

Szent István Egyetem, Állatorvos-tudományi Kar

Parazitológiai és Állattani Tanszék

A *Dirofilaria*-fajok morfológiai összehasonlítása irodalmi adatok alapján, valamint szövettani metszetekben való megjelenésük vizsgálata egy érdekes eset kapcsán

Készítette: Antós-Nizsalóczki Magda

Témavezető: dr. Fok Éva

tudományos főmunkatárs

Budapest

2014

Tartalomjegyzék	
Bevezetés.....	3
Irodalmi áttekintés.....	4
<i>Dirofilaria repens</i>	4
Előfordulás, fejlődésmenet.....	4
Tünetek	5
Kórjelzés, kezelés.....	6
<i>Dirofilaria immitis</i>	6
Előfordulás, fejlődésmenet.....	6
Kutyában okozott elváltozások, kórjelzés, kezelés.....	9
Macskában okozott elváltozások, kórjelzés, kezelés	10
Közegészségügyi jelentőség - Zoonózis.....	13
Fénymikroszkóppal vizsgálható tulajdonságok.....	15
Kifejlett férgek.....	15
Mikrofilária, embrió (L1).....	20
Második stádiumú lárva (L2).....	22
Harmadik stádiumú lárva (L3).....	22
Negyedik stádiumú lárva (L4)	22
Ötödik stádiumú lárva (L5).....	23
Elektronmikroszkópos eredmények	25
Scanning elektronmikroszkóp.....	25
Transzmissziós elektronmikroszkóp	26
Saját vizsgálatok.....	28
Anyag és módszer.....	28
Eredmények és értékelés	30
Összefoglalás.....	42
Summary	43
Mellékletek.....	44
Irodalomjegyzék.....	49

Bevezetés

Az utóbbi 15 évben Európa több országában a szúnyogok által terjesztett *Dirofilaria*-fajok jelentősége megnőtt. Többek között azért is, mert a vektorok a klímaváltozás miatt is új területeket hódítanak.

A kutyák (*Canis familiaris*) bőrférgességét okozó *Dirofilaria* (syn. *Nochtiella*) *repens* /Raillet, Henry, 1911/ terjedését többek között a csípőszúnyog populációk növekvő mennyisége, a végleges gazda háziállatok országok közötti szállítása és a vadon élő rezervoár ragadozók számának növekedése is elősegíti /GENCHI és mtsai, 2009/. Ez a fereg faj eredetileg Európa mediterrán területein, Afrikában és Ázsiában fordult elő, majd az utóbbi évtizedekben jelentős mértékben terjedt az északi területek felé is. Az első hazai autochton eseteket az ezredforduló környékén írták le /FOK és mtsai, 1998; SZÉLL és mtsai, 1999/. Ezt követően az országban felmérések során is bizonyították a jelenlétét egyes területeken kutyákban és macskákban /SZÉLL és mtsai, 1999; FOK és mtsai, 2007/. A legutóbbi években, nagyszámú kutyán módosított Knott- féle módszerrel végzett vérvizsgálat adatai szerint átlagosan 18,1%-os (0-46,7%) a *D. repens* előfordulása hazánkban /JACSÓ, 2014 PhD disszertáció/. A másik, nagyobb állategészségügyi jelentőséggel bíró *Dirofilaria immitis* első autochton kutya /JACSÓ és mtsai, 2009/, illetve kedvtelésből tartott görény eset /MOLNÁR és mtsai, 2010/ óta ez a faj is egyre gyakrabban bukkan fel kórboncolás során, akár mellékleletként vagy a szívelégtelenség klinikai tüneteit mutató kutyákban. Továbbá kettős fertőzöttséggel is lehet találkozni, azaz a vérvizsgálat során diagnosztizálják a *D. repens* mikrofiláriákat, és emellett a *D. immitisszel* kapcsolatos gyors teszt is pozitív eredményű lesz.

Közegészségügyi jelentősége is nagy, hiszen a szúnyogokkal való terjedés miatt zoonózis. Hazánkban az elmúlt években egyre több humán esetet írtak le, legutóbb egy Budapesthez közeli szigetszentmiklósi tüdőgondozóban előforduló *D. repens*szel kapcsolatos esetről született közlemény /HERKE és mtsai, 2013/.

Dolgozatomban szeretnék rámutatni a két állalam vizsgált és hazai jelentőséggel bíró fereg faj morfológiai és morfometriai különbségeire, melyek segíthetnek a megfelelő diagnózis felállításában.

Irodalmi áttekintés

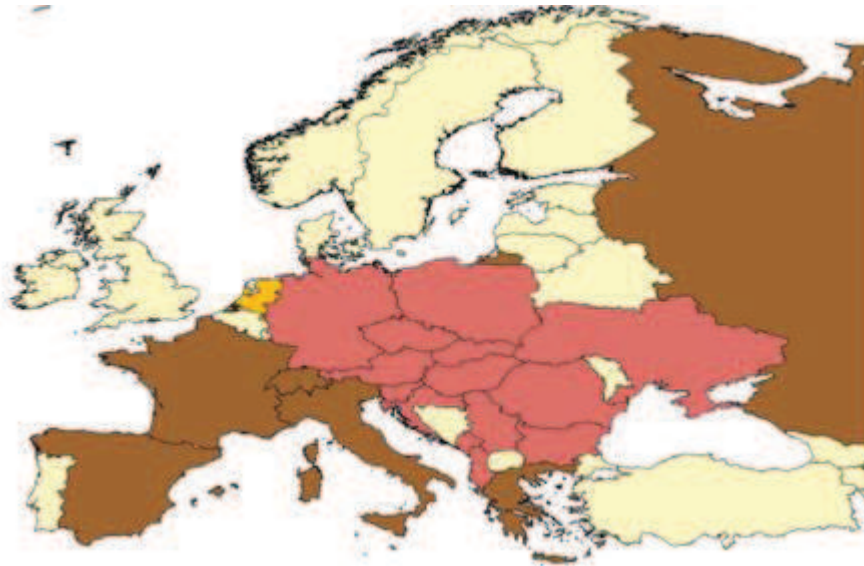
A hazánkban előforduló *Dirofilaria*-fajok a Nematoda törzsbe, azon belül a Secernentea osztályba, Spirurida rendbe tartoznak, a Filarioidea főcsalád Onchocercidae családján belül a *Dirofilaria* nem tagjai. Legfontosabb jelentőséggel a *Dirofilaria immitis* és *Dirofilaria repens* fajok bírnak, előbbi a *Dirofilaria* alnembe, utóbbi a *Nochtiella* alnembe tartozik /KASSAI, 2011/.

Dirofilaria repens

A bőr-dirofilariosist okozó parazitát először Railliet és Henry írta le 1911-ben.

Előfordulás, fejlődésmenet

Elterjedését tekintve endémiás területnek számított Afrika, Dél-Ázsia egyes területei és Dél-Európa egyes országai (Olaszország, Franciaország, Görögország) /KASSAI, 2011/. Ma már szinte egész Európában jelen van a féreg, jóval nagyobb elterjedtségben, mint a *D. immitis*. A következő térkép a legfrissebb elterjedtségi adatok alapján készült (**1. ábra**).

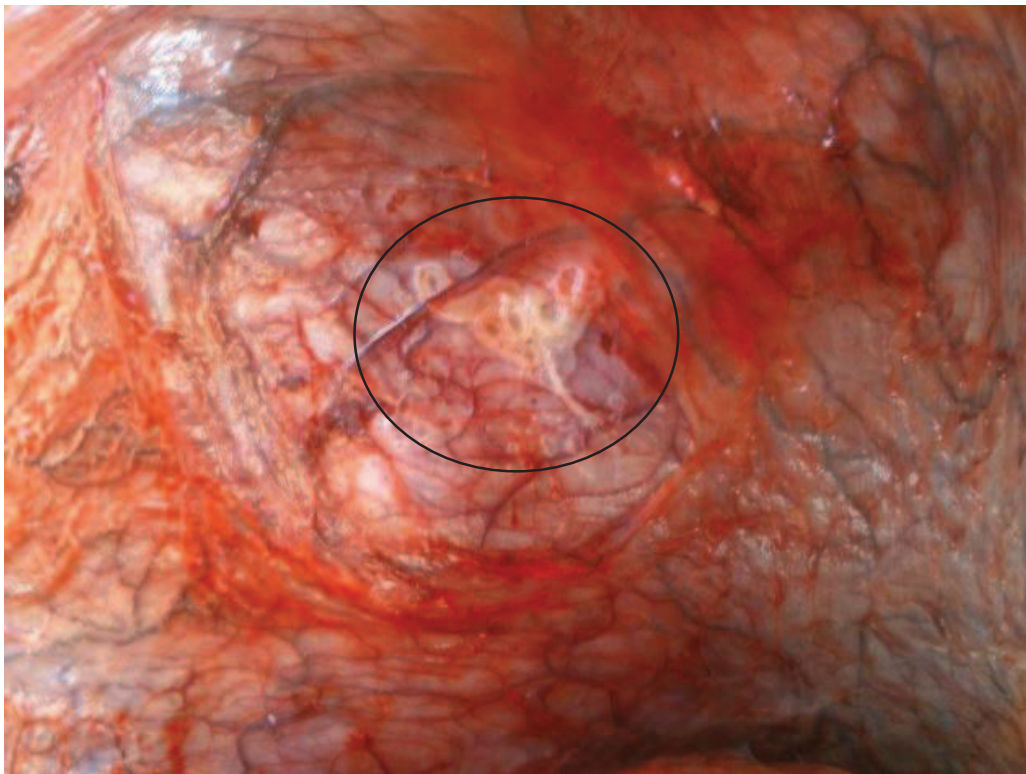


1. ábra A *D. repens* elterjedtsége Európában (barna: 2001-ig endémiás terület, rózsaszín: 2012-ig endémiásnak nyilvánított terület, narancssárga: elszórt esetek, világos: nincs adat) /forrás: OTRANTO és mtsai, 2013/

A kifejlett férgek leggyakrabban összecsavarodott állapotban, lassan növekvő, nem fájdalmas, tömött tapintatú csomókban található kutyák, macskák, vadon élő ragadozók és esetenként az ember bőr alatti kötőszövetében. (**1. kép**)

Fejlődésmenete hasonlít a *D. immitis*-ére, vagyis a kifejlett férgek a véráramba ürítik a mikrofiláriákat (férgenként akár 4500-6000 /WEBBER-HAWKING, 1955/), melyeket a szúnyogok (*Culex*- és *Aedes*-fajok) vérszívás során vesznek fel. Bennük kifejlődik a fertőző L3, majd a következő vérszívás során beoltják a következő gazdába, ahol a beoltás helyén, a bőr alatti kötőszövetben fejlődik tovább.

Prepatens periódusa 26-34 hét között változik /WEBBER-HAWKING, 1955/.



1. kép *D. repens* féreg kutya bőr alatti kötőszövetében (Készítette: dr. Mándoki Míra, Patológiai Tanszék, 2014)

Tünetek

Kutyában a férgek növekedésének helyén a bőr sokszor nem mutat elváltozást, de változatos klinikai tünetekkel kapcsolatban is leírásra került (többek között erythrema, papula, egy helyen vagy multifokálisan alopecia, váladékozás, nodulusok, ekcéma, hematóma, akné, pododermatitis, pyoderma intertrigo, lichenifikáció és viszketegség) /TARELLO, 2002/. Macskában legtöbbször nem okoz klinikai tünetet /BOWMAN és mtsai, 2002/.

A férgek elhelyezkedését tekintve kísérletesen beoltott kutyáknál a legtöbb férget a törzsön találták, főleg a lágyéktájékon, de a combon és a nyak területén is nagy számban fordult elő. Néhány a lábakon és a fejen is volt, de a farki részen és a lábvégeken nem találtak /WEBBER-HAWKING, 1955/.

Kórjelzés, kezelés

A fertőzöttség igazolása szintén mikrofilária kinyeréssel és meghatározással történhet (de meg kell különböztetni a rokon filarioida fajoktól), illetve sebészi kimetszés után szövettani mintából vizsgálható a féreg.

*D. repens*re nincs kereskedelmi forgalomban kapható szerológiai kit. Megfelelő anyagi háttér esetén PCR vizsgálattal is igazolható a fertőzés, de ezt hazánkban egyelőre nem alkalmazzák /JACSÓ-FOK, 2006/.

Gyógykezelése kutyákban történhet melarzominnal a kifejlett férgek ellen, és moxidektin/imidakloprid kombinációval a mikrofiláriák ellen /PINGEN és mtsai, 2009/. Macskákra nincs javasolt gyógymód, megelőzőképpen havonta ivermectin alkalmazása hasznos lehet /BOWMAN és mtsai, 2002/.

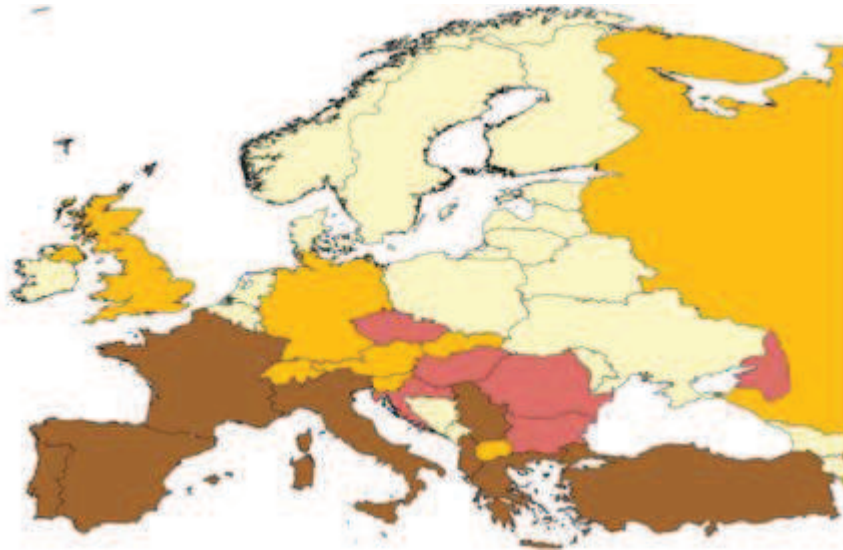
Dirofilaria immitis

A *D. immitis* (közismertebb nevén a szívféreg) első leírása Joseph Leidy nevéhez fűződik, aki 1850-ben a *Filaria canis cordis*nak nevezte el. Ezt 1856-ban *Filaria immitis*re változtatta, majd 1911-ben a *Dirofilaria* genus alá sorolták be /LOK, 1988/.

Előfordulás, fejlődésmenet

Eredetileg a szubtrópusi és trópusi területeken volt jelen, valamint Európában az Alpoktól délre eső néhány vidék (pl. Észak-Olaszország) számított endémiásnak /KASSAI, 2011/, ám mára jelentősen megnőtt az elterjedtség északi irányban az éghajlatváltozás miatt. Ma már világszerte jelen van, Amerika teljes területe, Ausztrália, Ázsiából Dél-Korea, Tajvan és Japán területe endémiás, valamint Afrika egyes területei is érintettek. Európában Spanyolország, Portugália, Olaszország és Franciaország a leginkább érintett, de jelentettek már Görögországból és Törökországból is eseteket. Az Ausztriában, Németországban és Hollandiában talált esetek a Mediterráneummal való érintkezés után (származás vagy utazás révén) kerültek diagnosztizálásra, egy svájci esetet kivéve.

Szlovénia, Bulgária, Románia és Horvátország területén is történtek felmérések, ám ezeken a helyeken jóval alacsonyabb számú esetet figyeltek meg /GENCHI és mtsai, 2007/. Az elterjedtségről gyűjtött legfrissebb adatokat a következő térképen láthatjuk (**2. ábra**).

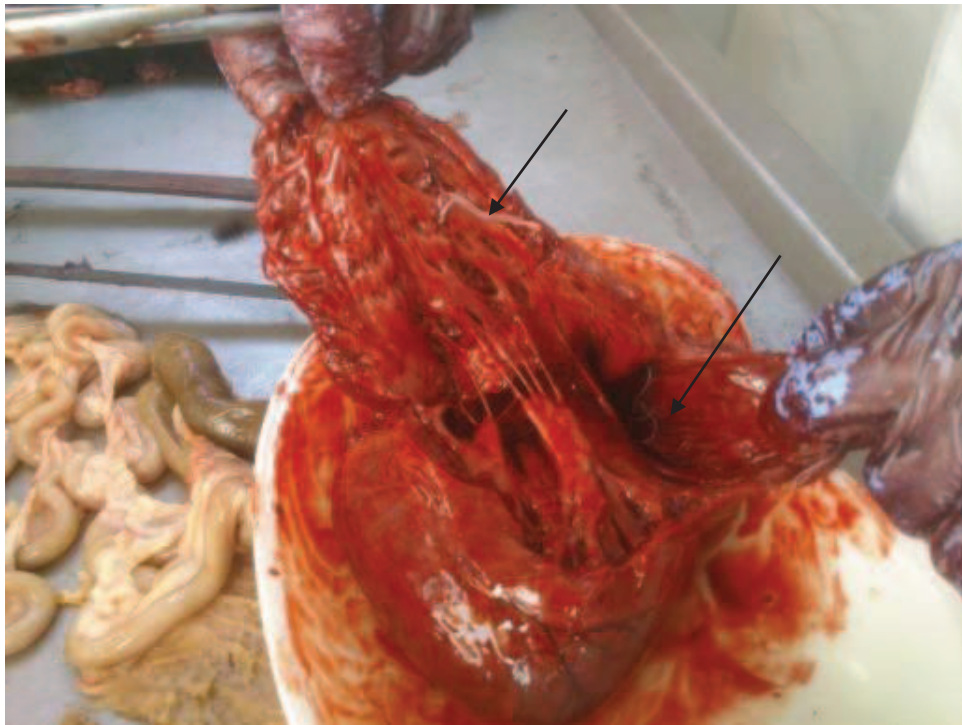


2. ábra: A *D. immitis* Európán belüli elterjedtsége (barna: 2001-ig endémiás terület, rózsaszín: 2012-ig endémiásnak nyilvánított terület, narancssárga: elszórt esetek, világos: nincs adat)/forrás: OTRANTO és mtsai, 2013/

A kifejlett férgek a pulmonaris artériában (arteria pulmonaris), a jobb szívfélben (**2. kép**) és a hátsó üres vénában (vena cava caudalis) élősöködnék. Végleges gazdája a kutya, de leírták már más állatokban is (rókában, farkasban, prérifarkasban, macskában, vadon élő ragadozóknak, menyétfélékben és oroszlánfókában) /KASSAI, 2011/.

Fejlődéséhez köztigazdát igényel, amelyek szúnyogfélék (*Anopheles*-, *Aedes*-, *Culex*-, *Mansonia*-fajok) lehetnek, ezek vérszívás során veszik fel a nőtények által ürített mikrofiláriákat (embrió). Bennük alakul ki a fertőző forma, a harmadik stádiumú lárva (L3), mely egy újabb vérszívás során kerül beoltásra az új gazdába /KASSAI, 2011/.

Az L3-L4 átalakulás a gazda kötőszöveteiben-izomszöveteiben történik, a beoltást követő 3. naptól, legkésőbb a 9-12. napig. A negyedik stádiumú lárva az 50-70. nap között vedlik újra ezután a vénás keringésbe kerülve a tüdőbe jut. Először a kisebb artériákban telepszik meg, majd ahogy növekszik és kb. 120 napos korban eléri az ivarérett állapotot, az állat fajától, méretétől és a benne található férgek számától függően különböző helyeken található meg /NELSON,2014/.



2. kép *D. immitis* férgek kutya jobb szívfelében (készítette: dr. Mándoki Míra, Patológiai Tanszék, 2014)

Egy kis-közepes testű kutyában kevés féreg (<5) esetén a lobaris és a fő pulmonáris artériákban találhatóak meg a paraziták; ahogy nő a féregszám az elhelyezkedés egyre inkább a jobb kamra felé irányul. 40 fölötti féregszámnál már valószínűsíthetően bekövetkezik a *vena cava tünetegyüttes* (szindróma), melyben a jobb kamrában, a jobb pitvarban és a vena cava caudalisban is megjelennek a férgek, ott a szívbillentyűk működését, illetve a normális véráramlást akadályozzák. Hemolízist, vese- és májelégtelenséget, végső soron pedig szívelégtelenséget okoznak /NELSON, 2014/.

Ritkábban találhatunk férgeket a lárvakori szöveti vándorlás miatt ektópiás helyeken is. Leírtak már kifejlett példányt a hasüregben (a köldökzsinór maradványának megfelelő területen a zsírszövetben) /SIM És mtsai, 2013/ és az agyban is /KOTANI és mtsai., 1975, HAMIR, 1987/. De fejlődő alakokról is olvashatunk, melyeket az elülső szemcsarnokban, /DANTAS-TORRES és mtsai, 2009/, a méhfalban /PARK és mtsai, 2013/, vagy a hasüregben /OH és mtsai, 2008/ találtak meg.

Az első mikrofiláriák leghamarabb 6 hónappal a fertőződés után jelennek meg a vérben /NELSON, 2014/, de az átlag prepatens időszak kísérleti körülmények között 8 hónap (33-39 hét) /WEBBER - HAWKING, 1955/. A kifejlett példányok kutyákban akár 7 évig is élhetnek a gazdában /KASSAI, 2011/.

Kutyában okozott elváltozások, kórjelzés, kezelés

Nagyszámú féreggel való fertőződés során kialakulhat a heveny kórforma, mely során a férgek a tüdőartériákból a jobb szívfélbe és a vena cava caudalisba kerülnek, ott elzáródást okozva kialakul a *vena cava tünetegyütes*, melynek fő tünetei a hirtelen gyengeség, anorexia, dyspnoe, tachycardia, DIC, hemoglobinuria, bilirubinaemia, icterus, sokk, majd 2-3 nap múlva elhullás. Idült kórforma esetén a tüdőartériákban progresszív proliferatív endarteritis, stenosis, thrombusok, a tüdőparenchyma fibrosisa, a tricuspidalis billentyű elégtelen záródása, arteriosclerosis, thromboembolia, a tüdőbeli vérkeringési zavar miatt kialakult hypertonia miatt jobb kamrai hypertrophia (cor pulmonale) és következményes idült pangásos szívelégtelenség alakul ki. Tünetei a nyugtalanság, fáradékonyság, sporadikus száraz köhögés, epistaxis, vegyes típusú dyspnoe, anaemia, fokozatos lesoványodás. Előfordul még ascites, hepatosplenomegalia, a végtagokon ödéma illetve allergiás pneumonitis, melynek tünetei krónikus súlyos köhögés, dyspnoe, cyanosis, étvágytalanság, fogyás. Mikrofilariemia esetén immunkomplexek rakódhatnak le a vesekapillárisok falában glomerulonephritist okozva /FOK-VARGA, 2011/. A betegség megállapítása elsősorban klinikai tünetek alapján történik, ezen kívül igénybe vehetők kiegészítő vizsgálatok is, mint például a képalkotó eljárások (mellkas röntgen, echocardiografia). Gyanú esetén célzott vérvétellel mikrofilária kimutatás (többféle módszerrel), vagy egy erre kifejlesztett gyorseszttel (pl. Heartworm Ag 2.0, Witness Dirofilaria) a kifejlett nőtény férgek keringő antigénjeinek kimutatása, illetve PCR vizsgálattal a féreg, vagy a vele szimbiózisban élő *Wolbachia* baktérium DNS-ének kimutatása lehetséges. Gyógykezelése körültekintést igényel, a hirtelen elhalt férgek súlyos tüneteket okozhatnak (pl. embolusok a kifejlett férgek miatt, mikroembolizáció a vesében a mikrofiláriák miatt). Az általános kezelés először makrofilaricid (melarzamin, tiacetarzamid, levamizol, makrociklikus laktonok különböző dózisban és ideig) majd 3-4 hét múlva mikrofilaricid terápia (levamizol, ditiazanin-jodid, ivermektin, milbemicin-oxim). Preventív kezelésre ivermektin és milbemicin-oxim hatóanyagú tableta, szelamektin illetve moxidectin tartalmú spot-on (Stronghold) használható, illetve a szúnyogok elleni megfelelő védelem szükséges /KASSAI, 2011/. 1988-ban leírásra került egy invazív módszer a férgek mechanikus eltávolítására, amit azóta is sok helyen sikeresen alkalmaztak /ISHIHARA, 1988/.

Macskában okozott elváltozások, kórjelzés, kezelés

Bár a macska is végleges gazdája a *D. immitis*nek, sokkal ellenállóbb a fertőzéssel szemben. Kevesebb féreg fejlődik benne, általában 1-8 (legtöbbször 2-4), a prepatens időszak kitolódik 7-8 hónapra és a férgek élettartama csak 2-3 év, mikrofilária ürítés csak alacsony számban és rövid ideig megfigyelhető. A pulmonáris artériában és a tüdőben megfigyelt elváltozások hasonlóak a kutyában találhatóakhoz, de jobb oldali szívelégtelenség nem jellemző /VENCO, 2007/. Macskákban többször figyeltek meg ektópiás helyeken is férgeket, a legtöbb ilyen leírás boncolás során az agyban megtalált parazitákról szól /BOWMAN és mtsai, 2002/, de nemrégiben egy epiduralisan elhelyezkedő példányról is megjelent közlemény /FAVOLE és mtsai, 2013/.

Sok állatban tünetmentes a fertőzés akár hosszabb ideig is, ilyenkor két kimenetele lehet: vagy az állatok immunrendszere elpusztítja a férgeket, így tünetmentes marad az állat, vagy hirtelen kezdenek súlyos tüneteket mutatni.

Amikor a kifejlett, de még nem ivarérett férgek elérik a tüdő artériákat és arteriolákat (3-4 hónappal a fertőződés után) az újonnan megjelenő férgek az erekben és a tüdőparenchymában is gyulladást okoznak, a tünetek alapján ekkor leginkább allergiás bronchitisként vagy asztmaként diagnosztizálják, ez a bevezető fázis a *heartworm-associated respiratory disease (HARD)* néven ismert tünetegyüttesnek. A tanulmányok azt mutatják, hogy amikor a tüdőbeli folyamatok csillapodnak, az élő férgek képesek elnyomni az immunrendszert, így a macskák tünet nélkül viselik a fertőzést. A következő fázis, amikor a férgek elkezdenek pusztulni; ez tüdőgyulladást és thromboembóliát okoz, végső soron pedig akut tüdőszérüléshez vezethet, mely halálos lehet /EX. BOARD OF AHS, 2014/.

A kutyákban előforduló *vena cava tünetegyüttes* egyrészt a nagyszámú féreg, illetve azoknak megváltozott helyzete miatt alakul ki; ez macskában a kevés számú féreg miatt nem figyelhető meg, ám a jobb kamrába kerülve ezek is zavarhatják a tricuspidalis billentyű működését, ezáltal szívzörej okozva /EX. BOARD OF AHS, 2014/.

Az akut tünetek közé tartozik a szapora nehezített légzés, köhögés, haemoptysis, evéstől független hányás, vagy nagyon ritkán légzési elégtelenség miatt hirtelen halál is bekövetkezhet. Krónikus tünetek ritkábban jelentkeznek, ezek közé tartozik a hányás, hasmenés, köhögés és súlyvesztés /VENCO, 2007/. A tricuspidalis billentyű működésének zavarása miatt szívzörej hallható egyes esetekben, illetve a téve szöveti vándorlás miatt az idegrendszerbe került férgek okozhatnak ataxiát, rohamokat, ájulást /EX. BOARD OF AHS, 2014/.

Kórjelzés a klinikai tünetek és a mellkas röntgen, valamint az echokardiográfia eredményei alapján történhet. A diagnosztikai tesztek közül használhatjuk a vérből a mikrofilária kimutatást (de lényeges, hogy alkalmazzunk valamilyen koncentráció eljárást, mert kevés mikrofiláriát ürítenek, azt is csak korlátozott ideig), de a kutyákban standardként elfogadott antigén kimutató szerológiai próbák nem megbízhatóan alkalmazhatóak macskákban (sokkal több az azonos nemű férgekkel, azon belül is a hím férgekkel való fertőződés illetve nagyon sok féreg nem éri meg az ivarérett kort). A keringő ellenanyag kimutatása használható macskáknál, már a fertőzéstől számított 2 hónap múlva is, ám nagy hátránya, hogy a már lezajlott fertőzésnél, elpusztult férgek esetén is pozitív. Ám tényleges diagnózist csak boncolással kapunk /EX. BOARD OF AHS, 2014/.

Kezelése leginkább tüneti jellegű, hiszen a tiacetaramid és melarzomin kezelés macskákban hirtelen halált okozhat. A sebészi úton való eltávolítás speciális kosaras csipesszel (catheter-bearing basket-type retrieval forceps) sikeres lehet / BOWMAN és mtsai, 2002; VENCO, 2007 /, ám Magyarországon eddig még nem próbálták. A szúnyogok elleni védekezés fontos része a betegség kivédésének.

A két faj *D. immitis* fertőzésének összehasonlítása az **1. táblázat**ban látható.

1. táblázat A *D. immitis* fertőzés összehasonlítása macskában és kutyában (az American Heartworm Society írásai alapján)

<i>Dirofilaria immitis</i>	Macska	Kutya
Beoltás	Szúnyogok	Szúnyogok
Fertőződés valószínűsége	Alacsonyabb, mint kutyákban (61-90 %-a a beoltott állatoknak)	Magas, közel 100%
Férgek élettartama	2-3 év	5-7 év
Ektópiás fertőzés	Nem gyakori	Alkalmanként
Férgek száma	Általában kevesebb, mint 6 (1-2 a leggyakoribb)	Nem ritka a több, mint 30
Azonos nemű férgekkel való fertőződés	Gyakori	Ritka
Mikrofilariémia	Időszakos (kb. 1 hónapig tart) a természetesen fertőződött macskák kevesebb, mint 20%-ában figyelhető meg	Folyamatos, nagyon gyakori (80-90%), évekig is tarthat, még a kifejlett férgek elpusztulása után is megfigyelhető
Elváltozást mutató szerv	Tüdő	Tüdő és szív
Kevés féreggel való fertőződés jelentősége	Halálos lehet	Függ az állat méretétől, edzettségétől és a férgek számától
Diagnózis	Bonyolult, összetett	Viszonylag egyszerű
Kezelés	Amerikában nincs hivatalosan elfogadott javaslat a komplikációk magas kockázata miatt	Van elfogadott terápia, a komplikációk kezelhetőek

Közegészségügyi jelentőség - Zoonózis

Az ember csak alkalmi gazdája az általunk vizsgált féregfajoknak, így a szúnyogok által beoltott lárvák fejlődnek ugyan, de többnyire nem érik el az ivarérettséget, és a mikrofilariemia szinte minden esetben hiányzik. A nemzetközi irodalomban egy esetben írtak le eddig emberben a vérben keringő mikrofiláriákat *D. repens* fertőzés kapcsán /NOZAI és mtsai, 1994/, hazai irodalomban pedig egy 2013-ban megjelent cikkben olvashatunk szintén *D. repens* fertőzés miatt (erősen immunhiányos állapotban levő páciensben) keringő mikrofiláriákról /HERKE és mtsai, 2013/.

Európában a legérintettebb területek a humán fertőzésekről megjelent cikkek alapján Olaszország, Franciaország, Görögország és Spanyolország. Nőkben gyakrabban került leírásra, illetve a 40 év fölötti korosztályban találtak több esetet / MURO és mtsai, 1999/.

A humán dirofilariosis legtöbbször vagy bőralatti csomókként vagy a tüdőparenchymában látható elváltozásként, tüneteket csak ritkán okozva jelenik meg /KLOCHKO-WALLACE, 2013/.

Egy Amerikában végzett felmérés szerint a humán tüdő-dirofilariosisban (*human pulmonary dirofilariosis, HPD*) szenvedő betegek 60 %-a a *D. immitis*szel fertőződik, a legtöbb esetben klinikai tünetekben ez nem jelenik meg. Amennyiben mégis vannak tünetek azok leggyakrabban a következők: lokalizált retrosternalis mellkasfájdalom, köhögés, hemoptysis, zihálás, hőemelkedés, hidegrázás, rossz közérzet. Ritkán előfordul, hogy nem a tüdőben okoz elváltozást a féreg: májbeli csomó /KIM et al, 2002/, eosinofiliás agyhártyagyulladás, intraocularis fertőzés, a mesenterium zsírszövetében és herében található elváltozás kapcsán írtak már le dirofilariosist. Akut thromboembolia és endarteritis is előfordulhat az elhalt férgekől eredő nagy mennyiségű antigén hatására. Eddig mindössze 4 esetet regisztráltak, ahol a szívben, vagy a vena cava caudalisban találtak szívférget emberben /KLOCHKO-WALLACE, 2013/.

D. repens fertőzés esetén az érintett területen a bőr alatt elhelyezkedő fájdalmas csomót észlelnek a betegek, ezek leggyakoribb előfordulási helyei az arc és a szemhéjak, a mellkasfal, a felkar, a comb, a hasfal illetve a hím nemi szervek. A szem is érintett lehet, ez esetben a férgek lehetnek periorbitalisan, subconjunctivalisan, az ínhártya alatt és intraocularisan. A nem bőr- és nem szembeli megjelenésen kívül a leggyakoribb a tüdőbeli lokalizáció, melyet gyakran elsődleges vagy metasztatikus tumorként félrediaosztizálnak /KLOCHKO-WALLACE, 2013/.

Egyéb *Dirofilaria*-fajok is megfertőzhetik az embert, ám ezek az esetek jóval ritkábbak és hazánkban eddig nem diagnosztizáltak. Ezen fajok közé tartozik a *D. tenuis* (végleges gazdája a mosómedve), a *D. ursi* (medve), a *D. subdermata* (tarajos sül), a *D. lutrae* (észak-amerikai vidra), a *D. striata* (amerikai vadmacskák) és a *D. spectans* (brazíliai vidra) /KLOCHKO-WALLACE, 2013/.

Fénymikroszkóppal vizsgálható tulajdonságok

Kifejlett férgek

A *Dirofilaria* genus tagjai fehéres színű vékony, megnyúlt fonálférges /LOK, 1988/. Az általunk vizsgált férgek köztakarója 2 rétegből áll: kutikulából és az azt termelő szubkutikulából. A kutikula felülete vagy sima (*D. immitis*), vagy hosszanti redőkkel rendelkezik (*D. repens*). A szubkutikula alatt helyezkedik el az izomtömlő, melyben egy sorban helyeződő, egy réteget képező izomsejtek vannak. Ezek a férgek váltivarúak, megfigyelhető a szexuális dimorfizmus, vagyis a hím és nőstény példányok mind alakra, mind méretre eltérnek egymástól (a nőstények nagyobbak, farki végük egyenes, kerekded, a hímek kisebbek, farki végük spirálisan csavart, kúpszerű). A férgek testén különböző testtájékokról beszélhetünk: van feji és farki vég, nyaki vagy nyelőcsői szakasz, a női ivarnyílás tájéka illetve a kloáka tájéka. Az emésztőcső egyenes lefutású, elő-, közép- és utóbélre osztható. Az előbél elülső vége a szájnyílás, melyen ajkak nélküli kezdetleges szájtok és kis feji papillák vannak. A szájtok a nyelőcsőbe folytatódik, amelynél az izmos és a mirigyes régió nem különül el élesen egymástól. A középbéli szakasz egyenes lefutású cső. Az utóbél vagy végbél lumenét kutikula béleli. Légzőszervei nincsenek, a gázcserét bőrlégzés biztosítja. Keringési szervek nincsenek. A kiválasztószerv kétoldali hosszanti ága az oldalmezőben fut, majd a nyelőcső magasságában a porus excretoriusban nyílik a külvilágra. A hím gonád páratlan, csőszerű szerv, elülső szakasza a *here* (testis), mely az *ondóvezető*be (semiductus, vas deferens) folytatódik, ennek hátsó, kiöblösödő részét *ondóhólyagnak* (vesicula seminalis) nevezik, végül az utolsó szakasz a *ductus ejaculatorius*, mely a kloákába nyílik. A járulékos ivarszervek közül páros szpikulummal rendelkeznek, melynek feladata a sperma vaginába juttatása. A női gonád a páros *petefészkekkel* kezdődik (ovarium), mely *petevezető*ben (oviductus) folytatódik, ennek tágasabb szakasza a *méh* (uterus). A méh folytatása a *hüvely* (vagina), mely egy szűkebb szakasszal, a tojócsővel (*ovijektor*) nyílik a külvilágra, ezt a nyílást nevezzük a *női ivarnyílásnak* (vulva). Az idegrendszer központja a nyelőcső középső harmadát közrefogó ideggyűrű, melyhez ventralis, dorzalis és laterális ganglionok térnek /KOTLÁN, 1961/.

A szívférges vizsgálatára általában az állat elhullása után kerül sor (post mortem minta), de élő állatból is eltávolíthatóak speciális fogókkal, fluoroszkóp segítségével /ISHIHARA és mtsai, 1988; BORGARELLI és mtsai, 1997/, bár ez utóbbira hazánkban egyelőre még nem került sor.

A *D. immitis* nőstények 250-310 mm hosszúak és 1,0-1,3 mm szélesek. A farki vég tompa, a feji végtől 2,7 mm-re levő vulvanyílással /LOK, 1988/. A feji végen érzékszervek, így amphidok és feji papillák találhatóak mindkét nemben /ABRAHAM, 1988/. A hímek 120-200 mm hosszúak és 0,7-0,9 mm szélesek. A spirálisan felcsavarodott farki végen 5 pár preanalis és 6 pár postanalis papilla található. A bal oldali szpikulum 300-375 μm , a jobb oldali 175-299 μm hosszú /LOK, 1988/. A fark két oldalán kisméretű oldalsó szárny van /ABRAHAM, 1988/. A *D. immitis* feji és farki végének felépítését a következő sematikus ábra mutatja be (**3. ábra**).



3. ábra *D. immitis* sematikus rajzolata

(a) elülső feji vég, (b) vulva tájéka, (c) nőstény hátulsó vége, (d) hím hátulsó vége

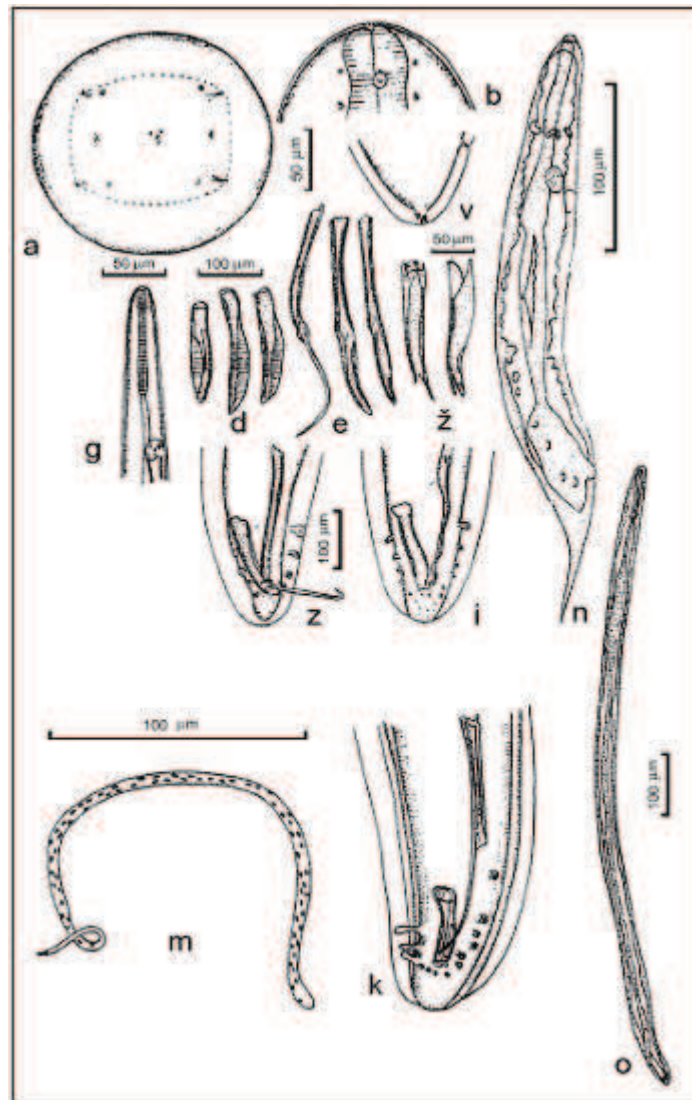
/forrás: STEELE és mtsai., 1982/

A bőrféreg élő állatból leggyakrabban a tulajdonos által észrevett bőr alatti csomó eltávolításával kerülnek elő, de nagyon sok a kórboncolás során mellékleletként megtalált féreg is.

A *D. repens* nőstény egyedei 100-170 mm hosszúak és 0,46-0,65 mm szélesek, míg a hímek csak 50-70 mm hosszúak és 0,37-0,45 mm szélesek. Utóbbiak 2-6 preanalis papillával rendelkeznek az anustól jobbra, illetve 4-5 papillával attól balra.

A szpikulumok hossza szintén elég eltérő, a bal oldali 460-590 μm , míg a jobb oldali 180-210 μm hosszú /LOK, 1988/.

A féreg felépítését a következő ábrán láthatjuk (4. ábra).



4. ábra *D. repens* sematikus felépítése: a) a test elülső része apikálisan, b) a test elülső része laterálisan, v) a nőstény farki vége laterálisan, g) a nőstény testének elülső része laterálisan, d) jobb oldali szpikulum ventrálisan, e) bal oldali szpikulum ventrálisan, ž) bal szpikulum disztális vége, z) és i) a hím testének farki vége ventrálisan, k) a hím farki végének felülete ventrálisan m) mikrofilária, n) L2 egy szúnyogból, o) fertőző lárva /forrás: TASIČ és mtsai,

2007/

Kifejlett férgek szövettani metszetben való megjelenése

Keresztmetszetben a férgek felépítése a következő: kutikula, alatta izomréteg, mely az ál-testüreg határolja, amiben a beleket, a kiválasztó és idegrendszert és a nemi szerveket találjuk. A fajmeghatározásnál az egyik legfontosabb a kutikula kinézete: a vastagsága, hány rétegből áll, vannak-e rajta külső hosszanti vagy keresztirányú redők illetve az oldalsó bordánál van-e belső falvastagodás. Az oldalsó bordák vizsgálatánál azok mérete, megjelenése számít és hogy hány sejtből áll. Az izomréteg sejtjeinek megszámlálása technikai szempontból nem egyszerű, így azt javasolt eldönteni, hogy erősen vagy gyengébben izmolt-e a féreg. A nemi szervek alapján könnyen eldönthetjük a féreg ivarát, ám nőtény egyedekben az elülső részeken kanyargó vagina, majd a hátulsó részen többszörösen hajlott petefészkek és petevezetők átmetszetei megnehezítik, hogy eldöntsük egy vagy két nemi traktus van. Hímekben az elülső végen kanyargó herék tubulusainak átmetszetei okozhatnak nehézséget.

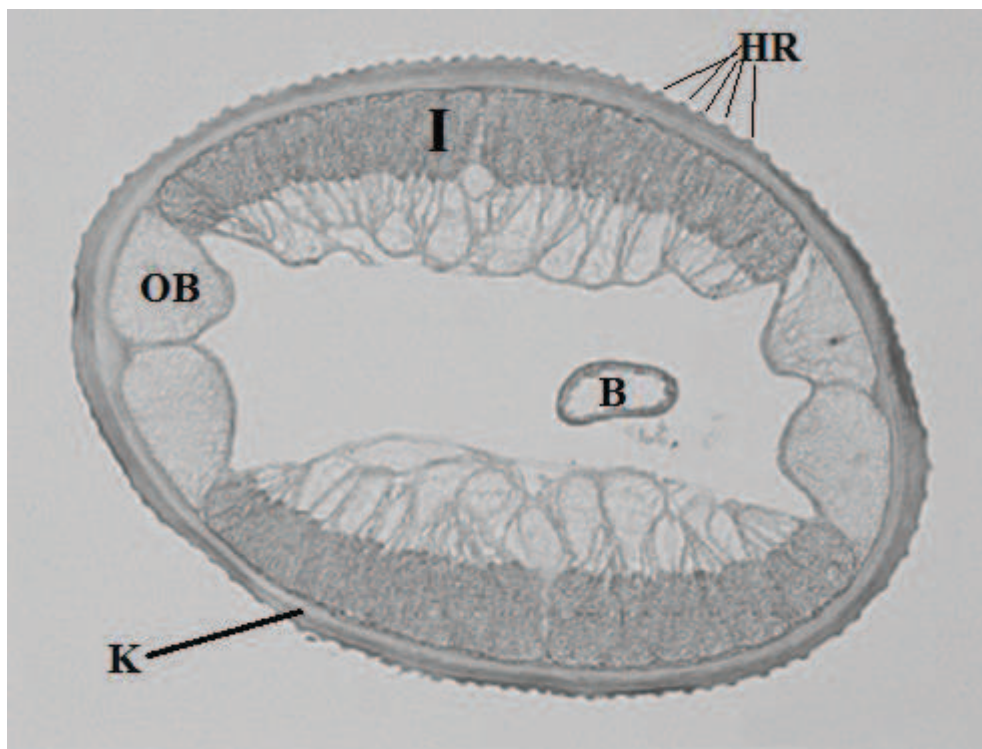
A *Dirofilaria*-fajok átmérője 100-600 μm között változik, vastag kutikulájuk van, a felülete lehet sima (*D.immitis*) vagy hosszanti redőkkel díszített (*D. repens*), a kutikula több rétegből áll, melyek könnyen megkülönböztethetőek, különösen az oldalsó bordánál látható belső falvastagodásnál. 2 réteg egymásra merőlegesen, a test tengelyéhez képest pedig haránt irányban futó rostokból áll. Az oldalsó borda általában kiemelkedik, az izomréteg számos sejtből áll, jól fejlett.

A *D.immitis* kutikulájának felülete sima, csak a hímek farki végén, a hasi oldalon találunk hosszanti redőket. Ha bőr alatti csomóban találnak sima felületű, vastag kutikulájú férgeket elsősorban az előző fajra gondolnak, de nem zárható ki a *D. lutrae* fertőzés sem. A *D. repens* kutikuláján könnyen látható éles végű hosszanti redők futnak, melyek egymástól a redők szélességétől nagyobb távolságra vannak. A kifejlett példányokat 95-105 redő veszi körbe, a közöttük levő távolság 12 μm . Az oldalsó bordában 2-5 sejtmag van /GUTIERREZ, 1984/.

A fenti leírás humán esetekben történő szövettani vizsgálatok összegzését tartalmazza. Állatorvosi vonalon kevés szövettani leírás készült, mivel a legtöbb esetben önállóan találják meg a férgeket, nem valamilyen szövetben, így nem készítenek róla metszeteket (legtöbbször fénymikroszkópos vizsgálattal a külső jegyek alapján próbálják beazonosítani, esetleg a vérben található mikrofiláriák segítségével, majd molekuláris módszerekkel, általában PCR-rel történik a pontos meghatározás).

Az első állatorvosi szövettani leírást 1975-ben adták közre egy japán újságban. Itt 2 idegrendszeri tüneteket mutató kutya boncolása során találtak az agyban 1-1 férget, illetve egy tüneteket nem mutató állat jobb dorsalis agyi vénájában (vena dorsalis cerebialis) szintén találtak egyet. Itt az agyból készített metszetekben vizsgálták a férgeket /KOTANI és mtsai, 1975/.

Egy másik érdekes eset 2010-ben Amerikában került leírásra: egy kutyában kétoldali spontán pneumothoraxot és a bal hátulsó tüdőlebenyben egy bullát találtak röntgen, illetve CT segítségével. Exploratív thoracotomiát végezve a bal caudalis lebeny egy részét, illetve a járulékos tüdőlebeny egészét kivették, műtét közben a metszéslapra férgek ürültek. A kivett tüdőből szövettani metszetet készítve a tüdőartériákban féregátmetszeteket találtak, melyek *D. immitis*nek bizonyultak /OLIVEIRA és mtsai, 2010/.



3. kép *D. repens* keresztmetszet /forrás: DANG és mtsai, 2010/

HR: hosszanti redő, **K:** kutikula, **I:** izomtömlő, **OB:** oldalsó borda, **B:** bél

Mikrofilária, embrió (L1)

Az ivarérett hímek a szpikulumok segítségével bejuttatják a spermát a nőtény vaginájába, ahonnan a spermatozoák amőboid mozgásukkal a petevezető ondótaroló részébe (receptaculum seminis) jutnak, ott hetekig életképesek maradnak. Megtermékenyítéskor a 4 vagy 5 kromoszómát tartalmazó teljes spermatozoa penetrál a petébe, a méhben kifejlődnek a peteburkon belül a mikrofiláriák, majd az ovovivipara nőtény a vérbe ereszi az addigra a vaginában a peteburokból kiszabaduló embriók /ABRAHAM, 1988/. A mikrofiláriák hónapokig, esetleg 1-2 évig is életben maradhatnak a viscerális erekben, akár tünetek okozása nélkül. A mikrofiláriák vérben való előfordulása évszakonként (főleg tavasszal és nyáron van a csúcsidezőszak) és napszakonként is periodikusan változik. A perifériás vérben legnagyobb mennyiségben este 18 és 22 óra között találhatóak meg, így ilyenkor célszerű mikrofilária kimutatásához mintát venni /KASSAI, 2011/.

A vérből a mikrofiláriák vizsgálatára többféle lehetőség van.

- Friss vérből natívan festés nélkül, May-Grünwald-Giemsa vagy metilénkék festéssel készült kenet értékelése mikroszkóppal /KASSAI, 2011/
- Hemolizált és centrifugált vérminta festett üledékének vizsgálata mikroszkóppal (Knott- féle módszer) /KASSAI, 2011/
- Módosított Knott- féle módszer (mely során formalint is adunk a vérhez) /TASIČ és mtsai, 2007/
- Hemolizált vérminták vizsgálata membránfiltrációs módszerrel (filter technika vagy DIFIL teszt) /TILLEY-WILKINS, 1974; KASSAI, 2011/
- Hematokrit módszer /KASSAI, 2011/
- Szérum vizsgálata mikroszkóppal /TASIČ és mtsai, 2007/
- Szaponinnal összegyűjtött mikrofiláriák vizsgálata /TASIČ és mtsai, 2007/
- Hisztokémiai festéssel megjelölt mikrofilária vizsgálat /TASIČ és mtsai, 2007/

A mikrofiláriák differenciálásához több tulajdonságot is meg kell vizsgálnunk. A két faj lárvái eltérnek a méretükben (hossz és keresztmetszet), az alakjukban (egész test alakja, farki vég, feji vég alakja), a hisztokémiai festésre adott reakciójukban (savanyú-foszfátáz reakció), a belső szerveik elhelyezkedésében (a testhosszukhoz viszonyított arányában) és a feji sejtmentes terület hosszában („cephalic space”).

A *D. immitis* mikrofiláriák 290-330 μm hosszúak, szélességük 5-6,5 μm . A feji végen a szájníylás környékén behúzóadás található, a farki vég egyenes és vékony /FOK-VARGA, 2011/, a Knott-módszert alkalmazva a test kiegyenesedett. Savanyú-foszfátáz reakciót csak 2 helyen, az analis pórus és a kiválasztó pórus körül láthatunk /LEE és mtsai, 2004/.

A *D. repens* mikrofiláriák 345-385 μm hosszúak, szélességük 6,5-8 μm . Elülső végük lekerekedett, sima, a szájníylás környéke üres, testük egyenes vagy kissé hajlott, farki végük kampós /FOK-VARGA, 2011/. Savanyúfoszfátáz reakciót csak az analis pórus körül láthatunk /LEE és mtsai, 2004/. A módosított Knott eljárással gyűjtött mikrofiláriákhoz képest a festett vérkenetben a *D. repens* mikrofiláriái lényegesen hosszabbak, mint a *D. immitis*éi /LIOTTA és mtsai, 2013/.

A fajok azonosításához úgynevezett fix pontokat használhatunk (ezek Giemsa vagy Hematoxilin-eozin festésnél látszanak); ezen pontok távolsága a feji végtől a féreg teljes hosszának százalékában jellemző egy adott fajra. A fix pontok a következők: idegyűrű, porus excretorius, kiválasztósejt, a genitális primordium első sejtje, az analis nyílás, az utolsó farki sejt. Meghatározható a feji végen előforduló sejtmentes terület is, melynek mérete szintén eltér a két vizsgált fajban, valamint meghatározható a farki végnek az utolsó farki sejttől való távolsága is /KOTLÁN, 1961/.

A feji részen található sejtmentes terület méretének vizsgálata alapján könnyen elkülöníthető a két faj mikrofiláriája. A *D. repens* 2, ritkábban 3 különálló sejtmagot tartalmaz a sejtmagoszlop elülső végétől, amely kisebb feji távolságot eredményez, mint ami a *D. immitis*ben megfigyelhető. Utóbbi mikrofiláriájában a különálló sejtmagok közel helyezkednek el a magoszlop elülső végéhez.

Előfordulhat, hogy perifériás vérből nem lehet kimutatni a mikrofiláriákat egyik módszerrel sem, ám mégsem zárhatjuk ki a fertőzöttséget (a fertőzött állatok mintegy 30 %-ában nincs detektálható mikrofilária ürítés) /KASSAI, 2011/. Ennek 4 fő oka lehet /RAWLINGS és mtsai, 1982; VENCO, 2007/:

- még nem ivarérett férgek vannak az állat szervezetében (túl korán, még a prepatens időszakban történt a vérvétel)
- csak azonos nemű kifejlett férgek vannak jelen, így nincs párosodás (kutyaiban ritka)
- a szervezet immunrendszere győzte le a férgeket
- sikeres mikrofilaricid szerrel történt kezelés után volt a vérvétel

Második stádiumú lárva (L2)

A vérszívás során felvett *D. immitis* L1 a szúnyog középbelében marad 24 óráig, innen a Malpighi edények elsődleges sejtjeinek citoplazmájában marad. A vérszívás utáni 5. napra a bélrendszer nyelőcső, bél és végbél részekre differenciálódik, majd a lárva a Malpighi edények lumenébe vándorol, ahol a 10. nap körül vedlik L2-vé /ABRAHAM, 1988/.

Harmadik stádiumú lárva (L3)

A *D. immitis* lárvájának második vedlése a mikrofilária felvételét követő 13. nap körül megy végbe a szúnyogban, ezáltal a már fertőző L3-má alakul a lárva. A fertőzőképes lárva a szúnyog feji részébe vándorol, vagy a proboscisban várakozik a következő vérszívásig, mely során bejut az új gazdába /ABRAHAM, 1988/.

A gazdába történő beoltásnál 1,09-1,65 mm hosszú és 24-29 μm széles a lárva. Elülső vége lekerekített és közel olyan széles, mint a test hátralevő része, a caudalis papilla relatíve nagy és feltűnő. Finom transzverzális bordázottság figyelhető meg a kutikulán /ORIHÉL, 1961/.

A hasíték-szerű („slit-like”) száj körül 4-2-4 felállásban papillák vannak /ABRAHAM, 1988/. A hosszúkas nyelőcső kutikulával bélelt, a test hosszának negyedét-harmadát teszi ki. A nyelőcső jól elhatárolódik egy elülső izmos és egy hátsó mirigyes részre. A bél szélessége a test kb. egyharmada, nagy lumennel és relatíve vékony fallal rendelkezik. A végbél vastag falú, hossza 50 μm . Hímeknél már a beoltást követő 5. napon a végbél két oldalán, közel az anushoz megjelennek a primordiális szpikulumok. A lárva nemét a 12 sejtes genitális primordium elhelyezkedéséből meg lehet állapítani: nőstényeknél a nyelőcső izmos-mirigyes részének átmeneténél középen helyezkedik el, 200 μm -re a feji végtől, míg hímeknél a nyelőcső-bél átmenet után középvezonában 500 μm -re a feji végtől. A reproduktív szervek differenciálódása még a harmadik vedlés előtt megtörténik /ORIHÉL, 1961/.

Negyedik stádiumú lárva (L4)

Az L3-ból való vedlés a gazdában tartózkodás alatti 3-9. nap között kezdődik, a 12 napra már biztosan befejeződik. A *D. immitis* lárvák beoltás után kb. 70 napos korukig tartoznak ebbe fejlődési stádiumba, ekkor hosszuk maximálisan 18 mm és szélességük 115 μm . A feji vég kicsit hegyesebb, a szájnyílás közvetlenül a nyelőcsőbe nyílik, melynek hossza a test negyede (maximum 0,8 mm). Ebben a szakaszban a leglátványosabb változás az ivarszervek fejlődése.

A női ivarszervek a primordiális sejtekből álló csomó sejtjeiből a sejtoszlop kettéválása után, a 18. nap körül 2 nem egyforma hosszúságú sejtoszlopot képeznek, majd a 30. nap körül eléri az 500 µm-es hosszt, ezután indul meg a vulva felől a lumenképződés. Ezután nagy epithelialis sejtek bélelik ki a genitális traktust. A 60. napra a vagina proximális részéből egy nagy, hosszúkás, ovális kamra képződik a vulvához közel. Utóbbi a nyelőcső-bél átmenet elé kerül.

A hím ivarszervek fejlődése gyorsan történik. A 30. napra kifejlődik a genitális csatorna és a kloáka. A 60. napra a szpikulumok is eléri a maximális hosszukat, a bal oldali esetében 279-320 µm, a jobb oldalánál 156-192 µm. A 68 napos negyedik stádiumú lárvában az összes genitális papilla megtalálható, amely a kifejlett egyedben is (3-4 preanalis, 2 adanalis, 4 postanalis mindkét oldalon). A genitális csatornában kifejlődik a lumen, majd a test közepe felé gombszerű struktúrával végződik. 60-68 nappal a lárva gazdatestbe jutása után megkezdődik az utolsó vedlés /ORIHÉL, 1961/.

Ötödik stádiumú lárva (L5)

Az ivarérettség még a maximális méret elérése előtt bekövetkezik. 80 nap után egyértelműen elkülöníthető méret alapján a hím illetve a nőtény egyed.

A vulva a nyelőcső-bél átmenet mögé kerül, mivel a nyelőcső a többi szervhez képest lassan nő. A vagina kiterjedt része kúrszerű lesz, izmossá válik és kialakul a tojócső, benne egy keskeny szabálytalan lumennel. Már a korai ötödik stádiumban elkülönül a vagina, méh, petevezető és petefészek. A vagina vera a vulvától posterialisan fut, majd előre fordul és a nyelőcső közepéig tart, itt újból posterior lefutással van, ahol becsatlakozik a vagina uterusba. A vulva magasságában vagy még hátrébb kettéválik és páros uterus lesz belőle. Az uterus kitölti a pseudocoel, a két része egymáson megcsavarodik és a test hátsó negyedében vékony kúpszerű, de vastag falú petevezetőbe megy át. Az uterus utolsó része ondótárolóvá alakul. A petevezetőkből hosszú, csavart petefészkek lesznek, amelyek a végbél előtt végződnek. A fejlődés 4. hónapjára megjelennek a peték, 120 napos fejlődési stádiumban levő féregben már találtak megtermékenyített petét. Mikrofiláriákat az uterusban illetve a vaginában 6 hónappal a fertőzés után figyeltek meg először.

Hímeknél a genitális cső a pseudocoel nagy részét elfoglalja, és ovális vagy subspherikus dudorban végződik az eredeti primordiumok helyén. Ivarérett egyedekben a genitális csatorna vége lehet hajlott is. Megjelenik a fark jellegzetes spirálisan felcsavarodott formája is /ORIHÉL, 1961/. A **2.** és a **3. táblázat**ban láthatjuk összegyűjtve a *D. immitis* és *D. repens* fejlődési alakjainak morфомetriai adatait.

2. táblázat A kutyában fejlődő *D. immitis* lárvák méretei (forrás: MANFREDI ÉS MTSAL, 2007)

A szúnyogban töltött napok száma	A kutyában töltött napok száma	Stádium	Hossz (cm)	Gazda	Lokalizáció
		Mf	0,030	Kutya	Vér
1		Mf	0,003	Szúnyog	Középbél
5		Kolbászforma	0,015	Szúnyog	Malpighi-edények sejtjei
10		L2	0,05	Szúnyog	Malpighi-edények lumene
15		L3	1	Szúnyog	Proboscis
	1-15	L3	1,5	Kutya	Bőr alatti kötőszövet
	3-80	L4	3-7	Kutya	Bőr alatt/Izomszövet
	70-150	L4-L5	4-13	Kutya	Izomszövet/Bőr alatt
	100-160	L5	4-20	Kutya	Mell- vagy hasüreg/pulmonáris artéria/jobbszívfél
	150-270	Ivarérett nőstény, mf termelés	25-30	Kutya	Pulmonáris artéria/jobbszívfél

3. táblázat A kutyában fejlődő *D. repens* lárvák méretei (forrás: MANFREDI ÉS MTSAL, 2007)

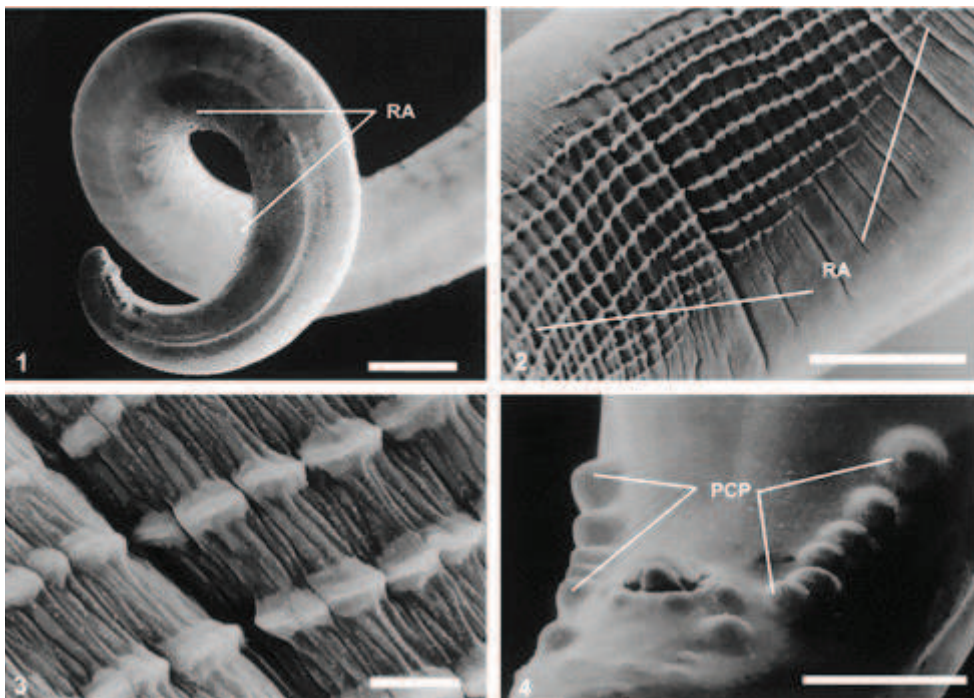
A szúnyogban töltött napok száma	A kutyában töltött napok száma	Stádium	Hossz (cm)	Gazda	Lokalizáció
		Mf	0,035	Kutya	Vér
1		Mf	0,035	Szúnyog	Középbél
2-7		Kolbászforma	0,015	Szúnyog	Malpighi-edények sejtjei
6-9		L2	0,05	Szúnyog	Malpighi-edények lumene
10-20		L3	1,0	Szúnyog	Proboscis
	1-15	L3	1,0	Kutya	Bőr alatti kötőszövet
	3-70	L4	NA	Kutya	NA
	70-150	L5	NA	Kutya	NA
	180-240	Ivarérett nőstény, mf termelés	10-17	Kutya	Bőr alatti szövet/izomkörüli kötőszövet

Elektronmikroszkópos eredmények

Scanning elektronmikroszkóp

Adult

Egy scanning elektronmikroszkópos tanulmányban leírták, hogy minden *Dirofilaria* genusba tartozó féreg kutikuláján megfigyelhető a transzverzális mintázat, de a *Nochtiella* subgenusba tartozó *D. repens*, *D. corynodes*, *D. magnilarvatum*, *D. tenuis* fajoknál a hosszanti redők is jelen vannak (kivételesen a feji vég és a hímek farki vége), míg a *Dirofilaria* subgenusba tartozó *D. immitis* kutikulája sima. A redők jól követhetők az egész test körül, egyedül az oldalsó borda vonalában nem. A *D. repens* hosszanti mintázatában a vonalak inkább szélesebbek, mint hosszúak, elágazásra hajlamosak, de egyenes lefutásúak. A *D. immitis* hím farki végének utolsó csavarulatában viszont a hasi oldalon először diagonális, majd longitudinális redőzöttség jelenik meg /WONG-BRUMMER, 1978/.

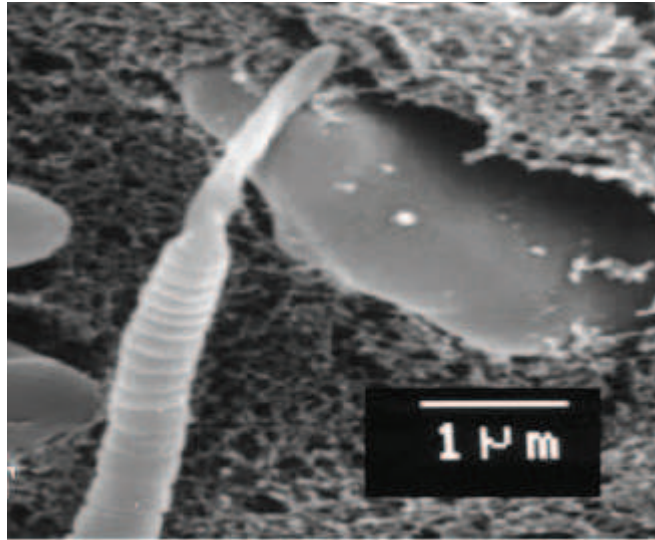


4. kép *D. immitis* hím farki vége 1: RA rugose area = terület redőkkel, a farki rész, méretarány 200 μm , 2: ugyanaz nagyobb nagyítással, méretarány 100 μm , 3: még nagyobb nagyítással, méretarány 10 μm , 4: PCP páratlan prekloakális papillák, méretarány 50 μm

/forrás: RODRIGUES-SILVA, 1999/

Mikrofilária

A kutikulán harántirányú gyűrűzöttséget találtak, melyek a farki vég kivételével 0,5-0,9 mikrononként követték egymást, a behúzódások közötti távolság a posterior végeken jelentősen rövidebb. A farki vég botszerű, sima felülettel, kb. 2 μm hosszú (**5. kép**).



5. kép A *D. immitis* mikrofiláriájának gyűrűzöttsége és farki végének jellegzetes alakja scanning elektronmikroszkóppal /forrás: SONG és mtsai, 2009/

Az elülső végen a feji lemezen 1 μm távolságra 2 apró pórust találtak a központi illetve a dorsalis részen. Ezek a feji ciliaris csatorna (*cephalic ciliary channel*) és a központi csatorna (*central canal*). A feji lemez alatt húzódó első gyűrű ventrális részén van egy félkör alakú szájszerű üreg, ebben a szájpadrási részből kiölthető háromszög alakú horog van (0,3 μm hosszú és 0,2 μm széles az alapjánál), az ajakszerű véggel rendelkező nyúlvány körülveszi az üreget. Az elülső végtől számított 80. gyűrűnél helyezkedik el a kiválasztó pórus, amelyben egy 0,7x0,5 μm ovális alakú lyuk van. Az anális pórus a posterior végétől számított 90. gyűrűnél ventrálisan helyezkedik el, kör alakú, 0,4x0,4 μm nyílással, melynél egy apró kiemelkedés (protuberance) található /SONG és mtsai, 2009/.

Transzmissziós elektronmikroszkóp

Mikrofilária

A mikrofiláriák keresztirányú metszeteiből jól kivehető a férgek külső falának felépítése: kutikula, hipodermisz vagy szubkutikula, izomsejtek, idegtörzs és differenciálatlan embrionális sejtoszlop. A kutikula 3 elsődleges rétegből épül fel: externális (külső) és internális (belső) kortikális és egy fibrilláris rétegből.

A külső és a belső réteg 3 alrétegből tevődik össze, melyek eltérő denzitásúak, míg a fibrilláris réteg egységesebb, csak rostszerű képleteket tartalmaz. A fibrilláris réteg alatt egy relatíve vastag homogén sztratum található, melyet a hipodermisztől egy elektrodenz vékony alaphártya választ el. A kutikulán megfigyelhető a harántgyűrűzöttség, mely 25 μm mélységben és egymástól 0.9 μm távolságra követi egymást. A mikrofiláriák izomzata dorsalis és ventralis lefutású hosszanti csíkokba rendeződik, mindegyikben 2 izomsejttel. A fuziform izomsejtek kontraktilis és nem kontraktilis izomsejtekből állnak. A test közepében differenciálatlan embrionális sejtek vannak. A feji sejtmentes terület (*cephalic space*), mely a test elülső 10-15 μm -ét foglalja el, 8 izmot és sok idegi elemet tartalmaz. A sejtmagoszlop elülső részéből a test csúcsa felé 2 párhuzamos ciliákat tartalmazó, henger alakú csatorna fut /Kozek, 1971/.

A szájszerű nyílás kapcsolatban van az ajakszerű nyúlványokkal, melynek belső felépítésben nagyrészt izomfilamentumok vesznek részt, melyek a cuticula belső oldalában végződnek. /Song et al., 2009/

Saját vizsgálatok

Anyag és módszer

Egy kutya ivartalanítási műtéte során eltávolított, egyik petefészekben helyeződő filarioida féreg makroszkóposan, valamint szövettani vizsgálattal felismerhető morfológiai jegyeit kívánom ismertetni. Továbbá fénymikroszkóppal előzetesen megvizsgált és ivarilag meghatározott 1 *D. repens* és 2 *D. immitis* példány jellemzőbb szerkezeti elemeinek a szövettani elemzése során tapasztalható eltéréseit mutatom be.

A **petefészeket a féreggel** Dr. Mohai Imre veresegyházi állatorvos jutatta el a Parazitológiai és Állattani tanszékre. 2014. január 21-én egy félidős vemhes kutya műtéte során került elő mellékletként. Az állat közel 9 hónapos alaszcai malamut volt, Nyíregyházáról hozták el a tulajdonosok 2 hónapos korában, azóta Veresegyházán élt. Nyaralni nem vitték, de a lakástól 150 m-re található egy kisméretű tó, amely mellett gyakran sétálnak. 6 hónappal azelőtt kapott Drontal Plus féreghajtót. Az ovariohisterektomia során a jobb petefészek bursáját megnyitva találták a férget (**6. kép**). Egy 6,5 cm-es darab szabadon lógott ki a petefészekből a test hátralevő részének hosszát nem tudtuk megállapítani, mert több ízben átfúrta a petefészeket. A formalinban eltett mintát másnap küldték be az egyetemre, vérmintával együtt (mikrofilariemia megállapítása céljából).



6. kép A petefészeket átfúró féreg (A fotót készítette: dr. Fok Éva, Parazitológiai és Állattani Tanszék, 2014)

A másik példány egy ***D. repens*** nőstény féreg, melyet egy humán-egészségügyi intézetben végzett kísérlet során túlaltatott foxhund boncolása során a bőr alatti kötőszövetből vettek ki, de az eltávolítás során kettészakadt. A 6,5 illetve 5 cm-es darabok átmérője kb. 0,55 mm, a lemért teljes hossz (11,5 cm) alapján juvenilis példánynak gondoltuk. Tudomásunk szerint ez a kutya egy rákoskeresztúri tenyészttelepről származott.

A ***D. immitis*** nőstény és hím példányokat dr. Fehér Miklós érdi állatorvos praxisából kaptuk, szintén post mortem leletként. A foxterrie fajtájú ivartalanított nőstény kutya Szeged mellől származott. Összesen 16 nőstény és 7 hím férget találtak a szívben. Az általam vizsgált nőstény 27,6 cm hosszú és 1,0 mm átmérőjű, a hím példány 17 cm hosszú és 0,7 mm átmérőjű volt.

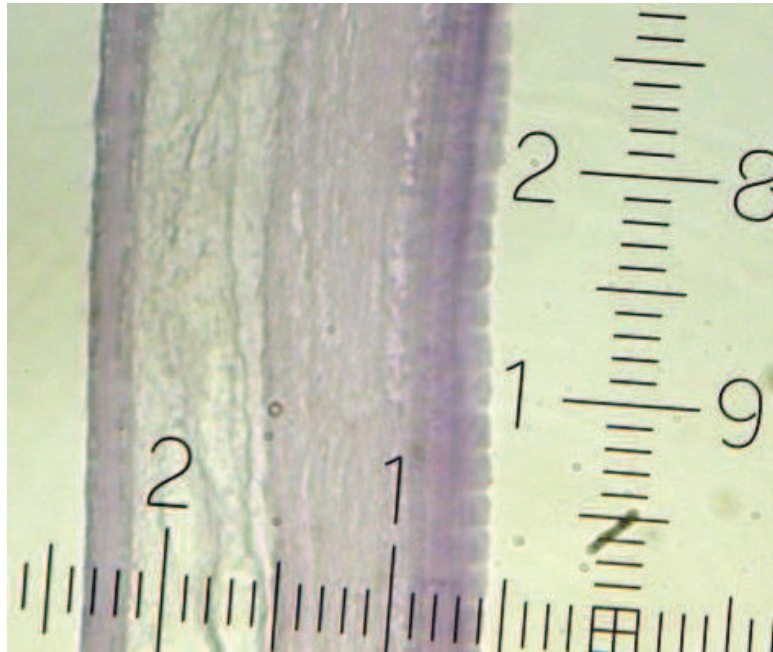
A **beküldött féreg** Dr. Mohai Imre veresegyházi állatorvos praxisából érkezett, 2014. január 21-én egy félidős vemhes kutya műtete során került elő mellékleletként. Az állat közel 9 hónapos alaszcai malamut volt, Nyíregyházáról hozták el a tulajdonosok 2 hónapos korában, azóta Veresegyházán volt. Nyaralni nem vitték, de a lakástól 150 m-re található egy kisméretű tó, amely mellett gyakran sétálnak. 6 hónappal azelőtt kapott Drontal Plus féreghajtót. Az ovariohisterektomia során a jobb petefészkek bursáját megnyitva találták a férget. Egy 6,5 cm-es darab szabadon lógott ki a petefészkekből (**6. kép**), a test hátralevő részének hosszát nem tudtuk megállapítani, mert több ízben átfúrta a petefészket. A formalinban eltett mintát másnap küldték be az egyetemre, vérmintával együtt (mikrofilariemia megállapítása céljából).

A férgeket illetve a petefészket 7 tagú, emelkedő koncentrációjú (felszálló) alkohol és 2 tagú acetone, majd 2 tagú xylol sorral víztelenítve, 2 tagból álló paraffin (hisztoplaszt) sorozaban ágyasztuk be. A deparaffinálás 6 tagú xylol-kloroform-alkohol sorozattal történt. Ezután minden mintát hematoxin-eozin festéssel készítettünk el, valamint a petefészkek mintájából Giemsa, Perls és fibrinfestéssel is készült minta. A férgekből hossz- illetve keresztmetszetet is vizsgáltam, kiemelten a feji, valamint a farki véget (a metszeteket a tanszéken található JEVANAL mikroszkóppal készítettem).

Eredmények és értékelés

D. repens nőstény

A hosszanti metszeteken jól látszik a kutikula finom harántirányú gyűrűzöttsége (7. kép) A kutikula vastagsága 17,72 μm (7,85-21,98), a szubkutikula vastagsága 10,77 μm (6,28-15,70), az izomréteg vastagsága pedig 47,10 μm (12,56-59,66) volt (4. táblázat).



7. kép: A *D. repens* kutikulájának harántirányú gyűrűzöttsége (1000x nagyítás, HE- festés, 1 osztás 1,29 μm)

4. táblázat: A *D. repens* nőstény féreg kutikulájának, szubkutikulájának és izomtömlőjének méretei (kék jelzi a legalacsonyabb, narancssárga a legmagasabb mért értéket, a sárga szín pedig az átlagolt értéket; a szorzó a mikroszkóp nagyításánál egy osztásnak megfelelő μm értéket jelenti, az egység pedig, hogy hány osztásnak megfelelő méretű volt az adott képlet)

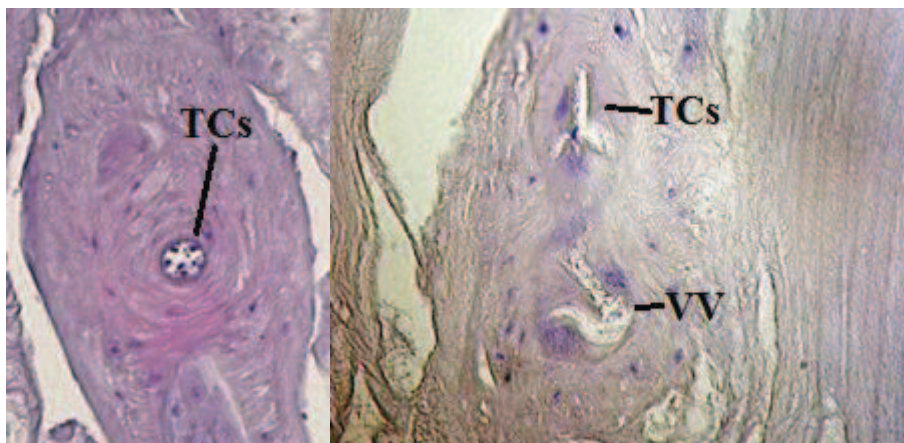
<i>D.repens</i> nőstény									
Kutikula			Szubkutikula			Izomtömlő			
Méret (μm)	Egység	Szorzó	Méret (μm)	Egység	Szorzó	Méret (μm)	Egység	Szorzó	
7,85	2,50	3,14	9,42	3,00	3,14	12,56	4,00	3,14	
21,98	7,00	3,14	15,70	5,00	3,14	56,52	18,00	3,14	
18,84	6,00	3,14	12,56	4,00	3,14	47,10	15,00	3,14	
18,84	6,00	3,14	9,42	3,00	3,14	53,38	17,00	3,14	
18,84	6,00	3,14	9,42	3,00	3,14	50,24	16,00	3,14	
18,84	6,00	3,14	12,56	4,00	3,14	50,24	16,00	3,14	
18,84	6,00	3,14	6,28	2,00	3,14	59,66	19,00	3,14	
17,72			10,77			47,10			

A keresztmetszetben mért átmérőméretek átlaga $591\ \mu\text{m} \times 448\ \mu\text{m}$, de ezek az adatok csak tájékoztató jellegűek, hiszen a beágyazás valamint a metszés során a férgek alakja deformálódhatott (**8. kép**). Szintén ezen a képen jól kivehető a hosszanti redők tarajszerű éle. A féreg testén körben 91 db redő számolható, melyeknek magassága átlagosan $9,03\ \mu\text{m}$, a redők csúcsai közötti távolság $18,70\ \mu\text{m}$, a redők alapja pedig $10,96\ \mu\text{m}$.



8. kép: A *D. repens* keresztmetszete, jól látszik a hosszanti redők átmetszete és tarajos éle (250x nagyítás, HE- festés, 1 osztás $5,08\ \mu\text{m}$)

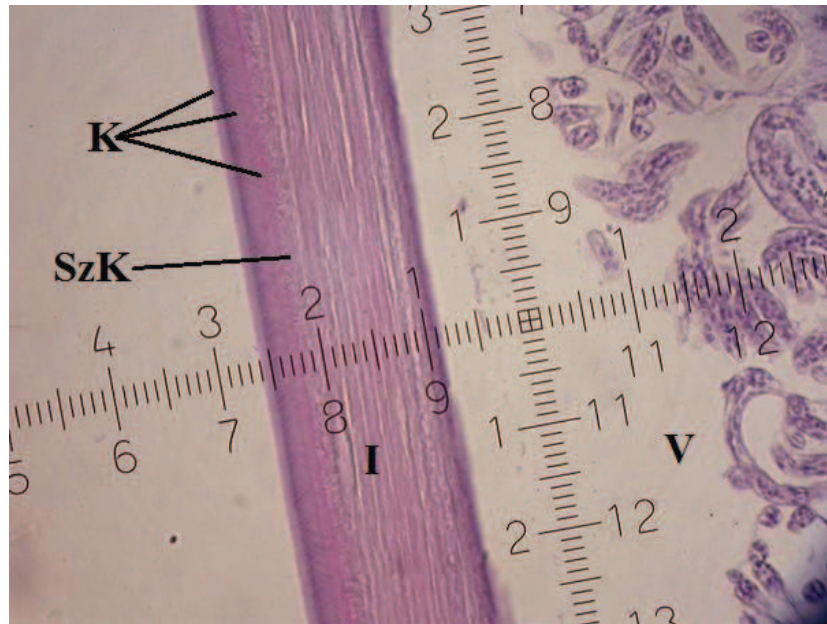
A féreg nőtény ivarát igazoltuk, hiszen a keresztmetszeti képeken jól látható az uterus és a benne szabadon levő mikrofiláriák átmetszete. Két egymás utáni hosszanti metszetben felfedezhető a vagina vera egy része és a tojócső (ovijector) izmos fala (**9-10. kép**), mely a mikrofiláriák külvilágra jutását segíti.



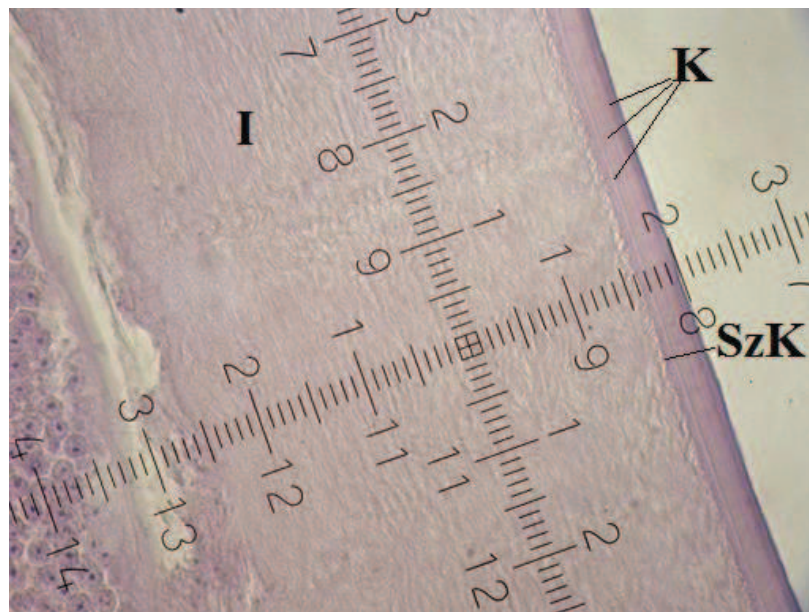
9-10. kép: Tojócső (TCs) és a vagina vera (VV) (200x nagyítás, HE- festés)

Dirofilaria immitis

A hossz- illetve keresztmetszeti képeken jól látszik, hogy hosszanti lefutású redők a kutikulán nincsenek jelen (**11-12. kép**). A kutikula vastagsága nőstény/hím esetén: 9,81 μm (6,28-15,70)/11,16 μm (7,74- 15,70), a szubkutikula vastagsága nőstény/hím esetén: 4,45 μm (2,36-6,28)/5,12 μm (3,14- 6,45), az izomtömlő vastagsága nőstény/hím esetén: 27,32 (15,70- 34,54) μm / 80,39 μm (31,40-125,60) (**5. táblázat**).



11. kép *D.immitis* nőstény kutikulája (400x nagyítás, HE-festés, 1 osztás 3,14 μm)
K: kutikula, SzK: szubkutikula, I: izomtömlő, V: vagina



12. kép *D. immitis* hím kutikula (400x nagyítás, HE-festés, hosszmetset, 1 osztás 3,14 μm)

K: kutikula, SzK: szubkutikula, I: izomtömlő

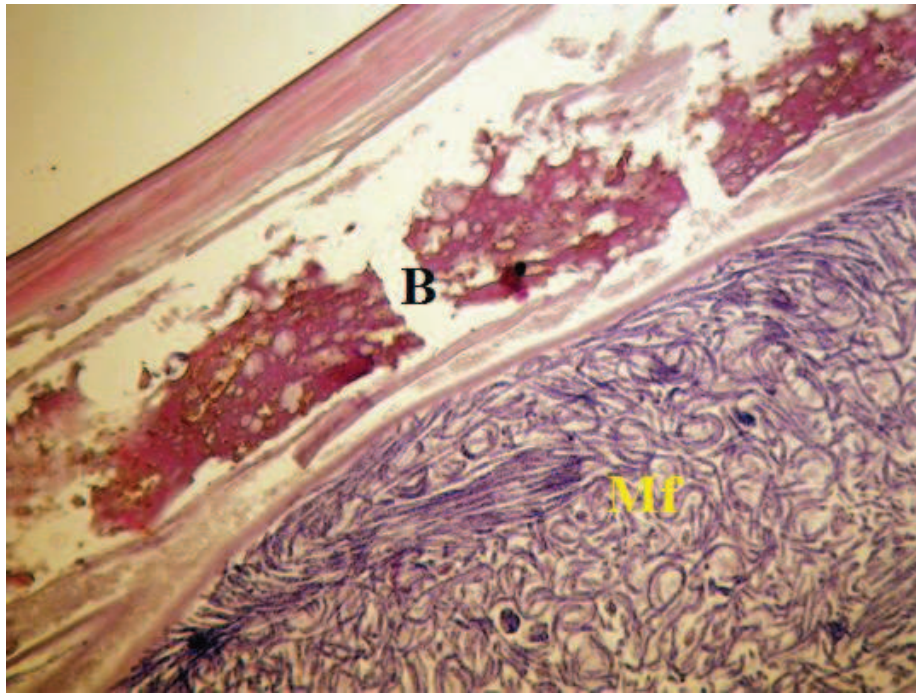
5 .táblázat A *D. immitis* nőtény és hím egyedének kutikula, szubkutikula és izomtömlőjének méretei (kék jelzi a legalacsonyabb, narancssárga a legmagasabb mért értéket, a sárga szín pedig az átlagolt értéket; a szorzó a mikroszkóp nagyításánál egy osztásnak megfelelő μm értéket jelenti, az egység pedig, hogy hány osztásnak megfelelő méretű volt az adott képlet)

<i>Dirofilaria immitis</i> nőtény									
Kutikula			Szubkutikula			Izom			
Méret (μm)	Egység	Szorzó	Méret (μm)	Egység	Szorzó	Méret (μm)	Egység	Szorzó	
7,07	2,25	3,14	5,50	1,75	3,14	15,70	5,00	3,14	
9,42	3,00	3,14	2,36	0,75	3,14	34,54	11,00	3,14	
7,85	2,50	3,14	4,71	1,50	3,14	26,69	8,50	3,14	
12,56	4,00	3,14	6,28	2,00	3,14	28,26	9,00	3,14	
6,28	2,00	3,14	3,14	1,00	3,14	31,40	10,00	3,14	
15,70	5,00	3,14	4,71	1,50	3,14	27,32			
9,81			4,45						

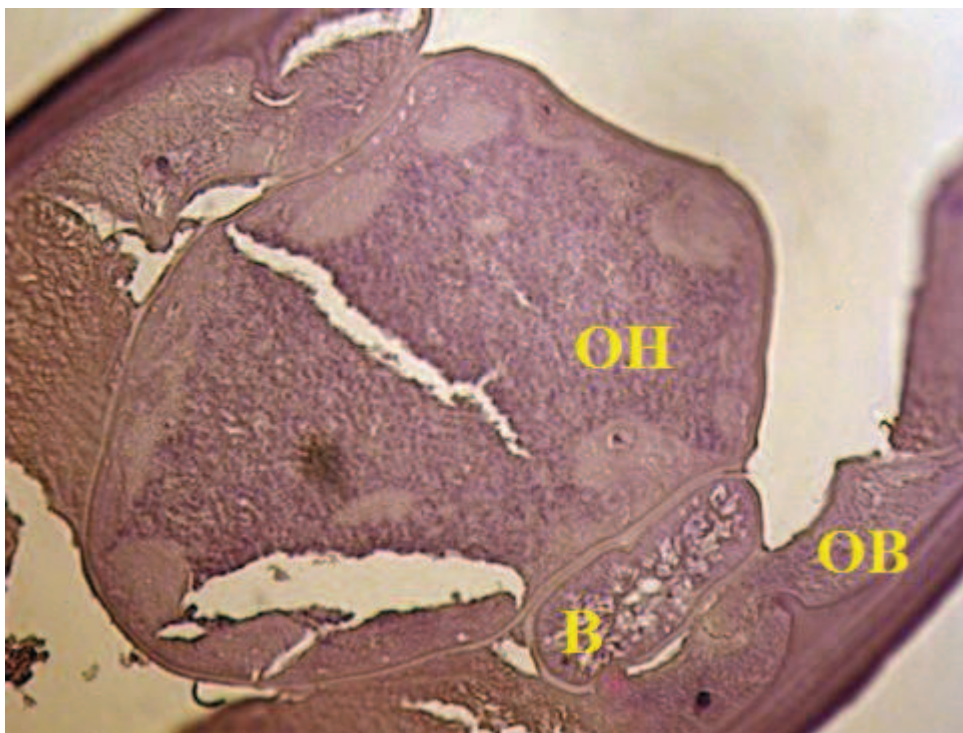
<i>Dirofilaria immitis</i> hím									
Kutikula			Szubkutikula			Izom			
Méret (μm)	Egység	Szorzó	Méret (μm)	Egység	Szorzó	Méret (μm)	Egység	Szorzó	
9,42	3,00	3,14	6,28	2,00	3,14	103,62	33,00	3,14	
9,42	3,00	3,14	4,71	1,50	3,14	125,60	40,00	3,14	
12,56	4,00	3,14	3,14	1,00	3,14	103,62	33,00	3,14	
9,42	3,00	3,14	6,45	5,00	1,29	91,06	29,00	3,14	
7,74	6,00	1,29	6,28	2,00	3,14	77,40	60,00	1,29	
14,19	11,00	1,29	3,14	1,00	3,14	90,30	70,00	1,29	
9,42	3,00	3,14	4,71	1,50	3,14	47,10	15,00	3,14	
12,56	4,00	3,14	6,28	2,00	3,14	53,38	17,00	3,14	
15,70	5,00	3,14	5,12			31,40	10,00	3,14	
11,16						80,39			

A nőtény féreg feji végének hosszmetézetében jól látszanak a bélben levő vörösvértetek, valamint a kiegyenesedett mikrofiláriák jelzik, hogy a női nemi traktus utolsó szakaszát láthatjuk (vagina vera) (**13. kép**)

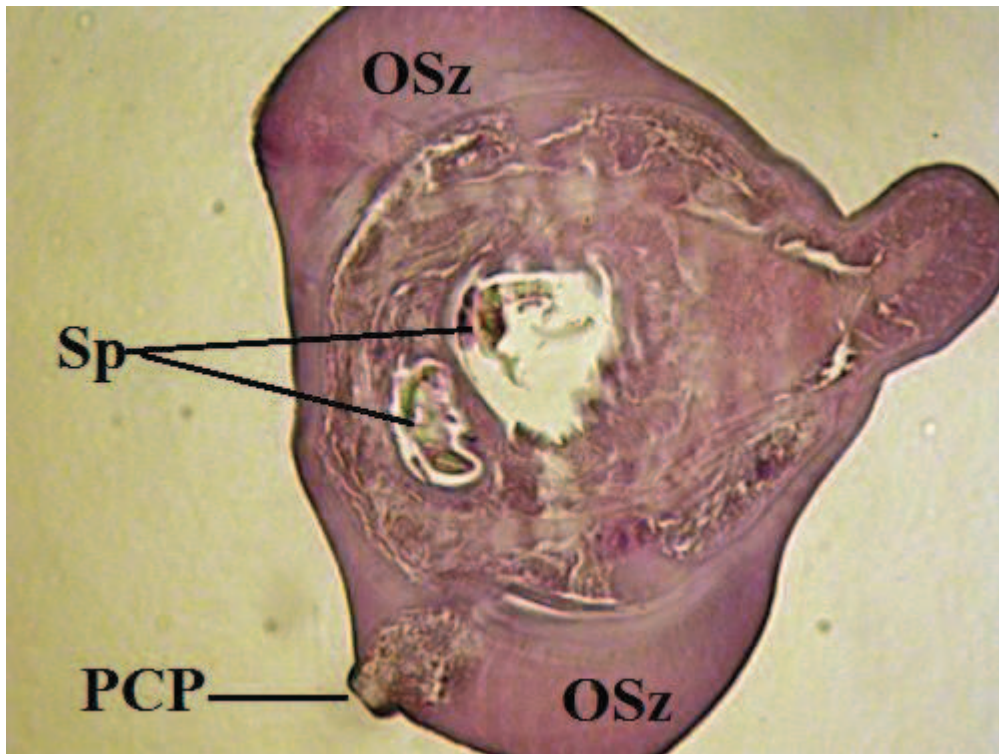
A hím egyed spirálisan csavart farki végének keresztmetzeti képeiben jól követhető az ondóhólyag (**14. kép**), majd a szpikulumok (**15. kép**). A herében levő spermatogoniumok és a ductus ejaculatorius hosszmetézetési képei a Mellékletben találhatóak (**Melléklet 1. és 2. kép**).



13. kép: A vulvanyíláshoz közeli középbélszakasz, benne a vörösvértetek (400x nagyítás, HE- festés) **B**: bél, **Mf**: mikrofiláriák



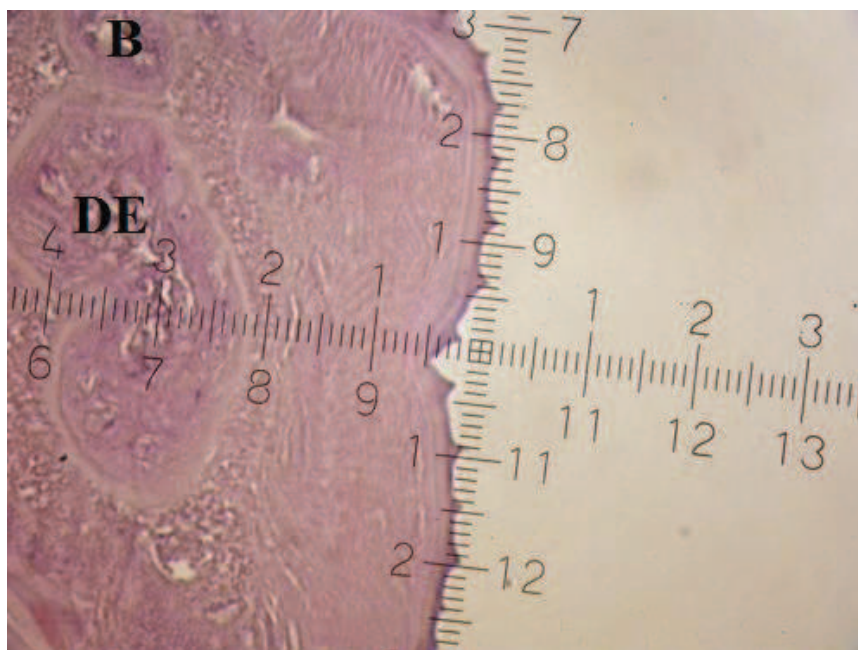
14. kép *D. immitis* ondóhólyag (400x nagyítás, HE- festés)
OH: ondóhólyag, **B**: bél, **OB**: oldalsó borda



15. kép *D. immitis* hím farki vég keresztmetszete (400x nagyítás, HE-festés)

Sp: szpikulumok, **PCP:**prekloakális papilla, **OSz:** oldalsó szárny

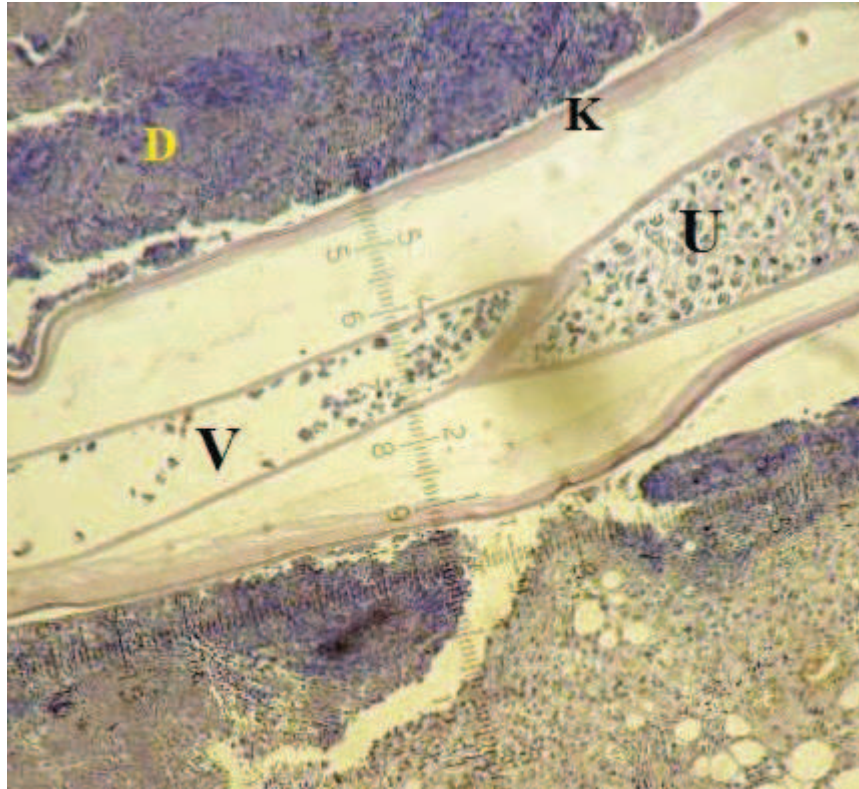
A *D. immitis* hímek farki végén a hasi oldalon látható kutikulamintázat a következő képen látható (16.kép), a redők magassága $11\mu\text{m}$ (9,42-12,56), a tarajszerű csúcsok közötti távolság $17,58\mu\text{m}$ (15,70-18,84), a redők alapja pedig $8,25\mu\text{m}$ (6,28-9,42).



16. kép *D. immitis* hím farki végének jellegzetes hosszanti redői (400x nagyítás, HE- festés, 1 osztás $3,14\mu\text{m}$) **DE:** ductus ejaculatorius, **B:**bél

A petefészekben talált féreg vizsgálata

A féreg hosszszetszeti képén jól látszik a kutikula és az alatta levő rétegek mérete, valamint megfigyelhető a petefészekben a féreg körüli lokális gyulladásos reakció (17-18. képek).



17. kép A petefészekben talált féreg hosszszetszete (250x nagyítás, HE- festés, 1 osztás 5,80 μm) **K**:kutikula, **U**: uterus, **V**:vagina,**D**: debris



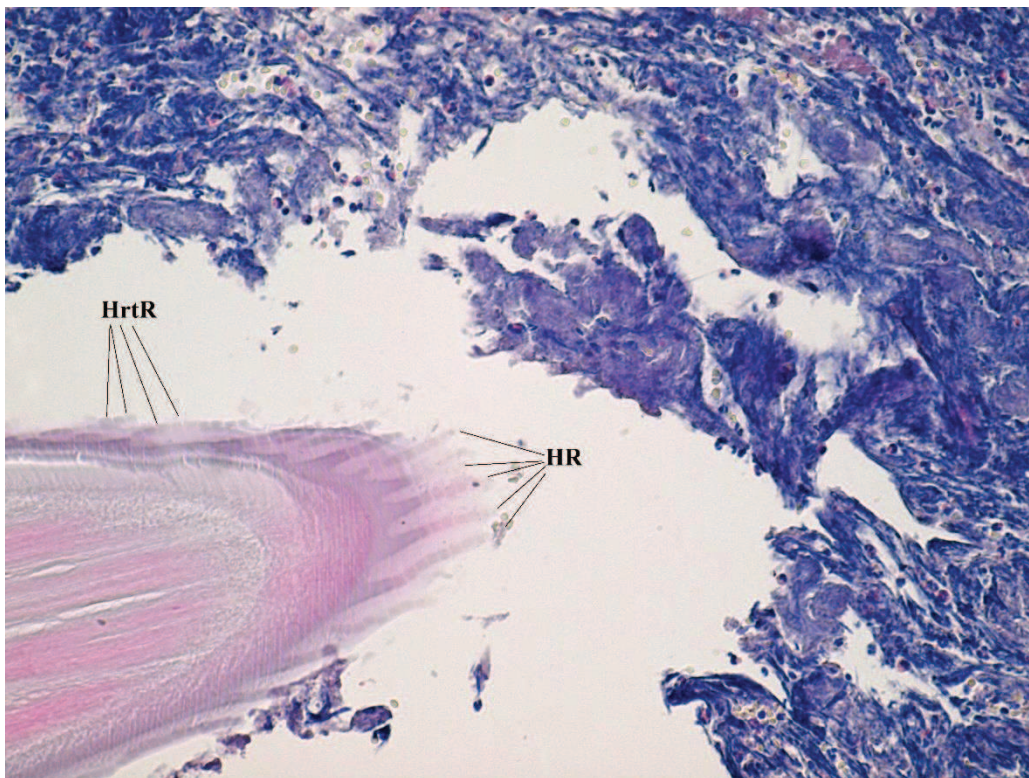
18. kép A talált féreg kutikulájának nagyobb nagyítással készült képe (400x nagyítás, HE- festés) **K**: kutikula, **Szk**: szubkutikula, **I**: izomtömlő

A talált féreg kutikulája 8,30 μm (6,28-10,20), a szubkutikulája 4,43 μm (3,14-6,28), az izomtömlője pedig 22,47 μm (15,70-37,68) (6. táblázat).

6. táblázat A petefészekben talált féreg kutikulájának, szubkutikulájának és izomtömlőjének méretei (kék jelzi a legalacsonyabb, narancssárga a legmagasabb mért értéket, a sárga szín pedig az átlagolt értéket; a szorzó a mikroszkóp nagyításánál egy osztásnak megfelelő μm értéket jelenti, az egység pedig, hogy hány osztásnak megfelelő méretű volt az adott képlet)

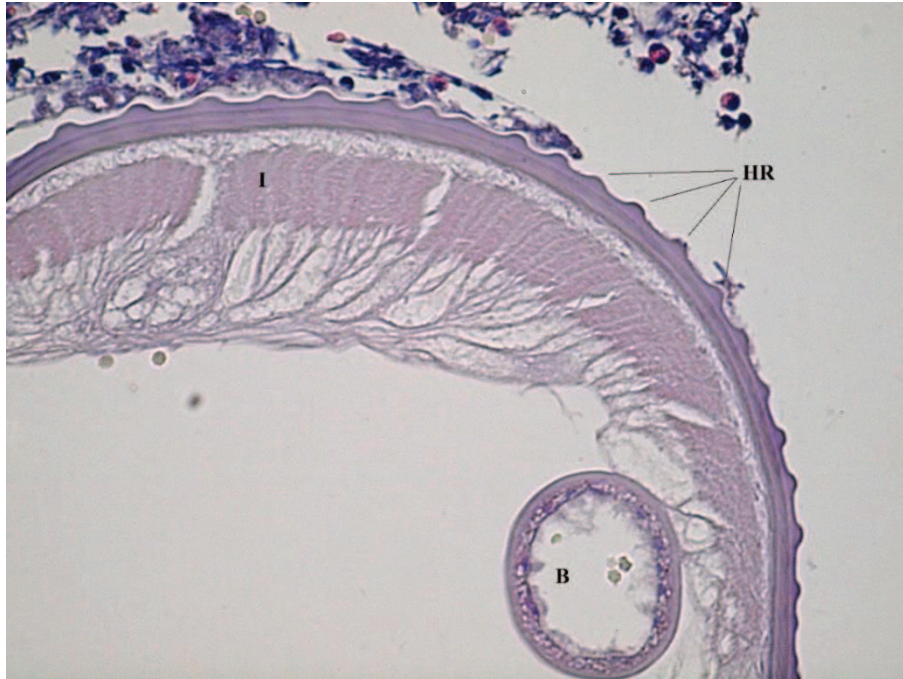
Petefészekben talált féreg									
Kutikula			Szubkutikula			Izomtömlő			
Méret (μm)	Egység	Szorzó	Méret (μm)	Egység	Szorzó	Méret (μm)	Egység	Szorzó	
10,20	1,00	10,20	6,28	2,00	3,14	17,40	3,00	5,80	
6,28	2,00	3,14	3,14	1,00	3,14	15,70	5,00	3,14	
7,85	2,50	3,14	5,16	4,00	1,29	37,68	12,00	3,14	
7,74	6,00	1,29	3,14	1,00	3,14	18,84	6,00	3,14	
9,42	3,00	3,14	4,43			23,22	18,00	1,29	
8,30						21,98	7,00	3,14	
						22,47			

A hosszmetzeti képek közül némelyiken a látszik a hosszanti redő többé-kevésbé egyenes lefutása is a kutikulánál történő metszés esetében (19. kép)



19. kép A parazita kutikulájának síkjában történő metszésnek köszönhetően látszanak a hosszanti redők (HR), illetve a harántirányú redők (HrtR). (200x nagyítás, HE- festés)

A parazita keresztmetszeti képein nagyobb nagyítással jól látszanak a kutikulán a hosszanti redők, melynek magassága $8,79\ \mu\text{m}$ (6,28-10,99), a redők csúcsainak egymáshoz való távolsága $13,74\ \mu\text{m}$ (10,99-15,7), a redők alapja pedig $10,47\ \mu\text{m}$ (6,28-12,56) (**20. kép**). A féreg testén körben 95 redőt számoltam meg.

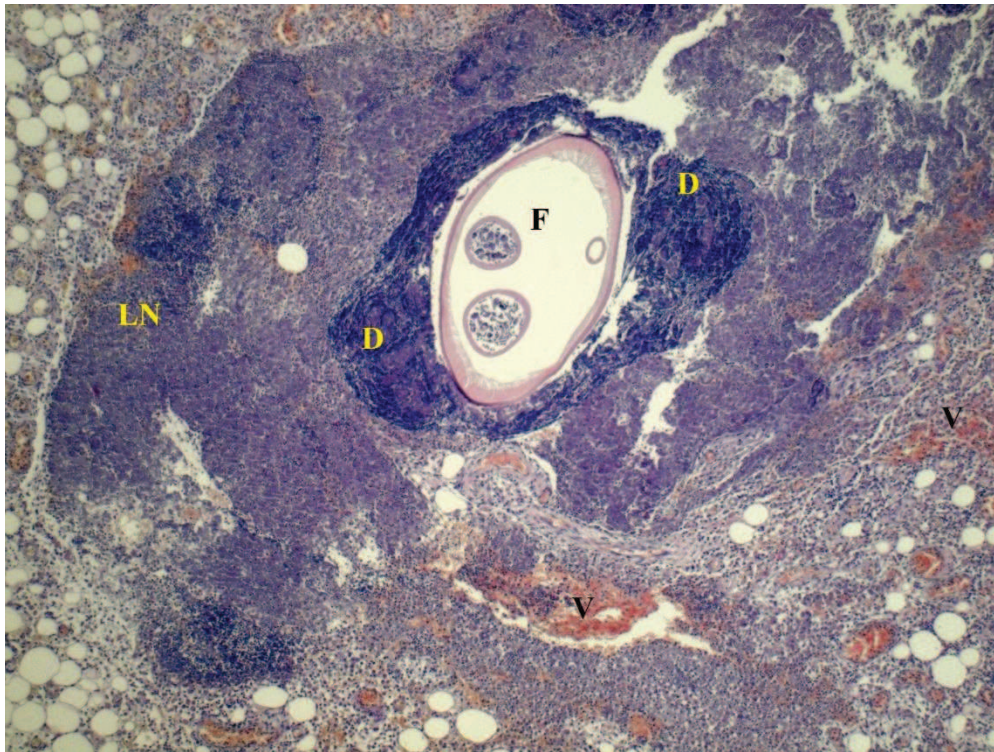


20. kép A kutikulán futó hosszanti redők átmetszetei (400x nagyítás, HE- festés)

HR: hosszanti redők, **I:** izomtömlő, **B:** bél

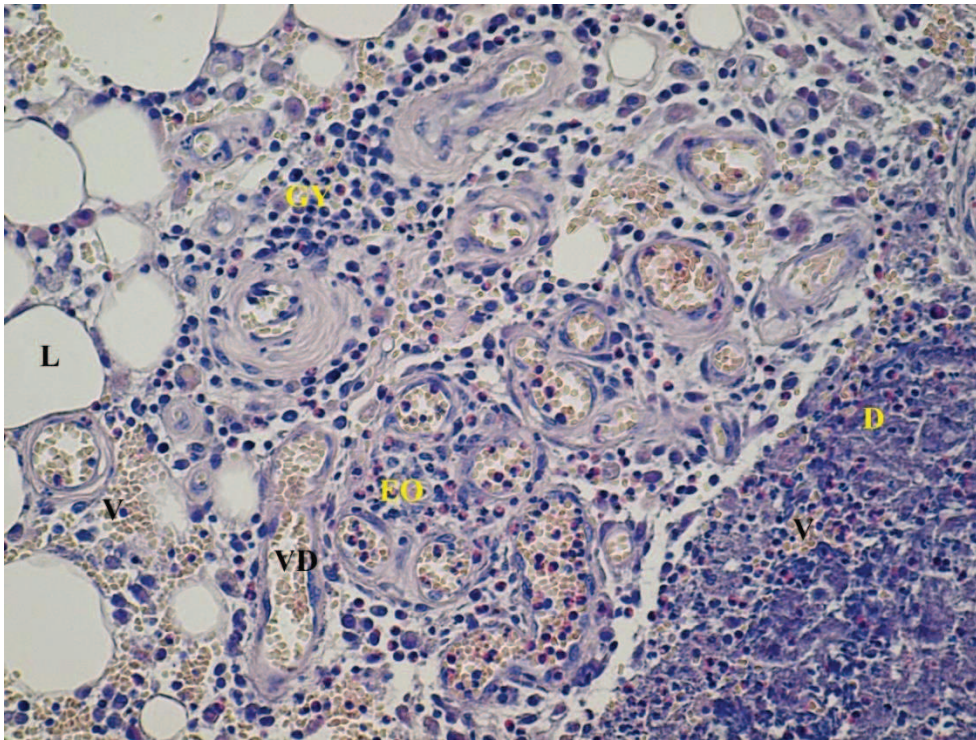
A féreg kereszt- és hosszmeteszeteiben egyaránt jól követhető női ivarszerveket találtam. Sajnos a benne talált mikrofiláriák hosszát nem tudtam lemérni, mert összetekeredett állapotban lettek elmeteszve.

A féreg a petefészkek bursájába való belépése körül, illetve az átfúrt zsírszövetben elhalásos-gyulladásos immunreakciót indított be. A parazita körül megfigyelhető sötétebb terület az úgynevezett *debris*, mely a gyulladásos izzadmányból, elhalt zsírszövetből és szövettörmeléből áll, ez a hematoxilint erősen köti, ezért festődik sötétkékre ez a terület (**21. kép**).



21. kép A féreg keresztmetszete körüli elhalásos-gyulladásos reakció (40x nagyítás, HE-festés) (D: debris, V: vérzés, LN: liponecrosis, F: féreg keresztmetszete)

A féreg keresztmetszete körül megfigyelhető a vasodilatatio, limfocitózis-neutrofiles beszűrődés, liponekrozis és az úgynevezett *magpor*, mely az elhalt neutrofilekből áll. Megfigyelhető még vasoproliferáció, illetve angiogenesis is (**22. kép**), valamint nagyobb nagyításánál látszik a leukocitadiapedesis, a környező terület eosinofilokkal beszűrt. A környező területen vérzés is látható, a hisztocitákban pedig nyomon követhető az eritrocitofagocitosis. A féreg többszörösen átfúrta a petefészket és mozgása nyomán több féregjártat maradt, amelyek körül ugyanezek a jelenségek megfigyelhetők (**Melléklet 3. kép**).



22. kép: Vasoproliferáció, eosinofilsejtes granulocytá túlsúly (200x nagyítás, HE- festés) (V:vérzés, Eo: eosinofil granulocytá túlsúly, L: zsírsejt, D: debris, Gy:gyulladásos sejtek, Vd: vasodilatatio)

A metszeteket megfestettük Perls, Giemsa és fibrin festéssel is (**Melléklet 4-6. kép**)

Összefoglalva a petefészek bursájában talált féreg kutikuláján megfigyelt haránt és hosszanti redőzöttség alakja és méretei, valamint az alatta látható háromrétegű szerkezet alapján a féreg valószínűleg *D. repens*-nek. A kutikula vastagsága kisebb volt, mint ami az irodalomban olvasható. Az általam megvizsgált példányon mért értékekben tapasztalható eltérés egyik oka lehet az, hogy ez a féreg ektópiásan helyezkedett el, nem a bőr alatti kötőszövetben. A belső struktúra (izomtömlő, bél, ivarszervek) megjelenése az irodalomban leírttal megegyezett. A féreg gravid nősténynek bizonyult, mivel a nőstény ivarszervekben találtam zigótát tartalmazó petéket, valamint peteburokban található mikrofiláriákat. A fertőzött állatból az állatorvos által beküldött vérmintában Knott-módszerrel vizsgálva viszont nem találtunk mikrofiláriákat.

A *D. repens* nőstény féreg teljes testhossza (11,5 cm) az irodalmi adatokkal szinkronban van /LENT-FREITAS, 1937/. Kettős ivarszerveket találtunk, az uterusban peteburokba zártan mikrofiláriákat is, ez alapján egy gravid nőstényről van szó.

A kutikulán található hosszanti redők száma közel azonos a GUTIERREZ, 1984 cikkében leírtakkal (az eltérés adódhat abból, hogy a metszetben nem teljesen egy síkba kerültek mindenhol a redők, így egyes redőket csak sejteni lehetett). A belső szerkezet megegyezett az irodalomban leírtakkal.

A *D. immitis* nőtény és hím példányok hossza és átmérője megegyezett az irodalomban leírtakkal /LOK, 1988/. A kutikula sima volt, csak a genusra jellemző haránt irányú redőket lehetett felfedezni pár metszetben, valamint az izomtömlő vastagsága is igazolta az irodalomban olvasottakat. A hím példány esetén jól megfigyelhető volt a csavarodott farki vég jellegzetes mintázata, valamint a hím nemi szervek hossz- illetve keresztmetszetében jól követhetőek a nemi traktus különböző részeinek jellegzetességei.

Összefoglalás

Magyarországon az utóbbi 15 évben egyre gyakrabban találkoznak a praktizáló állatorvosok a bőr-dirofilariosissal és az utóbbi néhány évben a szívférgességgel kutyában. Természetes előfordulási helyükön kívül a fejlődési alakok vándorlása miatt találkozhatunk ektópiás helyeken is akár a kifejlett, akár a még fejlődő alakokkal. Ilyen esetben fontos differenciálni, hogy melyik fajról van szó, hiszen élő állatban például egy műtét során ektópiás helyen megtalált *D. immitis* felveti azt a lehetőséget, hogy vajon a szívben nincsen-e további féreg. A kórboncolás során megtalált férgek faji azonosítása pedig hasznosnak bizonyulhat a *Dirofilaria*-fajok elterjedtségi adatainak kiegészítésére, esetleg adott féregfajra endémiás területek megtalálására.

Az irodalomban csak néhány esetben írtak le ektópiás helyen megjelenő férgeket, ezen belül is csak *D. immitis*ről jelentek meg cikkek.

Dolgozatom fő témája egy állatorvos által a Parazitológiai és Állattani Tanszékre beküldött petefészekben és annak bursájában található féreg szövettani metszetekben való vizsgálata és ehhez kapcsolódóan *D. repens* illetve *D. immitis* metszetekben való megjelenésének vizsgálata volt. A férgeket formalinban fixáltuk, majd szövettani metszeteket készítettünk, melyeket hematoxin-eozin, Perls-, Giemsa- és fibrinfestéssel festettünk meg.

A vizsgálatom során a jellegzetes morfológiai adatok alapján megállapítottam, hogy a petefészeket átfúró féreg valószínűleg egy *D. repens* gravid nőstény.

További vizsgálatokkal, például PCR-rel lehetne DNS alapján is igazolni a feltevést, de dolgozatom célja a morfológiai jegyek alapján való meghatározás volt.

Summary

In the last 15 years dirofilariosis is more common in Hungary, there is also the causative agent of subcutaneous-dirofilariosis and in the last few years the heart-dirofilariosis is also apparented. Because of the larval migration of this worm it can be found at other places than usual, both the young and adult forms. In that case it is important to differentiate which kind we have to deal with, because for example during a surgery *D. immitis* occurred in an ectopic place need to think about if there any other helminths somewhere else. The helminths found during a dissection need to be differentiated to help to give data to the spreading maps, or can help to find endemic places for one or both species.

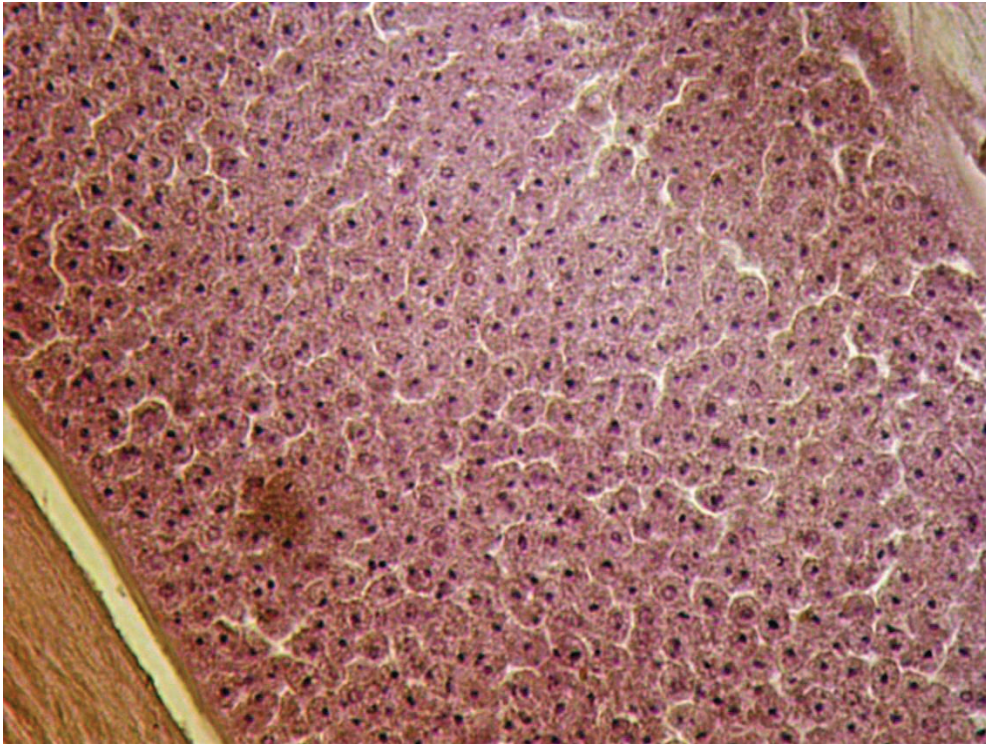
In the literature there is just a few articles about ectopic parasites, and only just from *D. immitis*.

The main topic of my thesis is based on a worm which was sent to the Parasitology and Zoology Department from an outdoor veterinarian, who found the worm during a surgery in the bursa of the ovary. I examined this sample in histological slides and in connection with it I examined also *D. repens* and *D. immitis* in transversal and horizontal sections. The worms were fixed in formaline, after that we made the slides staining with hematoxylin-eosin, Perls, Giemsa and fibrin-dye.

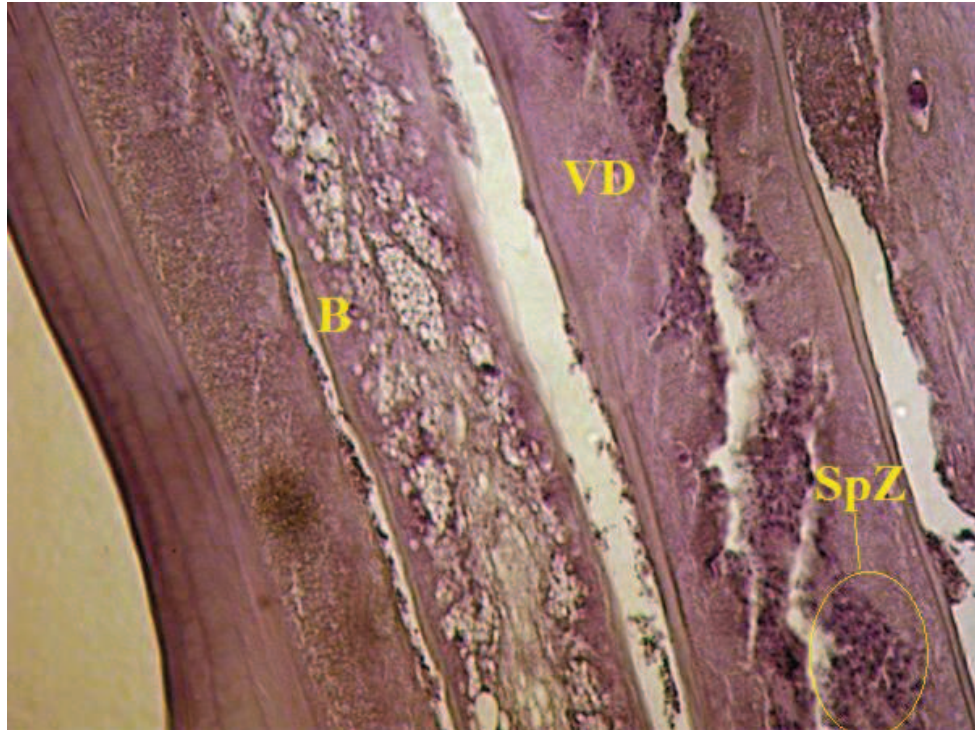
During my examination I find that the worm in the ovary should be *D. repens* based on the morphological data.

With further examination, for example with PCR, we can assure the result, but my thesis is just about the morphological differentiation.

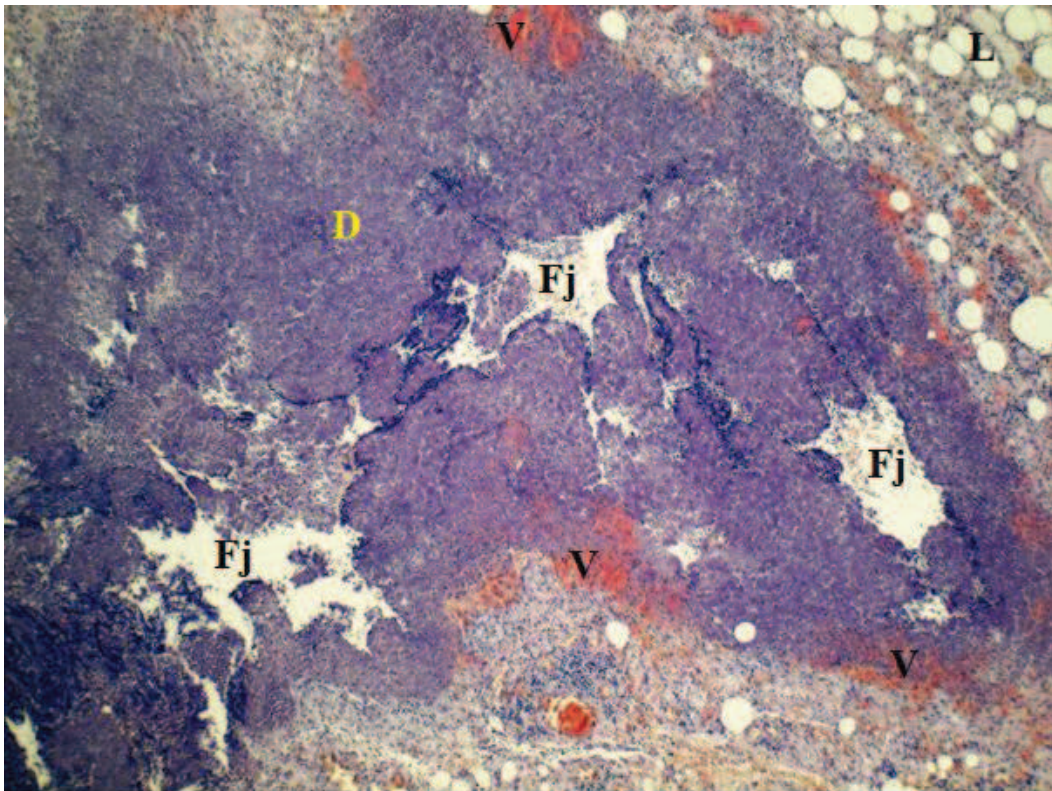
Mellékletek



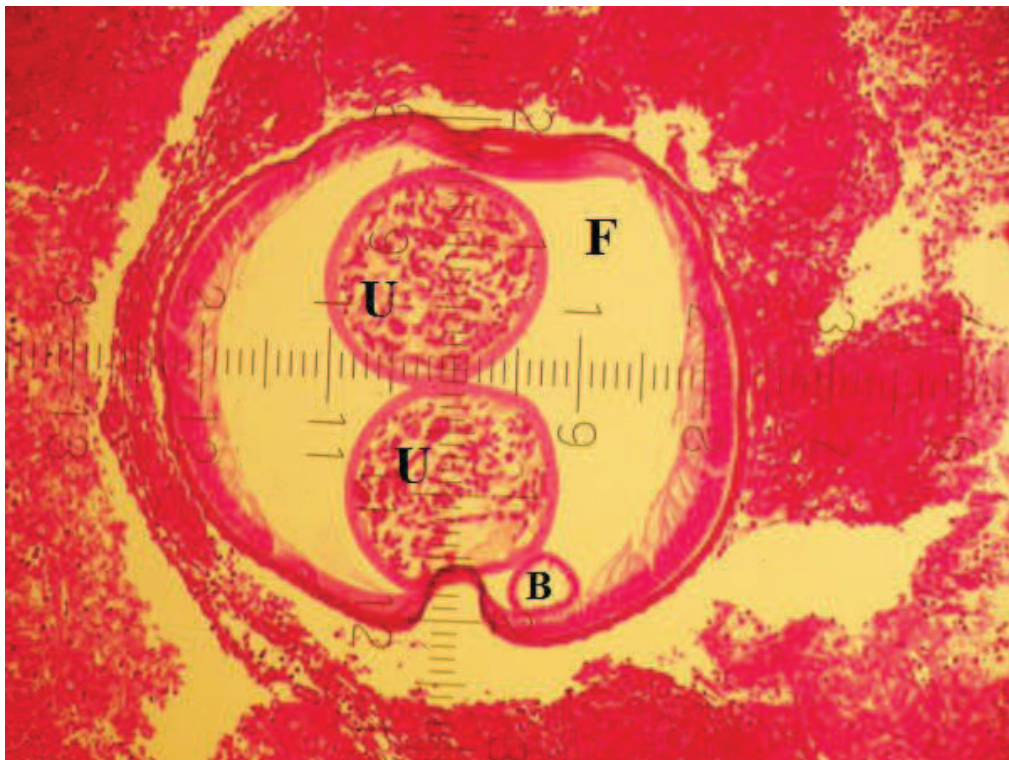
1. kép Spermatogoniumok a herében (400x nagyítás, HE- festés)



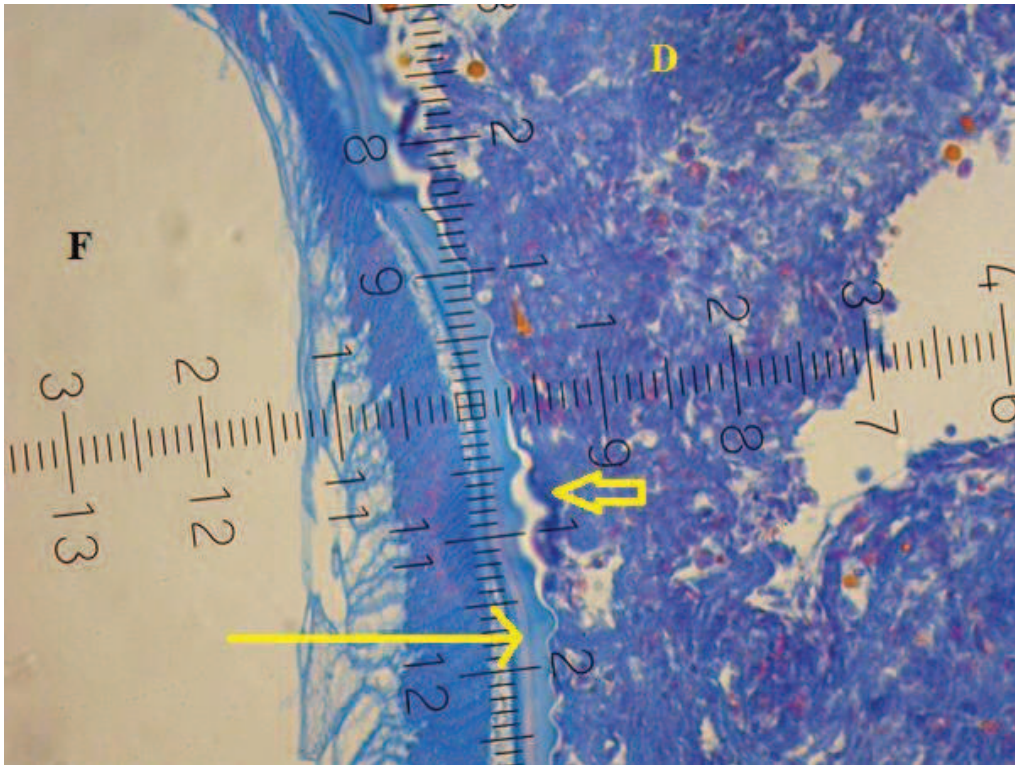
2. kép Az ondóvezető és a benne levő spermatozoák (400x nagyítás, HE- festés, hosszmetset) **B**: bél, **VD**: vas deferens, ondóvezető, **SpZ**: spermatozoák



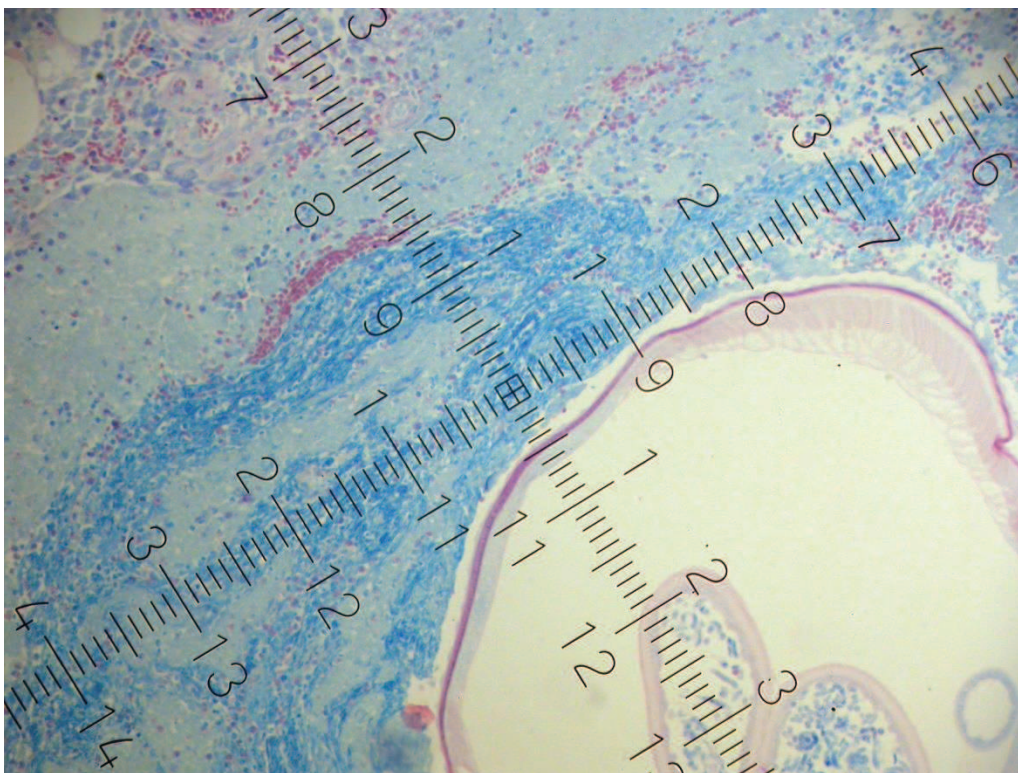
3. kép Az üres feregjáratok körül is megfigyelhető az elhalás és gyulladáisos reakció (400x nagyítás, HE- festés)



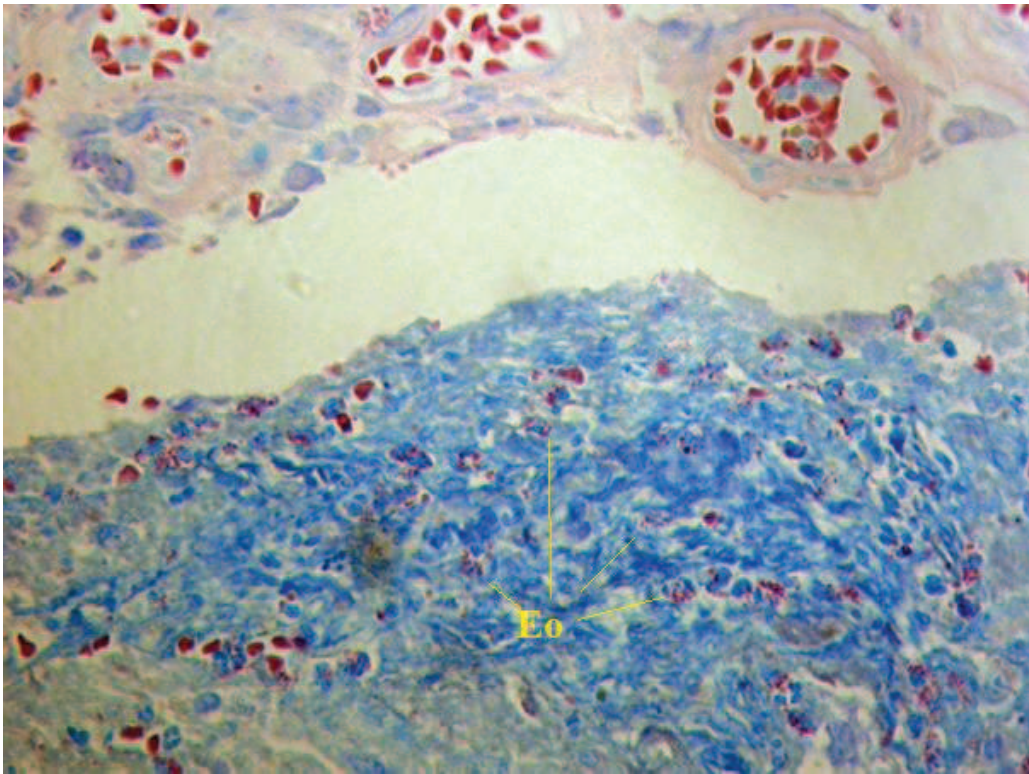
4. kép A petefészket átfúró fereg keresztmetszete (125x nagyítás, Perls- festés, 1 osztás 10,2 μ m) F: fereg átmetszete, U: méh, B: bél



5. kép A féreg kutikulájának lenyomata (400x, fibrin-festés) **F**: a féreg keresztmetszete, **D**: debris, **vastag nyíl**: a kutikula lenyomata a szövetben, **vékony nyíl**: a kutikula 2 rétege élesen elkülönül



6. kép A férget körülvevő szövetben látszanak a vörösvérsejtek és eosinofil granulociták (400x nagyítás, Giemsa-festés)



7. kép Az előző képből kinagyítva jól látszanak az eosinofil granulociták (400x nagyítás, optikai zoom, Giemsa-festés) **Eo**: eosinofil granulociták

Köszönetnyilvánítás

Köszönetet szeretnék mondani a Parazitológiai és Állattani Tanszék dolgozóinak, elsősorban dr. Fok Évának a rendelkezésemre bocsátott vizsgálati anyagokért és a lelkes témavezetői hozzáállásért, az Állategészségügyi Diagnosztikai Igazgatóság Kórszövettani osztályáról Mészáros Ágnesnek a metszetek elkészítéséért. Továbbá hálás köszönettel tartozom Patológiai Tanszékről dr. Mándoki Mírának a rendelkezésre bocsátott boncolási fényképekért és a segítő hozzáállásért, dr. Jakab Csabának a fényképek elkészítésében és a szövettani metszet kiértékelésében nyújtott segítségéért és Pop Renátának a speciális festésű metszetek elkészítéséért.

Irodalomjegyzék

- ABRAHAM, D.: **Biology of *Dirofilaria immitis***. In: BOREHAM, P. F. L., ATEWELL, R. B. (1988): *Dirofilariasis*, Florida: CRC Press. 29-46.
- BORGARELLI, M., VENCO, L., PIGA, P.M., BONINO, F., RYAN, W. G. (1997): **Surgical removals of heartworms from the right atrium of a cat**. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 211.(1): 68-69
- BOROS G., JANISCH M., SEBESTYÉN GY. (1982): ***Dirofilaria immitis* fertőzöttség kutyában**. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 37.(5), 313-316.
- BOWMAN, D. D., HENDRIX, C. M., LINDSAY, D. S., BARR, S.C. (2002): **Feline Clinical Parasitology**. Iowa: Iowa State University Press, 331-337.
- CIOCAN, R., DARABUS, G., IGNA, V. (2010): **Morphometric study of microfilariae of *Dirofilaria* spp. on dogs**. *Bulletin of UASVM, Veterinary Medicine*, 67.(2), 45-49.
- DANG, T. C. T., NGUYEN, T. H., DO, T. D., UGA, S., MORISHIMA, Y., SUGIYAMA, H., YAMASAKI, H. (2010): **A human case of subcutaneous dirofilariasis caused by *Dirofilaria repens* in Vietnam: histologic and molecular confirmation**. *Parasitology Research*, 107.(4), 1003–1007.
- DANTAS-TORRES, F., LIA, R. P., BARBUTO, M., CASIRAGHI, M., CROVACE, A., CALIGIANI, L., GENCHI, C., OTRANTO, D. (2009): **Ocular dirofilariosis by *Dirofilaria immitis* in a dog: first case report from Europe**. *Journal of Small Animal Practice* 50.(12), 667–669.
- EXECUTIVE BOARD OF THE AMERICAN HEARTWORM SOCIETY (2014): **Current feline guidelines for the prevention, diagnosis and management of heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection in cats**. Wilmington: American Heartworm Society.
Letöltés dátuma: 2014.03.19, forrás: <http://www.heartwormsociety.org/pdf/2014-AHS-Feline-Guidelines.pdf>

- FAVOLE, P., CAUDURO, A., OPRENI, M., ZANZANI, S., ALBONICO, F., MANFREDI, M., CANTILE, C., LORENZO, V. (2013): **Epidural dirofilariosis in a paraparetic cat: case report of *Dirofilaria immitis* infection.** *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 15.(12), 1160-1164
- 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., GYURKOVSKY M. (2007): **Preliminary results of an epidemiological survey on dirofilariosis of dogs and cats in Hungary. *Dirofilaria immitis* and *Dirofilaria repens* in dog and cat and human infections.** In Genchi, C., Rinaldi, L., Cringoli, G. (Szerk.) (2007): *Mappe Parassiologicalhe* 8. Naples, Italy: Rolando Editore, p. 195-196. ISBN: 88-89132-14-0
- FOK É., VARGA ZS. (2011): **Ajánlás kutyák és macskák *Dirofilaria repens* és *Dirofilaria immitis* okozta fertőzöttség megelőzésére és kezelésére.** Letöltés dátuma: 2014. 03.04, forrás : <http://www2.univet.hu/units/parazitologia/own/cikk10.pdf>
- FURTADO, A. P., MELO, F. T. C., GIESE, E. G., dos SANTOS J., N. (2010): **Morphological redescription of *Dirofilaria immitis*.** *The Journal of Parasitology*, 96.(3), 499-504.
- GENCHI, C., GUERRERO, J., McCALL, J. W., VENCO, L.: **Epidemiology and prevention of *Dirofilaria* infections in dogs and cats.** In: Genchi, C., Rinaldi, L., Cringoli, G.(Szerk.) (2007): *Mappe Parassiologicalhe* 8. Naples, Italy: Rolando Editore. p146-161.
- GENCHI, C., RINALDI, L., MORTARINO, M., GENCHI, C., CRINGOLI, G. (2009): **Climate and *Dirofilaria* infection in Europe.** *Veterinary Parasitology*, 163., 286-292.
- GUTIERREZ, Y. (1984): **Diagnostic features of zoonotic filariae in tissue sections.** *Human pathology*, 15.(6), 514-525.
- HAMIR, A. N. (1987): **Heartworm *Dirofilaria immitis* in the brain of a dog.** *Veterinary Record*, 120.(9), 207-208.

- HERKE P., SZÓTS T., LOHINAI GY., KERESZTÉNYI J., KUCSERA I., FOK É., SÁPI Z., KONYÁR É. (2013): **Oknyomozás egy parazitás megbetegedés (*Dirofilariosis*) ritka, tüdőbeli manifesztációja kapcsán.** *Medicina Thoracalis*, 66.(1), 2-9.
- ISHIHARA K., KITAGAWA H., SASAKY Y. (1988): **Efficacy of heartworm removal in dogs with dirofilarial hemoglobinuria using flexible alligator forceps.** *The Japanese Journal of Veterinary Science*, 50.(3), 739-745.
- JACSÓ O., FOK É. (2006): **A kutyák és a macskák *Dirofilaria repens* fertőzöttségének kimutatása laboratóriumi módszerekkel.** *Magyar Állatorvosok Lapja*, 128., 683-690.
- JACSÓ O., MÁNDOKI M., MAJOROS G., PÉTSCH M., M. MORTARINO, C. GENCHI, FOK É. (2009): **First autochthonous *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856) infection in a dog in Hungary.** *Helminthologia*, 46.(3), 159-161.
- JACSÓ O. (2014): **A *Dirofilaria*-fajok hazai elterjedtsége és állategészségügyi jelentősége, a gyógykezelés tapasztalatai.** *PhD disszertáció, benyújtva a doktori eljárás megindításához 2014. 03.26.*
- KASSAI T. (2011): **Helmintológia.** Budapest: MÁOK. p. 188-192.
- KELLY, J. D. (1973): **Detection and differentiation of microfilariae in canine blood.** *Australian Veterinary Journal*, 49.(1), 23-27.
- KIM, M. K., KIM, C. H., YEOM, B. W., PARK, S. H., CHOI, S. Y., CHOI, J. S. (2002): **The first human case of hepatic dirofilariasis.** *Journal of Korean Medical Science*, 17.(5), 686-690.
- KLOCHKO, A., WALLACE, M. R. (2013): **Dirofilariasis.** Letöltés dátuma: 2014.03.12, forrás: <http://emedicine.medscape.com/article/236698-overview>
- KOTANI, T., TOMIMURA, T., OGURA, M., MOCHIZUKI, H., HORIE, M. (1975): **Pathological studies on the ectopic migration of *Dirofilaria immitis* in the brain of dogs.** *Japanase Journal of Veterinary Science*, 37.(2), 141-154.
- KOTLÁN S. (1961): **Parazitológia.** Budapest: Mezőgazdasági Kiadó. 219-230, 353-357.

- KOZEK, W. J. (1971): **Ultrastructure of the microfilaria of *Dirofilaria immitis***. *The Journal of Parasitology*, 57(5), 1052-1067.
- LEE, S. E., SONG, K. H., LIU, J., KIM, M. C., PARK, B. K., CHO, K. W., HASEGAWA, A., KIM, D. H. (2004): **Comparison of the acid -phosphatase staining and polymerase chain reaction for detection of *Dirofilaria repens* infection in dogs in Korea**. *Journal of Veterinary Medical Science/ the Japanese Society of Veterinary Science*, 66(9), 1087-1089.
- LIOTTA, J., SANDHU, G., RISHNIW, M., BOWMAN, D. (2013): **Differentiation of the microfilariae of *Dirofilaria immitis* and *Dirofilaria repens* in stained blood films**. *The Journal of Parasitology*, 99(3), 421-425.
- LOK, J. B. ***Dirofilaria* sp.:Taxonomy and distribution**. In BOREHAM, P. F., ATWELL, R. B. (1988): *Dirofilaria* sp.:Taxonomy and distribution. Florida: CRC Press. (p. 2-28).
- MAGNIS, J., LORENTZ, S., GUARDONE, L., GRIMM, F., MAGI, M., NAUCKE, T.J., DEPLAZES P. (2013): **Morphometric analyses of canine blood microfilariae isolated by the Knott's test enables *Dirofilaria immitis* and *D. repens* species-specific and *Acanthocheilonema* (syn. *Dipetalonema*) genus-specific diagnosis**. *Parasites and Vectors* 6(48), doi:10.1186/1756-3305-6-48
- MANFREDI, M. T., DI CERBO, A., GENCHI, M.: **Biology of filarial worms parasiting dogs and cats**. In: Genchi, C., Rinaldi, L., Cringoli, G.(Szerk.) (2007): *Mappe Parassitologiche* 8. Naples, Italy: Rolando Editore. p. 41-45
- MOLNÁR V., PAZÁR P., RIGÓ D., MÁTHÉ D., FOK É., GLÁVITS R., VAJDOVICH P., JACSÓ O., BALOGH L., SÓS E. (2010): **Autochthonous *Dirofilaria immitis* infection in a ferret with aberrant larval migration in Europe**, *Journal of Small Animal Practice*, 51, 393-396.
- MURO, A., GENCHI, C., CORDERO, M., SIMÓN, F. (1999): **Human *Dirofilaria immitis* infection in the European Union**. *Parasitology Today*, 15(9), 386-389.

- NELSON, C. T., McCALL, J. W., CARITHERS, D. (2014): **Current canine guidelines for the prevention, diagnosis and management of heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection in dogs.** Wilmington: American Heartworm Society. Letöltés dátuma: 2014.03.19, forrás: <http://www.heartwormsociety.org/pdf/2014-AHS-Canine-Guidelines.pdf>
- NOZAIS J.P., BAIN O., GENTILINI M. (1994): **A case of subcutaneous *Dirofilaria (Nochtiella) repens* with microfilaremia originating in Corsica.** *Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique* 87.(3),183-185.
- OH, H.-W., JUN, H.-K., YOU, M.-J., HAYASAKI, M., SONG, K.-H. (2008): **Ectopic migration of an adult heartworm in a dog with dirofilariasis.** *Korean Journal of Parasitology*, 46.(3), 171-173.
- OLIVEIRA, C., RADEMACHER, N., DAVID, A., VASANJEE, S., GASCHEN, L. (2010): **Spontaneous pneumonia in a dog secondary to *Dirofilaria immitis* infection.** *Journal of Veterinary Diagnostic investigation*, 22.(6), 991-994.
- ORIHÉL, T. C. (1961): **Morphology of the larval stages of *Dirofilaria immitis* in the dog.** *The Journal of Parasitology*, 47.(2), 251-262.
- ORIHÉL, T. C., EBERHARD, M. L. (1988): **Zoonotic filariasis.** *Clinical Microbiology Reviews*, 11.(2), 366-381.
- OTRANTO, D., DANTAS-TORRES, F., BRIANTI, E., TRAVERSA, D., PETRIĆ, D., GENCHI, C., CAPELLI, G. (2013): **Vector-borne helminths of dogs and humans in Europe.** *Parasites and Vectors*, 6.(16). doi:10.1186/1756-3305-6-16
- PARK, J.K., KIM, A.Y., LEE, E.M., LEE, E.J., KWAK, D.M., HONG, I.H., CULLEN, J.M., JEONG K.S. (2013): **Granulomatous metritis caused by suspected *Dirofilaria immitis* in a dog: a case report.** *Veterinari Medicina*, 58.(8): 437–441.

- PINGEN, C. H., LORENTZ, S., MAGNIS, J., MENN, B., SCHAPER, R., NAUCKE, T. J. (2009): **Successful treatment of *Dirofilaria repens* infections in dogs with melarsomine (Immiticide®, Merial) against adults and a combination of moxidectin 2.5%/imidacloprid 10% (Advocate®, Bayer) against microfilaria.** Bayer. Letöltés dátuma: 2014. 01 30, forrás: http://www.laboklin.de/pdf/en/publications/2009_WAAVP_Calgary_Pingen.pdf
- RAWLINGS, C. A., DAWE, D. L., McCALL J. W., KEITH, J. C., PRESTWOOD, A. K. (1982): **Four types of occult *Dirofilaria immitis* infection in dogs.** *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 180.(11),1323-1326.
- RHEE, J. K., YANG, S. S., KIM, H. C. (1998): **Periodicity exhibited by *Dirofilaria immitis* microfilariae identified in dogs of Korea.** *The Korean Journal of Parasitology*, 36.(4), 235-239.
- RODRIGUES-SILVA, R., LANFREDI, R. M., VICENTE, J. J., PINTO, R. M., GOMES, D. C. (1999): **On the rugose area and caudal papillae distribution in *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856) Railliet & Henry, 1911, by scanning electron microscopy.** *Parasitology Research*, 85, 867-869. Internetes megtekintés: 2014.03.30, forrás: <http://link.springer.com/article/10.1007/s004360050648#page-1>
- SIM, C., KIM, H.C., SON, H.Y., JUNG, J.Y., RYU, S.Y., PARK, B.K. (2013): **Description of peritoneal cavity dirofilariosis caused by *Dirofilaria immitis* (Filarioidea: Onchocercidae) in a dog: a case report.** *Veterinarni Medicina*, 58. (2): 105–108.
- SONG, K. H., TANAKA, S., HAYASAKI, M. (2009): **Scanning electron microscopic observation of *Dirofilaria immitis* microfilaria.** *Journal of Veterinary Medicine Science*, 71.(6), 779-783.
- STEELE, J. H., HILLYER, G., HOPLA, C.E. (1982):**CRC Handbook Series in Zoonoses Section C: Parasitic zoonoses.** *CRC Press*, p.94-95.
- 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.

- TARELLO, W. (2002): **Dermatitis associated with *Dirofilaria (Nochtiella) repens* microfilariae in dogs from central Italy.** *Acta Veterinaria Hungarica*, 50(1), 63-78.
- TASIČ, A., TASIČ, S., MILADINOVIČ-TASIČ, N., ZDRAVKOVIČ, D., DJORDJEVIČ, J. (2007): ***Dirofilaria repens* - Potential danger to human health.** *Acta Medica Mediana*, 46(3), 52-55.
- TILLEY, L., WILKINS, R. (1974): **The Difil Test Kit for detection of canine heartworm microfilariae.** *Veterinary Medicine Small Animal Clinician*, 69(3), 288-294.
- VENCO, L.: **Heartworm (*Dirofilaria immitis*) disease in dogs.** In G. Cringoli, & L. R. Claudio Genchi (Szerk.) (2007): *Mappe Parassitologiche* 8. Naples, Italy: Rolando Editore. p. 117-136
- WEBBER, W. A. F., HAWKING, F. (1955): **Experimental maintenance of *Dirofilaria repens* and *D. immitis* in dogs.** *Experimental Parasitology*, 4, 143-164.
- WONG, M. M., BRUMMER, M. (1978): **Cuticular morphology of five species of *Dirofilaria*: a scanning electron microscope study.** *The Journal of Parasitology*, 64(1), 108-114.