

Állatorvostudományi Egyetem
Parazitológiai és Állattani Tanszék

***A Dirofilaria*-fajok hazai elterjedtségének vizsgálata kutyákban**

Készítette: Mag Viktória

Témavezető: Dr. Farkas Róbert

egyetemi tanár

Budapest

2018

Tartalomjegyzék

1. BEVEZETÉS	3
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	4
2.1. <i>Dirofilaria immitis</i> (Leidy, 1856)	4
2.1.1. Rendszertan, morfológia, fejlődésmenet, gazdakör	4
2.1.2. Földrajzi elterjedtsége	5
2.1.3. Hazai előfordulásával kapcsolatos ismeretek	5
2.1.4. A kutya szívférgességének klinikumával kapcsolatos ismeretek	6
2.1.5. Közegészségügyi jelentősége.....	6
2.2. <i>Dirofilaria repens</i> (Railliet és Henry, 1911)	7
2.2.1. Rendszertan, morfológia, fejlődésmenet, gazdakör	7
2.2.2. Földrajzi elterjedtsége	7
2.2.3. Hazai előfordulásával kapcsolatos ismeretek	8
2.2.4. A kutya bőrférgességének klinikumával kapcsolatos ismeretek	8
2.2.5. Közegészségügyi jelentősége.....	8
2.3. A kutya <i>Dirofilaria</i> -faj(ok) okozta fertőzöttségének kórjelzése.....	9
2.3.1. Parazitológiai vizsgálatok	9
2.3.2. Szerológiai módszerek	10
2.3.3. Molekuláris biológiai módszerek.....	10
2.3.4. Egyéb	10
3. ANYAG ÉS MÓDSZER	11
3.1. Mintagyűjtés	11
3.2. Mikrofiláriák vizsgálata a mintákban	11
3.3. Szerológiai vizsgálatok	11
3.4. Molekuláris biológiai vizsgálatok.....	12
4. EREDMÉNYEK	14
4.1. A vizsgálatban részt vett kutyák	14
4.2. Mikrofiláriák vizsgálata	15
4.3. Szerológiai vizsgálat	16
4.4. Molekuláris biológiai vizsgálat.....	16
4.5. <i>Dirofilaria</i> férgekkel fertőzöttek	16
4.5.1. Szívférgessel fertőzöttek	17
4.5.2. Bőrférgessel fertőzöttek	18

4.5.3. A két <i>Dirofilaria</i> -fajjal egyidejűleg fertőzöttek.....	18
5. MEGBESZÉLÉS	19
6. ÖSSZEFOGLALÁS	22
7. SUMMARY.....	23
8. IRODALOMJEGYZÉK	24
9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	30

1. Bevezetés

Dolgozatom témájául a szív- és a bőrférgességet okozó *Dirofilaria*-fajok hazai előfordulásának a vizsgálatát választottam, mivel mindig is érdekelték a parasitosisok, különösen a parazitozoonosisok. A dirofilariosisok a helmintosisok közül fontos szerepet töltenek be az állat- és a közegészségügyben. Az igazi szúnyogokkal, mint biológiai vektorokkal terjedő dirofiláriák leggyakrabban kutyákat, ritkábban más állatfajokat, így pl. macskákat, vadon élő ragadozókat, és az embert is fertőzhetik. Dolgozatomban a bőrférgességet (cutan dirofilariosis) és a szívférgességet (cardiovascularis dirofilariosis) okozó fajok, és ezek együttes előfordulásának hazai vizsgálatával foglalkozom. Először 1982-ben jelent meg közlemény két szívférges kutya hazai előfordulásáról, amelyek toxikológiai vizsgálatok céljából érkeztek hazánkba az USA-ból, de a parasitosis miatt elpusztultak (Boros és mtsai, 1982). A századfordulón Vörös és munkatársai (2000) hasonló esetről számoltak be. A *D. immitis*szel itthon fertőződött első kutyát 2007-ben találták meg, amely Jász-Nagykun-Szolnok megyében élt (Jacsó és mtsai, 2009). A *D. repens* hazai előfordulásáról Kotlán Sándor már évtizedekkel korábban írt (Kotlán, 1951), de a kutya e fonálféregfaj okozta bőrférgességéről először csak az 1990-es évek második felében jelent meg közlemény, miután egy keverék kutyán végzett sebészeti beavatkozáskor talált csomóban megtalálták a férget (Fok és mtsai, 1998). A századfordulót követően számos európai országhoz hasonlóan, hazánkban is megkezdődtek e fonálféreggel kapcsolatos kutatások. A közölt adatok arra utalnak, hogy e paraziták okozta bántalmak sokkalta gyakoribbak, mint gondoltuk. Ennek több magyarázata is lehet, így például biológiai vektoraiknak, a különféle csípőszúnyogok földrajzi terjedése és hosszabb ideig tartó aktivitásuk, ami az éghajlat változásával függ össze. Az általuk okozott esetek számának növekedésében szerepet játszik a társállatként tartott kutyák gyakoribb utaztatása is, illetve az, hogy korábban e parazitákra irányuló szűrővizsgálatokat nem végeztek. Az eddigi felmérések adatai szerint a *D. repens* területenként eltérő prevalenciával országsszerte előfordul (Fok és mtsai, 2007). Az utóbbi évtizedben egyre növekszik a szívférges kutyák száma, több endémiás gócot ismerünk.

Az elvégzett vizsgálataim elsődleges célja az eddigi ismereteink bővítése volt, választ keresve arra, hogy kijelenthető-e ezen fonálféregfajok országos elterjedtsége, illetve milyen gyakori a kutyák e két parazitafaj okozta kettős fertőzöttsége.

2. Irodalmi áttekintés

2.1. *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856)

2.1.1. Rendszertan, morfológia, fejlődésmenet, gazdakör

A szívférgességet okozó faj a Nematoda törzs, Spirurida rend, Filarioidea főcsalád Onchocercidae családjába tartozik.

Az ivarérett nőtény 250-300 μm , a hím 120-180 μm hosszú, átmérőjük 480-1510 μm . A hímek többszörösen bekunkorodó farkának végén kevésbé fejlett szárnyak láthatók, illetve 9-11 pár papilla, amelyek közül 4-5 nagyobb pár preanalisán, illetve 1 nagy pár és 4-5 kicsi pár postanalisán helyeződik. A nőtények farki vége vékony és aránylag hosszú. Az ivarérett nőtény féreg lárvái 290-330x5-7 μm nagyságúak, feji végükön a szájníylás tájékán behúzóadás figyelhető meg, rajta kis kampóval. Farki végük egyenes és vékony (Jacsó és Fok, 2006).

A faj fejlődésmenete közvetett. Köztigazdáik az igazi szúnyogok, úgy, mint *Anopheles*-, *Aedes*-, *Culex*-, és különböző *Mansonia*-fajok (Kassai, 2011). A Magyarországon előforduló körülbelül 50 faj közül háromban (*Anopheles maculipennis*, *Aedes vexans* és *Culex pipiens*) bizonyítottan végbemegy a mikrofiláriák fertőzőképes lárvákká való átalakulása, illetve további 3 fajról vélik még, hogy a fertőzőtség terjesztői lehetnek (Jacsó, 2014). A nőtény szúnyog vérszívása során felvett mikrofiláriák 1-2 nap alatt a középbélből a Malphigi-csővekbe vándorolnak, ahol a vérszívást követő kb. 10. napra második stádiumú lárvákká (L2), majd a 14-15. napra harmadik stádiumú lárvákká (L3) alakulnak (Vörös és mtsai, 2000). Ez a folyamat 24°C külső hőmérséklet és 80%-os relatív páratartalom esetén 10-14 napot vesz igénybe, hidegebb időben többet. A szúnyog szájszerveihez vándorló fertőzőképes L3 alakok elhagyva azt a nőtény vérszívása során, a gazda bőrén ejtett kis seben jutnak az állat testébe. A bejutás után az L3-ak a végleges gazda bőr alatti kötőszövetében vándorolnak, kb. 1-2 héten belül vedlenek. Az L4-ek az izomrostok között haladva a vénákba hatolnak, s a vérárammal eljutnak a tüdőbe. Az L4-ek a bejutásuktól számított kb. 50-70. nap múlva vedlenek L5-té, más néven juvenilis adultokká. Ezek a fertőződést követő 90-120. napra érik el a tüdőereket. A nőtény férgek által lerakott mikrofiláriák legkorábban 6, általában 7-9 hónappal később jelennek meg a vérkeringésben (Nelson és mtsai, 2014).

A vérplazmával táplálkozó kifejlett férgek az artéria pulmonalisban, az ehhez csatlakozó erekben és a vena cava caudalisban helyeződnek. Ritkán előfordulnak más vérerekben, illetve a juvenilis alakok eljuthatnak egyéb szervekbe is, például a szembe, vagy a központi idegrendszerbe (Kassai, 2011).

A *D. immitis* természetes gazdája a kutya, azonban gazdaspektrumába tartozik a macska, a vadonélő ragadozók, a menyétfélék, az oroszlánfóka és az ember is (Kassai, 2011).

2.1.2. Földrajzi elterjedtsége

A világ mérsékelt égövi, trópusi, illetve szubtrópusi területein fordul elő (Genchi és mtsai, 2007; Simón és mtsai, 2012). Európában főleg a déli országok, úgy, mint Spanyolország, Portugália, Franciaország, Olaszország, és Görögország endémiásak (Genchi és mtsai, 2009). Az elmúlt időszakban azonban Közép- és Kelet-Európa egyes országaiban, így Csehországban, Szlovákiában, Romániában, Szerbiában és Horvátországban is megnövekedett a szívférges esetek száma (Genchi és mtsai, 2005; 2011; Morchón és mtsai, 2012).

2.1.3. Hazai előfordulásával kapcsolatos ismeretek

Először 1982-ben jelent meg közlemény két szívférges kutya hazai előfordulásáról, amelyek toxikológiai vizsgálatok céljából érkeztek hazánkba az USA-ból, de a parasitosis miatt elpusztultak (Boros és mtsai, 1982). A századfordulón Vörös és mtsai (2000) hasonló esetről számoltak be. Az első autochthon esetet az Alföldön, Jász-Nagykun-Szolnok megyében észlelték 2007-ben (Jacsó és mtsai, 2009). Egy négy éves magyar vizsla kan kutyánál állapították meg a fertőzöttséget az egyetemi klinikán. A kutya szülei a környéken éltek, vadászkutyaként használták őket. A kan szülőnek rendszeres kontaktja volt Olaszországból származó kutyákkal, akiket az olasz, vadász gazdáik hoztak a területre. A kiskutyát 10 hetes korában fogadta örökbe a család, a későbbiekben is ugyanabban a megyében tartózkodott, illetve soha nem utazott külföldre. 2011-ig az esetszám nagyon alacsony volt és csak a fent említett megyére, illetve Csongrád megyére korlátozódott. Bacsadi és mtsai (2016) közleményükben azt írták, hogy az Alföld endémiás területnek tekinthető. A fertőzöttség országos előfordulásáról nincs publikált adat, viszont gyakorló állatorvosoktól tudott, hogy az országban ma már több endémiás góc is található, például Szeged, Diósd, Érd, Karcag, illetve Dunaföldvár. Ezen városokban sok kutyánál állapították meg szívféreg okozta fertőzöttséget a mikrofiláriák, valamint a nőstény férgek által termelt antigének kimutatásával. 2013 és 2014 között az ország 8 megyéjéből (Baranya, Békés, Borsod-Abaúj-Zemplén, Csongrád, Fejér, Heves, Jász-Nagykun-Szolnok, Pest) összesen 20 *D. immitis* fertőzött rókát, valamint 2 aranyakált jelentettek (Tolnai és mtsai, 2014).

2.1.4. A kutya szívférgességének klinikumával kapcsolatos ismeretek

A szívférges miatti pulmonalis hypertonia következtében a jobb pitvar és kamra hypertrophizál (cor pulmonale), aminek idült pangásos szívelégtelenség a következménye. A krónikus forma esetén az állat fáradékony, köhög, dyspnoe, rendellenes szív-, és légzési hangok észlelhetőek, ascites és a végtagok oedemas duzzanata mutatkozhat. Rövid szőrű kutyákban esetenként a torkolati véna tágulata, illetve pulzációja is megfigyelhető (Farkas és Vörös, 2015). Ezen esetek háttérében endocarditis, endarteritis, arteriosclerosis, a tüdőparenchyma fibrózisa, a tüdőkeringés zavara, illetve a háromhegyű billentyű tökéletlen záródása állapítható meg. A mikrofilariasi kutyákban a vesekapillárisok falában lerakódó immunkomplexek glomerulonephritist okozhatnak (Kassai, 2011). Az elpusztult férgek maradványai gyulladásos reakciót és thromboembóliát okozhatnak (Venco, 2007). A nagyszámú, 40-nél több féreg vena cava szindrómát okozhat, akadályozva a szívbillentyűk működését és a véráramlást, haemolysist, vese-, és májdysfunctiot, illetve szívelégtelenséget okozva (Nelson és mtsai, 2014). E kórképnél jellemző, hogy a kutya kórosan lesóványodik, legyengül, vegyes típusú dyspnoeal és tachycardiával küzd; haemoglobinuria, haemoglobinaemia, icterus, és sokk alakul ki, majd körülbelül 1-2 napon belül bekövetkezik az elhullás (Vörös és mtsai, 2000; Nelson és mtsai, 2014).

2.1.5. Közegészségügyi jelentősége

A kutyához hasonlóan a szúnyogoktól az ember is fertőződhet, de szerencsére igen ritkán fordul elő. Az emberben a lárvák, mielőtt adulttá fejlődnének, elpusztulnak a tüdőben. Ezeken a helyeken granulomák jönnek létre, amelyek pénzérmeszerű árnyékot („coin lesion”) adnak a röntgenfelvételnél. A röntgenkép alapján ezek a csomók könnyen összetéveszthetőek a metastaticus tüdőrákkal (Genchi és mtsai, 2007; Simón és mtsai, 2012). A legtöbb pulmonaris dirofilariosisban szenvedő beteg tünetmentes, körülbelül a fertőzöttek egyharmadánál jelentkeznek klinikai tünetek, úgy, mint köhögés, mellkasi fájdalom, láz és/vagy véres köpet (Haro és mtsai, 2016). Egy tanulmány szerint a betegek 11%-ánál volt kimutatható eosinophilia (Bailey és mtsai, 1990).

2.2. *Dirofilaria repens* (Railliet és Henry, 1911)

2.2.1. Rendszertan, morfológia, fejlődésmenet, gazdakör

A bőrférgességet okozó *Dirofilaria repens* a Nematoda törzs, Spirurida rend, Filarioidea főcsalád, Onchocercidae családjának, *Dirofilaria* rendjének Noctiella alnemébe tartozik (Kassai, 2011).

A nőtény 106-170 mm hosszú, a hím mindössze 50-70 mm, átmérőjük pedig 370-650 µm (Jacsó és Fok, 2006). A hímek farkán lévő spiculumok különböző hosszúságúak: a hosszabb 0,6 mm, a rövidebb 0,2 mm (Széll és mtsai, 1999). A nőtény férgek mikrofiláriáinak mérete 300-360x6-8 µm, feji végük lekerekedett, sima, a szájnylás környéke üres, farki vége pedig enyhén széles, kampós (Jacsó és Fok, 2006).

Fejlődésmenete közvetett, a *Dirofilaria immitis* részben megegyezik (Kassai, 2011). Köztigazdái az *Aedes*-, *Culex*-, és *Anopheles*-fajok. A fertőzőképes L3 a szúnyog Malphigi csöveiben fejlődik ki kb. 8-20 nap alatt. Ennek időtartamát legfőképp a külső hőmérséklet befolyásolja (Webber és Hawking, 1955; Genchi és mtsai., 2009). A gazdaszervezetbe jutott L3 a bőr alatti kötőszövetbe vándorolva, kb. 1-15 napon belül L4-é fejlődik, majd 3-70 nappal később kialakul az L5, a juvenilis féreg, melynek ivarérese 70-150 napot igényel (Manfredi és mtsai, 2007). A fertőződéstől számított kb. 25-34 hét múlva kezdenek a nőtények mikrofiláriákat lerakni (Webber és Hawking, 1955; Manfredi és mtsai, 2007). Az adult férgek összegabalyodott állapotban, tömött tapintatú, nem fájdalmas csomókban találhatóak a bőr alatti kötőszövetben (Kassai, 2011).

A bőrféregként ismert faj gazdaspektrumának a kutyán kívül a macska, a vadon élő ragadozók és az ember is tagja (Jacsó és Fok, 2006).

2.2.2. Földrajzi elterjedtsége

A *Dirofilaria repens* jellemzően Európában, Ázsiában és Afrikában fordul elő (Genchi és mtsai, 2007; Simón és mtsai, 2012). A Mediterráneum egyes országai, úgy, mint Spanyolország, Olaszország, Görögország endémiásak (Jacsó és Fok, 2006). Az elmúlt időszakban több országban, így Szerbiában (Tasić és mtsai, 2008), Horvátországban (Genchi és mtsai, 2005; Pilat és mtsai, 2012), Romániában (Ciocan és mtsai, 2012), Törökországban (Toparlak és mtsai, 2005), Csehországban (Dobesova és Svobodova, 2009), Németországban (Hermosilla és mtsai, 2006; Pantchev és mtsai, 2009), Ausztriában (Duscher és mtsai, 2009), Svájcban (Simón és mtsai, 2012), valamint Oroszország déli részén (Kartashev és mtsai, 2011) észlelték endémiás előfordulását. Sporadikus esetekről

számoltak be Hollandiából (Overgaauw és van Dijk, 2009) és Lengyelországból (Masny és mtsai, 2011).

2.2.3. Hazai előfordulásával kapcsolatos ismeretek

A *D. repens* hazai előfordulásáról Kotlán Sándor már évtizedekkel korábban írt (Kotlán, 1951), de a kutya e fonálféregfaj okozta bőrférgességéről először csak az 1990-es második felében jelent meg közlemény, miután egy keverék kutyán végzett sebészeti beavatkozás közben talált csomóban megtalálták a férget (Fok és mtsai, 1998). Egy 8-10 mm átmérőjű szemölcszerű duzzanatot vettek észre a kutya nyakának jobb oldalán. Mikroszkóp alatt vizsgálva az eltávolított csomót, abban szembetűnt egy nőstény féreg, amelynek az uterusát mikrofiláriák töltötték ki. A morfológiai jegyek alapján a férget *Dirofilaria repens*ként azonosították. A Tolna megyei Szekszárd környékén élő 101 kutya vérvizsgálatakor 9-ben találták meg a faj mikrofiláriáit (Széll és mtsai, 1999). A Borsod-Abaúj-Zemplén megyében végzett vizsgálat alapján a fertőzöttség a megyei kutyák 7,9%-át érinti (Horváth, 2010). Egy másik vizsgálat a Komárom-Esztergom megyében élő kutyák bőrféreggel való fertőzöttségének felmérésére irányult, a vizsgálat eredményei alapján az ott élő kutyák 29,8%-a volt fertőzött *D. repens*sel (Péczely, 2011).

2.2.4. A kutya bőrférgességének klinikumával kapcsolatos ismeretek

A kifejlett férgek életük során a bőr alatti kötőszövetben vándorolnak, ami nem jár klinikai tünetekkel. Csomók jelenhetnek meg a bőr alatti kötőszövetben, súlyosabb fertőzöttség esetén puritussal járó generalizált dermatitis jellemezheti a parasitosiszt. Egyéb tünetek, mint az immunhaemolyticus anaemia, tüdőfibrosis, és májelfajulás igen ritkán fordulnak elő (Jacsó és Fok, 2006).

2.2.5. Közegészségügyi jelentősége

A szúnyogoktól történt fertőződést követően a lárvák többsége az immunválasz következtében gyakran elpusztul az emberben (Simón és mtsai, 2005). Amennyiben nem, úgy a bőrférgesség legtöbbször tünetmentes. A kifejlett férgek kisebb-nagyobb csomókat okozhatnak a bőr alatti kötőszövetben (Kassai, 2011), elsősorban a fejen, törzsön és a karokon. E faj példányát megtalálták már a szem kötőhártyája alatt, az üvegtestben, a hereborék tájékán, a lágyéki területen, nyirokcsomókban valamint a mell szöveteiben is (Aczél és mtsai, 2005; Pampiglione és mtsai, 2000). A fertőzöttség jele lehet a larva migrans cutanea is, így ilyen klinikai tünet mellett a bőrférgességre is gondolni kell

(Antalová és mtsai, 2015). Egy külföldi esettanulmány a *Dirofilaria repens* tüdőben való előfordulását is leírta (Benzaquen és mtsai, 2015).

Az 1950-es évek elején diagnosztizálták hazánkban az első humán esetet (Kotlán, 1951). Magyarországon 2001 és 2013 között 88 humán esetet jelentettek, 35-nél a szem érintettsége volt megfigyelhető (Kucsera és mtsai, 2014).

2.3. A kutya *Dirofilaria*-faj(ok) okozta fertőzöttségének kórjelzése

2.3.1. Parazitológiai vizsgálatok

A tesztek közül a legkevésbé specifikus a közvetlen vérvizsgálat, ahol a tárgylemezre cseppentett vérben vizsgáljuk az élő mikrofiláriákat fénymikroszkóp alatt. (Jacsó és Fok, 2006). Előnye, hogy nagyon kevés eszközt igényel, ezért szinte bármelyik rendelőben elvégezhető ez a vizsgálat.

A mikrofiláriák kimutatásához vérkenet is készíthető, mely szárítás, fixálás (metil-alkohol), és festés (Giemsa) után fénymikroszkóppal vizsgálható. Szintén nagy hátránya, hogy csak néhány csepp vér vizsgálatára alkalmas, így enyhébb fertőzöttség esetén nagy esély van arra, hogy nem kerülnek mikrofiláriák a kenetbe (Jacsó és Fok, 2006).

A mikrokapilláris tesztnél (MCT) EDTA-s vérmintát centrifugálnak (1 percig, 1500-as fordulatszám) mikrohematokrit-csővekben, majd sztereomikroszkóp alatt figyelik a buffy coat rétegben mozgó mikrofiláriákat (Rojas és mtsai, 2015). Nagyszámú élő lárva esetén könnyen megállapítható a fertőzöttség.

A Difil-test lényege, hogy az alvadásban gátolt és hemolizált vérből 1 ml-t 3-5 µm nagyságú szűrőn préselnek át, majd ezt a szűrőhártyát vizsgálják mikroszkóp alatt. Érzékenysége hasonló a Knott módszerhez (Kassai, 2011).

A módosított Knott-teszt, amely szintén egyszerűen és gyorsan kivitelezhető, nem csak a mikrofiláriák vérben való előfordulására, hanem fajmeghatározásra is használható módszer. Az előző kettő módszernek az az előnye, hogy nagyobb mennyiségű vérmintát igényelnek, így nagyobb az esély a mikrofiláriák észrevételére (Jacsó és Fok, 2006).

2.3.2. Szerológiai módszerek

Kereskedelmi forgalomban kapható tesztekkel csak a kutyában élő *D. immitis* nőtények által termelt antigén mutatható ki a fertőzést követő 6. hónaptól (McCall és mtsai, 2008). A *D. immitis* antigénjének a jelenlétét membrán ELISA-val vagy immunkromatográfiával működő gyorsesztekkel lehet kimutatni, amelyeknek a specificitása közel 100% (Nelson és mtsai, 2014). Az okkult szívférgesség során, amikor a vérben nincs jelen mikrofilária, csak az antigén kimutatásával állapítható meg a fertőzöttség (Farkas és Vörös, 2015).

A *D. repens* okozta fertőzöttséget szerológiai módszerrel nem lehet diagnosztizálni. Néhány helyen, úgy, mint Amerikában és Milánóban, kutatócsoportok kifejlesztettek egy-egy saját felhasználású eljárást (Jacsó és Fok, 2006).

2.3.3. Molekuláris biológiai módszerek

A pontos diagnózis felállításához elkerülhetetlen a molekuláris biológiai módszerek használata. A vérben található mikrofiláriákból vagy a boncolás során talált adult férgekéből (Farkas és Vörös, 2015), illetve szúnyogokból (Latrofa és mtsai, 2012) kivont DNS vizsgálatával lehetőség nyílik a fertőzöttséget okozó fonálféreg faji azonosítására. A *Dirofilaria immitis* okozta fertőzöttség molekuláris módszerrel történő kimutatása konvencionális (Liu és mtsai, 2005), vagy valós idejű PCR-rel lehetséges, valamint a két faj vizsgálata egylépéses multiplex PCR-rel is történhet (Gioia és mtsai, 2010).

2.3.4. Egyéb

Diagnosztikai képalkotó eljárások is alkalmazhatók a szívférgesség igazolására, úgy, mint a légzőszervi röntgenvizsgálat, az echocardiographia és az EKG-vizsgálat (Farkas és Vörös, 2015).

3. Anyag és módszer

3.1 Mintagyűjtés

A vizsgálat keretében 2017 áprilisa és szeptembere között országszerte, összesen 305 kutyából gyűjtöttünk vérmintát. A megyénkénti arányos mintaszámot a 2016. évben jelentett veszettség oltások száma alapján határoztuk meg. A mintagyűjtésben egyetemi hallgatók és praktizáló állatorvosok is közreműködtek, nagyban segítve munkánkat. Vérvétel csak egy évnél idősebb kutyákból történt.

A vérminták gyűjtése egyedi azonosító jellel ellátott EDTA-s, illetve kémiai anyagot nem tartalmazó vérvételi csövekbe történt, lehetőség szerint mindegyikbe 2-2 ml. A gazdákat egy kérdőív kitöltésére kértük, amelyben a kutya származását, fajtáját, nemét, korát, valamint a tulajdonosok által észlelt klinikai tünetek feltüntetését kértük. A levett mintákat hűtve (+4°C-on) tárolták, illetve így történt a szállításuk is a tanszék laboratóriumba. Az alvadásban gátolt vért és a centrifugálással kapott vérszérumokat a vizsgálatok megkezdéséig hűtőben (+4°C-on) tároltuk.

3.2 Mikrofiláriák vizsgálata a mintákban

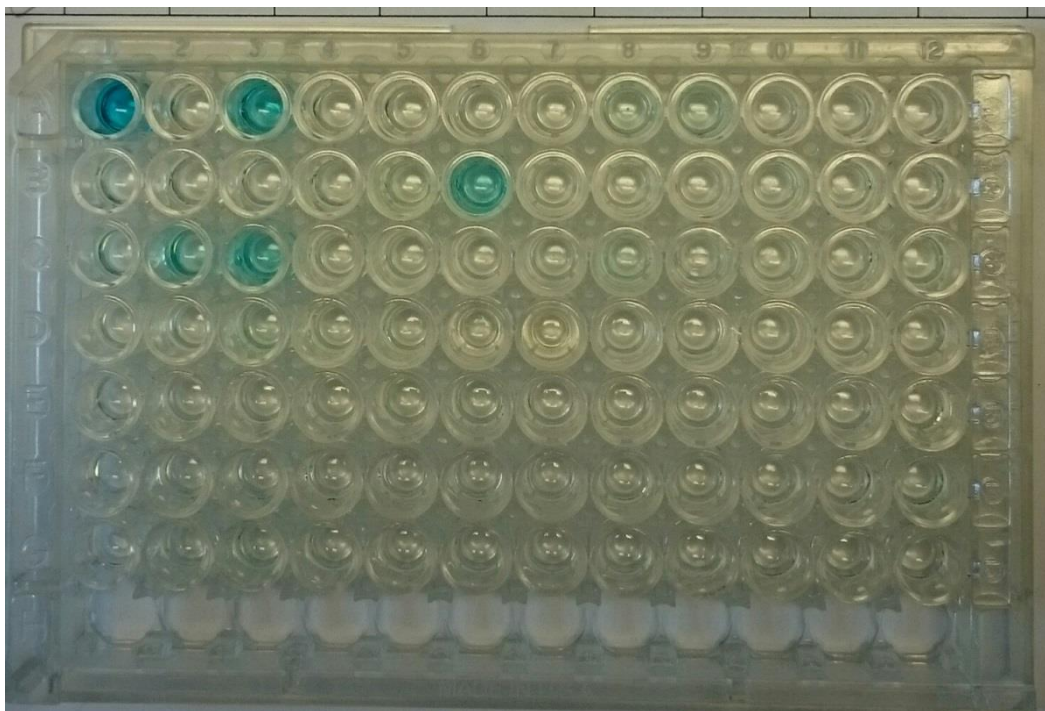
Az alvadásban gátolt vérmintákban módosított Knott-módszerrel vizsgáltuk a mikrofiláriák jelenlétét. Egy ml vért kémcsőbe pipettáztunk, ehhez 1-2 csepp szaponint, illetve 1-2 csepp metilénkék oldatot adtunk. Ezt követően a kémcsőbe 9 ml desztillált vizet töltöttünk, s az így előkészített mintát 1500/perc fordulatszámmon, 3-5 percig centrifugáltuk. Az üledékből 0,5 ml-t pipettáztunk a tárgylemezre és lefedés után fénymikroszkóp alatt, 100x-os nagyításon vizsgáltuk (Majoros és Juhász, 2015a,b).

3.3. Szerológiai vizsgálatok

DiroCHEK[®] test kittel (Zoetis) vizsgáltuk a vérszérumokban a *D. immitis* antigén jelenlétét. Irodalmi adatok szerint ennek a tesztnek a specificitása közel 100% (Nelson és mtsai, 2014), de a szenzitivitása ennél kisebb (Lee és mtsai, 2011). Először a teszthez járó műanyag tartóba elhelyeztünk szükséges számú kamrát. Az elsőbe a pozitív kontrollból, a másodikba a negatív kontrollból egy cseppet tettünk, a többi kamrába a vizsgált vérszérumból 0,05-0,05 ml-t pipettáztunk. A kamrákba 1-1 csepp Reagens 1-et csepegtettünk, majd óvatos mozdulattal a kamrákban lévő folyadékot összekevertük. Ezt követően a szobahőmérsékleten 10 percig tartott lemezt 5 alkalommal desztillált vízzel mostuk. Végül minden kamrába 2-2 cseppet csepegtettünk a kitben található Reagens 2-ből, majd 5 perc várakozás után szabad szemmel értékeltük a reakció eredményét. A

pozitív kamrában látható kék színnel közel azonos mintákat értékeltük pozitívnak. Az alábbi képen a DiroCHEK teszt látható a Reagens 2 hozzáadását követő 5 perc múlva (1. ábra).

1. ábra: A DiroCHEK teszt az utolsó 5 perc várakozás után



A műanyag tartón vízszintesen számok, függőlegesen pedig betűk jelölik a sorokat. Az első sor első kamrája (A1) a pozitív kontroll. E teszten 4 mintát, az A3, B6, C2, illetve C3 kamrákban lévő mintákat értékeltük pozitívnak, a többit pedig negatívnak.

3.4. Molekuláris biológiai vizsgálatok

A DNS izolálása 200 μ l homogenizált, szobahőmérsékletű EDTA-s vér felhasználásával történt NucleoSpin[®]Tissue kit (Macherey-Nagel GmbH, Düren, Germany) segítségével. A kinyert DNS a felhasználásig -20 °C-on volt tárolva. Kétféle PCR reakcióval vizsgáltuk a mintákban előforduló *Dirofilaria*-fajt/-fajokat. Az egyik az egylépéses multiplex konvencionális PCR (Gioia és mtsai, 2010) reakció. A 12S rDNS génszakaszra tervezett két primer pár egyikével a kb. 500 bázispár (bp) nagyságú termék felerősíti a *Dirofilaria* spp-t. A másik primer pár a *D. immitis* kb. 204 bp hosszúságú, illetve a *D. repens* kb. 326 bp hosszúságú szakaszait erősíti fel. Az amplifikáció mintánként 25 μ l térfogatú reakcióelegyben történik, ami 10 perces 95°C-os iniciációs lépéssel indul. Ezt követően 40-szer ismételt ciklusban követi a denaturáció (30mp, 95°C),

az anelláció (45mp, 49°C), és extenzió (1 perc, 72 °C). Az amplifikáció egy egyszeri terminációs résszel zárul (10 perc, 72°C). A PCR reakció során kapott termékeket szobahőmérsékleten gélelektroforézis segítségével futtatuk. Az elektroforézis kiértékelése Kodak EDAS 290 (Kodak, USA) berendezés segítségével történik.

A másik módszer egy konvencionális PCR módszer (Liu és mtasai, 2005), amely azonban csak a *D. immitis* fertőzöttség kimutatására szolgál, a *D. immitis* 16S rRNA gén kb. 440bp nagyságú szakaszának egy primerpár segítségével történő amplifikálásával. A kezdeti (egyszeri) denaturációs-aktivációs lépést (10 perc, 95°C) 40 cikluson át követi denaturáció (30mp, 95°C), anelláció (45 mp, 49°C) és extenzió (1 perc, 72°C). Az utolsó lépés a végső extenzió (10 perc, 72°C), ezt követően a kiértékelésig 4°C-on tartjuk. A kiértékelés gélelektroforézissel történik, a PCR termékeket ethidium-bromiddal festett, 1,5%-os agaróz gélen futtatjuk 100V feszültség mellett körülbelül 1órán át. A kapott eredmény értékelése a korábban írtak szerint történt.

4. Eredmények

4.1. A vizsgálatban részt vett kutyák

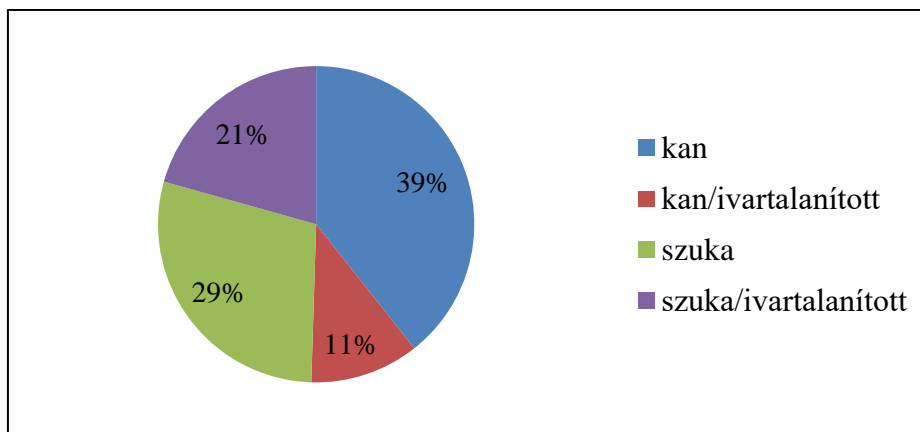
A vizsgált 305 vérminta az ország 19 megyéjének 165 településén tartott kutyából volt véve. Megyénként minimum 6, maximum 68 állat fertőzöttségét vizsgáltuk (1. táblázat).

Megye	Települések száma	Kutyák száma
Baranya	8	12
Bács-Kiskun	13	23
Békés	8	19
Borsod-Abaúj-Zemplén	11	19
Csongrád	5	14
Fejér	9	14
Győr-Moson-Sopron	10	21
Hajdú-Bihar	7	16
Heves	5	10
Jász-Nagykun-Szolnok	8	13
Komárom-Esztergom	5	7
Nógrád	8	11
Pest	33	68
Somogy	6	13
Szabolcs-Szatmár-Bereg	4	8
Tolna	4	6
Vas	6	10
Veszprém	6	9
Zala	9	12

1. táblázat: A megyénkénti települések, illetve kutyák száma

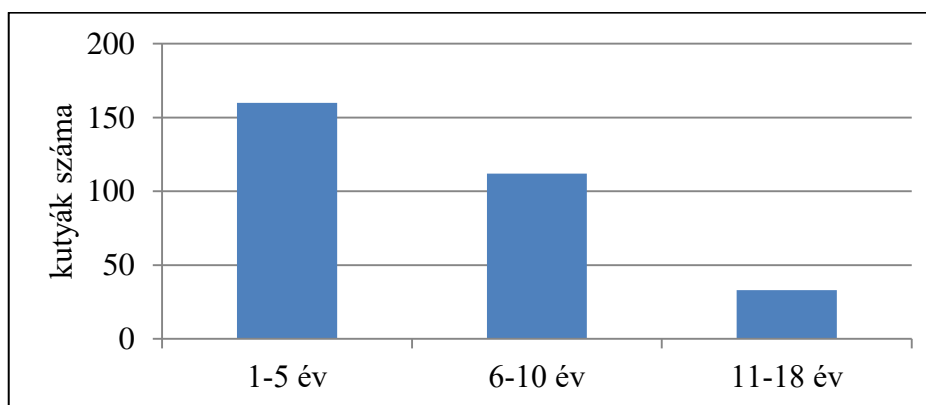
A kutyák fajta szerinti megoszlását tekintve 109 keverék (35,74%), többi 55 fajtába tartozó fajtatiszta kutya volt. Közülük 120 kan, 34 ivartalanított kan, 88 szuka és 63 ivartalanított szuka. (2. ábra).

2. ábra: A vizsgált kutyák ivar szerinti megoszlása



Az állatokat koruk szerint 3 csoportba soroltuk. Az >1-5 éves korúak közé 160 (52,46%), a 6-10 évesek közé 112 (36,72%), 33 (10,82%) pedig a 10 évnél idősebb korcsoportba tartozik (3. ábra). A kutyák átlagos életkora 5,6 év.

3. ábra: A vizsgált kutyák korcsoport szerinti megoszlása



4.2. Mikrofiláriák vizsgálata

A 305 vérminta közül 52-ben (17,05%), 22 keverék és 30 fajtatiszta kutya mintájában voltak mikrofiláriák. A fertőzöttek közül 28 (53,85%) kan, 17 (32,7%) szuka, a többi ivartalanított. Az 1-5 éves korcsoportból 20 (12,5%), a 6-10 évesek közül 25 (22,32%), illetve a 10 évnél idősebbek közül 7 (21,21%) kutya vérében találtunk mikrofiláriákat.

4.3. Szerológiai vizsgálat

A 305 vérszérum 15,41%-a, 47 adott pozitív reakciót. Ezek közül 30 (63,83%) olyan volt, amelyeknek a vérében Knott módszerrel mikrofiláriákat lehetett találni. A szeropozitív kutyák közel fele (44,68%) keverék. Ivar szerinti megoszlásukat tekintve 25 kan (53,2%), 16 szuka (34,04%), 3-3 ivartalanított szuka és kan. A három korcsoportból 21 (13,13%), 19 (16,96%) és 7 kutya (21,21%) volt szeropozitív.

4.4. Molekuláris biológiai vizsgálat

A kétféle PCR módszerrel összesen 55 minta vizsgálatára került sor, amelyek közül 38-ban találtunk mikrofiláriákat. Az 55 minta közül 41 tartalmazott *Dirofilaria* DNS-t, 20-ban *D. immitis*, 14-ben *D. repens* és 7-ben (12,73%) mindkét fonálféregfaj örökítő anyaga jelen volt.

4.5. *Dirofilaria* férgekkel fertőzöttek

A 165 település közül 122-ben (73,94%) tartott 250 (81,97%) kutya egyik *Dirofilaria*-fajjal sem volt fertőzött. Összesen 55 (18%) fertőzött kutyát találtunk, amelyeket 15 megye 43 településén tartanak (2. táblázat; 4. ábra). Ezek közül 23 keverék, a többi fajtatiszta. Ivarukat tekintve 27 kan, 20 szuka, a többi ivartalanított. Az 1-5 és a 6-10 éves korcsoportba 21, ill. 26 tartozik, a többi 10 évnél idősebb.

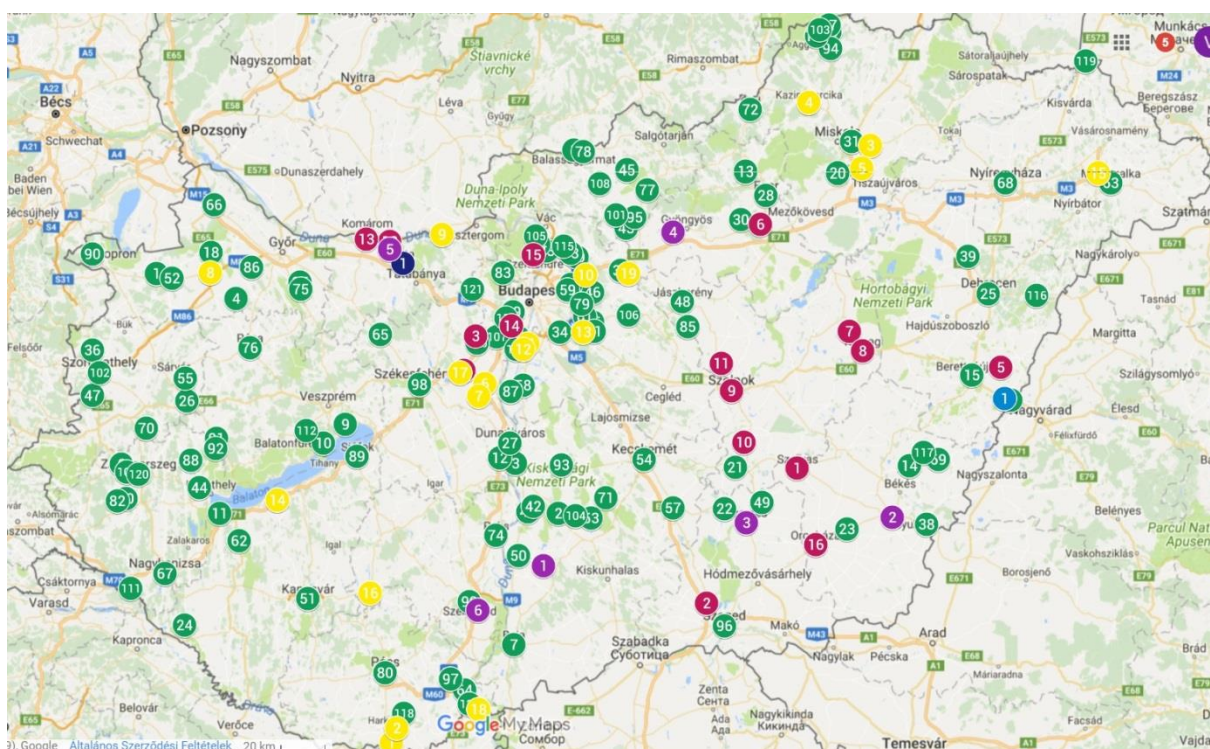
Megye	Települések száma
Baranya	3
Bács-Kiskun	1
Békés	3
Borsod-Abaúj-Zemplén	3
Csongrád	2
Fejér	5
Győr-Moson-Sopron	1
Hajdú-Bihar	2
Heves	2
Jász-Nagykun-Szolnok	5
Komárom-Esztergom	5
Pest	7
Somogy	1
Szabolcs-Szatmár-Bereg	1
Tolna	2

2. táblázat: A fertőzött kutyák tartózkodási helyei

4.5.1. Szívféreggel fertőzöttek

A 305 kutya közül 27-nél (8,85%) lehetett megállapítani *D. immitis* okozta fertőzöttséget. Ezek a kutyák 10 megye 24 településén élnek (4. ábra). Közülük 16 fajtatiszta és 11 keverék. A két ivartalanított szuka kivételével közel azonos arányban voltak a kanok (13) és a szukák (12). Három kutya kivételével mind 10 évesnél fiatalabb volt, 12 állat kora 1 és 5 év között volt. Hét (25,93%) kutya tulajdonosa jelezte a kérdőíven, hogy kutyája köhög, 3 esetben (11,1%) tapasztalták a kedvencük fáradékonyságát, 4 kutyánál (14,81%) a fáradékonyság mellett köhögést is tapasztaltak.

4. ábra: A vizsgált kutyák tartási helyei



Zöld színnel jelöltük azokat a településeket, ahol nem találtunk fertőzött állatot. Pirossal a *Dirofilaria immitis*szel, sárgával a *Dirofilaria repens*szel, lilával pedig azokat a településeket, ahol mindkét faj egyidejűleg előfordult a kutyában. A világoskék szín jelzi azt a települést, ahol előfordult *D. repens*szel, illetve *D. immitis*szel fertőzött állat. Sötétkék színnel az a település van jelölve, ahol mindkét fajjal, illetve ezek egyikével fertőzött kutyákat találtunk. A számok a településen vizsgált kutyák számát jelzik.

4.5.2. Bórféreggel fertőzöttek

A *D. repens* okozta fertőzöttség 35 (11,48%) kutyánál lett megállapítva, amelyek 14 megye 27 településén élnek (4. ábra). Közülük 13 keverék, a többi fajtatiszta. A fertőzöttek közül 18 kan, 10 szuka, a többi ivartalanított. Tíz kutya a legfiatalabb korcsoportba tartozik, a legtöbb (17) kora 6-10 év közötti s volt 8 olyan is, amelyik 10 évnél idősebb.

4.5.3. A két *Dirofilaria*-fajjal egyidejűleg fertőzöttek

Összesen a vizsgáltak 2,29%-a, 7 kutya volt egyidejűleg fertőzött mindkét fonálféregfajjal. Ezen kutyák 6 megye 7 településén élnek (4. ábra). Ezek közül egy keverék, a többi fajtatiszta. Ivar szerinti megoszlásukat tekintve 4 kan, 2 szuka és 1 ivartalanított szuka. Három állat 10 évnél idősebb, három 6-10 év közötti, egy pedig a legfiatalabb korcsoportba tartozik. A fertőzöttek állatok közül egynél köhögést, kettőnél köhögést és fáradékonyságot figyeltek meg.

5. Megbeszélés

A parazitológiai, a szerológiai és a molekuláris biológiai módszerekkel kapott adatokat vizsgálva azt lehet mondani, hogy a fertőzött állatok mintáinak egy részénél ellentmondó eredményeket kaptunk. A *D. immitis* fertőzött 20 minta, illetve a mindkét fajjal fertőzött 7 minta közül 22-ben találtunk mikrofiláriákat, miközben PCR vizsgálattal mind a 27 fertőzött volt. Ez arra utal, hogy a gyakorlatban használt Knott-teszttel nem lehet minden esetben megtalálni a mintában lévő igen kevés mikrofiláriát, holott biztosan volt bennük, hiszen a lárvákból kivont DNS kimutatása adott pozitív reakciót a molekuláris biológiai vizsgálatban. *Dirofilaria immitis* okozta okkult dirofilariosis esetén a korábban használt mikrofilaricid készítmények hatására lárvamentes lehet a vérminta (Sasaki és Kitagawa, 1993), azonban a szerológiai vizsgálat ebben az esetben is kimutatja az antigén jelenlétét. Előfordulhat azonban olyan eset is, hogy e faj mikrofiláriái megtalálhatóak vagy az előbb említett okok miatt nincsenek, de nem lehet antigént kimutatni. Egy olyan minta volt, aminél a PCR vizsgálat *D. immitis* okozta fertőzöttséget mutatott, de szeronegatív volt. Ennek az egyik oka az lehet, hogy az általunk használt DiroCHEK kit érzékenysége nem éri el a 100%-ot, emiatt előfordulhat, hogy néhány fertőzött minta fals szeronegatív reakciót ad. Az ilyen eredmény hátterében az is állhat, hogy ezekben a kutyákban a *D. immitis* szemben termelődött ellenanyagok az antigénhez kötődve immunkomplexet képeztek, ami megakadályozta az antigén kimutatását (Nelson és mtsai, 2014).

A *D. repens* fertőzött 35 minta közül 33-ban találtunk mikrofiláriákat. PCR-rel 21-et vizsgáltunk, köztük két olyan mintát, amiben nem találtunk mikrofiláriákat. Az összes ilyen mintában jelen volt a *D. repens* DNS-e, ami ez esetben is arra utal, hogy két mintában a Knott-teszttel végzett alapos vizsgálat ellenére sem találtunk lárvákat, holott tartalmaztak. Meglepő volt, hogy a csak *D. repens* fertőzött 28 állat mintái közül 8-nál a DiroCHEK a *D. immitis* antigénjét jelezte. Ennek okát nem tudjuk, de lehetséges, hogy a *D. repens* antigénje keresztreakciót adott, amiről más parazitafajok kapcsán beszámoltak (Schnyder és Deplazes, 2012; Aroch és mtsai, 2015). Az imént írtak miatt a megalapozott diagnózis érdekében negatív, sőt pozitív eredmény esetén is célszerű újabb parazitológiai és/vagy szerológiai módszerrel ellenőrizni az állat vérmintáját.

A *Dirofilaria immitis* elsősorban a világ mérsékelt égövi, trópusi, illetve szubtrópusi területein fordul elő (Genchi és mtsai, 2007; Simón és mtsai, 2012). Európában főleg a déli

országok, úgy, mint Spanyolország, Portugália, Franciaország, Olaszország, és Görögország endémiásak (Genchi és mtsai, 2009). Az elmúlt időszakban Közép- és Kelet-Európában (Csehországban, Szlovákiában, Romániában, Szerbiában és Horvátországban) is megnövekedett a szívférges esetek száma (Genchi és mtsai, 2005; 2011; Morchón és mtsai, 2012). A fertőzöttség hazai előfordulása 2009 óta ismert (Jacsó és mtsai, 2009), a gyakorló állatorvosoktól származó információk szerint több endémiás góc is található az országban (pl. Szegeden, Diósd és Érd térségében, Karcagon, Dunaföldváron). Korábbi közlemény szerint Magyarország keleti területein sok kutya fertőzött (Tolnai és mtsai, 2014; Bacsadi és mtsai, 2016), azonban a parasitosis országos előfordulásáról nem állnak rendelkezésre adatok.

Az egy évnél idősebb 305 kutya közül 55 volt fertőzött az egyik, vagy mindkét fonálféreg fajjal. A *Dirofilaria immitis* okozta fertőzöttséget 27 (8,85%) kutyánál állapítottuk meg. A kérdőívre adott válaszok ismeretében 14 kutyánál, azaz a szívférges esetek több mint a felénél a bántalomra is utaló tüneteket (köhögés, fáradékonyság) észleltek a tulajdonosok. A fertőzöttek 63,6 %-a a Dunától keletre fekvő településeken él. Ez megerősíti a korábbi megfigyeléseket (Tolnai és mtsai, 2014; Bacsadi és mtsai, 2016). A dunántúli területeken talált 10 szívférges kutya közül hat a Dunához közeli településeken, a többi Komárom-Esztergom és Fejér megyében él. Azt nem sikerült kideríteni, hogy ezek az állatok helyben vagy máshol fertőződtek. Ettől függetlenül ezek a kutyák potenciális fertőzési forrást jelentenek a környezetükben élő többi kutya számára. Lehetséges, hogy ezeken a helyeken már több kutya fertőzött szívféreggel, ezért célszerű lenne mielőbb széleskörű szűrővizsgálatokat végezni. A mostani kapott eredmények szerint az ország Dunától nyugatra fekvő területein a kutyák szívférgessége még nem jelentkezik endémiásan, hiszen e térségből vizsgált 122 állat közül csak tízet találtunk fertőzöttnek. Ez azonban nem jelenti azt, hogy ebben az országrészben nincs szükség a fertőzöttség monitorozására, hiszen nyaralás, kiállítás vagy egyéb célból olyan helyekre is elvihetik a tulajdonosok kedvenceiket, ahol a szúnyogok aktivitásának időszakában észrevétlenül fertőződhetnek *D. immitis*szel.

A *Dirofilaria repens* Európa, Ázsia és Afrika egyes területein fordul elő (Genchi és mtsai, 2007; Simón és mtsai, 2012). A Mediterráneum országaiban, úgy, mint Spanyolországban, Olaszországban és Görögországban a bőrférgesség endémiás (Jacsó és Fok, 2006). Az elmúlt időszakban több, térségbeli országban észlelték e faj terjedését (Tasić és mtsai, 2008; Dobesova és Svobodova, 2009; Duscher és mtsai, 2009; Ciocan és

mtsai, 2012). Tudott, hogy a bőrférgességet okozó faj évtizedek óta jelen van hazánkban (Kotlán, 1951) s az is, hogy megállapították a kutyák fertőzöttségét (Fok és mtsai, 1998; Széll és mtsai, 1999). A parazita hazai elterjedtségéről azonban nem állnak rendelkezésre pontos adatok. Fok és munkatársai (2007) által néhány évvel korábban végzett vizsgálatokat követően arról számoltak be, hogy a kutyák fertőzöttségének prevalenciája 18% volt. Az általunk végzett munkában a bőrférgesség ennél kisebb (11,48%) arányban fordult elő, a 305 kutya közül 35 volt fertőzött. Ezek az állatok a Dunától keletre és nyugatra, többségük az ország észak-keleti, illetve dél-keleti térségében, Pest megyében, valamint a dunántúli térségben él. Tizennégy megyében találtunk bőrférges kutyát, ami alapján nem jelenthető ki, hogy a parasitosis az egész országban előfordul. Természetesen a mostaninál nagyobb számú kutya vizsgálata pontosabb képet adna e fonálféregfaj itthoni előfordulásáról.

Hét kutyában mindkét fonálféregfaj egyidejűleg fordult elő. Ezek az állatok az ország 6 megyéjében (Bács-Kiskun, Békés, Csongrád, Heves, Komárom-Esztergom, Tolna) élnek. Ezek közül 5-ben találtunk olyan állatot is, amelyik a két faj közül az egyikkel volt fertőzött. Valószínű, hogy több olyan térség lehet az országban, ahol több kutya lehet egyidejűleg fertőzött mindkét fonálféregfajjal. Ezt azért feltételezzük, mert a rendelői vizsgálatok során a vastagcseppben talált mikrofiláriák morfológiai vizsgálatát ennek nehézsége (Majoros és Juhász, 2015b) és időhiány miatt az állatorvosok nem végzik el. Másfelől a *D. repens* okozta fertőzöttség szerológiai vizsgálatára alkalmas kiték a mai napig nem állnak rendelkezésre.

Vizsgálataink eredményei egyfelől hozzájárulnak a két *Dirofilaria*-faj hazai előfordulásának jobb megismeréséhez, részben megerősítve a korábban szerzett adatokat, másfelől eddig nem ismert helyeken is kimutattuk jelenlétüket. E fonálféregfajok okozta fertőzöttség hosszú ideig tünetmentes lehet, ezért igen fontos a parasitosis mielőbbi felderítése és gyógykezelése, mert a szívférgesség előbb-vagy utóbb súlyos következményekkel, sőt az állat hirtelen elhullásával is járhat. Azt sem szabad elfelejteni, hogy a hónapokig-évekig tartó lappangási időszakban a vektor szúnyogok révén a paraziták továbbterjednek a környékbeli kutyákra, miközben mindkét fonálféregfaj közegészségügyi kockázatot jelent az ott élő emberek számára (Schaffner és mtsai, 2013).

6. Összefoglalás

A *Dirofilaria immitis* és *Dirofilaria repens* okozta parazitozoonózisok világszerte széles körben elterjedt parasitosisok, amelyek leggyakrabban kutyákban fordulnak elő. Az igazi szúnyogokkal, mint biológiai vektorokkal terjedő fonálféreg ritkábban más állatfajokat, így pl. macskákat, vadon élő ragadozókat, és az embert is fertőzhetik. A bőrférgességet okozó *D. repens* évtizedek óta jelen van, azonban a szívférgesség okozójaként ismert *D. immitis* autochthon hazai előfordulásáról csak 2009 óta jelentek meg közlemények. Azóta az ország több térségében is találtak fertőzött állatokat, de pontosan nem tudjuk, hogy a kutyák egyik, vagy mindkét faj okozta fertőzöttsége országosan előfordul-e. A tanulmány célja újabb adatok gyűjtése volt a két faj hazai elterjedtségéről taláalomra kiválasztott, ilyen célból nem vizsgált, 1 év feletti kutyákból gyűjtött vérminták parazitológiai, szerológiai és molekuláris biológiai módszerekkel végzett vizsgálatával.

Az elmúlt fél évben Budapest kivételével az ország 19 megyéjének 165 településén tartott 305 kutyából (megyénként 6-68 állatból) egy alkalommal vérminták és a kutatáshoz szükséges adatok gyűjtése történt. Először módosított Knott teszttel a mikrofiláriák jelenlétét vizsgáltuk, amelyeket 52 mintában (17,05%) találtuk meg. Valamennyi mintában **DiroCHEK[®]** test kittel (Zoetis) a *D. immitis* antigénjének az előfordulását ellenőriztük. A szeropozitív mintákban (47) kétféle PCR módszerrel mindkét faj DNS-ének a jelenlétét kerestük. A 22 Knott pozitív és szeronegatív mintákból 8-nál szintén PCR vizsgálatokat végeztünk.

A 305 kutya közül 27-nél (8,85%) fordult elő *D. immitis*, 35-nél (11,48%) *D. repens* fertőzöttség. Hét (2,29%) olyan eb volt, amely egyidejűleg mindkét fonálféregfajjal fertőzött volt. A szívféreggel fertőzött kutyák 10 megye 24, a bőrférgesek 14 megye 27 településen éltek. Kettős fertőzöttséget 6 megye 7 helységében tartott egy-egy állatban diagnosztizáltunk.

7. Summary

Dirofilaria immitis and *Dirofilaria repens* are widely distributed zoonotic parasites worldwide, occurring most oftenly in dogs. These nematode species which are transmitted by mosquitoes as biological vectors can also rarely infect other species like cats, wild carnivores, even humans. The occurrence of *D. repens* causing cutan dirofilariosis has been present in Hungary for decades. However, the autochthonous infection caused by heartworm, *D. immitis* has only been reported in Hungary since 2009. Since that time dogs infected with *D. immitis* have been found in several parts of the country, but we have not known yet whether the dogs infected with one or both parasite species occur countrywide or not. The goal of the study was to get new data about the geographical occurrence of these nematode species with parasitological, serological and molecular biological examinations of blood samples collected from randomly selected, older than one year dogs.

In the past six months blood samples with data were collected from 305 dogs in 165 locations of 19 counties (6 - 68 samples/county), except for Budapest. First, microfilariae were examined with the modified Knott's technique which were found in 52 samples (17,05%). DiroCHEK[®] test kit (Zoetis) was used for detecting *D. immitis* antigen in all samples. All the seropositive (47) and 8 (out of 22) Knott positive but seronegative samples were further studied with two PCR methods.

Dirofilaria immitis occurred in 27 (8,85%) and *Dirofilaria repens* in 35 (11,48%) samples. Seven animals (2,29%) were found to be infected with both nematode species. The dogs infected with heartworms and *D. repens* lived 24 and 27 locations of 10 and 14 counties, respectively. Dogs with doubled parasitic infections occurred in 7 locations of 6 counties.

8. Irodalomjegyzék

ACZÉL, K., DEÁK, GY., FARKAS, R., MAJOROS, G., 2005: Subconjunctivalis fonálféreg fertőzés Magyarországon, LAM Tudomány, 465-467.

ANTALOVÁ, D., MITERPÁKOVÁ, M., PARALICOVÁ, Z., 2015: Case of human *Dirofilaria repens* infection manifested by cutaneous larva migrans syndrome: Springer-Verlag Berlin Heidelberg; Parasitology Research, 114(8): 2969-2973.

AROCH, I., ROJAS, A., SLON, P., LAVY, E., SEGEV, G., BANETH, G. (2015): Serological cross reactivity of three commercial in-house immunoassays for detection of *Dirofilaria immitis* antigens with *Spirocerca lupi* in dogs with benign esophageal spirocercosis. Vet. Parasitol. 211: 303-305.

BACSADI, Á, PAPP, A., SZEREDI, L., TÓTH, G., NEMES, C., IMRE, V., TOLNAI, Z., SZÉLL, Z., SRÉTER, T., 2016: Spreading and emergence of *Dirofilaria immitis* in the changing European environment: an example from Hungary; Central and Regional Laboratories, Veterinary Diagnostic Directorate, National Food Chain; Vetpar-D-15-10011

BAILEY, T. S., SOHRABI, A., ROBERTS A. S., 1990: Pulmonary coin lesions caused by *Dirofilaria immitis*; Journal of Surgical Oncology 44:268-272.

BENZAQUEN, M., BRAJON, D., DELORD, M., YIN, N., BITTAR, F., TOGA, I., BERBIS, P., PAROLA, P., 2015: Cutaneous and pulmonary dirofilariasis due to *Dirofilaria repens*, British Journal of Dermatology 173:788–791.

BOROS, G., JANISCH, M., SEBESTYÉN, GY., 1982.: *Dirofilaria immitis* kutyában; Magyar Állatorvosok Lapja, 37:313-316.

CIOCAN, R., JACSÓ, O., TÁNCZOS, B., FOK, É., 2012.: Prevalence of *Dirofilaria* in dogs from Timis country (western part) Romania; Third European Dirofilaria Days, 20-22 June, Parma, Abstracts, p. 62

DOBESOVA, R., SVOBODOVA, V., 2009.: 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

DUSCHER, G.; FEILER, A., WILLE-PIAZZAI, W., BAKONYI, T., LESCHNIK, M., MITERPÁKOVÁ, M., KOLODZIEJEK, J., NOWOTNY, N., JOACHIM, A., 2009.: Detection of *Dirofilaria* in Austrian dogs, Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr., 122:199-203.,

FARKAS, R., VÖRÖS, K., 2015: A kutyák szívférgessége. Kamarai Állatorvos, 3: 20-31.

FOK, É., SZABÓ, Z., FARKAS, R., 1998.: *Dirofilaria repens* fertőzöttség első hazai diagnosztizálása kutyában sebészeti beavatkozás során.; Kisállatorvoslás, 4: 218-219.

FOK É., KISS G., MAJOROS G., JACSÓ O., FARKAS R., GYURKOVSZKY M., 2007: Preliminary results of an epidemiological survey on dirofilariosis of dogs and cats in Hungary. Mapped Parasitologica 8:195-196. (Ed. Giuseppe Cringoli), Rolando Editore, Naples.

GENCHI, C., RINALDI, L., CASCONI, C., MORTARINO, M., CRINGOLI, G., 2005.: Is heartworm disease really spreading in Europe?; Veterinary Parasitology 133(2-3):137-148.

GENCHI, C., VENCO, L., GENCHI, M., 2007.: Guideline for the laboratory diagnosis of canine and feline *Dirofilaria* infections; Mapped Parasitologica 8:137-144.

GENCHI, C., RINALDI, L., MORTARINO, M., GENCHI, M., CRINGOLI, G., 2009: Climate and *Dirofilaria* Infection in Europe; Vet. Parasitol., 163: 286-292.

GENCHI, C., KRAMER, L. H., RIVASI, F., 2011.: Dirofilarial Infections in Europe; Vector-Borne and Zoonotic Diseases., 11(10):1307-1317.

GIOIA, G., LECOVÁ, L., GENCHI, M., FERRI, E., GENCHI, C., MORTARINO, M., 2010: Highly sensitive multiplex PCR for simultaneous detection and discrimination of *Dirofilaria immitis* and *Dirofilaria repens* in canine peripheral blood. Veterinary Parasitology 172: 160–163.

HARO, A., TAMIYA, S., NAGASHIMA, A., 2016: A rare case of human pulmonary dirofilariosis with a growing pulmonary nodule after migrating infiltration shadows mimicking primary lung carcinoma; International Journal of Surgery Case Reports 22: 8-11.

HERMOSILLA, C., PANTCHEV, N., DYACHENKO, V., GUTMANN, M., BAUER, C., 2006.: First autochthonous case of canine ocular *Dirofilaria repens* infection in Germany. Veterinary Record 158(4):134-135.

HORVÁTH, ZS., 2010: Vizsgálatok a *Dirofilaria repens* elterjedtségéről Borsod-Abaúj-Zemplén megyében élő kutyákban. Diplomamunka. Állatorvostudományi Egyetem.

JACSÓ, O., FOK, É., 2006.: A kutyák és macskák *Dirofilaria repens* fertőzöttségének kimutatása laboratóriumi módszerekkel.; Magyar Állatorvosok Lapja, 128: 683-690.

JACSÓ, O., MÁNDOKI, M., MAJOROS, G., PÉTSCH, M., MORTARINO, M., GENCHI, C., FOK, É., 2009.: First autochthonous *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856) infection in a dog in Hungary. Helminthologia, 46:159-161.

JACSÓ, O., 2014: A *Dirofilaria*-fajok hazai elterjedtsége és állatgyógyászati jelentősége, a gyógykezelés tapasztalatai. PhD értekezés. Állatorvostudományi Egyetem.

KARTASHEV, V., 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., 2011.: Canine and human dirofilariosis in the rostov region (southern Russia). Veterinary Medicine International 2;685-713.

KASSAI, T., 2011.: Helminológia. Állatorvosi Kamara, Budapest, pp 186-195

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

KUCSERA, I., DANKA, J., OROSZ, E., 2014: Human dirofilariosis in Hungary (in Hungarian) Epiinfo 24:273-277.

LATROFA, M. S., DANTAS-TORRES, F., ANNOSCIA, G., GENCHI, M., TRAVERSA, D., OTRANTO, D., 2012: 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. 185:181-185.

- LEE, A. C., BOWMAN, D. D., LUCIO-FORSTER, A., BEALL, M. J., LI OTTA, J. L., DILLON, R., 2011: Evaluation of a new in-clinic method for the detection of canine heartworm antigen. Short communication. *Vet. Parasitol.* 177:387-391.
- LIU, J., SONG, K.H., LEE, S.E., LEE, J.Y., LEE, J.I., HAYASAKI, M., YOU, M.J., KIM, D.H., 2005: Serological and molecular survey of *Dirofilaria immitis* infection in stray cats in Gyunggy province, South Korea. *Veterinary Parasitology* 130:125-129.
- MAJOROS, G., JUHÁSZ, A., 2015a: A *Dirofilaria immitis* és a *Dirofilaria* mikrofiláriák fénymikroszkópos vizsgálata 1. rész: A mikrofiláriák felismerése a különféle mintákban. *Magy. Állatorv. Lapja* 137:173–180.
- MAJOROS, G., JUHÁSZ, A., 2015b: A *Dirofilaria immitis* és a *Dirofilaria* mikrofiláriák fénymikroszkópos vizsgálata 2. rész: A *Dirofilaria*-fajok azonosítása a mikrofiláriák segítségével. *Magy. Állatorv. Lapja* 137:227–238.
- MANFREDI, M.T., CERBO, A. DI, GENCHI, M., 2007.: Biology of filarial worms parasitizing dogs and cats. *Mappe Parasitologiche* 8:39-45. (Ed. Giuseppe Cringoli), Rolando Editore, Naples..
- MASNY, A., LEWIN, T., SALAMATIN, R., GOLAB, E., 2011: Autochthonous canine *Dirofilaria repens* in the vicinity of Warsaw, *Pol. J. Vet. Sci.*, 14(4): 659-661.
- MCCALL, J. V., GENCHI, C., KRAMER, L. H., GUERRERO, J., VENCO, L., 2008: Heartworm disease in animals and humans. *Adv. Parasitol.* 66:193-285.
- MORCHÓN, R., CARRETÓN, E., GONZÁLEZ-MIGUEL, J., MELLADO-HERNÁNDEZ, I., 2012: Heartworm disease (*Dirofilaria immitis*) and their vectors in Europe – new distribution trends; *Frontiers in Physiology*, 3:196.
- NELSON, C. T., MCCAL, J., CARITHERS, D. (EDS.), 2014: Current canine guidelines for the prevention, diagnosis, and management of heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection in dogs (revised July 2014); <http://www.heartwormsociety.org>
- OVERGAAUW, P., VAN DIJK, E., 2009: Autochthonous case of *Dirofilaria repens* in a dog in the Netherlands; *Veterinary Record*, 164(5):158.

PAMPIGLIONE, S., CANESTRI TROTTI, G., RIVASI, F., 2000: Human dirofilariosis due to *Dirofilaria repens*: update of world literature from 1995 to 2000. *Parassitologia* 42: 231-254.

PANTCHEV, N., NORDEN, N., LORENTZEN, L., ROSSI, M., ROSSI, U., BRAND, B., DYACHENKO, V., 2009: Current Surveys on the Prevalence and Distribution of *Dirofilaria* spp. in Dogs in Germany; *Parasitol Res* (2009) 105:S63–S74.

PÉCZELY, Z., 2011: Vizsgálatok a *Dirofilaria repens* elterjedtségéről a Komárom-Esztergom megyei kutyákban és a köztigazda csípőszúnyogokban. TDK dolgozat. Állatorvostudományi Egyetem.

PILAT, M., KOBAS, M., BECK, R., MIHALIEVIC, Z, MARINCULIC, A., 2012: Study on the prevalence of *Dirofilaria repens* in native dogs from a previously unknown foci in Slavonia, Croatia. In: Grandi, G., Kramer, L., Genchi, C. (Eds.); *Proceedings of Third European Dirofilaria Days*, p. 54

ROJAS, A., ROJAS, D., MONTENEGRO, V. M., BANETH, G., 2015: Detection of *Dirofilaria immitis* and other arthropod-borne filarioidosis by an HRM real-time qPCR, blood concentrating techniques and a serological assay in dogs from Costa Rica; *Parasit. Vectors*, 8:170

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

SCHAFFNER, F., MEDLOCK, J. M., VAN BORTEL, W., 2013: Public health significance of invasive mosquitoes in Europe; *Clinical Microbiology and Infection*, 19(8): 685-692.

SCHNYDER, M., DEPLAZES, P., 2012: Cross-reactions of sera from dogs infected with *Angiostrongylus vasorum* in commercially available *Dirofilaria immitis* test kits. *Parasit. Vectors*, 5, 258.

SIMÓN, F., LÓPEZ-BELMONTE, J., MARCOS-ATXUTEGI, C., MORCHÓN, R., MARTÍN-PACHO, J. R., 2005: What is happening outside North America regarding human dirofilariasis? *Vet. Parasitol.* 133:181-189.

SIMÓN, F., SILES-LUCAS, M., MORCHÓN, R., GONZÁLEZ-MIGUEL, J., MELLADO, I., CARRETÓN, E., MONTOYA-ALONSO, J. A., 2012.: Human and animal dirofilariasis: the emergence of a zoonotic mosaic. *Clin Microbiol Review* 25(3):507-544.

SZÉLL, Z., SRÉTER, T., CSIKÓS, K., KÁTAI, Z., DOBOS-KOVÁCS, M., VETÉSI, F., VARGA, I., 1999.: Autochton *Dirofilaria repens* fertőzöttség kutyákban. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 121:100-104.

TASIĆ, A., ROSSI, L., TASIĆ, S., MILADINOVIĆ-TASIĆ, N., ILIĆ, T., DIMITRIJEVIĆ, S., 2008.: Survey of canine dirofilariasis in Vojvodina, Serbia. *Parasitology Research* 103(6):1297-302.

TOLNAI, Z., SZÉLL, Z., SPROCH, Á., SZEREDI, L., SRÉTER, T., 2014: *Dirofilaria immitis*: An emerging parasite in dogs, red foxes and golden jackals in Hungary. *Veterinary Parasitology* 203(3–4):339-342.

TOPARLAK, M., GARGILI, A., ULUTAS ESATGIL M., CETINKAYA H., 2005.: Canine filariosis around Istanbul, Turkey employing Naphtol AS-TR Phosphatase. *Acta Veterinaria (Brno)* 74:233-236.

VENCO, L., 2007.: Heartworm (*Dirofilaria immitis*) disease in dogs. *Mappe Parassitologiche* 8:195-196. Rolando Editore, Naples

VÖRÖS, K., KISS, G., BASKA, F., BAGDI, N., SZÉLL, Z., 2000.: Szívférgesség kutyában. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 122:707-716.

WEBBER, W. A., HAWKING, F., 1955.: Experimental maintenance of *Dirofilaria repens* and *D. immitis* in dogs. *Experimental Parasitology* 4:143-164.

9. Köszönetnyilvánítás

Elsősorban szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Dr. Farkas Róbertnek a vizsgálatok kivitelezéséhez és a dolgozat megírásához nyújtott segítségével. Köszönettel tartozom továbbá Gyurkovszky Mónikának, aki a TDK dolgozatom gyakorlati részében volt nagy segítségemre, valamint Takács Nórának, aki a molekuláris biológiai vizsgálatokban nyújtott segítséget. Továbbá köszönöm a Parazitológiai és Állattani Tanszék minden munkatársának, amiért bármikor rendelkezésemre álltak, ha segísége volt szükségem.

Hálás köszönettel tartozom minden állatorvosnak és hallgatónak, akik a mintagyűjtésben segítségünkre voltak, nélkülük nem sikerült volna ilyen nagyszámú mintát összegyűjteni.

Végezetül köszönetet szeretnék mondani a családomnak, barátomnak és barátaimnak, hogy ez alatt az időszak alatt is támogattak és türelmesek voltak velem.

ELHELYEZÉSI MEGÁLLAPODÁS ÉS SZERZŐI JOGI NYILATKOZAT*

Név: Mag Viktória
 Elérhetőség (e-mail cím): Viktoria.mag@gmail.com
 A feltöltendő mű címe: A Divoflavinia - fajok hazai elterjedtségével
vizsgálata Zutyághon
 A mű megjelenési adatai: 2018
 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 másolásvédett PDF formára konvertálja és szolgáltatassa a fenti dokumentumot (beleértve annak kivonatát is).

Beleegyezik, 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 anyag rész 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, 2018 év11.....hó ...15...nap

Mag. Udvaros
aláírás
szerző/a szerzői jog tulajdonosa

A HuVetAMagyar Állatorvos-tudományi Archívum – Hungarian Veterinary Archive az Állatorvostudományi Egyetem Hutýra 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, szolgáltassa, 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.*

4. melléklet *konzultáció ellenjegyző*

Alulírott *Dr. FANLAKAS RÓBERT* Igazolom, hogy

..... *MAG VIKTÓRIA* (a hallgató neve)

*A DIROFILARIA - FAJOK HAZAI ELTERJEDTSÉGÉNEK VIZSGÁLATA
KUTYÁKBAN*

című diplomamunkát ismerem, azt beadásra és védésre alkalmasnak tartom.

Budapest, 2018. *11. 15.*

Felka Róbert

.....
a témavezető neve és aláírása

PARAZITOLÓGIAI ÉS ÁLLATTANI

TANSZÉK

.....
tanszék

5. melléklet

Nyilatkozat TDK- és diplomamunka azonnosságáról

NYILATKOZAT

AlulírottMAG VIKTÓRIA..... nyilatkozom, hogy diplomamunkám,
melynek címe A DIROFILARIA-FAJOK HAZAI ELTERJEDTSÉGÉNEK
VIZSGÁLATA KUTYÁKBAN
..... tartalmi és formai szempontból teljes mértékben megegyezik azonos című, a 2017
évi TDK konferencián szerepelt dolgozatommal.

Budapest, 2018. 11. 15......

.....Mag Viktória.....

a hallgató neve és aláírása