

Sveučilište u Zagrebu

Veterinarski fakultet

Katarina Mohač i Hana Musil, studentice IV.godine

Morfološka karakterizacija plućnih vlasaca kod divljih svinja (*Sus scrofa*)

Zagreb, 2022.

Ovaj rad izrađen je na Zavodu za parazitologiju i invazijske bolesti s klinikom pod vodstvom mentora doc. dr. sc. Franje Martinkovića i predan je na Natječaj za dodjelu Rektorove nagrade u akademskoj godini 2021./2022.

SADRŽAJ	STRANICA
1. UVOD	1
2. OPĆI I SPECIFIČNI CILJEVI RADA	2
3. MATERIJALI I METODE	3
4. REZULTATI	3
4.1.1 Morfološke osobitosti vrste <i>Metastrongylus apri</i>	8
4.1.2 Morfološke osobitosti vrste <i>Metastrongylus pudendotectus</i>	10
4.1.3 Morfološke osobitosti vrste <i>Metastrongylus confusus</i>	12
4.1.4 Morfološke osobitosti vrste <i>Metastrongylus salmi</i>	14
4.1.5 Morfološke osobitosti vrste <i>Metastrongylus asymmetricus</i>	16
5. RASPRAVA	18
6. ZAKLJUČCI	21
7. ZAHVALE	22
8. LITERATURA	23
9. SAŽETAK	26
10. SUMMARY	27

## 1. UVOD

Divlja svinja (*Sus scrofa*) jedna je od najstarijih vrsta životinja preživjelih na području Europe i Azije. Danas je ona rasprostranjena diljem svijeta, u Europi, Aziji, Africi i u Sjevernoj Americi. Njen broj je u konstatnom porastu zbog izrazito visoke prilagodljivosti klimatskim uvjetima i zbog malog broja prirodnih neprijatelja. Divlja svinja je prepoznata kao rezervoar virusa, parazita i generalno gledano, uzročnika zoonoza. Procjenjuje se da je broj divljih svinja u Republici Hrvatskoj 30 000 do 52 000. Premda je lov u Hrvatskoj razvijen i postoji odstrelna kvota za divlje svinje, zbog izrazito velikog broja raste mogućnost izravnog i neizravnog kontakta divljih svinja s domaćim životinjama (JEMERŠIĆ i sur., 2019.). Posebno su ugrožene domaće svinje koje su jednako osjetljive na sve uzročnike bolesti kao i divlje svinje, pogotovo one domaće svinje koje su držane u ekstenzivnim uvjetima (SPIELER i sur., 2021.).

Plućni paraziti domaćih i divljih svinja, tj. plućni vlasci pripadaju koljenu oblića (Nematoda), nadporodici Metastrongylidea, porodici Metastrongylidae te rodu *Metastrongylus* (ANDERSON, 2000.; CARRENO i sur., 2003.). Do sada je opisano svega šest vrsta: *M. pudenodotectus*, *M. salmi*, *M. confusus*, *M. asymmetricus*, *M. apri* (sinonim *elongatus*) i *M. madagascariensis* (SPIELER i sur., 2021.). Njihov razvojni ciklus je neizravan što znači da je za razvoj potreban posrednik. Plućni vlasci za posrednike koriste gujavice različitih vrsta od kojih je najzastupljenija *Dendrobaena rubida tenuis* (GOLDOVA i sur., 2001.). Razvojni ciklus parazita započinje tako što invadirana svinja izlučuje jajašca putem fecesa u okoliš. Unutar tih jajašaca nalazi se u potpunosti razvijena ličinka prvog stupnja (L-1) koja kao takva nije invazijski sposobna za nositelja i za daljnji razvoj joj je potrebna gujavica. Nakon što tu ličinku pojede gujavica, u njoj se razvija do stadija L-3. Ličinka unutar gujavice može preživjeti i ostati invazijski sposobna i do 18 mjeseci (ROSE, 1959.). Svinje držane u ekstenzivnim uvjetima imaju razvijen nagon za rovanjem, stoga lako mogu pojesti gujavicu. Iz gujavice unesene p/o, u tankom crijevu se oslobađa invazijski sposobna ličinka trećeg stupnja (L-3) koja prolazi kroz stijenku tankog crijeva i ulazi u mezenterijalne limfne čvorove, zatim putem limfe u krvotok i krvotokom do pluća. U plućima se ona razvija do adulta, a ženka polaže jajašca unutar 24 dana od invazije (KONTRIMAVICHUS, 1985.). Svinja iskašlja jajašca i ponovno ih guta te ona na taj način fecesom odlaze u okoliš.

Plućni vlasci i u divljih svinja uzrokuju bolest subkliničkog ili kliničkog tijeka. Pronađeni su intersticiju pluća, ponajprije bronhima i bronhiolima gdje se i razmnožavaju. Na razvoj patologije u dišnom sustavu utječe imunološki status životinje te starost životinje. Zabilježena

je povećana smrtnost u jedinki divljih svinja od 10 do 18 mjeseci starosti (KONTRIMAVICHUS, 1985.). Glavni mehanizam nastanka promjena je migracija parazita od tankih crijeva preko limfnih čvorova do krvi i desne strane srca i u konačnici pluća (SPIELER i sur., 2021.).

Najčešći patoanatomski nalaz u divljih svinja invadiranih oblicima iz porodice *Metastrongylidae* su nalaz fibrotičnih promjena u plućima kao posljedica djelovanja parazita na stijenku bronha i bronhiola. Poznato je da su uzrok patoanatomskih promjena i antigenski učinak oblića na imunološki sustav nositelja te potiču reakciju preosjetljivosti u dišnom sustavu. Migracija ličinki uzrokuje oštećenje na stijenci crijeva, limfnim čvorovima te u krvnim žilama (KONTRIMAVICHUS i sur., 1985.). Oštećenja u plućnom intersticiju predisponirajući su čimbenik za razvoj virusnih i bakterijskih upala pluća. Dokazano je da invazija plućnim vascima pospješuje replikaciju *Porcine circo* virusa. Istovremena infekcija *Porcine circo* virusom i invazija plućnim vascima smanjuje otpornost imunološkog sustava i pospješuje razvoj bronhopneumonije (MARUCHELLA i sur., 2011.).

U dosadašnjim radovima na području Republike Hrvatske spomenute su samo vrste *Metastrongylus apri* i *Metastrongylus pudendotectus* (BUJANIĆ i sur., 2017.; RAJKOVIĆ-JANJE i sur., 2002.), dok je u Europi potvrđena prisutnost još tri vrste (*M. confusus*, *M. salmi* i *M. asymmetricus*) i to u Poljskoj (NOSAL i sur., 2010.), Nizozemskoj (JANSEN, 1964.), Njemačkoj (MENNERICH-BUNGE i sur., 1993.), Španjolskoj (GARCIA - GONZALES i sur., 2013.; GASSO i sur., 2014.), Francuskoj (HUMBERT i sur., 1989.), Italiji (POGLAYEN i sur., 2016.) i Bugarskoj (PANAYOTOVA-PENCHEVA i sur., 2018.).

## 2. OPĆI I SPECIFIČNI CILJEVI RADA

Prema svjetskim literaturnim podacima plućni vlasci su vrlo čest patoanatomski nalaz, a prema skromnim lokalnim literaturnim podacima, tj. na području Republike Hrvatske, spominju se samo dvije vrste plućnih vlasaca gdje ne postoje detaljni opisi morfologije istih. Budući da ne postoje literaturni podaci, popraćeni ilustracijama ili fotografijama, koji plućni vlasci su prisutni na području RH, a postoje u svijetu, pretpostavka je da se radi o već poznatim vrstama navedenima u stranoj literaturi i vrlo vjerojatno još neidentificiranima na našem području.

Cilj ovog istraživanja je prikazati morfološke osobitosti plućnih vlasaca pronađenih kod divljih svinja na području Medvednice te determinirati njihov rod i vrstu. Determinacija roda i

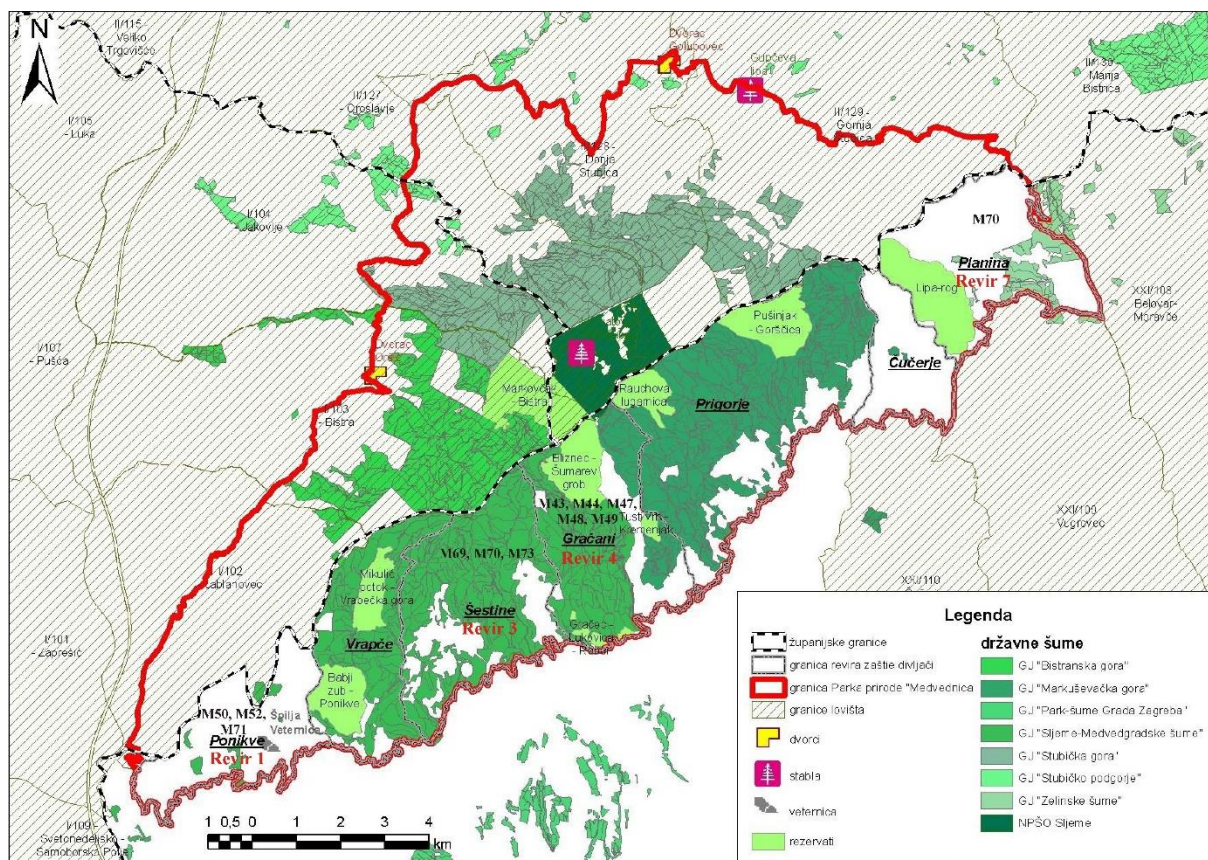
vrsti pomogla bi upotpuniti podatke o pojavnosti vrsta plućnih vlasaca kod nas te definirati epizootiološku situaciju u populaciji divljih svinja.

### 3. MATERIJALI I METODE

Istraživanje je provedeno na arhivskim uzorcima parazita koji su tijekom postmortalne obrade na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu prikupljeni iz dišnih sustava 12 divljih svinja odstrijeljenih na području parka prirode Medvednice od 2015. do 2016. godine (Slika 1). Prikupljeni oblići iz pojedinih divljih svinja, pohranjeni su u 70%-tnom etanolu u zasebne plastične epruvete i spremljeni u zbirku Zavoda za parazitologiju i invazijske bolesti s klinikom Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Potom je iz arhive Zavoda izvađeno svih 12 skupnih uzoraka oblića te je s obzirom na brojnost i očuvanost plućnih vlasaca u pojedinim uzorcima odabrano ukupno, 223 oblića koji su pregledani pomoću lupe Optika SZM-LED2 radi determinacije spola, uklopljeni u laktofenol te zatvoreni dibutilftalat-polistiren-ksilenom (dpx). Mikroskopska identifikacija parazita provedena je pomoću mikroskopa Olympus Cx22 i Olympus BX-51 te po potrebi, svih povećanja suhih objektivna (4x, 10x, 20x, 40x). Digitalnom, mikroskopskom kamerom paraziti su fotografirani te identificirani prema ključevima do razine roda i vrste (GASSO i sur., 2014.; NOSAL i sur., 2010.). U računalnom programu MS Excell statistički su obrađeni podatci dobiveni mjerenjem (duljina spikula mužjaka za vrste *M. pudenodotectus*, *M. salmi*, *M. confusus* i *M. apri* te duljina repova ženki za vrste *M. asymetricus* i *M. pudendotectus*: srednja vrijednost, standardna devijacija te minimalna i maksimalna duljina).

### 4. REZULTATI

Tijekom razdoblja od 2015. do 2016. godine sa područja parka prirode Medvednice postmortalno su sakupljeni uzorci plućnih vlasaca iz 12 pluća divljih svinja. Sukladno kriterijima morfološke identifikacije plućni vlasci obuhvaćeni ovim istraživanjem identificirani su kao pripadnici pet vrsta potvrđenih na području Europe. Rezultati identifikacije po jedinkama divljih svinja prikazani su u Tablici 1 i Tablici 2. Prema dobivenim rezultatima, uočava se prisutnost mješovitih invazija u odstrijeljenih divljih svinja na revirima Ponikve, Šestine, Gračani i Planina (Slika 1). Nadalje, u tri jedinke divljih svinja bilo je prisutno pet vrsta, u pet svinja četiri vrste, u dvije svinje tri vrste, dok su u jednoj svinji pronađene dvije vrste parazita iz roda *Metastrongylus*.



Slika 1. Prikaz mjesta odstrela divljih svinja (*Sus scrofa*) - reviri parka prirode Medvednica

Izvor slike: Granice revira zaštite divljači na području Parka prirode „Medvednica“ nakon donošenja Zakona o izmjenama Zakona o proglašenju zapadnog dijela Medvednice parkom prirode (NN 25/2009). PROGRAM ZAŠTITE DIVLJAČI ZA DIO PARKA PRIRODE "MEDVEDNICA"-GRAD ZAGREB za razdoblje 2020./2021.-2029./2030. Gradski ured za poljoprivredu i šumarstvo. Zagreb, 2020.

Tablica 1. Prikaz vrsta plućnih vlasaca u pojedinim divljih svinja (*Sus scrofa*)

IDENTIFIKACIJSKA OZNAKA SVINJE	VRSTA PLUĆNIH PARAZITA
M52/1DS	<i>M. pudendotectus</i> , <i>M. salmi</i> , <i>M. confusus</i> , <i>M. asymmetricus</i> , <i>M. apri</i>
M50/1DS	<i>M. salmi</i> , <i>M. confusus</i> , <i>M. apri</i> , <i>M.</i> <i>asymmetricus</i>
M69/3DS	<i>M. salmi</i> , <i>M. pudendotectus</i>
M49/4DS	<i>M. pudendotectus</i> , <i>M. salmi</i> , <i>M. confusus</i> , <i>M.</i> <i>asymmetricus</i> , <i>M. apri</i>
M71/1DS	<i>M. apri</i> , <i>M. salmi</i> , <i>M. pudendotectus</i> , <i>M.</i> <i>confusus</i>
M48/4DS	<i>M. apri</i> , <i>M. salmi</i> , <i>M. pudendotectus</i> , <i>M.</i> <i>confusus</i>
M47/4DS	<i>M. pudendotectus</i> , <i>M. confusus</i> , <i>M.</i> <i>asymmetricus</i> , <i>M. salmi</i> , <i>M. apri</i>
M43/4DS	<i>M. confusus</i> , <i>M. salmi</i> , <i>M. pudendotectus</i> , <i>M.</i> <i>asymmetricus</i>
M44/4DS	<i>M. pudendotectus</i> , <i>M. confusus</i> , <i>M. apri</i>
M70/7DS	<i>M. apri</i> , <i>M. pudendotectus</i> , <i>M. salmi</i> , <i>M.</i> <i>confusus</i>
M70/3DS	<i>M. confusus</i> , <i>M. salmi</i> , <i>M. apri</i>
M73/3DS	<i>M. confusus</i> , <i>M. salmi</i> , <i>M. apri</i>



Tablica 2. Ukupni prikaz broja vrsta i spola plućnih vlasaca u pojedinim divljih svinja

	<i>M. asymmetricus</i>		<i>M. pudendotectus</i>		<i>M. confusus</i>		<i>M. apri</i>		<i>M. salmi</i>		UKUPNO	
	Ž	M	Ž	M	Ž	M	Ž	M	Ž	M	Ž	M
IDENTIFIKACIJSKA OZNAKA SVINJE												
M52/1DS	3	/	2	2	/	1	1	/	3	3	9	6
M50/1DS	6	/	/	/	1	1	/	2	4	4	11	7
M69/3DS*	/	/	/	7	/	/	/	/	/	6	/	13
M49/4DS	2	/	8	5	1	1	1	/	1	6	13	12
M71/1DS	/	/	3	/	2	/	/	5	3	5	8	10
M48/4DS	1	/	/	1	6	/	/	1	4	2	11	4
M47/4DS	/	/	7	6	3	5	5	3	2	/	17	14
M43/4DS	/	/	3	/	3	1	/	/	6	3	12	4
M44/4DS	/	/	6	19	2	4	1	/	2	/	11	23
M70/7DS	/	/	4	/	/	1	1	/	2	/	7	1
M73/3DS*	/	/	/	/	/	1	/	/	/	/	/	1
M70/3DS**	/	/	/	/	11	/	1	/	17	/	29	/

\*u uzorcima M69/3DS i M73/3DS zbog lošeg stanja oblića nisu uspješno identificirane ženke

\*\*u uzorku M70/3DS zbog lošeg stanja oblića nisu uspješno identificirani mužjaci

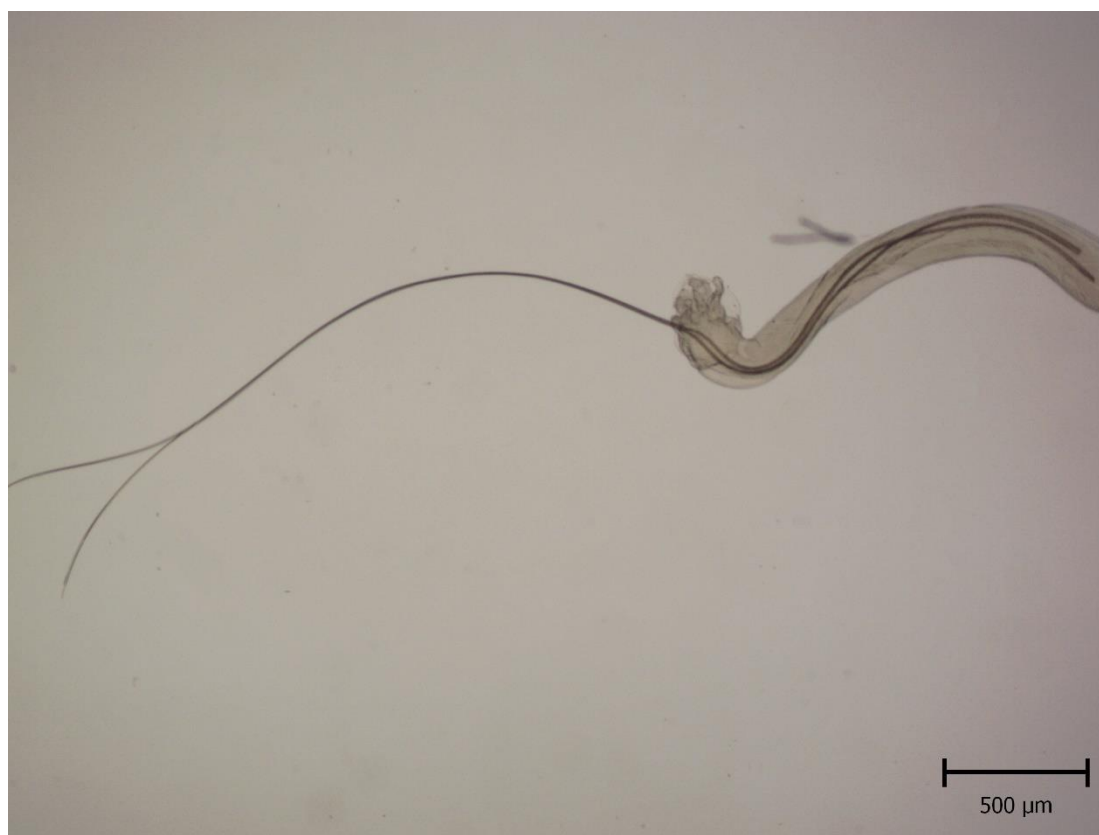
Tablica 3. Usporedni prikaz duljine spikula mužjaka ovog istraživanja s duljinama iz literature

Karakteristika	<i>M. pudendotectus</i>	<i>M. apri</i>	<i>M. salmi</i>	<i>M. confusus</i>
duljina spikula mužjaka (mm)	1.43± 1.32 (1.11-1.89) n= 80	4.20 ± 2.98 (3.61-4.76) n=18	2.22 ± 1.87 (1.67-2.45) n=57	2.76 ± 2.81 (2.2-3.4) n=30
broj mjerenih oblića	40	10**	29**	15
duljine spikula (mm) prema NODA i sur., (1973.)	1.2- 1.7	4.41 ± 0.2 (4.14-4.61)	2.25 ± 0.07 (2.13-2.33)	2.5-3.15
duljine spikula (mm) prema SPIELER i sur.,(2021)	1.38 ± 0.07 (1.3-1.5)	4.2 ± 0.21 (3.9-4.5)	2.12 ± 0.22 (1.6-2.4)	2.92 ± 0.10 (2.8-3.1)

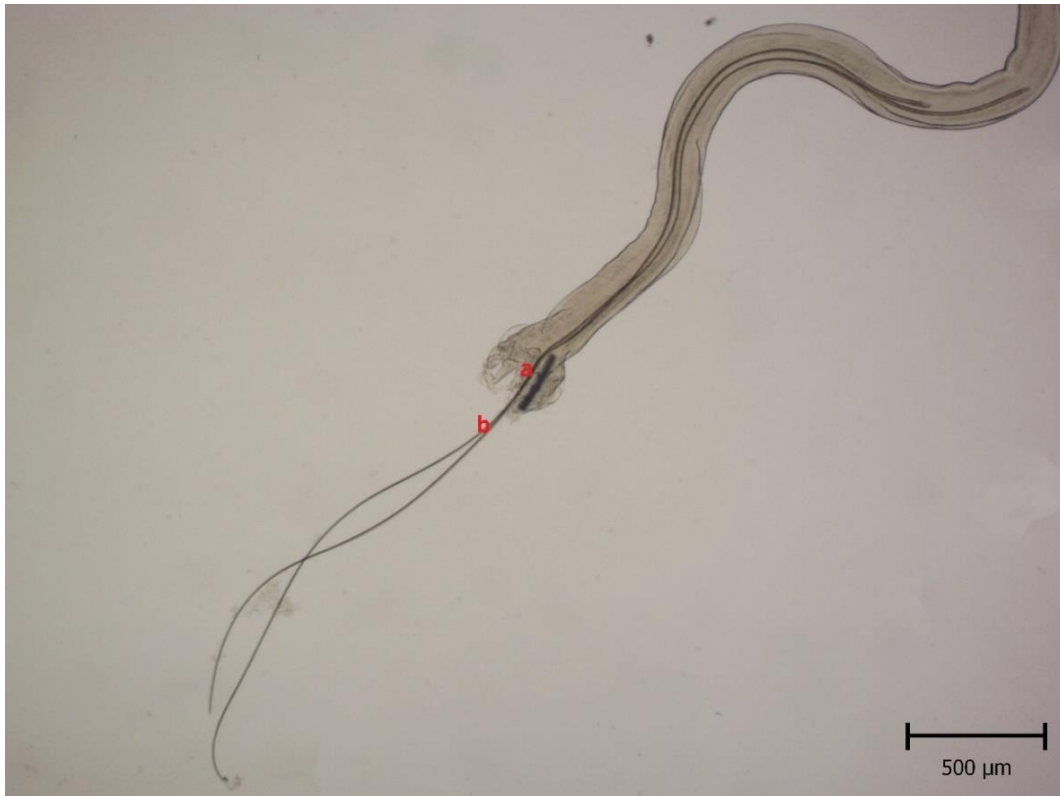
\*\* jedan spikul u dva oblića nije bio cjelovit za mjerenje  
n= broj spikula

#### 4.1.1. Morfološke osobitosti vrste *Metastrongylus apri*

Pripadnici ove vrste opisani su kao tanki, bijeli oblići. Za identifikaciju mužjaka korištene su duljine spikula i oblik kopulatorne burze. Spikuli mužjaka uglavnom su duljine preko 3.5 mm odnosno od 3.61 do 4.76 mm uz cjelovite, zašiljene distalne krajeve (Slika 2 i 3), dok je kopulatorna burza malena i kratka s izduženim krajevima nalik na klobuk gljive. Usmjerenje kopulatorne burze je gotovo paralelno s osi tijela. Sve ženke roda *Metastrongylus* odlikuju se prisutnošću specifične strukture nazvane prevulvarno otečenje. Otvor vulve ženki nalazi se ispred samog anusa te posterodorzalno od prevulvarnog otečenja, dok provagina nije prisutna (Slika 4). Prevulvarno otečenje ženki sferičnog je oblika.



Slika 2. Mužjak *Metastrongylus apri*



Slika 3. Mužjak *Metastrongylus apri*. a-kopulatorna burza, b-spikuli



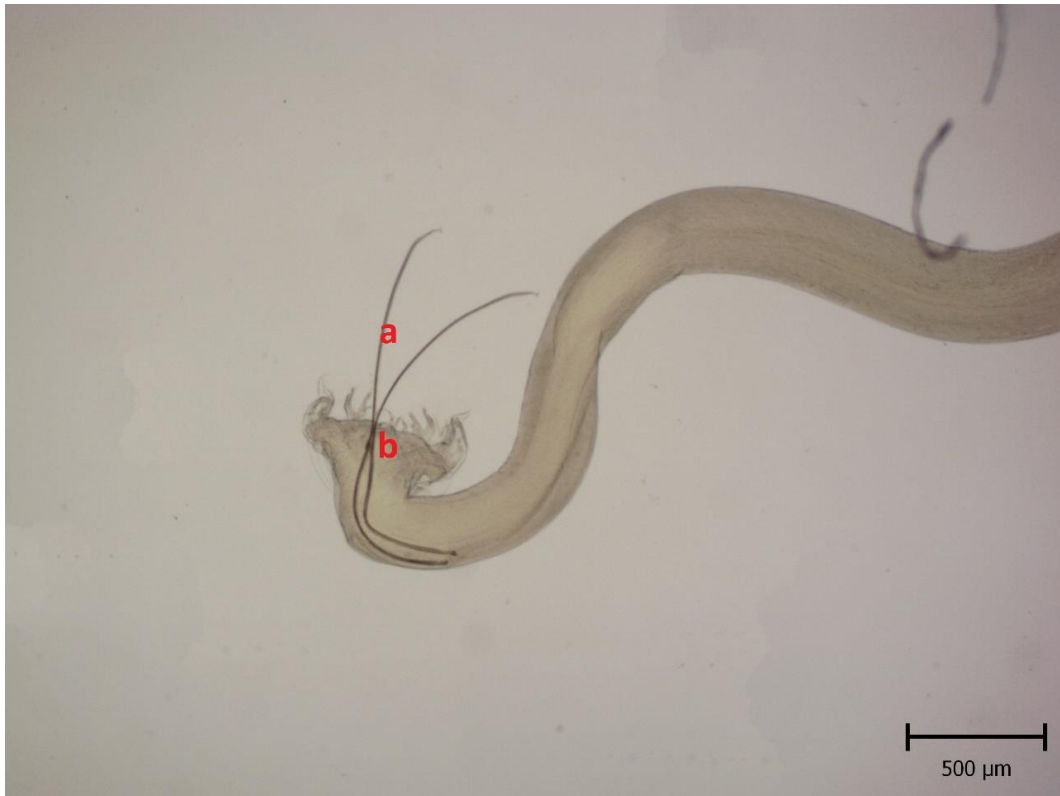
Slika 4. Ženka *Metastrongylus apri*. Zelena strelica prikazuje otvor vulve, crvena strelica prikazuje analni otvor, plava strelica prikazuje prevulvarno otečenje.

#### 4.1.2. Morfološke osobitosti vrste *Metastrongylus pudendotectus*

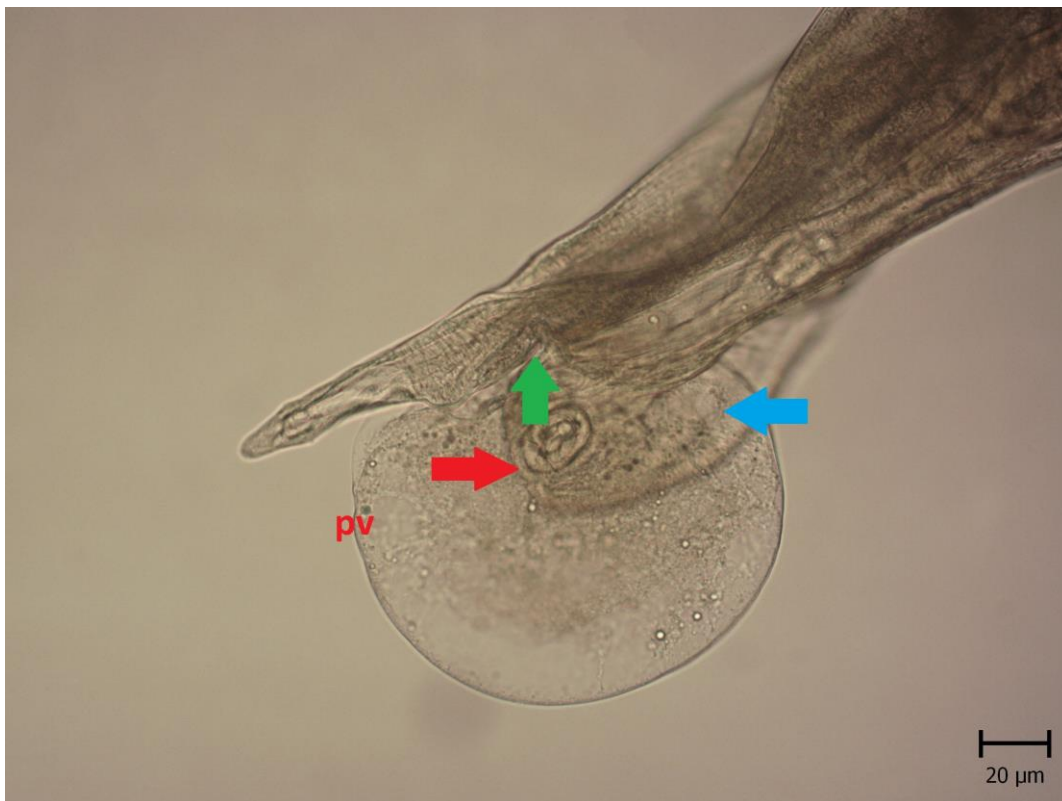
Pripadnici ove vrste svojom vanjštinom nalikuju pripadnicima vrste *M. apri*. Spikuli mužjaka ove vrste duljine su od 1.12 do 1.89 mm, dok su distalni krajevi podvojeni te svojim oblikom podsjećaju na oblik sidra. Kopulatorna burza bačvasto je oblikovana, dok njeni lateroventralni krakovi distalno završavaju nalik na papile. Medioventralni krakovi distalno završavaju otečenjem s tri tuberkuluma (Slika 5). Otvor vulve ženki nalazi se blizu anusa i smješten je posterodorzalno od prevulvarnog otečenja. Prevulvarno otečenje je jasno anteriorno odvojeno od površine tijela. Ženke ove vrste posjeduju specifičnu strukturu, nazvanu provagina koja je opisana kao transparentna kutikularna membrana koja obavija prevulvarno otečenje (Slika 6). Provagina u ove vrste sferičnog je oblika. Za determinaciju ženki ove vrste, koje morfologijom nalikuju *M. asymmetricus*, korišten je smještaj otvora vulve, morfologija provagine te duljina repa. Duljina repa ženki je između 103 i 150  $\mu\text{m}$  (Tablica 4).

Tablica 4. Usporedni prikaz duljine repova ženki *M. pudendotectus* ovog istraživanja s korištenom literaturom

Duljina repa ženki <i>M. pudendotectus</i> ( $\mu\text{m}$ )	Duljina prema literaturi (NODA i sur., 1973.) 175 $\mu\text{m}$
123.667 $\pm$ 14.85 (103-150) n= 12	Duljina prema literaturi (SPIELER i sur., 2021.) 119 $\pm$ 14.99 (100-150) $\mu\text{m}$



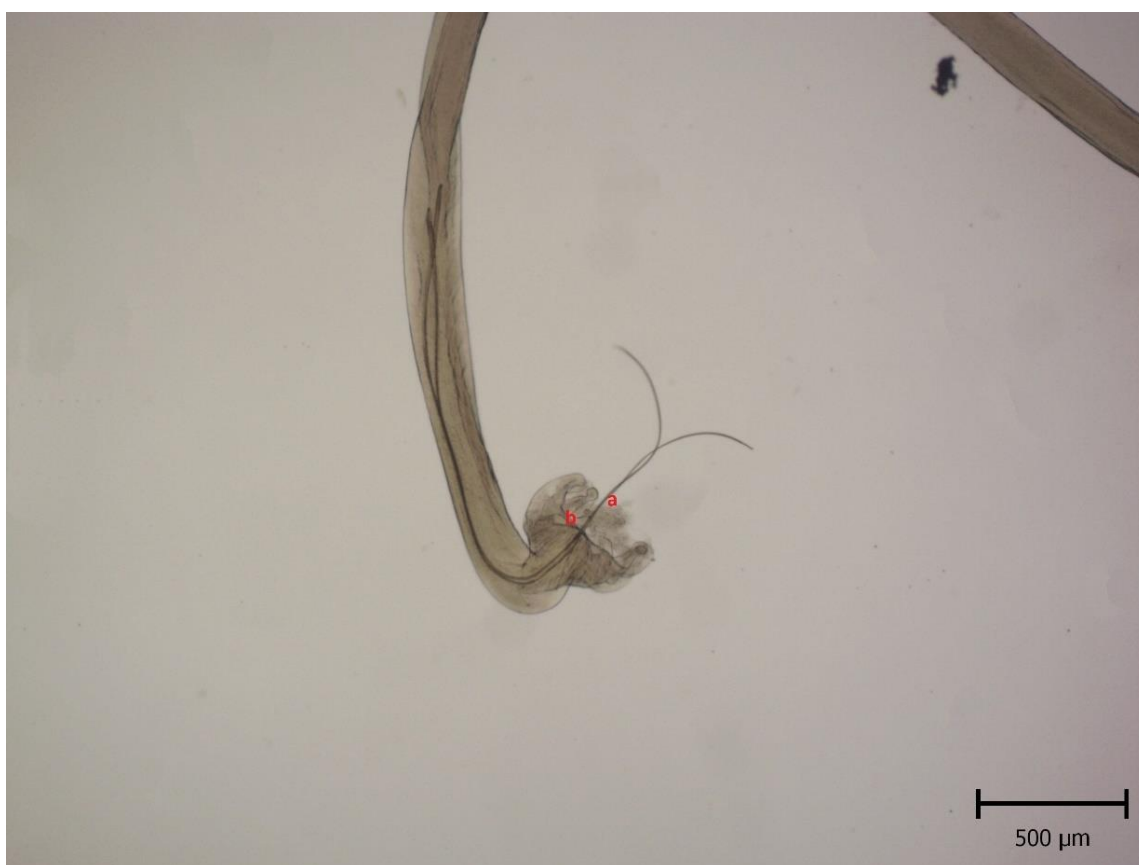
Slika 5. Mužjak *Metastrongylus pudendotectus*. a-spikuli, b-kopulatorna burza



Slika 6. Ženka *Metastrongylus pudendotectus*. pv- provagina, crvena strelica prikazuje otvor vulve, zelena strelica analni otvor, plava strelica prevulvarno otečenje.

#### 4.1.3. Morfološke osobitosti vrste *Metastrongylus confusus*

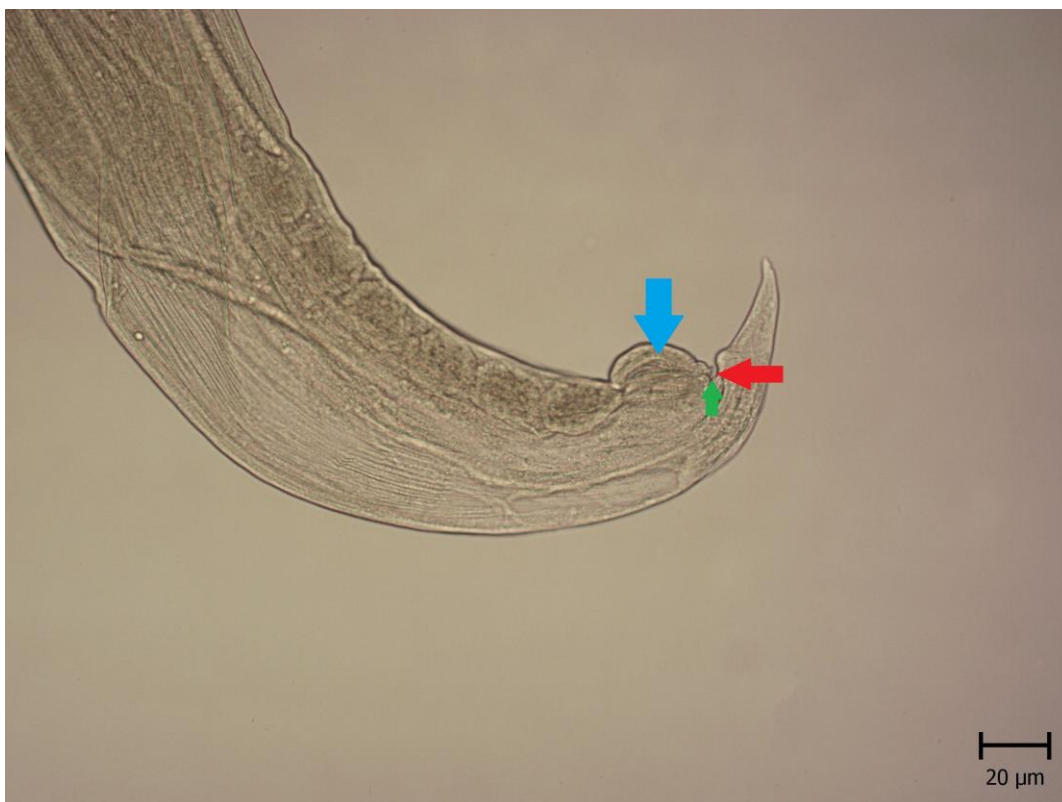
Spikuli mužjaka *M. confusus* duljine su od 2.2 do 3.4 mm. Distalni završetci spikula ove vrste zašiljenog su izgleda, nalik na one koje pronalazimo u *M. apri* (Slika 7). Kopulatorna burza je malena, završetci njenih lateroventralnih krakova povijeni su prema vanjskim krajevima same burze, dok je distalni kraj oblika papile. Distalni završetak lateralnog kraka voluminoznog je izgleda te završava u otečenju sferičnog oblika (Slika 8). Otvor vulve ženki nalazi se unutar prevulvarnog otečenja te je smješten ispred anusa (Slika 9). Prevulvarno otečenje je hemisferičnog oblika. Provaginu ne nalazimo u ženki ove vrste.



Slika 7. Mužjak *Metastrongylus confusus*. a-spikuli, b-kopulatorna burza



Slika 8. Mužjak vrste *Metastrongylus confusus*. Crvene strelice ukazuju na distalne završetke lateralnih krakova kopulatorne burze mužjaka sferičnog oblika.

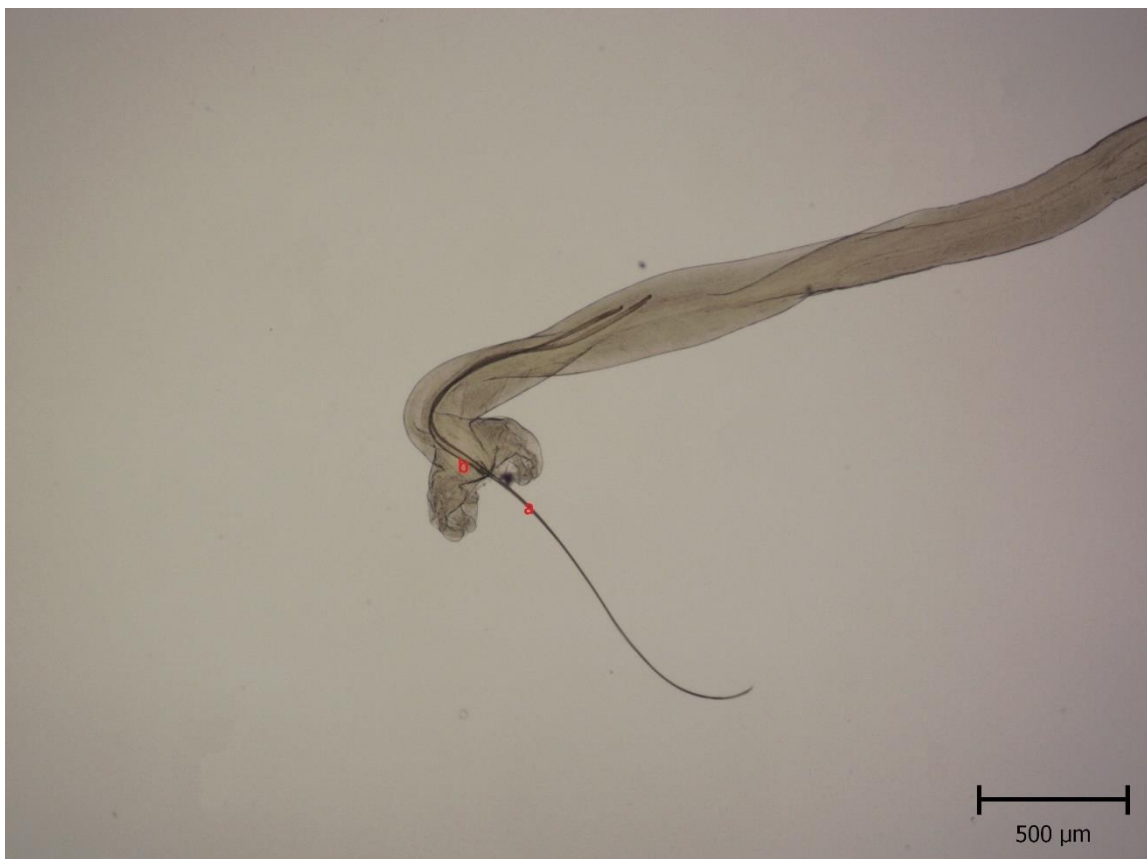


Slika 9. Ženka *Metastrongylus confusus*. Zelena strelica prikazuje otvor vulve, crvena strelica prikazuje analni otvor, plava strelica prevulvarno otečenje.



#### 4.1.4. Morfološke osobitosti vrste *Metastrongylus salmi*

Spikuli mužjaka su kraći od 2.5 mm, odnosno njihova duljina može biti u rasponu od 1.6 do 2.4 mm. Distalni završetci spikula ove vrste jedinstveni su i zašiljena izgleda nalik na one koje nalazimo u vrstama *M. apri* i *M. confusus*. Kopulatorna burza malena je i izdužena izgleda (Slika 10). Usmjerenje kopulatorne burze je gotovo paralelno uz glavnu os tijela. Lateroventralni krakovi usmjereni su prema vanjskim krajevima burze, a distalni dio krajeva oblikovan je poput papile. Distalni završetak lateralnog kraka voluminoznog je izgleda te završava u otečenju sferičnog oblika nalik na *M. confusus* (Slika 11). Mediolateralni krakovi svojim izgledom nalikuju onim lateroventralnima, odnosno završavaju tuberkulumom koji je nalik na papilu. Otvor vulve ženki nalazi se na ventralnoj bazi prevulvarnog otečenja, dok je prevulvarno otečenje spljošteno - hemisferičnog oblika (Slika 12). Provaginu ne nalazimo u ženki koje pripadaju ovoj vrsti.



Slika 10. Mužjak *Metastrongylus salmi*. a-spikuli, b-kopulatorna burza



Slika 11. Detalj kopulatorne burze mužjaka *Metastrongylus salmi*. Crvene strelice – distalni završetak lateralnog kraka voluminoznog je izgleda i završava u otečenju sferičnog oblika.



Slika 12. Ženka *Metastrongylus salmi*. Zelena strelica označava otvor vulve, crvena strelica označava analni otvor, plava strelica prikazuje prevulvarno otečenje.

#### 4.1.5. Morfološke osobitosti vrste *Metastrongylus asymmetricus*

Mužjaci vrste *M. asymmetricus* nisu pronađeni. Ženke su pronađene i identificirane na osnovu prisustva i morfologije provagine, duljine repa i smještaja otvora vulve. Otvor vulve ženke nalazi se na ventralnoj bazi prevulvarnog otečenja, a prevulvarno otečenje je jasno anteriorno odvojeno od površine tijela. Ovakav smještaj vulve u ženki pomogao je u razlikovanju ženki *M. asymmetricus* od ženki *M. pudendotectus* kod kojih je vulva smještena blizu otvora anusa. Provagina je prisutna u ženki ove vrste i oblika je badema (Slika 13 i 14). Ovakva morfologija provagine omogućila je determinaciju vrste budući da ženke vrste *M. pudendotectus* također imaju provaginu, ali sferičnog oblika. Duljina repa ženki je između 82 i 193  $\mu\text{m}$  (Tablica 5).

Tablica 5. Usporedni prikaz duljine repova ženki vrste *M. asymmetricus* s korištenom literaturom.

Duljina repa ženki <i>M. asymmetricus</i> ( $\mu\text{m}$ )	Duljina prema literaturi (NODA i sur., 1973.) 186-254 $\mu\text{m}$
138.167 $\pm$ 37.316 47 (82-193) n = 12	Duljina prema literaturi (SPIELER i sur., 2021.) 102.97 $\pm$ 9.8 (87.5 – 117.5) $\mu\text{m}$



Slika 13. Ženka *Metastrongylus asymmetricus*. pv- provagina, zelena strelica označava otvor vulve, crvena strelica označava analni otvor, plava strelica prevulvarno otečenje.



Slika 14. Ženka *Metastrongylus asymmetricus*. pv- provagina, zelena strelica označava analni otvor, crvena strelica označava otvor vulve, plava strelica prevulvarno otečenje.

## 5. RASPRAVA

Ovim istraživanjem potvrđeno je da su osim vrsta *M. apri* i *M. pudendotectus*, za koje se temeljem dosadašnjih istraživanja smatralo da su jedine vrste prisutne na području Republike Hrvatske, još prisutne dodatne tri vrste plućnih vlasaca u divljih svinja i to *M. asymmetricus*, *M. salmi* i *M. confusus* koje su pronađene i opisane u Europi (NOSAL i sur., 2010.).

U ovom istraživanju za identifikaciju vrsta mužjaka korištene su duljine spikula i njihova usporedba s literaturnim podacima. Duljine spikula u vrste *M. pudendotectus* bile su od 1.12 do 1.89 mm, a mjere iz literature u rasponu od 1.2 do 1.7 mm (NODA i sur., 1973.) i od 1.3 do 1.5 mm (SPIELER i sur., 2021.). Zatim u vrste *M. apri* su spikuli bili od 3.62 do 4.77 mm dugi, a prema literaturi u rasponu od 4.15 do 4.61 mm (NODA i sur., 1973.) i od 3.9 do 4.5 mm (SPIELER i sur. 2021). Duljine spikula za *M. salmi* su od 1.67 do 2.45mm, dok literatura navodi mjere od 2.13 do 2.33 mm (NODA i sur., 1973.) i od 1.6 do 2.4 mm (SPIELER i sur., 2021.). I na kraju duljina spikula za *M. confusus* dobivena ovim istraživanjem bila je od 2.22 do 3.42 mm usporedno s literaturnim podacima gdje su duljine bile od 2.5 do 3.15 mm (NODA i sur., 1973.) i od 2.8 do 3.1 mm (SPIELER i sur., 2021.). Bitno je za napomenuti da su se sve duljine spikula različitih vrsta plućnih vlasaca podudarale s literaturnim podacima. Identifikacija ženki provedena je prema prisustvu provagine, smještaju vulve i anusa, obliku prevulvarnog otečenja, a za ženke vrste *M. asymmetricus* i *M. pudendotectus* zbog morfološke sličnosti korištene su osim navedenih obilježja i duljine repova. Duljine repova ženki dobivene mjerenjem *M. pudendotectus* su u rasponu od 103 do 150  $\mu\text{m}$ , a prema literaturi su 175  $\mu\text{m}$  (NODA i sur., 1973.) i od 100 do 150  $\mu\text{m}$  (SPIELER i sur., 2021), dok su mjere repova ženki vrste *M. asymmetricus* izmjerene od 82 do 193  $\mu\text{m}$ , a usporedno s mjerama iz literature od 186 do 254  $\mu\text{m}$  (NODA i sur., 1973) i od 87.5 do 117.5  $\mu\text{m}$  (SPIELER i sur., 2021.). Ovi se podaci također podudaraju s podacima iz literature, međutim osim samih duljina od velike važnosti bila je morfologija pojedinih anatomskih specifičnosti ovih oblića.

Rezultati ovog istraživanja podudaraju se s rezultatima istraživanja provedenim na ostatku populacije divljih svinja u svijetu gledano s aspekta višestrukih, tj. miješanih invazija, budući da su iste pronašli i drugi autori (AMAYOUR i sur., 2016.; GARCIA - GONZALES i sur., 2013.; MORITA i sur., 2007.; POGLAYEN i sur., 2015.). Prema istraživanje AMAYOUR i sur. iz 2016. godine, na području Maroka, utvrđena je prisutnost tri vrste plućnih vlasaca u 84.4% divljih svinja, a njihova prevalencija bila je: *M. pudendotectus* (84.4%), zatim *M.*

*confusus* (72.7%) te *M. salmi* (51.5%). U Španjolskoj je prema GARCIA-GONZALES i sur., 2016. najčešća vrsta bio *M. apri* (71.4%), zatim *M. pudendotectus* (28.0%) te *M. salmi* (0.6%). U istraživanju MORITA i sur., iz 2007. godine, u svih divljih svinja su pronađene invazije s dvije ili više vrsta plućnih vlasaca, dok su u 64.3% divljih svinja bile prisutne četiri vrste i to: *M. pudendotectus*, *M. apri*, *M. salmi* te *M. asymmetricus*. Istraživanjem na području Italije znanstvenici (POGLAYEN i sur., 2015) su pronašli 96.5% divljih svinja invadirano plućnim vlasima gdje su bili prisutni *M. asymmetricus* (91.2%), *M. confusus* (87.7%), *M. salmi* (87.7%), *M. apri* (80.7%) te *M. pudendotectus* (70.2%). U našem istraživanju je prevalencija vrsti u odnosu na ukupan broj invadiranih svinja bila sljedeća: *M. salmi* (91,66%), *M. confusus* (91,66%), *M. pudendotectus* (75%), *M. apri* (75%) te *M. asymmetricus* (33,33%). Prisutnost više vrsta plućnih vlasaca u populaciji podrazumijeva veći broja parazita u okolišu s kojim su jedinke u kontaktu. Veliki broj parazita u korelaciji je s brojem posrednika, odnosno porast broja gujavica omogućava razvojni ciklus plućnih vlasaca (POGLAYEN i sur., 2015.). Gujavice imaju visoku nutritivnu vrijednost posebice za mlade svinje, upravo zbog svog proteinskog sastava koji im je potreban za rast. Naime gujavice imaju u sebi visok udio lizina, esencijalne aminokiseline potrebne za svinje te su upravo zato izvrstan izvor proteina mladim jedinkama. Budući da su primamljive mlađim jedinkama, postotak invazije je veći u mlađih jedinki (GARCIA - GONZALES i sur., 2013.). Razvoju gujavica u tlu pogoduje prisustvo organske tvari podrijetlom fecesa, urina i trule hrane. Također, visok udio organske tvari nalazimo na mjestima udaljenim od primarnih hranilišta divljih svinja, a na tim mjestima moguć je doticaj divljih svinja s domaćim ekstenzivno držanim svinjama. Isto tako zbog potrebe za rovanjem organska tvar se stalno miješa sa slojevima tla i tako stvara pogodne uvjete za rast populacije gujavica (NAGY i sur., 2014.). Budući da gujavice u idealnim uvjetima mogu preživjeti u tlu čak do sedam godina, važno je izbjegavati terene gdje su gujavice prisutne kao posrednici i potencijalni izvor invazije plućnim vlasima (PAVLOVIĆ i sur., 2021.). Svi navedeni faktori koji pogoduju razvoju posrednika, a time i samog parazita, važni su u managementu proizvodnje ekstenzivno držanih svinja. Ovo se može primijeniti na području Republike Hrvatske gdje se teritorij ekstenzivno držanih svinja preklapa s teritorijem divljih svinja, osobito na mjestima uzgoja crne slavonske svinje čiji je primarni uzgojni program ekstenzivno držanje.

Kontakt između divljih i domaćih svinja potrebno je ograničiti zbog biosigurnosti i povećanog rizika širenja bolesti prijemljivih za obje vrste (ADEDOKUN i sur., 2001.; CARSTENSEN i sur., 2002.; IACOLINA i sur., 2018.).

Broj invazija plućnim parazitima iz roda *Metastrongylus* u porastu je s brojem divljih svinja i posrednika što povećava mogućnost kontakta domaćih svinja s ovim oblicima. Upravo zbog nemogućnosti kontrole staništa divljih svinja potrebno je u ekstenzivnim farmskim uvjetima poštivati mjere zoohigijene, dehelmintizacije te ograničiti mogućnost kontakta divljih i domaćih svinja.

## 6. ZAKLJUČCI

1. Po prvi puta su identificirane vrste do sad neutvrđene na teritoriju RH: *M. salmi*, *M. confusus*, *M. asymmetricus*
2. Plućni oblici pronađeni u divljih svinja pripadnici su vrsta *M. salmi*, *M. confusus*, *M. asymmetricus*, *M. pudendotectus* i *M. apri*.
3. Ovim istraživanjem je obuhvaćen jedan malen dio populacije divljih svinja u Republici Hrvatskoj te je stoga potrebno provesti istraživanje na širem području RH, tj. većoj populaciji divljih svinja kako bismo dobili uvid u stvarnu sliku o prisutnosti i broju vrsta plućnih vlasaca.
4. S obzirom da ne postoje podaci o posrednicima kod nas, bilo bi isto tako potrebno provesti sakupljanje i determinaciju gujavica te identifikaciju L3 unutar istih na dotičnim područjima istraživanja.



## **7. ZAHVALE**

Zahvaljujemo našem mentoru doc. dr. sc. Franji Martinkoviću na stručnom vodstvu te na svom uloženom vremenu, strpljenju i prenesenom znanju prilikom pisanja ovog rada.

## 8. LITERATURA

AMAYOUR, A., Z. EL ALAOUI, A. ALKHALI., T. HASSOUNI, K. EL KHARRIM, D. BELGHYTI (1861): Lung parasites of the genus *Metastrongylus* Molin (Nemetaoda Metastrongilidae) in wild boar (*Sus scrofa Barbarus*) in Middle Atlas Region of Morocco: an epidemiological study. J. Res. Biol. 6 (3), 2020-2025.

ANDERSON, R. C. (2000): Nematode parasites of vertebrates: their development and transmission. 2<sup>nd</sup> edition, Wallingford, Oxon, UK; New York, NY: CABI Pub., 650 str.

ADEDOKUN O. A., J. O. ADEJINMI, G. B. UKOKPOKO (2001): Effect of husbandry system on the incidence of lungworm (*Metastrongylus spp*) in pigs in Ibadan, Nigeria. Trop. Vet. 19, 175-177.

BUJANIĆ, M., S. LUČINGER, I. ŠTIMAC, F. MARTINKOVIĆ, V. ERMAN, M. SINDIČIĆ, K. SEVERIN, T. ŽIVIČNJAK, K. KRAPINEC, D. KONJEVIĆ (2017): Findings of *Metastrongylus* sp. eggs in wild boar (*Sus scrofa* L.) faeces. Hrvatski Veterinarski Vjesnik 25 (3-4), 40-45.

CARSTENSEN, L., VAARST, M., ROEPSTROFF, A. (2002): Helminth infections in danish organic swine herds. Vet Parasitol 106: 253-264.

CARRENO, R. A. i S.A. NADLER (2003): Phylogenetic analysis of the Metastrongylidea (Nematoda: Strongylida) inferred from ribosomal RNA gene sequences. J. Parasitology, 89 (5), 965-973.

GARCÍA-GONZÁLEZ, Á. M., PÉREZ-MARTÍN, J.E., GAMITO-SANTOS, J.A., CALERO-BERNAL, R., ALONSO, M.A., CARRIÓN, E.M.F. (2013): Epidemiologic Study of Lung Parasites (*Metastrongylus* spp.) in Wild Boar (*Sus scrofa*) in Southwestern Spain. J. Wildl. Dis. 49 (1), 157–162.

GASSÓ, D., L. ROSSI, G. MENTABERRE, E., CASAS, R. VELARDE, P. NOSAL, C. FELIU (2014): An identification key for the five most common species of *Metastrongylus*. Par. Res. 113 (9), 3495–3500.

GOLDOVÁ, M., V. LETKOVÁ, P. LAZAR (2001): Role of earthworms (Lumbricidae) in the epizootology of wild boar (*Sus scrofa* L.) metastrongylosis. Folia venatoria 30-31, 155-158.

- HUMBERT, J.-F., & HENRY, C. (1989): Studies on the prevalence and the transmission of lung and stomach nematodes of the wild boar (*Sus scrofa*) in France. *Journal of Wildlife Diseases*, 25(3), 335–341. doi:10.7589/0090-3558-25.3.335.
- IACOLINA, L., C. PERTOLDI, M. AMILLS, S. KUSZA, H.-J. MEGENS, V. A. BÂLTEANU, A. V. STRONEN (2018): Hotspots of recent hybridization between pigs and wild boars in Europe. *Sci. Rep.* 8 (1), 17372.
- JANSEN, J. (1964): “On the lungworms of the wild boar (*Sus scrofa* L.) in the Netherlands, with a description of *Metastrongylus confusus* n.sp.” *Tijdschrift Voor Diergeneeskunde* 89: 1205-1211.
- JEMERŠIĆ, L., PRPIĆ, J., ROIĆ, B., ŽELJEZIĆ, D., KEROS, T. (2019): Divlja svinja (*Sus scrofa*) – Žrtva i saveznik najznačajnijih virusnih infekcija u Europi. *Veterinarska Stanica* 50 (2), 137-148.
- KONTRIMAVICHUS, V. L., S. L. DELIAMURE, S.N. BOEV (1985): *Metastrongyloids of domestic and wild animals*. New Delhi. Published for the United States Dept. of Agriculture and the National Science Foundation, Washington, D.C., by Amerind Publishings.
- MARRUCHELLA, G., PAOLETTI, B., SPERANZA, R., DI GUARDO, G. (2012): Fatal bronchopneumonia in a *Metastrongylus elongatus* and Porcine circovirus type 2 co-infected pig. *Res. Vet. Sci.* 93 (1), 310–312. doi:10.1016/j.rvsc.2011.05.0.
- MORITA, T., HARUTA, K. I., HARUTA, A. S., KANDA, E., IMAI, S., IKE, K. (2007): Lung worms of wild boars in the western region of Tokyo, Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 69 (4), 417-20. doi: 10.1292/jvms.69.417.
- MENNERICH-BUNGE B, POHLMAYER K, STOYE M. (1993): Zur Helminthenfauna der Wildschweine Westberliner Forsten (The helminth fauna of wild boars of the west Berlin forests). *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* 1993 Jun;106(6):203-7. German. PMID: 8343108.
- NAGY, G., CSIVINCSIK, A., SUGÁR, L. (2014): Wild boar density drives *Metastrongylus* infection in earthworm. *Acta Parasitol.* 60 (1), 35-39. doi:10.1515/ap-2015-0005.
- NODA, R. (1973): New species of *Metastrongylus* (Nematoda) from a wild boar with remarks on other species. *Bull. Univ. Osaka Prefect. Ser. B Agric. Biol.* 25, 21–29.

NOSAL, P., J. KOWAL, B., NOWOSAD (2010.): Structure of Metastrongylidae in wild boars from southern Poland. *Helminthologia* 47, 212–218. doi:10.1017/S0022149X08936191.

PANAYOTOVA-PENCHEVA, M., DAKOVA, V. (2018): Studies on the gastrointestinal and lung parasite fauna of wild boars (*Sus scrofa scrofa* L.) from Bulgaria. *Ann Parasitol.* 2018 ;64(4):379-384. doi: 10.17420/ap6404.174.

PAVLOVIĆ, I., BOJKOVSKI, J., ZDRAVKOVIĆ, N., RADANOVIĆ, O., DOBROSAVLJEVIĆ, I., STOKIĆ-NIKOLIĆ, S., SPALEVIĆ, LJ., JOVČEVSKI, S. (2021): The role of parasitic infections in the development of respiratory diseases in swine. *Scientific Papers Journal –vol. 64 no 1 /2021, Veterinary series.*

POGLAYEN, G., B. MARCHESI, G. DALL’OGLIO, G. BARLOZZARI, R. GALUPPI, B. MORANDI (2016): Lung parasites of the genus *Metastrongylus* Molin, 1861 (Nematoda: Metastrongilidae) in wild boar (*Sus scrofa* L., 1758) in Central-Italy: An eco-epidemiological study. *Vet. Parasitol.* 217, 45–52. doi:10.1016/j.vetpar.2015.12.007.

RAJKOVIĆ-JANJE, R., S. BOSNIĆ, D. RIMAC, P. DRAGIČEVIĆ, B. VINKOVIĆ (2002): Prevalence of helminths in wild boar from hunting grounds in eastern Croatia. *Z. Jagdwiss.* 48 (2002), 261-270 02002, BlackwellVerlag, Bedin ISSN0044-2887.

ROSE, J. H. (1959): *Metastrongylus apri* the pig lungworm. *Parasitology*, 49 (3-4), 439-447. doi:10.1017/s0031182000026962.

SPIELER, N., M. SCHNYDER (2021): Lungworms (*Metastrongylus* spp.) and intestinal parasitic stages of two separated Swiss wild boar populations north and south of the Alps: Similar parasite spectrum with regional idiosyncrasies. *Int. J. Parasitol: Parasites Wildl.* 14, 202–210. doi:10.1016/j.ijppaw.2021.03.005.

## 9. SAŽETAK

### Morfološka karakterizacija plućnih vlasaca kod divljih svinja (*Sus scrofa*)

Katarina Mohač i Hana Musil, studentice IV. godine

Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

Divlja svinja (*Sus scrofa*) je rasprostranjena diljem svijeta i njen broj je u konstatnom porastu zbog izrazito visoke prilagodljivosti klimatskim uvjetima i zbog malog broja prirodnih neprijatelja. Isto tako je prepoznata kao rezervoar uzročnika zoonoza. Procjenjuje se da je broj divljih svinja u Republici Hrvatskoj 30 000 do 52 000. Zbog izrazito velikog broja raste mogućnost izravnog i neizravnog kontakta divljih svinja s domaćim životinjama. Posebno su ugrožene domaće svinje koje su jednako osjetljive na sve uzročnike bolesti kao i divlje svinje. Jednu skupinu tih uzročnika predstavljaju plućni vlasci, paraziti roda *Metastrongylus*.

Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi morfološke osobitosti te rod i vrstu plućnih vlasaca divljih svinja s područja parka prirode Medvednica.

Istraživanje je provedeno na arhivskim uzorcima parazita koji su tijekom postmortalne obrade na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu prikupljeni iz dišnih sustava 12 divljih svinja porijekla s područja parka prirode Medvednica tijekom perioda od 2015. do 2016. godine. Prikupljeni oblici pohranjeni su u 70%-tnom etanolu. Radi determinacije spola, oblici su pregledani pomoću lupe Optika SZM-LED2, uklopljeni u laktofenol i zatvoreni dibutilftalat-polistiren-ksilenom (dpx). Mikroskopska identifikacija parazita provedena je pomoću mikroskopa Olympus Cx22 i Olympus BX-51 te prema potrebi, pod svim povećanjima suhih objektivna (4x, 10x, 20x, 40x). Digitalnom, mikroskopskom kamerom paraziti su fotografirani te identificirani do razine roda i vrste prema ključevima iz postojeće literature. Ovim istraživanjem utvrđeno je da su plućni vlasci pronađeni u divljih svinja pripadnici sljedećih vrsta: *M. salmi*, *M. confusus*, *M. asymmetricus*, *M. pudendotectus* i *M. apri*. Po prvi put na teritoriju RH identificirane su sljedeće vrste: *M. salmi*, *M. confusus* i *M. asymmetricus*.

**Ključne riječi:** divlja svinja, plućni vlasci, *Metastrongylus* sp.

## 10. SUMMARY

### **Morphological characterization of lung nematodes of wild boar (*Sus scrofa*)**

Katarina Mohač, Hana Musil, fourth year students

University of Zagreb, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb, Croatia

The wild boar (*Sus scrofa*) is widespread throughout the world and its number is constantly increasing due to its extremely high adaptability to climatic conditions and due to the small number of natural enemies. Also, it is recognized as a reservoir of zoonotic agents. It is estimated that the number of wild boars in the Republic of Croatia is 30,000 to 52,000. Due to the extremely large number, the possibility of direct and indirect contact of wild boars with domestic animals is growing. Especially are endangered domestic pigs that are equally susceptible to all pathogens as wild boars. One group of these pathogens are represented by lungworms, parasites from the *Metastrongylus* genus.

The aim of this study was to determine morphological characteristics as well as genus and species of lung nematodes of wild boars from nature park Medvednica.

The research was conducted on archival samples of parasites that were collected during postmortem processing from 12 wild boar respiratory systems originated from the Medvednica Nature Park in the 2015 to 2016 period at the Faculty of Veterinary Medicine, University of Zagreb. Collected lung nematodes were stored in 70% ethanol. To determine a gender, nematodes were examined with an Optica SZM-LED2 stereo microscope, mounted with lactophenol and sealed with dibutyl phthalate-polystyrene-xylene (dpx). Microscopic identification of parasites was performed using an Olympus Cx22 and Olympus BX-51 microscope and, if necessary, under all magnifications of dry objectives (4x, 10x, 20x, 40x). The parasites were photographed with a digital, microscopic camera and identified to the level of genus and species according to the keys from the existing literature. This study found that lungworms found in wild boars were members of the following species: *M. salmi*, *M. confusus*, *M. asymmetricus*, *M. pudendotectus* and *M. apri*. For the first time in the Republic Croatia following species have been identified: *M. salmi*, *M. confusus* and *M. asymmetricus*.

**Key words:** wild boar, lungworms, *Metastrongylus* sp.