint a hímek, átlagosan 334.1 µm-es testhosszal rendelkeznek (Desch, et al., 2003).

A *Demodex* atka petéi többféle alakúak is lehetnek. A szakirodalomban megoszló véleményeket találunk, hogy ezen alaki változatosság fajtól függő-e. Zhao és mtsai 2014-es kutatásában azt látjuk, hogy a pete formai változatossága az atka fajának tudható be. Leírásuk alapján, a *Demodex canis*, *Demodex injai* és a *Demodex folliculorum* petéi ovális alakúak, kihegyesedő szélekkel, míg a *Demodex brevis* és a *Demodex caprea* petéi teljesen oválisak (Zhao, et al., 2014). Ezzel ellentétben Rather és Hassan 2014-es kutatásában azt láthatjuk, hogy egyes *Demodex* atka fajok nőstényei (*Demodex folliculorum* és *Demodex brevis*) különböző alakú petét is termelhetnek. A fenti szerző megállapításai szerint egy *Demodex* fajnak, lehet hosszan megnyúlt hegyes és ovális alakú lekerekített petéje is (Rather és Hassan, 2014).

A szórtüsző atkák lárvális alakjának testhossza átlagosan 91 µm. Az adult alakkal ellentétben 3 pár lábbal rendelkezik, amelyek mindegyikében egy barázdált karom található (Nutting és Desch, 1978).

A lárva alakot követő protonympha stádium alakja a lárvális alakhoz hasonló, méretbeli különbség van a kettő között. Ennek az alaknak átlagos mérete 130 µm körül van (Nutting és Desch, 1978).

A következő fejlődési stádium a nympa általános alakja szintén a lárvális alakhoz hasonló, de itt már megjelenik az adulta jellemző 4 pár láb, szintén kéthegyű karmokkal. A nympa mérete már közelít az adultéhoz, az átlagban 200 µm hosszúsággal (Nutting és Desch, 1978).

#### 4.1.2. Előfordulás

*Demodex* atkát egészséges állaton ritkán lehet a szőrhagymák vizsgálatával kimutatni. Egy 2010-es kutatás során 78 egészséges kutyából vettek szőrmintát, de a vizsgálat során is csak egyetlen atkát találtak bennük. A vizsgálatához a kutya 5 testtájékáról gyűjtötték a szőrmintákat. Ezek a következők voltak: elülső lábak 3. ujja körüli bőrterület, periorális bőr a jobb és bal ajak-szélekről, és az áll bőre. A fogóval kitépett szőr mintákat ezután tárgylemezre helyezték, majd ásványi olajjal lefedve immerziós mikroszkóppal vizsgálták azokat (Fondati, et al., 2010).

Egy későbbi, más kimutatási technikán alapuló kutatás viszont a vizsgált kutyák 100%-ban a megtalálta *Demodex* atkát. A vizsgálat során 128 kutyából gyűjtöttek szőrmintát, három alkalommal 5, kettő alkalommal pedig 20 különböző bőrterületről. Ezeket a mintákat először -20 °C-on fiziológiás konyhasóoldatban tárolták. A DNS kinyerése után valós idejű PCR-el a mintákat megvizsgálták az atka jelenlétére. A kapott eredmények arra utalnak, hogy ez az atka minden kutyában kortól, nemtől, fajtától és a szőrzet típusától függetlenül megtalálható (Ravera, et al., 2013).

#### 4.1.3. Predilekciós helyek

A *Demodex* atka predilekciós helyét eddig kevés kutatás vizsgálta.

A fejet többször is megemlíti a szakirodalomban, mint predilekciós helyet. Egy 2014-es demodikózissal foglalkozó kutatás megemlíti, hogy a lokalizált demodikózis tünetei, mint a lokális alopecia és az erythema, leggyakrabban a fejen és a lábakon figyelhetőek meg (Martínez-Subiela, et al., 2014).

A lokalizált demodikózis legjellemzőbb megjelenési területére Patra és munkatársainak 2019-as kutatása is kitér. Leírásuk alapján akkor beszélhetünk a betegség lokalizált formájáról, amikor 6 vagy kevesebb területen jelennek meg a léziók a testen. Ezek a léziók tipikusan a pofán és az elülső lábakon találhatók meg (Patra, et al., 2019).

Ravera és mtsai 2011-ben azt vizsgálták, hogy a *D. canis* a kutya testén hol mutatható ki. Ehhez több szőrmintát gyűjtöttek a test különböző részeiről, egészséges kutyák esetén a pofa jobb és bal laterális részéről, valamint az interdigitális bőrterületről. A kutatás során demodikózis tüneteit mutató kutyákból is gyűjtöttek mintákat. Ezek a fentebb említett területeken kívül a beteg bőrléziókból is származtak. A szőrminták mellett 12 alkalommal bőrbiopsiát is vettek az állatokból, amelyeket a vizsgálat előtt paraffinba ágyaztak. Az így nyert mintákból a *Demodex* atka DNS-ét valós-idejű PCR-rel mutatták ki. Emellett, a biopszával szerzett mintákat szövettanilag is megvizsgálták. A kapott eredmények azt mutatták, hogy a bőrléziók 100%-ában megtalálható az atka. Emellett, mind az egészséges, mind a demodikózis tüneteit mutató kutyák között is lett pozitív eredmény a pofáról és az ujjak közötti területről származó mintákból (Ravera, et al., 2011).

A *Demodex* atka tipikus testen lévő lokalizációjának felderítésére későbbi kutatások is irányulnak. Foley és mtsai azt állapították meg, hogy *Demodex canis* inkább a fejen és lábvégeken található meg. A kutya többi, kevésbé gyakori *Demodex* atka fajai viszont máshol fordultak inkább elő. A *Demodex injai* a mellkason és a háton, a *Demodex cornei* pedig a nyakon, lábvégeken és a háton volt leggyakrabban kimutatható (Foley, et al., 2020)

A külső hallójáratot, mint predilekciós helyet is megemlíti az irodalomban. Milosevic és mtsai a kutya fülvadászkát vizsgálták. A vizsgált mintát egy 12 éves otitis externa tüneteit mutató kutyából vették le. A fülből nyert váladékot elsőként citológiai vizsgálatnak vetették alá, ahol több, hosszú testű *Demodex* atkára lettek figyelmesek. Az atkák további, immerziós mikroszkóppal való vizsgálatakor azt látták, hogy az adult alakok mellett a nymphák is megtalálhatóak voltak. Ezután fülvadászk mintát PCR-rel vizsgálták, ami azt mutatta ki, hogy a mikroszkóp alatt látott atkák *Demodex injai* fajhoz tartoztak (Milosevic, et al., 2013).

A külső hallójáratból más kutatás is képes volt kimutatni *Demodex* atkát. 2018-ban Morita és mtsai vizsgálták egy fül-viszketést és alopeciát mutató kutya fülvadászkát. A kutatásukhoz a fülvadászkon kívül, a külső hallójáratban alopeciát mutató területekről bőrkaparékot vettek, amely mintákat mikroszkóp alatt vizsgáltak. Vizsgálatuk során több, rövid és vastagabb *Demodex* atkát láttak, amelyeket később egy új fajnak, a *Demodex cyonis*-nak állapítottak meg (Morita, et al., 2018)

#### 4.1.4. Demodikózis



A kutyák demodikózisának két fő formáját ismerjük, amelyek a lokalizált és generalizált forma. Ezt a két formát a bőrtünetek megoszlása szerint tudjuk megkülönböztetni egymástól. A lokalizált formánál sokkal kisebb területre korlátozódnak a bőrtünetek, mint a generalizáltnál. Másik felosztási mód a betegség jelentkezésének ideje alapján különíthető el. Ez alapján beszélhetünk kölyök és felnőttkorban manifesztálódó demodikózisról. A kölyökkori demodikózis leggyakrabban 18 hónapos kor előtt jelentkezik, leggyakrabban immunszuppresszió vagy genetikai defektus hatására. Ezzel szemben a felnőttkori forma általában 4 éves kor után jelentkezik, immunszuppressziót kiváltó hatásra, mint Addison-kór, daganatok vagy immunszuppresszív terápia miatt (Bowden, et al., 2018).

#### 4.1.4.1. Tünetek

Lokalizált demodikózis esetén a bőrön legfeljebb 4, jól elhatárolt, maculát találunk. Ezek a foltok mutathatnak alopeciát, de lehetnek akár squamosusak is. Emellett a bőr korpás jellege, valamint erythema is gyakran megfigyelhető a lokalizált demodikózis tüneteit mutató állatokon. Ezek a tünetek leggyakrabban a pofatájékon, a szemkörnyéken, valamint a száj széli részein és a mellső végtagon disztálisan jelentkeznek (Mueller , et al., 2012, Bowden, et al., 2018).

Generalizált demodikózis esetén a fentebb említett bőrtünetek a test nagyobb területén helyezkednek el, vagy több macula lesz látható, mint a lokalizált forma esetén (Snyder, et al., 2017). A tünetek gyakran a feji, vagy mellső lábi régióból indulnak, majd ezekről a területektől terjednek tovább. Generalizált demodikózis esetén a fentebb felsorolt tünetek mellett megjelenik hiperpigmentáció és lichenificatio is (Miller, et al., 2012). Ezek a tünetek mellett gyakori a másodlagos bakteriális pyoderma kialakulása. Amennyiben pyoderma is fellép, gyakran találkozhatunk folliculitissel, cellulitissel valamint furunculosisal. A regionális nyirokcsomók megnagyobbodása és a láz is gyakori velejárója lehet a másodlagos bakteriális fertőzésnek (Mueller, et al., 2012).

#### 4.1.4.2. Diagnózis

A két leggyakoribb diagnosztikai módszer, amit a demodikózis igazolására alkalmaznak a bőrkaparék vétele és vizsgálata, valamint a szőrök kitépését jelentő, trichogram készítése.

Bőrkaparék vétel során az érintett területet befedik valamilyen ásványi olajjal, majd egy szikepengével addig kaparják a területet, ameddig, meg nem jelenik az első vércsepp. Ezen a módon vett mintát ezután fénymikroszkóp alatt vizsgálják meg, *Demodex* atkát és petéiket keresve (Mueller , et al., 2012).

Trichogram során az érintett területről szőrmintát vesznek, olyan módon, hogy a szőrhagymák is épen maradjanak a szőrszálakon. Majd ezt a mintát vizsgálják fénymikroszkóp alatt (Mueller , et al., 2012).

#### 4.1.4.3. Kezelés

A leggyakrabban alkalmazott hatóanyagok a demodikózis kezelésére az amitráz, valamint a különböző makrociklikus laktonok (endectocidok). Ezen szerek főként alkalmazásukban térnek el egymástól. Míg az amitrázt gyakran fürdetésre alkalmazzák, addig a makrociklikus laktonokat per os, vagy subcután (Mueller , et al., 2012).

Manapság egyre elterjedtebb az orálisan (Fourie, et al., 2015), vagy lokálisan alkalmazott flualener (Fourie, et al., 2019), de egyéb izoxazolin típusú hatóanyagot is alkalmaznak a szőrtüsző atkák elpusztítására (Snyder, et al., 2017, Becskei, et al., 2018).

#### 4.1.5. Transzmisszió

A *Demodex* atka szukáról kölykére való fertőzésének eddig ismert módja az ellés után történik. A szoptatás és kölyöknevelés szoros kontaktust igényel az szuka és kölyke között. Ezen szoros kontaktus során képes az atka átjutni a kölyökre és megtelepedni rajta (Greve és Gaafar, 1966).

Egyes kutatások már felvetették, hogy a *Demodex* atka képes a véráramban is utazni. Ezzel a lehetőséggel foglalkozik Woldemeskel és Hawkins kutatása, ahol egy olyan kutyát vizsgáltak, aminek generalizált lymphadenopathiája mellett, súlyos ectoparazita fertőzésre utaló bőrtünetei voltak. A kutya elhullása után több, bőrből és belső szervekből származó mintát is gyűjtöttek. A levett bőrmintából ki tudtak mutatni *Demodex* atkákat, amelyek a

szórtüsző mellett a faggyúmirigyekben is megtalálhatóak voltak. Mind a perifériás és viscerális nyirokcsomók hiperpláziát mutattak. A nyirokcsomók medullájában és a környéki nyirokerekben *Demodex* atkák voltak láthatóak. Egy vénában lévő thrombusban is megtalálható volt pár *Demodex* atka. Ezen kívül a vázizomban is találtak egy atkát (Woldemeskel és Hawkins, 2017).

A *Demodex* atka véráramban való utazása felveti azt a kérdést, hogy vajon képes-e a placentán keresztül már a méhben fertőzni. A 19. század második feléig a humán orvostudományi közösség úgy vélte, hogy a magzat steril környezetben fejlődik. Az akkori ismeretek szerint a magzat idegen organizmusokkal történő kolonizálása a születés során, az anya szülőútjában történik. Ezt a hipotézist az is alátámasztotta, hogy a méhen belüli bakteriális fertőzés és a koraszülés között erős korrelációt találtak. Ezt a tudományos dogmát a steril méh hipotézisnek nevezzük (Funkhouser és Bordenstein, 2013). Ma már több tudományos közlemény is beszámol a méh, placenta, amnion folyadék és a meconium saját bakteriális microbiotájáról. A magzat emésztőcsövében található microbióta összetétele a születés módjától is függ. Míg egy vaginálisan született magzat microbiótája az anyai szülőút és emésztőcső összetételére hasonlít, addig egy császármetszéssel született magzaté az anyai orális és bőr bakteriális összetételét mutatja (Pipan, et al., 2020).

Normál körülmények között a meconiumot is sterilnek tekintik. Emiatt a humán klinikai tapasztalat mégis valamilyen microbióta jelenlétére enged következtetni. Ennek oka, hogy a meconium által szennyezett amnion folyadékot egy mikrobiális invázió markerének tekintik a koraszülés vizsgálatokkor (Mazor, et al., 1995). A fentebb felsorolt okok miatt a meconium sterilitására vonatkozó elméletet már többen megkérdőjelezték. Többek között Jiménez és mtsai 2008-ban végeztek kutatást a meconium lehetséges bakteriális microbiotájának igazolására. Kutatásuk során 21 újszülöttről gyűjtöttek mintát a születés utáni 2 órán belül. PCR technikával és baktérium tenyésztéssel ki tudtak mutatni többek között, *E. faecalis*-t, *S. epidermidis*-t és *E. coli*-t (Jiménez, et al., 2008).

Az állatorvos-tudományban a fejlődő magzat parazitás fertőződése is nagy figyelmet fordítanak. Erre a fertőzési módra kiváló példa a *Toxocara canis* és a *Toxocara cati*. Ezek a parazita lárvák a fertőzött kutyában, illetve macskában a szövetek között vándorolnak. A vemhes szukában bizonyított, hogy a szövetközi lárvák aktiválódhatnak, majd újabb migrációba kezdenek, így a placentán keresztül képesek megfertőzni a magzatot (Overgaauw, 1997).

## 6. Célkitűzések

Kutatásunk fő célja a kutya *Demodex* atkájának életmódjából még ismeretlen tényezők feltárása volt. A minket foglalkozató kérdések a szőrtüsző atka vertikális terjedésére és az egészséges felnőtt kutyában való előfordulására vonatkoztak. Ennek felderítése érdekében 42 kutya magzatot, 2 újszülöttet és 18 felnőtt egyedeket vizsgáltunk meg. Kutatásunkhoz a magzatokat, valamint az újszülött egyedeket az Állatorvostudományi Egyetem Szülészeti Klinikája, míg a felnőtt kutyákat az Állatorvostudományi Egyetem Patológiai Tanszéke biztosította.

A szukáról kölykére placentán keresztüli terjedés igazolása vagy kizárása érdekében a kutya magzatok és az újszülöttek belső szerveit és a külső hallójáratát vizsgáltuk meg. A vizsgált szerveket lúgban szappanosítottuk el, ezután ülepítő pohárba tettük a mintákat, majd natívan, fénymikroszkóp alatt kerestük a *Demodex* atkát van annak petéjét.

A kifejlett egyedek vizsgálatával célunk a szőrtüsző atka a demodikózis klinikai tüneteit nem mutató egyedek testén való előfordulásának feltárása volt. Emellett kíváncsiak voltunk a szakirodalomban említett kimutatási módszerek alkalmasságára is. Ehhez a kutya testének különböző régióiról vettünk mintát háromféle, a kutatásunkat megelőző szakcikkekben megemlített módon. Az általunk használt módszerek a hideggyantával történő trichogram nyérése, a pillanatragasztóval készített lenyomat, valamint bőrkaparék készítése voltak. Az ezen módon nyert mintákat a kaparék és lenyomat esetén olajos festékek keverékével festettük, míg a szőrmintákat natívan vizsgáltuk. A vizsgálathoz fénymikroszkóppal kerestük a szőrtüsző atkát különböző nagyításokon.

Annak érdekében, hogy ne kapjunk fals negatív eredményt a vizsgálatunk során, a kimutatási módszereink alkalmasságát leellenőriztük. Ehhez ismertén *Demodex* atkával fertőzött ember külső hallójáratából vettük a mintánkat majd a fentebb említett módszerekkel vizsgáltuk meg őket.

## 7. Anyag és Módszer

### 7.1. A minták

Kutatásunkhoz menhelyi kutyák ivartalanítás során eltávolított magzatait használtuk fel. A magzatokat a vizsgálatunkhoz az Állatorvostudományi Egyetem Szülészeti Klinikája biztosította. Összesen 42 darab magzatot vizsgáltunk meg, ebből 18 egyed a harmadik trimeszterben, 22 egyed ez előtt, a vemhes állatok ivartalanítása során alkalmazott premedikáció hatására pusztult el. Két újszülöttet rögtön az ellés követően véglegesen elaltattak. A magzatokat az eltávolítást követően a méhekkel együtt,  $-85\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os mélyfagyasztóban tárolták. Mielőtt megkezdtük a magzatok vizsgálatát, előző nap szobahőmérsékleten kiolvasztottuk a tetemeket.

A magzatokon történő vizsgálat mellett felnőtt kutyák tetemeit is megvizsgáltunk. Ehhez az egyedeket az Állatorvostudományi Egyetem Patológiai Tanszéke biztosította, a kórbonctani vizsgálatra beküldött tetemek közül. Összesen 18 kutyából gyűjtöttünk mintákat. A vizsgált egyedek elpusztulásuk után fagyasztószekrényben kerültek tárolásra, majd a vizsgálatot megelőzően szobahőmérsékleten olvasztottuk fel a tetemeket.

### 7.2. A kültakaró és a belső szervek vizsgálata

A magzati vizsgálatok során a kültakarót, a belső szerveket és mivel sok szakirodalom hivatkozott rá, külön a külső hallójáratot is megvizsgáltuk. A has és mellüreget egy kisebb ollóval nyitottuk meg. A veséket, a májat és a tüdőt a szívvel együtt eltávolítottuk majd szervenként külön-külön ülepítő pohárba 10%-os NaOH oldatba helyeztük. Amennyiben a szerv mérete meghaladta a fél centis átmérőt, apróbb darabokra vágtuk azt. Miután a magzati beleket a májjal együtt eltávolítottuk a hasüregből, a beleket a májról leválasztottuk, egy olló segítségével megnyitottuk, ezután egy Petri-csészébe helyezve 10%-os NaOH oldattal a tartalmukat kimostuk. A lúggal kevert meconiumot és a Petri-csészében maradt bélkacsokat egy szűrő segítségével átszűrtük. A szűrlet egy ülepítő pohárba került, egyedenként elkülönítve a mintákat. Ezt követően a belek is 10%-os NaOH oldatba kerültek, szintén egyedenként külön poharakba. A 2. születés után elaltatott magzat bőre is vizsgálatra

került, hasonlóan a szervekhez, ezeket felaprítottuk és 10%-os lúgba helyeztük ülepitőpohárba. Utolsó lépésként a magzatok külső hallójáratát a füffel együtt eltávolítottuk egy olló segítségével, majd ezeket is lúgba és ülepitő pohárba helyeztük. A felhasznált NaOH oldatot minden mintavétel előtt frissen kevertünk ki.

A levett mintáknak minimum 48 órát hagyunk oldódni és ülepedni. Ezalatt szobahőmérsékleten voltak tárolva és a poharak teteje letakarásra került. Így védtük a vizsgálati anyagot, hogy a mintákat ne érje külső szennyeződés, ami nehezítené a mikroszkópos vizsgálatot. A mintát az ülepitőpohár aljáról vettük pipetta segítségével, majd egy tárgylemezre cseppentettük. Egy tárgylemezre 2-3 csepp került, majd a könnyebb vizsgálhatóság érdekében a cseppeket egy fedőlemezzel lefedtük. A minták semmilyen festési eljárás nem mentek keresztül, natívan vizsgáltuk azokat. A vizsgálat binokuláris fénymikroszkóppal történt 10x, 40x és 100x nagyításban.

A kifejlett kutyák esetében csak a kültakarót és a külső hallójáratot vizsgáltuk. A mintavételhez többféle módszert alkalmaztunk.

Kaparékot vettünk a külső hallójáratból és az interdigitális régióból. Ennél a módszernél egy szike pengével addig kapartuk a bőrt, míg a felső hámréteget teljesen eltávolítottuk. A kinyert kaparékot ezután egy tárgylemezre kentük. A külső hallójáratból származó mintákat jobb és bal oldal szerint nem vizsgáltuk elkülönítve.

A második módszer során hideggyanta csíkokat alkalmaztunk. A gyantával egy nagyobb, legalább 2x2 cm-es bőrterületről tudunk szőrmintát venni. A hideggyanta csíkokat felvagtuk kisebb, 3x3 cm-es darabokra, majd az előzőleg nyírógéppel rövidre nyírt szőrű bőrterületre felragasztottuk azokat. Ezután egy gyors, szőr növekedésével ellentétes irányú mozdulattal eltávolítottuk a gyantacsíkokat. Az így nyert szőrmintákat rajta hagytuk az átlátszó csíkon, mivel a szőrtüszők így könnyen vizsgálhatóak voltak fénymikroszkóp alatt. Ezzel a módszerrel a test különböző részeiről nyertünk mintákat, mint a pofa, szemhéj, fül, nyak, mellkas, has, faroktő, mellső és hátsó lábak, lábvégek és az interdigitális régiók.

A harmadik mintavételezési módszernél pillanatragasztót (cyanoakrilát) használtunk. Ezt módszert Singh 2019-es kutatása alapján végeztük el, aki pillanatragasztós tárgylemez lenyomatot használva a vizsgált kutyák 92,8%-ban ki tudta mutatni a *Demodex* atkát (Singh, 2019). Itt az előbb említett területeken a szőrt nyírógéppel rövidre nyírtuk, majd a bőrt két ujj közé véve megszorítottuk. Erre azért volt szükség, hogy a szőrtüszőben élő atkát a bőr

felszínére jutassuk. Erre a területre ezután egy cseppnyi pillanatragasztót helyeztünk, aminek megkötése előtt egy mikroszkópos tárgylemezt nyomtunk a területre. Ezután a tárgylemezt eltávolítottuk a bőrről a megkötött pillanatragasztóval együtt.

A kifejlett kutyákból származó mintákat rögtön a levétel után meg tudtuk vizsgálni. A gyantával nyert szőrmintákat natívan vizsgáltuk, fénymikroszkóp segítségével. A gyantacsíkot egy tárgylemezre ráhelyeztük majd a szőrhagymákat 10x és 40x nagyításban is megvizsgáltuk. A bőrkaparékot és a pillanatragasztóval nyert mintát festési eljárás után vizsgáltuk meg. Az eljárás során használt festék Oil Red O és Sudan Red III 1:1 arányú olajos keveréke volt, amiből a mintára 1-2 cseppet tettünk. A mintákat ezután fénymikroszkóppal vizsgáltuk 10x, 40x és 100x-os nagyításban.

### 7.3. Az alkalmazott kimutatási módszerek hatékonyságának vizsgálata

Mind a magzati, mind a kifejlett egyedeken történő vizsgálatok előtt, saját bőrünk vizsgálatával teszteltük az általunk használt kimutatási módszerek alkalmasságát, és gyakoroltuk az atkák mikroszkópos felismerésének módját.

E célból a külső hallójáratból vettünk kaparék mintát. A mintavételhez egy steril orvosi szike lekerekített végű nyelét használtuk. A mintát a külső fül tragusa mögötti bőrterületről gyűjtöttük úgy, hogy a kaparás során a felső, leváló szaruréteget kinyerjük, de vér még ne jelenjen meg. Ezt követően a kaparékot egy tárgylemezre kentük, majd fénymikroszkóp alatt 20x és 40x nagyításban megvizsgáltuk.

Minden vizsgálatosorozat előtt megismételtük ezt a mintavételt, mert felismertük, hogy az emberi fülből nyert mintából, nem invazív módon is, igen nagy gyakorisággal, gyakorlatilag minden esetben ki lehet mutatni a szőrtüsző atkákat, amelyek pozitív kontrollként szolgálnak a mikroszkópos vizsgálatok kiértékeléséhez. Mindig a kontrol vizsgálat elvégzése után kezdtük a magzatokból vagy a kifejlett kutyákból származó minták vizsgálatához, és a kontrolnak használt keneteket vagy natívan vagy Oil Red O – Szudán III festékek alkalmazása után bíraltuk el.

#### 7.4. Problémák a mintaelőkészítés során

A minták előkészítése során egyes szerveknek nem volt elegendő a 48 órás lúgban ázás ahhoz, hogy teljesen feloldódjanak. Ez különösen problémát okozott a fűlnél a magas porctartalma miatt, valamint a májnál és tüdőnél, amelyek nagy méret/felület aránya miatt a lúg nem tudott a szervek mélyére eljutni és megemészteni az adott idő alatt. A megoldás az volt, hogy a mintákat áthelyeztük egy főzőpohárba, majd melegítő mágneses keverőre raktuk, ahol a keverés és melegítés mellett 2-3 órán belül a szervek a lúgban feloldódtak. Ezután az edényből az immár feloldódott szerveket a lúggal együtt visszaöntöttük az ülepítő pohárba, ahol miután leülepedett a minta, a már a fentebb leírt módszerek alapján előkészítettük a vizsgálathoz.

Az első minták vizsgálatakor jelentős környezeti kontaminációra lettünk figyelmesek (spórák, egyéb növényi részek stb.). Ennek oka az volt, hogy az első mintavétel során, az ülepítőpoharak lefedés nélkül álltak minimum 48 órát, így könnyen kontaminálódtak a levegőben keringő különböző részecskékkel. A probléma kiküszöbölése érdekében ezt követően a poharakat kizárólag lefedés után hagytuk állni a megadott minimum 48 órát.

A kifejlett egyedek vizsgálata során is ütköztünk problémába. A pillanatragasztós mintavételt nehéz technikai kivitelezése miatt csak az első 3 egyednél alkalmaztuk. Miután a ragasztót a bőrre kentük és lefedtük tárgylemezzel, gyakori probléma volt, hogy a ragasztó levált a sima üveg-felületről és a bőrön maradt. Ezután a megkötött pillanatragasztót mechanikusan kellett lefejteni a bőrről, ami a későbbi vizsgálhatóságot nehezítette meg. Ennek oka, hogy a darabokban lefejtett ragasztó festése nehezen volt kivitelezhető.



## 9. Eredmények

### 9.1. A kontrollként használt emberben lévő *Demodex* atkák kimutatása

A fülből készített kaparékokban a legtöbb alkalommal ki tudtunk mutatni humán *Demodex* atkát. Ez a gyors vizsgálat főleg a mikroszkopizálás megkezdése előtt segítette a szemünk alkalmazkodását a keresendő objektumokhoz, de egy nem várt eredményhez is hozzásegített bennünket.

A vizsgálat során az egyik atkának az előrehaladó mozgására lettünk figyelmesek. A mobiltelefon videokamerájával rögzített felvételen meg tudtuk figyelni, hogy a megfigyelési idő 91 másodperce alatt az atka körülbelül 1,14 mm távolságot tett meg, a lágy zsírtól nedves tárgylemez felületén (1. kép). Ez idő alatt saját testhosszának körülbelül ötszörösét tette meg, majd nyugalomba került. A mozgáshoz a lábait használta a test imbolygó mozgása nélkül. Mivel a dorzális felületét tudtuk megfigyelni, lábainak mozdulataiból csak az elülső lábpár mozgását láthattuk, amik felváltva nyúltak előre és hátra. Ezzel nyilvánvalóvá vált, hogy a szőrtüszőből kinyomott *Demodex* atka önálló, előrehaladó mozgásra képes, amire feltehetően a bőr felületén is sor kerülhet.



1. kép: A humán *Demodex* atka előrefelé irányuló mozgása. (saját kép)

A festési eljárásnak köszönhetően a *Demodex* atkák jelenlétét gyorsan igazolni tudtuk a mintákban. A festékkeverék az élő, vagy frissen elpusztult, intakt atkákat nem festette meg, ezért azok éles kontúrú, világos képletekként voltak láthatók a mintákban (2. kép).



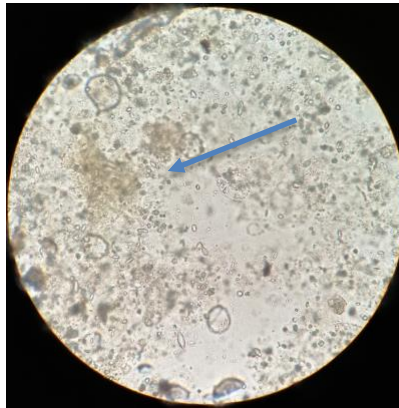
2. kép: *Demodex* atka humán külső hallójárat kaparéék mintából, Oil Red O és Sudan Red III keverékével festve. (Dr. Juhász Alexandra képe)

A festékkeverék az elpusztult, zsugorodott atkák testébe behatolt, ezért ez a festési módszer az atkák élő vagy holt állapotának elkülönítésére is alkalmasnak látszik. Mivel mind a natív, mind a festett preparátumokban fel tudtuk ismerni a szórtüsző atkákat feltételezhettük, hogy azokat a kutyákból készített preparátumokban is fel tudjuk ismerni.

## 9.2. A *Demodex* atkák kimutatása magzatokból

A vizsgálatra kerülő magzatok belső szerveiből egy esetben sem tudunk atkát kimutatni. Az állati szöveteket a lúg feloldotta, de tanulságos volt az a tény, hogy meglepően sok a környezeti szennyeződés került a mintákba, ami nagyon megnehezítette az atkák

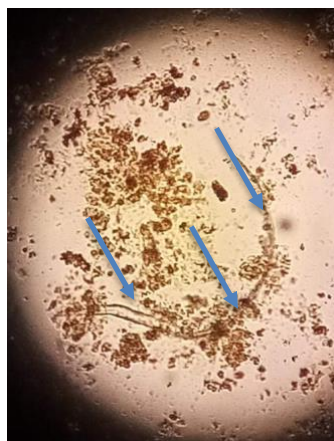
keresését. A szennyeződés legnagyobb részét pollenszemek és apró növényi részek alkották, azonban szabadon élő férget is találtunk az üledékben (3., 4., 5. kép).



3. kép: A lúgban való emésztés hatására képződő, elszappanosodott zsírcseppeket tartalmazó sejtörmelék. (saját kép)



4. kép: Légbuborék mellett lévő fenyő pollen a mintában. (saját kép)



5. kép: Szabadon élő fonálféreg a sejtörmelék között. (saját kép)

A lúgban feloldott meconium sejtsebzegénysége miatt könnyen vizsgálható volt, ennek ellenére *Demodex* atkát vagy annak petéjét nem tudtuk kimutatni benne. A környezeti szennyeződést alkalmanként itt is tapasztaltunk, de később a gondosabban kezelt minták esetében ez jelentősen csökkent.

A fialás után véglegesen elaltatott újszülöttek vizsgálatát eleinte megnehezítette, hogy a szövetekkel ellentétben a szőr nem oldódott fel szobahőmérsékletű, 10%-os NaOH oldatban. A felmelegített mintákban a szőr is feloldódott. A kültakaróból származó mintából *Demodex* atkát, vagy annak petéjét ebben az esetben sem tudtuk kimutatni.

A külső hallójárat vizsgálata minden magzat esetében megtörtént. A vizsgálat megvalósítását megnehezítette a külső hallójárat és a középfül magas porc-tartalma, de a melegítés közbeni állandó keverés hatására a lúg feloldotta a mintát. A mikroszkóp alatt ugyancsak sejtörmelék és környezeti szennyeződés (pollen, növényi részek) volt látható. A vizsgálat során *Demodex* atkát vagy petéjét ezekben a mintákban sem találtunk.

### 9.3. A kutyatetemek vizsgálatnak eredményei

#### 9.3.1. A kültakaró vizsgálata

##### 9.3.1.1. Bőr kaparék

A vizsgálathoz az interdigitális térből és a külső hallójáratból vett mintát Oil Red O és Sudan Red keverékével festettük. Az így előkészített mintát ezután fénymikroszkóppal vizsgáltuk meg. A zsírban oldódó festék-keverék nem tud az élő *Demodex* atka vizes fázisú szöveteibe behatolni, így ez a festési módszer a faggyút tartalmazó háttérrel pirosra színezi, míg az élő atka maga festetlen marad.

A kutatásunk során a 18 kutya interdigitális régiójából egyedenként kaparékot vettünk és minden kaparékból 4-5 kenetet készítettünk. A vizsgálat során egyetlen minta sem tartalmazott *Demodex* atkát vagy petéjét.

### 9.3.1.2. Hideggyanta

A hideg-gyantával történő mintavétel során nagyobb bőrterületről tudunk ép szőrtüszőket nyerni a vizsgálatokhoz. Mivel a szőrt nyírógéppel rövidre nyírtuk a mintavételt megelőzően, a vizsgálat során a szőrhagymák nagyjából egy magasságba kerültek a kitépődött szőrszálak végein. Ez megkönnyítette a mikroszkóppal történő vizsgálatot, mivel így egyszerre több szőr folliculust tudunk vizsgálni a mikroszkóp azonos nagyításával. A test különböző régióiról származó szőr átvizsgálása után nem találtunk *Demodex* atkát.

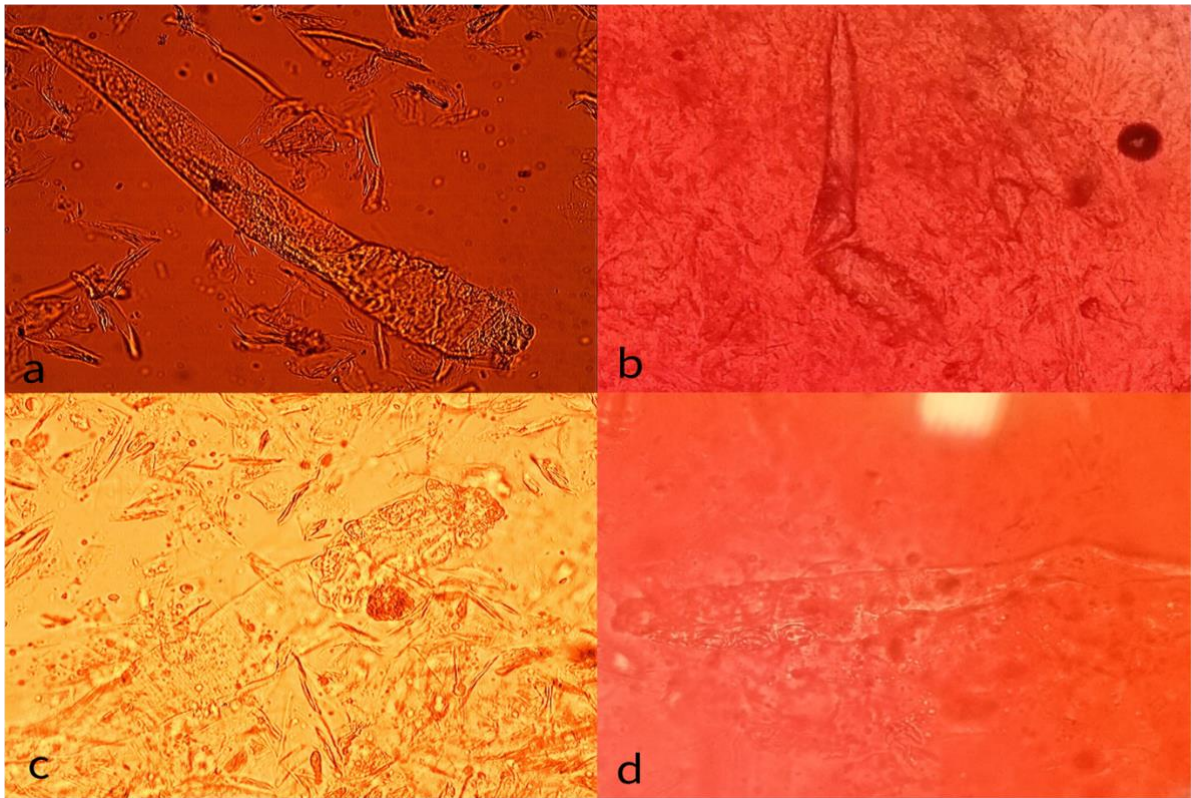
### 9.3.1.3. Pillanatragasztó

Pillanatragasztóval gyűjtött minták a gyantával megegyező régiókról származtak. A technika nehézsége miatt csak az első 3 egyednél alkalmaztuk ezt a módszert. A 3 egyedből származó minták mind negatívak lettek *Demodex* atkára és petéjére.

### 9.3.2. Külső hallójárat

A vizsgált 18 kifejlett kutya mindegyikéből gyűjtöttünk a külső hallójáratból kaparékot. Itt is alkalmaztuk a fent említett Oil Red O és Sudan Red III festékek keverékéből álló festési eljárást. A vizsgált 18 egyedből 4 pozitív lett *Demodex* atkára. Azt tapasztaltuk, hogy a talált *Demodex* atkák mindegyikében penetrált a vörös festékek keveréke, tehát az atkák a vizsgálat idején már elpusztult példányok voltak. Ez az eredmény nyilvánvaló volt a mélyfagyasztott hullák esetében, de azt bizonyítja, hogy a festési eljárás különbséget tud tenni az élő és a holt atkák között.

A fagyasztott állatokból származó kaparékokból az atkák kitinváza anna ellenére kimutatható volt, hogy az állatok belső szerkezete már felbomlott, és a kültakaró sok esetben torzult és felszakadozott (6.kép).



6. kép: *Demodex* atkák kutya külső hallójárat kaparékából, Oil Red O és Sudan Red III keverékével festve. A. Az alkalmazott festékeverék látható penetrálása a kimutatásra került *Demodex* atkában; B. Sérült kitinvázú *Demodex* atka; C. Elmosódott belső szerkezetű *Demodex* atka; D. Az alkalmazott festékeverék látható penetrálása a kimutatásra került *Demodex* atkában laterális nézetben (saját kép)

## 10. Következtetések

Vizsgálataink alapján arra az általános következtetésre lehet jutni, hogy a szórtüsző atkák megtalálása a demodikózis tüneteit nem mutató állatok különféle mintáiból nehéz, ezért a negatív vizsgálati eredmény mindig fenntartásokkal kezelendő.

A lefagyasztott magzatokban eleve nem lehetett nagy valószínűséggel számítani az atkák jelenlétére, mert ha azok vagy petéik esetleg a magzat keringésébe jutnak is, a mennyiségük feltételezhetően igen csekély, ezért megtalálásuk esélye is kicsi. Az általunk alkalmazott vizsgálati módszer elvileg használható lett volna az atkák kimutatásához, mert az állati szövetek feloldható részeit feloldotta, míg a sejtfallal vagy kitines burokkal rendelkező sejteket nem. Ezt az bizonyítja, hogy a környezetből kontamináció révén a mintába jutott növényi eredetű képleteket és fonálférgeket felismerhető állapotban meg lehetett találni a mintákban, tehát az atkák erősen kitinizált kültakaró maradványait is meg tudtuk volna találni, ha azok morfológiai eljárással detektálható mennyiségben lettek volna jelen.

Ugyanakkor be kell látni, hogy előnyösebb lett volna, ha a magzatokból történő atka kimutatáshoz sokkal nagyobb tisztaságú mintákhoz jutottunk volna, mint amilyenhez mi hozzájutottunk. A mikroszkópos vizsgálatok eredményességét nagyon rontják a zavaró képletek, továbbá az a kényszerű tény, hogy a fagyasztott, majd felolvasztott mintákból csak jégkristályok által roncsolt, torz atkákra lehetett számítani, nem pedig élő parazitákra. Ez utóbbi problémával a kifejlett kutyák hallójáratából gyűjtött atkák esetében is szembesültünk.

Az előzőleg már biztosan atkahordozónak bizonyult személy füléből gyűjtött, és azonnal megvizsgált kaparékokban nemcsak, hogy nagyobb valószínűséggel számíthattunk az atkák megtalálására, mint a fagyott állatokból, taláломra végzett vizsgálatok során, hanem az is bebizonyosodott, hogy az élő és ép atkák felismerése nagyon megkönnyíthető olyan zsírfestő anyagok alkalmazásával, amelyek a bőrretegen lévő faggyút megfestik, de az intakt atkák testében lévő szövetekbe nem tudnak behatolni. Ez a kontraszt festési eljárás tehát valószínűleg sikeresen alkalmazható az élő kutyák hallójáratának *Demodex* atkák kimutatására irányuló vizsgálatok alkalmával, mivel abban az esetben élő atkákra is lehet számítani. A lipofil – a jelen esetben piros - szövettani festékek alkalmazásának az is a javára

írható, hogy általuk a holt atkák biztosan elkülöníthetők az élőktől, mert az elpusztult ízeltlábúak akkor is megfestődnek ezektől az anyagoktól, ha külső megjelenésük alapján élőnek látszanak. E megkülönböztetésnek a jelen vizsgálatainkban nem volt jelentősége, mert csupán az atkák jelenlétét vagy hiányát kívántuk detektálni, de abban az esetben, ha például egy állat gyógykezelésének sikerességét szeretnénk tesztelni, ez az élő atkákat kimutató, egyszerű módszer hasznos lehet.

A fagyott tetemek füléből származó mintáknak legalább egy részében ki lehetett mutatni atkákat, de abban nem lehetünk biztosak, hogy a megtalálásuk hatékonysága elég magas fokú volt-e. Mindenesetre a kitépelt szőrtüszők felszínén sem a gyantás, sem a pillantragasztós módszerrel nem találtunk atkákat, ami arra utal, hogy a „trichogram” még kevésbé megbízhatóan mutatja ki a kutyák *Demodex* atkáit, mint a fülkaparék vizsgálatának módszere. A kitépelt szőrök vizsgálata feltehetőleg csak akkor vezetne eredményre, ha előre tudnánk az atkák előfordulási helyét. Mivel úgy tűnik, hogy az emberhez hasonlóan a kutyák füle is az atkák predilekciós helye, a fül vizsgálata még akkor is hasznos lehet, ha egyébként nem tudunk a testen egyéb felületet találni, amelyen biztosan számíthatunk az atkák előfordulására.

Ez a felismerés azért hasznos, mert indokoltá teszi a fül rutinszerű vizsgálatának hasznát egy rendelőbe behozott kutya esetében, akkor is, ha az állatnak semmilyen fület érintő rendellenessége nincsen. Az *Demodex* atkák rendszeres vizsgálata alátámasztaná vagy megcáfolná az atkák elsődleges kórokozó szerepét a bőrön zajló folyamatok esetében, mert kiderülne, hogy a *Demodex* előfordulása csak bizonyos egyedekhez, vagy bizonyos egészségi állapothoz kötődik-e.

Élő *Demodex* atkákat természetesen inkább csak élő gazdaszervezetekből lehet kimutatni, a hullákból feltehetőleg csak az elhullás után közvetlenül, amire a gyakorlatban szinte sohasem adódik lehetőség. Ezt figyelembe kell venni minden további vizsgálat során, mert az élő atkák kimutatása sokkal könnyebb, mint a holt atkák kimutatása. Az élő atkák vizsgálata lehetőséget ad egyes életfunkciójuk megismeréséhez, például a mozgásuk tanulmányozásához. A mikroszkópos tárgylemezre kent bőrkaparékokat szinte mindig üveg fedőlemezzel lefedett állapotban vizsgálják, a szőrmintákat pedig átlátszó ragasztócsík felületére ragasztva és a tárgylemezre tapasztva. Ilyen körülmények között az atkák mozgása sohasem figyelhető meg. Szerencsés véletlennek köszönhetjük, hogy egy nem lefedett, friss



mintában meg tudtuk figyelni a *Demodex* atka előrehaladó mozgását, amely lassú ugyan, de lehetővé teszi az aktív helyváltoztatást. Ez arra utal, hogy a szőrtüszőből kijutott atka esetleg más szőrtüszőbe képes behatolni, vagyis a kifejlett példányok egyik bőrterületről a másikra is eljuthatnak, vagy bőrkontaktus esetén esetleg egyik gazdáról a másikra is képesek átmászni.

Mivel érdekes volna kideríteni, hogy a kutyák esetében melyik az a legkorábbi időpont, amikor egy utód fertőződhet *Demodex* atkával, e célból javasolhatjuk a magzatok még alaposabb vizsgálatát, illetve a megszületett kiskutyák fülének vizsgálatát is.

## 11. Összefoglaló

A *Demodex*, azaz a szőrtüsző atka az egészséges kutyákon normálisan előforduló kommenzalista mikroorganizmus. Az atka túlszaporodása okozhatja a betegséget, a demodikózist, ezt azonban valamilyen, a gazda szervezetét érő, annak immunrendszerét gyengítő hatás váltja ki. A demodikózis egy a kutatások által már jól feltárt betegség, ám magáról a kórokozóról, a *Demodex* atkáról még jelenleg hiányosak az ismereteink. Kutatásunk célja a szőrtüsző atka életmódjára vonatkozó, egyes nyitottan álló kérdések megválaszolása volt, így például annak szukáról kölyökre való terjedésének módja, valamint az atka bőrben való normális előfordulása és kimutatása.

Kutatásunk során magzatok, újszülöttek és kifejlett kutyák vizsgálatára került sor. A magzatok és az újszülött kutyák esetén a belső szervek és a külső hallójárat vizsgálatát végeztük, amely során annak a lehetőségét kívántuk feltárni, hogy a szőrtüsző atka már a placentán keresztül képes a magzatot megfertőzni. A vizsgálatot a szervek és a külső hallójárat 10%-os NaOH oldatban való feloldásával és fénymikroszkópos kimutatásával végeztük. A kifejlett kutyák esetén a test különböző régióiról több módszert alkalmazva vettünk mintát. A mintavételezést követően a levett trichogramokat natívan, a keneteket Oil Red O és Sudan Red III olajos festékek keverékével festettük meg, majd ezután fénymikroszkóppal kerestük a *Demodex* atkákat.

A magzatok és az újszülött kutyák vizsgálata során a fentebb említett módszerekkel nem tudtunk *Demodex* atkát vagy annak petéjét kimutatni. A kifejlett egyedek esetében a hideggyantával vett trichogram és a pillanatragasztót használó módszer által gyűjtött minták negatívak lettek *Demodex* atkára. A felnőtt egyedek külső hallójáratából vett kaparék mintából több alkalommal is sikeresen ki tudtunk mutatni adult *Demodex* atkát.

A kapott eredményeink rávilágítanak az egészséges szervezetben amúgy rendkívül kis számban előforduló *Demodex* atka kimutatásának a nehézségeire. Mivel a magzatok a vizsgálatot megelőzően mélyfagyasztásra kerültek, a kapott negatív eredmények némi fenntartással kezelendők, emiatt a kísérlet friss magzatokon való megisméltése javasolt, hogy az eredmény hitelességét igazoljuk. A felnőtt kutyák vizsgálatának eredményei alapján úgy tűnik, a szőrtüsző atka lehetséges predilekciós helye a külső hallójárat kutyákban. Ezek a vizsgálatok arra is rámutatnak, hogy a kimutatáshoz használt trichogram és pillanatragasztót használó módszer alacsony szenzitivitású *Demodex* atkára, hiszen az általunk igazoltan *Demodex* atkával fertőzött egyedekből sem tudtunk ezekkel a technikákkal az atkát kimutatni.

## 12. Summary

The *Demodex* mite is a commensalistic microorganism that is found on healthy dogs. The disease called demodicosis is caused by the overgrowth of this mite, which is triggered by an immunosuppressive effect on the host's body. Demodicosis is a well studied disease, but our knowledge about the *Demodex* mite is incomplete. The goal of our study was to fill some of these gaps and answer some questions like how the *Demodex* mite spreads from the dam to the puppies, its detection and whether the mite is normally present on the skin.

We examined fetuses, newborns and adult dogs in our research. In the case of fetuses and newborns we studied the internal organs and the outer ear canal to prove the possibility of transplacental infection with the *Demodex* mite. We carried out the examination by dissolving the organs and the outer ear in a 10% NaOH solution, then we used a light microscope for detection. In the case of adult dogs, we used different sampling methods in different regions of the body. After sampling we examined the trichograms in their native forms and we dyed the smears with a mixture of Oil Red O and Sudan Red III oil-based dyes. For detection we used a light microscope.

With the aforementioned methods we could not detect *Demodex* mites or their eggs in the fetuses and in the newborns. The trichogram taken with cold wax and the sample taken with the superglue method were both negative for *Demodex* mites in adult dogs. From the scrapings taken from the adult dogs' outer ear canal we could detect adult *Demodex* mites on multiple occasions.

Our results highlight the difficulty of detecting the *Demodex* mite which resides in low numbers in the healthy dog. Because the fetuses used in our study were deep-frozen prior to the experiments the negative results should be treated with reservations, thus we recommend repeating the experiment using fresh samples to ensure the authenticity of the results. According to the results of the adult dog examinations it seems that the area of predilection for the occurrence of the *Demodex* mite is the outer ear canal. These examinations also show that the trichogram and the superglue method have a low sensitivity for the *Demodex* mite, because using these methods mites could not be detected in dogs that were found to be infected.

### 13. Irodalom

1. Becskei, C., Cuppens, O. & Mahabir, S., 2018. Efficacy and safety of sarolaner against generalized demodicosis in dogs in European countries: a non-inferiority study. *Veterinary Dermatology*, 29. kötet, pp. 203-e72.
2. Bowden, D. és mtsai., 2018. Canine demodicosis: a retrospective study of a veterinary hospital population in California, USA (2000-2016). *Veterinary Dermatology*, 29. kötet, pp. 19-e10.
3. Desch, C. & Hillier, A., 2003. *Demodex injai*: a new species of hair follicle mite (Acari: Demodecidae) from the domestic dog (Canidae). *J Med Entomol*, 40(2), pp. 146-9.
4. Foley, R., Kelly, P., Gatault, S. & Powell, F., 2020. Demodex: a skin resident in man and his best friend. *JEADV*, 35(1), pp. 62-72.
5. Fondati, A. és mtsai., 2010. Prevalence of *Demodex canis*-positive healthy dogs at trichoscopic examination. *Veterinary Dermatology*, 21. kötet, pp. 146-151.
6. Fourie, J. és mtsai., 2015. Efficacy of orally administered fluralaner (Bravecto TM) or topically applied imidacloprid/moxidectin (Advocate TM) against generalised demodicosis in dogs. *Parasit Vectors*, 8. kötet, p. 187.
7. Fourie, J., Meyer, L. & Thomas, E., 2019. Efficacy of topically administered fluralaner or imidacloprid/moxidectin on dogs with generalised demodicosis. *Parasit Vectors*, 12. kötet, p. 59.
8. Funkhouser, L. & Borderstein, S., 2013. Mom Knows Best: The Universality of Maternal Microbial Transmission. *PLoS Biol*, 11(8), p. e1001631.
9. Greve, J. & Gaafar, S., 1966. Natural transmission of *Demodex canis* in dogs. *J Am Vet Med Assoc*, 148. kötet, pp. 1043-1045.
10. Jiménez, E., Marín, M., Martín, R. & Odriozola, J., 2008. Is miconium from healthy newborns actually sterile?. *Res Microbiol*, 159(3), pp. 187-93.
11. Leydig, F., 1859. Ueber Haarsackmilben und Kratzmilben. *Archiv für Naturgeschichte*, 25. kötet, pp. 338-354.
12. Martínez-Subiela, S. és mtsai., 2014. Canine demodicosis: the relationship between response to treatment of generalised disease and markers of inflammation and oxidative status. *Vet Dermatol*, 25(2), pp. 72-6, e23-4.

13. Mazor, M. és mtsai., 1995. Maternal and perinatal outcome of patients with preterm labor and meconium-stained amniotic fluid. *Obstetrics & Gynecology*, 86(5), pp. 830-833.
14. Miller, W., Griffin, C. & Campbell, K., 2012. *Muller and Kirk's Small Animal Dermatology*. 7th edn. szerk. St. Luis, MO: Saunders.
15. Milosevic, M., Frank, L., Brahmhatt, R. & Kania, S., 2013. PCR amplification and DNA sequencing of *Demodex injai* from otic secretions of a dog. *Vet Dermatol*, 24(2), pp. 286-e66.
16. Morita, T. és mtsai., 2018. A New Stubby Species of Demodectic Mite (Acari: Demodicidae) From the Domestic Dog (Canidae). *J Med Entomol*, 55(2), pp. 323-328.
17. Mueller , R., Bensignor , E. & Ferrer, L., 2012. Treatment of demodicosis in dogs: 2011 practice guidelines. *Veterinary Dermatology*, 23. kötet, pp. 86-96, e20-1.
18. Nutting, W. & Desch, C., 1978. *Demodex canis*: redescription and reevaluation. *The Cornell Veterinarian*, 68(2), pp. 139-149.
19. Overgaauw, P., 1997. Aspects of *Toxocara* Epidemiology: Toxocarosis in Dogs and Cats. *Critical Reviews in Microbiology*, 23(3), pp. 233-51.
20. Patra, G. és mtsai., 2019. Molecular Characterization of Chitin Synthase Gene of *Demodex canis* from Mizoram, India. *Acta Parasitol*, 64(1), pp. 57-62.
21. Pipan, M. és mtsai., 2020. Do newborn puppies have their own microbiota at birth? Influence of type of birth on newborn puppy microbiota. *Theriogenology*, 152. kötet, pp. 18-28.
22. Rather, P. & Hassan, I., 2014. Human *Demodex* Mite: The Versatile Mite of Dermatological Importance. *Indian J Dermatol*, 59. kötet, pp. 60-6.
23. Ravera, I. és mtsai., 2013. Small *Demodex* populations colonize most parts of the skin of healthy dogs. *Veterinary Dermatology*, 24. kötet, pp. 168-e37.
24. Revera, I. és mtsai., 2011. Development of a real-time PCR to detect *Demodex canis* DNA in different tissue samples. *Parasitol Res*, 108(2), pp. 305-8.
25. Singh SK., 2019. Superglue slide impression (SSI) method: a novel diagnostic application for canine demodicosis. *Exp Appl Acarol.*, 79(3-4), pp.387-393.
26. Sivajothi, S., Sudakara Reddy, B., Nalini Kumari, K. & Rayulu, V., 2013. Morphometry of *Demodex Canis* and *Demodex Cornei* in Dogs with Demodicosis in India. *Int J Vet Health Sci Res*, 1(2), pp. 6-8.

27. Snyder, D., Wiseman, S. & Liebenberg, J., 2017. Efficiency of lotilaner (Credelio™), a novel oral isoxazoline against naturally occurring mange mite infestations in dogs caused by *Demodex* spp.. *Parasit Vectors*, 10. kötet, p. 532.
28. Veena, M. és mtsai., 2017. Morphological characterization of deodex mites and its therapeutic management with neem leaves in canine demodicosis. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 5(5), pp. 661-664.
29. Woldemeskel, M. & Hawkins, I., 2017. First report of vascular invasion of demodex mites with thrombi and dissemination to visceral lymph nodes in a dog. *Veterinary Parasitology*, 236. kötet, pp. 93-96.
30. Zhao, Y., Cheng, J., Hu, J. & Ma, J., 2014. Molecular identification and phylogenic study of *Demodex caprae*. *Parasitol Res*, 113(10), pp. 3601-8.

## 14. Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom témavezetőmnek, Dr. Mándoki Mírának, valamint külső témavezetőmnek, Dr. Juhász Alexandrának, akik áldozatos munkájának és szaktudásának hála létrejöhett a kutatómunkám. Nekik köszönhetően rengeteg hasznos tudásra tehettem szert munkám során, emiatt mindig hálával fogok tartozni Nekik. Köszönöm Nekik a rengeteg belefektetett munkát és a sok hasznos tanácsot és kritikát amellyel hatalmas segítséget nyújtottak számomra.

Köszönöm a Patológiai Tanszék munkatársainak, hogy lehetővé tették nekünk a Tanszékre beküldött tetemekből való mintavételt.

Köszönöm a Szülészeti Klinika munkatársainak, közülük is legfőképpen Dr. Müller Lindának, hogy a kutatómunkámhoz szükséges magzatokat biztosítani tudták.

Köszönettel tartozom a Parazitológiai és Állattani Tanszéknek akik vizsgálatainkhoz a helyszínt és eszközöket biztosították. Hálásan köszönöm Dr. Majoros Gábornak, aki szaktudásával és hasznos tanácsokkal segítette munkámat.

Hálásan köszönöm a SOTE Mikrobiológiai Intézetének, hogy kutatásomhoz a helyszínt biztosítani tudták.

Végezetül köszönöm a családomnak és barátaimnak akik támogatása nélkül a dolgozatom nem jöhetett volna létre.

**HuVetA**  
**ELHELYEZÉSI MEGÁLLAPODÁS ÉS SZERZŐI JOGI NYILATKOZAT\***

**Név:** Balogh Sára

**Elérhetőség (e-mail cím):** baloghsara98@gmail.com

**A feltöltendő mű címe:** Demodex atkák jelenlétének vizsgálata egészséges kutyákban és magzatokban

**A mű megjelenési adatai:** Diplomamunka, 2022

**Az átadott fájlok száma:** 1

Jelen megállapodás elfogadásával a szerző, illetve a szerzői jogok tulajdonosa nem kizárólagos jogot biztosít a HuVetA számára, hogy archiválja (a tartalom megváltoztatása nélkül, a megőrzés és a hozzáférhetőség biztosításának érdekében) és másolásvédt PDF formára konvertálja és szolgáltatassa a fenti dokumentumot (beleértve annak kivonatát is).

Beleegyeznek, hogy a HuVetA egynél több (csak a HuVetA adminisztrátorai számára hozzáférhető) másolatot tároljon az Ön által átadott dokumentumból kizárólag biztonsági, visszaállítási és megőrzési célból.

Kijelenti, hogy az átadott dokumentum az Ön műve, és/vagy jogosult biztosítani a megállapodásban foglalt rendelkezéseket arra vonatkozóan. Kijelenti továbbá, hogy a mű eredeti és legjobb tudomása szerint nem sérti vele senki más szerzői jogát. Amennyiben a mű tartalmaz olyan anyagot, melyre nézve nem Ön birtokolja a szerzői jogokat, fel kell tüntetnie, hogy korlátlan engedélyt kapott a szerzői jog tulajdonosától arra, hogy engedélyezhesse a jelen megállapodásban szereplő jogokat, és a harmadik személy által birtokolt anyagrészt mellett egyértelműen fel van tüntetve az eredeti szerző neve a művön belül.

A szerzői jogok tulajdonosa a hozzáférés körét az alábbiakban határozza meg **(egyetlen, a megfelelő négyzetben elhelyezett x jellel)**:

engedélyezi, hogy a HuVetA-ban -ban tárolt művek korlátlanul hozzáférhetővé váljanak a világhálón,

az Állatorvostudományi Egyetem belső hálózatára (IP címeire) korlátozza a feltöltött dokumentum(ok) elérését,

a Könyvtárban található, dedikált elérést biztosító számítógépre korlátozza a feltöltött dokumentum(ok) elérését,

csak a dokumentum bibliográfiai adatainak és tartalmi kivonatának feltöltéséhez járul hozzá (korlátlan hozzáféréssel),



Kérjük, **nyilatkozzon a négyzetben elhelyezett jellel a helyben használatról is:**



Engedélyezem a dokumentum(ok) nyomtatott változatának helyben olvasását a könyvtárban.

Amennyiben a feltöltés alapját olyan mű képezi, melyet valamely cég vagy szervezet támogatott illetve szponzorált, kijelenti, hogy jogosult egyetérteni jelen megállapodással a műre vonatkozóan.

A HuVetA üzemeltetői a szerző, illetve a jogokat gyakorló személyek és szervezetek irányában nem vállalnak semmilyen felelősséget annak jogi orvoslására, ha valamely felhasználó a HuVetA-ban engedéllyel elhelyezett anyaggal törvénytörő módon visszaélne.

Budapest, 2022 . év 11. hó 10 nap



aláírás  
szerző/a szerzői jog tulajdonosa

---

*A **HuVetA** Magyar Állatorvos-tudományi Archívum – Hungarian Veterinary Archive az Állatorvostudományi Egyetem Hutjra Ferenc Könyvtár, Levéltár és Múzeum által működtetett egyetemi és szakterületi online adattár, melynek célja, hogy a magyar állatorvos-tudomány és -történet dokumentumait, tudásvagyonát elektronikus formában összegyűjtse, rendszerezze, megőrizze, kereshetővé és hozzáférhetővé tegye, szolgáltatassa, a hatályos jogi szabályozások figyelembe vételével.*

*A HuVetA a korszerű informatikai lehetőségek felhasználásával biztosítja a könnyű, (internetes keresőgépekkel is működő) kereshetőséget és lehetőség szerint a teljes szöveg azonnali elérését. Célja ezek révén*

- *a magyar állatorvos-tudomány hazai és nemzetközi ismertségének növelése;*
- *a magyar állatorvosok publikációira történő hivatkozások számának, és ezen keresztül a hazai állatorvosi folyóiratok impakt faktorának növelése;*
- *az Állatorvostudományi Egyetem és az együttműködő partnerek tudásvagyonának koncentrált megjelenítése révén az intézmények és a hazai állatorvos-tudomány tekintélyének és versenyképességének növelése;*
- *a szakmai kapcsolatok és együttműködés elősegítése,*
- *a nyílt hozzáférés támogatása.*

## NYILATKOZAT

Alulírott Balogh Sára nyilatkozom, hogy diplomamunkám, melynek címe Demodex atkák jelenlétének vizsgálata egészséges kutyákban és magzatokban, tartalmi és formai szempontból teljes mértékben megegyezik azonos című, a 2021 évi TDK konferencián szerepelt dolgozatommal.

Budapest, 2022. 11. 10

A handwritten signature in black ink, consisting of stylized, overlapping loops and strokes, positioned above a horizontal dotted line.

a hallgató neve és aláírása