



SZENT ISTVÁN EGYETEM, ÁLLATORVOS-TUDOMÁNYI KAR
PARAZITOLÓGIAI ÉS ÁLLATTANI TANSZÉK

A margit-szigeti sünök és kullansaik szerepe a *Borrelia burgdorferi* sensu lato baktériumok fenntartásában

Jablonszky Mónika, III. évfolyam
Biológia Bsc

Témavezetők: Földvári Gábor, Ph.D.,
Rigó Krisztina
SZIE-ÁOTK

Budapest

2011

TARTALOMJEGYZÉK

| | |
|--|----|
| 1. Bevezetés, célkitűzések | 3 |
| 2. Irodalmi áttekintés | 4 |
| 2.1. A kullancsok mint vektorok..... | 4 |
| 2.2. <i>Borrelia burgdorferi sensu lato</i> | 7 |
| 2.3. A keleti sün..... | 10 |
| 3. Anyag és módszer | 13 |
| 3.1. Helyszín..... | 13 |
| 3.2. A sünök és parazitáik gyűjtése | 13 |
| 3.3. Határozás és DNS kivonás a kullancsokból és a szövetmintákból | 14 |
| 3.4. PCR, elektroforézis és szekvenálás | 15 |
| 3.5. Statisztikai elemzés | 16 |
| 4. Eredmények..... | 17 |
| 4.1. A sünökről és a növényzetről gyűjtött ektoparaziták | 17 |
| 4.2. <i>Borrelia burgdorferi</i> s. l. a kullancsokban és a szövetmintákban..... | 18 |
| 4.3. Statisztikai elemzés | 20 |
| 5. Az eredmények értékelése | 22 |
| 6. Összefoglalás..... | 25 |
| 7. Summary | 27 |
| 8. Köszönetnyilvánítás..... | 29 |
| 9. Irodalomjegyzék..... | 30 |

1. Bevezetés, célkitűzések

A Lyme-kór kullancsok által terjesztett emberi betegség, de az ezt okozó baktériumok, amelyek a *Borrelia burgdorferi* sensu lato (s. l.) fajcsoportba tartoznak, még számos gerinces és ízeltlábú gazdában képesek megélni. Bonyolult életciklusuk és sok lehetséges gazdájuk miatt még valószínűleg ma sem ismerjük ezeknek a kórokozónak az összes rezervoárját és azt, hogy ezek a gerinces gazdák pontosan melyik baktériumfajt tudják szervezetükön belül fenntartani és vektoroknak tovább adni.

A sünökről már régebben bebizonyosodott, hogy e kórokozók rezervoárjai, de Magyarországon még nem történt felmérés a fertőzöttségükkel kapcsolatban. Ezek az állatok gyakori gazdái mind az *Ixodes ricinus*-nak, mind az *Ixodes hexagonus*-nak, a *Borrelia burgdorferi* s. l. fajcsoport legfontosabb európai vektorainak. Mivel az *I. ricinus*, Magyarország leggyakoribb, generalista kullancsfaja emberből is szívhat vért, így az általa terjesztett baktériumok is megfertőzhetik az embert.

A Margit-sziget, mint helyszín, külön érdekességet ad a vizsgálatnak, hisz egy viszonylag zárt sünpopuláció él itt. Ugyanakkor egy emberek által gyakran látogatott, Budapest szívében elhelyezkedő parkos területen élő ektoparazitákról gyűjtöttünk információkat, így vizsgálatunk humán egészségügyi szempontból is fontos.

Céljaink a következők voltak:

- felmérni a margit-szigeti sünökön vért szívó kullancsok faji összetételét és prevalenciáját
- megállapítani a sünökről és a növényzetről gyűjtött kullancsok fertőzöttségét *Borrelia burgdorferi* s. l.-val
- illetve, hogy maguk a sünök fertőzöttek-e a baktériummal.

2. Irodalmi áttekintés

2.1. A kullancsok mint vektorok

A kullancsok az Arthropoda törzsbe, a Chelicerata altörzsbe, az Arachnida osztályba, az Acari alosztályba tartoznak. Ez utóbbi igen változatos csoport: szaprofiták, ragadozók, növényi és állati paraziták egyaránt találhatóak köztük. Jellemzőjük a leegyszerűsödött, legfeljebb másodlagosan szelvényezett test, a központosult idegrendszer és 0, 1 vagy 2 pár szem. Változatosak, sőt, egyes fajok parthenogenezisre is képesek lehetnek (Oliver, 1989). Fejlődésmenetükre jellemző a kifejlett állapotot megelőző lárva- és nimfastádium (Rózsa, 2005).

A kullancsok a Parasitiformes öregrenden és az Ixodida renden belül az Ixodidae családba tartoznak. Az ebbe a családba tartozó ízeltlábúak szájszerve az előtest csúcsán helyezkedik el, az első pár lábukon megtalálható a Haller-féle szerv, amelyen elhelyezkedő szenzoros árkok és szenzillák érzékelik a hőmérsékletet, a levegő pára-, szén-dioxid, ammónia- illetve vajsavtartalmát, bizonyos feromonokat és a levegő mozgását is. A legtöbb kullancsfaj háromgazdás, vagyis mindhárom stádium leválik a gazdáról táplálkozás után, de néhány *Hyalomma*- illetve *Rhipicephalus*-faj kétgazdás, a korábban *Boophilus* nemzetségbe sorolt *Rhipicephalus*-ok, az *Amblyomma nitens* és a *Dermacentor albipictus* pedig egygazdásak, azaz egész életüket egyetlen gazdaegyeden töltik (Barker & Murrell, 2008). Az Ixodidae család tagjai változatos élőhelyeket népesítenek be: egyaránt megtalálhatóak füves területeken, bozótosokban és erdőkben. Viselkedésük alapján ezek az ektoparaziták két nagy csoportra oszthatók: az exofil kullancsok aktívan keresik a gazdát, egy fűszál végén első pár lábukat kinyújtva várakozva, míg az endofilek általában a gazda fészkeben vagy üregében élnek. Gazdaválasztásuk is igen eltérő, vannak egy fajra specializálódottak (főleg az endofilek között) például az *Ixodes lividus*, amely kizárólag parti fecskéken (*Riparia riparia*) szív vért, míg például az exofil *Ixodes ricinus*-nak viszont számtalan gazdafaja van. (Hillyard, 1996)

A vektorok olyan élőlények, melyek képesek felvenni, tárolni és átadni a fertőző organizmust gerinces gazdák között. A biológiai vektorokban a kórokozó szaporodik, mielőtt másik gazdaszervezetbe jutna, a mechanikai vektorok viszont úgy szállítják azokat, hogy közben nem megy végbe biológiai átalakulás a patogénekben. A kullancsok hatékony vektorok, mivel biztosan tapadnak a gazdán a nyálmirigyekben termelt cementnek köszönhetően (ez különösen a rövid szájszervű fajoknál fontos) és sokáig táplálkoznak (a

lárvák 2-6, a nimfák 3-8, a nőtények 6-12 napig), amit az is elősegít, hogy fájdalom nélkül szúrnak. Emellett egyes kullancsfajok sokféle gazdafajon szívhatnak vért, ezekkel együtt terjedhetnek és jól adaptálódnak. Sok utódjuk van (az *Ixodes*-fajok néhány ezer, a *Hyalomma*-fajok akár tízezer petét is rakhatnak) és az éhezést hosszú ideig tűrik. Ezen felül képesek a gazda immunválaszának csökkentésére, a bennük élő kórokozók, jelenlegi ismereteink szerint, őket jelentősen nem károsítják. Képesek a patogének transzovariális, transzstadiális és co-feeding útján történő továbbadására is (Hillyard, 1996).

A transzovariális transzmisszió során a nőtény kullancsból a petékbe jutnak a kórokozók. Ez a jelenség a *Borrelia*-fajoknál előfordulhat, de nem jelentős, viszont számos vírusnál (Labuda & Nuttal, 2008), illetve egyes *Babesia*-fajoknál igen (Homer et al., 2000). Amikor pedig a mikroorganizmusok vedlés után, a következő stádiumban is megtalálhatók a vektorban, transzstadiális transzmisszióról beszélünk. Utóbbi egy fontos tényező a vadon élő gerincesekből felvett *Borrelia*-k emberbe juttatásában.

A patogének átadásában elsődleges szerepe van a kullancsok legnagyobb mirigyének, a nyálmirigyeknek, melyek az ozmoregulációban is részt vesznek. A nyálmirigyben háromféle acinus található meg a nőtények, illetve négy a hímek esetében. Az I. típusú acinus agranuláris, az ozmoregulációt végzi: táplálkozás előtt higroszkópos anyagot gyárt, ami segíti a levegő páratartalmának felvételét (Rudolph & Knülle, 1974), táplálkozásakor pedig visszajuttatja a gazdába a felesleges vizet és ionokat. A II. és III. típusú acinus granuláris és a vérszívást segítő anyagokat termel. Méretük a táplálkozás folyamán nő, utána viszont degenerálódnak, hisz nincs rájuk többet szükség (Harris & Kaufman, 1981). Ezek termelik a már említett cementet, illetve antikoagulánsokat, emésztő enzimeket és vazodilatátorokat, amelyek úgy könnyítik meg a vérszívást, hogy hatásukra elernyednek az erek és több vér áramlik beléjük. A különböző gyulladáscsökkentő és immunszuppresszor anyagok, melyek csökkentik a gazda immunválaszának erősségét, is a nyálmirigy termékei (Hillyard, 1996). A kizárólag hímekben megtalálható IV. típusú acinus is granuláris, azonban ez a táplálkozást megkönnyítő anyagok termelése mellett valószínűleg a szaporodásban is szerepet játszik (Furquim et al., 2010). A nyállal együtt juthatnak a gazdába a különböző kórokozók és, néhány kullancsfajnál, a bénító toxinok is (Hillyard, 1996).

A kullancsok valószínűleg minden más élőlénycsoportnál több kórokozót terjesztenek (Hillyard, 1996). Fajaik körülbelül 10%-a különböző vírusok vektora. A vírusok vektorok közti terjedésében fontos a transzovariális és a co-feeding transzmisszió (Labuda & Nuttall, 2008). Általában egy kullancsfaj kevés vírust képes terjeszteni, kivételek ez alól az *Ixodes*

uriae és az *I. ricinus*, melyek legalább három víruscsalád különböző tagjainak vektorai, a *Flaviviridae*-nek (ide tartozik a kullancsencefalitisz (TBE tick-borne encephalitis) vírus), a *Reoviridae*-nek (pl.: Lipovnik vírus) és a *Bunyaviridae*-nek (pl.: Uukuniemi vírus). Magyarországon a kullancsencefalitisz a legjelentősebb kullancsok által terjesztett vírusos betegség, amelynek régóta évi 100 alatt van a bejelentetett esetszáma (Mantke et al., 2008).

Baktériumok közül a *Borrelia burgdorferi* s. l.-n kívül a *Francisella tularensis*-nek, a tularémia okozójának is a terjesztői a kullancsok. Ennek a fajnak Közép-Európában a *Dermacentor reticulatus*, az *I. ricinus* és a *Haemaphysalis concinna* a vektorai (Vyrostekova et al., 2002).

A Rickettsiales rendbe tartozó *Anaplasma* és *Rickettsia* baktériumok között is többnek van kullancs vektora. Az *Anaplasma phagocytophilum* a humán granulocitás anaplasmosis (korábbi nevén humán granulocytás ehrlichiosis) okozója. Sok rezervoárja ismert (rágcsálók, hűsevők, lovak, kérődzők), de még nem tudjuk Európában melyik a legjelentősebb. Leggyakrabban *Ixodes*-fajok közvetítik, Európában az *I. ricinus* a vektora. Sünben és sünből vért szívott kullancsban is kimutatták már (Skuballa et al., 2010). Az *Anaplasma marginale* csak szarvasmarhák vörösvérsejtjeiben szaporodik, életciklusában fontos szerepet játszik a *Dermacentor reticulatus*, *D. marginatus* és az *I. ricinus* (Hornok et al., 2008).

A rickettsiosis olyan betegségek gyűjtőfogalma, melyeket *Rickettsia*-fajok idéznek elő, például a *Rickettsia helvetica* és a *R. amblyommi* vagy a TIBOLA-t okozó *R. slovaca* (Lakos, 2002). Ezek mind obligát intracelluláris baktériumok. A mediterrán foltos lázat a *Rickettsia conorii* subsp. *conorii* okozza, melynek a *Rhipicephalus sanguineus* a legfontosabb vektora (Parola et al., 2005).

A kullancsok terjesztik az orvosi, állatorvosi jelentőségű *Theileria*-kat és a *Babesia*-kat is (Hillyard, 1996). Mindkét protozoon nemzetség az Apicomplexa törzsbe tartozik. A *Babesia bigemina* és a *Babesia bovis* az Afrikában, Ausztráliában és Amerikában komoly gazdasági veszteségeket okozó szarvasmarha babesiosis okozói, melyeknek fő vektorai a korábban *Boophilus* nembe sorolt *Rhipicephalus*-fajok, de *Hyalomma*-k is terjeszthetik (Sahibi et al., 1998). A csak vörösvértetekben szaporodó *Babesia*-k számos más fajban okoznak betegséget, pl.: a *Babesia canis* és a *Babesia gibsoni* a kutyában. A kutyák esetében a *Rhipicephalus sanguineus* a legfontosabb vektor a *Dermacentor reticulatus* mellett. A *B. canis canis* alfaj hazai kutyáknak is gyakori megbetegítője (Földvári et al., 2005b) A szintén szarvasmarhákat megbetegítő *B. divergens* vektora az *I. ricinus* is lehet, és Európában általában ez a faj okozza az emberi megbetegedéseket is (Homer et al., 2000). Észak-

Amerikában legtöbbször a *Babesia microti*-t mutatják ki a betegekből. E faj rezervoárjai kisemlősök és *I. ricinus*-ból már Magyarországon is kimutatták (Kálmán et al., 2003). Európában egyetlen autochton (itt fertőződött) *B. microti* okozta humán babesiosisról van esetleírás (Hildebrandt et al., 2007).

A *Theileria*-k emlősök limfocitáiban, makrofágjaiban és monocitáiban élősöknek. A két legfontosabb ide tartozó faj a *Theileria parva*, amely az East Coast Fever nevű betegséget okozza, és elsősorban T-limfocitákat fertőz, és a B-limfocitákban élősök Theileria *annulata*, amely a trópusi theileriosist okozza (Homer et al., 2000).

2.2. *Borrelia burgdorferi* sensu lato

A *Borrelia burgdorferi* s. l. a Spirochetales rendbe tartozó, spirális alakú, flexibilis sejtfalú, Gram-negatív baktériumok csoportja. Mai tudásunk szerint a fajkomplexbe 17 faj tartozik, ezek közül már számosról bebizonyosodott, hogy a Lyme-kór okozója lehet (Margos et al., 2010). Már régóta ismert, hogy a *B. burgdorferi* sensu stricto (s. s.), a *B. afzelii* és a *B. garinii*, (Margos et al., 2008) képes betegséget okozni az emberben, és ez az utóbbi években bizonyossá vált a *B. spielmanii* (Wang et al., 1999; Földvári et al., 2005a), a *B. lusitaniae* (Collares-Pereira et al., 2004), a *B. valaisiana* (Diza et al., 2004; Saito et al., 2007) és a *B. bissettii* (Rudenko et al., 2008) estében is. Európában számos faj, viszont Észak-Amerikában leginkább csak a *B. burgdorferi* s. s. okoz humán megbetegedéseket. Magyarországon először 1985-ben írták le ezt a betegséget, és 1991-ben mutatták ki először az ezt okozó baktériumokat kullancsból (Lakos et al., 1991), de eddig nem történt átfogó vizsgálat a kórokozók pontos azonosítására. A néhány kivizsgált páciens esetében általában a *B. afzelii* és a *B. garinii*, néha a *B. burgdorferi* s. s. állt a Lyme-kór hátterében, de a *B. spielmanii*-t is kimutatták már betegekből (Földvári et al., 2005a). Hazánkban átlagosan 1000 esetet regisztrálnak évente (Lakos, 2009), de ennek a tízszerese is lehet a tényleges esetszám (Lakos András, személyes közlés).

A Lyme-borreliosis napjainkra az északi félteke legelterjedtebb, vektorok által terjesztett betegségévé vált. Egyik tünetét, a krónikus bőrgyulladást már 1883-ban leírta Buchwald acrodermatitis chronica atrophicans (ACA) néven. A svéd Afzelius pedig a kullancs csípése nyomán keletkező piros foltot erythema chronicum migransnak nevezte el 1910-ben, de arra, hogy a tüneteket egy kullancs-terjesztette kórokozó okozza csak 1975-ben jöttek rá (Ackermann, 1975). 1977-ben Steere és munkatársai gyermekeknél előforduló járványos arthritist írtak le egy connecticut-i kisvárosban, Old Lyme-ban (Steere et al., 1977).

Burgdorfer és munkatársai fedezték fel a Lyme-kórt okozó spirochaetákat először *Ixodes scapularis*-ban, majd *I. ricinus*-ban (Burgdorfer et al., 1982, 1983).

A Lyme-kór lefolyása három fázisú. Az első, a pirosas, kokárdaszerű bőrküetés (erythema migrans), rendszerint a kullancscsípés után napokon belül jelentkezik (az esetek 50-70%-ában jelenik meg (Lakos András, személyes közlés)). Lehetnek emellett influenza-szerű tünetek, például izom- és ízületi fájdalom is, de ezek gyakran kezelés nélkül megszűnnek. A második fázis hetek vagy hónapok múlva alakul ki: izomfájdalom, arcizombénulás és meningitis a jellemzői. Ez is elmúlhat kezelés nélkül. A harmadik, krónikus fázisban évek múlva fáradékonyság, krónikus arthritis és acrodermatitis chronica atrophicans jelentkezhetnek (Asbrink et al., 1993).

A *Borrelia burgdorferi* s. l. fő vektorai az *Ixodes ricinus* / *Ixodes persulcatus* fajcsoportba tartozó kullancsok (Keirans et al., 1992). Ide sorolható Európában az *I. ricinus* és az *Ixodes gibbosus*, Északkelet-Európában és Ázsiában az *I. persulcatus*, illetve Észak-Amerikában az *Ixodes scapularis* és az *Ixodes pacificus*. Ezeken kívül Európában fontos vektor az *I. hexagonus*, az *Ixodes acuminatus*, az *Ixodes trianguliceps* és az *I. uriae*. Más kullancsokból, például a *Dermacentor reticulatus*-ból és a *Haemaphysalis punctata*-ból és *Haemaphysalis concinna*-ból is kimutatták már a *B. burgdorferi*-t, de ezek vektor szerepe nem mondható fontosnak. Ezek a fajok ritkán szívnak vért az emberből, de szerepet játszhatnak a *Borrelia*-k életciklusában (Rigó et al., 2011; Hillyard, 1996).

E baktériumok a kullancs közepbelében szaporodnak és vérszíváskor a nyálmirigyen keresztül jutnak a gerinces gazdába (Hillyard, 1996). Gazdán belüli vándorlásukban fontos szerepet játszanak különböző felszíni fehérjék, például az OspA (Outer surface protein A) és az OspC (Outer surface protein C). A kullancs bélcsatornájában az OspA, a nyálmirigyében pedig az OspC expresszióját növelik meg a *Borrelia*-k. Ezek a fehérjék a baktériumokhoz kötődnek, így segítik azok bejutását a sejtekbe (Schwann & Piesman, 2002).

A *B. burgdorferi* s. l. fajkomplexről a baktériumok között először mutatták ki, hogy képes terjedni a gazda szisztémás fertőzése nélkül is (1. ábra). A vért szívó, nem fertőzött kullancsok felvehetik a baktériumokat akár több héttel azután is, hogy fertőzött társuk ott táplálkozott (Gern & Rais, 1996). Ezt a folyamatot nevezik co-feeding vagy együtt táplálkozási fertőzésnek. Mindez többször is lejátszódhat a gerinces gazda életében, nem vált ki immunválaszt, sőt, ha szisztémás fertőzés után ellenanyagok termelődtek a baktériumok ellen, co-feeding során még akkor is terjedhetnek (Randolph et al., 1996). *B. afzelii*-vel végzett kutatások során azonban kimutatták, hogy a co-feeding transzmisszió esélye csökken,

ha a fertőzött kullancs kevés ideig szív vért, ha a kullancsok messze vannak a fertőzött társuk szúrásának helyétől és ha kevesen vannak. Emiatt, természetes körülmények között, valószínűleg sokkal több kullancs fertőződik rezervoár gazdától, mint együtt-táplálkozással (Richter et al., 2002).



1. ábra: Kullancsok co-feeding közben

Fotó: Majoros Gábor

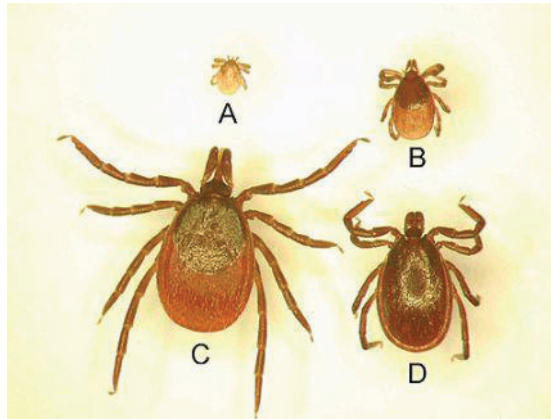
A *Borrelia burgdorferi* s. l. fajcsoport egyes tagjai gazdaspecifitást mutatnak. A *B. afzelii*-t leggyakrabban kismamákban, egerekben, pockokban (Paulauskas et al., 2008), a *B. garinii*-t pedig tengeri és énekes madarakban találták meg (Kurtenbach et al., 2002b). A *B. lusitaniae*-t legtöbbször gyíkokból mutatták ki (ez megmagyarázza főleg mediterrán elterjedését), a *B. valaisiana*-t pedig elsősorban madarokról leszedett kullancsokból írták le (Majláthová et al.; 2006, Gylfe et al., 2000). A különböző gazdákhoz való kötődést okozhatja a baktériumfajok eltérő érzékenysége a gazdák komplement rendszerével, azon belül is elsősorban a c5b-c9 molekulákkal szemben. Mindezek alapján az egyes *Borrelia*-fajok előfordulása valószínűleg inkább a gerinces gazdafajoktól, és nem az egyes kullancsfajok elterjedésétől függ (Kurtenbach et al., 2002a).

2.3. A keleti sünn

A keleti sünn (*Erinaceus roumanicus*) sokáig az *Erinaceus europeus*, majd az *Erinaceus concolor* alfajának tekintették (Hutterer, 2005), de 2005-től külön fajként tartják nyilván (Wilson & Reader, 2005). A Mammalia osztályba, az Erinaceiformes rendbe, illetve az Erinaceidae családba tartozik. Elterjedési területe Közép-Európától Nyugat-Szibériáig húzódik. Sokféle élőhelyen megtalálható: erdőkben, bozótosokban, parkokban, sőt beépített területeken is találkozhatunk vele. Sötétedéskor indul tápláléka, különféle csigák, giliszták, rovarok után, de a madárfiókákat, kis hüllőket is elfogyasztja. Valódi téli álmat alszik. Általában novemberben, ha a hőmérséklet tartósan 4-6°C alá csökken, levelekből álló vagy farakás alatti fészkebe vonul vissza, és csak márciusban jön elő (Bihari, 2008).

A sünnök sokféle zoonotikus betegséget okozó baktériumot hordozhatnak pl.: *Yersinia pseudotuberculosis*-t, *Yersinia pestis*-t, *Mycobacterium*-okat és *Salmonella*-kat valamint számos gombát, vírust és protozoon fajt (Riley et al., 2004). A kullancsencephalitis vírusát, a legtöbbet vizsgált *E. europeus* mellett, *E. roumanicus*-ból is kimutatták már (Kozuch et al., 1967). Az utóbbi években egyre több kutatócsoport számol be a sünnök jelentős parazitáltságáról (Beck, 2007). Egy *E. europeus*-szal, azaz nyugati sünnel és egy *E. concolor*-ral végzett vizsgálat során is a parazitikus férgek 90% körüli prevalenciáját mutatták ki. Mindkét faj vizsgált egyedeinek tüdejében a *Crenosoma striatum* nevű fonálféreg volt jelen a legtöbbször és a legnagyobb számban (Gaglio et al., 2011; Cirak et al., 2010).

A sünnökön általánosan előforduló két kullancsfaj, az *I. ricinus* (2. ábra) és az *I. hexagonus* (Thamm et al., 2009; Gray et al., 1994; Beichel et al., 1996) életmódjában és élőhely-preferencia tekintetében is jelentősen eltér. Az *I. ricinus*, azaz közönséges kullancs Európa leggyakoribb kullancsfaja, exofil és általában dús aljnövényzetű erdőkben és bokros területeken fordul elő (Hillyard, 1996). Túléléséhez elengedhetetlenül fontos a magas páratartalom. Évszakonként eltérő aktivitást mutat (Randolph et al., 2000). Az *I. hexagonus* endofil, így nincs kitéve különösebben a külső környezet hatásainak, ezért gyakrabban találják meg a kullancsok számára alkalmatlanabb élőhelyeken, pl.: városokban is (Egli, 2004; Gern et al., 1997). Ennek a fajnak a sünnön kívül jelentős gazdái a Mustelidae családba tartozó fajok (nyest, nyuszt, menyét, borz stb.), illetve egyéb ragadozók, mint a kutya, a macska és a róka (Gern et al., 1991).



2. ábra: Az *Ixodes ricinus* különböző stádiumai. A: lárva, B: nimfa, C: nőstény, D: hím

Forrás: <http://kullancsok.parazitak.hu>

Esetenként más kullancsfajokat is találnak sünökön, pl.: *Haemaphysalis concinna*-t keleti sünön (Kozuch et al., 1967), illetve *Ixodes trianguliceps*-t, *H. concinna*-t, *H. inermis*-t, *H. punctata*-t, *Dermacentor reticulatus*-t, *D. marginatus*-t, *Hyalomma aegyptium*-ot valamint *Rhipicephalus sanguineus*-t nyugati sünön (Hillyard, 1996).

A sünökről, pontosabban az *E. europeus*-ről 1994-ben kimutatták, hogy a *Borrelia burgdorferi* s. l. rezervoárjai lehetnek. Ugyan csak egy állatot fogtak be, de az ezen vért szívott kullancsokban magas volt a *Borrelia burgdorferi* s. l. prevalenciája, és a sünre tett laboratóriumban nevelt kullancsok később képesek voltak átvinni a fertőzést gerbilekre (Gray et al., 1994). Svájcban egy hasonló vizsgálat során *B. burgdorferi* s. s.-t, *B. afzelii*-t és *B. garinii*-t mutattak ki *Erinaceus europeus*-okból. A kutatás során városi és elővárosi területek sünpopulációit hasonlították össze, és majdnem minden vizsgált sünön volt *B. burgdorferi* s. l.-vel fertőzött kullancs. Érdekes, hogy a városi sünökön nem találtak *Ixodes ricinus*-t, csak *I. hexagonus*-t (Gern et al., 1997). Egy későbbi, németországi kutatás folyamán ugyanezekben a baktériumfajokon kívül még *B. spielmanii*-t is kimutattak nyugati sünökből, melyet korábban csak pelefajokban találtak meg (Skuballa et al., 2007).

Egy másik, a sünökön nagy számban előforduló ektoparazita csoport a bolhák rendje (Siphonaptera). E fajok oldalról lapított testű, szárnyatlan, szívó szájszervvel rendelkező rovarok. A renden belül a Pulicomorpha alrendbe, a Pulicoidea családsorozatba, a Pulicidae család Archeopsyllinae alcsaládjába tartozik a sünbolha (*Archeopsylla erinacei*), amely a leggyakoribb bolhafaj sünön (Thamm et al., 2009; Visser et al., 2001) illetve a kutyabolha és a macskabolha (*Ctenocephalides canis* és *Ctenocephalides felis*) is, amelyeket már szintén megtaláltak sünön (Egli, 2004). Előbb macskabolhából, majd sünbolhából is kimutatták az

emberben is betegséget okozó *Rickettsai felis*-t (Gilles et al., 2008), de utóbbinak a kórokozó terjesztésében betöltött szerepe még nem tisztázott.

3. Anyag és módszer

3.1. Helyszín

A vizsgálat helyszíne a Margit-sziget (é. sz. 47°31'35", k. h. 19°2'50") volt. A főváros szívében elterülő sziget 2800 m hosszú, legszélesebb pontján 500 m széles, területe 0,965 km², az évi átlaghőmérséklet 11,76 °C. A terület nagy részét parkok borítják, a járműforgalom is csekély, ez ideális élőhelyé teszi a szigetet a sünök számára. A bokros területek alkalmasak az exofil kullancsok számára a két vérszívás közti időszak átvészelésére. A Margit-sziget egyúttal a kirándulók és sportolni vágyók kedvelt célpontja, akik könnyen kapcsolatba kerülhetnek az itt élő kullancsokkal, illetve az ezek által a sünökből átvett Lyme-kórt okozó *Borrelia*-kkal. Mivel a vizsgálat helyszíne egy sziget, az eredmények kevésbé általánosíthatóak, de a viszonylag kis mozgáskörzettel rendelkező sünök szempontjából egy városi park is viszonylag elszigetelt élőhely.

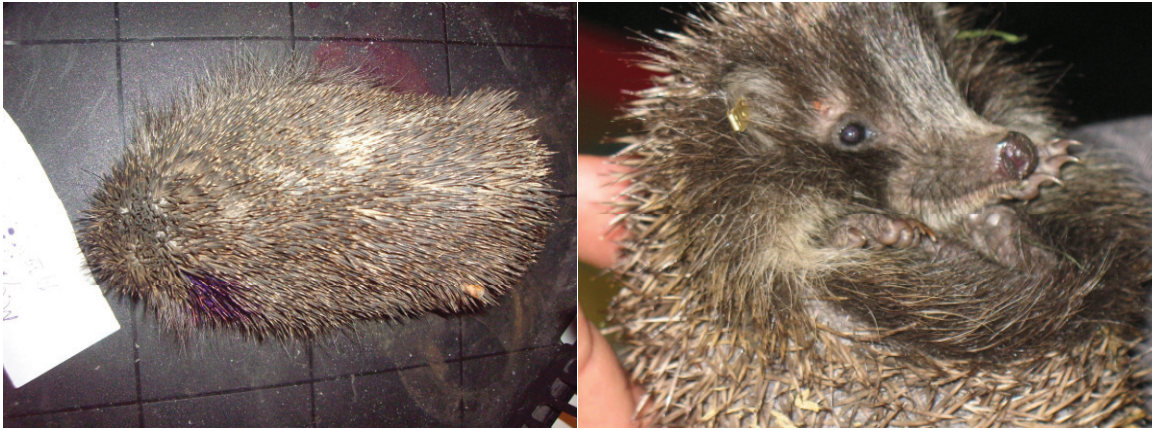
3.2. A sünök és parazitáik gyűjtése

A sünöket 2009-ben áprilistól októberig, 2010-ben pedig márciustól novemberig gyűjtöttük, havonta egy alkalommal. A gyűjtést Ronkayné Tóth Mária tanárnő, az ELTE Urbanizációs Munkacsoport vezetője koordinálta.

Az állatokat a Margit-szigeten belül kijelölt tizenkét területre beosztott önkéntesek keresték. A területek nagy számát az indokolta, hogy korábbi rádiótelemetriás vizsgálatok alapján a sünök csak néhány 100 m-t mozognak egy éjszaka. Sötétedéstől kezdve zseblámpák segítségével folyt a keresés. A megtalált sünöket munkáskesztyűvel vettük kézbe és óvatosan megfelelő méretű dobozba helyeztük. Feljegyeztük a fogás idejét és a terület kódját és a sün mellé tettük. Ezután az állatokat haladéktalanul a központba szállítottuk, ahol megtörtént az ektoparaziták eltávolítása.

A sünöknek itt megmértük a súlyát, 2010-ben a hosszát is, jelöltük őket, illetve leolvastuk és feljegyeztük a már meglévő jelöléseket. Először különböző festékekkel jelöltük az állatokat, de mivel ezek a jelölések csak néhány hónapig tartottak ki, 2010-ben áttértünk a fülkrotáliák alkalmazására (3. ábra). 2009-ben nem volt lehetőség az egyedeken lévő összes élősködő eltávolítására, viszont 2010-ben a központba, a szigeten lévő állatkertbe szállított sünöket elaltatták, így ebben az évben a kullancsok és bolhák legnagyobb részét leszedtük róluk. A kullancsokat csipesszel távolítottuk el az állatokról és 70%-os alkoholban tároltuk

őket. 2010-ben az állatok füléből szövetmintát vettünk, melyet vagy 70%-os alkoholban vagy -20°C-on fagyasztva tároltunk további felhasználásig. A bolhákat szintén csipesszel vagy esetleg bolhaölő spray segítségével távolítottuk el. Ezután a sünöket visszaszállítottuk oda, ahol találtuk őket és szabadon engedték.



3. ábra: A sünökön alkalmazott különböző jelölési módszerek: tüskék festése (balra) és fülkrotália (jobbra)

Fotók: Majoros Gábor

A növényzetről a kullancsokat zászlózással, azaz egy rúdra erősített fehér vászon segítségével gyűjtöttük össze, egy alkalommal, 2011. áprilisában. A további munkákra a Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Karának Parazitológiai és Állattani Tanszékén került sor.

3.3. Határozás és DNS kivonás a kullancsokból és a szövetmintákból

A kullancsokat később határozókulcs (Hillyard, 1996) segítségével meghatároztuk és feljegyeztük, hogy lárva, nimfa stádiumban vannak-e, vagy kifejlettek, ez esetben a nemet is meg tudtuk állapítani.

A DNS kivonását a kullancsokból alkalikus hidrolízissel (Guy & Stanek, 1991) végeztük. Az állatokat először szűrőpapírra helyeztük, hogy az alkohol elpárologjon belőlük, majd a nagyobb nőstényeket steril ollóval vagy szikével kettévágtuk. A mintákat ezután 1,25%-os ammónium-hidroxid oldatot tartalmazó Eppendorf-csővekbe tettük, ahol steril ollóval legalább 2-3 darabra vágtuk őket. Majd lezárt fedelű csőben fél óráig forraltuk a mintákat, így a kullancsok DNS-e és egyéb molekulái részlegesen bomlottak, oldatba kerültek. Ezután fél óráig nyitott tetővel is forraltuk az oldatot, hogy elpárologjon az ammónium-hidroxid. Az Eppendorf-csővek tartalmát további felhasználásig lefagyasztottuk.

A szövetmintákból egy kereskedelmi forgalomban kapható DNS kivonó kit (QIAamp, QIAGEN, Hilden, Németország) segítségével vontuk ki a DNS-t.

3.4. PCR, elektroforézis és szekvenálás

A minták nagy mennyisége miatt a DNS-oldatokból poolokat alakítottunk ki. Egy poolba maximum 30, azonos sünről leszedett, azonos fajú és stádiumú kullancsból kivont DNS került. A polimeráz láncreakcióhoz GoTaq (Promega, Madison, Wisconsin, USA) DNS-polimeráz kitet használtunk (ld 1. táblázat). A szövetmintákat egyesével dolgoztuk fel. A baktériumok OspA génjének egy kb. 250 bázispár hosszúságú szakaszát erősítettük fel (Demaerschalck et al., 1995; Földvári et al., 2005a). A PCR-termékeket 1,5 %-os agarózgélen futtattuk, aminek elkészítéséhez TBE puffert alkalmaztunk. A gélhez etídium-bromidot is adtunk, így az UV megvilágítás mellett készített fényképeken láthatóvá vált a reakció eredménye.

A minták egy véletlenszerűen kiválasztott részét megszekvenáltattuk, hogy kiderüljön, pontosan mely *Borrelia*-fajok voltak jelen a kullancsokban és a sünökben. A szekvenálás a jelölt didezoxi-nulkeotidok használatán alapuló Sanger-módszerrel történt (Macrogen, Szöul, Dél-Korea).

1. táblázat: A használt PCR reakció összetétele

| | |
|---|-----------|
| PCR víz | 17,675 µl |
| 5x Taq Puffer | 5 µl |
| dNTP-oldat (10 mmol/l) | 0,5 µl |
| Forward primer (BSL-F) (100 pmol/ml) | 0,1 µl |
| Reverse primer (BSL-R) (100 pmol/ml) | 0,1 µl |
| Taq-polimeráz (5 U/ µl) | 0,125 µl |
| DNS-templát | 1,5 µl |

3.5. Statisztikai elemzés

A parazitáltság számszerűsítésére többféle érték is létezik. A prevalencia mutatja meg, hogy a vizsgált élőlények hány százalékán fertőzött a vizsgált parazitával. Az intenzitás megadja az összes vizsgált egyeden a paraziták számát, az abundancia pedig csak a parazitáltakon méri ugyanezt.

Az adatok kiértékeléséhez az R programot (R Development Core Team, 2006) alkalmaztuk. A program segítségével Wilcoxon, Kruskal-Wallis- féle próbát illetve általánosított lineáris regressziót (Poisson és quasipoisson modell) végeztünk a kullancs-abundancia adatokra. Azt vizsgáltuk, hogy a sünök ivarának, tömegének, hosszának, a visszafogásnak és a gyűjtési területnek illetve dátumnak van-e hatása az egy sünről gyűjtött ektoparaziták számára. A biometrikus változók közül inkább a tömeget (g) használtuk magyarázó változóként a hossz (mm) helyett, mivel a testtömeg viszonylag erősen korrelált a testhosszal (Pearson-féle korreláció, $r=0,5321872$), több sünről volt erre vonatkozó adat és, ismételt mérések alapján, jóval pontosabban lehetett mérni.

A prevalenciát befolyásoló hatások vizsgálatához logisztikus regressziót használtunk, mivel a függő változó binomiális volt. Itt is a sünök nemének, tömegének, a gyűjtési területnek és időpontnak a hatását vizsgáltuk.

4. Eredmények

4.1. A sünökről és a növényzetről gyűjtött ektoparaziták

2009 és 2010 során összesen 5063 kullancsot és 785 bolhát szedtünk le 247 sünről. A legtöbb kullancs *I. ricinus* volt, a fajon belül nimfából, illetve nőtényből találtunk a legtöbbet (2204-et, illetve 1702-t). A 2009-ben gyűjtött ektoparaziták között nem volt *I. hexagonus*, viszont 2010-ben gyűjtöttek közül 57 egyed is ebbe a fajba tartozott. Az *I. hexagonus*-ok mind vagy nőténynek vagy nimfának bizonyultak. 2009-ben egy-egy *R. sanguineus* illetve *Ixodes ventalloi* nimfát is azonosítottunk (2. táblázat).

2. táblázat: A sünökről gyűjtött kullancsok megoszlása fajonként, illetve stádiumonként

| | <i>Ixodes ricinus</i> | | | <i>Ixodes hexagonus</i> | | <i>Ixodes</i> lárva | <i>Rhipicephalus</i> <i>sanguineus</i> | <i>Ixodes</i> <i>ventalloi</i> | Összesen |
|------|-----------------------|-----|-------|-------------------------|-------|------------------------|---|-----------------------------------|----------|
| | nőtény | hím | nimfa | nőtény | nimfa | | | | |
| 2009 | 206 | 91 | 160 | 0 | 0 | 12 | 1 | 1 | 471 |
| 2010 | 1496 | 749 | 2044 | 4 | 53 | 246 | 0 | 0 | 4592 |
| Össz | 1702 | 840 | 2204 | 4 | 53 | 258 | 1 | 1 | 5063 |

Az egy állatról gyűjtött legtöbb kullancs 83 db volt 2009-ben és 155 db 2010-ben. A legtöbb azonos fajba tartozó és azonos stádiumú élősködő egy sünön 116 *I. ricinus* nimfa volt. A kullancsok prevalenciája a sünökön a két évre viszonyítva 77,3 %, 2009-ben 63,6 %, 2010-ben pedig 89,9% volt. A medián intenzitás mind a két évet tekintve 12, 2009-ben 2, 2010-ben pedig 31 volt (3. táblázat).

3. táblázat: A sünök fertőzöttsége kullancsokkal

| | Sünök száma | Fertőzött sünök száma | Prevalencia (%) | Átlagos intenzitás | Medián intenzitás |
|-------------------------|-------------|--------------------------|-----------------|-----------------------|----------------------|
| 2009 | 118 | 75 | 63,6 | 6,28 | 2 |
| 2010 | 129 | 116 | 89,9 | 39,59 | 31 |
| A két évben összesen | 247 | 191 | 77,3 | 26,5 | 12 |

Bolhából mindkét évben jóval kevesebbet találtunk a sünökön, mint kullancsból. 2009-ben 78, 2010-ben pedig összesen 707 példányt gyűjtöttünk össze. A bolhák prevalenciája 50,41% volt a két évre viszonyítva, 26,27% volt 2009-ben és 72,66% 2010-ben. A medián intenzitás az első gyűjtési évben 1, a másodikban 4, a két évet együtt tekintve pedig 3,5 volt (4. táblázat).

A legtöbb egyed sünbolha (*Archaeopsylla erinacei*) volt, de azonosítottunk két nőtény és négy hím *Ctenocephalides canis*-t, azaz kutyabolhát is.

4. táblázat: A sünök fertőzöttsége bolhákkal

| | Fertőzött sünök száma | Bolhák száma | Prevalencia (%) | Átlagos intenzitás | Medián intenzitás |
|----------|-----------------------|--------------|-----------------|--------------------|-------------------|
| 2009 | 31 | 78 | 26,27 | 2,52 | 1 |
| 2010 | 93 | 707 | 72,66 | 7,6 | 4 |
| Összesen | 124 | 785 | 50,41 | 6,33 | 3,5 |

A növényzetről összesen 638 kullancsot gyűjtöttünk, 225 nőtényt, 281 hímet illetve 132 nimfát, ezek mindegyike *I. ricinus*-nak bizonyult a határozás során.

4.2. *Borrelia burgdorferi* s. l. a kullancsokban és a szövetmintákban

A sünökről eltávolított kullancsok közül, a minták igen nagy száma miatt, e szakdolgozat keretében csak a 2009-ben gyűjtött példányokban vizsgáltuk molekuláris módszerekkel a *Borrelia burgdorferi* s. l. jelenlétét. Ezekből a kullancsokból összesen 139 poolt alakítottunk ki, amelyekből 68 lett pozitív. Ezek közül 27 cső nőtényeket, 22 hímeket, 19 pedig nimfákat tartalmazott. Mindegyik fertőzöttnek bizonyuló kullancs az *I. ricinus* fajba tartozott. A pozitív poolok összesen 282 kullancs DNS-ét tartalmazták, amelyek 43 különböző sünről származtak. A minimum prevalencia 15%-os volt minden stádiumot nézve, vagyis ennyi volt a prevalencia, ha feltételeztük, hogy minden poolban csak egy valóban fertőzött kullancs volt. A nőtények esetében 13,8%, a hímeknél 22,3%, a nimfáknál 11,7%, a lárváknál pedig 0% volt a minimum prevalencia (5. táblázat). A 42 megszekvenáltatott mintából 40 *B. afzelii*-nek, 2 *B. garinii*-nek bizonyult.

5. táblázat: A sünökről gyűjtött kullancsok fertőzöttsége *Borrelia burgdorferi* s. l.-val

| | <i>Ixodes ricinus</i> nőstény | <i>Ixodes ricinus</i> hím | <i>Ixodes ricinus</i> nimfa | <i>Ixodes</i> lárva | Összesen |
|---------------------------|----------------------------------|------------------------------|--------------------------------|---------------------|----------|
| Megvizsgált egyedek száma | 195 | 87 | 162 | 8 | 452 |
| Pozitív poolok száma | 27 | 22 | 19 | 0 | 68 |
| Minimum prevalencia (%) | 13,8 | 22,3 | 11,7 | 0 | 15 |

A növényzetről gyűjtött kullancsok közül 152-t dolgoztunk fel molekuláris módszerekkel. Ezekből 7 poolt alakítottunk ki, amelyekből 6 lett pozitív *Borrelia burgdorferi* s. l.-ra. A pozitívnak bizonyuló poolokból háromban nőstények, kettőben hímek és egyben nimfák voltak. A minimum prevalencia 3,9% volt összesen, 4,5% a nőstényeknél, 2,7% a hímeknél és 12,5% a nimfáknál (6. táblázat). A szekvenálás során valamennyi vizsgált pozitív poolban lévő baktérium *B. afzelii*-nek bizonyult.

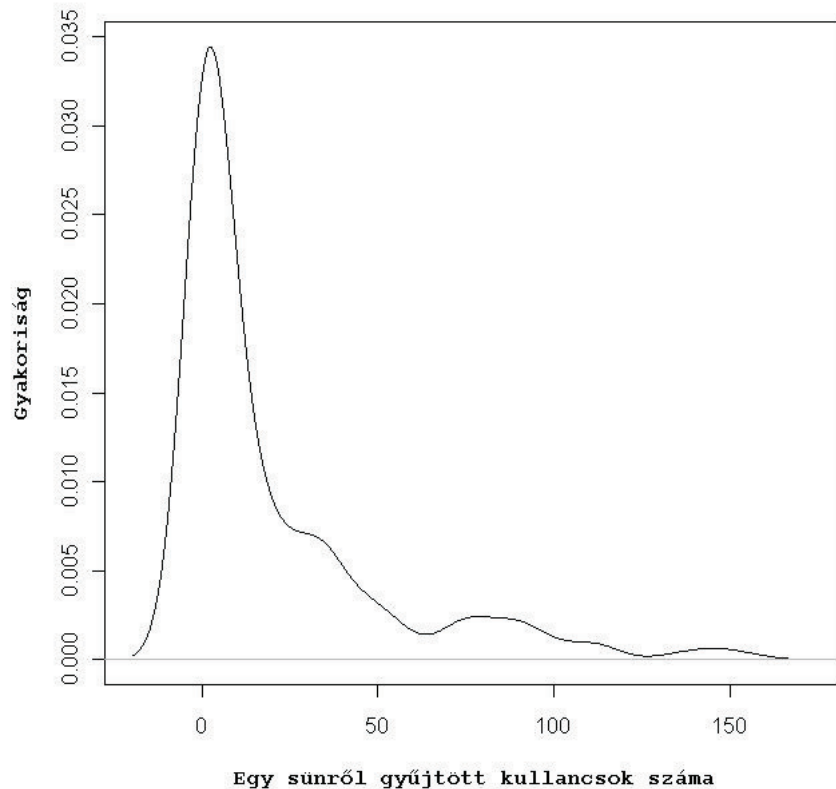
6. táblázat: A növényzetről gyűjtött kullancsok fertőzöttsége *Borrelia burgdorferi* s. l.-val

| | <i>Ixodes ricinus</i> nőstény | <i>Ixodes ricinus</i> hím | <i>Ixodes ricinus</i> nimfa | Összesen |
|---------------------------|----------------------------------|---------------------------|--------------------------------|----------|
| Megvizsgált egyedek száma | 66 | 78 | 8 | 152 |
| Pozitív poolok száma | 3 | 2 | 1 | 7 |
| Minimum prevalencia (%) | 4,5 | 2,7 | 12,5 | 3,9 |

A sünökből vett szövetminták közül ötvennek vizsgáltuk meg a fertőzöttségét és ezek mind pozitívnak bizonyultak. A szövetmintákban detektált *Borrelia* DNS-ekből 12-t szekvenáltattunk meg, mindegyikben *B. afzelii*-t találtunk.

4.3. Statisztikai elemzés

A kullancsok abundanciájának vizsgálatánál lineáris modellekkel nem kaptunk megbízható eredményeket, mert az egy sünről gyűjtött kullancsok számának eloszlása erősen jobbra ferde volt (4. ábra). Nem paraméteres próbákkal kimutattuk, hogy eltérések vannak egyes területek között a kullancsok abundanciájában (Kruskal-Wallis próba, $p < 0,001$) és hogy az először fogott, illetve a visszafogott sünök között nincs szignifikáns különbség a rajtuk talált kullancsok számának tekintetében, ha a két évet külön nézzük (Wilcoxon- féle előjeles rangösszeg próba, $p = 0,9837$ a 2009-es, $p = 0,4279$ a 2010-es adatokra). A két év összevonása nem volt lehetséges, mert a mintaelemszámok, illetve a gyűjtési módszerek nagyon eltérőek voltak.



4. ábra: Egy sünről gyűjtött kullancsok számának eloszlása

A sünökön az ektoparaziták prevalenciájára a vizsgált magyarázó változók közül csak a gyűjtési évnak volt szignifikáns hatása logisztikus regresszió, $p < 0,001$). Az intenzitást befolyásoló tényezők vizsgálatánál quasipoisson modellt alkalmaztunk a függő változó ferde eloszlása illetve a jelentős túlszóródás (diszperziós paraméter: 33,5) miatt. A gyűjtési terület

($p < 0,001$), a gyűjtési időpont ($p < 0,001$) és a testtömeg ($p = 0,01897$) hatása is szignifikánsnak bizonyult volt.

5. Az eredmények értékelése

A sünökön talált külső élősködők kvantifikálása során mindkét ektoparazita csoport, a kullancsok és a bolhák számában is jelentős különbség mutatkozott a két év között. A második évben, 2010-ben megközelítőleg tízszer annyi élősködőt távolítottunk el a sünökről, mint az elsőben. Ennek oka az volt, hogy a sünöket elaltatták, így lehetőség nyílt azok gondosabb és hosszabb ideig tartó vizsgálatára. A 2009-ben nem parazitáltak talált sünök egy része valószínűleg fertőzött volt ektoparazitákkal, azonban a nem megfelelő gyűjtési módszer miatt nagy valószínűséggel csak az erősen fertőzött példányok parazitáltságát tudtuk kimutatni.

A meghatározott kullancsok elsöprő többsége *I. ricinus* volt. Ez Magyarország egyik leggyakoribb kullancsfaja, viszont más, sünökön végzett hasonló felmérések során elsősorban *I. hexagonus*-t találtak az állatokon. Egy németországi vizsgálat során a sünök 58,5%-a volt fertőzött *I. hexagonus*-szal és 11,1% *I. ricinus*-szal. Az *I. hexagonus* prevalenciája nőtt a vidékitől a városi területek felé (Egli, 2004). Egy másik, szintén németországi felmérésben pedig a sünökről eltávolított kullancsok 65%-a bizonyult *I. hexagonus*-nak és 35%-a *I. ricinus*-nak (Thamm et al., 2009). Viszont egy svájci kutatás keretében közel azonos arányban találták meg a két fajt (Gern et al., 1997). Valószínűleg az elszigeteltség lehet a magyarázat a magasabb *I. ricinus* / *I. hexagonus* arányra, vagy az, hogy a szigetre érkező kutyák, madarak valószínűleg nagyobb számú közönséges kullancsot hurcolnak be ide, mint a szinte kizárólag sünön és kisragadozókon vért szívó *I. hexagonus*-t.

A másik két megtalált faj jelenléte nem jellemző Magyarországon. A *Rhipicephalus sanguineus*-nak, mely főként melegebb éghajlatú területeken elterjedt és elsősorban kutyákon élősködik, hazánkban eddig egyetlen behurcolt előfordulásáról tudunk (Hornok & Farkas, 2005). A Margit-szigetre is nagy valószínűséggel egy külföldön fertőződött kutya hozhatta be. A *R. sanguineus* kutyán kívül emberen, macskán, rókán, nyúlra, mókuson és sünön is élősködhet (Hillyard, 1996). Számos, elsősorban kutyákat megbetegítő patogént is kimutattak már ebből a fajtából, többek között *Babesia canis canis*-t, *Babesia gibsoni*-t, *Hepatozoon canis*-t és az emberben is betegséget okozó *Rickettsia conorii*-t illetve *R. rickettsii*-t (Dantas-Torres, 2008). A szintén egyetlen példányban megtalált *I. ventralis* a nyulak specifikus kullancsa és sem Magyarországon sem a környező országokban nem bukkantak még rá. Terjesztheti az *Anaplasma phagocytophilum*-ot (Santos et al., 2004) és a *Rickettsia helvetica*-t (Santos-Silva et al., 2006). A területen folytatott további vizsgálatokból kiderülhet, hogy

ezen kullancsfajok stabil populációja él-e a szigeten vagy pedig csak behurcolt példányok kerültek elő vizsgálatunk során.

A vizsgált keleti sünök kullancsokkal való jelentős fertőzöttsége egybecseng más, európai sünön végzett kutatások eredményeivel. Egy német állatorvosi klinikákra került sünökön végzett vizsgálat során 100%-os prevalenciát is találtak kullancsokra (Beichel et al., 1996). Ennél valamivel alacsonyabb a jelen vizsgálatban talált 77,3%-os, illetve a 2010-ben a hatásosabb mintavételnek köszönhető 89,9%-os prevalencia. Nyugat- Európai kutatásokban az *I. hexagonus*-szal kapcsolatban 9 illetve 24 medián intenzitás értékeket találtak (Egli, 2004. Gaglio, 2011). Mi szintén magas, 12, illetve a 2010-es adatokat nézve 31 medián intenzitást mutattunk ki. Ez a magas intenzitás akár regeneratív anaemiához is vezethet a sünökben (Pfäffle, 2009). Saját vizsgálatunkban a tényleges intenzitás azonban még ennél is magasabb lehet, mivel az apró lárvákat még hosszas vizsgálat után sem biztos, hogy mind eltávolítottuk. A sünök a magas prevalencia és intenzitás adatok alapján, vagyis mivel sok egyed volt fertőzött, és nagy számban voltak rajtuk paraziták, és mert jelentős számú sün él a szigeten, valószínűleg fontos szerepet játszanak az ektoparaziták fenntartásában a Margit-szigeten. Rezervoár szerepük fontosságát azonban csak a területen élő többi gerinces parazitológiai vizsgálatával lehetne maradéktalanul igazolni.

Irodalmi adatok alapján sünöket leggyakrabban parazitáló bolhafaj az *A. erinacei*, így nem meglepő, hogy jelen vizsgálatban is ebből találtunk a legtöbbet. Ezt egy németországi kutatásban 43,7%-os prevalenciával és 6,5 átlagintenzitással találták meg sünökön (Egli, 2004), mi ehhez hasonló értékeket: 50, 41%-os prevalenciát és 6,33 átlagintenzitást kaptunk. Vélhetően az általunk összegyűjtött bolhák száma is kisebb a valósánál, hisz gyorsaságuk és rejtőzködő életmódjuk miatt ezeknek a rovaroknak nehézkes a sünökről való eltávolítása. Az *A. erinacei* sünön kívül kutyából, macskából és emberből is szívhat vért. A *C. canis*, amelyből ebben a vizsgálatban 6 példányt találtunk, nevéből adódóan elsősorban kutyákon élőszködik, de már korábban megtalálták sünön is (Visser, 2001).

Mind a sünökről, mind a növényzetről gyűjtött kullancsokban találtunk *Borrelia*-fertőzöttséget. A minták nagy száma miatt poolokat alakítottunk ki, így nagy valószínűséggel szisztematikusan alábecsültük a valós prevalenciát, de a sünökről leszedett *I. ricinus* nőstényekben és nimfákban a 10%, illetve a hímeekben a 20% fölötti talált minimum prevalencia a sünöknek e baktériumok életciklusában betöltött fontos szerepére utal. Erre mutat az is, hogy valamennyi megvizsgált sün szövetminta pozitív volt *Borrelia burgdorferi* s. l.-ra. Egy vizsgálatban Litvániában 13,3%-os, Norvégiában 5,2%-os prevalenciát találtak

B. burgdorferi s. l.-ra a növényzetről gyűjtött kullancsokban (Paulauskas et al., 2008), aminél egy kissé alacsonyabb az általunk talált 3,9%-os minimum prevalencia. Egy cseh vizsgálatban 1995 és 1998 között 9,2-2,8%-os prevalenciát találtak *Borrelia*-ra városi parkokban. A *B. garinii* *B. afzelii* arány 1,4:1 volt (Bašta et al., 1999). Németországban és Finnországban is végeztek felmérést a városi parkokban élő kullancsok *Borrelia burgdorferi* s. l.-val való fertőzöttségével kapcsolatban. Az előbbi országban 17,9%, az utóbbiban átlagosan 32%-os prevalenciát találtak. Mindkét vizsgálatban a *B. afzelii*-t mutattak ki a legnagyobb arányban (Maetzel et al., 2005, Junttila et al., 1999). Ez a faj volt a domináns a sünökről gyűjtött kullancsokban is, sőt a Margit-szigeten összegyűjtött kullancsokban és a szövetmintákban csak ezt találtuk meg. A *B. afzelii* Európában az egyik legelterjedtebb *Borrelia*-faj, ez az emberi megbetegedések egyik leggyakoribb okozója is. A *B. garinii*-vel együtt már korábban kimutatták sünökből (Gern et al., 1997).

Többféle statisztikai módszerrel is szignifikáns különbség mutatkozott az ektoparaziták számában a két év között, nagy valószínűséggel a különböző munkamódszerek miatt. Feltehetőleg az egyes gyűjtési területekhez illetve időpontokhoz tartozó abundancia illetve intenzitásbeli különbségeket a gyűjtők és a begyűjtött sünök területenként és időpontonként igen különböző száma okozta, hiszen volt olyan terület, ahonnan 11, és volt, ahonnan 54 állatot gyűjtöttünk a két év folyamán. Az először megfogott, illetve a jelölten visszafogott sünök kullancsokkal való fertőzöttségében nem volt különbség, mivel az egyes mintavételezések között eltelt legalább egy, de akár több hónap valószínűleg elég volt az újrafertőződésükhöz.

A Margit-szigeten minden héten több ezer látogató fordul meg. Sokan magukkal viszik a kutyáikat is, melyek, ahogy feltehetően behurcolhatnak, úgy ki is vihetnek a szigetről *Borrelia*-kkal fertőzött kullancsokat, illetve akár a szigeten korábban nem jelenlévő kullancs- és *Borrelia*-fajokat is. Humánegészségügyi szempontból a legjelentősebbek a vizsgálatban nagy számban talált nimfák és lárvák. Ezek fertőződhetnek *Borrelia*-val, miközben a sünön táplálkoznak, majd a következő stádiumukban emberre is kerülhetnek, és betegséget okozhatnak.

Jelenleg nincs az Európai Unióban engedélyezett, szabadban használható irtószer és az emberre alkalmazható szerek hatása korlátozott. Eredményeink arra hívják fel a figyelmet, hogy egy margit-szigeti látogatás után is érdemes a leghatékonyabb prevenciók módszert alkalmazni: testünk alapos átvizsgálását az esetlegesen rajtunk lévő kullancsok minél korábbi eltávolítása céljából.

6. Összefoglalás

A Lyme-borreliosis az északi félteke leggyakoribb vektorok által terjesztett betegsége. Az ezt okozó baktériumok, a *Borrelia burgdorferi* sensu lato fajcsoport egyes tagjai sokféle gerinces gazdában fennmaradhatnak a természetben: egyes rágcsálókban, madarakban, gyíkokban és sünökben is. Vizsgálatunk célja az volt, hogy megállapítsuk, hogy a margit-szigeti sünökben és az ezekről gyűjtött különböző fajú kullancsokban is jelen van-e a fertőzés.

2009-ben áprilistól októberig, 2010-ben márciustól novemberig gyűjtöttünk sünöket, havonta egy alkalommal. Az állatokat ezután lemértük és eltávolítottuk róluk a kullancsokat és a bolhákat, illetve 2010-ben szövetmintát is vettünk a fülükből. Az ektoparazitákat és a szövetmintákat további felhasználásig 70%-os alkoholban tároltuk. Zászlózással a növényzetről is gyűjtöttünk kullancsokat. A kullancsokat és a bolhákat később meghatároztuk, a kullancsokból alkalikus hidrolízissel, a szövetmintákból pedig DNS kivonó kittel kivontuk a DNS-t és polimeráz lánreakció illetve gél-elektroforézis segítségével megállapítottuk, hogy fertőzöttek-e *Borrelia*-val. A pozitív minták egy részét megszekvenáltattuk, hogy meghatározzuk a kimutatott baktériumok pontos faji hovatartozását.

A két év folyamán 247 sünről 5063 kullancsot és 785 bolhát gyűjtöttünk össze. A kullancsok közül 4746 *Ixodes ricinus*-nak, 57 *Ixodes hexagonus*-nak, egy *Ixodes ventalloi*-nak és egy *Rhipicephalus sanguineus*-nak bizonyult. A két évre viszonyítva a kullancsok prevalenciája a sünökön 77,3%, medián intenzitásuk pedig 12 volt. A meghatározott bolhákból 779 az *Archaeopsylla erinacei*, 6 a *Ctenocephalides canis* fajba tartozott. A bolhák prevalenciája 50,41%, medián intenzitásuk 3,5 volt. A növényzetről 152 az *I. ricinus* fajba tartozónak bizonyuló kullancsot szedtünk össze.

A sünökről 2009-ben gyűjtött kullancsokban 139 poolból 68 lett pozitív *B. burgdorferi* s. l.-ra, a minimum prevalencia 15%-os volt. A területen zászlózással összegyűjtött kullancsokból 7 poolt állítottunk össze, ezekből 6 lett pozitív. Itt a minimum prevalencia 3,9% volt. A növényzetről gyűjtött kullancsokból és a szövetmintákból kimutatott baktériumok mind *Borrelia afzelii*-nek bizonyultak, a sünökről gyűjtött kullancsokból azonban *Borrelia garinii*-t is találtunk.

Más sünökön végzett vizsgálatokkal ellentétben mi jóval több *I. ricinus*-t találtunk az állatokon, mint *I. hexagonus*-t. Ennek valószínűleg az a magyarázata, hogy a szigetre potenciálisan kullancsokat behurcoló kutyákon és madarakon inkább az előbbi, Magyarországon igen gyakori faj szív vért. Érdekes a két, hazánkban nem jellemző, egy-egy példányban talált kullancsfaj előfordulása. Ezeket kutyák vagy madarak hozhatták be külföldről.

A Margit-sziget kedvelt városi parkja Budapestnek, amelyet hetente több ezer magyar és külföldi látogat. Az itt élő sünök vizsgálataink alapján fertőzhetik a rajtuk gyakran vért szívó kullancslárvákat és –nimfákat, melyek vedlés után, a következő stádiumukba jutva nagy valószínűséggel emberre is kerülhetnek, és betegséget okozhatnak.

7. Summary

Lyme borreliosis is the most common vector-borne disease on the Northern hemisphere. The causative agents, namely certain members of the group *Borrelia burgdorferi* sensu lato can be maintained in nature by several vertebrate hosts: certain rodents, birds, lizards and hedgehogs. The aim of our study was to find out if the infection is present in the hedgehogs and in ticks collected from the hedgehogs and the vegetation.

We collected hedgehogs from April to October in 2009 and from March to November in 2010, once a month. The animals were measured, the ticks and fleas were removed and in 2010 tissue samples were taken from the ears of the hedgehogs. The ectoparasites and the tissue samples were stored in 70% ethanol until further investigation. Questing ticks were collected by flagging. Later the ticks and fleas were identified, the DNA was extracted from the ticks by alkaline hydrolysis and from the tissue samples with a commercial DNA-extraction kit, and the *Borrelia* infection was investigated with the help of polymerase chain reaction and gel electrophoresis. Some of the positive samples were sequenced to identify the detected *Borrelia* species.

In the two-year study, we collected 5063 ticks and 785 fleas from 247 hedgehogs. Among the ticks there were 4746 *Ixodes ricinus*, 57 *Ixodes hexagonus*, one *Ixodes ventralloi* and one *Rhipicephalus sanguineus*. The prevalence of the ticks from hedgehogs was 77.3% and the median intensity was 12. 779 of the identified fleas were *Archaeopsylla erinacei* and six were *Ctenocephalides canis*. The prevalence of the fleas was 50.41%, the median intensity was 3.5. We collected 152 *I. ricinus* from the vegetation.

68 of 139 pools made from the ticks collected from hedgehogs in 2009 were positive for *B. burgdorferi* s. l., the minimum prevalence was 15%. We created 7 pools from the ticks collected by flagging and of these 6 were positive. The minimum prevalence in questing ticks was 3.9%. The bacteria detected in questing ticks and tissue samples were *Borrelia afzelii*, but in the ticks collected from hedgehogs we found *Borrelia garinii*, too.

In contrast with other studies on hedgehogs we found more *I. ricinus* on the animals than *I. hexagonus*. The possible explanation for this is that mostly the former species that is very common in Hungary feeds on dogs and birds that can potentially transport ticks to the island. The occurrence of the two tick species, that are not characteristic for Hungary, is interesting. These species were probably brought from abroad by dogs or birds.

The Margaret Island is a popular city park in Budapest with several thousands of visitors every week. We have shown that hedgehogs can infect the nymphs and larvae feeding on them and in their next stage after moulting, ticks can infect people and cause disease.

8. Köszönetnyilvánítás

Köszönöm témavezetőimnek, dr. Földvári Gábornak és Rigó Krisztinának a rengeteg munkát, segítséget és türelmet.

Köszönöm Prof. Dr. Farkas Róbertnek, tanszékvezető egyetemi tanárnak, hogy lehetőséget biztosított a SZIE-ÁOTK, Parazitológiai és Állattani Tanszéken végzett munkák kivitelezéséhez.

Szeretnék köszönetet mondani Ronkayné Tóth Máriának és az Urbanizációs munkacsoportnak a sünök gyűjtésének és vizsgálatának megszervezéséért, az önkénteseknek az állatok összegyűjtését és dr. Molnár Viktornak a sünök altatásában nyújtott segítségét. Köszönöm Molnár Imolának és Kiss Tímeának a segítségüket a DNS kivonásban. Köszönet Igor Majláthnak a bolhák meghatározásáért.

A Margitszigeti Állatkertnek is szeretném megköszönni, hogy helyszínt biztosított a sünök alapos vizsgálatához.

9. Irodalomjegyzék

Ackermann, R. (1975): Tick-borne meningopolyneuritis (Garin-Bujadoux, Bannwarth). *Münchener Medizinische Wochenschrift*, vol. 118 (49), p.1621-2.

Asbrink, E., Hovmark, A., Weber, K. (1993): Acrodermatitis Chronica Atrophicans. In: Weber, K., Burgdorfer, W. (Eds.) *Aspects of Lyme Borreliosis*. p. 193-204. Springer-Verlag Berlin/Heidelberg.

Barker, S. C., Murrell, A. (2008): Systematics and evolution of ticks. In: *Ticks Biology, Disease and control*. Ed. Bowman, A. S., Nuttall, P. A. New York: Cambridge University Press. p. 1-39.

Bašta, J., Plch, J., Hulínská, D., Daniel, M. (1999): Incidence of *Borrelia garinii* and *Borrelia afzelii* in *Ixodes ricinus* ticks in an urban environment, Prague, Czech Republic, between 1995 and 1998. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 18, p. 515-517.

Beck, W. (2007): Endoparasites of the hedgehog. *Wiener Klinische Wochenschrift*, Vol. 119 (19-20 Suppl 3), p. 40-4.

Beichel, E., Petney, T. N., Hassler, D., Brückner, M., Maiwald, M. (1996): Tick infestation patterns and prevalence of *Borrelia burgdorferi* in ticks collected at a veterinary clinic in Germany. *Veterinary parasitology*, 65, p. 147-155.

Bihari Z. (2008): Keleti sünn. in: Bihari Z., Csorba G. és Heltai, M. (szerk.): Magyarország emlőseinek atlasza. p. 50-51.

Burgdorfer, W., Barbour, A. G., Hayes, S. F., Benach, J. L., Grunwaldt, E., Davis, J. P. (1982): Lyme disease-a tick-borne spirochetosis? *Science*. 216(4552), p.1317-9.

Burgdorfer, W., Barbour, A. G., Hayes, S.F., Péter, O., Aeschlimann, A. (1983): Erythema chronicum migrans--a tickborne spirochetosis. *Acta Tropica*, 40(1), p.79-83.

Cirak, V. Y., Senlik, B., Aydogdu, A., Selver, M., Akyol, V. (2010): Helminth parasites found in hedgehogs (*Erinaceus concolor*) from Turkey. *Preventive Veterinary Medicine*, 97, p. 64-66

- Collares-Pereira, M., Couceiro, S., Franca, I., Kurtenbach, K., Schäfer, S.M., Vitorino, L., Gonçalves, L., Baptista, S., Vieira, M.L., Cunha, C. (2004): First isolation of *Borrelia lusitaniae* from a human patient. *Journal of Clinical Microbiology*, 42, p. 1316–1318.
- Dantas-Torres, F. (2008): The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): from taxonomy to control. *Veterinary Parasitology*, 152, p. 173-185.
- Demaerschalck, I., Benmessaoud, A., Dekezel, M., Hoyois, B., Lobet, Y., Hoet, P., Bigaignon, G., Bollen, A., Godfroid, E. (1995): Simultaneous presence of different *Borrelia burgdorferi* genospecies in biological fluids of Lyme-disease patients. *Journal of Clinical Microbiology*, 33, 602-8.
- Diza, E., Papa, A., Vezyri, E., Tsounis, S., Milonas, I., Antoniadis, A. (2004): *Borrelia valaisiana* in cerebrospinal fluid. *Emerging Infectious Diseases*, 10, p. 1692–1693.
- Egli, R. (2004): Comparison of physical condition and parasite burdens in rural, suburban and urban hedgehogs *Erinaceus europeus*: Implications for conservation, diplomamunka, Berni Egyetem.
- Földvári, G., Farkas, R., Lakos, A. (2005a): *Borrelia spielmanii* erythema migrans, Hungary. *Emerging Infectious Diseases*, 11, p. 1794–1795.
- Földvári, G., Hell, E., Farkas, R. (2005b): *Babesia canis canis* in dogs from Hungary: detection by PCR and sequencing. *Veterinary Parasitology*, vol. 127 (3-4), p. 221-226.
- Gaglio, G., Allen, S., Bowden, L., Bryant, M., Morgan, E. R. (2011): Parasites of European hedgehog (*Erinaceus europeus*) in Britain: epidemiological study and coprological test evaluation. *European Journal of Wildlife Research*, in press
- Furquim, K. C. S., Bechara, G. H., Camargo Mathias, M. I. (2010): Morpho-histochemical characterization of the salivary gland cells of males of the tick *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in different feeding stages: description of new cell types. *Experimental and Applied Acarology*, 50, p. 59-70.
- Gern, L., Toutoungi, L. N., Hu, C. M., Aeschlimann, A. (1991): Ixodes (Pholeoixodes) hexagonus, an efficient vector of *Borrelia burgdorferi* in the laboratory. *Medical and Veterinary Entomology*, 5(4), p. 431-5.

- Gern, L., Rais, O. (1996): Efficient transmission of *Borrelia burgdorferi* between cofeeding *Ixodes ricinus* ticks (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology*, 33, p. 189-192.
- Gern L., Rouvinez E., Toutoungi L. N., Godfroid E. (1997): Transmission cycles of *Borrelia burgdorferi* sensu lato involving *Ixodes ricinus* and/or *I. hexagonus* ticks and the European hedgehog, *Erinaceus europaeus*, in suburban and urban areas in Switzerland. *Folia Parasitologica (Praha)*, 44(4), p. 309-14.
- Gilles, J., Just, F.T., Silaghi, C., Pradel, I., Passos, L.M., Lengauer, H., Hellmann, K., Pfister, K. (2008): *Rickettsia felis* in fleas, Germany. *Emerging Infectious Diseases*, 14, p. 1294-1296.
- Gray, J. S., Kahl, O., Janetzki-Mittman, C., Stein, J., Guy, E. (1994): Acquisition of *Borrelia burgdorferi* by *Ixodes ricinus* ticks fed on the European hedgehogs, *Erinaceus europaeus* L. *Experimental & Applied Acarology*, vol. 18, p. 485-491.
- Guy, E.C., Stanek, G. (1991): Detection of *Borrelia burgdorferi* in patients with Lyme disease by the polymerase chain reaction. *Journal of Clinical Pathology*, 44, 610–611.
- Gylfe, A., Bergström, S., Lundström, J., Olsen, B. (2000): Reactivation of *Borrelia* infection in birds. *Nature*, 17; 403(6771), p. 724-5.
- Harris, R. A., Kaufman, W. R. (1981): Hormonal control of salivary gland degeneration in the ixodid tick *Amblyomma hebraeum*. *Journal of Insect Physiology*, Vol. 27, Issue 4, p. 241-245, 247-248.
- Hildebrandt, A., Hunfeld, K. P., Baier, M., Krumbholz, A., Sachse, S., Lorenzen, T., Kiehntopf, M., Fricke, H. J., Straube, E. (2007): First confirmed autochthonous case of human *Babesia microti* infection in Europe. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious disease*, vol. 26 (8), p. 595-601.
- Hillyard, P. D. (1996): Ticks of North-West Europe. Shrewsbury:Field Studies Council. P.
- Homer, M. J., Aguilar-Delfin, I., Telford III, S. R., Krause, P. J., Persing, D. H. (2000): Babesiosis. *Clinical Microbiology Reviews*, July 2000, p. 451-469.

Hornok, S., Farkas, R. (2005): First autochthonous infestation of dogs with *Rhipicephalus sanguineus* (Acari : Ixodidae) in Hungary: case report and review of current knowledge on this tick species. *Magyar Állatorvosok lapja*, 127, p. 623-629.

Hornok S., Földvári G., Elek V., Naranjo, V., Farkas R., de la Fuente, J. (2008): Molecular identification of *Anaplasma marginale* and rickettsial endosymbionts in blood-sucking flies (Diptera: Tabanidae, Muscidae) and hard ticks (Acari: Ixodidae). *Veterinary Parasitology*, vol. 154, July 2008, issues 3-4, p. 354-359.

Hutterer, R. (2005): Order Erinaceomorpha. In: *Mammal Species of the World* (eds. Wilson, D.E. and Reeder, D.M.), 3rd Edition, JHU Press, Baltimore, USA, p. 212-219.

Junttila, J., Peltomaa, M., Soini, H., Marjamäki, M., Viljanen, M. K. (1999): Prevalence of *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes ricinus* ticks in urban recreational areas of Helsinki. *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 37, no. 5, p. 1361-1365.

Kálmán D., Sréter T., Széll Z., Egyed L. (2003): *Babesia microti* infection of antropophilic tick (*Ixodes ricinus*) in Hungary. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, vol. 97, no. 3, p. 317-319.

Keirans, J. E., Oliver, J. H., Needham, G. R. (1992): The *Ixodes ricinus/persulcatus* complex defined, p.302, In: Munderloch, U. G., Kurtii, T. J. (Eds.) Tick-Borne Pathogens at the Host-Vector Interface: An Agenda for Research. First International Conference, Saint Paul, Minnesota.

Kozuch, O., Gresikova, M., Nosek, J., Lichard, M., Sekeyova, M. (1967): The role of small rodents and hedgehogs in a natural focus of tick-borne encephalitis. *Bulletin Of The World Health Organization*, vol. 36 suppl, p.61-66.

Kurtenbach, K., De Michelis, S., Etti, S., Schäfer, S. M., Sewell, H. S., Brade, V., Kraiczy, P. (2002a): Host association of *Borrelia burgdorferi* sensu lato--the key role of host complement. *Trends in Microbiology*, 10(2), p. 74-9.

Kurtenbach, K., Schäfer, S. M., Sewell, H. S., Peacey, M., Hoodless, A., Nuttall, P.A., Randolph, S. E. (2002b): Differential survival of Lyme borreliosis spirochetes in ticks that feed on birds. *Infection and Immunity*, 70(10), p. 5893-5.

- Labuda, M. & Nuttall, P. A. (2008): Viruses transmitted by ticks. In: Ticks Biology, Disease and control. Ed. Bowman, A. S., Nuttall, P. A. New York: Cambridge University Press. p. 253-280.
- Lakos, A. (2002): Tick-borne lymphadenopathy (TIBOLA). *Wien Klinische Wochenschrift*, 114 (13-14), p. 648-54.
- Lakos A.(2009): Lyme-borreliosis – 25 év hazai tapasztalatai. *Orvosi Hetilap*, 150, p. 725–732.
- Lakos A., Nagy G., Jankovics I., Csík M. (1991): A *Borrelia burgdorferi* (Lyme spirochaeta) első hazai izolálása kullancsokból. *Orvosi hetilap*, vol. 132 (3), p. 129-130, 133-134.
- Maetzel, D., Maier, W. A., Kampen, H. (2005): *Borrelia burgdorferi* infection prevalences in questing *Ixodes ricinus* ticks (Acari: Ixodidae) in urban and suburban Bonn, western Germany. *Parasitology Research*, 95:5-12
- Majláthová, V., Majláth, I. et al. (2006): *Borrelia lusitaniae* and green lizards (*Lacerta viridis*), Karst Region, Slovakia. *Emerging Infectious Diseases*, 12, p. 1895–1901.
- Mantke, O. D., Schädler, R., Niedrig, M. (2008): A survey on cases of tick-borne encephalitis in European countries. *Eurosurveillance*, vol.13, issues 4-6, p. 1-9.
- Margos, G., Gatewood, A.G., Aanensen, D.M., Hanincová, K., Terekhova, D., Vollmer, S.A., Cornet, M., Piesman, J., Donaghy, M., Bormane, A., Hurn, M.A., Feil, E.J., Fish, D., Casjens, S., Wormser, G.P., Schwartz, I., Kurtenbach, K. (2008): MLST of housekeeping genes captures geographic population structure and suggests a European origin of *Borrelia burgdorferi*. *P. Natl. Acad. Sci. USA*, 105, p. 8730–8735.
- Margos, G., Hojgaard, A., Lane, R. S., Cornet, M., Fingerle, V., Rudenko, N., Ogden, N., Aanensen, D. M., Fish, D., Piesman, J. (2010): Multilocus sequence analysis of *Borrelia bissettii* strains from North America reveals a new *Borrelia* species, *Borrelia kurtenbachii*. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 1 (4), p. 151-158.
- Oliver, J. H. (1989): Biology and systematics of ticks (Acari:Ixodida). *Annual Review of Ecology and Systematics*, 20, p. 397-430.

- Parola, P., Paddock, C. D., Raoult, D. (2005): Tick-Borne Rickettsiosis around the World: Emerging Diseases Challenging Old Concepts. *Clinical Microbiology Reviews*, Oct. 2005, p. 719-756
- Paulauskas, A., Ambrasiene, D., Radzijeuskaja, J., Rosef, O., Turcinaviciene, J. (2008): Diversity in prevalence and genospecies of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks and rodents in Lithuania and Norway. *International Journal of Medical Microbiology*, 298 (2008) S1, p. 180-187.
- Pfäffle, M., Petney, T., Elgas, M., Skuballa, J., Taraschewski, H. (2009): Tick-induced blood loss leads to regenerative anaemia in the European hedgehog (*Erinaceus europaeus*). *Parasitology*, 136, p. 443–452.
- R Development Core Team (2006): R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org>.
- Randolph, S.E., Gern, L., Nuttall, P.A. (1996): Co-feeding ticks: Epidemiological significance for tick-borne pathogen transmission. *Parasitology Today*, 12, p. 472-479.
- Randolph, S. E., Green, R. M., Peacey, M. F., Rogers, D. J. (2000): Seasonal synchrony: the key to tick-borne encephalitis foci identified by satellite data. *Parasitology*, 121 (Pt 1), p. 15-23.
- Richter, D., Allgöwer, R., Matuschka, F-R. (2002): Co-feeding Transmission and Its Contribution to the Perpetuation of the Lyme Disease Spirochete *Borrelia afzelii*. *Emerging Infectious Diseases*, Vol. 8, No. 12, p. 1421-1425.
- Rigó, K., Gyurencz, M., Dán, Á., Földvári, G. (2011): Detection of *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Anaplasma phagocytophilum* in small mammals and ectoparasites in Hungary. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, In press
- Riley, P. Y., Bruno B. Chomel, B. B. (2004): Hedgehog Zoonoses. *Emerging Infectious Diseases*, Vol. 11, No. 1, p. 1-5
- Rózsa Lajos (2005): Élősködés: az állati és emberi fejlődés motorja. Budapest: Medicina. p. 318.

Rudenko, N., Golovchenko, M., Mokracek, A., Piskunová, N., Ruzek, D., Mallatová, N., Grubhoffer, L. (2008): Detection of *Borrelia bissettii* in cardiac valve tissue of a patient with endocarditis and aortic valve stenosis in the Czech Republic. *Journal of Clinical Microbiology*, 46 (10), p. 3540-3543

Rudolph, D., Knülle, W. (1974): Site and mechanism of water vapour uptake from the atmosphere in ixodid ticks. *Nature*, 3;249(452), p. 84-5.

Santos, A.S., Santos-Silva, M.M., Almeida, V.C., Bacellar, .F, Dumler, J.S. (2004): Detection of *Anaplasma phagocytophilum* DNA in *Ixodes* ticks (Acari: Ixodidae) from Madeira Island and Setubal District, mainland Portugal. *Emerging Infectious Diseases*, 10, p. 1643-1648.

Santos-Silva, M.M., Sousa, R., Santos, A.S., Melo, P., Encarnação, V., Bacellar, F. (2006): Ticks parasitizing wild birds in Portugal: detection of *Rickettsia aeschlimannii*, *R. helvetica* and *R. massiliae*. *Experimental & Applied Acarology*, 39, p. 331-338.

Sahibi, H., Rhalem, A., Berrag, B., Goff ,W. L. (1998): Bovine babesiosis. Seroprevalence and ticks associated with cattle from two different regions of Morocco. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1998 Jun 29; 849, p. 213-8.

Saito, K., Ito, T., Asashima, N., Ohno, Mi., Nagai, R., Fujita, H., Koizumi, N., Takano, A., Watanabe, H., Kawabata, H. (2007): Case report: *Borrelia valaisiana* infection in a Japanese man associated with travelling to foreign countries *Am. Journal of Tropical Medicine & Hygiene*, 77, p. 1124-1127.

Schwann, T. G., Piesman, J. (2002): Vector interactions and molecular adaptations of lyme disease and relapsing fever spirochetes associated with transmission by ticks. *Emerging Infectious Diseases*, 8(2), p. 115-21.

Skuballa, J., Oehme, R., Hartelt, K., Petney, T., Bücher, T., Kimmig, P., Taraschewski, H. (2007): European hedgehogs as hosts for *Borrelia* spp., Germany. *Emerging Infectious Diseases*, 13, p. 952-953.

Skuballa, J. D., Petney, T., Pfäffle, M., Taraschewski, H. (2010): Molecular Detection of *Anaplasma phagocytophilum* in the European Hedgehog (*Erinaceus europaeus*) and its Ticks. *Vectore Borne Zoonotic Diseases*, 10 (10), p. 1055-1057 .

Steere, A. C., Malawista, S. E., Snyderman, D. R., Shope, R. E., Andiman, W. A., Ross, M. R., Steele, F. M. (1977): Lyme arthritis: an epidemic of oligoarticular arthritis in children and adults in three connecticut communities. *Arthritis Rheum*, 20 (1), p. 7-17.

Thamm, S., Kalko, E. K. V., Wells, K. (2009): Ectoparasite infestations of hedgehogs (*Erinaceus europaeus*) are associated with small-scale landscape structures in an urban-suburban environment. *EcoHealth*, 6, p. 404-413.

Visser, M., Rehbein, S., Wiedemann, C. (2001): Species of flea (siphonaptera) infesting pets and hedgehogs in Germany. *Journal of Veterinary Medicine B, Infectious Disease and Veterinary Public Health*, 48, p. 197-202.

Vyrostekova, V., Khanakah, G., Kocianova, E., Gurycova, D. & Stanek, G. (2002): Prevalence of coinfection with *Francisella tularensis* in reservoir animals of *Borrelia burgdorferi sensu lato*. *Wiener klinische Wochenschrift* 114, 482–488.

Wang, G, van Dam A. P., Dankert, J. (1999): Phenotypic and genetic characterization of a novel *Borrelia burgdorferi sensu lato* isolate from a patient with lyme borreliosis. *Journal Of Clinical Microbiology*, vol. 37 (9), p. 3025-8.

Wilson, D.E. and Reeder, D.M. (eds.) 2005: Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference. Johns Hopkins University Press, Baltimore, Maryland, USA , 3rd ed., vols. 1 & 2, pp. 2142.