



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

***A Borrelia burgdorferi sensu lato* baktériumok ökológiai és járványtani
vizsgálata a Margit-szigeten**

Jablonszky Mónika, II. évfolyam
Biológia Msc

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

Budapest

2013

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés.....	3
2. Irodalmi áttekintés.....	4
2.1. <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato	4
2.2. A kullancsok, mint vektorok.....	6
2.3. A keleti sün	9
3. Módszerek	12
3.1. Helyszín	12
3.2. Sünök és ektoparaziták gyűjtése	12
3.3. Határozás és DNS kivonás a kullancsokból és szövetmintákból.....	14
3.4. PCR, elektroforézis és szekvenálás.....	14
3.5. Statisztikai elemzés és kérdőív	15
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 és kérdőív	19
5. Eredmények értékelése.....	22
6. Összefoglalás.....	26
7. Summary	28
8. Köszönetnyilvánítás	29
9. Irodalomjegyzék.....	30

1. Bevezetés

A *Borrelia burgdorferi* sensu lato (s. l.) fajcsoportba tartozó egyes baktérium fajok az északi félteke elterjedt humán betegségének, a Lyme-kórnak az okozói. A *Borrelia*-k élelciklusában kullancs vektorok (leggyakrabban *Ixodes*-fajok) és különböző gerinces gazdák (gyíkok, madarak, emlősök) játszanak szerepet. A rezervoár gazdáknak fennmarad a fertőzés, és ezt átvehetik a vektorok, melyek újabb gazdának, akár embernek is tovább adhatják ezeket a baktériumokat.

Európában fontos vektora a *Borrelia burgdorferi* s. l. baktériumoknak az *Ixodes ricinus* vagy közönséges kullancs és az *Ixodes hexagonus*. Mindkét faj előfordulhat emberen és keleti sünön (*Erinaceus roumanicus*) is, amelynek szerepét a *Borrelia*-k fenntartásában az elmúlt években írták le Közép-Európa több országából, köztük Magyarországról is.

A vizsgálat helyszíne a Budapest szívében fekvő Margit-sziget volt, melynek parkosított területei megfelelő élőhelyek mind a kullancsok, mind a sünök számára és kedvelt célpontja kikapcsolódni, illetve sportolni vágyóknak.

2009-ben kezdődő vizsgálatunkban a Margit-szigeti sünök illetve kullancsaik, valamint a szigeten növényzetről gyűjtött kullancsok *Borrelia*-fertőzöttségét mértük fel. Ezen kívül igyekeztünk meghatározni a Margit-szigeten található baktériumok humán egészségügyi jelentőségét is.

Céljaink a következők voltak:

- felmérni a Margit-szigeti sünökön vért szívó kullancsok faji összetételét és prevalenciáját,
- megállapítani a sünökről és a növényzetről gyűjtött kullancsok *Borrelia burgdorferi* s. l. fertőzöttségét,
- illetve, hogy maguk a sünök fertőzöttek-e a baktériummal,
- kideríteni, hogy van-e humán egészségügyi jelentősége a helyi kullancspopuláció fertőzöttségének.

2. Irodalmi áttekintés

2.1. *Borrelia burgdorferi* sensu lato

A *Borrelia burgdorferi* s. l. baktériumok a Spirochaetales rendbe tartozó, rugalmas sejtfalú, Gram-negatív baktériumok. A fajcsoportba jelenleg tizennyolc faj tartozik (Rudenko et al., 2011), melyek közül több okozhatja a Lyme borreliosis. Emberen kívül kutyában, lóban és szarvasmarhában is betegséget okozhatnak (Hillyard, 1996). Észak-Amerikában leggyakrabban a *Borrelia burgdorferi* sensu stricto (s. s.) betegíti meg az embereket, míg Európában a *B. burgdorferi* s. s., a *Borrelia afzelii* és a *Borrelia garinii* (Margos et al., 2008), de leírtak *Borrelia bissettii* (Rudenko et al., 2008), *Borrelia valaisiana* (Diza et al., 2004), *Borrelia lusitaniae* (Collares-Pereira et al., 2004) és *Borrelia spielmanii* (Földvári et al., 2005) okozta fertőzést is.

A Lyme-kór egyik tünetét, az acrodermatitis chronica atrophicans-t (ACA) 1883-ban írta le Buchwald, míg a kullancs csípése nyomán létrejövő erythema migrans-t (EM) Afzelius említette először 1910-ben (Hillyard, 1996). Steere és munkatársai írtak le egy Old Lyme-ban gyermekek között terjedő arthritis-t (Steere et al., 1977). A betegséget okozó spirochaetát Burgdorfer azonosította elsőként *Ixodes scapularis*-ban (Burgdorfer et al., 1982).

A betegség Európában, Ázsiában és Észak-Amerikában gyakori, évente több mint 100.000 esetet regisztrálnak (Zöldi et al., 2013). Magyarországon a bejelentett esetek száma évente 1000 körül mozog, de a betegség előfordulását ennél egy nagsságrenddel nagyobbra, 80-100/100.000 főre becslik (Lakos, 2009).

A Lyme borreliosis egyik első tünete az EM, a kullancscsípés helyén kialakuló, általában ovális bőrpír. Ez az esetek 50-75%-ában jelenik meg, és hetek vagy hónapok múlva kezelés nélkül is eltűnik. Kísérheti fáradékonyság és izomfájdalom. A fertőzés következő fázisában, hetek, hónapok múlva meningitis, arcidegbénulás vagy radiculoneuritis alakulhat ki. A harmadik fázis csak kevés betegnél jelentkezik arthritis vagy, legtöbbször idősebb nőknél, ACA formájában, hónapokkal vagy évekkel a kullancscsípés után. Szövődményként ritkán carditis is kialakulhat. A különböző *Borrelia*-fajok eltérő tüneteket okozhatnak: a *B. afzelii* leggyakrabban a bőrön jelentkező, míg a *B. garinii* az idegi tüneteket hozza létre (Lakos, 2009).

A spirochaeták a gazdát kereső kullancs belében helyezkednek el, itt az outer surface protein (Osp) A nevű külső felszíni fehérjét termelik, mely képes a kullancs bélsejtjeihez, illetve a többi ilyen molekulához kapcsolódni. Amikor a kullancs rátapad a gazdára, és

táplálkozni kezd, belében megindul a *Borrelia*-k multiplikálódása és az Osp A-ét felváltja az Osp C termelődése. Az Osp C szintézise a vérszívás első napján kezdődik, és 48 óra múlva éri el a tetőpontját. Ezzel párhuzamosan a baktériumok a haemolymphán keresztül a kullancs nyálmirigyébe vándorolnak, ahonnan a gazdába kerülhetnek. Így a vérszívás első napján általában még nem történik *Borrelia*-val való fertőzés (Schwan & Piesman, 2002).

I. scapularis-szal végzett kísérletek során kimutatták, hogy a *B. burgdorferi* képes a kullancs egy nyálmirigyben termelődő fehérjéje, a T-lymphocyták aktiválását gátló Salp15 szintézisét megemelni. A Salp15 a baktériumok Osp C fehérjéjéhez tapad a kullancsban, és védelmet nyújt a gazda antitestjeivel szemben (Ramamoorthi et al., 2005). A *Borrelia*-k az emberbe jutva mozgékonyságuknak köszönhetően gyorsan terjednek a vérben és a szövetek között. Képesek bejutni az endothel sejtekbe, a fibroblastokba, a macrophagokba és a lymphocytákba is (Lakos, 2009).

A *B. burgdorferi* s. l. legfontosabb vektorai az *I. ricinus*-*Ixodes persulcatus* fajcsoportba tartozó kullancsok. Ide sorolható Európában és Észak-Afrikában az *I. ricinus*, Észak-Kelet-Európában és Ázsiában az *I. persulcatus*, Észak-Amerika keleti részén az *I. scapularis* és nyugati részén az *Ixodes pacificus*. Ezeken a fajokon kívül az Európában elterjedt *I. hexagonus* és a tengeri madarakon élősködő, és így széles areával rendelkező *Ixodes uriae* is szerepet játszhat a *Borrelia*-k életciklusában (Piesman & Gern, 2008).

Ezek a baktériumok igen sok gerinces gazdában képesek szaporodni. Gyakran találják meg őket egerekben, pockokban, de patkányokban, és mókusokban is előfordulhatnak (Paulaskas et al., 2008; Humair & Gern, 1998), ahogy pelében (Richter et al., 2004), nyúlban (Matuschka et al., 2000) és sünben (Gray et al., 1994) is. A szarvasfélék azonban általában nem rezervoárjai a *Borrelia*-knak. Leírták őket feketeterigóból (Humair et al., 1998), fácánból (Kurtenbach et al., 1998) és gyíkokból (Majláthová et al., 2006; Földvári et al., 2009) is.

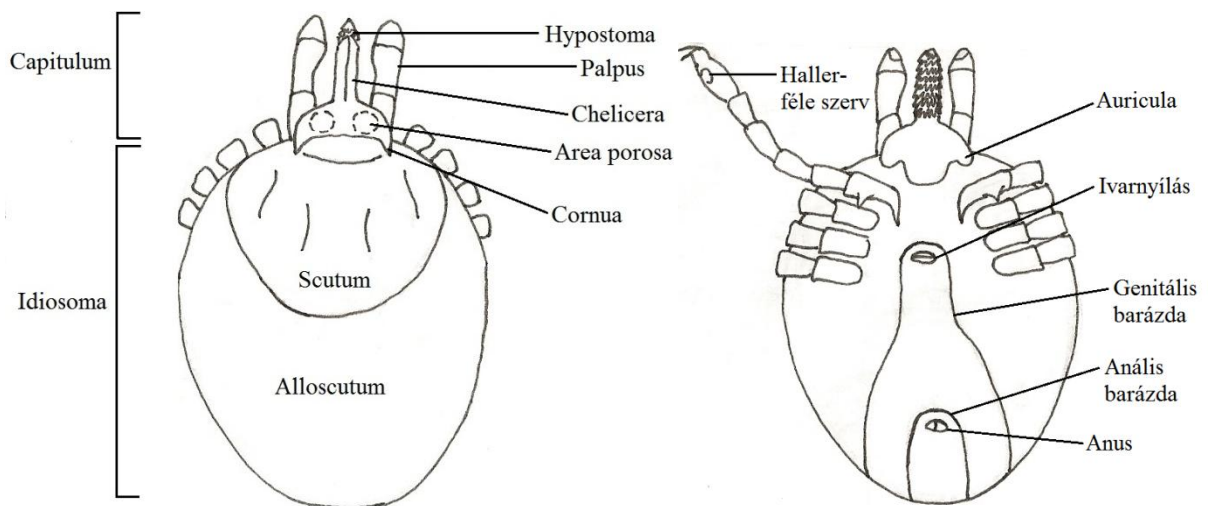
A *B. burgdorferi* s. l. egyes fajai eltérnek egymástól mind földrajzi elterjedés, mind gazdaspecifitás szempontjából. A *B. afzelii* és a *Borrelia bavariensis* általában kisméretű emlősökben (Paulaskas et al., 2008; Margos et al., 2009), míg a *B. garinii* vagy a *B. valaisiana* madarakban (Michalik et al., 2008) fordul elő. A *B. lusitaniae* gazdája egyes gyíkfajok (Majláthová et al., 2006; Földvári et al., 2009). A *B. spielmanii*-t a közelmúltig csak peléken és sünen találták meg (Richter et al., 2004; Skuballa et al., 2007), de Richter és munkatársai bizonyították egérfajok és a vándorpatkány rezervoár kompetenciáját is (Richter et al., 2011). A gazdaspecifitás kialakulásában fontos szerepet játszik a komplement rendszer, elsősorban a C5b-C9 fehérjék (Kurtenbach et al., 2002). A *B. burgdorferi* s. s. kelet és nyugat Észak-Amerikában illetve Európában elterjedt, a *B. bissetii* Észak-Amerika középső részén és

Európában, a *B. lusitaniae* a Mediterráneumban gyakori. A *B. afzelii*, a *B. valaisiana* és a *B. garinii* egész Európában és Ázsiában megtalálható, illetve az utóbbi a szubantarktikus régióban is (Kurtenbach et al., 2006).

2.2. A kullancsok, mint vektorok

A kullancsok az Arthropoda törzsbe, a Chelicerata altörzsbe, az Arachnida osztályba, az Acari alosztályba, ezen belül az Ixodida rendbe tartoznak. A rend jellemzője az első lábfejen elhelyezkedő Haller-féle szerv és a második láb csípője után található egy-pár légzőnyílás (Rózsa, 2005). Az Ixodidae családon kívül az óvantagok (Argasidae) családja és az egy fajt (*Nuttalliella namaqua*) magába foglaló Nuttalliellidae család sorolható az Ixodida rendbe. Az Ixodidae családba tartoznak a legnagyobb atkák, fajainak szájszerve az óvantagokkal ellentétben előre felé irányul és három fejlődési stádiumuk van: lárva, nimfa és adult (Hillyard, 1996).

Az Ixodida monofiletikus taxon, és valószínűleg a Nuttalliellidae a legősibb családja. Az ősi kullancsok kialakulásának helye és ideje vitatott, de figyelembe véve a Nuttalliellidae család helyét a törzsfán, feltehetőleg a Gondwana területén, a középső permben következett be, és az akkori ixodidák therapsidákon élőködtek (Mans et al, 2011).



1. ábra: Nőtény *Ixodes* kullancs testfelépítése (saját rajz Hillyard, 1996 nyomán)

A kullancsok teste szelvényezetlen, két részre osztható: capitulumra és idiosomára. A capitulumon, vagy feji részen található a palpusok, a chelicera és a hypostoma, illetve nőstények esetében az area porosa is (1. ábra). A dorzális és ventrális felszínén lévő

nyúlványok (cornua, auricula) határozóbélyegek lehetnek. Az idiosoma felülnézetből a nőstényeknél a kemény scutumra és a rugalmas alloscutumra bontható, a hímeknél az egész hátat a scutum fedi. Az idiosomán helyezkedhetnek el a szemek is. Alulnézetben a nőstényeken jól megkülönböztethető az ivarnyílás és az anus, a hímeknél pajzsok is láthatók. A lárváknak három, a nimfáknak és az adultoknak négy pár ízelt lába van. Az Ixodidae két nagy csoportja az anális nyílás körül futó anális barázda elhelyezkedése alapján azonosítható: a Prostiratóknál (*Ixodes*-ek) ez az ivarnyílás előtt, a Metastriátáknál az ivarnyílás mögött húzódik (Hillyard, 1996).

Az Ixodidae fajok életsiklusa 1-6 évig tart. A legtöbb faj három gazdás, vagyis a három fejlődési stádium három különböző gazdán szív vért, de főleg a trópusi területeken vannak két- illetve egygazdás fajok is, ahol egy vagy két stádium a gazdán vedlik át és a következő stádium is ugyanazon az egyedben marad. A kullancsok gazdakörének mérete változatos: az *I. ricinus*-nak több száz gazda faja van, de pl.: az *Ixodes lividus* csak partifecskeken (*Riparia riparia*) élősöködik. Az endophil kullancsok, mint az *I. hexagonus*, gazdájuk fészékében vagy búvóhelyén élnek, míg az exophilek a növényzeten várakoznak (pl.: *I. ricinus*) vagy aktívan vadásznak a gazdára (pl.: *Hyalomma*-k) (Hillyard, 1996).

A kullancsok talán minden más ízeltlábúnál több kórokozó vektorai, vagyis képesek átvinni, tárolni a fertőző organizmusokat és tovább adni azokat a gerinces gazdáknak. Jó vektorok, mivel szájszervük, illetve a rövid szájszervű fajok esetében a nyálmirigy által termelt cement segítségével biztosan tapadnak a gazdán, ami lehetővé teszi a hosszú táplálkozást és a gazdákkal való terjedést. A kullancsok a szúrásuk helyén pool-t hoznak létre, a lárva átlagosan 2-6, a nimfa 3-8, a nőstény 6-12 napig eszik, a hím szakaszosan vagy egyáltalán nem táplálkozik. A vektor szerepet az is segíti, hogy sokféle gazdán képesek vért szívni, viszonylag hosszú életűek, sok utódjuk van, jól tűrik az éhezést és a kórokozók általában nem csökkentik a túlélőképességüket (Hillyard, 1996).

A kullancsok vektorkompetenciájában legnagyobb mirigyük, a nyálmirigy is szerepet játszik. A nőstényekben három, a hímekben négyféle acinus építi fel ezt a szervet. Az I. típusú acinus agranuláris, higroszkópos anyagot gyárt, mely lehetővé teszi a vízfelvételt, amikor a kullancs még nem talált gazdát. Táplálkozás közben a nyálmirigy visszajuttatja a felesleges vizet és ionokat a gazdába. A II. és III. típusú acinus vérárvadásgátló, gyulladásgátló és immunszuppresszív anyagokat termel. Ezek az utóbbi acinusok granulárisak, a vérszívás alatt megnőnek, később pedig degenerálódnak (Bowman et al., 2008). *I. ricinus*-szal végzett vizsgálatok során a nyálmirigy által termelt fehérjék között egy antikoagulánst, egy vérlemezke aggregálódást gátló anyagot és egy szerin-proteáz inhibitor is azonosítottak

(Leboulle et al., 2002). A IV. típusú acinus, mely csak hímegekben található meg, valószínűleg a szaporodásban is szerepet játszik (Furquim et al., 2010).

A kórokozó továbbadására több mód is létezik. A kullancsban lévő patogének általában nem pusztulnak el vedléskor, ekkor transzstadiális transzmisszióról beszélhetünk. A vírusoknál és egyes *Babesia*-knál a nőtény petéit is megfertőzhetik a kórokozók, vagyis transzovariális transzmisszió történhet, de ez a *Borrelia*-k esetében nem jelentős. A fertőzés egymás közelében táplálkozó kullancsok között is terjedhet a gazda szisztémás fertőződése nélkül. Ezt a folyamatot co-feeding vagy együtt-táplálkozási terjedésnek nevezik. A *B. burgdorferi* több hétig felvehető az adott helyen táplálkozó kullancsok számára (Randolph et al., 1996). A co-feeding transzmisszió valószínűsége nő, ha a nem fertőzött kullancs hosszabb ideig táplálkozik, és csökken a fertőzött kullancs csípésétől távolabb, így feltehetőleg a természetben nem olyan jelentős ez a fajta terjedés a *B. burgdorferi* s. l. esetében, mint a rezervoár gazdától való fertőződés (Richter et al., 2002).

A kullancsok számos ember- és állat-egészségügyi szempontból jelentős vírusnak, baktériumnak és protozoonnak a vektorai. A kullancs által terjesztett vírusok az Asfar-, Reo-, Rhabdo-, Orthomyxo-, Bunya- és Flaviviridae családokba tartoznak. Vertikálisan, transzovariálisan kis mennyiségben terjednek, a co-feeding transzmisszió során sokszorozódnak. Általában egy vektorfaj kevés vírust szállíthat, kivétel ez alól az *I. uriae* és az *I. ricinus*, amely három víruscsoport tagjainak is vektora. Ezek közül Európában a legfontosabb a Flaviviridae családba tartozó kullancs encephalitis (Tick-Borne Encephalitis Virus, TBEV) (Labuda & Nuttall, 2008).

A TBEV három altípusra osztható: távol-keleti, európai és szibériai. Ezek közül a távol-keleti változat a legsúlyosabb, néhány kitörés alkalmával akár 50%-os mortalitással, míg az európai változat jóval enyhébb tüneteket okoz. Az európai altípus vektora az *I. ricinus*, a távol-keleti pedig az *I. persulcatus* (Gresíková & Kaluzová, 1997). Magyarországon az elmúlt évtizedekben a kullancs-encephalitis éves esetszáma 100 alatt volt (Zöldi et al., 2013).

A *B. burgdorferi* s. l. terjesztésén kívül a kullancsok szerepet játszanak a *Rickettsia*-k, az *Anaplasma*-k és a *Francisella tularensis* életrajzában is. A *Rickettsia*-k és az *Anaplasma*-k a Rickettsiales rendbe tartoznak. A *Rickettsia*-k kisméretű, obligát intracelluláris baktériumok, melyeknek életrajzában kullancs vektorok és gerincesek vesznek részt, és több fajuk az emberben kiütésekkel járó lázat okoz. A *Dermacentor* kullancsok vektorai és rezervoárjai is lehetnek a *Rickettsia slovaca*-nak, mely a tick-borne lymphadenopathy (TIBOLA) nevű betegséget okozza (Lakos, 2002). Egy magyarországi vizsgálatban megállapították, hogy a nők, a fiatalok és a lovakal rendszeresen foglalkozók között nagyobb

a TIBOLA-val fertőződés esélye (Lakos et al., 2012). A közelmúltban nyert bizonyítást, hogy a hím *Dermacentor* példányok is vektorok, valamint, hogy a kórt hazánkban is okozhatja a *Rickettsia raoultii* faj is (Földvári et al., in press)

Az *Anaplasma phagocytophilum* obligát fehérvérsejt parazita, a granulocitás anaplasmosis okozója, vektorai *Ixodes* kullancsok, melyek rezervoárként is funkcionálhatnak. Rágcsálókban és nagyobb emlősökben is megtalálták már, kimutatták sünből és sünről vért szívott *I. ricinus*-ból illetve *I. hexagonus*-ból (Silaghi et al., 2012).

A *F. tularensis*-nek, a tularémia baktériumának, vektora lehet az *I. ricinus*, a *Dermacentor reticulatus* és a *Haemaphysalis concinna* is (Vyrosteková et al., 2002). Számos gerinces gazdában képes megélni, de legfontosabbak ezek közül talán a nyulak (Gyuranecz et al., 2011) és a rágcsálók. Magyarországon kimutatták, hogy a hörcsögök nagyon érzékenyek a *F. tularensis*-re (Gyuranecz et al., 2010).

A *Babesia*-knak, melyek közül számos komoly betegséget okoz állatokban vagy emberekben, szintén kullancsok a vektorai. Ezek a protozoonok az Apicomplexa törzsbe tartoznak és a gerincesekben kizárólag vörösvérsejtekben szaporodnak. Észak-Amerikában általában a rágcsáló rezervoárú *Babesia microti* fertőzi meg az embereket, míg Európában legtöbbször a súlyosabb betegséget okozó *Babesia divergens*, melynek az *I. ricinus* a vektora. A *Babesia bigemina* és a *Babesia bovis* szarvasmarhában, a *Babesia canis* és több más faj kutyában okoz babesiosis-t (Homer et al., 2000). A *B. microti* Európában is okozhat megbetegedést, több országban, köztük Magyarországon is megtalálták már *I. ricinus*-ban (Kálmán et al., 2003). A *Babesia venatorum*, melyet többek között Lengyelországban is kimutattak *I. ricinus*-okból, szintén okozhat humán babesiosist (Cieniuch et al., 2009).

2.3. A keleti sün

A hazánkban honos keleti sün (*E. roumanicus*) az Erinaceomorpha rendbe és az Erinaceidae családba tartozik. Régebben a nyugati sün (*Erinaceus europeus*), illetve az *Erinaceus concolor* fajba sorolták, de ma már külön fajként tartják számon (Hutterer, 2005). Areájuk átfedő területein a keleti sün feltehetőleg hibridizálódhat a nyugati sünnel (Bogdanov et al., 2009). Az *E. roumanicus* a jégkorszakot valószínűleg a Balkánon vészelté át, onnan kolonizálta a holocénben jelenlegi elterjedési területét Közép- és Kelet-Európában (Sommer, 2007).

A keleti sün erdős, illetve facsoportokkal tarkított élőhelyek lakója, településeken, kertekben is gyakori. Amikor a hőmérséklet tartósan 8°C alá csökken, védett helyre vonul, és

téli álmot alszik. Táplálékát giliszták, rovarok, csigák és olykor kisebb gerincesek alkotják, melyeket sötétedéskor kezd keresni. Egy évben kétszer is szaporodhatnak, tavasz, illetve nyár végén, az utódokat az anya egyedül gondozza. Akár tíz évig is élhetnek (Bihari, 2008).

A sünöket számos ekto-, endoparazita és egysejtű patogén megfertőzheti (2. ábra). Kullancsok közül az *I. ricinus* és az *I. hexagonus* fordul elő gyakran sünön (Thamm et al., 2009; Beichel et al., 1996; Földvári et al., 2011), de *Ixodes trianguliceps*-t, *D. reticulatus*-t, *Dermacentor marginatus*-t, *H. concinna*-t, *Haemaphysalis inermis*-t és *Haemaphysalis punctata*-t, *Hyalomma aegyptium*-ot és *Rhipicephalus sanguineus*-t is találtak már ezeken az állatokon (Hillyard, 1996). Mi korábbi vizsgálatunkban *I. ricinus* és *I. hexagonus* mellett *Ixodes acuminatus*-t és *Hyalomma marginatum*-ot is gyűjtöttünk sünökről (Földvári et al., 2011; Jablonszky, 2011).



2. ábra: keleti sün a szeménél vért szívó nőstény kullancssal

Fotó: Földvári Gábor

A sünök bolhákkal is gyakran fertőzöttek. Ezek az oldalról lapított testű, szárnyatlan ektoparazita rovarok a Siphonaptera rendbe tartoznak. A sünökön leggyakrabban a sünbolha (*Archeopsylla erinacei*) található meg, de néha kutya- (*Ctenocephalides canis*), illetve macskabolha (*Ctenocephalides felis*) is (Visser et al., 2001). A macskabolha terjesztheti az embert megbetegítő *Rickettsia felis*-t (Gilles et al., 2008).

Gyakran és nagy intenzitással fertőzöttek a sünök endoparazitákkal is. Egy törökországi vizsgálatban *E. concolor*-ban legnagyobb prevalenciával *Physaloptera clausa*-t, legnagyobb intenzitással *Crenosoma striatum*-ot találtak (Cirak et al., 2010). Angliában, *E.*

europeus-ban összesen 91%-os prevalenciával azonosítottak endoparazitákat: nematodákat (leggyakrabban *C. striatum*-ot és *Capillaria* fajokat), egy trematódát és egy buzogányfejű férget (Gaglio et al., 2010).

A sünökről 1994-ben mutatták ki, hogy a *B. burgdorferi* s. l. rezervoárjai lehetnek. A sünről vért szívott kullancsokat vedlés után gerbilekre helyezték, amelyeknek képesek voltak tovább adni a fertőzést (Gray et al., 1994). A *Borrelia*-knak négy fajtát is megtalálták már nyugati sünen: a *B. afzellei*-t, a *B. bavariensis*-t, a *B. burgdorferi* s. s.-t és a *B. spielmanii*-t (Skuballa et al., 2007). Ausztriai keleti sünökben nemrég *B. afzellei*-t és *B. bavariensis*-t találtak (Skuballa et al., 2012).

Más baktériumokat, *Salmonella*-kat, *Mycobacterium*-ot, *Coxiella burnetii*-t is azonosítottak már sünen, illetve protozoonokat (pl.: *Cryptosporidium*-fajok), vírusokat (pl.: TBEV) és gombákat (pl.: *Trichophyton mentagrophytes*) is (Riley & Chomel, 2005; Rigó et al., 2012). *E. europeus*-ról a közelmúltban kimutatták, hogy az *Anaplasma phagocytophilum* több variánsának is lehet rezervoárja (Silaghi et al., 2012).

3. Módszerek

3.1. Helyszín

A vizsgálat helyszíne a Margit-sziget (é. sz. 47°31'35", k. h. 19°2'50"), a Duna egyik szigete volt. A főváros szívében elterülő sziget hossza 2800 m, szélessége a legszélesebb pontján 500 m, területe 0,965 km², az évi átlaghőmérséklet 11,76°C. A terület nagy részét park borítja, a járműforgalom is csekély, ez ideális élőhelyé teszi a szigetet a sünök számára. A bokros részek alkalmasak arra, hogy ott vészeljék át az exofil kullancsok a két vérszívás közti időszakot. A Margit-sziget egyúttal a kikapcsolódni és sportolni vágyók kedvelt célpontja, akik könnyen kapcsolatba kerülhetnek az itt élő kullancsokkal, illetve az ezek által terjesztett, Lyme-kórt okozó *Borrelia*-kkal. Mivel a vizsgálat helyszíne egy sziget, az eredmények kevésbé általánosíthatóak, de a kis mozgáskörzettel rendelkező sünök szempontjából egy átlagos városi park is viszonylag elszigetelt élőhely.

3.2. Sünök és ektoparaziták gyűjtése

Ronkayné Tóth Mária és az ELTE urbanizációs munkacsoport (martes.elte.hu) vezetésével 2009-ben kezdődött meg a sünök gyűjtése a Margit-szigeten. A jelen dolgozat keretében feldolgozott ektoparaziták a 2011-ben gyűjtött sünökről származtak. Az állatokat sötétedéstől kezdve elemlámpákkal és munkáskesztyűkkel kerestük a Margit-szigeten kijelölt 12 területen (3. ábra) havonta egy alkalommal, a téli hónapok kivételével. A területek nagy számát az indokolta, hogy korábbi rádiótelemetriás vizsgálatok alapján a sünök csak néhány 100 m-t mozognak egy éjszaka (Tóth és mtsai, publikálatlan adat). A cipősdobozba helyezett sünöket, melyeknek fogási ideje és helye feljegyzésre került, a központba (általában a szigeten lévő állatkertbe) szállítottuk.

2010-ben és 2011-ben az állatokat állatorvos elaltatta. Az altatást ketamin (5 mg/testtömeg kg) és dexmedetomidin (50 µg/testtömeg kg) kombinációjából álló intramuszkuláris injekcióval végezték és 30 perc múlva, ébredéskor az állatok atipamezolt (0,5 mg/testtömeg kg) kaptak a dexmedetomidin ellenszereként. A központban megmérték a sünök tömegét, 2010-ben a hosszát is, vért, illetve szövetmintát vettek tőlük, megállapították az ivarukat, valamint eltávolítottuk róluk az ektoparazitákat. A szövetmintákat 70%-os alkoholban vagy -20°C-on fagyasztva tároltunk további felhasználásig. A kullancsok gyűjtése csipesszel történt, és 70%-os alkoholban lettek tárolva. A bolhákat is hasonló módon, illetve

néhány esetben bolhaölő spray segítségével gyűjtöttük. A sünöket 2010-től kezdve egyedi számozású fülkrotáliákkal jelöltük meg. A vizsgálatok befejeztével a sünöket visszaszállítottuk arra a helyre, ahol találtuk, és szabadon engedték őket.



3. ábra: Gyűjtési területek a Margit-szigeten

A növényzetről a kullancsokat zászlózással, azaz egy rúdra erősített fehér vászon segítségével gyűjtöttük össze, először 2011 márciusában. A jelen dolgozatban felhasznált adatok a 2011 áprilisától 2012 augusztusáig gyűjtött egyedeket foglalják magukban. 2011 szeptemberétől havonta két füves és két borostyános területen standard ideig, 15 percig végeztünk zászlózást a területek összehasonlításának céljából. 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 szövetmintákból

A kullancsokat és a bolhákat sztereomikroszkóp és határozókulcs (Hillyard, 1996; Nosek & Sixl, 1972; Szabó, 1975) segítségével határoztam meg. Megállapítottam a fajt, a stádiumot, illetve adult kullancsok és bolhák esetében a nemet is.

Ebben a dolgozatban a 2010-es, molekuláris módszerekkel is vizsgált kullancsok adatai szerepelnek. Alkalikus hidrolízissel (Guy & Stanek, 1991) vontuk ki a DNS-t a kullancsokból. Az eljárás során először szűrőpapírra helyeztük a kullancsokat, hogy elpárologjon belőlük az alkohol, és a megszívott nőstényeket kettévágtuk. Ezután az egyedeket Eppendorf-csövekbe helyeztük, ahol steril szikével fölvtgtuk őket és 1,25%-os ammónium-hidroxid oldatot öntöttünk hozzájuk. A csöveket ezután 100°C-on melegítettük fél óráig, ezalatt részlegesen bomlottak, és oldatba kerültek a kullancsok DNS-ei és egyéb molekulái. Majd fél óráig melegítettük a csöveket nyitott tetővel is, hogy az ammónium-hidroxid elpárologjon. A DNS mintákat fagyaszttva tároltuk további felhasználásig.

A szövetmintákból egy kereskedelmi forgalomban kapható DNS kivonó kit (QIAamp, QIAGEN, Hilden, Németország), illetve egy részükből módosított Miniprep Express Matrix protokoll (MP Biomedicals, Santa Ana, USA) segítségével vontuk ki a DNS-t.

3.4. PCR, elektroforézis és szekvenálás

A sünről gyűjtött kullancsok DNS-ét maximum 25-ös, a növényzetről gyűjtöttekét maximum 7-es poolokba raktuk össze, melyekbe egy sünről, illetve azonos területről származó, azonos fajú és stádiumú kullancsok kerültek. A polimeráz láncreakcióhoz GoTaq (Promega, Madison, Wiscinson, USA) DNS-polimerázt használtunk (ld 1. táblázat). A szövetmintákat egyesével dolgoztuk fel. A baktériumok OspA génjének egy kb. 250 bázispár hosszúságú szakaszát erősítettük fel BSL primerekkel (59-AATAGGTCTAATAATAGCCTTAATAGC-39, 59-CTAGTGTTTTGCCATCTTCTTTGAAAA-39) (Demaerschalek et al., 1995; Földvári et al., 2005). 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-nukleotidok használatán alapuló Sanger-módszerrel történt (Macrogen, Szöul, Dél-Korea; LGC Genomics, Berlin, Németország).

1. táblázat: A használt PCR reakció összetétele

	Koncentráció	Térfogat
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 és kérdőív

A parazitáltság számszerűsítésére többféle érték is létezik. A prevalencia mutatja meg, hogy a vizsgált gazdaegyedek hány százaléka fertőzött az adott parazitával. Az abundancia megadja az összes vizsgált gazdaegyeden a paraziták számát, az intenzitás pedig csak a parazitáltakon méri ugyanezt. Az átlagos zsúfoltság a paraziták átlagos csoportméretét fejezi ki. Ezeknek a mérőszámoknak és konfidencia intervallumaiknak a kiszámításához a Quantitative Parasitology programcsomagot használtam (Rózsa et al., 2000).

Az adatok kiértékeléséhez az R programot (R Development Core Team, 2006) alkalmaztam. A sünökről gyűjtött kullancsok abundanciájának vizsgálatához negatív binomiális modellt használtam a magas diszperziós paraméter (26,25) miatt. A sünök tömegének, ivarának, a gyűjtés időpontjának és helyének a hatását vizsgáltam az egy sünön található kullancsok 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 sünökről gyűjtött kullancsok prevalenciáját befolyásoló hatások vizsgálatához logisztikus regressziót használtam, mivel a függő változó binomiális volt. Itt is a sünök nemének, tömegének, a gyűjtési területnek és időpontnak a hatását vizsgáltam.

A sünökről és a növényzetről származó kullancsokból kialakított poolok *Borrelia* prevalenciájának vizsgálatához is logisztikus regressziót alkalmaztam, a függő változók a

poolok mérete, a kullancsok faja, neme, illetve stádiuma, a gyűjtés dátuma és, ahol rendelkezésre állt erről adat, ott a hőmérséklet és a páratartalom voltak.

A növényzetről meghatározott ideig gyűjtött kullancsokat, a minták kis száma miatt Fisher-féle egzakt próbával hasonlítottam össze. Khi-négyzet próbát használtam annak megállapítására, hogy a stádiumok aránya eltér-e a sünről, illetve a növényzetről gyűjtött kullancsok között.

Internetes kérdőívet is készítettünk, hogy felmérjük a Margit-szigetre látogatók milyen arányban találkoznak kullanccsal, illetve fertőződnek *Borrelia*-val. Kérdések szerepeltek a kitöltő neméről, koráról, arról, hogy milyen gyakran, milyen célból mennyi időt tölt el a szigeten és hol, látott-e, illetve fertőződött-e kullanccsal, mennyi kullancs van szerinte a szigeten, és arról, hogy fertőződött-e itt ő vagy ismerőse valamilyen kullancs által terjesztett kórokozóval.

4. Eredmények

4.1. A sünökről és a növényzetről gyűjtött ektoparaziták

2011-ben 139 sünről 4308 kullancsot gyűjtöttünk (2. táblázat). A sünök közül 78 nőstény, 61 pedig hím volt. Az egy sünről gyűjtött legtöbb kullancs 238 darab volt. A legtöbb azonos fajba tartozó és azonos stádiumú élősködő egy sünön 175 *I. ricinus* nimfa volt, ezeket áprilisban gyűjtöttük.

2. táblázat: A sünökről gyűjtött kullancsok megoszlása faj, stádium és nem szerint

<i>Ixodes ricinus</i>			<i>Ixodes hexagonus</i>		<i>Ixodes</i> lárva	<i>Haemaphysalis</i> <i>punctata</i> nimfa	Összesen
nőstény	hím	nimfa	nőstény	nimfa			
1147	546	2305	4	83	222	1	4308

A sünök fertőzöttségi adatait a 3. táblázat tartalmazza.

3. táblázat: A sünök fertőzöttsége kullancsokkal

Sünök száma	Prevalencia (%) (95%-os konfidencia intervallum)	Átlagos intenzitás (95%-os konfidencia intervallum)	Medián intenzitás (95%-os konfidencia intervallum)	Átlagos zsúfoltság (95%-os konfidencia intervallum)
139	79,86 (72,36-85,90)	38,81 (32,60-48,42)	25 (19-31)	85,73 (65,91-114,76)

A 2011-ben gyűjtött sünökről 595 bolhát távolítottunk el, melyek mindegyike az *A. erinacei* fajba tartozott (4. táblázat).

4. táblázat: A sünök fertőzöttsége bolhákkal

Fertőzött sünök száma	Bolhák száma	Prevalencia (%) (95%-os konfidencia intervallum)	Átlagos intenzitás (95%-os konfidencia intervallum)	Medián intenzitás (95%-os konfidencia intervallum)	Átlagos zsúfoltság (95%-os konfidencia intervallum)
82	595	58,99 (50,37-66,94)	7,26 (5,94-9,66)	5 (3-7)	16,58 (10,97-30,30)

A növényzetről összesen 1315 kullancsot gyűjtöttünk, 217 nőstényt, 295 hímét, 764 nimfát, illetve 39 lárvát, ezek mindegyike *I. ricinus*-nak bizonyult a határozás során. 2012 májusában gyűjtöttük a legtöbbet, 675-öt. A szisztematikus gyűjtés során, mely az összesnek csak kis részét tette ki, a füves területeken mindössze 4 lárvát és 1 nimfát találtunk, míg a

borostyánosokban változó mennyiségben, de a leghidegebb hónapok és augusztus kivételével mindig találtunk kullancsokat (5. táblázat).

5. táblázat: 2011-12-ben a növényzetről szisztematikusan gyűjtött *Ixodes ricinus*-ok

	Borostyán	Fű
szeptember	2 (1 hím, 1 nimfa)	4 (4 lárva)
október	4 (1 nőstény, 1 hím, 1 nimfa)	0
november-február	0	0
március	2 (1 nőstény, 1 hím)	0
április	29 (3 nőstény, 5 hím, 21 nimfa)	0
május	76 (2 nőstény, 5 hím, 69 nimfa)	0
június	3 (3 nimfa)	0
július	30 (1 hím, 4 nimfa, 25 lárva)	1 (nimfa)
augusztus	0	0
Összesen	146	5

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

A 2010-ben gyűjtött sünökről származó kullancsok közül 972-t választottunk ki, hogy molekuláris módszerekkel megállapítsuk, fertőzöttek-e *Borrelia*-val (6. táblázat). Az egyetlen megszekvenált *I. hexagonus* pool-ban *B. afzelii*-t találtunk.

6. táblázat: A 2010-es sünökről gyűjtött kullancsok fertőzöttsége *Borrelia burgdorferi* s. l.-val

	<i>Ixodes ricinus</i>			<i>Ixodes</i> lárva	<i>Ixodes hexagonus</i>		Összesen
	nőstény	hím	nimfa		nőstény	nimfa	
Megvizsgált egyedek száma	335	156	392	68	1	20	972
Poolok száma	47	38	43	27	1	10	166
Pozitív poolok (minimum prevalencia (%))	34 (10,1)	23 (14,7)	24 (6,1)	5 (7,4)	0 (0)	2 (10)	88 (9,1)

A növényzetről gyűjtött kullancsok közül az összeset feldolgoztuk molekuláris módszerekkel. Ezekből 294 poolt alakítottunk ki, amelyekből 184 lett pozitív *Borrelia*

burgdorferi s. l.-ra. A minimum prevalencia 13,99% volt összesen (7. táblázat). A megszekvenált minták közül 7 *B. afzelii*-nek, 1 *B. garinii*-nek bizonyult, egy mintát pedig, valószínűleg kevert fertőzés miatt, nem tudtunk azonosítani.

7. 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	<i>Ixodes ricinus</i> lárva	Összesen
Megvizsgált egyedek száma	217	295	764	39	1315
Poolok száma	52	71	162	9	294
Pozitív poolok (minimum prevalencia (%))	33 (15,21)	30 (10,17)	116 (15,18)	5(12,82)	184 (13,99)

A szisztematikusan gyűjtött kullancsok (adataik szerepelnek az előző táblázatban) minimum prevalenciája *Borrelia*-ra 15,3% volt. A viszonylag kicsi mintaelemszám miatt nagy különbség volt a stádiumok és a hónapok fertőzöttségi számaiban: a nőstényeknek 28,57%, a hímeknek 7,14%, a májusban gyűjtött kullancsoknak pedig 17,11% volt a minimum prevalenciája, míg júniusban és októberben nem találtunk fertőzött kullancsot.

A sünökből vett szövetminták közül 177-nek vizsgáltuk meg a fertőzöttségét ennek a szakdolgozatnak a keretein belül és ezek 90,4%-a pozitívnak bizonyult. A szövetmintákban detektált *Borrelia* DNS-ekből 129-t szekvenáltattunk meg, 128-ben *B. afzelii*-t, egy mintában pedig *B. spielmanii*-t találtunk.

4.3. Statisztikai elemzés és kérdőív

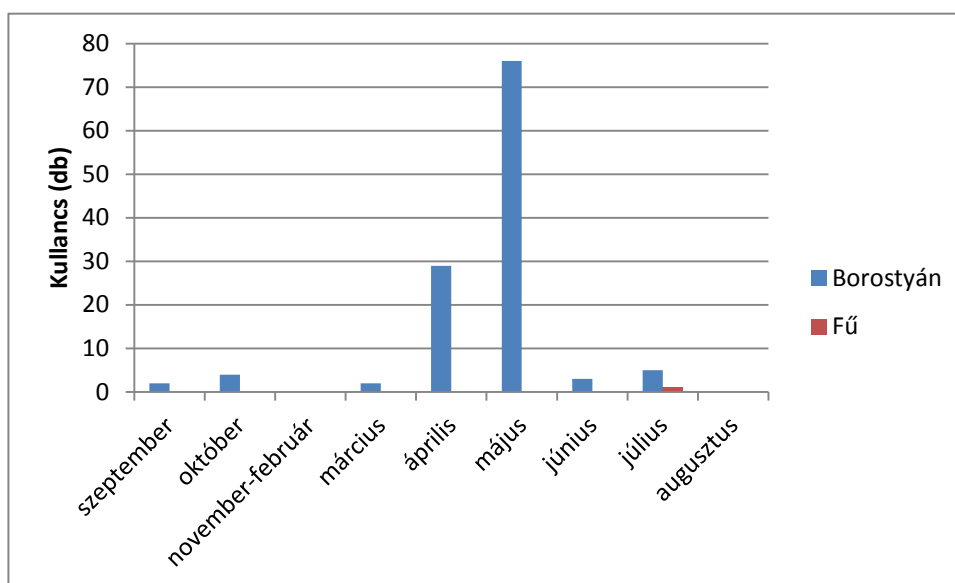
A sünökön az ektoparaziták prevalenciájára a vizsgált magyarázó változók (sүнök neme, tömege, megfogásuk helye, éve és évszaka) közül csak a gyűjtési évnél volt szignifikáns hatása logisztikus regresszióban ($p=0,0412$). Itt csak a 2010-es és 2011-es adatokat tudtam használni az eltérő 2009-es gyűjtési körülmények miatt. Az abundanciát befolyásoló tényezők vizsgálatánál negatív binomiális modellt alkalmaztunk a függő változó ferde eloszlása, illetve a jelentős túlszóródás (diszperziós paraméter: 26,25) miatt. A három évet együtt vizsgálva az évek (2009-hez képest a másik két évnél $p<0,001$) és az évszakok (a tavaszhoz képest a nyár $p<0,001$, az ősz $p=0,01$) hatása is szignifikánsnak bizonyult. A 2010-es és 2011-es adatokat használva, csak az évszakoknak volt statisztikailag értékelhető hatása

(a nyár és az ősz is $p < 0,001$), tavasszal több kullancsot gyűjtöttünk a sünökről, mint nyáron vagy ősszel. Amikor hőmérsékletet és a csapadékot is bevettem a változók közé, a csapadék hatása is szignifikáns lett három és két évet vizsgálva is ($p = 0,03$, illetve $p = 0,01$), a csapadékosabb hónapokban több kullancsot gyűjtöttünk a sünökről.

A sünökről gyűjtött kullancsok *Borrelia* fertőzöttségének vizsgálatakor a poolok méretének ($p < 0,001$) és a lárva stádiumnak ($p = 0,001$) a hatását találtam szignifikánsnak. A modell szerint az egységnyivel nagyobb pool fertőzöttségének esélye 1,13-szorosára nő (konfidencia intervallum (1,06-1,20)), a lárvák fertőzöttsége pedig 0,14-szerese a hímekének (konfidencia intervallum (0,04-0,47)).

A növényzetről begyűjtött kullancsok *Borrelia* fertőzöttségére illesztett modellben csak a poolok mérete és a stádiumok szerepeltek magyarázó változóként, mivel a hónapokat nem vehettük bele az eltérő ráfordítás miatt. Ebben a modellben a nimfák fertőzöttségének esélye 3,06-szorosára ($p < 0,001$, konfidencia intervallum (1,69-5,53)), a nőstényeké 2,43-szorosára ($p = 0,02$, konfidencia intervallum (1,15-5,14)) volt a hímekének, illetve a nagyobb poolok fertőzöttségének esélye 1,3-szorosára nőtt ($p = 0,02$, konfidencia intervallum (1,05-1,60)).

Fisher-féle egzakt teszttel kimutattuk, hogy a szisztematikusan gyűjtött kullancsok száma a füves területeken szignifikánsan magasabb, mint a borostyános részeken ($p < 0,001$) (4. ábra). A sünökről és a növényzetről gyűjtött kullancsok stádiumainak aránya eltért ($p < 0,001$).



4. ábra: a füves illetve a borostyános területen gyűjtött nimfa és adult kullancsok megoszlása havonta (2011 szeptemberétől), a lárvák erősen aggregált eloszlásuk miatt nem szerepelnek az ábrán

A kérdőívünket kitöltő 243 személy közül kettő jelezte, hogy a családtagja vagy ismerőse a szigeten fertőződött Lyme-kórral. 5 emberen (2%) szívott vért kullancs, 87% nem is találkozott kullanccsal, 73% szerint nincs vagy kevés van belőlük a szigeten. A válaszadók 40%-a soha nem lép borostyános részre, 22%-uk pedig csak körülbelül 1 percet tartózkodik ott. Mindössze 18% tölt 4 vagy ennél több percet a borostyánosban. 8% évente egyszer vagy ritkábban, 32,5% hetente jár a Margit-szigeten. A látogatók 90%-a 1 órát vagy többet tölt itt.

5. Eredmények értékelése

A 2011-ben fogott sünökről gyűjtött kullancsfajok megoszlása a 2010-es adatokhoz hasonló volt. Akkor 1496 *I. ricinus* nőtényt, 749 hímet, 2044 nimfát, 4 *I. hexagonus* nőtényt, 53 *I. hexagonus* nimfát és 246 *Ixodes* lárvát azonosítottunk. 2009-ben összesen csak 471 kullancsot távolítottunk el a sünökről, mert ebben az évben még nem altatták el őket (Földvári et al., 2011).

A legnagyobb egyedszámmal az *I. ricinus* szerepelt a mintánkban, mely Európa és Magyarország leggyakoribb kullancsfaja. Sünökön is előforduló faj, de hazánktól nyugatra *E. europeus*-szal végzett felmérések alapján az *I. hexagonus* gyakrabban található meg ezeken az emlősökön. Egy németországi vizsgálatban a sünök 58,5%-át találták fertőzöttnek *I. hexagonus*-szal és 11,1%-t *I. ricinus*-szal. Az *I. hexagonus* prevalenciája legkisebb volt a vidéki területen és nőtt 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). Egy svájci kutatás keretében azonban közel azonos arányban találták meg a két fajt (Gern et al., 1997). A mi vizsgálatunkban egy példányban előkerülő *H. punctata* emberen és sünön is szívhat vért, *Babesia*-fajokat (Hillyard, 1996) és *F. tularensis*-t is terjeszthet (Gyuranecz et al., 2011).

2009-ben 63,6%, 2010-ben 89,9 %-os kullancs prevalenciát állapítottunk meg a Margit-szigeti sünökön (Földvári et al., 2011). A 2010-es értéknél egy kicsit alacsonyabb a 2011-es sünök esetében talált 79,86%-os prevalencia. Egy német állatorvosi klinikákra bevitt sünökön végzett felmérés során 100%-os prevalenciát is találtak kullancsokra (Beichel et al., 1996). Nyugat-európai kutatásokban az *I. hexagonus*-szal kapcsolatban 9 illetve 24 medián intenzitás értékeket találtak (Egli, 2004; Gaglio et al., 2010). Mi szintén magas, 2009-ben 2, illetve a 2010-ben 31 (Földvári et al., 2011), a 2011-es adatokat nézve 25 medián intenzitást mutattunk ki. Noha megfigyeléseink szerint a jelentős mennyiségű vérszívó nem okozott tüneteket, az egy sünön táplálkozó nagyszámú kullancs akár regeneratív anaemiához is vezethet a sünökben (Pfäffle, 2009).

Nem találtunk különbséget az először megfogott, illetve a jelölten visszafogott sünök kullancsokkal való fertőzöttségében. Mivel az egyes mintavételezések között eltelt legalább egy, de akár több hónap, valószínűleg ez elég volt az újrafertőződésükhöz. A sünökön a kullancsok prevalenciájára csak az évnek volt szignifikáns hatása (a 2010-es és 2011-es adatok között), míg az abundanciát az évszakok hatása befolyásolta. Valószínűleg a csapadék volt az évszakok hatásában a legfontosabb tényező. Tavasszal voltak a legfertőzöttebbek a sünök.

A növényzetről gyűjtött 1467 kullancs mind *I. ricinus* volt. Itt is nimfából gyűjtöttünk a legtöbbet, de a sünökről gyűjtött élősködőkkel ellentétben valamivel több hímeket találtunk, mint nőstényt. A lárvák előfordulása magas aggregálságuk miatt nagyon változó volt. Bár a ráfordítás havonta különbözött, mindkét gyűjtési évben kiemelkedő számú kullancsot gyűjtöttünk tavasszal (677-et illetve 713-at). Egy Magyarországon, három évig végzett felmérésben hasonló mintázatot találtak egy nagyobb aktivitási csúccsal tavasszal-kora nyáron és egy kisebbel ősszel (Egyed et al., 2012). Ez a tendencia látszik a szisztematikusan gyűjtött kullancsok között is. Ez utóbbiakat vizsgálva szignifikánsan több kullancsot találtunk a borostyános területen, mint a fűvön. A szigeten a fűvet rövidre nyírják, így a locsolás ellenére sem kedvező a páratartalom a gazdát kereső kullancsok számára.

2009-ben 78, 2010-ben 707 bolhát gyűjtöttünk a sünökről, melyeknek túlnyomó többsége *A. erinacei*-nek bizonyult a határozás során, de azonosítottunk, két *C. canis*-t is. A 2011-ben talált bolhák száma (595) itt is valamivel alacsonyabb volt a 2010-esnél, csakúgy, mint a kullancsok esetében. 2009-ben 26,27%-os, 2010-ben 72,66%-os prevalenciát állapítottunk meg a bolhákra, 2009-ben 1, 2010-ben 4 volt a medián intenzitás (Jablonszky, 2011). Az azonos módszerrel kapott 2010-es értékek egybecsengenek a 2011-ben gyűjtött bolhánál tapasztalt 58,99%-os prevalenciával és 5 medián intenzitással. A már említett németországi kutatásban 43,7%-os prevalenciával és 6,5 átlagintenzitással találták meg az *A. erinacei*-t sünökön (Egli, 2004). Valószínűleg 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, elsősorban kutyákon élősködik, 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 2009-ben sünökről leszedett *I. ricinus* nőstényekben és nimfákban a 10%, illetve a hímekben a 20% fölöttinek talált minimum prevalencia (Jablonszky, 2011) a sünöknek e baktériumok életciklusában betöltött fontos szerepére utal. 2010-ben, feltehetőleg a nagyobb poolok miatt, valamivel alacsonyabb minimum prevalenciákat kaptunk a kullancsokat vizsgálva. Ezt bizonyítja az is, hogy a logisztikus modellben szignifikáns lett a pool méret változó: a nagyobb poolok szignifikánsan nagyobb eséllyel lettek pozitívak. A lárva stádium hatása is szignifikáns lett, kevesebb lárva volt fertőzött, aminek oka lehet, hogy a *B. burgdorferi* s. l. kis hatékonysággal terjed transzovariálisan.

Németországban és Angliában nyugati sünről gyűjtött 516 *I. ricinus* és 767 *I. hexagonus* *Borrelia*-fertőzöttségét vizsgálták meg. *I. ricinus* nőstényekben 8,9%-os, nimfákban 67,7%-os, lárvákban 57,9%-os prevalenciát találtak. *I. hexagonus*-ok között is azonosítottak pozitívakat: a nőstények 1,5%-át, illetve a nimfák 1,1%-át, de ezek mind Németországból származtak (Skuballa et al., 2012).

Egy kutatás során Litvániában 13,3%-os, Norvégiában 5,2%-os prevalenciát találtak *B. burgdorferi* s. l.-ra a növényzetről gyűjtött kullancsokban, a legfertőzöttebbek a lombhullató, illetve vegyes erdei élőhelyek voltak (Paulauskas et al., 2008). Mi 13,99%-os minimum prevalenciát találtunk. Ez egy nagyságrenddel magasabb egy másik magyarországi vizsgálatban talált 2,5%-os minimum prevalenciánál (Egyed et al., 2012). Egy vizsgálatban 1995 és 1998 között 9,2-2,8%-os prevalenciát találtak *Borrelia*-ra egy prágai városi parkban. A *B. garinii*/ *B. afzelii* arány 1,4:1 volt (Bašta et al., 1999). Finnországban is végeztek felmérést a városi parkokban, illetve Németországban városi, illetve külvárosi élőhelyeken élő kullancsok *Borrelia burgdorferi* s. l.-val való fertőzöttségével kapcsolatban. Az előbbi országban 17,9%, az utóbbiban átlagosan 32%-os prevalenciát találtak. Megjegyzendő, hogy az egyes vizsgálatok során alkalmazott molekuláris módszerek érzékenységbeli eltérése is okozhat jelentős különbségeket. Mindkét fenti vizsgálatban a *B. afzelii*-t volt a domináns (Maetzel et al., 2005, Junttila et al., 1999). Ezt a fajt azonosítottuk mi is a legnagyobb arányban a sünökről gyűjtött kullancsokban és a szövetmintákban is, sőt a Margit-szigeten összegyűjtött kullancsokban előző szakdolgozatom keretében csak ezt a fajt találtuk meg (Jablonszky, 2011), bár később azonosítottunk egy *B. garinii*-t is. A *B. afzelii* Európában az egyik legelterjedtebb *Borrelia*-faj, ez az emberi megbetegedések egyik leggyakoribb okozója is. *B. burgdorferi* s. s.-val és *B. garinii*-vel együtt már korábban kimutatták sünökből (Gern et al., 1997).

A növényzetről gyűjtött kullancsok *Borrelia* fertőzöttségére illesztett modellben is függött a poolok méretétől a fertőzöttség, csakúgy, mint a sünökről gyűjtöttek között, de itt a nőstény és nimfa stádiumok szignifikánsan nagyobb eséllyel voltak fertőzöttek, mint a hímek. Ez az eredmény nem meglepő, mivel a nimfák és a nőstények hosszabb ideig szívnak vért (Hillyard, 1996).

A sünök *B. burgdorferi* s. l. fenntartásában betöltött fontos szerepére utal, hogy a megvizsgált sün szövetminták 90,4%-a pozitív volt *Borrelia burgdorferi* s. l.-ra. Előző szakdolgozatom keretében 50 szövetmintát dolgoztunk fel, melyek mindegyike pozitívnak bizonyult, és a megszekvenált minták között 12 *B. afzelii*-t azonosítottunk (Jablonszky, 2011). Tehát sünök 92,5%-a (210/227) bizonyult *Borrelia*-pozitívnak, ha az egész vizsgálatunkat

együtt nézzük, amely nemzetközi összehasonlításban is igen magas arány. Egy Közép- és Nyugat-Európa több országát érintő vizsgálatban 4 ausztriai *E. roumanicus* 50%-a bizonyult fertőzöttnek *Borrelia*-val, viszont az azonos fajba tartozó 6 cseh sün közül egyik sem. Az ugyanebben a kutatásban megvizsgált 259 *E. europeus* esetében 13,5%-os *Borrelia* prevalenciát találtak. A két fertőzött keleti sün mintájában *B. afzelii*-t, illetve *B. bavariensis*-t azonosítottak (Skuballa et al., 2012). Mi a genotipizálás során döntően *B. afzelii*-t, valamint egy *B. spielmanii*-t azonosítottunk. Mivel mindkét faj képes emberben Lyme-borreliosiszt okozni, további vizsgálatokat folytattunk a humán fertőződés esélyének megbecslésére.

243 személy töltötte ki a kérdőívünket, statisztikai próbákat nem végeztünk el rá az egyöntetű eredmények miatt. Általánosságban elmondható, hogy kevesen fertőződnek Lyme kórral és a kullancsal találkozik (13%) és fertőződik aránya (2%) is kicsi. Ennek lehet az a magyarázata, hogy az általunk megvizsgált kullancsok *Borrelia* fertőzöttsége elég magas volt, de ezek túlnyomó részét a borostyános helyeken gyűjtöttük, ahol az emberek nem, vagy csak keveset tartózkodnak.

A sünökön talált magas kullancs prevalencia és intenzitás, illetve a viszonylag magas *Borrelia* prevalencia mind a sünökben, mind a róluk gyűjtött kullancsokban arra utal, hogy a sünök jelentős fenntartói mind a kullancsoknak, mind a *B. burgdorferi* s. l.-nak a Margitszigeten. A sünök városiasodott életmódjukból kifolyólag gyakran kerülnek kapcsolatba emberekkel, így potenciálisan átadhatják nekik a fertőzött kullancsokat. A legegyszerűbb és talán a leghatékonyabb védekezés ez ellen az, ha sosem hanyagoljuk el magunk és háziállataink átvizsgálását és a kullancsok eltávolítását szabadban való tartózkodás után.

6. Összefoglalás

A Lyme-kórt okozó *Borrelia burgdorferi* sensu lato baktériumok életciklusában részt vevő fajokról és ezek jelentőségéről máig sem teljesek az ismereteink. Jelen vizsgálatban, mely egy nagyobb, három évet felölelő felmérés része volt, a Margit-szigeten élő sünöknek, ezek kullancsainak, illetve a sziget növényzetéről gyűjtött kullancsoknak a *Borrelia*-fertőzöttségéről gyűjtöttünk adatokat, illetve megkíséreltük felmérni ennek humán-egészségügyi jelentőségét is.

2011 márciusától novemberéig havonta gyűjtöttünk sünöket, morfológiai adatokat, szövetmintát és ektoparazitákat gyűjtöttünk róluk. A kullancsokat és a bolhákat meghatároztuk. A 2010-es sünökről és a növényzetről származó kullancsok egy részéből és a szövetmintákból kivontuk a DNS-t, és specifikus PCR segítségével detektáltuk a *Borrelia* fertőzést. A pontos baktériumfajt szekvenálással állapítottuk meg. A növényzetről 2011 áprilisa és 2012 augusztusa között zászlózással gyűjtöttünk kullancsokat. Internetes kérdőívet készítettünk, hogy felmérjük, a Margit-szigetre látogatók mekkora része találkozik kullanccsal, illetve fertőződik *Borrelia*-val.

A sünökről 4308 kullancsot gyűjtöttünk össze, 3998 *Ixodes ricinus*-t, 87 *Ixodes hexagonus*-t, 222 *Ixodes* lárvát és egy *Haemaphysalis punctata*-t. A bolhák esetében 585 *Archeopsylla erinacei*-t azonosítottunk. A kullancsok prevalenciája a sünökön 79,86%, a bolháké 58,99%, medián intenzitásuk 25, illetve 5 egyed volt. A növényzetről 1315 *I. ricinus*-t szedtünk össze. A sünökről gyűjtött kullancsokban 9,1%, a növényzetről gyűjtöttekben 13,99% minimum prevalenciát, a sün szövetmintákban 90,4% prevalenciát találtunk. A megszekvenált minták nagy része *Borrelia afzelii*-nek bizonyult, de a növényzetről gyűjtött kullancsok között egy *Borrelia garinii*, a sün szövetmintákban pedig egy *Borrelia spielmanii* fertőzést is találtunk. Statisztikai elemzésünk alapján a sünök kullancs-prevalenciájában az évek között, abundanciában az évszakok között volt szignifikáns különbség. A növényzetről, illetve a sünökről gyűjtött kullancsok *Borrelia*-fertőzöttségére illesztett modellben is szignifikáns volt a hatása a poolok méretének. A borostyánról szignifikánsan több kullancsot gyűjtöttünk, mint füves területről. Kérdőívünket 243 személy töltötte ki, 2%-uk fertőződött kullanccsal a Margit-szigeten.

A sünökben és kullancsaikban talált magas *Borrelia*-prevalencia a sünök fontos rezervoár szerepére utal a baktériumok életciklusában. A növényzetről gyűjtött kullancsok nagy *Borrelia*-prevalenciája ellenére sem fertőződnek sokan a szigeten Lyme-kórral, ennek

oka lehet, hogy az emberek nem, vagy csak rövid ideig tartózkodnak a bokros, borostyános részeken, ahol a fertőzött kullancsok nagy része található.

7. Summary

Our knowledge about the species participating in the life cycle of *Borrelia burgdorferi* sensu lato bacteria, which cause the Lyme disease, is not complete. In this study, which was a part of a greater, three-year examination, we collected data about the *Borrelia* infection in the hedgehogs, in their ticks and in the ticks from the vegetation on Margaret Island and tried to assess the human health risk of the infection.

We collected hedgehogs from March to November in 2011 monthly, and morphological data, tissue sample and ectoparasites were collected from them. The ticks and the fleas were identified. DNA was extracted from a subset of the ticks collected from the 2010 hedgehogs and from the vegetation and from all tissue samples, and the *Borrelia* infection was investigated with the help of polymerase chain reaction. The exact species was determined by sequencing. Questing ticks were collected by flagging between April 2011 and August 2012. We tried to assess with an on-line questionnaire how many people meet ticks and get infected with *Borrelia* on the Margaret Island.

In total, 4308 ticks, 3998 *Ixodes ricinus*, 87 *Ixodes hexagonus*, 222 *Ixodes* larvae and 1 *Haemaphysalis punctata* were collected from the hedgehogs. Among the fleas 585 *Archeopsylla erinacei* were identified. 1315 *Ixodes ricinus* were flagged from the vegetation. The prevalence of the ticks on the hedgehogs was 79.86%, that of the fleas 58.99%, the median intensity was 25 and 5, respectively. The minimum *Borrelia* prevalence was 9.1% in ticks from the hedgehogs and 13.99% in questing ticks, and 90.4% prevalence was found in hedgehog tissue samples. The most part of the sequenced samples proved to be *Borrelia afzelii*, but one sample from the vegetation had *Borrelia garinii* and one hedgehog tissue sample had *Borrelia spielmanii*. In our statistical analysis there was significant difference between years in the prevalence of ticks on hedgehog and between seasons in the abundance. In both models fitted for the *Borrelia* prevalence in ticks from hedgehogs and from the vegetation the effect of the pool size was significant. 243 people filled our questionnaire, 2% of them got infected with ticks on the Margaret Island.

The high prevalence of *Borrelia* in the hedgehogs and their ticks suggests the important reservoir role of hedgehogs in the life-cycle of these bacteria. Despite the high prevalence of *Borrelia* in questing ticks, few people get infected with Lyme disease on the island, probably due to the short time, that people spend on the bushy parts, where most of the infected ticks live.

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 dr. Ronkayné dr. 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.

Munkámat a TÁMOP 4.2.2.B-10/1-2010-0011 „A tehetséggondozás és a kutatóképzés komplex rendszerének fejlesztése a Szent István Egyetemen” és a SZIE-ÁOTK NKB pályázatok támogatták. Vizsgálatainkat a Közép- Duna- Völgyi Környezetvédelmi, Természetvédelmi és Vízügyi Felügyelőség engedélyével végeztük.

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

9. Irodalomjegyzék

- 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.
- 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 sün. in: Bihari Z., Csorba G. és Heltai, M. (szerk.): Magyarország emlőseinek atlasza. p. 50-51.
- Bogdanov, A. S., Bannikova, A. A., Pirusskii, Y. M., Formozov, N. A. (2009): The first genetic evidence of hybridization between west european and northern white-breasted hedgehogs (*Erinaceus europeus* and *Erinaceus roumanicus*) in Moscow region. *Biology Bulletin*, 36 (6), p. 647-651.
- Bowman, A. S., Ball, A., Sauer, J., R. (2008): Tick salivary glands: the physiology of tick water balance and their role in pathogen trafficking and transmission. In: *Ticks Biology, Disease and controll*. Ed. Bowman, A. S., Nuttall, P. A. New York: Cambridge University Press. p. 73-91.
- 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.
- Cieniuch, S., Stańczak, J., Ruzcaj, A. (2009): The first detection of *Babesia* EU1 and *Babesia canis canis* in *Ixodes ricinus* ticks (Acari, Ixodidae) collected in urban and rural areas in Northern Poland. *Polish Journal of Microbiology*, 58 (3), p. 231-236.
- 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.
- Demaerschalck, I., Benmessaoud, A., Dekesel, 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, p. 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 europaeus*: Implications for conservation. Diplomamunka, Berni Egyetem.
- Egyed L., Élő P., Sréter-Lancz Zs., Széll Z., Balogh Zs., Sréter T. (2012): Seasonal activity and tick-borne pathogen infection rates of *Ixodes ricinus* ticks in Hungary. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 3 (2), p. 90-94.
- Földvári, G., Farkas, R., Lakos, A. (2005): *Borrelia spielmanii* erythema migrans, Hungary. *Emerging Infectious Diseases*, 11, p. 1794–1795.
- Földvári G., Rigó K., Lakos A. (2013): Transmission of *Rickettsia slovaca* and *Rickettsia raoultii* by male *Dermacentor marginatus* and *Dermacentor reticulatus* ticks to humans. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, in press.
- Földvári G., Rigó K., Jablonszky M., Bíró N., Majoros G., Molnár V., Tóth M. (2011): Ticks and the city: ectoparasites of the Northern white-breasted hedgehog (*Erinaceus roumanicus*) in an urban park. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 2 (4), p. 231-234.
- Földvári G., Rigó K., Majláthová, V., Majláth, I., Farkas R., Pet'ko, B. (2009) Detection of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in lizards and their ticks from Hungary. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 9, p. 331-336.
- 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.

Gaglio, G., Allen, S., Bowden, L., Bryant, M., Morgan, E. R. (2010): Parasites of European hedgehog (*Erinaceus europaeus*) in Britain: epidemiological study and coprological test evaluation. *European Journal of Wildlife Research*, 56, p. 839-844.

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.

Gresiková, M., Kaluzová, M. (1997): The biology of tick-borne encephalitis virus. *Acta Virologica*, 41 (2), p. 115-24.

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, p. 610–611.

Gyuranecz M., Dénes B., Dán Á., Rigó K., Földvári G., Szeredi L., Fodor L., Sallós A., Jánosi K., Erdélyi K., Krisztalovics K., Makrai L. (2010): Susceptibility of the common hamster (*Cricetus cricetus*) to *Francisella tularensis* and its effect on the epizootiology of tularemia in an area where both are endemic. *Journal of Wildlife Diseases*, 46 (4), p. 1316-1320.

Gyuranecz M., Rigó K., Dán Á., Földvári G., Makrai L., Dénes B., Fodor L., Majoros G., Tirják L., Erdélyi K. (2011): Investigation of the ecology of *Francisella tularensis* during an inter-epizootic period. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 11 (8), p. 1031-1035.

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.
- Humair, P., Gern, L. (1998): Relationship between *Borrelia burgdorferi* sensu lato species, red squirrel (*Sciurus vulgaris*) and *Ixodes ricinus* in enzootic areas in Switzerland. *Acta Tropica*, 69, p. 213-227.
- Humair, P., Postic, D., Wallich, R., Gern, L. (1998): An avian reservoir (*Turdus merula*) of the Lyme borreliosis spirochetes. *Zentralblatt für Bakteriologie*, 287 (4), p. 521-38.
- 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.
- Jablonszky M. (2011): A margit-szigeti sünök és kullancsaik szerepe a *Borrelia burgdorferi* sensu lato baktériumok fenntartásában. BSc szakdolgozat, Szent István Egyetem, Állatorvostudományi Kar, Budapest.
- 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*, 37 (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*, 97 (3), p. 317-319.
- Kurtenbach, K., Carey, D., Hoodless, A. N., Nuttall, P. A., Randolph, S. E. (1998): Competence of pheasants as reservoirs for Lyme disease spirochetes. *Journal of Medical Entomology*, 35 (1), p. 77-81.
- Kurtenbach, K., Hanincová, K., Tsao, J. I., Margos, G., Fish, D., Ogden, N. H. (2006): Fundamental processes in the evolutionary ecology of Lyme borreliosis. *Nature Reviews Microbiology*, 4, p. 660-669.
- Kurtenbach, K., De Michelis, S., Etti, S., Schäfer, S. M., Sewell, H. S., Brade, V., Kraiczy, P. (2002): Host association of *Borrelia burgdorferi* sensu lato--the key role of host complement. *Trends in Microbiology*, 10 (2), p. 74-9.

- Labuda, M., Nuttall, P. A. (2008): Viruses transmitted by ticks. In: Ticks Biology, Disease and controll. Ed. Bowman, A. S., Nuttall, P. A. New York: Cambridge University Press. p. 253-280.
- Lakos, A. (2002): Tick-borne lymphadenopathy (TIBOLA). *Wiener 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., Kőrösi Á., Földvári G. (2012): Contact with horses is a risk factor for tick-borne lymphadenopathy (TIBOLA): a case control study. *Wiener Klinische Wochenschrift*, 124 (17-18), p. 611-617.
- Leboulle, G., Rochez, C., Louahed, J., Rutti, B., Brossard, M., Bollen, A., Godfroid, E. (2002): Isolation of *Ixodes ricinus* salivary gland mRNA encoding factors induced during blood feeding. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 66 (3), p. 225-233.
- 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, p. 5-12.
- Majláthová, V., Majláth, I., Derdáková, M., Víchová B., Peťko, B. (2006): *Borrelia lusitaniae* and green lizards (*Lacerta viridis*), Karst Region, Slovakia. *Emerging Infectious Diseases*, 12, p. 1895–1901.
- Mans, B. J., de Klerk, D., Pienaar, R., Latif, A. A. (2011): *Nuttalliella namaqua*: a living fossil and closest relative to the ancestral tick lineage: implications for the evolution of blood-feeding in ticks. *PLoS ONE*, 6 (8), e23675.
- 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., Vollmer, S. A., Cornet, M., Garnier, M., Fingerle, V., Wilske, B., Bormane, A., Vitorino, L., Collares-Pereira, M., Drancourt, M., Kurtenbach, K. (2009): A new *Borrelia* species defined by multilocus sequence analysis of housekeeping genes. *Appl Environ Microbiol.*, 75 (16), p. 5410-6.

Matuschka, F. R., Schinkel, T. W., Klug, B., Spielman, A., Richter, D. (2000). Relative incompetence of European rabbits for Lyme disease spirochaetes. *Parasitology*, 121, p. 297–302.

Michalik, J., Wodecka, B., Skoracki, M., Sikora, B., Stańczak, J. (2008): Prevalence of avian-associated *Borrelia burgdorferi* s.l. genospecies in *Ixodes ricinus* ticks collected from blackbirds (*Turdus merula*) and songthrushes (*T. philomelos*). *International Journal of Medical Microbiology*, 298 S1, p. 129-138.

Nosek, J., Sixl, W. (1972): Central-European Ticks (Ixodoidea). Key for determination. – *Jahrbuch der naturwissenschaftlichen Abteilung Joanneum*: 1/2: 61–92.

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 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.

Piesman, J., Gern, L. (2008): Lyme borreliosis in Europe and North America. In: *Ticks Biology, Disease and control*. Ed. Bowman, A. S., Nuttall, P. A. New York: Cambridge University Press. p. 220-252.

Ramamoorthi, N., Narasimhan, S., Pal, U., Bao, F., Yang, X. F., Fish, D., Anguita, J., Norgard, M. V., Kantor, F. S., Anderson J. F., Koski, R. A., Fikrig, E. (2005): The Lyme diseases agent exploits a tick protein to infect the mammalian host. *Nature*, 436, p. 573-577.

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.

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>.

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*, 8, (12), p. 1421-1425.

Richter, D., Schlee, D. B., Allgöwer, R., Matuschka, F. (2004): Relationships of a novel Lyme diseases spirochete, *Borrelia spielmani* sp. nov., with its hosts in Central Europe. *Applied and Environmental Microbiology*, Nov., p. 6414-6419.

Richter, D., Schlee, D. B., Matuschka, F. (2011): Reservoir competence of various rodents for the Lyme disease spirochete *Borrelia spielmanii*. *Applied and Environmental Microbiology*, June 2011, p. 3565-3570.

Riley, P. Y., Chomel, B. B. (2005): Hedgehog Zoonoses. *Emerging Infectious Diseases*, 11 (1), p. 1-5.

Rigó K., Majoros G., Jablonszky M., Molnár V., Tóth M., Földvári G. (2012): A sünök ektoparazitái és a sünökből kimutatott zoonotikus kórokozók. *Magyar Állatorvosok Lapja* 134, p. 353-360.

Rózsa L. (2005): Élősködés: az állati és emberi fejlődés motorja. Budapest: Medicina. p. 318.

Rózsa L., Reiczigel J., Majoros G.: (2000): Quantifying parasites in samples of hosts. *Journal of Parasitology*, 86, p. 228-232.

Rudenko, N., Golovchenko, M., Grubhoffer, L., Oliver, J. H. (2011): *Borrelia carolinensis* sp. nov., a novel species of the *Borrelia burgdorferi* sensu lato complex isolated from rodents and a tick from the south-eastern USA. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 61, p. 381-383.

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.

- 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.
- Silaghi, C., Skuballa, J., Thiel, C., Pfister, K., Petney, T., Pfäffle, M., Taraschewski, H., Passos, L. M. F. (2012): The European hedgehog (*Erinaceus europaeus*) – A suitable reservoir for variants of *Anaplasma phagocytophilum*? *Ticks and Tick-borne Diseases*, 3 (1), p. 49-54.
- 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., Petney, T., Pfäffle, M., Oehme, R., Hartelt, K., Fingerle, V., Kimmig, P., Taraschewski, H. (2012): Occurrence of different *Borrelia burgdorferi* sensu lato genospecies including *B. afzelii*, *B. bavariensis* and *B. spielmanii* in hedgehogs (*Erinaceus* spp.) in Europe. *Ticks and Tick-borne Diseases*, febr, 3 (1), p. 8-13.
- Sommer, R. S. (2007): When east met west: the sub-fossil footprints of the west European hedgehog and the northern white-breasted hedgehog during the Late Quaternary in Europe. *Journal of Zoology*, 273, p. 82-89.
- 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.
- Szabó I. (1975): Bolhák - Siphonaptera. Fauna Hungariae, Budapest, Akadémiai Kiadó.
- 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.

Výrosteková, V., Guryčová, D., Kocianová, E., Řeháček, J., Stanek, G. (2002): Tick synusia and persistence of natural foci of tularemia in endemic region of central Europe. *International Journal of Medical Microbiology*, 291, suppl. 33, 232.

Zöldi, V., Juhász, A., Nagy, Cs., Papp, Z., Egyed, L. (2013): Tick-borne encephalitis and Lyme disease in Hungary – The epidemiological situation between 1998 and 2008. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 13 (4), p. 256-265.