

Diplomamunka

Sipos Eszter
2019

Állatorvostudományi Egyetem

Gyógyszertani és Méregtani Tanszék



Moxidectin és doxiciklin tartós kombinált terápia *Dirofilaria immitis*szel fertőzött kutyákban.

Készítette: **Sipos Eszter**
állatorvos szak, VI. évfolyam

Témavezető: **Dr. Jerzsele Ákos**
tudományos és kutatási rektorhelyettes, tanszékvezető, egyetemi docens

Tanszékvezető: **Dr. Jerzsele Ákos**
tudományos és kutatási rektorhelyettes, tanszékvezető, egyetemi docens

Budapest

2019

Állatorvostudományi Egyetem

Gyógyszertani és Méregtani Tanszék



Moxidectin és doxiciklin tartós kombinált terápia *Dirofilaria immitis*szel fertőzött kutyákban.

Készítette: **Sipos Eszter**
állatorvos szak, V. évfolyam

Témavezető: **Dr. Jerzsele Ákos**
egyetemi docens

Tanszékvezető: **Dr. Gálfi Péter**
tanszékvezető, egyetemi tanár

Budapest

2018

Tartalom

Rövidítések jegyzéke	2
1 Bevezetés és célkitűzés	3
2 Szakirodalmi áttekintés	5
2.1 <i>Dirofilaria immitis</i> (Leidy, 1856)	5
2.2 A szívférgesség előfordulása Európában	7
2.3 Szívférgesség diagnosztikája	8
2.3.1 Differenciál-diagnózis a <i>Dirofilaria repens</i> -től	8
2.3.2 Mikroszkópos vizsgálatok	9
2.3.3 Szerológia	11
2.3.4 Molekuláris biológia (PCR)	12
2.3.5 Műszeres diagnosztikai eljárások	12
2.4 Szívférgesség megelőzése és kezelése	13
2.4.1 Dirofilariosis megelőzése	13
2.4.2 Szívférgesség klasszikus „golden-standard” terápiája melarjominnal	14
2.4.3 Imidaklopid + moxidektin és doxiciklin kombinált kezelés („combined slow kill protocols”)	16
3 Anyag és módszer	18
3.1 A vizsgálat előkészítése	18
3.2 A vizsgálat menete	18
3.3 Gyógykezelési terv	21
4 Eredmények	24
4.1 A vizsgálatban részt vett kutyák	24
4.2 A szívférgesség megállapítására vonatkozó eredmények	24
4.3 A gyógykezelés eredményei	26
5 Megbeszélés	28
6 Összefoglalás	31
7 Summary	33
8 Irodalomjegyzék	35
9 Köszönetnyilvánítás	39

Rövidítések jegyzéke

AHS: *American Heartworm Society (Amerikai Szívféreg Társaság)*

ALT: *alanin-aminotranszferáz*

AST: *aszpartát-aminotranszferáz*

CK: *kreatin-kináz*

ELISA: *enzyme-linked immunosorbent assay (enzimhez kapcsolt immunszorbens vizsgálatok)*

HWD: *heartworm disease (szívférgesség)*

MÁL: *Magyar Állatorvosok Lapja*

ML: *makrociklikus lakton*

PCR: *polymerase chain reaction (polimeráz láncreakció)*

1 Bevezetés és célkitűzés

Dolgozatom témájául *Dirofilaria immitisszel* fertőződött kutyák moxidektin és doxiciklin tartós terápiájának hatékonyság elemzését választottam. Úgy gondolom, hogy napjainkban a kisállatgyógyászatban ez egy igen fontos és egyre több házi kedvencet érintő téma. Régebben ennek a parazitának a Magyarországon való felbukkanása kuriózumnak számított, mára viszont már az egész ország területén megjelent.

Az *D. immitis* világszerte előfordul azokban az országokban, amelyek a trópusi, szubtrópusi vagy a mérsékelt égövi régióban fekszenek. Európa déli területein, a mediterrán térség országaiban évtizedek óta jelen van endémiásan. Az ezredfordulótól megfigyelhető volt a szívférgesség terjedése a kontinens északi és keleti része felé. Hazánkba 2007-ben találták az első autochton fertőzöttséget kutyában, további sporadikus autochton esetekről számoltak be Szlovákiában és Csehországban is (Bacsadi és mtsai, 2016). A gyors terjedésnek kedvezett a klímaváltozás, a tünetmentes fertőzött állatok gyakoribb utaztatása, a rezervoár, vadon élő kutyafélék és a szívféreg fejlődéséhez szükséges szúnyogfajok közép-európai megtelepedése (Genchi és mtsai, 2009, 2011b; Traversa és mtsai, 2010). Magyarország területén belül az Alföld éghajlata a legkedvezőbb a szívféreg terjedéséhez, szaporodásához, így ez egy endémiás területnek tekinthető. Az utóbbi években viszont az ország több térségében is megnőtt a diagnosztizált esetek száma. Hazai szerzők több fertőzött vörös róka és aranyakál tetemről is beszámoltak (Bacsadi és mtsai, 2016).

Állategészségügyi szempontból nagyobb jelentőséggel bír, mint a hazánkban másik gyakran előforduló fonálféregfaj, a *D. repens*. A véráramba kerülő antigénjeik és a kifejlett szívféreg a végleges gazdáiban az életminőség romlása mellett, végzetes kimenetelű kardiopulmonáris betegséget okozhatnak. Zoonózis, a fertőzött szúnyogok emberen történő vérszívásakor aberráns fertőzöttség alakulhat ki, a bőrben, a szemben is megtelepszik és tüdő-dirofilariózist okozhat (Kassai, 2011; Bacsadi és mtsai, 2016).

Bizonyos esetekben a szívférgesség csak egy melléklelet, de az állat életminőségén jelentősen ronthat a féreg által okozott terheltség, így a preventív célzatú kezelések mellett nagy jelentőséggel bír a már fertőződött kutyák megfelelő gyógykezelése is. A betegség kezelésének hagyományos módja a melarzomin terápia, viszont sok esetben nem áll rendelkezésre vagy a tulajdonosok tartanak a lehetséges mellékhatásoktól. A

kizárólag makrociklikus laktonokat igénybe vevő protokoll esetében pedig nagy a rezisztencia kialakulásának veszélye.

Az elsődleges célunk a vizsgálat során szerzett tapasztalatokkal, a „combined slow kill protocols” hatékonyságával kapcsolatos ismeretek bővítése volt. Mivel ez egy olyan praktikus gyógykezelési mód, amelynek kevesebb mellékhatása van, kisebb lehetőséget ad a rezisztencia kialakulására, anyagilag sem terheli meg túlzottan a tulajdonost, ugyanakkor elősegíti a páciens klinikai állapotának javulását.

2 Szakirodalmi áttekintés

2.1 *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856)

A *D. immitis* a *Spirurida* rendbe, azon belül pedig az *Onchocercidae* családba tartozó, extraintestinalisan élősködő, közvetett fejlődésű fonálféreg. Természetes gazdája a kutya. A prepatens periódusa 6-9 hónap (Kassai, 2011).

A megtermékenyített nőtény az embrionális állapotú lárvákat (L1), azaz a mikrofiláriákat, közvetlenül a vérbe vagy a szövetközi folyadékba juttatja (Farkas és Vörös, 2015). A lárvák még hónapokon keresztül a vérben és a nyirokban tartózkodnak. A véráramban ezek száma szezonálisan és napszakonként is változó (délután-este, tavasszal és nyáron több). Ez a jelenség a szívféreg vektorainak (különböző szúnyog fajok) aktivitásával függ össze (Bowman és Atkins, 2009).

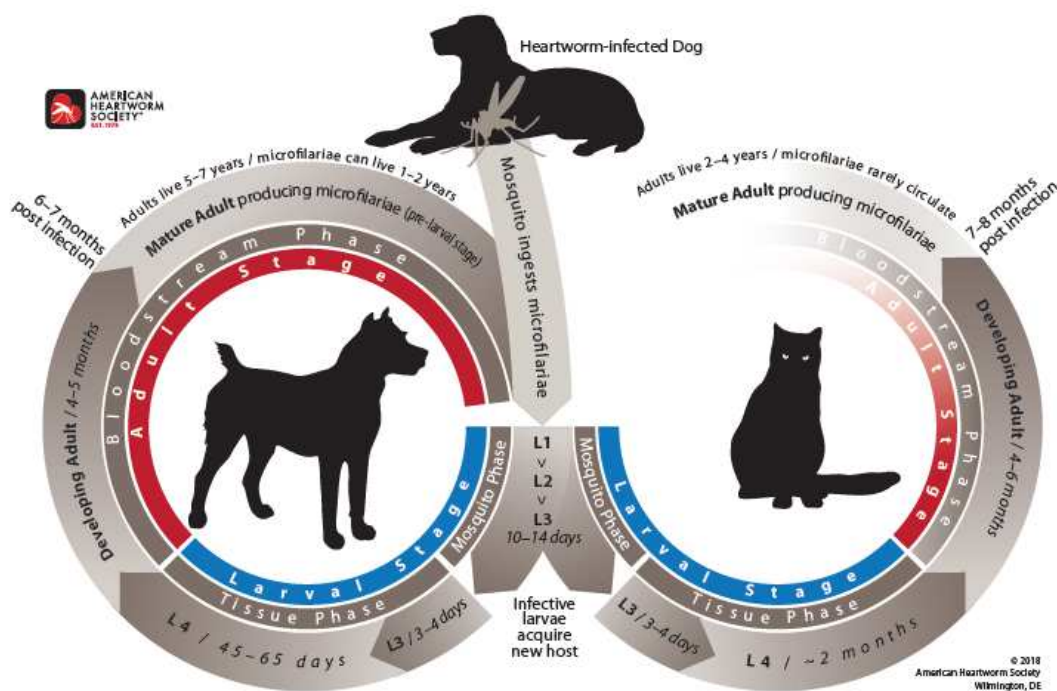
A *D. immitis* közvetett fejlődésű, mivel fertőzőképes L3 stádiumú lárva a vérszívás során felvett L1-ből csak a biológiai vektorokban képes kialakulni. Ezek a *Culicidae* (igazi- vagy csípőszúnyogok) családba tartozó nemek vérszívó nőtény egyedei (Cancrini és Gabrielli, 2007). Hazánkban a *Culex pipiens*, az *Anopheles maculipennis* és az *Aedes vexans* esetében bizonyított, további három fajról pedig csak feltételezett, hogy biológiai vektorai a *D. immitis*-nek (Jacsó, 2014).

A nőtény szúnyog vérszívást követően fertőződik a már fertőzött kutya vérkeringésében megjelenő lárvákkal (L1), amelyek 1-2 napon belül a szúnyog Malpighi-csőveibe kerülnek. Ott kétszer vedlenek, és közben L2 (10. nap), majd L3 (14-15. nap) stádiumú lárvákká fejlődnek (Vörös és mtsai, 2000). Az L3-as lárva a vektor szájszervéhez vándorol, majd a vérszívást követően jutnak a végleges gazdába. A vektorokban végbemenő fejlődés ideje nagymértékben függ a környezet hőmérsékletétől. A folyamat számára a 80%-os relatív páratartalom és a 24°C külső hőmérséklet a legkedvezőbb. A lárvák fejlődése 14 °C alatt leáll, és csak akkor folytatódik, ha a hőmérséklet megfelelővé vált (Cancrini és Gaglielli, 2007; Bowman és Atkins, 2009). Ezzel is magyarázható, hogy hazánkban miért nagyobb a fertőződés aránya a melegebb hónapokban.

A szúnyog által beoltott kb. 1 mm-es, fertőző L3 stádiumú lárva 3-14 napon belül, a bőr alatti kötőszövetben L4-es stádiummá vedlik. Ezt követően a fertőződés helyétől függően a hasi- és mellkasi szövetekben, az izomrostok között folytatják útjukat. A vénás áramba kerülve a szíven keresztül a tüdőbe jutnak. A fertőzést követő 2. hónapban már kb. 1 cm hosszúak. Ebben az időben (50-70. nap) bekövetkezik az utolsó vedlés és kialakul az L5

stádium, azaz a juvenilis férgek. Ezek a tüdőerekbe jutva (90-120. nap) már elérik a 2-3 cm-t, majd a 6-7. hónapra a nőtények elérik végleges méretüket (25-30 cm).

A párosodás a tüdőartériákban történik, már a fertőzést követő 4. hónaptól, viszont mikrofiláriák csak a fertőzéstől számított 7-9. hónapban jelennek meg a perifériás-, és a nyirokkeringésben. Az adult férgek akár 5-7 évig is élhetnek a végleges gazda keringésében (McCall és mtsai, 2008; Bowman és Atkins, 2009).



1. ábra. A *Dirofilaria immitis* fejlődési ciklusa

(forrás: www.heartwormsociety.org)

Az endoszimbionta *Wolbachia* baktérium az antigenitásbeli tulajdonságai révén nagy szerepet kap a dirofilariosis lefolyásának és klinikai tüneteinek a kialakításában. Ezek mellett a szívféreg lárvák megfelelő fejlődéséhez is szükséges a jelenléte. (Kozek, 2005). A felszíni fehérjéje (*Wolbachia* Surface Protein) bizonyítottan specifikus IgG immunválaszt vált ki a fertőzött gazdaállatban. Valószínűleg a vesében és a tüdőben kialakuló gyulladásos reakciókért is ez a fehérje a felelős. A szívféreggel fertőzött kutya vérében előforduló mikrofiláriák *Wolbachia*-antigént termelnek, ebből kifolyólag az elpusztuló lárvákból kiszabaduló baktériumok a vesékben és egyéb szervekben is gyulladásos folyamatokat alakíthatnak ki (AHS, 2014; Kramer és mtsai., 2008; Morchón és mtsai., 2012b). Nem meglepő tehát, hogy a gyógykezelésben is nagy jelentőséggel bír a baktérium eliminációja (Bazzocchi és mtsai., 2008)

2.2 A szívférgesség előfordulása Európában

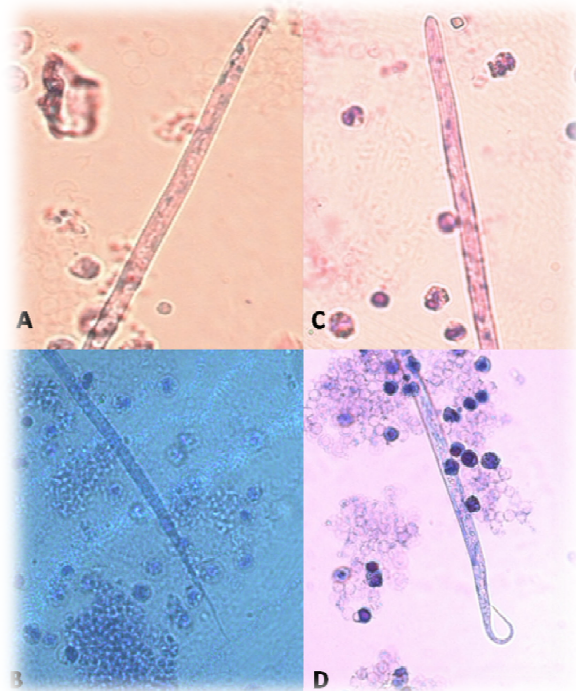
A *D. immitis* előfordulása olyan trópusi, szubtrópusi vagy mérsékelt égövi területeken jellemző, amelyek kedvezőek a vektor szúnyogok számára is (McCall és mtsai, 2008; Simón és mtsai, 2012). Így Európa több térségében is előfordul, sokszor a *Dirofilaria repens*-szel együtt (Genchi és mtsai, 2011a). A 2001-es évig csak Dél-Európában volt endémiás (Portugália, Görögország, Franciaország, Törökország, Spanyolország). Ezután az autochton esetek száma megugrott az északabbra fekvő Romániában, Csehországban, Szerbiában, Horvátországban (Genchi és mtsai, 2005, 2011a; Morchón és mtsai, 2012). Ennek több oka lehet; a szakszerűtlen kórjelzés, a tünetmentes kutyák utaztatása, a rezervoár vadon élő kutyafélék, valamint az új szúnyogfajok (pl. *Aedes albopictus*) európai megtelepedése. Legfőbb ok viszont a klímaváltozás és a globális felmelegedés, ami gyorsabb fejlődést és hosszabb aktivitást tesz lehetővé a fonálférges fejlődéséhez szükséges szúnyogoknak (Genchi és mtsai, 2009, 2011b; Traversa és mtsai, 2010). Hazánk éghajlata kontinentális, mérsékeltlen hideg tél és meleg-száraz nyár jellemzi. A legmagasabb nyári középhőmérséklet az Alföldön mérhető. Mivel a kutyafélék szívférgessége és a hőmérséklet között pozitív korreláció van, így itt a legnagyobb a parazita elterjedése az országban (Genchi és mtsai, 2009, 2011b).

Az első magyarországi autochton esetet 2007-ben állapították meg és ez után tekintették hazánkat is a szívféreg szempontjából endémiás országnak (Jacsó és mtsai, 2009). Viszont hazai előfordulásáról már a 80-as években és 2000 környékén is beszámoltak (Boros és mtsai, 1982; Vörös és mtsai, 2000). Bacsadi és mtsai (2016) a 2001-es évtől kezdve 2015-ig kórbonctani vizsgálatokat végeztek, összesen 2622 kutya tetemen. Kezdetben nem találtak szívféreggel fertőzött kutyákat, de a 2006-os évtől szignifikánsan nőtt a parazita előfordulása. A vizsgálatuk során pozitívnak ítélt kutyák mindegyike kertben tartott volt, a fertőzöttségük pedig autochton jellegű, tehát hazánkban születtek és sosem jártak külföldön. A diagnosztikai módszerek fejlődésével országszerte ugrásszerűen nőtt a diagnosztizált esetek száma. Megjelent görényben is, majd vörös rókában és aranysakálban, melyek többsége az ország keleti feléből származott (Molnár és mtsai, 2010; Tolnai és mtsai, 2014).

2.3 Szívférgesség diagnosztikája

2.3.1 Differenciál-diagnózis a *Dirofilaria repens*-től

Hazánkban a kutyák két leggyakoribb filarioidea parazitózisa a *Dirofilaria immitis* és a *Dirofilaria repens* általi fertőzöttség. Mivel ennek a két parazitózisnak eltérő a gyógykezelése és a kórjósata is, így lényeges tisztába lenni azzal, hogy pontosan melyikről van szó. Az adult férgek vizsgálatára nincs mindig lehetőség, így sok esetben a mikrofiláriákra kell hagyatkoznunk. Kizárólag a kinyert vérben lévő lárvák morfológiájának vizsgálata alapján nem könnyű a két faj elkülönítése (Bartlett és mtsai, 2008). Az esetek nagy részében a biztos diagnózis megalkotásához önmagukban sem az antigének, sem a morfológiai bélyegek nem elegendők (Casiradhi és mtsai, 2006; Ciocan és mtsai, 2010). Mivel a morfológiai bélyegek a minta elkészítésekor és egyedenként is változhatnak, így nem adnak 100%-os eredményt (Magnis és mtsai, 2013; Majoros és Juhász, 2015b). Legmegbízhatóbb lehetőség a specifikus diagnózis felállításához a PCR, viszont ehhez is szükséges a minimális 4mf/ml-es lárvasűrűség (Casiraghi és mtsai, 2006; Gioia és Lecová, 2010). A kisállatpraxissal rendelkező állatorvosoknak a mikrofilaraemia kimutatására az egyik legkézenfekvőbb módszer, a könnyen kivitelezhető és nagy érzékenységgel bíró mikroszkópos morfológiai vizsgálat. A szükséges minta készülhet hemolízissel, friss vérből, formalinnal vagy hőkezeléssel is, azonban nem árt szem előtt tartani, hogy a mikrofiláriák morfológiáját befolyásolja a minta elkészítésének folyamata is. Ennek az igen gyakorlatias módszernek az eredményes használatához Majoros és Juhász (2015), a MÁL-ban megjelent cikkében ad felvilágosítást.



2. ábra. A *Dirofilaria immitis* (A-B) és a *Dirofilaria repens* (C-D) feji és farki vége.

(Majoros és Juhász, 2015b)

Az *immitis* lárváinak átlagos hossza 270 μ m, feji vége elkeskenyedő, frontális része pedig lekerekített, a feji végben lévő három sejtmag elhelyezkedése aszimmetrikus, a testben több helyen világos zónák tűnnek fel, továbbá a test végében elhelyezkedő „genitális” sejtek magvai nem különíthetők el a szomatikus sejtektől. Ezzel szemben a *repens* lárvája átlagosan hosszabb (350 μ m), a feji vég nem keskenyedik el, a frontális rész enyhén lapított, a feji vég három sejtmagja jellegzetes elhelyezkedésű. A testet végig kitöltik a sejtmagok, így nem különülnek el világos zónák, a caudálisan lévő „genitális” sejtek magvai pedig jól elkülönülnek a szomatikus sejtektől.

A két faj lárvái festési technikákkal is elkülöníthetők egymástól. A leggyakrabban alkalmazott módszer a savanyúfoszfátáz-aktivitáson alapuló eljárás (Jacsó és Fok, 2006).

2.3.2 Mikroszkópos vizsgálatok

A fénymikroszkópos vizsgálatok lehetővé teszik, hogy a szubklinikai fertőzöttségek nagyobb arányban, bonyolultabb és költségesebb vizsgálatok nélkül is kiderüljenek, élő vagy elhullott állatokból vett vérmintákból egyaránt. A mikroszkópos vizsgálat praxisban való alkalmazásához, a már említett Majoros és Juhász (2015) MÁL-ban megjelent cikke nyújt segítséget.

2.3.2.1 Vastagcsepp próba

A próba elvégzéséhez friss vagy EDTA-val alvadásban gátolt vér szükséges. Egy csepp vér tárgylemezre helyezése után már vizsgálható a mikroszkóppal. A vér fixálható metilalkohollal és meg is festhető. Ha kifejezetten nagyszámú lárva (több 100/ml) van a vérben, akkor natív vagy sötét látóteres fénymikroszkóppal könnyen észrevehetőek a mozgó mikrofiláriák. Ha kevesebb a lárva szám, akkor fenn áll az esélye, hogy fals negatív lesz a vastagcsepp próba eredménye.

2.3.2.2 Knott-féle módszer (hagyományos és módosított)

Ez a módszer a hemolízisen alapszik, amely a vérhez adott híg formaldehid-oldatnak köszönhető. A hemolízis mellett fixálódnak is a lárvák, melyek később metilánkekkel megfestve jól láthatóvá válnak (Euzeby, 1981; Kassai, 2011; Knott, 1939). A hátránya viszont, hogy közben a lárvák elpusztulnak és mozdulatlan, merev szálak formájában kerülnek a tárgylemezre. Ez megnehezíti a felismerésüket és az elkülönítésüket az esetlegesen a mintába kerülő egyéb szennyeződésektől, mint például a textil, hajszál és a kicsapódó fehérjészálak. Ennek a hibának a kiküszöbölésére fejlesztette ki a „módosított Knott-féle módszer” néven ismertté vált eljárást az ÁTE Parazitológiai és Állattani Tanszéke (Majoros és Juhász, 2015b). Alkalmazásával a lárvák nem pusztulnak el, könnyebben azonosíthatóak. Formalin helyett szaponinnak vagy semleges kémhatású mosogatószer híg oldatának (2-3%-os) néhány cseppje és legalább ötször annyi desztillált víz, csapvíz (vér térfogatának kb. ötszöröse) szükséges a hemolizáláshoz. A hemolizátumhoz néhány csepp 10%-os níluskék-szulfát- oldatot (szupravitalis festék) kell adni, a jobb láthatóság érdekében (Jacsó és mtsai, 2009). Tökéletes lesz a hemolízis, ha nátrium- lauril-szulfát (vagy kémiailag tiszta SDS) 1%-os oldatából 1-2 ml kerül a vér és a desztillált víz 1:20 arányú keverékéhez, mivel ez az erős detergens feloldja a kutikulával burkolt lárvákon kívül az összes sejthártyát és sejtmagot, könnyebbé téve a felismerést.

A hemolizált és festett vérmintát mindkét esetben 1-2 percig ülepíteni kell az asztali centrifugában vagy kb. egy napig hagyni, hogy magától leülepedjen (Majoros és Juhász, 2015a). Az üledék néhány cseppjének, egy tárgylemezen való szélesztését és szárítását követően, 70%-os alkohollal fixálható a kenet. Ezek után a lárvák sejtes elemeinek feltüntetésének céljából, a Pappenheim- féle festés (Giemsa-oldat és May-Grünwald-oldat) alkalmazható (Gaál, 1999).

A teszthez heparinos vagy Na-K- EDTA-val illetve Na-citráttal dekalcinált vért érdemes

előkészíteni. Közvetlenül desztillált vizet tartalmazó csőbe való vérvétel esetén mellőzhető az alvadásgátlás.

2.3.3 Szerológia

A *D. immitis* esetében kizárólag az adult nőtény férgek által termelt antigének mutathatók ki, amelyek körülbelül a fertőzést követő 6. hónaptól a véráramban keringenek. A vizsgálat elvégzéséhez teljes vér, savó vagy vérplazma szükséges (Goodwin, 1998; Courtney és Zeng, 2001; Nelson és mtsai, 2014).

Számos gyorseszteszt beszerezhető, melyek segítségével már a helyszínen megállapíthatjuk, hogy a kutya fertőzött-e vagy sem. Az eredmény gyors, de a pontossága nem teljesen 100%-os, tesztenként eltérő és függ a vizsgált állat vérében keringő gravid nőtények számától (Atkins, 2003). Előfordul, hogy nincs még mikrofilária, azaz okkult fertőzöttség van. Az ilyen esetekben különösen hasznosak ezek az igen nagy specificitású antigén gyorsesztesztek, melyek több módszerrel működhetnek, mint például az immunkromatográfia és a membrán ELISA (Nelson és mtsai, 2014). Lee és mtsai (2011) kutatásuk során 90 szérummintát vizsgáltak meg az előbb említett két eljárással, annak céljából, hogy összehasonlíthassák a pontosságukat. Vizsgálataik során arra az eredményre jutottak, hogy a membrán ELISA elven működő „SNAP® Heartworm RT Teszt” és a „PetChek® Heartworm PF Antigén Teszt ” kevesebb fals negatív eredményt adtak, mint az immunkromatográfia elven működő „VetScan VS2® HW Teszt”.

Nem szabad figyelmen kívül hagyni, hogy hazánkban is megtalálható fajok, mint a *Spirocerca lupi* és az *Angiostrongylus vasorum* (azaz a francia szívféreg) keresztreakciót okozhatnak. Így előfordulnak fals pozitív eredmények is (Schnyder és Deplazes, 2012; Aroch és mtsai, 2015). Adulticid szerek alkalmazása után is előfordul, hogy az antigénteszt akár fél évig is fals pozitív eredményt ad. A tartósan alkalmazott makrociklikus laktonok pedig immunkomplex képződése miatt, fals negatív eredményt okozhatnak (Bowman és Atkins, 2009; Drake és mtsai, 2015)

A fenti immunkomplexek mellett a fertőzött kutya vére esetenként olyan vegyületeket tartalmazhat, amelyek akadályozzák az antigén kimutatását. Ebben az esetben eredményesnek bizonyult a minták előzetes hőkezelése. A szérumot 10 percen át 104°C-on kell hőkezelni, majd a centrifugálás és a felülúszó eltávolítása után elvégezhető a mintán az Ag-teszt (Velasquez és mtsai, 2014). Későbbi kutatásokkal is igazolták, hogy hőkezelés után megnövekedik az antigén kimutatásának eredményessége, mivel a kimutatást blokkoló vegyületek nem tudnak érvényesülni (Bendas és mtsai, 2017). Továbbá a

hőkezelés hatására azok az antigének is felszabadulnak, amelyek már az ellenanyagokhoz kötődve komplexet képeztek, így kevesebb eséllyel lesz fals negatív a teszt eredménye, abban az esetben, ha csak kevesebb antigén található a fertőződött kutya vérében (Savadelis és mtsai, 2016).

2.3.4 Molekuláris biológia (PCR)

A kifejlett férgekől vagy a mikrofiláriákból kivont DNS a *Dirofilária* fertőzöttség igazolására és a faji azonosításra is alkalmas. Legmegfelelőbb módszer ennek elvégzésére a PCR, melynek több változata ismert (valós idejű, multiplex, fajspecifikus konvencionális és a nested). A polimeráz- láncreakció minimális mennyiségű DNS bázissorrendjének gyors megállapítására alkalmas. Rendkívül érzékeny és specifikus, pontos diagnózist ad, így nagy segítség a taxonómiában, epidemiológiában és a patológiában is (Kassai, 2011). Bizonyos vizsgálatok alapján a módszer érzékenységi küszöbe 4mf/ml (Giola és mtsai, 2010). Sőt PCR-rel már a szúnyogok fertőzöttsége is kimutatható (Latrofa és mtsai, 2012). Mivel legtöbbször a mikrofiláriákból kivont DNS-sel végzik el a vizsgálatot, így a vérminta levételéig hanyagolni kell a makrociklikus laktin kezelést.

2.3.5 Műszeres diagnosztikai eljárások

Mivel a szívférgesség elsődleges károkat a tüdőben okoz, így a laboratóriumi vizsgálatoknak fontos kiegészítője a légzőszervi röntgenvizsgálat (Nelson és mtsai, 2016). Segít megállapítani a súlyossági fokozatot, a pulmonológiai következmények mértékét és a differenciál diagnózis felállításában is fontos.

A keringésre, a szívre gyakorolt hatások jelenlétének, súlyosságának nyomon követésére az echokardiográfia a legmegfelelőbb eszköz. Különösen akkor ajánlott alkalmazni, ha laboratóriumi vizsgálatok bizonyították a fertőzöttséget, klinikai tünetek állnak fent és a férgek már röntgenfelvételen is észlelhetőek (Farkas és Vörös, 2015).

EKG- vizsgálatra előrehaladottabb esetekben kerülhet sor, különösen akkor, ha szívritmuszavart állapítunk meg a fizikális vizsgálat során.

A légúti endoszkópia a differenciál diagnózis felállításában kap szerepet. Gyakran előfordul egyéb légzőszervi parazitás megbetegedés is, mint például a hazánkban többször is megállapított *Angylostrongylus vasorum*, azaz a francia szívféreg (Majoros és mtsai, 2010; Csöndes és mtsai, 2015; Schnyder és mtsai, 2015).

Viszonylag ritkán kerül alkalmazásra, de a kiegészítő vizsgálatok közé tartozik a centrális, vénás és az artériás vérnyomásmérés is.

2.4 Szívférgesség megelőzése és kezelése

2.4.1 Dirofilariosis megelőzése

Endémiás területeken különösen fontos a szívférgesség preventív kezelésére hangsúlyt fektetni. A kellő védelmet nyújtó kezelésnek két alappillére van.

Egyik a lárvicid szerek alkalmazására, mint például a makrociklikus lakton hatóanyagú (ivermektin, milbemicin-oxim, szelamektin, moxidektin) tabletták, spot-onok, melyek elpusztítják a fertőző lárvákat, még a tüdőbe jutásuk előtt (Nelson és mtsai, 2016). A moxidektin és a szelamektin spot on formájában, a milbemicin-oxim hatóanyagú féreghajtó pedig tablettá formájában érhető el. Ivermektin hatóanyag tartalmú gyógyszer pedig hazánkban csak haszonállatok számára áll rendelkezésre. Ezek a makrolidok a mikrofiláriák és a harmadik, negyedik stádiumú lárvák pusztulását okozzák, havi rendszerességgel kell őket adagolni. Mikrofilaricid hatásának következtében, növekvő sorrendben a szelamektin, ivermektin, moxidektin, majd a milbemicin-oxim okoz leggyakrabban túlérzékenységi reakciót (Gálfí és mtsai, 2015).

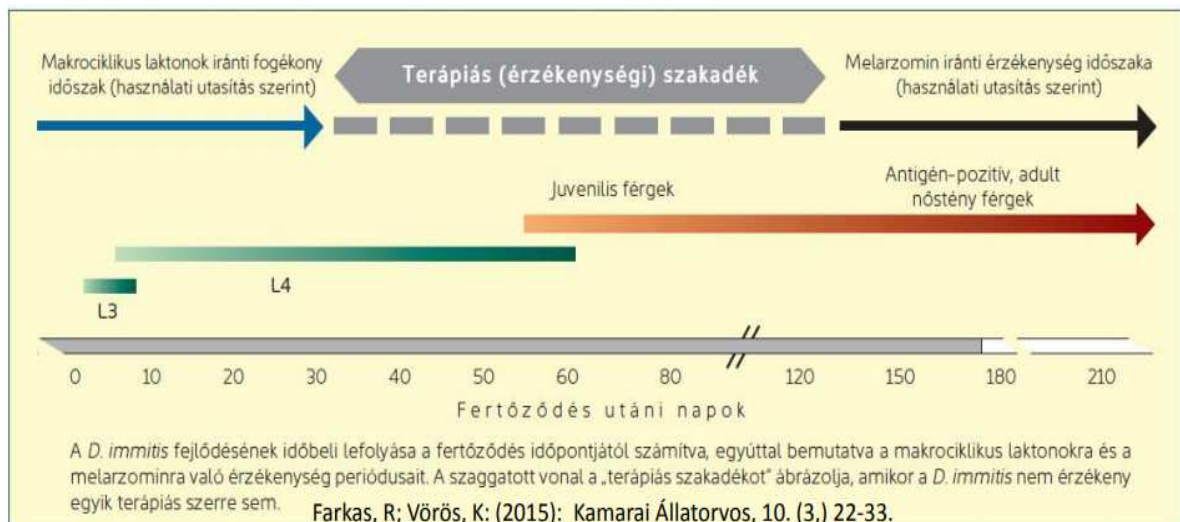
A teljes védelem elérése érdekében szükséges a repellens szerek használata is, amelyek a szúnyogok vérszívását akadályozzák. A kétszárnyúak elleni védelmet a deltametrin, imidakloprid és permetrin, illetve a dinotefurán, piriproxifen és permetrin hatóanyagú spot-on-ok vagy nyakörvek segítségével érhetjük el (Farkas és Vörös, 2015). Az endémiás területeken, így hazánkban is, főleg tavasztól ősziig jelentenek veszélyt a vektorok. Ebben az időszakban a készítményeket havonta ismételni kell, ajánlatos a szúnyoginvázió előtt 30 nappal elkezdni és a vége után még egy hónapig folytatni a preventív kezeléseket (Kassai, 2011).

Endémiás területeken az AHS (2014) ajánlása szerint érdemes már kölyökként, 8 hetes korban elkezdni a preventív kezelést. A második kezelésre fél évvel később, a többire pedig évente kell sort keríteni. A 7 hónapos vagy annál idősebb kutyák esetében, amennyiben nem áll rendelkezésre részletes kórelőzmény, a rutin prevenció előtt fontos az esetleges fertőzöttség kizárása. Az erekben hirtelen elpusztuló mikrofiláriák anafilaxiás sokkot idézhetnek elő a kutyában, aminek következtében elpusztul. Pozitív eredmény esetén fontos a fajmeghatározás is, a megfelelő gyógykezelés alkalmazása érdekében. A makrociklikus laktonok alkalmazása befolyásolja a tesztek eredményét, így a fals eredmények elkerülése érdekében is fontos az előzetes szűrések elvégzése.

2.4.2 Szívférgesség klasszikus, „golden-standard” terápiája melarzominnal

A szívférgesség kezelésére használt komplex terápia, a „three-dose melarzomin protokoll”. Kiegészítve havonta alkalmazandó makrociklikus lakotonnal és 28 napon át doxiciklinnel, ami egy *Wolbachia pipientis* ellenes szer (Atkins, 2010; Atkins és Bowman, 2009; Maxwell és mtsai, 2014; Nelson és mtsai, 2014). A doxicilin mellékhatásai főképpen a gastrointestinalis rendszert érintik. A Schultz és mtsai (2011) és a Maxwell és mtsai (2014) által tapasztalt mellékhatások az újabb kutatások szerint, alacsonyabb százalékban fordulnak elő (Bagi és mtsai, 2017). Ennek enyhítésére probiotikum adható, a doxiciklin kezelés mellé. Fényérzékenyítő hatása is van, ami ellen fényvédő kenőcsöket alkalmazhatunk (Farkas és Vörös, 2015).

Megelőzés céljából használható a milbemicin-oxim, de mivel sokszerű tüneteket idézhet elő, így ma már nem javasolják a használatát a komplex terápiában (Farkas és Vörös, 2015; Gordon és Miller, 2014). Az AHS 2014-es ajánlása alapján az ivermektin az elsődlegesen használandó makrociklikus lakton, viszont hazánkban ez a hatóanyag csak haszonállatok számára áll rendelkezésre. A másik ajánlása az AHS-nak a makrociklikus laktonok közül, a mikrofilaricid hatású moxidektin. Bagi és mtsai (2017) tanulmánya és egyéb szakirodalom alapján, a moxidektin alkalmazása nem okoz adverz reakciót, így bátran alkalmazható (Farkas és Vörös, 2015; Nelson és mtsai, 2014). A szívférgesség komplex gyógykezelésének alkalmazásával kapcsolatos kutatásukban Bagi és mtsai (2017.), az American Heartworm Society által ajánlott, 2012-ben, majd 2014-ben átfogalmazott protokollt alkalmazták. Ez a protokoll az adult férgek elpusztítására a melarzomin-dihidroklorid (Diroban®, Zoetis vagy Immiticide®, Merial) injekciót írja elő, ami egy szerves arzén vegyület és a klasszikus terápia alapja.



3. ábra A szívférgesség komplex gyógykezelési sémája (Nelson és mtsai, 2014)

A HWD-nek diagnosztizált és igazolt kutyák kezelése az első napon makrociklikus laktonnal (HW- ellenes preventív szerrel) kezdődik. A ML két hónapos terápiájának körülbelül 60 napig tartó „terápiás szakadék” problémájának leküzdésében van szerepe. A melarzomin a 4 hónapnál fiatalabb lárvákat nem pusztítja el, a ML pedig csak a 2 hónapnál fiatalabb stádiumokra van hatással. A két hónapon át, havi rendszerességgel adott makrolittal elérhetjük, hogy a melarzomin kezelés elkezdésének idejére ne legyenek olyan fiatal alakok, amelyekre még nem hat a melarzomin. Azok a stádiumok pedig, amelyeket nem pusztított el a ML, már fogékonyak lesznek az adulticid kezelésre (AHS, 2014).

Az AHS (2014) által ajánlott protokoll szerint az első két melarzomin injekciót a 60. és a 90. napon, majd a harmadikat a 91. napon kapja meg az állat.

Kísérletük során Bagi és mtsai (2017) a kétdózisú és az egy alkalmas melarzomin kezelést is kipróbálták. Az injekciót a gyártó által előírt módon a hátgyéki izomzatba injektálták. Kifejezetten szövetizgató hatása miatt a beadása előtt ketamin, diazepam és xilazin keverékkel bódították az állatot. Emellett metil-prednizolont kaptak gyulladáscsökkentés céljából, a gyomorvédelem érdekében pedig ranitidint. Az ébredés után, a további fájdalom csökkentésére tramadolt adtak a kutyáknak. Az első melarzomin injekció beadásától kezdve a teljes kezelés alatt, az AHS (2014) ajánlása szerint, az anafilaxiás reakciók és a tromboembolia elkerülése érdekében prednizolont, klopidoგრélt, a máj védelmének érdekében B-vitaminokat és szilimarint írtak fel. Kihangsúlyozták a kutyák ketrecnyugalmának fontosságát is, ami a véráramban lévő elpusztult férgek által előidézett tromboembólia veszélye miatt lényeges. A kísérletben résztvevő dilatációs

kardiomiopátiában szenvedő kutyák kiegészítő terápiaként furoszemidet, enalapril és spironolaktont kaptak, a pangásos szívelégtelenség kezelésére.

Ez a klasszikus terápia azonban nem alkalmazható minden esetben. Előfordul, hogy a tulajdonosok nem tudják finanszírozni a meglehetősen drága kezelést, vagy aggódnak a lehetséges mellékhatások miatt. Kezelés utáni szövődmények lehetnek az étvágy változása, a hányás, a hasmenés, a nehezített légzés, a köhögés, a vakaródzás, a bőrérzékenység, a fényérzékenység, különböző viselkedésbeli változások, ezek mellett pedig hepatotoxicitást, nephrotoxicitást, tüdőembóliát, ALT-, AST- és CK növekedést okozhat (Maxwell és mtsai, 2014). Ugyanakkor nem mindig áll rendelkezésre a melarzomin és van olyan eset, amikor kifejezetten ellenjavallt az alkalmazása, mint például a dirofilariózis 4. klinikai kategóriájában, amikor vena cava szindróma áll fenn, a szívférgek pedig a jobb szívfélben tartózkodnak.

2.4.3 Imidaklopid + moxidektin és doxiciklin kombinált kezelés („combined slow kill protocols”)

Bendas és mtsai (2017) közelmúltban megjelent tanulmányukban vizsgálták a moxidektin-doxiciklin (10% imidaklopid + 2,5% moxidektin és *per os* doxiciklin) kombinált protokoll hatékonyságát, a szívférgesség kezelésére. Brazíliában a dirofilariózis ellen ajánlott melarzomin-dihidroklorid forgalmazása megszűnt, így a makrociklikus laktonok alkalmazása maradt az egyetlen lehetőség kifejllett szívférgek ellen. A kezelés megkezdése előtt vérminta vizsgálatával, antigén- és módosított Knott-teszt segítségével állapították meg a fertőzöttséget. A nulladik napon megkapták a kutyák az első makrociklikus lakton tartalmú spot-ont és az első doxiciklin adagot (10mg/kg). A spot-ont 6 hónapon keresztül, havonta rácseppentették a kutyára, majd az utolsó hónapban módosított Knott-teszttel és antigén vizsgálattal megállapításra került a gyógykezelés sikeressége. Arra jutottak, hogy a fél éven át tartó moxidektin-doxiciklin kezelés következtében a kutyák, függetlenül a kezdeti mikrofilária számtól, Knott-teszttel vizsgálva mikrofiláriáktól mentesek lettek. Tíz perces, 104°C-os hőkezelés után néhány minta pozitív lett, főleg a több mikrofiláriával fertőződött kutyák esetében. Ezeknek a kezelése tovább folytatódott, a 18. hónapban viszont már az összes kezelt kutya negatív volt. A fals negatív eredményeket azzal magyarázták, hogy a kezelés előrehaladtával fokozatosan csökkent a szabad, nem kötött antigének száma és mennyiségük a kimutatási határérték alá süllyedt. Hőkezelés hatására azonban, az ellenanyagokhoz kötődő antigének is felszabadultak, így sikerült biztosabb diagnózist alkotni, nem születtek fals negatív eredmények (Dzimianski és mtsai, 2016). Savadelis és mtsai (2017) szintén foglalkoztak a moxidektin-doxiciklin terápia

alkalmazásának hatékonyságával, értékelésével. Kísérletükben műtét során ültettek be adult szívférgeseket a kutyák juguláris vénájába, majd elkezdtek a korábban említett gyógykezelést. A mikrofiláriák száma szignifikánsan csökkent a nem kezelt, kontroll kutyák vérében mért értékekhez képest. A 21. napon már sem vastagcsepp próbával, sem Knott-tesztel nem voltak kimutathatóak mikrofiláriák a mintákban. Az adult nőstény férgek jelenlétére utaló antigén mennyisége is hónapról-hónapra csökkent és a kezelés végére (10 hónap) 95,9%-os hatékonysággal pusztultak el az adult férgek. Az AHS (2014) által ajánlott melarzomin 3-dózisú protokolljának a hatékonysága, egy tanulmány szerint átlagosan 99,0% (Brown és mtsai, 1992). Egy másik kísérleti program szerint, amikor doxiciklin mellé ivermektint használtak moxidektin helyett, akkor a hatékonyság csak 72,7% volt (Grandi és mtsai, 2010).

A kizárólag makrociklikus latont alkalmazó „slow kill” protokollnak ezzel szemben, több kedvezőtlen hatását is tapasztalták már. Hosszabb időre volt szükség a férgek elpusztításához, így azok sokkal tovább maradtak a tüdőartériákban, meghosszabbítva ezzel a gyulladás fennállásának időtartamát. Ez elősegítette a betegség progresszióját. Egy év alatt láthatóvá válnak a radiológiai jelek, kialakult az alveoláris-, az intersticiális tüdőgyulladás és a parenchima fibrózis is (Rawlings és mtsai, 2001). Sokkal hamarabb alakult ki a makrocikikus laktonnal szemben rezisztens *D. immitis* (Blagburn és mtsai, 2013). A kombinált protokoll használatakor sokkal kisebb volt a rezisztencia kialakulásának veszélye, de nagyobb, mint a melarzomint alkalmazó klasszikus gyógykezelés alkalmazásakor.

A moxidektin-doxiciklin protokollról eddig kevés tanulmány állt rendelkezésre, azok is Európától távolabb fekvő térségekből és viszonylag kevés mintaszámmal dolgozva. Viszont az eddigi tapasztalatok azt mutatják, hogy ez egy elég nagy hatékonysággal és viszonylag kevesebb mellékhatással, kisebb kockázattal járó és anyagi szempontból is kedvezőbb kezelése a szívférgességnek.

3 Anyag és módszer

3.1 A vizsgálat előkészítése

Kutatásunkban a Rex Kutyaotthon Alapítvány 100 kutyája vett részt. Az állatok életkora 1-13 éves korig terjedt, az átlagos életkoruk 5,5 év volt. Az 54 nőstény és 46 hím ivarú állat közül legtöbb keverék fajtájú, közepes testű kutya volt. A menhely kutyái a kísérletet megelőző 6 hónapban nem részesültek makrociklikus lakton kezelésben. Különleges kizárási kritériumaink nem voltak, részletes kórelőzmény legtöbb esetben nem állt rendelkezésre, kivéve két kutya esetében. Előzetes vizsgálataink során April nevű kutya esetében 3/6-os szívzörejt és tachycardiát állapítottunk meg, Jackson hívónevű kutyánál pedig 1/6-os szívzörejt regurgitációval a jobb oldalon.

A kutyákról kiválasztásukat követően, az azonosításukhoz szükséges adataikat (név, faj, fajta, ivar, születési dátum, szín, kondíció, chip szám, kórelőzmény) feltüntetve listát készítettünk.

3.2 A vizsgálat menete

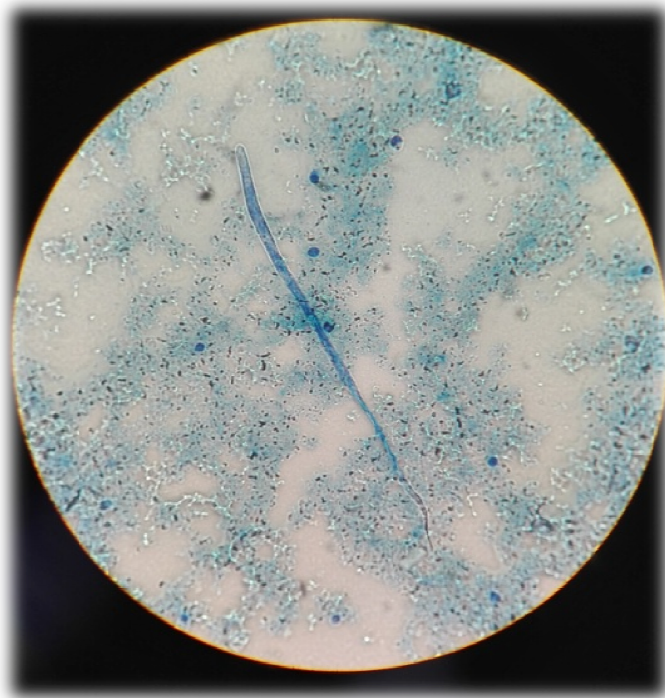
A vizsgálatainkhoz szükséges vér levétele minden kutyából a *v. cephalica antebrachi*iból történt K-Na-EDTA-tartalmú vérvételi csövekbe (Vacutainer, USA). A levett vér egy cseppjéből azonnal elvégeztük a „Witness Heartworm Antigen Test Kit” (Zoetis, USA) gyorsesztestet, ami egy immunkromatográfiás módszeren alapuló *lateral flow* teszt. A tesztcsíkban a kapillaritás elvének érvényesülésével fut le a folyadék. A nőstény *D. immitis* antigénjére specifikus ellenanyaggal fedett, színezett mikroszemcsékkel elkeveredve, a vérmintában található antigén komplexet alkot. A 2. ablakban az antigén egy másik epitópjára specifikus antitest van rögzítve, így ezen a vonalon, antigén jelenléte esetében felhalmozódnak az antigénnel kapcsolódó színezett szemcsék, jelezve ezzel a minta pozitivitását. A kontroll sávban (3. ablak) egy anti-immunglobulin van a felszínre szárítva, így itt antigén jelenléte nélkül is megkötődnek a latex szemcsék. A csomagolásban található pipettával körülbelül 0,05ml alvadásban gátolt teljes vért, szérumot vagy vérplazmát kell a teszt első ablakába cseppenteni, majd adagolni kell hozzá két csepp puffer oldatot. Tíz perc elteltével, a minta és a pufferoldat lefutása után a 2. és a 3. ablakban megjelenő csíkok jelzik a vizsgálat eredményét. A korábban említett folyamat szerint tehát, ha a 2. és a 3. ablakban is csík jelenik meg, az a teszt pozitivitását jelzi, negatív eredmény esetén pedig kizárólag a 3. ablakban jelenik

meg piros vonal. A tesztek értékelésével nem szabad sokat várni, mivel néhány óra elteltével értékelhetetlenné válik az eredménye (www.zoetisus.com /1).



4. ábra: Az elvégzett „Witness Heartworm Antigen Test Kit” (Zoetis, USA) gyorsesztek egy része
(készítette: Sipos Eszter)

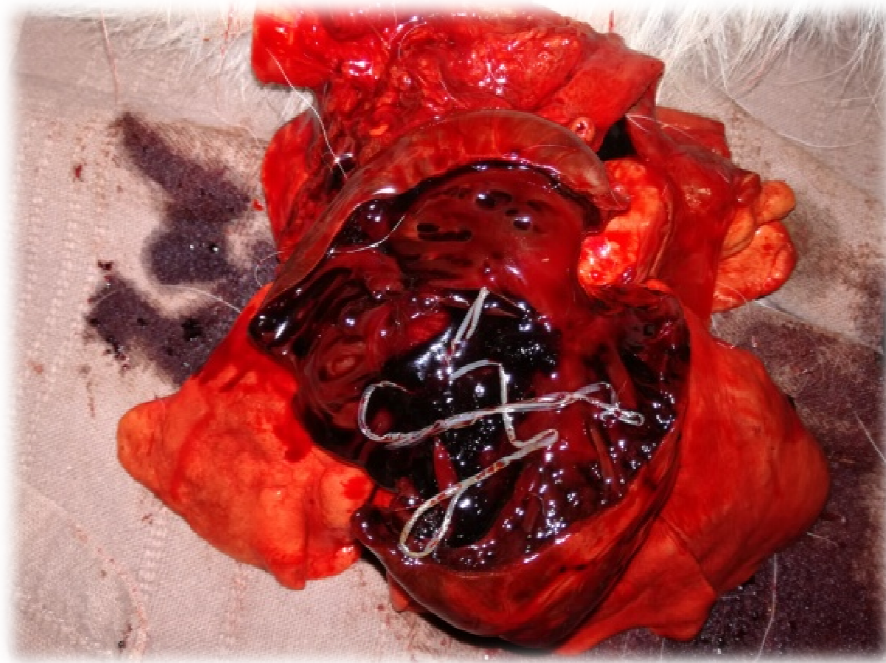
A levett vérmintát (2 ml) a *Dirofilaria* lárva-fertőzöttség feldertésének céljából kémcsövekbe öntöttük, majd 1 ml 1%-os metilénkék festéket és a vér hemolizálásának céljából kb. 10 ml csapvizet adtunk hozzájuk, néhányszor átforgattuk, majd Majoros és Juhász (2015a) ajánlása szerint 1 napot hagytuk ülepedni. Az ülepedés során a viszonylag nagy fajsúlyú lárvák a kémcső aljára süllyedtek. Az üledékből vett cseppet egy tárgylemezre cseppentettük, majd fénymikroszkóppal vizsgálva meghatároztuk a minta fertőzöttségének státuszát. A vizsgálatot megkönnyítette a metilénkék festék alkalmazása, mivel a mikrofiláriák sejtjeihez kötődve könnyebben felismerhetővé és elkülöníthetőbbé tette azokat a minta készítése során keletkezett műtermékektől. A megfestett mintákon Majoros és Juhász (2015b) cikkének útmutatásával, a morfológiai jegyek figyelembevételével, a faji hovatartozás is meghatározható lett volna, de kellő tapasztalat hiányában ennek mellőzésével, csak a lárva-fertőzöttség megállapítását tűztük ki célul.



5. ábra: Módosított Knott-teszt során fénymikroszkóppal vizsgált pozitív minta
(készítette: Sipos Eszter)

Az általunk valamilyen formában pozitívnak talált kutyákból a kilencedik napon ismét vért vettük, 1,5 ml-t natív és 1,5 ml-t EDTA-s csövekbe. Ezekből “DiroCHEK Heartworm Antigen Test Kit” (Zoetis, USA) antigén tesztet és DNS kivonást követően PCR vizsgálatot végeztek az Állatorvostudományi Egyetem Parazitológiai és Állattani Tanszékének munkatársai. A “DiroCHEK Heartworm Antigen Test Kit” egy ELISA, amely az antigén-antitest kölcsönhatáson alapuló nem radioaktív immunoassay. Az elvégzéséhez plazma-, vagy szérummintára van szükség, az eredményekre körülbelül 15 percet kell várni, kutya és macska esetében is alkalmazható. A tesztfelület mélyedései peroxidáz enzimhez kötött, *D. immitis* által termelt antigén elleni antitesttel vannak bevonva. Abban az esetben, ha a vizsgált minta tartalmaz antigént, komplex képződik és kromogén szubsztrát hozzáadása után kék elszíneződés lesz tapasztalható. Az eredmény értékelését a pozitív és a negatív kontroll segíti (www.zoetisus.com /2). McCall és mtsai (2000) tanulmánya alapján három nőstény szívféreg jelenléte esetén a teszt érzékenysége és a specificitása is eléri a 100%-ot. Az ELISA eredményei megegyeztek az általunk elvégzett gyorseszteszt eredményeivel. A mikrofiláriákból történő DNS kivonással és másolással járó PCR vizsgálat eredménye alapján, biztos eredményt kaptunk a kutyák *Dirofilaria* fertőzöttségét illetően. A biztos faji meghatározás

feltétlenül szükséges volt, mivel a fertőzött kutyák gyógykezelése volt a cél. Az első vérvétel után, külső tényezők miatt a Csibész névre hallgató, foxterrier jellegű keverék, 5 éves, kan kutya elpusztult. A menhelyi dolgozók elmondása alapján az azonos kennelben lévő társai megtámadták és súlyos sérülései miatt elpusztult. Tetemének a külső vizsgálata során, a hátsó végtagjain és a törzsének a thoracolumbális szakaszán mélyre terjedő harapások nyomai voltak láthatóak. A belső vizsgálat során a hasüregben belső vérzés jeleit fedeztük fel, valószínűleg ez volt a fő okozója a halál bekövetkezésének. A mellüreg boncolása során, a szívférgesség diagnózisa szempontjából fontos részeket is megvizsgáltuk és a *vena pulmonalis* bal pitvarba szájadzásánál 2 db kifejlett *D. immitis* találtunk.



6. ábra: A Csibész hívónévre hallgató kutya bonclelete
(készítette: Sipos Eszter)

3.3 Gyógykezelési terv

Munkánk során a „combined slow kill” protokollt alkalmaztuk. A gyógykezelés lépéseit az 1. táblázatban foglaltam össze.

Az első *Advocate spot on* alkalmazása előtt általános állapotfelmérést végeztünk a kutyákon. Ezt követően az alkalmazására vonatkozó javaslatban szereplő módon, a szőr széthajtását követően a kutyák lapockája közé, a gerincvonal mentén, közvetlenül a bőrre csepegtettük a pipetta tartalmát. A kutyák a táblázatban is említett dózisban, a

testtömegüknek megfelelő kiszerezést kapták. A kezelt kutyák testtömege 9, 14, 18, 25 és 32 kg volt. A csepegtetést követően az állatokat 4 órán keresztül megfigyeltük.

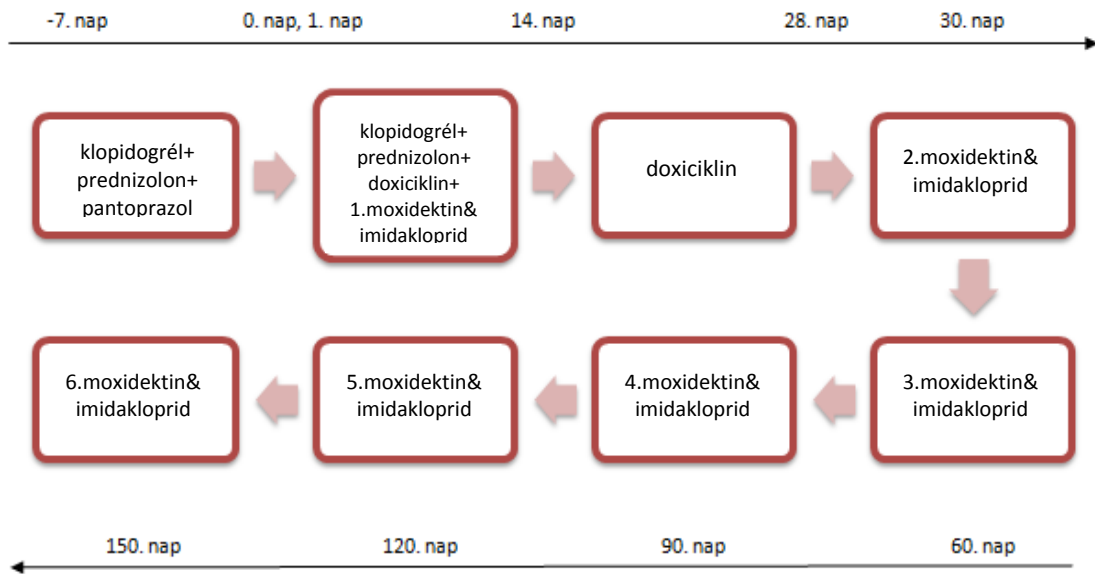
Alkalmazás időintervalluma	Hatóanyag, készítmény	Dózis	Indikáció
-7.naptól-14.napig	klopidogrel (Clopidogrel Teva 75 mg tabl.)	10 mg/kg az első napon, majd minden második napon 2 mg/kg	tromboembólia veszélyének csökkentése, mikrofilariemia megelőzése
	prednizolon (Prednizolon Richter 5 mg tabl.)	0,5 mg/kg napi 2x	pozitív módosított Knott-teszt esetén, az anafilaxia veszélyének csökkentése miatt
	pantoprazol	1 mg/kg minden nap, evés előtt egy órával	gyomorvédelem
1.naptól-28.napig	doxiciklin (Doxycyclin 100 mg tabl.) +probiotikum	10 mg/kg napi 2x	<i>Wolbachia</i> baktériumok ellen
1.nap	moxidectin+imidakloprid (Advocate spot on A.U.V.)	testtömegnek megfelelő kiszerezés	lárvicid és újabb szakirodalom szerint adulticid terápiára is jó
Ezt követő minden 30. napon	moxidectin+imidakloprid (Advocate spot on A.U.V.)	testtömegnek megfelelő kiszerezés	lárvicid és újabb szakirodalom szerint adulticid terápiára is jó

1. táblázat: A gyógykezelés első lépései

A további moxidectin+imidakloprid adagokat a használati útmutatóban javasolt időközönként, havonta rendszeresen kapták meg a fertőzött állatok. A hat hónapig tartó gyógykezelést a 7. ábra foglalja össze. A kezelés elvégzése előtt minden alkalommal általános vizsgálatot végeztünk rajtuk és azt követően egy ideig megfigyeltük őket a kezelés biztonságos lefolyása, az esetleges adverz reakciók észrevétele és kezelése érdekében. A szem előtt tartott mellékhatások között elsősorban az azonnali állatorvosi beavatkozást igénylő súlyos légzőszervi tünetek (légzéscsökkenés, légzésleállás, köhögés) és a helyi túlérzékenységi reakció szerepeltek.

A 90. napon elvégzett vérvétel után az Állatorvostudományi Egyetem Parazitológiai és Állattani Tanszékének munkatársaitól újra kértük a “DiroCHEK Heartworm Antigen Test Kit” tesztet végrehajtását. A Knott-tesztek negativitása miatt ez esetben - a költséghatékonyság miatt – PCR vizsgálatot nem végeztünk. A 120. napon sorra kerülő vérvétellel nyert mintából elvégeztük a „Witness Heartworm Antigen Test Kit”

gyorstesztet és egy újabb módosított Knott-tesztet. Az utolsó, azaz a 180.napon ismét vért vettünk az öt szívférges kutyától és újra megismételtük a gyorstesztet, az ELISA-t és a PCR-t.



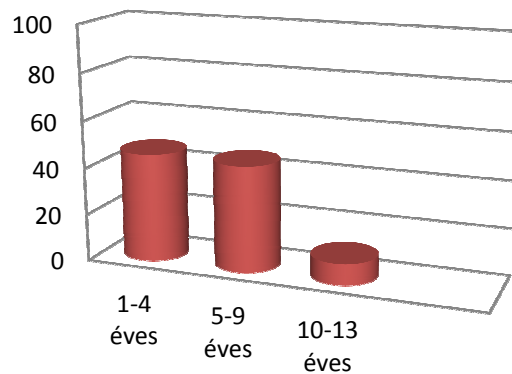
7. ábra: A gyógykezelés folyamatábrája

4 Eredmények

4.1 A vizsgálatban részt vett kutyák

Kutatásunk kezdetén az Észak-Pesti REX Kutyaotthon Alapítvány 100 kutyájából vettünk vért. Az életkoruk 1-13 évig terjedt, átlagos életkoruk 5,5 év volt. A listán 54 szuka és 46 kan, keverék és fajtatiszta kutyák is szerepeltek. A gyógykezelés megkezdése előtt nem figyeltünk meg náluk klinikai tüneteket, kivéve az April nevű ebnél 3/6-os szívzörejt és tachicardiát, a Jackson nevű kutyánál pedig 1/6-os szívzörejt regurgitálással a jobb oldalon.

Korcsoport szerinti megoszlás



8. ábra: A vizsgálatban résztvevő kutyák korcsoport szerinti megoszlása

4.2 A szívférgesség megállapítására vonatkozó eredmények

Első körben a gyorsteszttel és a módosított Knott-tesztel vizsgált mintáknak a 8%-a lett pozitív. Ennek a 37,5%-a (3 minta) csak gyorstesztel, szintén 37,5%-a csak módosított Knott-tesztel és a maradék 25% (2 minta) pedig mindkettővel pozitív eredményt adott. A 8 pozitív kutya újabb vérvételen esett át, majd az új mintákat az Állatorvostudományi Egyetem Parazitológiai és Állattani Tanszékének munkatársai tesztelték ELISA és PCR vizsgálattal. A PCR vizsgálat eredménye alapján biztos eredményt kaptunk a kutyák *Dirofilaria* fertőzöttségét illetően. *D. immitissel* 3 db, *D. repenssel* 2 db kutya, egy kutya pedig, mindkettővel fertőződött. Lett egy negatív eredmény is (2. táblázat.). A második vérvétel előtt az egyik fertőzött kutya elpusztult, így a „DiroCHEK Heartworm Antigen Test Kit” és a PCR vizsgálathoz már csak a maradék 7 kutyától

történt a mintavétel. Az ELISA 57,14%-os fertőzöttséget mutatott. A PCR vizsgálat eredménye szerint 3 db (43%) csak *D. immitisszel*, 2 db (29%) csak *D. repensszel*, 1 db (14%) mindkettővel és szintén 1 db (14%) egyikkel sem volt fertőzött. A további 92 kutya vérmintájának vizsgálata során, a Witness gyors tesztek és a módosított Knott-tesztek is negatív eredményt adtak. Az említett két teszt szerint negatív kutyákat nem vizsgálatuk tovább.

Vizsgált kutyák sorszama	Kutyák neve	„Witness Heartworm Antigen Test Kit” (Zoetis, USA) (1.vérvétel)	Módosított Knott teszt eredménye (1.vérvétel)	„DiroCHEK Heartworm Antigen Test Kit” (Zoetis, USA) eredménye (2.vérvétel)	PCR vizsgálat eredménye (2.vérvétel)
3.	April	+	-	+	negatív
7.	Fifi	-	+	-	<i>D. repens</i>
10.	Csibész (†)	+	-	(†)	(†)
16.	Saci	+	-	+	<i>D. immitis</i>
22.	Tapi	-	+	-	<i>D. repens</i>
37.	Kenny	+	+	+	<i>D. immitis</i>
39.	Csülök	+	+	+	<i>D. immitis</i>
47.	Jackson	-	+	-	<i>D. immitis</i> , <i>D. repens</i>

2. táblázat: Az első vizsgálatok eredményei
megjegyzés: (†) = elpusztult

Az eredmények alapján a PCR-rel pozitívnak ítélt kutyákról (Saci, Kenny, Csülök és Jackson hívónevű eb) biztosan elmondható, a mikrofiláriákból kivont DNS jelenléte alapján, hogy szívféreggel fertőzöttek. Az April nevű kutya esetében, a pozitív antigén tesztek mellett, a negatív PCR és módosított Knott-teszt eredmények több okból is kialakulhattak. Valószínűleg még nem ért el a szaporodási fázisba a vérben jelenlévő nőtény szívféreg vagy nem volt hím ivarú féreg a gazda szervezetében. A Tapi és Fifi nevű kutyák a PCR vizsgálat szerint *D. repens* fertőzöttségben szenvedtek, így a továbbiakban a kórtörténetük nem kerül ismertetésre. Ezek összevetésével a kezdetben

pozitívnak ítélt kutyák 71%-át kezdtük el kezelni, azaz 5 állatot.

A következő vérvételre a kezelésünk 90.napján került sor. Az Állatorvostudományi Egyetem Parazitológiai és Állattani Tanszékének munkatársaitól újra kértük a „DiroCHEK” vizsgálat elvégzését, mi pedig elvégeztük a „Witness” gyorstesztet és a módosított Knott-tesztet. Az antigéntesztek szerint a kutyáknak már csak a 40%-a, tehát két kutya mutatott pozitív reakciót. A 120. napi vérvétel alkalmával friss „Witness Heartworm Antigen Test Kit” vizsgálatot csináltunk és elvégeztünk egy újabb módosított Knott-tesztet. A módosított Knott-teszt 100%-ban negatív eredményt adott, a gyorsteszt pedig 60%-ban lett negatív.

A hat hónapos kezelés végén, tehát a 180. napon soron következő vérvétel eredményei az újra elvégzett gyorstesztetek és az ELISA tesztek szerint, a korábbi eredményekhez hasonlóan 60%-ban, a mikroszkópos és a PCR vizsgálatok szerint pedig 100%-ban negatívak lettek. Tehát a kezelés kezdetén fertőzöttnek nyilvánított öt kutyából már csak két kutya vérmintájából kaptunk antigén jelenlétét igazoló pozitív eredményt.

4.3 A gyógykezelés eredményei

A gyógykezelés eredményességét a kezelés 90. napjától kezdve a 3. táblázat foglalja össze.

Vizsgálat időpontjai	---	90. nap			120. nap		180. nap			
Vizsgált kutyák sorszám	Kutyák neve	Witness eredm.	Mód. Knott-teszt eredm.	DiroCHEK eredm.	Witness eredm.	Mód. Knott-teszt eredm.	Witness eredm.	Mód. Knott-teszt eredm.	DiroCHEK eredm.	PCR vizsgálat eredm.
3.	April	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16.	Saci	-	-	-	+	-	-	-	-	-
37.	Kenny	+	-	+	-	-	+	-	+	-
39.	Csülök	+	-	+	+	-	+	-	+	-
47.	Jackson	-	-	-	-	-	-	-	-	-

3. táblázat: A 90., 120. és a 180. napon vett vér vizsgálatának eredményei

A terápia elkezdése előtt a már ismertetett módon, minden beteg egy héten át tartó klopidorrel kúrán esett át, az anafilaxia veszélyének csökkentése és a mikrofilaremia

megelőzésének céljából. A vérvételeket megelőzően és a havonta történő kezelések alkalmával monitoroztuk a kutyákat. Az első adag Advocate és doxiciklin tabletta beadása után óránként történtek a monitorozások, mivel a kezelés lehetséges mellékhatásaként anafilaxiás reakció és súlyos légzőszervi tünetek léphettek volna fel. A klinikai alapértékeik végig normálisak voltak, jelentős eltérést és mellékhatást nem tapasztaltunk. Méréseinket az 4. táblázat foglalja össze.

Kutyák neve	----	April	Saci	Kenny	Csülök	Jackson
Testtömeg						
Vizsgálat időpontjai	-----	9kg	20kg	14kg	31kg	30kg
2018.03.09.	9:30 (pulzus)	170/perc 3/6-os szívzörej, tachicardia	130/perc	110/perc	100/perc	120/perc 1/6-os szívzörej, regurgitálással (jobb oldal)
	10:30 (pulzus)	180/perc	118/perc	112/perc	96/perc	100/perc
	11:30 (pul., T)	176/perc; 38,4	128/perc; 38,0	108/perc; 37,9	112/perc; 38,3	108/perc; 38,3
	12:30 (pul., T)	158/perc; 38,2	130/perc; 38,0	108/perc; 37,9	104/perc; 37,9	98/perc; 38,4
2018.04.12.	10:30 (pul., T)	148/perc; 38,0	120/perc; 38,2	108/perc; 37,5	92/perc; 38,2	120/perc; 37,8
	11:30 (pul., T)	123/perc; 37,9	106/perc; 38,3	134/perc; 38,2	96/perc; 38,3	106/perc; 37,8
2018.05.10.	10:00 (pul., T)	156/perc; 37,5	108/perc; 37,8	96/perc; 37,4	102/perc; 38,4	126/perc; 37,6
2018.06.13	11:00(pul., T)	168/perc; 38,1	138/perc; 38,3	90/perc; 37,4	96/perc; 38,2	138/perc; 38,2
2018.07.09.	11:00(pul., T)	132/perc; 37,8	126/perc; 37,9	96/perc; 37,6	92/perc; 38,1	118/perc; 38,1
2018.08.08.	10:30(pul., T)	134/perc; 37,9	124/perc; 37,8	100/perc; 37,7	96/perc; 38,0	112/perc; 37,9
2018.09.14.	11:30(pul., T)	132/perc; 37,9	128/perc; 38,0	98/perc; 37,8	98/perc; 37,9	114/perc; 38,0

4. táblázat: Havonta történő kezelések előtti, valamint az azt követő vizsgálatok eredményei

5 Megbeszélés

A dirofilariózis „combined slow kill protocols” általi kezelésének hatékonyságát illetően, az alacsony mintaszám miatt nem jelenthetünk ki komoly következtetéseket. Viszont a gyógykezelés e formájáról való tájékozódás céljából hasznos lehet az általunk tapasztalt kedvező kimenetelű esetek ismerete.

A kezeléseik közben és végén a parazitaellenes hatást „Witness Heartworm Antigen Test Kit” és módosított Knott-teszt elvégzésével, illetve „DiroCHEK Heartworm Antigen Test Kit” és PCR vizsgálat eredményei alapján ellenőriztük. A terápia végére az April, a Saci és a Jackson hívónévre hallgató kutya teljesen negatív lett, a Kenny és a Csülök nevű állat pedig csak az antigéntesztekkel mutatott pozitivitást. A kezdeti és a végső vizsgálatok szerinti fertőzöttségi státuszukat az 5. táblázat foglalja össze.

Vizsgált kutyák neve	Első vérvételek eredményei			Utolsó vérvételek eredményei		
	Witness és DiroCHEK antigénteszt	Módosított Knott-teszt	PCR vizsgálat	Witness és DiroCHEK antigénteszt	Módosított Knott-teszt	PCR vizsgálat
April	+	-	-	-	-	-
Saci	+	-	+	-	-	-
Kenny	+	+	+	+	-	-
Csülök	+	+	+	+	-	-
Jackson	-	+	+	-	-	-

5. táblázat: Az első és az utolsó vérvételek eredményei kutyánként

A *D. immitisszel* fertőzött 5 kutya vérmintája kezdetben ELISA és gyorseszttel nézve 80%-ban, Knott-teszttel vizsgálva 60%-ban, a PCR eredményei alapján pedig 80%-ban pozitív volt. Ennek az lehet az oka, hogy különösen kevés mikrofilária esetében, a gyakorlatban alkalmazott módosított Knott-teszttel nem minden esetben lehet megtalálni azokat, viszont a lárvákból kivont DNS kimutatása biztosít a jelenlétükről. A minta lárva mentességét okkult fertőzés esetén megmagyarázza az, hogy korábban mikrofilarioid készítményeket kaptak az állatok. A szerológiai vizsgálat viszont az antigén jelenlétét ennek ellenére is kimutatja (Sasaki és Kitagawa, 1993). Olyan mintánk is volt, ami PCR pozitív, viszont DiroCHEK által vizsgálva szeronegatív lett. Ezt a jelenséget részben az magyarázza, hogy a DiroCHEK kit érzékenysége nem éri el a 100%-ot, így előfordulhatnak a fals negatív eredményű, de fertőzött minták. Az is

állhat a háttérben, hogy a szervezet által termelt ellenanyagok immunkomplexeket képeznek az antigénhez kötődve, így akadályozzák az antigén kimutatást (Nelson és mtsai, 2014). A pozitív antigén tesztek mellett negatív PCR és módosított Knott-teszt eredményeket az magyarázza, hogy az adult nőtény férgek mellett nincs jelen a keringésben hím nemű féreg vagy még nem ért el a szaporodási fázisba a vérben jelenlévő nőtény szívféreg. A vizsgálat során feltűnt, hogy a 120. napon elvégzett Witness gyorsesztek eredményei, a Saci és Kenny hívónévre hallgató kutya esetében, a 90. és a 180. napon kapott eredményekkel összevetve, ésszerűtlen eredményeket adtak (3. táblázat). A pontos magyarázatát nem ismerjük, de okozhatta az is, hogy a teszt specificitása és szenzitivitása a használati útmutató szerint nem teljesen 100%. A gyógykezelés előrehaladtával szignifikánsan csökkent a fertőzöttség aránya, a gyógykezelés hatékonynak bizonyult. A negyedik hónapra az ELISA és a gyorseszteszt eredménye már csak 40%-ban lett pozitív. A Knott-teszt pedig 100%-ban negativitást mutatott. A hatodik hónap végén már a PCR is 100%-ban, az ELISA pedig továbbra is 60%-ban negatív volt. Tehát a mikrofiláriák teljes mértékben eltűntek, az adult férgek elleni hatékonyság pedig a 60%-ot érte el.

Savadelis és mtsai (2017) tanulmánya kimutatta, hogy a moxidektin és doxiciklin kombinációval kezelt szívférges kutyák vérbeli antigén koncentrációja 95,9%-kal csökkent. Mikrofiláriák pedig már 21 nappal a kezelés után nem voltak a kutyák vérében. A kutatás során összehasonlították a melarzomin kétdózisú kezelésével, melynek 90,7%-os volt a hatékonysága az adult férgek ellen, és a háromdózisúval, ami 99%-ban hatékony adulticid hatású volt.

Egy másik kutatás szerint a moxidektin-doxiciklin kombináció alkalmazásával az adult szívférges már hat hónap alatt eliminálódtak, különösen az alacsony számú mikrofiláriával (<300mf/ml) fertőződött egyedek esetében. A hatodik hónap végére pedig a módosított Knott-teszt szerint is teljesen mikrofilária mentesek lettek a kutyák (Bendas és mtsai, 2017)

Bagi és mtsai (2017) tapasztalatai alapján a melarzomin (Immiticide) 87%-ban gyógyulást vont maga után, továbbá 13%-a a kezelt állatoknak elhullott. A fél éves kezelés végén valamennyi kutya antigéntesztje negatív lett.

A „combined slow kill” terápia alkalmazása során a kezelt 5 kutya egyikén sem észleltünk a terápia időtartama alatt mellékhatásokat. McCall és mtsai (2014) kísérletes tanulmányához hasonlóan, mi sem észleltünk adverz reakciót egyik betegben sem. Mikrofilariemia miatt fellépő, állatorvosi ellátást igénylő esetek nem fordultak elő, mivel

szakirodalmi javaslatok szerint, egy hetes előkezelést is alkalmaztunk. Az Advocate betegtájékoztatójában említett viszketegség, zsíros szőrzet, bőrpír sem volt tapasztalható. Nem figyeltünk meg túlérzékenységi reakciót, súlyos légzőszervi tünetet, köhögést és a menhely dolgozói sem tapasztaltak a hétköznapi étvágytalanságot, hányást, hasmenést és bágyadtságot a kutyáknál. A kezelések során figyeltünk arra is, hogy a kutyák ne nyalják le a rájukcsepegtetett terméket. Idegrendszeri tüneteket, ataxiát, izomremegést, pupillatágulatot, nisztagmust, gyenge pupillareflexet és nyálzást okozhatott volna.

A doxiciklin 28 napos terápia alatt szintén nem tapasztaltunk sem gastrointestinális, sem más eredetű mellékhatást, ami kedvezőbb Schulz és mtsai (2011) tapasztalataihoz képest, amely szerint az állatok majdnem 20%-a esetében jelentkeztek tünetek. Esetünkben a gastrointestinális tünetek elkerülésének sikerességében valószínűleg szerepet játszott a probiotikumok alkalmazása.

Vizsgálatunk során a moxidektin- doxiciklin kombinációt viszonylag kevés egyednek tudtuk alkalmazni, de az eredményeink az említett szakirodalmakkal összevetve, bővítik a tapasztalatát a *D. immitis* által fertőzött kutyák ezen a módon történő gyógykezelésének.

6 Összefoglalás

Hazánkban 2006 óta szignifikánsan emelkedik a *D. immitis* okozta szívférgesség előfordulási gyakorisága. A diagnosztikai módszerek párhuzamos fejlődésével ugrásszerűen nőtt a diagnosztizált esetek száma is, kutyában és egyéb ragadozóknál egyaránt. Mivel egyre több kutya szenved dirofilariosisban, így nagy hangsúlyt kell fektetni a korai felismerés mellett a preventív kezelésekre is. Ennek egyik alappillére a lárvicid szerek alkalmazása, a másik pedig a repellensek igénybevétele. A klasszikus „golden-standard” terápia nem mindig elérhető és több mellékhatással is rendelkezik, így kísérletünk során egy olyan kezelési protokoll hatékonyságát vizsgáltuk, amely alkalmazásával ezek elkerülhetőek vagy csökkenthetőek. Ez a gyógykezelés a „combined slow kill protocols” gyűjtőnévvel foglalható össze.

A „golden-standard” alapja az adulticid melarzomin, a *Wolbachia* baktériumok ellen hatékony doxiciklin és a lárvicid makrociklikus laktonok valamelyike. Az általunk is alkalmazott „combined slow kill protocols” a melarzomin nélkülözését és a makrociklikus laktonok közül a moxidektint javasolja, mivel a lárvicid hatása mellett, bizonyítottan magas hatékonyságú (95,9%) adulticid hatással is rendelkezik. A doxiciklint egy hónapos adagolása ebben a protokollban is jelen van.

Kutatásunkat a REX Kutyaotthon Alapítvány kutyáin végeztük. A menhely 100 kutyájából vettünk vért és vizsgáltuk „Witness Heartworm Antigen Test Kit”, „DiroCHEK Heartworm Antigen Test Kit”, módosított Knott-teszt és PCR igénybevételével.

A gyorsteszt és az ELISA eredménye megegyezett, öt kutya lett pozitív. A módosított Knott-teszttel szintén öt mintában találtunk L1 stádiumú lárvákat. Végül a PCR vizsgálat eredménye 3db szívféreggel, 2db bőrféreggel és egy mindkettővel fertőzött minta lett. Egy szívféreggel fertőzött kutya még a kezelés elkezdése előtt, egyéb okból kifolyólag elpusztult, így diagnosztikai boncolást végeztünk rajta. A tetem vizsgálata során a vena pulmonaris bal pitvarba szájadzásánál két adult férget találtunk. A valamilyen módon *D. immitis*-re pozitívnak ítélt 5 db kutya kezelését azonnal elkezdjük. A protokollt 6 hónapig végeztük. A gyógykezelés végén az összes kutya PCR és módosított Knott-teszt eredménye negatív, a „Witness Heartworm Antigen Test Kit” és a „DiroCHEK Heartworm Antigen Test Kit” pedig még két kutyában pozitív eredményt adott.

A vizsgálatunkat tehát biztató eredménnyel zártuk. Fél év alatt az mikrofiláriák ellen

100%-os, a kifejlett férgekkel szemben pedig 60%-os hatékonyságot értünk el. Egyéb protokollal szemben, a gyógykezelés alatt nem észleltünk mellékhatásokat. A rezisztencia kialakulásának veszélyét és a vele járó „krónikus károsodások” kialakulásának esélyét, a kombinált gyógyszerhasználattal minimalizáltuk. A terápiás rés „susceptibility gap” sem okozott problémát, hiszen a moxidektin és a doxiciklin kombinációja a szívféreg összes fejlődési ciklusára hatással van.

A tapasztalatok tehát azt mutatták, hogy ez a protokoll is sikeresen alkalmazható a hazánkban egyre gyakrabban előforduló szívférges esetek kezelésére, mint egy lehetséges alternatívája a komplex melarzominos terápiának.

7 Summary

In Hungary, the prevalence of heartworm disease caused by *D. immitis* has risen significantly since 2006. With the progress in the development of diagnostic techniques, efficacy of detection and diagnosis improved widely both in canids and felids. As heartworm disease affects more and more dogs recently, correct protocols of early diagnosis and prevention should be performed. Application of larvicide and repellent substances can be efficient. The treatment protocol carried out in our study was more effective than the classic „golden-standard” therapy which is not always available and has many side-effects. The name of this type of treatment is „combined slow kill protocol”. Doxycyclin which is efficient against *Wolbachia* bacteria, adulticide melarsomine, and either of macrocyclic lactones are the basic agents of the „golden-standard” protocol. „Combined slow kill protocols” recommend the elimination of melarsomine and the use of moxidectin which is not only an outstanding larvicide agent but its adulticide effect is also impressive (95,9%). Application of doxycyclin for a month is present in this protocol, too.

In this study, dogs at Rex Dog Shelter Foundation were treated with our protocol. Blood samples were taken from 100 dogs currently living at the shelter, and were tested with „Witness Heartworm Antigen Test Kit”, „DiroCHEK Heartworm Antigen Test Kit”, modified Knott’s technique and PCR. Quick tests and ELISA showed same results, 5 dogs were heartworm positive. L1 stadium larvae were also found in 5 samples with modified Knott’s technique. Final results were carried out by PCR which resulted 3 *D. immitis* positive samples, 2 *D. repens* positive samples and one which was infected with both. One of the heartworm positive dogs deceased before the beginning of the treatment, necropsy was performed. During the recovery of the carcass, two adult heartworms were found in the pulmonary vein where it drains into the left atrium.

After the tests, the treatment of the five positive dogs were immediately started. Our protocol was finished at six months but continuing after this paper. At the end of our study, all the blood samples of the treated dogs were PCR and modified Knott’s technique negative, „Witness Heartworm Antigen Test Kit” and „DiroCHEK Heartworm Antigen Test Kit” still showed positive results in two samples. Therefore, our study presented promising results. In six months, microfilaria were 100% destroyed, and our protocol had 60% effectiveness against adult worms. With this protocol, no side-effects were observed during the treatment. The danger of evolving resistency and

its chronic effects was minimalised by usage of combined medical substances. No problems were caused by susceptibility gap as the combination of moxidectin and doxycyclin are effective against every stadium in the life cycle of *D. immitis*.

Observations showed that this protocol might be successfully used in the treatment of heartworm disease in Hungary as a potential alternative to complex therapy with melarsomine.

8 Irodalomjegyzék

- American Heartworm Society. (2014): Current Canine Guidelines for the Prevention, Diagnosis, and Management of Heartworms (*Dirofilaria immitis*) Infection in Dogs. <https://www.heartwormsociety.org/>.
- 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.
- Atkins, C. (2010): Heartworm disease. In: Ettinger, S.J. & Feldmann E.C. (eds.): Textbook of veterinary internal medicine. Diseases of the dog and cat, 7th ed., Elsevier Saunders, St. Luis. pp. 1353-1380.
- Atkins, C.E. (2003): Comparison of results of three commercial heartworm antigen test kits in dogs with low heartworm burdens. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 222, 1221-1223.
- Bacsadi, Á., Tolnai, Z., Papp, A., Szeredi, L., Tóth, G., Sproch, Á., Nemes, Cs., Imre, V., Széll, Z., Sréter, T., (2016): Paraziták terjedése a változó európai környezetben: a szívféreg példája hazánkból (röv. másod közlés), *Magy. Állatorv. Lapja*, 138, 295-299.
- Bagi, F., Vörös, K., Túri, Á. (2017): A kutyák szívférgessége megállapításának és komplex gyógykezelésének előzetes tapasztalatai 38 eset kapcsán. *Magy. Állatorv. Lapja* 139. 203-213.
- Bartlett, C.M.: Filaioid nematodes. In: Atkinson, C.T., Thomas, N.J., Hunter, D.B. (eds.) (2008): Parasitic diseases of wild birds. *J. Wiley and Sons Inc. Chichester*, 439-462.
- Bazzocchi, C., Mortarino, M., Grandi, G., Kramer, L. H., Genchi, C., Bandi, C., Genchi, M., Sacchi, L., McCall, J. W. (2008): Combined ivermectin and doxycycline treatment has microfilaricidal and adulticidal activity against *Dirofilaria immitis* in experimentally infected dogs, *Int. J. Parasitol.*, 38. (12) 1401-10.
- Bendas, A.J.R., Mendes-de-Almeida, F., Simson, C.V., Labarthe, N. (2017): Heat pretreatment of canine samples to evaluate efficacy of imidacloprid + moxidectin and doxycycline in heartworm treatment.
- Blagburn, B., Bowles, J., Loechel, R., Carmichael, J., Schenker, R., Roycroft, L. (2013): Evidence of genetic selection following treatment of a heartworm-infected, microfilaremic dog with increasing doses of ivermectin. Chicago, IL, USA: American Association of Veterinary Parasitologists, 58th Annual Meeting; p. 64.
- Boros, G., Janisch, M., and Sebestyén, Gy. (1982): *Dirofilaria immitis* kutyában, *Magy. Állatorv. Lapja* 37, 313-316.
- Bowman, D.D., and Atkins, C.E., (2009): Heartworm biology, treatment, and control. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 39, 1127-1158.
- Cancrini, G., and Gabrielli, S. (2007): Vectors of *Dirofilaria* nematodes, biology, behaviour and host/parasite relationships. In *Dirofilaria immitis* and *D. repens* in dog and cat and human infections, eds. C. Genchi, L. Rinaldi, and G. Cringoli Zagreb, Rolando Editore, pp. 47-58.
- Casiraghi, M., Bazzocchi, C., et al. (2006): A simple molecular method for discriminating common filarial nematodes of dogs (*Canis familiaris*) *Vet. Parasitol.*, 141. 368-372.
- Ciocan, R., Dařrařbus, Gh., Igna, V. (2010): Morphometric study of microfilariae of *Dirofilaria* spp. on dogs. *Bulletin UASVM*, 67, 45-49.
- Courtney, C.H., and Zeng, Q.Y. (2001): Relationship between microfilaria count and sensitivity of the direct smear for diagnosis of canine dirofilariosis. *Vet Parasitol.* 94, 199-204.
- Csöndes, J. – Majoros, G. – Lajos, Z. – Psáder, R.– Vajdovich, P. – Manczur, F. – Máthé, Á.: Angiostrongylosis-related restrictive pneumopathy assessed by arterial blood gas analysis in a dog. *Acta Vet. Hung.*, 2015. 63. 16-29.

- Drake, J., Gruntmeir, J., Merritt, H., Allen, L., and Little, S.E. (2015): False megateive antigen test sin dogs infected with heartworm and placed on macrocyclic lactone preventives. *Parasit. Vectors* 8, 68.
- Euzeby, J. (1981): Diagnostic expérimental des helminthoses animales: animaux domestiques, animaux de laboratoire, primates. Livre 1. Informations techniques des services vétérinaires. Minist. Agric. Paris, 279-311.
- Farkas, R. és Vörös, K. (2015): A kutyák szívférgessége. *Kamarai állatorvos* 2015/3, 20-31.
- Gaál, T. (szerk.), (1999): Állatorvosi klinikai laboratóriumi diagnosztika. Sík Kiadó Kft. Budapest
- Gálfi, P., Csikó, Gy. és Jerzsele, Á. (2015): Állatorvosi gyógyszerteran III.; 347.-357.
- Genchi, C., Kramer, L.H., and Rivasi, F. (2011a): Dirofilarial infections in Europe. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 11, 1307-1317.
- Genchi, C., Mortarino, M., Rinaldi, L., Cringoli, G., Traldi, G., and Genchi, M. (2011b): Changing climate and changing vector-borne disease distribution: the example of *Dirofilaria* in Europe. *Vet. Parasitol.* 176, 295-299.
- Genchi, C., Rinaldi, L., Cascone, C., Mortarino, M., Cringoli, G. (2005): Is heartworm disease really spreading in Europe? *Vet. Parasitol.* 133, 127-148.
- Gioia, G., Lecová, L., Genchi, M., Ferri, E., Genchi, C., and Mortasino, M. (2010): Highly sensitive multiplex PCR for simultaneous detection and discrimination of *Dirofilaria immitis* and *Dirofilaria repens* in canine peripheral blood. *Vet. Parasitol.* 172, 160-163.
- Goodwin. J-K. (1998): The serologic diagnosis of heartworm infection in dogs and cats. *Clin. Tech. SmallAnim. Pract.* 13, 83-87.
- Grandi, G., Quintavalla, C., Mavropoulou, A., Genchi, M., Gnudi, G., Bertoni, G., Kramer, L. (2010): A combination of doxycycline and ivermectin is adulticidal in dogs with naturally acquired heartworm disease (*Dirofilaria immitis*). *Vet Parasitol.* 169 (3-4), 347-351.
- Jacsó, O. (2014): A *Dirofilaria*-fajok hazai elterjedtsége és állatgyógyászati jelentősége, a gyógykezelés tapasztalatai. PhD értekezés. 138 o. SZIE Állatorvostudományi Doktori Iskola, Budapest. Free online
- Jacsó, O., and Fok, É. (2006): A kutyák és a macskák *Dirofilaria repens* fertőzöttségének kimutatása laboratóriumi módszerekkel. *Magy. Állatorv. Lapja* 128, 683-690.
- Jacsó, O., Mándoki, M., Majoros, G., Pétsch, M., Mortarino, M., Genchi, C., and Fok, E. (2009): First autochthonous *Dirofilaria immitis*(Leidy, 1856) infection in a dog in Hungary. *Hleminthologia* 46, 159-161.
- Kassai, T., (2011):. *Helmintológia.Állatorvosi Kamara, Budapest*, pp 186-195
- Knott, J. (1939): A method for making microfilarial surveys on blood. *Trans. Roy. Soc. Trop. MEd Hyg.*, 33, 191-196.
- Kozek, W.J. (2005): What is new int he Wolbachia/ *Dirofilaria* interaction? *Vet. Parasitol.* 133, 1278-1232
- Kramer, L., Grandi, G., Leoni, M., Passeri, B., McCall, J., Genchi, C., Mortarino, M., Bazzocchi, C.(2008): Wolbachia and its influence on the pathology and immunology of *Dirofilaria immitis* infection, *Vet Parasitol.*, 158. (3)191-195.
- Latrofa, M.S., Dantas- Torres, F., Annoscia, G., Genchi, M., Traversa, D., and Otranto, D., (2012): A duplex realtime 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.L., Bowman, D.D., Lucio.Forster, A., Beall, M.J., Liotta, J.L., Dillon, R. (2011): Evaluation of a new in-clinic method for the detection of canine heartworm antigen.
- Magnis, J., Lorentz, S., Guardone, L., Grimm, F., Magi, M., Naucke, T.J., and 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. *Parasit. Vectors* 6, 48.
- Majoros, G., and 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., and 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.
- Majoros, G., Fukar, O., and Farkas, R. (2010): Autochthonous infection of dog and slugs with *Angiostrongylus vasorum* in Hungary. *Vet Parasitol.* 174, 351-354.
- Maxwell, E., Ryan, K., Reynolds, C. et al. (2014): Outcome of a heartworm treatment protocol in dogs presenting to Louisiana State University from 2008 to 2011: 50 cases. *Vet. Parasitol.* 206, 71-77
- McCall, J.W., Genchi, C., Kramer, L.H., Guerrero, J., and Venco, L. (2008): Heartworm disease in animals and humans. *Adv. Parasitol.* 66, 193-285.
- McCall, J.W., Arther, R., Davis, W., Settje, D., (2014.): Safety and efficacy of 10% imidacloprid+2.5% moxidectin for the treatment of *Dirofilaria immitis* circulating microfilariae in experimentally infected dogs. *Vet. Parasitol.* 206, 96-92
- McCall J. és mtsai. "Study to determine the performance of commercially available canine heartworm antigen test kits. American Association of Veterinary Practitioners. 45th Annual Meeting: Abstract #52, (2000).
- Miller, M. W. - Gordon, S. : Canine szívférgességi betegség. In: Bonagura, J. D. - Twedt, D. C. (szerk.): *Kirk jelenlegi állatorvosi terápiája*. 15. kiadás Elsevier Saunders, St. Louis, 2014. 831-838.
- Molnár, V., Pazár, P., Rigó, D., Máthé, D., Fok, É., Glavits, R., Vajdovich, P., Jacsó, O., Balogh, L., and Sós, E. (2010): Autochthonous *Dirofilaria immitis* infection in a ferret with aberrant larval migration in Europe. *J. Small Anim. Pract.* 51, 393-396.
- Morchón, R., Carretón, E., González-Miguel, J., and Mellado-Hernández, I. (2012): Heartworm disease (*Dirofilaria immitis*) and their vectors in Europe – new distribution trends. Review article. *Frontiers in Physiol.* 3, 196.
- Morchón, R., Carretón, E., Grandi, G., Gonzalez-Miguel, J., Montoya-Alonso, J. A., Simón, F., Genchi, C., Kramer, L. H.(2012b): Anti-Wolbachia surface protein antibodies are present in the urine of dogs naturally infected with *Dirofilaria immitis* with circulating microfilariae but not in dogs with occult infections, *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 12.
- Nelson, C.T., McCall, J., Carithers, D. (eds.) (2016): Current canine guidelines for the diagnosis, prevention, and management of heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection in dogs (revised July 2014). <http://heartwormsociety.org>, Accessed 24 may 2016.
- Rawlings, CA., Bowman, DD., Howerth, EW., Stansfield, DG., Legg, W., Luempert, LG. (2001): Response of dogs treated with ivermectin or milbemycin starting at various intervals after *Dirofilaria immitis* infection. *Vet Ther.*, 2,193-207.
- 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.

Savadelis, M., Dzimanski, M., Coleman, A., Rapoport, G., Sharma, A., Ohmes, C., et al. (2016): Assessment of parasitological and clinical findings in heartworm- infected beagles treated with Advantage Multi® and doxycycline. In: Abstract 17 of American Association of Veterinary Parasitologists, 61st annual meeting August 6th – 9th 2016, San Antonio, Texas.

Savadelis, M.D., Ohmes, C.M., Hostetler, J.A., Settje, T.L., Zolynas, R., Dzimanski, M.T., Moorhead, A.R. (2017): Assessment of parasitological findings in heartworm- infected geagles treated with Advantage Multi® for dogs (10% imidacloprid + 2,5% moxidectin) and doxycycline.

Schnyder, M. – Schaper, R. – Lukács, Z. – Hornok, S. – Farkas, R. (2015): Combined serological detection of circulating *Angiostrongylus vasorum* antigen and parasite-specific antibodies in dogs from Hungary. *Parasitol. Res.*, 114. 139–148.

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.

Schulz, B. S., Hupfauer, H., et al. (2011): Suspected side effects of doxycycline use in dogs- a retrospective study of 386 cases. *Vet. Rec.*, 169. 229.

Simón, F., Siles-Lucas, M., Morchón, R., González-Miguel, J., Mellado, I., Carretón, E., and Montoya-Alonso, J.A. (2012): Human and animal dirofilariasis: the emergence of a zoonotic mosaic. *Clin. Microbiol Rev.* 25, 507-544.

Tolnai, Z., Széll, Z., Sproch, Á., Szeredi, L., and Sréter, T. (2014): *Dirofilaria immitis*: an emerging parasite in dogs, red foxes and golden jackals in Hungary. *Vet Parasitol.* 203, 339-342.

Traversa, D., Di Cesare, A., and Conboy, G. (2010): Canine and feline cardiopulmonary parasitic nematodes in Europe: emerging and underestimated. *Parasit. Vectors* 3, 62.

Velasquez, L., Blagburn, B.L., Duncan-Decoq, R., Johnson, E.M., Allen, K.E., Meinkoth, J., Gruntmeir, J., and Little, S.E. (2014): Increased prevalence of *Dirofilaria immitis* antigen in canine samples after heat treatment. *Vet Parasitol.* 206, 67-70.

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

<https://www.zoetisus.com/products/diagnostics/dirochek-heartworm-antigen-test-kit.aspx> (2), (Megtekintve: 2018.09.20.)

<https://www.zoetisus.com/products/dogs/witness-heartworm.aspx> (1), (Megtekintve: 2018.09.20.)

9 Köszönetnyilvánítás

Elsősorban szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Dr. Jerzsele Ákosnak, a Gyógyszertan és Méregtani Tanszék vezetőjének, egyetemi docensének, illetve egyetemünk tudományos és kutatási rektorhelyettesének, aki munkámat a kutatás során és a dolgozat megírása alatt is segítette.

Köszönöm Dr. Vörös Károlynak, Dr. Farkas Róbertnek és a Parazitológiai és Állattani Tanszék munkatársainak, Takács Nórának és Gyurkovszky Mónikának, hogy a „DiroCHEK® Heartworm Antigen Test Kit” és a PCR vizsgálatok elvégzésével, illetve az eredmények értékelése során segítséget nyújtottak.

Köszönettel tartozom Prof. Gálfi Péternek is, a Gyógyszertan és Méregtani Tanszék egykori vezetőjének, aki biztosította a feltételeket a munkánkhoz.

Köszönöm a Bayer Hungária Kft.-nek és a Zoetis Hungary Kft.-nek, hogy biztosították az általunk tesztelt protokollhoz szükséges állatgyógyászati készítményeket és a diagnosztikai szempontból fontos gyorsteszteket.

Köszönöm továbbá a REX Kutyaotthon Alapítvány munkatársainak, hogy partnerek voltak a vizsgálatok és a kezelések során.

Végül, de nem utolsó sorban pedig hálás vagyok családomnak és barátaimnak, hogy támogattak és türelmesek voltak velem a dolgozat elkészítése során.

Alulírott..... DR. FERZSELE AKOS..... Igazolom, hogy

..... SIPOS ESZTER..... (a hallgató neve)

..... MOXIDEKTIN ÉS DOXICIKLIN TARTÓS KOMBINÁLT TERÁPIA
..... DIROFILAZIA IMITÁSSZEL FERTŐZÖTT KUTYÁKBAN
című szakdolgozatát ismerem, azt beadásra és védésre alkalmasnak tartom.

Budapest, 2019. 11. 11.

.....
.....
..... DR. FERZSELE AKOS
..... a témavezető neve és aláírása
.....
..... ANATOMIAI ÉS
..... MÉRGTANI TANSZÉK
.....

tanszék

NYILATKOZAT

AlulírottSIPOS ESZTER..... nyilatkozom, hogy szakdolgozatom,
melynek címeMOXIDEKTIN ÉS DOXICIKLIN TARTÓS KOMBINÁLT
.....TERÁPIA DIROFILARIA IMMITISSZEL FERTŐZÖTT KUTYÁKBAN
tartalmi és formai szempontból teljes mértékben megegyezik azonos című, a2018
évi TDK konferencián szerepelt dolgozatommal.

Budapest, 201. 9. 11.

.....Sipos E.

SIPOS ESZTER

a hallgató neve és aláírása

HuVetA
ELHELYEZÉSI MEGÁLLAPODÁS ÉS SZERZŐI JOGI NYILATKOZAT*

Név: SÍROS ESZTER
Elérhetőség (e-mail cím): eszter.951211@gmail.com
A feltöltendő mű címe: NOXIOEKTIN ÉS DOXICIKLIN TARTÓS KOMBINÁLT
TERÁPIA DIFTERIARIA IMMITISSZEL FERTŐZÖTT KUTYÁKBAN
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).

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

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

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

- engedélyezi, hogy a HuVetA-ban -ban tárolt művek korlátlanul hozzáférhetővé váljanak a világhálón,
- az Állatorvostudományi Egyetem belső hálózatára (IP címeire) korlátozza a feltöltött dokumentum(ok) elérését,
- a Könyvtárban található, dedikált elérést biztosító számítógépre korlátozza a feltöltött dokumentum(ok) elérését,
- csak a dokumentum bibliográfiai adatainak és tartalmi kivonatának feltöltéséhez járul hozzá (korlátlan hozzáféréssel),

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




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

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

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

Budapest, 2013 év/...../..... hó nap


aláírás
szerző/a szerzői jog tulajdonosa

A HuVetA Magyar 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.*