

ÁLLATORVOSTUDOMÁNYI EGYETEM
PARAZITOLÓGIAI ÉS ÁLLATTANI TANSZÉK



Galambbélősködők molekuláris járványtani vizsgálata

Készítette:

Sipos Gábor

V. évf. ao. hallgató

Témavezető:

Dr. Hornok Sándor

ÁTE, Parazitológiai és Állattani Tanszék

Budapest

2023

Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke.....	4
1. Bevezetés	5
2. Irodalmi áttekintés	6
2.1. Galambfélék (Columbidae) tartása	6
2.2. Galambfélék külső élősködői Európában és Magyarországon.....	8
2.3. Galambfélék külső élősködői által terjesztett kórokozók	10
2.4. Galambfélék egyszéjtű élősködői Európában és Magyarországon	11
3. Célkitűzések	13
4. Anyag és módszer.....	14
4.1. Mintagyűjtés	14
4.1.1. <i>Dermanyssus gallinae</i> , <i>Ornithonyssus sylviarum</i>	14
4.1.2. <i>Trichomonas gallinae</i>	15
4.2. DNS kivonás.....	15
4.2.1. <i>Dermanyssus gallinae</i> , <i>Ornithonyssus sylviarum</i>	15
4.2.2. <i>Trichomonas gallinae</i>	16
4.3. Konvencionális PCR-ek	16
4.3.1. <i>Dermanyssus gallinae</i> , <i>Ornithonyssus sylviarum</i>	16
4.3.2. <i>Trichomonas gallinae</i>	16
5. Szekvenálás és filogenetikai vizsgálat.....	18
5.1. <i>Dermanyssus gallinae</i> , <i>Ornithonyssus sylviarum</i>	18
5.2. <i>Trichomonas gallinae</i>	18
6. Eredmények.....	19
6.1. A madártetűatka (<i>Dermanyssus gallinae</i>) morfológiai és molekuláris-filogenetikai vizsgálata.....	19
6.2. Az északi madártetűatka (<i>Ornithonyssus sylviarum</i>) morfológiai és molekuláris-filogenetikai vizsgálata	22
6.3. A <i>Trichomonas gallinae</i> molekuláris-filogenetikai vizsgálata.....	23

7.	Következtetések.....	29
7.1.	<i>Dermanyssus gallinae, Ornithonyssus sylviarum</i>	29
7.2.	<i>Trichomonas gallinae</i>	31
8.	Összefoglalás.....	34
9.	Summary.....	35
10.	Irodalomjegyzék.....	36
11.	Köszönetnyilvánítás.....	41
	Témavezetői nyilatkozat.....	42

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

AS	Anal shield
Cox1	Cytochrome c oxidase subunit I
<i>C. palumbus</i>	<i>Columba palumbus</i>
<i>D. gallinae</i>	<i>Dermanyssus gallinae</i>
DS	Dorsal shield
GVS	Genitoventral shield
<i>O. sylviarum</i>	<i>Ornithonyssus sylviarum</i>
<i>S. decaocto</i>	<i>Streptopelia decaocto</i>
<i>S. risoria</i>	<i>Streptopelia risoria</i>
SS	Sternal shield
<i>T. gallinae</i>	<i>Trichomonas gallinae</i>

1. BEVEZETÉS

TDK dolgozatom két kutatásra épül. Az első a galambok két talán legfontosabb, legnagyobb károkat okozó külső élősködőjét, a második pedig a galambfélék egysejtű parazitáit vizsgálja.

A kutatás célja Magyarország különböző országrészeiben, két lakóházban és két versenygalamb dúcban gyűjtött dermanyssoid atkák elemzése volt, molekuláris-filogenetikai módszerekkel. A *Dermanyssoidea*-k közül a madártetű atkát (*Dermanyssus gallinae*) és az északi szárnyasatkát (*Ornithonyssus sylviarum*) tartják a baromfiipar által elszenvedett nagy gazdasági veszteségek okozójának a Holarctic régióban. Az *Ornithonyssus sylviarum* által okozott parazitás fertőzöttség Észak-Amerikában, a *Dermanyssus gallinae* okozta bántalom Európában bír nagyobb jelentőséggel. Mindkét fajnak rövid az élelciklusa (ezáltal lehetővé válik a tömeges fertőzések gyors kialakulása), széles gazdakörrel rendelkeznek, a szinantrop fajok, azaz az ember közelében élnek, illetve képesek az emberek megharapására.

A másik kutatás során a galambok esetében legnagyobb jelentőséggel bíró, egysejtű élősködőt a *Trichomonas gallinae*-t vizsgáltuk, molekuláris-filogenetikai módszerekkel. A *Trichomonas gallinae* egy földrajzilag széleskörben elterjedt, columbiform és más madárfajokat károsító ostoros egysejtű parazita. Míg Nyugat-, Közép- és Dél-Európából számos tanulmány áll rendelkezésünkre az előfordulásáról és molekuláris tulajdonságairól, addig Magyarországon, Romániában és a délkelet-európai régióban nem állnak rendelkezésre hasonló adatok. Ezen adathiány kompenzálására garat tamponmintákat gyűjtöttünk, majd elemeztünk a *T. gallinae* jelenlétének kimutatására alkalmas molekuláris módszerekkel. Kilencvenkilenc columbiform madárból származtak a mintáink, köztük 76 házigalambból (*Columba livia var. domestica*: 42 versenygalamb, 32 városi galamb és 2 elvadult házigalamb), 4 örvös galambból (*C. palumbus*), 16 kacagó gerléből (*Streptopelia risoria*) és három balkáni gerléből (*S. decaocto*).

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. Galambfélék (Columbidae) tartása

A ma élő galambfélék egy ősrre eredeztethetők vissza, amely nem más, mint a szirti galamb (*Columba livia*). A galamb volt az első madár mely az évezredek során háziasításra került. Kezdetben feltehetőleg csak a vadon élő galambokat fogták el, illetve fogyasztották őket húsup miatt. Ez időszámításunk előtt 10 000 körüli időszakra tehető. Megközelítőleg 7000 évvel később, időszámításunk előtt 3000 táján kezdték el őket fogságban tenyészteni. Azóta a tenyésztői munka gyümölcseként több, mint 300 galambfajta (*Columba livia domestica*) került kitenyésztésre. Ezek különböző hasznosítási csoportokba sorolhatók. Vannak haszongalambok, röpgalambok illetve díszgalambok.

A haszongalambokat hústermelésre használják, kitenyésztésük során a legfőbb szempontok a takarmányhasznosító készség, gyors növekedés, jó fiókanevelő készség voltak. A galambhús nagyon egészséges, alacsony koleszterin és zsír tartalmú húsféle. 50-60 évvel ezelőtt a falvakban, tanyákon szinte minden háznál tartottak galambokat, rendszeresen fogyasztottak galambhúst, gyógyító hatást tulajdonítottak neki, a betegeknek gyakran készítették galambból készült húslevest. Napjainkban a galambhús fogyasztás nagyon visszaszorult. Ennek fellendítésére 2019-ben Európai Unió támogatással elindították Magyarországon a Nemzeti Húsgalamb programot, amely célja az országban számos tenyésztelep létrehozása, a galambhús termelés megnövelése. Eredményeként egyre több étterem, köztük több Michelin csillaggal rendelkező kínál galambhúsból készült fogásokat.

A röpgalambokon belül elkülönítjük a postagalambokat, keringő-, bukó-, illetve pergőgalambokat. A postagalambok páratlan tájékozódó készségükről híresek, sok esetben több száz, sőt, néhány ezer kilométerről is hazatalálnak. Erre a tulajdonságukra alapozva jött létre a postagalambászat. Régen mikor még telefon sem volt, az üzenetek eljuttatása igen időigényesnek bizonyult. Ekkor rájöttek, hogy a leggyorsabb módja az üzenetküldésnek a galambok lábára erősített, írott cetlivel történhet. Ezt nemcsak magánszemélyek használták ki, hanem a háborúk során is rengeteg üzenetet továbbítottak postagalambokkal. Mára ezt az üzenetküldési formát felváltották a telefon illetve az internet által nyújtott lehetőségek, viszont a postagalambászat fennmaradt és átalakult. A tenyésztők versenyeken mérik fel galambjaik teljesítményét, mely lényege, hogy a tenyésztők galambjait összegyűjtik, és egy meghatározott távolságban elengedik őket. A

győztes az a galamb lesz, amely leghamarabb hazaér. Vannak sprintversenyek melyek során nem hosszú a röptetett távolság, hanem a sebesség a lényeg. Ezen kívül vannak a hosszú távú versenyek ahol a galambok kitartása, szívóssága a döntő tényező, mivel ezeken a megmérettetéseken több száz kilométert kell megtenniük, hogy hazaérjenek. A világ legdrágább galambjai mind a postagalambok közül kerülnek ki, több száz millió forint értékű összegekért cserélnek gazdát.

A keringő galambok nem a hosszú távok megtételéről híresek, hanem arról, hogy miután felszálltak és ideális magasságba értek elkezdnek köröket leírni a levegőben, ezt sokszor több órán keresztül.

A bukó és pergő galambok, mint nevük is árulkodik róla, a levegőben akrobatikus mutatványokat visznek végbe, bukfenceznek, pörögnek, forognak. Ezen fajták versenyztetése során ezeket az elemeket méri össze.

A legtöbb fajtát magába foglaló csoport a díszgalambok csoportja. Ezeket tovább csoportosíthatjuk. A teljesség igény nélkül megemlítenék néhány csoportot ezek közül, például fodros galambok, begyes galambok, orrdudoros galambok, tyúk galambok. Ezen galambok kinézetükben teljesen eltérhetnek egymástól. Minden galambfajtának van fajtaleírása, melyben rögzítik az adott fajta tulajdonságait, például a testhosszt, testsúlyt, tollazat színezetét. Sok esetben egyes fajták kinézete annyira egyedülálló, hogy a szemlélő, aki csak városi galambot látott előtte, elképedve nézi, hogy milyen állatfajjal is néz szembe. Vannak fajták, amelyek hosszú lábtollazattal rendelkeznek, de olyanok is melyeknek a szárnypajzsán fodros a tollazat. Egyesek eltérnek csőrhosszban. Van, amelynek olyan rövid a csőre, hogy frissen kikelt utódját sem képes ellátni. Ezek csak úgynevezett dajkagalambok segítségével tenyészthetők, melyek felnevelik ezek fiókáit. Vannak fajták, amelyek szintén szinte nem tenyészthetők dajka galambok nélkül, ilyen például a king galambfajta is, mely nagy testsúlya (850-1250 gramm) miatt könnyen összetöri a tojást, illetve nagyon rossz szülői tulajdonságokkal rendelkezik, nem eteti megfelelően fiókáit. Kivételek természetesen itt is vannak.

A galambfajták ezen különbözősége adja a galambtenyésztés szépségét, mindenki megtalálhatja a számára legjobban tetsző, szívéhez közel álló fajtát. Ezt jól mutatja, hogy több ezer galambtenyésztő él országunkban, akik nagy örömmel versenyztetik, illetve galambkiállításokon mutatják be kedvenceiket.

2.2. Galambfélék külső élősködői Európában és Magyarországon

A galambfélék az Északi-, illetve Déli-Sark kivételével a világ minden pontján fellelhetők. Mivel a galambok társas lények, egyes fajok nagyobb csoportokba verődnek és így költenek, illetve akár nagyobb távolságokat is megtesznek, így a parazitáikat könnyen terjeszthetik egymás közt. Mind a különböző célból tartott házigalambok, mind a vadon élő galambok körében az ektoparazitákkal való fertőzöttség prevalenciája igen magas, 80 % feletti. [1, 2] Ezen élősködők gazdán való tartózkodás idejét figyelembe véve lehetnek stacioner életmódot folytatók, illetve temporer paraziták is. A galambok ektoparazitái között találunk vérrel táplálkozókat, melyek a gazdának vérfogyottságot azaz anémiát, termeléseszköket okozhatnak. Továbbá egyes fajok a tollakat károsítva, a tollakból illetve bőrpikkelyekből táplálkoznak, ezzel csökkentve a repülési teljesítményt, a hőtartó képességet, nem megfelelően az ezzel járó esztétikai károkozásról [1]

Az egyik leggyakoribb galambélősködő a *Dermanyssus gallinae*. Világszerte elterjedt, Európában a baromfiállományok legnagyobb kártevője [3]. Nem gazdaspecifikus, megtalálható bármely madárfajon [4], de akár emlősökön [5] és emberen is [6]. Kinézetét tekintve jellemző rájuk a dorsoventrális lapítottság. 0,65 mm hosszú a hím, a nőstény 0,75 mm hosszú, szélességük attól függ, hogy éppen milyen tápláltsági állapotban vannak [7, 8]. Nem csak a szélességük függ a tápláltsági állapotuktól, hanem a színük is. Éhes állapotban sárgásbarna színűek, amely vérszívás után feketés, pirosassá válik. Az adult és a nimfa is 8 lábbal rendelkezik. A *D. gallinae* temporer vérszívó élősködő, csak táplálékszerzés céljából keresi fel a gazdait, a köztes időben fészkekben, falak repedéseiben megbújva él [7]. A lárva nem szív vért csak a nimfák és az adultok. A parazitával való fertőződés galambról-galambra történik, nagy távolságokba is elszállíthatják magukon. A fertőzöttség a galambok viselkedéséből is megállapítható, bágyadtak, súlycsökkenés, teljesítménycsökkenés következik be, a vérhiány miatt súlyos anémia alakul ki náluk [6].

Egy másik fontos galambélősködő az *Ornithonyssus sylviarum*. Világszerte elterjedt, legfőként a mérsékelt égövön, Észak-Amerikában a legfontosabb baromfit károsító élősködő. Magyarországon eddig csak molnárfecskéből mutatták ki, de kutatásunknak hála már galambból is kimutatásra került. Baromfi fajokon, galambokon illetve más madárfajokon is élősködik [7]. Méretüket tekintve 0,5-0,8 mm hosszúak, sajátos szájszerv és anális tájék jellemző rájuk [8]. Stacioner életmódot folytat, nem csak táplálkozás

céljából keresi fel a gazdát. A gazdán kívül a környezetben csupán 1-5 hétig életképes táplálkozás nélkül, mivel obligát vérszívó paraziták. Protonimfa, illetve adult állapotban szívnak vért. [9] Az adult nőstények a tojásaikat a kloáka környékére, a tollak tövébe ragasztja. A különböző fejlődési alakok is ezen a tájékon találhatóak meg. A parazita terjedése a *D. gallinae* esetében ismertetekkel megegyezően gazdáról-gazdára történik, illetve a károkozása is nagyon hasonló. Anémia, teljesítménycsökkenés, gubbasztás, csapzott tollazat a legfőbb észrevehető elváltozás [8, 10]. Az atkával fertőzött baromfiállományok csökkent tojástermelést mutathatnak, és megfigyelhető a csökkent a takarmány értékesítési hatékonyságuk, illetve a termelt tojás súlya, minősége is károsodik [10].

A következő fontos élősködő az *Argas reflexus*. A mediterrán területeken lelhető fel, Európában, az USA-ban, és a közel keleten is honos. Hazánkban a nyári hónapokban van jelen nagy számban, akkor szaporodik. Barnás színezetű, 4-15 mm hosszúságú, 6-8 mm széles parazita [7, 8]. A lárva 6 lábbal rendelkezik, a nimfa és az adult 8 lábú [11]. Temporer élősködő, a *D. gallinae*-hoz hasonlóan, a gazdát csak vérszívás céljából keresik fel. Minden fejlődési alakjuk szív vért, viszont extrém hosszú ideig bírja táplálkozás nélkül, gyakran 3-5 de akár 9 évig is [7, 12]. Amikor éppen nem vért szív akkor fák hasadékaiba, falak réseiben telepszik meg. A galambok idegen galambokról átmászó egyedekkel fertőződhetnek, házakba is bemászhatnak, embereket is megtámadhatnak [13] alvás közben az éjszaka folyamán. Az adultok csak éjjel szívnak vért [14]. Az okozott tünetek megegyeznek az előzőleg *D. gallinae*, *O. sylviarum* esetében ismertettekkel. Tömeges elszaporodásuk esetén súlyos anémiát okozhatnak az állományban, a fiatalok esetében nagy százalékban pusztuláshoz is vezethet [7].

Columbicola columbae a legelterjedtebb galambokon megtalálható élősködő, a galambok több mint 80%-án megtalálható. Világszerte elterjedt, mind a vadonélő galambok körében, mind a házigalambok közt. Dorsoventrálisan lapított, 2 mm hosszú, 0,3 mm széles parazita [8]. Stacioner élősködők, folyamatosan a galambokon tartózkodnak [15]. A nimfák általában a nyak tollazatán, az adultok az evezőtollakon lelhetőek fel. Az adult nőstények a szárnytollak alsó felére teszik tojásaikat. Az élősködők tollakkal, illetve a bőr felső rétegével táplálkoznak [16]. A galambok egymást fertőzik a parazitákkal [15]. Életmódjukból adódóan károkozásuk nagyrészt a tollak megrágásában nyilvánul meg, amely ezzel csökkenti a termoregulációs képességet, illetve teljesítmény csökkenést okoz repülés során az esztétikai károkozás mellett.

2.3. Galambfélék külső élősködői által terjesztett kórokozók

Amint már korábban szót ejtettünk róla, a galambok a Föld csaknem teljes egészében elterjedt madarak. Számos külső-, belső illetve egysejtű parazitával rendelkeznek. Társas életmódjuk, illetve más fajokkal történő találkozásuk során átadhatják ezeket a parazitákat. Történhet ez ürülékkel, nyállal, közös itatón keresztül, akár egymás predációjával. Amiről viszont kevesebb szó esik, hogy ezen parazitáik számos patogén organizmus vektorai lehetnek, ezzel elősegítve a terjedésüket.

Már az előbbieken tárgyalt, *Dermanyssus gallinae* esetében is számos patogénnel találkozhatunk, amit hordozhat magában. Jól ismert, hogy a más néven vörös madártetű atkának nevezett temporer vérszívó élősködő a galambokon, egyéb madarakon [4] kívül szívhat vért más emlős állatokból [5] és emberekből [6] is. Miután az atka megcsípte gazdáját, a nyála bejut a gazda bőrébe, ahol helyi irritációt okozva, bőrpírral, kiütésekkel jelentkezik, erős viszketéssel jár.[17] Az emberi bőrreakciók nem bírnak kórjelző jelentőséggel, ezért nehéz diagnosztizálni. Az atkák általában nem találhatók meg az emberi testen, mivel a vérszívás után egyből távoznak, temporer mivoltukból kifolyólag [11]. A csípések legtöbbször a törzsön, végtagokon, nemi szervek környékén, bőrredőkben találhatóak [11]. Erős allergiás reakciót válthat ki, nem beszélve azokról a patogénekről amelyek a nyálon keresztül bejuthattak a szervezetbe. Többek között vektorai lehetnek az alábbi patogén ágenseknek: *Erysipelothrix rhusiopathiae* [18], *Salmonella gallinarum*, *Salmonella enteritidis*, *Chlamydia psittaci* [19], *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Pasteurella multocida*, *Coxiella burnetii*, amely a Q-láz okozója [20], paramyxovírus [3], influenza A vírus [21], de összefüggésbe hozták a babesiózissal és a Lyme-kórral is [22]. A legtöbb gamasoidosisal járó bejelentés esetében ciklikusságot figyeltek meg, az esetek nagy része a késő tavaszi vagy a kora nyári időszakban jelenik meg [23]. Városi környezetben a gamasoidosisos esetek a galambok térhódításával állnak szoros összefüggésben. Azokban a városokban, ahol tetőkre, légkondicionáló dobozokra, ablakpárkányokra, ereszekre építik fészkeiket, ott számíthatunk legnagyobb eséllyel az embereket ért támadásra [11]. Első sorban a galambok megtelepedésének megelőzése a cél. Amennyiben ez nem történt meg és az atkák érintkezésbe kerültek az emberekkel, akkor a fészkek eltávolítása, a gócpontok atka irtó szerekekkel történő kezelése, a lakás gyakori porszívózása ajánlott. Az atkák humán vért szívva fejlődnek, életben maradnak, de szaporodásra nem képesek, így ez egy önkorlátozó folyamat.[11, 20]

2.4. Galambfélék egysejtű élősködői Európában és Magyarországon

A galambfélék külső élősködői után fontos megemlítenünk a nagy jelentőséggel bíró egysejtű élősködők csoportját is. Számos egysejtű parazitát ismerünk, amelyek gazdái galambok. Az egysejtű élősködők közül elsőként a legfontosabbat említeném meg, amely a *Trichomonas gallinae*. Ez egy világszerte elterjedt protozoa, amely a galambok mellett számos más faj is megfertőzhető, többek között csirkéket, pulykákat, de akár sólymokat is. Méretét tekintve ez egy 5-19 μm nagyságú parazita, mely könnyen felismerhető jellegzetes alakjáról, illetve a 4 anterior ostoráról. Ez egy egysejtű stacioner élősködő. A környezetben például itatókban vagy más edényekben, melyben megáll a víz és a galambok fogyasztanak belőle körülbelül 60 percig életképes [24] viszont a magasabb hőmérséklet, 30-35 °C segít ennek a meghosszabbításában [25]. Az elhullott állatok testében további két napig is túlél [26–28]. Kedvezőtlen körülmények között képes pszeudocisztát képezni így javítva túlélési képességeit, habár fertőzőképességének fenntartásához elengedhetetlen a nedves környezet [27]. A trophozoiták madarak közötti átvitele legegyszerűbben nyál útján történhet, közös víz- és táplálékforrásokon keresztül. A galambfélék esetében a fiókákra való terjedés elsődleges módja az etetés során a begytejjel történik [29]. A ragadozó madarak megfertőződhetnek egy fertőzött zsákmányállat elfogyasztásával. A *Trichomonas gallinae*-t gyakran a felső gyomor-bél traktus nyálkahártyájának normál lakójának (kommenzalista) tekintik [27]. Amennyiben a normál mennyiségnél nagyobb számban lesz jelen, gyulladást vált ki az alatta lévő szövetekben. Amikor távolabb kerül a madarak emésztőrendszerébe, a parazita virulenciájának és a gazdaszervezet érzékenységének megfelelően enyhe vagy súlyos tüneteket okozhat. A magas patogenitású törzsekkel való fertőzés halálhoz vezethet. A columbiform madarak tünetmentes hordozók is lehetnek, biztosítva ennek a protozoának a gondtalan terjedését [27, 28, 30, 31]. A kórbonctani elváltozásokat a garatban, nyelőcsőben, begyben, felső gyomor-béltraktusban megtalálható sárgás elhalt csomócskák jellemzik, ebből kiindulva másnéven sárgagomb betegségnek is szokták nevezni a jellegzetes tüneteket mutató parazitás bántalmat. Súlyos esetekben eléhezéshez, fulladáshoz is vezethet. Amennyiben generalizált fertőzés áll fenn a *T. gallinae* továbbterjedhet a koponya, a testüreg szerveinek szöveteire, valamint a máj és a légúti szövetekre, hasonló elváltozásokat okozva, mélyülő szöveti érintettséggel, amelyet ráknak neveznek [29].

Egy másik, nagy gazdasági károkat okozó csoport az *Eimeria*-fajoké. Világszerte elterjedt, több mint 1700 *Eimeria* fajt azonosítottak eddig, a Columbidae családban 16 fajt írtak le [32]. Legnagyobb számban az *Eimeria labbeana* van jelen a galambok szervezetében, amely körülbelül 75-80%-ot tesz ki [33]. Az oocysta méretét tekintve, $13-24 \times 12-23 \mu\text{m}$ nagyságú [34]. Életmódjuk alapján stacioner élősködőknek tekintjük őket, amelyek a galambok bélrendszerében élősködnek. A galambok per os fertőződnek, a fertőző alakok felvételével. *Eimeria* fertőzés legtöbb esetben szubklinikai formában van jelen, tüneteket legtöbb esetben fiatal, 4 hetes - 4 hónapos kor között okoz. A fő vezető tünet a zöldes, nyálkás hasmenés. [33] Ez miatt kialakulhat dehidráció, súlyos fokú súlyvesztés. Fiatal galambok esetében ez végzetes következményekkel járhat. Gazdasági jelentőségét a mortalitás illetve a magas kezelési költség határozza meg.

A *Sarcocystis calchasi* egy, a galambokat is fertőzni képes egysejtű parazita. A galambok köztigazdaként szerepelnek a paraziták fejlődésmenetében, melyek végleges gazdái accipitriform ragadozó madarak. Ezen parazitával való fertőzöttséget kimutatták már Németországban, az Egyesült Királyságban illetve Japánban is [35]. A fertőzött galambokban a schizogónia számos szervben kialakulhat, többek között a májban, tüdőben, lépben, begyben, és a nyelőcsőben. Szöveti ciszták kialakulhatnak az izmokban, és a szívizomban, melynek mérete $2\text{mm} \times 20-50\mu\text{m}$. [36] Ezzel a stacioner élősködővel, per os fertőzött ürülékkel tudnak fertőződni a galambok. A parazitával fertőzött galambok neurológiai tüneteket produkálnak, Pigeon Protozoal Encephalitis alakul ki náluk [35, 37]. Hasonló tünetek alakulnak ki a galamboknál herpesz vírussal, paramyxovírussal, magas patogenitású madár influenzával való fertőzöttsége esetén is, ezért további vizsgálatokat igényel az elkülönítése [37]. Elkülönítése a cerebrum domináns gyulladással sejtjei segítségével lehetséges. A fertőzöttség kiválthat poliuriát, hasmenést, központi idegrendszeri tüneteket, mint a remegés, ataxia, torticollis [37]. Patológiai tünetei az agyvelő gyulladása, kialakulhatnak ciszták az izmokban, szívizomban is, végső soron az állat elhullásához vezet. [35, 36]

3. CÉLKITŰZÉSEK

A tanulmány során két egymástól független vizsgálatot végeztünk, a galambokat parazitáló élősködőket kutatva. Az első vizsgálat célja két lakásból és két versenygalamb dúcból gyűjtött, Magyarország különböző országrészeiből származó, dermanysoid atkák vizsgálata volt. A kutatás első lépése az atkák morfológiai azonosítása, majd ezt követően a kiválasztott atkák molekuláris-filogenetikai vizsgálata a citokróm c oxidáz subunit I. (cox1) és a 28S rRNS (28S) gének alapján.

A második kutatás fő célja a madár *Trichomonas*-fajok előfordulásának, genetikai diverzitásának és filogenetikai kapcsolatainak vizsgálata volt Magyarországon és Romániában, ahol hasonló adatok nem állnak rendelkezésre. A mintavételezett madarak között megtalálhatóak voltak verseny- és városi galambok, valamint más erősen urbanizált vagy kedvtelésből tartott columbiform madárfajok (balkáni gerle: *Streptopelia decaocto*, örvös galamb: *C. palumbus* és kacagó gerle: *S. risoria*).

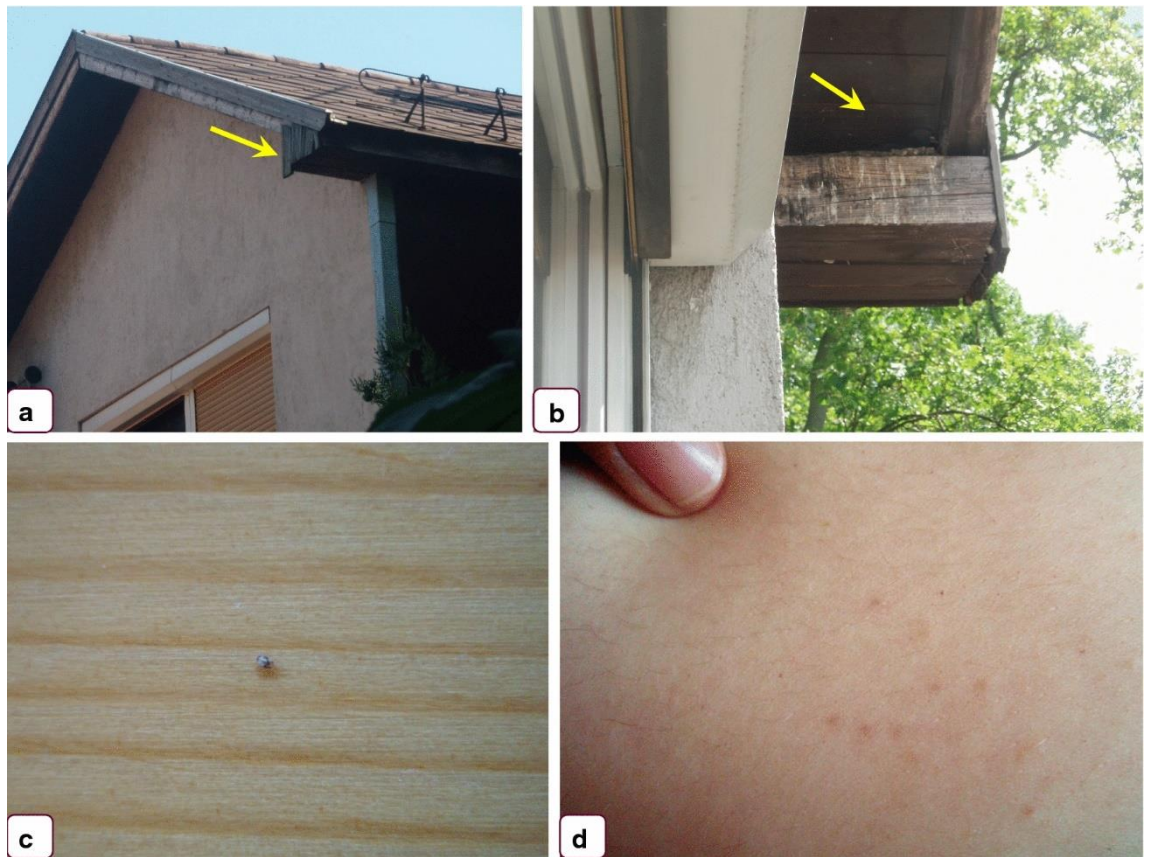
4. ANYAG ÉS MÓDSZER

4.1.Mintagyűjtés

4.1.1.*Dermanyssus gallinae*, *Ornithonyssus sylviarum*

A vizsgálat során a következő mintákat használtuk:

1. A retrospektíven vizsgált mintákat 2012 júniusában gyűjtötték Budapesten, egy a III. kerületben élő család házában, amelynek az eresze alatt egy pár galamb fészkel. Az éjszaka során az atkák az ablakon keresztül bejutottak a házba. A házban lakó fiatal pár gamasoidosisban szenvedett a paraziták csípéseitől.(1.ábra)



1.ábra: A *Dermanyssus gallinae* L1 genetikai vonal első hazai felbukkanásának körülményei.

a A ház teteje és az ablaka, **b** a galamb és fészke az eresz alatt, az ablak fölött, **c** az atkák bejutottak a szobába és átkúsztak a fafelületeken, **d** atkák okozta bőrpírral járó bőrelváltozások a szobában alvó személy hasán

2. A minták begyűjtésére 2018 augusztusában került sor Budapesten, egy I. kerületi lakásból, melynek bejárati ajtaja felett molnárfecske fészkel. Az atkák bejutottak és tömegesen megtalálhatók voltak a lakásban. Egy fiatal terhes nő lakott a lakásban, de csípés nem volt a testén.

3. A minták begyűjtésére 2020 márciusában került sor, hobbicélra tartott díszgalambokból. A minták egy része Budapest III. kerületéből (észak-Magyarország), másik része Sellyéről (dél-Magyarország) származott.

A fent említett mintagyűjtések mindegyike során legalább 20 atka került begyűjtésre, majd tartósításuk 96%-os alkohollal történt. Tejsavban történő megtisztítás után, a standard jegyek [4, 38, 39] alapján az atkafajok azonosításra kerültek. A *Dermanyssus gallinae* L1 vonal molekuláris azonosítása megtörtént. Részletes morfológia vizsgálat (diagnosztikailag fontos részek mérése) került elvégzésre nőstény egyedeken.

4.1.2 *Trichomonas gallinae*

A garat nyálkahártya mintákat steril vattapamacsos mintavevő pálcával gyűjtöttük 99 magyarországi (n=77) és romániai (n=22) columbiform madártól. Négy madár gazdafajból vettünk mintát, közülük verseny-, és városi galambokat (*Columba livia* var. *domestica*: 42 versenygalamb, 32 városi galamb és 2 elvadult házigalamb), örvös galambokat (*C. palumbus*: n=4), kacagó gerléket (*Streptopelia risoria*: n=16) és balkáni gerléket (*S. decaocto*: n=3) vizsgáltunk. A *T. gallinae* DNS-kivonás előtti tenyésztés szükségességének felmérésére 20 versenygalambból két párhuzamos mintavételt végeztünk. Ebben a 20 esetben az egyik tampon mintát 8 ml CPLM táptalajba helyeztünk, amely *Trichomonas* szelektív kiegészítőt (Biolab Diagnostics Laboratory Inc., Budapest), streptomycint, penicillint és steril inaktivált lószérumot tartalmazott (pH 6-ra állítva), majd 37 °C-on két napig inkubáltunk őket. A duplikált mintavételezés másik tamponmintáit 2 ml-es steril Sarstedt csövekbe helyeztük és -20 °C-ra lefagyasztottuk.

4.2.DNS kivonás

4.2.1.*Dermanyssus gallinae*, *Ornithonyssus sylviarum*

Méretüktől függően legalább három atkát használtunk a DNS kivonáshoz, korábbi vizsgálatok eredményeit figyelembe véve. A korábbi vizsgálatok során három azonos citokróm-c oxidáz I (*cox1*) alegység szekvenciával rendelkező [40] helyileg gyűjtött mintát vizsgáltak. Izolátumonként 1-5 atka került szekvenálásra [41], vagy tíz atkából álló csoportokat használtak *cox1* szekvenálásra.[42] A DNS kivonás előtt az atkákat kivettük az etanolból és megszárítottuk, ezt követően steril tárgylemezhez préseltük és egy pipetta hegyének segítségével Eppendorf csövekbe (szöveti lízist okozó puffert tartalmaztak) helyeztük át őket. A DNS kivonás QIAamp DNA Mini Kit-tel (Qiagen, Hilden, Germany) történt a gyártó előírásai alapján, amely magába foglalt egy éjszakán

át tartó, 56 Celsiuson, Proteináz K-val történő emésztést. Mindemellett egy ismeretlen eredetű korábbi magyar *Dermanyssus gallinae* (s.s) minta is 28S rRNA gén vizsgálatra került.

4.2.2. *Trichomonas gallinae*

A DNS-t a QIAamp DNA Mini Kit-tel (Qiagen, Hilden Németország) vontuk ki a gyártó vér vagy szöveti protokollja szerint, enyhe módosítással. A DNS kivonást 200 µl táptalajból duplikálva végeztük, 200 µl AL puffer hozzáadását követően a vér DNS kivonási protokoll szerint. A felolvasztott tamponmintákhoz 200 µl AL puffert és 200 µl steril PBS-t adtunk, 10 percig 56 °C-on inkubáltuk mielőtt a vattapamacsos mintavevőt eltávolítottuk a folyadékból, majd proteináz-K-t adtunk hozzá és folytattuk az eljárást a szöveti protokoll szerint. Minden 23 mintából álló csoportba egy extrakciós kontrollt (180 µl szöveti lízis puffer) helyeztünk a keresztszennyeződések felderítésének céljából.

4.3. Konvencionális PCR-ek

4.3.1. *Dermanyssus gallinae*, *Ornithonyssus sylviarum*

Annak érdekében, hogy mind fajsztintú, mind nemzetség/család szintű filogenetikus törzsfát kapjunk a *cox1* gén hozzávetőlegesen 710 bázispárból álló szakaszát, a 28S gén 930 bázispárból álló részét erősítettük fel a HCO2198 primer párokkal (5'-TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA-3')/LCO1490 (5'-GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G-3'), és 43F (5'-GCT GCG AGT GAA CTG GAA TCA AGC CT-3')/929R (5'-AGG TCA CCA TCT TTC GGG TC-3') amint erről korábban beszámoltak.[43],[44],[45]

4.3.2. *Trichomonas gallinae*

Minden DNS-kivonatot és extrakciós kontrollt három konvencionális PCR-rel elemeztünk: először egy szűrővizsgálattal, amely a 18S rRNS gén egy rövid nagyjából 500 bázispárból álló fragmensét felerősítette a *Trichomonadea* jelenlétének kimutatására, majd egy elsődleges és egy másodlagos vizsgálatot végeztünk két genetikai marker körülbelül 1550-1600 és 1200 bázispár hosszúságú részének szekvenálására. (18S rRNS gén, illetve az alfa-tubulint kódoló gének). A szűrővizsgálat alkalmasságát 13 minta PCR termékeinek szekvenálásával értékeltük, amely minden esetben megerősítette a *Trichomonas gallinae* jelenlétét. A PCR-ek primerjeit és cikluskörülményeit a Műszaki Függelék foglalja össze. Ezekben a PCR-ekben 5 µl kivont DNS-t adtunk 20 µl reakcióelegyhez, amely 1,0 U HotStar Taq Plus DNS-polimerázt (5 U/µl) (Qiagen,

Hilden, Németország), 0,5 µl dNTP keveréket (10 mM), 0,5 µl-t mindegyik primerből (50 µM), 2,5 µl 10× Coral Load PCR puffert (15 mM MgCl₂-vel együtt), 1 µl extra MgCl₂-t (25 mM) és 14,8 µl desztillált vizet tartalmazott. Kivéve az alfa-tubulin PCR-t, amikor 15,8 µl desztillált vizet adtunk hozzá extra MgCl₂ nélkül. Pozitív kontrollként a szekvencia-hitelesített *T. vaginalis* szolgált.

5. SZEKVENÁLÁS ÉS FILOGENETIKAI VIZSGÁLAT

5.1. *Dermanyssus gallinae*, *Ornithonyssus sylviarum*

A PCR termékek előkészítését, szekvenálását egy külső laboratórium végezte (Biomi Ltd., Gödöllő, Magyarország). Az új szekvenciák benyújtásra kerültek a GenBank részére, az alábbi azonosító számokkal, MT812940-MT812943 (cox1), MT813463-MT813469 (28S). A GenBank-ból származó szekvenciákat csak akkor vettük bele a filogenetikus analízisbe, ha közel 100%-ban megegyeztek (azaz megegyező hosszúságúak illetve megegyező a kiindulási pozíciójuk) a vizsgálatunk során kinyert szekvenciákkal. Ez az adatkészlet a támogatottsági (*bootstrap*) értékek számolásához 1000-szer lett újrafuttatva. A cox1 és 28S rRNS szekvenciák filogenetikai analízisét a maximum likelihood módszerrel (GTR modell), illetve neighbour-joining módszerrel (p-distance modell) végeztük, a MEGA 7.0 szoftver segítségével.

5.2. *Trichomonas gallinae*

A PCR termékek előkészítését és szekvenálását a Biomi Kft.-nél (Gödöllő, Magyarország) végezték. Az újonnan generált szekvenciákat ON631556-ON631566 (a 18S rRNS gén hosszú fragmentuma) és ON808545-ON808550 (alfa-tubulin gén) azonosító számon nyújtották be a GenBanknak. A genotípusokat itt A-tól E-ig jelöltük a 18S rRNS gén alapján, függetlenül más vizsgálatoktól, ahol az ITS-t használták erre a célra [46].

A kapott szekvenciákat a BLASTn nukleotid program segítségével összehasonlítottuk a GenBank-ból származó szekvenciákkal. A GenBankból kinyert és a filogenetikai elemzésbe bevont összes szekvencia közel vagy 100%-ban megegyezett a vizsgálatból származó szekvenciákkal. Ez az adatkészlet a támogatottsági (*bootstrap*) értékek számolásához 1000-szer lett újrafuttatva. A filogenetikai elemzést a maximum-likelihood módszerrel és a Jukes-Cantor model szerint végeztük a MEGA 7.0 programmal [1]. A prevalencia adatok a Fisher teszttel kerültek összehasonlításra. A különbségeket akkor tekintettük szignifikánsnak, ha $P < 0,05$.

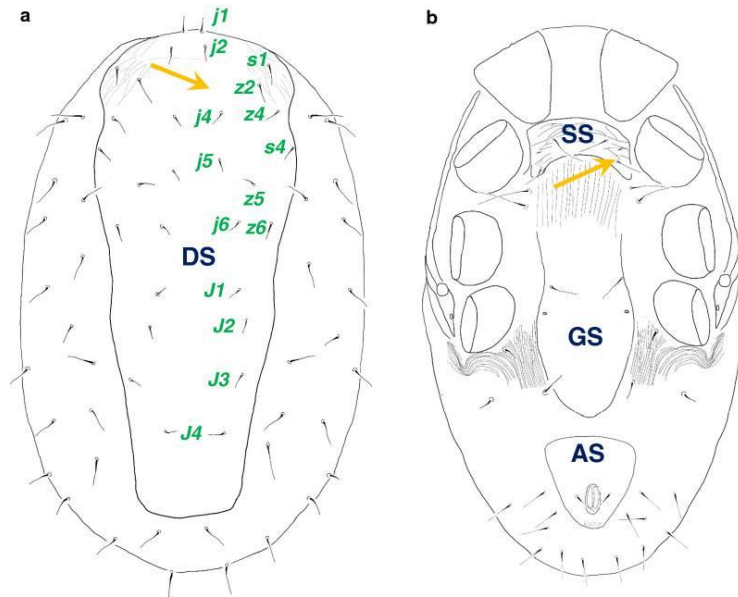
6. EREDMÉNYEK

6.1.A madártetűatka (*Dermanyssus gallinae*) morfológiai és molekuláris-filogenetikai vizsgálata

Az atkák morfológiai azonosítás megtörtént, melynek eredményeként az 1. esetből (a fészkelő galambokkal kapcsolatos eset) származó példányok *D. gallinae*-ként kerültek beazonosításra. A molekuláris vizsgálatok során *D. gallinae* fajon belül egy speciális L1 törzset sikerült kimutatni.

Az alábbiak hozzávetőleges méretek. A dorsalis pajzs 920-940 μm hosszú, 360-370 μm széles a peritéma apikális végén, és 290-330 μm széles a IV. coxae szintjén. A dorsalis pajzs 15 pár túszerű (20-28 μm hosszú) sörtét visel, a hátpajzs apikális részét finom, hálós szoborminta fedi. Tizennyolc pár hosszabb (55-62 μm), túszerű sörté található a hártályás kutikulán a hátpajzs körül. A szegycsonti pajzs négyszögletű (70-75 μm hosszú és 180-195 μm széles), finom, hálós szobormintázatú, és két pár (50-65 μm hosszú) túszerű köteg van rajta. Két másik szegycsonti pajzs pár hosszabb (90-95 μm), amelyek a szegycsont pajzsa mögötti hártályás kutikulán helyezkednek el. A genitális pajzs nyelv alakú, egy pár genitális nyílást és egy pár nemi szervet tartalmaz, felülete sima. Az anális pajzs háromszög alakú (160-165 μm széles az elülső szegélyen és 170-175 μm hosszú), az elülső szegély egyenes, a felülete szoborminta nélküli. Az anális nyílás ovális, 40-45 μm hosszú és 30-33 μm széles. Az adanális serték 37-40 μm hosszúak és túszerűek.

Az anális pajzs körüli sörték túszerűek és 47-54 μm hosszúak; a genitális pajzshoz képest laterálisan helyezkedő három pár túszerű sörté rövidebb (35-40 μm). A hártályás kutikula U-alakú kanyarulatot képez a IV. coxae után. A peritéma az I. coxae hátsó széléig terjed (2.ábra).

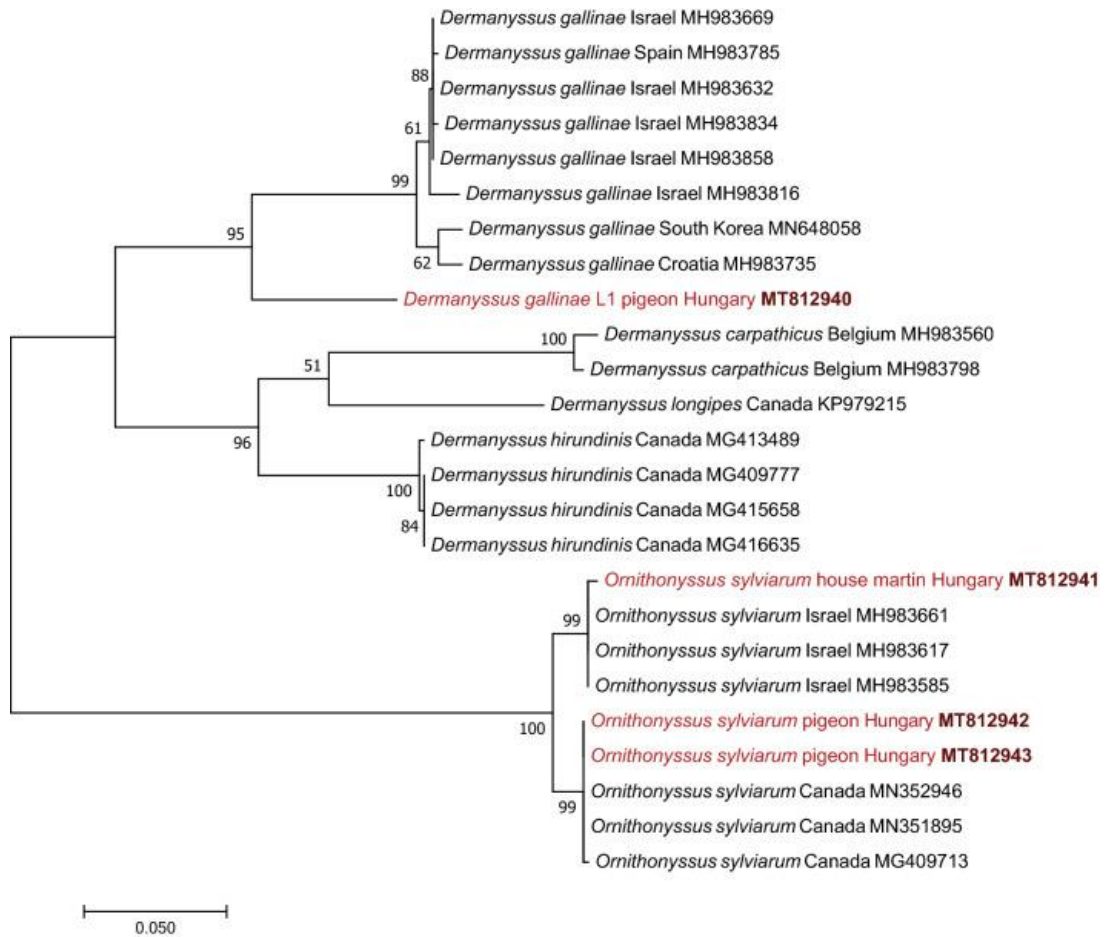


2.ábra: A Magyarországon gyűjtött *Dermanyssus gallinae* L1 leszármazási vonalról készített rajzok.

a háti nézet, **b** ventrális nézet. **AS** anális pajzs, **DS** dorsalis pajzs, **GS** genitális pajzs, **SS** sternális pajzs. A diagnosztikai karaktereket (a [47] szerint) nyíl jelzi: **a** j3 serte hiánya, **b** széles sternális pajzs két pár sertével.

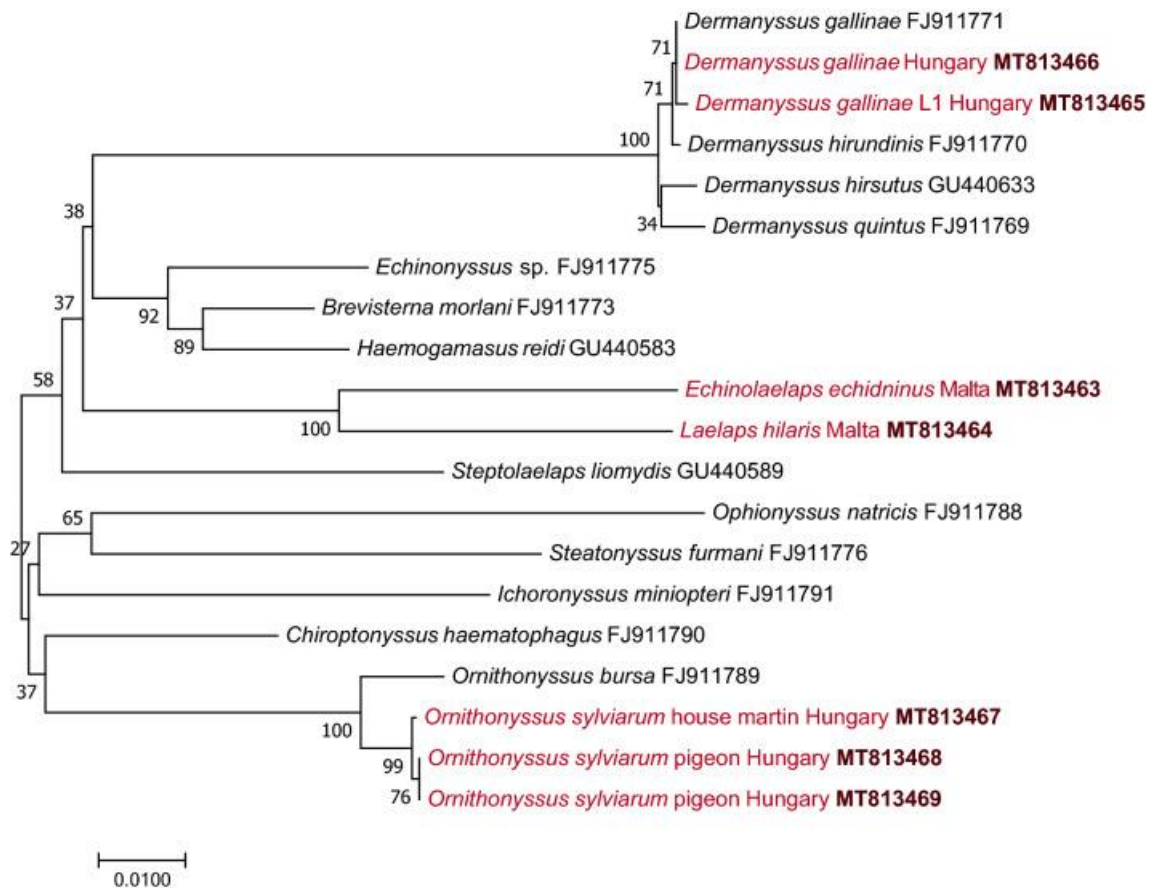
A magyarországi galambokhoz köthető *Dermanyssus gallinae* L1 eredetű *cox1* szekvenciák legnagyobb (95-99%) azonosságot (de csak 48-66% lefedettséggel) az általunk ismert szekvenciák közül a francia (HQ842566, FM208734, FM208712), az olasz (LT714694) és az USA-ból (HQ842554) származó szekvenciákkal mutatták. Azonban a *Dermanyssus gallinae* (s.s) az izraeli szekvenciákkal összehasonlítva mindösszesen 566-568 bázispár egyezést mutatott 629-ből (90-90.3%) és csak 567 bázispár egyezett meg a 629-ből (90.1%) a horvátországi (MH983735) illetve a dél-koreai szekvenciákkal összehasonlítva (MN648058). A *Dermanyssus gallinae* L1 vonalú 28S rRNS-szekvenciája a legmagasabb, azaz 838 bázispár a 840-ből (99,8%) szekvencia azonosságot mutatott a *Dermanyssus gallinae* (s.s.) megfelelő szekvenciájával (FJ911771).

Ezeket a különbségeket a *Dermanyssus gallinae* L1 és *Dermanyssus gallinae* (s.s) törzse között jól tükrözi a *cox1* filogenetikai törzsfá topológiája, mivel szétválásuk magas (95%) támogatást kapott (3. ábra). Bizonyos mértékig ez vonatkozik a tágabb rendszertani viszonyokat szemléltető 28S rRNS-fára is, mivel a *Dermanyssus gallinae* L1 elválasztása a *Dermanyssus gallinae* (s.s)-tól (FJ911771, MT813466) hasonló mértékű támogatást (és evolúciós távolságot) kapott, mint ahogyan ezt tette később a *D. hirundinis* (FJ911770) esetében (4. ábra).



3.ábra: A Dermanyssidae és Macronyssidae filogenetikai törzsfája a *cox1* alegység alapján.

A fa a maximum likelihood módszerrel és a general time reversible (GTR) modellel készült a MEGA 7.0 szoftver segítségével. Az ebben a tanulmányban kapott szekvenciákat pirossal, a hozzáférési számot félkövérrel jelöltük. A végső adatkészletben összesen 618 pozíció volt. Az elágazáshosszak a helyenkénti helyettesítések számát jelentik a bemutatott skála szerint.



4.ábra: A Dermanysoidea filogenetikai törzs fája.

A törzsfá a 28S rRNS génen (28S) alapul. A fa a neighbor-joining módszerrel és a p-distance model felhasználásával készült a MEGA 7.0 szoftver segítségével. Az ebben a tanulmányban kapott szekvenciákat pirossal, a hozzáférési számot félkövérrel jelöltük. A végső adatkészletben összesen 775 pozíció volt. Az elágazáshosszak a helyenkénti helyettesítések számát jelentik a bemutatott skála szerint.

6.2. Az északi madártetűatka (*Ornithonyssus sylviarum*) morfológiai és molekuláris-filogenetikai vizsgálata

Az atkák morfológiai azonosítás megtörtént, melynek eredményeként a 2. esetből származó példányok (a fészkelő molnárfecskékkel kapcsolatos eset), illetve a 3. és 4. esetből származó atkák (versenygalambokkal kapcsolatos mintavétel) *O. sylviarum*-ként lettek beazonosítva.

A magyarországi molnárfecskékhez köthető *O. sylviarum* cox1 szekvencia mutatta a legmagasabb (99,7%; 626/628 bp) szekvenciaazonosságot az izraeli *O. sylviarum* szekvenciákkal (MH983585, MH983617, MH983661; baromfi alomból), míg csak 97,1%-os (628 bp-ból 610) azonosságot a Kanadából származó azonos fajtából származó szekvenciákkal (pl. MN351895, madárfészekből). Ezzel szemben Magyarországon két egymástól távoli helyen galambokból gyűjtött két azonos cox1 szekvencia a kanadai *O.*

sylviarum szekvenciákkal (pl. MN351895) mutatta a legmagasabb szekvenciaazonosságot (100%; 628/628 bp), de lényegesen alacsonyabb (97,5%; 612/628 bp) azonosságot mutatott az Izraelből származó *O. sylviarum* szekvenciáival. Ezek az összehasonlítások arra utalnak, hogy szignifikáns (2,9%; 628 bp-ból 18) intraspecifikus szekvencia eltérés volt a különböző magyarországi madárfajokból gyűjtött *O. sylviarum* szekvenciák között.

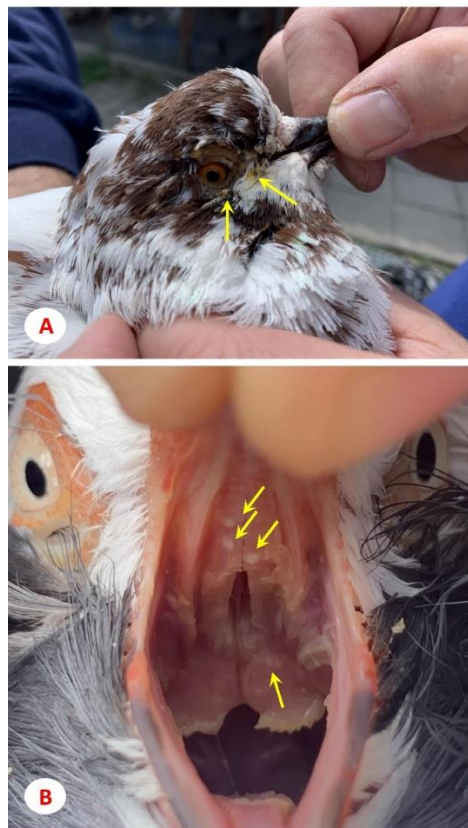
Ezeket az eredményeket filogenetikai elemzések támasztják alá. A *cox1* filogenetikai törzsfá a molnárfecskékhez vagy a galambokhoz kötődő két, egymástól eltérő magyar *O. sylviarum* leszármazási vonal elkülönítése teljes mértékben alátámasztott (100%-os támogatottság mellett), és ezt teljessé teszi az izraeli, illetve kanadai szekvenciák csoportja (3. ábra). Elválasztásuk a 28S rRNS gén filogenetikai analízisében szintén erősen (99%) alátámasztott. (4. ábra).

6.3. A *Trichomonas gallinae* molekuláris-filogenetikai vizsgálata

A *T. gallinae* táptalajban inkubált vagy száraz tamponmintából történő molekuláris kimutatásának hatékonyságára vonatkozó előzetes összehasonlítás szerint a 20 tamponmintából 19, a 20 táptalajmintából csak 18 volt PCR pozitív (azaz egy galamb esetében csak a táptalajminta volt pozitív a tamponminta nem, viszont 2 galambnál csak a tamponmintából sikerült diagnosztizálni a fertőzöttséget). Ezért a vizsgálat hátralévő részében csak tamponmintákat használtunk.

A *Trichomonas gallinae* mind a négy vizsgált madárfajban kimutatásra került, mindent összevetve 73%-os prevalenciával. (72/99) (1. táblázat). A szűrővizsgálat alapján a versenygalambok fertőzöttségének prevalenciája szignifikánsan ($P < 0.0001$) magasabb volt (95%: 40/42), mint a városi galambok esetében (33%: 11/33). A többi columbiform madárfaj közül a PCR-pozitivitás aránya a legmagasabb, 100%-os az örvös galamboknál (4/4) volt, ezt követték csökkenő sorrendben a kacagó gerlék (94%: 15/16) és a balkáni gerlék (33% : 1/3) (1. táblázat). Ezek az eredmények azt is sugallják, hogy a *T. gallinae* fertőzöttség mesterséges körülmények között tenyésztett, fogságban tartott columbiform madarak (versenygalambok és kacagó gerlék) esetében szignifikánsan magasabb ($P < 0,0001$), összehasonlítva a szabadon élő columbiform madarakkal (városi galambok, elvadult házgalambok, örvös galambok, kacagó gerlék) (55/58 összevetve 17/41-es aránnyal).

A 18S rRNS gén hosszú fragmentuma alapján a *T. gallinae* hat genotípusa került kimutatásra 37 columbiform madárból (1. táblázat). A referencia szekvenciához (GenBank: EU215373) képest ezek legfeljebb nyolc nukleotid eltérést mutattak. A városi galamboknál mindössze két genetikai változatot (Magyarországon B, D genotípus, Romániában A, D genotípus), míg az azonos kereskedési-tenyésztési helyen tartott verseny galambokban négy genotípus (B, C, D és a leginkább eltérő Hu-TG37) fordult elő. (1. táblázat). A verseny galambok körében a D genotípus csak a Németországból származó galambokban fordult elő, míg Magyarországon az A és az E genotípus kizárólag az örvös galambokból, illetve a kacagó gerlékből került kimutatásra (1. táblázat). Ez utóbbi fajnál a genotípusok előfordulása a fogságban tartott madarak eredetével (költési helyével) függött össze: az egyik mintavételi helyen két kacagó gerléből az E genotípus, míg a másik mintavételi helyen négy kacagó gerléből B genotípus került kimutatásra. A klinikai tünetek (elváltozások a garatüregben vagy a szemeken, illetve kötőhártyán) csak a D genotípus esetében voltak megfigyelhetők. (1. kiegészítő kép)



1.kiegészítő kép: Klinikai trichomonosiszhoz kapcsolódó elváltozások két versenygalambban: (A) sárgás felrakódás a csőr sarkában és a szem közelében; (B) kis nekrotikus-gyulladásos gócok a szájpadláson.

Az alfa-tubulin gén egy részének felerősítése és szekvenálása legalább egy mintából volt sikeres, amely mindegyik a 18S genotípust reprezentálja. Az ebben a vizsgálatban kapott alfa-tubulin génszekvenciák vagy alacsonyabb (98,5-98,6%: 1008-1009/1023 bp) vagy magasabb szintű (99,6-99,7%: 1019-1020/1023 bp) azonosságot mutattak az izolátummal (EU215382) amelyet referencia szekvenciaként használtunk. A megfelelő aminosavszekvenciák alapján ebben a fehérjét kódoló génben a mutációk többsége szinonim volt, viszont az E és D genotípus esetében egyetlen aminosav eltérés volt felfedezhető a referencia izolátumhoz képest (a 149. pozícióban alanin helyett valin, és 34. pozícióban valin helyett izoleucin).

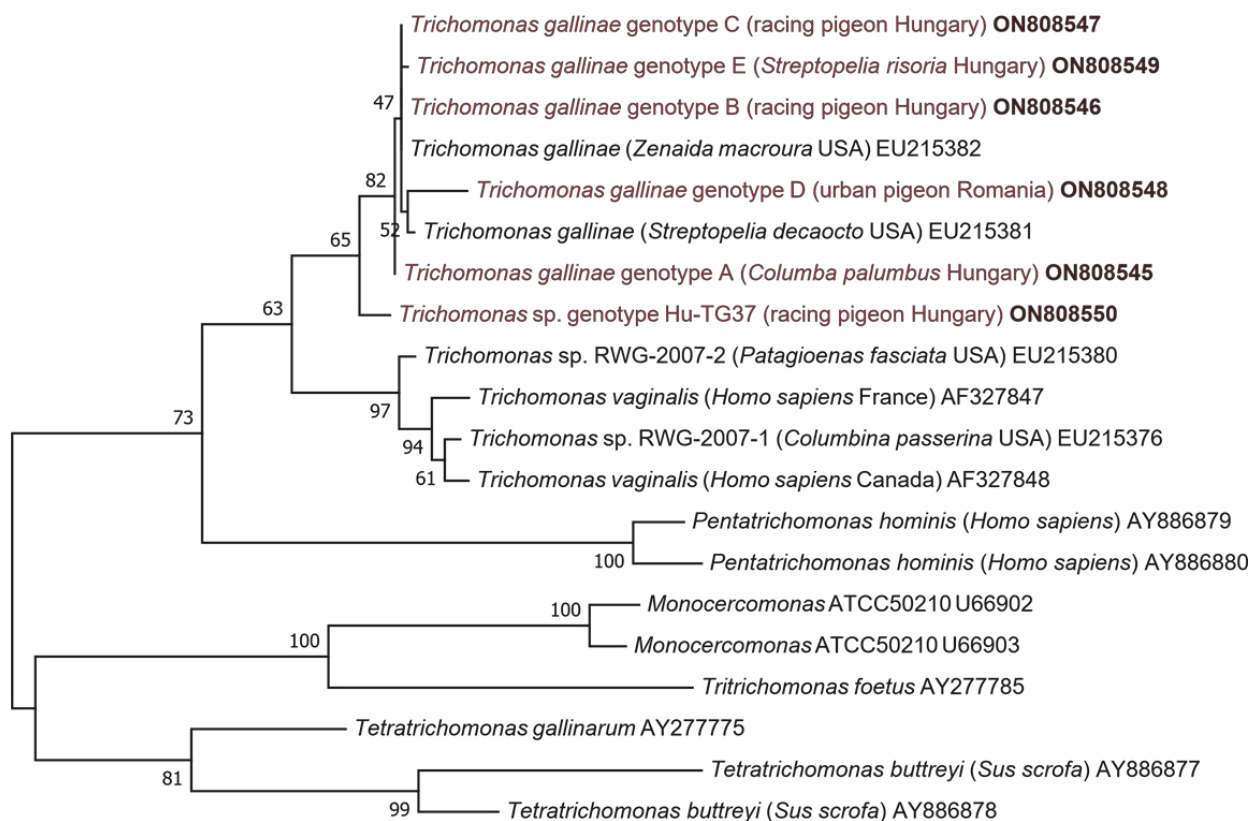
Figyelembe véve a filogenetikai analízis eredményeit, a 18S rRNS filogenetikai törzsfa topológiája (5. ábra) nem mutatott egyértelmű csoportosulást a tanulmányból származó *T. gallinae* genotípusok között a columbiform madarak faja, élethelye vagy tartási módja szerint. Azonban a Magyarországon és Romániában is azonosított A genotípus az összes többi (B, C, D, E) genotípus testvércsoportjaként jelenik meg, mérsékelt (65%-os) támogatottsággal (5. ábra), de az alfa-tubulin filogenetikai törzsfa által igazoltan (6. ábra). Ami még fontosabb, hogy a *Trichomonas* sp. A Hu-TG37 (Dél-Magyarországon egy versenygalambban kimutatva) a *T. canistomae* és a *T. tenax* filogenetikai csoportjába tartozik, közepes (61%) támogatottsággal, ami azt jelenti, hogy ez egy külön faj (vagyis ha ez az izolátum szintén a *T. gallinae*-hez tartozna, ez a faj nem lenne monofiletikus). A *Trichomonas* sp. A *T. gallinae*-ből származó Hu-TG37 jelenlétét az alfa-tubulin filogenetikai törzsfa is igazolta (6. ábra).

1.táblázat: A Trichomonadea 18S rRNS gén szerinti molekuláris analízisének eredményei a mintatípusok szerint columbiform madarakban.

Faj vagy a mintaforrás típusa	Származási ország	Prevalencia** (pozitív/összes)	Hosszú 18S rRNA genotípus (n)	GenBank azonosító szám
Verseny galamb (<i>Columba livia</i>)	Magyarország	97% (29/30)	B (16), C (3), <i>Trichomonas</i> sp. Hu-TG37 (1)	ON631556, ON631557, ON631566
	Németország*	89% (8/9)	D (3)	ON631558
	Dánia*	100% (2/2)	B (1)	ON631556
	Belgium*	- (1/1)	B (1)	ON631556
Városi galamb (<i>Columba livia</i>)	Magyarország	40% (4/10)	B (1), D (1)	ON631559, ON631560
	Románia	32% (7/22)	A (1), D (2)	ON631561, ON631562
Elvadult házi galamb (<i>Columba livia</i>)	Magyarország	50% (1/2)	-	-
Örvös galamb (<i>Columba palumbus</i>)	Magyarország	100% (4/4)	A (1)	ON631563
Kacagó gerle (<i>Streptopelia risoria</i>)	Magyarország	94% (15/16)	B (4), E (2)	ON631564, ON631565
Balkáni gerle (<i>Streptopelia decaocto</i>)	Magyarország	33% (1/3)	-	-

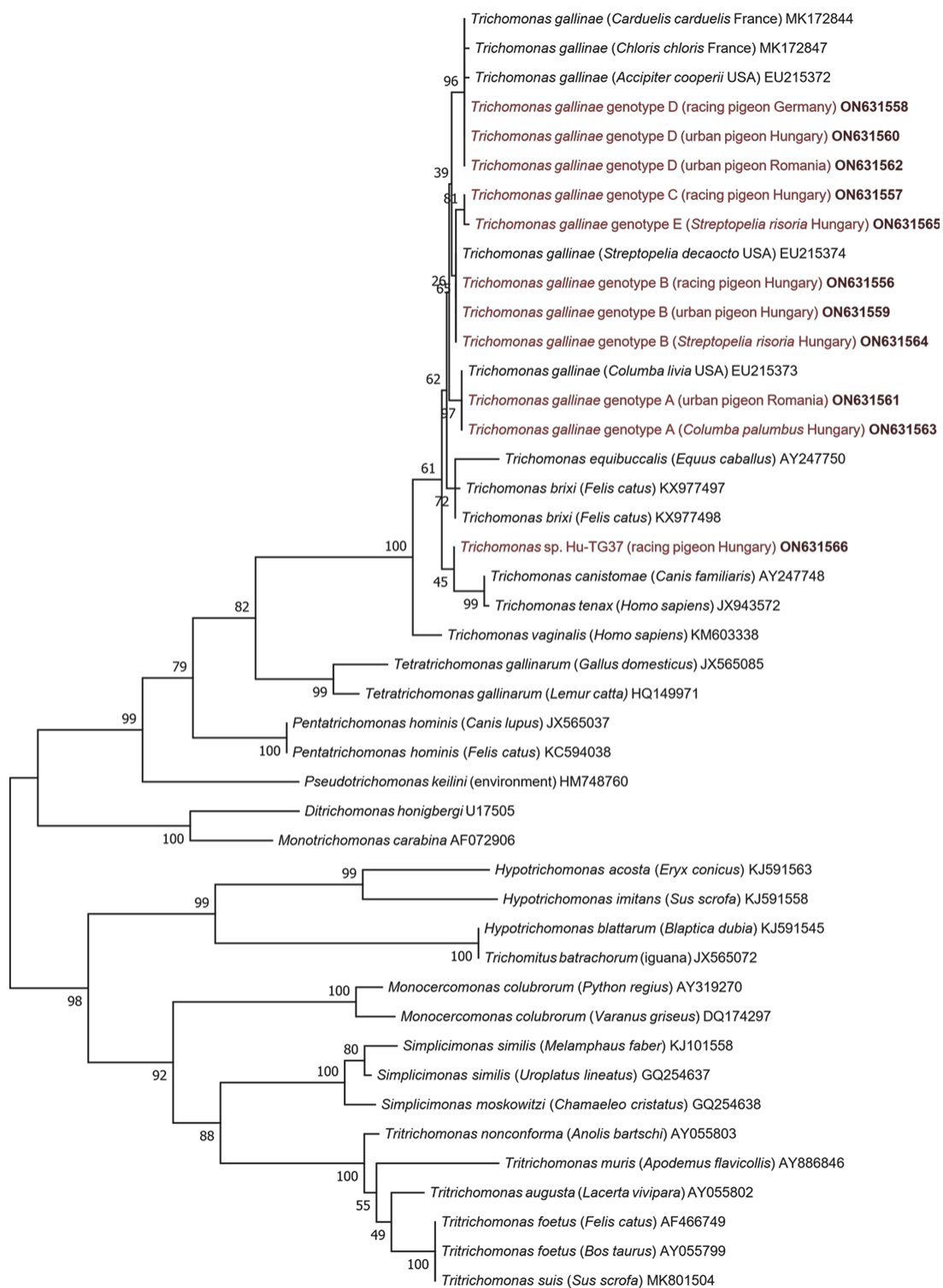
*a behozatal után külön tartva, de a magyar galambokkal való érintkezés nem zárható ki

** rövid 18S rRNS gén screening PCR alapján



5.ábra: A Trichomonadea filogenetikai törzsfa a 18S rRNS gén alapján.

A törzsfa maximum likelihood módszerrel és a Jukes-Cantor modellel készült. Minden sorban a faj vagy nemzetség neve után az izolálási forrás, a *Trichomonas gallinae* esetében a származási ország és a GenBank azonosító szám látható. Az ebben a tanulmányban kapott szekvenciák pirossal és félkövérrel vannak szedve. Az elemzés 44 nukleotid szekvenciát és 1000 replikációt tartalmazott. A végső adatkészletben összesen 1121 pozíció volt. A skála jelzi helyenkénti helyettesítések száma.



6.ábra: A Trichomonadea filogenetikai tözsfája az alfa-tubulin gén alapján.

A tözsfája maximum likelihood módszerrel és a Jukes-Cantor modellel készült. Minden sorban a faj vagy nemzetség neve után az izolációs forrás, a *Trichomonas gallinae*-vel közeli rokon fajok esetében megjelenik a származási ország és a GenBank csatlakozási szám. Az ebben a tanulmányban kapott szekvenciák pirossal és félkövérrel vannak szedve. Az elemzés 20 nukleotid szekvenciát tartalmazott és 1000 replikációt. A végső adatkészletben összesen 977 pozíció volt. A skála a helyenkénti helyettesítések számát jelzi.

7. KÖVETKEZTETÉSEK

7.1. *Dermanyssus gallinae*, *Ornithonyssus sylviarum*

Hazánkban még sosem írtak le dermanyssoid atkákkal való fertőződést vagy madár élősködők okozta dermatitist (gamasoidosis).[4] Ez az első magyarországi vizsgálat melyben molekulárisan és filogenetikailag is igazolható *Ornithonyssus sylviarum* fertőzöttséget állapítottak meg, mely magába foglal egy városi környezetben észlelt esetet, illetve egymástól távol eső különböző vidéki helyszínekről jelentett parazitás fertőződést. Ez egyben az első tanulmány a *D. gallinae* L1 vonal molekulárisan igazolt előfordulásáról Közép-Európában, mivel ezt a genetikai vonalat korábban csak Dél- és Észak-Európában mutatták ki (Olaszország [40], Egyesült Királyság [47]).

Jelen tanulmányban szignifikáns szekvencia eltérést találtunk a *D. gallinae* (s.s.) és a *D. gallinae* speciális L1 vonal között (kb. 10%). Ez bőven a 8-18%-os *cox1* szekvencia különbség tartományban van, ami alapján elválaszthatók a *Dermanyssus*-fajok. [48] Ezt az elkülönítést két genetikai marker filogenetikai analízise is megerősítette. Azonban a magyarországi galamb vonatkozású *D.gallinae* L1 vonal, illetve a *D. gallinae* (s.s) [4, 38] részletes morfológiai vizsgálata és összehasonlítása során nem találtunk kulcsfontosságú taxonómiai eltéréseket (amelyek alapján ez a kettő következetesen megkülönböztethető), igazolva ezzel a faj rejtélyességét. [40, 48] Ugyanakkor, míg az itt vizsgált példányok főbb karakterei megegyeznek a szakirodalomban korábban bemutatottakkal, a női nemi pajzs és az anális pajzs felületmintázata nagyon gyengén fejlett, hálózatossága alig látható.

A molekuláris bizonyítékok és a *D. gallinae* élelciklusának szempontjai alapján feltételezhető, hogy az állatok szállítása (és nem a madarak vándorlása) felelős ennek az atkafajnak Európában való elterjedéséért.[49] Amint azt a jelen eredmények is tükrözik, ez az L1 leszármazási vonalra is vonatkozhat, amely csak galambokhoz köthető [40, 50], figyelembe véve, hogy a házi galambok általában nem vándorolnak, és hogy a megjelenést (vagy az első esetet) bejelentő európai országok ennek a genetikai változatnak mozaikszerű eloszlási mintázatát mutatják (azaz a felbukkanás véletlenszerűnek tűnik, nem kapcsolódik egymáshoz). Nem szabad azonban megfeledkezni arról, hogy a molekuláris vizsgálatok korszakát megelőzően is előfordultak galambatkával összefüggő humán „gamasoidosisos” esetek (pl. UK:[51]; Ausztria:[52]), amelyeket ez a leszármazási ág okozhatott, jelezve annak régre nyúló megjelenését.

Írásos dokumentációk bizonyítják, hogy a Magyarországon fészkelő molnárfecskek a Mediterránium keleti részén áthaladva, Izraelt érintve érik el Afrikát, ahol a telet töltik.[53] Így a magyar illetve izraeli *O. sylviarum* izolátumok között amint azt itt bemutattuk nagyon szoros molekuláris-filogenetikai kapcsolat van. Ez alátámasztja azt a hipotézisünket, hogy (legalábbis Magyarországon) a stacioner élősködő *O. sylviarum* nagy távolságokra történő szóródásában és az ember közeli (szinantrop) élőhelyre érkezésében nagy szerepe van a természetes madárvonulásnak (szemben a *D. gallinae*-vel, melynek terjedésében az emberi szállítás is szerepet játszik). Ezen túlmenően az aktívan vándorló molnárfecske populációk közösségi pihenőhelyeket használnak vonulási útvonaluk mentén, ahol a különböző populációkhoz tartozó madarak keveredhetnek [54]. Ezen pihenő,- éjszakázó helyek általában nádasok, ahol akár ugyanazon a nádszálon közel egymáshoz megülve pihennek meg.[55] Ez a viselkedés megkönnyítheti az ektoparaziták terjedését az egyes gazdák között.

Meglepő módon Magyarországon, a galambokból gyűjtött *O. sylviarum* cox1 szekvenciák 100%-ban megegyeztek a nemrégiben Kanadában publikált szekvenciákkal, melyeket Ontárióban gyűjtöttek 2015-2016-ban egy madárfészekből. [56] Észak-Amerikában elismert tény, hogy a galambok hordozhatnak *O. sylviarum* atkákat, de sokkal kisebb eséllyel mint a házi verebek.[57] Tekintettel arra, hogy jelen tanulmányban Magyarországon két, egymástól több mint 200 km távolságra elhelyezkedő galambtenyészetben találtuk meg ugyanazt a haplotípust, lehetséges, hogy a földrészen átívelő galambkiállításokon való részvétel, a galamb import, illetve export és az állatkereskedelem potenciális szerepet játszanak az *O. sylviarum* terjedésében, hasonlóan ahhoz, amit a *D. gallinae* esetében publikáltak.[49] Ezek az eredmények ellentétben állnak az Európa más országaiban közölt eredményekkel, ahol az *O. sylviarum* minták jelentős szekvenciális eltéréseket és filogenetikai különbségeket mutattak az észak-amerikai izolátumokhoz képest.[42] Például az *O. sylviarum* francia és észak-amerikai izolátumai között a szekvenciák között 2–3% eltérés volt detektálható [41]. Ez ellentétben áll ezen tanulmányban a különbség detektálásának hiányával (teljes azonosítás) hasonló földrajzi összefüggésben (Paeartik összevetve a Nearktikkal).

Magyarországon a molnárfecskekből illetve a díszgalambokból gyűjtött *O. sylviarum* atkák filogenetikai és szekvenciabéli eltérései a haplotípusok gazdaszempifikusságával magyarázhatók. Ennek ellentmond az, hogy a magyarországi molnárfecskekből származó

O. sylviarum minták 99.7%-os genetikai azonosságot mutattak az Izraelben baromfikból gyűjtött mintákkal.

Összefoglalva, eredményeink rávilágítanak az *O. sylviarum* jövőbeni széleskörű molekuláris-filogenetikai elemzésének fontosságára nemzetközileg is, különösen mivel a mai napig csak néhány európai országból számoltak be releváns adatokról.

7.2. *Trichomonas gallinae*

Tudomásunk szerint ez az első tanulmány a *T. gallinae* genetikai sokféleségének vizsgálatáról Magyarországon, Romániában és az egész délkelet-európai régióban, kiegészítve ezzel a korábbi nyugat-, közép- és dél-európai kutatásokat. A legtöbb fertőzött madár ebben a vizsgálatban nem mutatta a klinikai trichomonosis jeleit, kivéve öt galambot (5%). Ehhez hasonlóan a klinikai trichomonosis alacsony prevalenciájáról (0,37%) számoltak be egy 612 galamb bevonásával végzett vizsgálatban [46]. Mivel a *T. gallinae* okozhatja a fertőzött gazda állat pusztulását [58], a tünetek ritkasága részben a súlyosan érintett madarak vizsgálat előtti elpusztulásával magyarázható [46]. Továbbá epidemiológiai szempontból a szubklinikai esetek biztosíthatják ezen protozoák könnyebb terjedését.

Ebben a vizsgálatban a *T. gallinae* mind a négy vizsgált columbiform madárfajban kimutatásra került. A fertőzöttség aránya 73% volt, ami hasonló a nyugat illetve dél Európából származó vizsgálatok esetében tapasztalható 74%-al [31]. A Földközi-tenger térségében, az Ibériai-félszigeten a vadon élő és házi galambok 44,8%-a hordozza a *T. gallinae*-t [46], de egy másik spanyolországi vizsgálatban a prevalencia magasabb volt (79,4%: [59]). Ezenkívül az Egyesült Királyságban más columbiform fajokat, köztük a *C. palumbus*-t és a *S. decaocto*-t is megvizsgálták, és 60%-os előfordulási gyakoriságról számoltak be [60]. Németországban négy fajt (*C. livia*, *Columba oenas*, *C. palumbus* és *S. decaocto*) vizsgáltak, és a madarak 50%-a volt fertőzött *T. gallinae*-vel [61]. Lengyelországban a fertőzöttség prevalenciája a vizsgált versenygalambok körében 37% volt [62].

Az elvégzett szűrővizsgálatok alapján Magyarországon szignifikánsan magasabb volt a *T. gallinae* fertőzés előfordulása a versenygalambok körében, mint a városi galamboknál (95% összevetve 33%-kal). Ennek az eltérésnek az lehet az oka, hogy a versenygalambok könnyen megfertőződhetnek találkozási pontokon (például tenyészetekben vagy kereskedelmi gyűjtőpontokon), közös etető és itató edények

használatával vagy csokolózással. Ezért ezek a helyek, mint gócpontok szerepet játszhatnak a *T. gallinae* átvitelében és terjedésében. Legjobb tudomásunk szerint Európában nincs hasonló tanulmány, amelyben a *T. gallinae* és galambtartás helye közti összefüggéseket vizsgálták volna.

Mind a 4, a vizsgálatban szereplő örvös galamb fertőzött volt *Trichomonas gallinae*-vel. Habár a mintaszám alacsony, ez a látszólag magas (100%) fertőzöttségi arány hasonló mint, amit az örvös galambokat vizsgáló kutatásokban kimutattak Németországban (70%: [31]) és az Ibériai-félszigeten (83,3%: [63]). Ez a magas prevalencia valószínűleg összefüggésbe hozható ezen columbiform faj magyarországi urbanizációs tendenciájával, mivel a közös ivóvízforrásokon (ereszecsatornák, itató tálak, kerti edények) illetve zöldterületeken valószínűleg nagyobb az egymással való érintkezés esélye, ahol az örvös galambok száma az utóbbi időben jelentősen megnőtt [28].

A többi vizsgált madárfajt tekintve, a prevalencia szintén magas volt (94%) a magyarországi kacagó gerlek körében. Információink szerint nem állnak rendelkezésre irodalmi adatok mind a balkáni gerle, mind az kacagó gerle trichomonosisáról Európában, annak ellenére, hogy a kacagó gerleket a kísérleti fertőzés során fogékonyak találták *T. gallinae*-re [64]. A Karib-térségben leírt megbetegedési hullám felhívta az állatorvosok figyelmét a *T. gallinae* monitorozásának szükségességére e madárfajban [65].

A 18S rRNS gén hosszú fragmentuma alapján Magyarországon és Romániában a *Trichomonas* hat genotípusa került kimutatásra columbiform madarakban. Egy referencia szekvenciához képest ezekben legfeljebb nyolc nukleotid különbség volt, ami azt jelenti, hogy a maximális genetikai különbség alacsony volt (0,5%). Összevetve az Észak-Amerikában (3,4%: [28]) és a hazánkkal szomszédos Ausztriában leírtakhoz képest (2,9%: [66]). Magyarországon, a városi galambokból vett mintákból mindössze két genetikai változat került kimutatásra, míg az azonos kereskedelmi-tenyésztési helyen tartott versenygalambokban négy genotípus fordult elő, ami általánosságban kiemeli a hasonló létesítmények járványügyi jelentőségét.

A trichomonosisra jellemző klinikai tünetek Magyarországon csak a D genotípushoz kapcsolódnak. Szélesebb körben a patogenitás és a genetikai variabilitás közötti összefüggést még nem tisztázták teljes mértékben [59]. Egy közelmúltban végzett tanulmány feltárta a léziók kialakulásának kockázati tényezőit [67], azonban nem találtak

szoros összefüggést a patogenitás és a földrajzi eloszlás tekintetében, amikor a columbiform fajokat Európa-szerte vizsgálták [31].

Magyarországon az A és E genotípus kizárólag az örvös galambok és kacagó gerlék esetében volt fellelhető, ami felveti annak a lehetőségét, hogy a vizsgált földrajzi régióban a *T. gallinae* gazdafaj-specifikus törzsei lehetnek jelen illetve, hogy a genotípusok előfordulása a fogságban tartott galambfélék lelőhelyétől függ. Más vizsgálatok során azonban nem találtak összefüggést a columbiform madárfajok és a *T. gallinae* genotípusai között [28, 66]. Ugyanakkor az irodalmi adatok a *T. gallinae* genotípusok előfordulásának rend-specifikus tendenciáit tükrözik [46, 59, 61].

Az eredményeket filogenetikai kontextusban tekintve a 18S rRNS filogenetikai törzsfá topológiája nem mutatott egyértelműen elkülöníthető csoportosulást a tanulmányból származó *T. gallinae* genotípusok között a columbiform madarak faj, élethely vagy tartási módja szerint. Azonban a *Trichomonas* sp. Hu-TG37 a *T. canistomae* és a *T. tenax* filogenetikai csoportjába tartozott, ami arra utalhat, hogy ez egy új faj lehet. A *Trichomonas* sp. Hu-TG37 ezen elkülönülését az alfa-tubulin filogenetikai törzsfá is igazolta. Ismeretes, hogy a *Trichomonas* spp. madárfajtól függően nagy genetikai diverzitást mutathatnak, és ezen fertőzések egy részét a *T. vaginalis*, a *T. tenax* [28, 66] vagy a *T. canistomae*-hoz [59] közeli rokonságban álló genotípusok/fajok okozzák. Jelen tanulmányban elsőként került kimutatásra, hogy a *Trichomonas* sp. Hu-TG37 a *Trichomonas*-fajok azon filogenetikai csoportjába tartozik, amelyek megfertőzhetnek (többek között) házi húsevőket. Ez további epidemiológiai tanulmányokat sürget a kutyák és a galambok közötti lehetséges érintkezésről (például a kertekben itató tálakban lévő vízen keresztül) és ezen egysejtű paraziták átvitelében betöltött szerepéről.

Összegzésképpen elmondható, hogy Magyarországon és Romániában ez az első olyan tanulmány, amely molekuláris módszerekkel tárja fel a *T. gallinae* prevalenciáját és genotípusait különböző columbiform madarakban. Az eredmények arra utalnak, hogy ezen változatok többsége nem gazdaspecifikus, és nem okoz klinikai tüneteket. A legnagyobb fokú genetikai diverzitást és a fertőzöttség magas prevalenciáját a versenygalambok illetve fogságban tartott kacagó gerlék körében került megállapításra, ami rámutat a galambkereskedő-tenyésztő helyek járványtani jelentőségére.

8. ÖSSZEFOGLALÁS

Első kutatásunk célja a hazai madártetűatkák genetikai vizsgálata volt. Ennek során első alkalommal találtuk meg a *Dermanyssus gallinae* L1 vonalát Közép-Európában, galambon. A *D. gallinae* L1 törzsének részletes morfológiai és molekuláris-filogenetikai analízise rejtett (kriptikus) faji státuszba helyezte a *D. gallinae* (s.l.) fajon belül. Szintén megtaláltuk az első molekulárisan és filogenetikailag igazolható *Ornithonyssus sylviarum* városi madárfertőzést hazánkban, molnárfecskéken. Figyelembe véve a molnárfecskék jól dokumentált vonulási útvonalait Magyarország és Afrika között, az ehhez a madárfajhoz kötődő *O. sylviarum* nagy valószínűséggel a Földközi-tenger keleti vidékéről érkezett az atka gazdájaként szolgáló molnárfecskékkel. Ezzel szemben a magyarországi galambokból gyűjtött atkák *cox1* genetikai homogenitást mutattak az észak-amerikai *O. sylviarum*-mal, ami csak a madarak és atkáik emberi tevékenység (pl. kiállításra szállítás vagy állatkereskedés) révén való, nagy távolságokon átívelő kapcsolatával magyarázható.

Második kutatásunk során a *Trichomonas gallinae* fajt vizsgáltuk, amely a madarak világszerte elterjedt, ostoros egysejtű parazitája. Garat-tampon mintákat gyűjtöttünk Magyarországon és Romániában 99 columbiform madártól, köztük 76 verseny-, és városi galambtól (*Columba livia domestica*), négy örvös galambtól (*C. palumbus*), 16 kacagó gerlétől (*S. risoria*) és három balkáni gerlétől (*S. decaocto*). A DNS-kivonást követően ezeket a mintákat molekuláris módszerekkel elemeztük a *T. gallinae* jelenlétére. A *T. gallinae*-t mind a négy vizsgált madárfajban kimutattuk. A versenygalambok körében szignifikánsan magasabb volt a fertőzöttség előfordulása (95%), mint a városi galambok esetében (33%). A többi columbiform madárfaj közül a PCR-pozitivitás aránya az örvös galambok esetében volt a legmagasabb (100%), magas volt szintén (94%) a kacagó gerlék közt, viszont alacsony a balkáni gerlék közt (33%). Egyes genotípusok előfordulása a gazdafajhoz és a mintavételi helyhez köthető. A klinikai tüneteket csak egy genotípussal tudtuk összefüggésbe hozni. A kimutatott *T. gallinae* genotípusok többsége nem gazdaspecifikus és nem okoz klinikai tüneteket. Legjobb tudomásunk szerint ez volt a *T. gallinae* genetikai diverzitásának első vizsgálata Magyarországon, Romániában és az egész délkelet-európai régióban. Összegzésként elmondható, hogy a fogságban tartott columbiform madarak esetében lényegesen magasabb volt a *T. gallinae* fertőzöttség aránya, mint a szabadon élő columbiform madaraknál.

9. SUMMARY

The aim of our first research was to analyse red and fowl mites for their genetic characters. During this study we found *Dermanyssus gallinae* lineage L1 for the first time in central Europe. Detailed morphological and molecular-phylogenetic analyses of *D. gallinae* lineage L1 confirmed its status as a cryptic species within *D. gallinae* (s.l.). We also found the first molecularly confirmed and phylogenetically analyzed urban case of *O. sylviarum* infestation of birds (house martins) in Hungary. Taking into account the well-documented latitudinal migratory routes of house martins between Hungary and Africa, *O. sylviarum* associated with this bird species most likely arrived on its host from the eastern Mediterranean region. In contrast, mites collected from pigeons in Hungary showed *cox1* genetic homogeneity with North American *O. sylviarum*, which can only be explained by a long-distance connection of birds and their mites as part of human activity (e.g. transportation to exhibitions or trading).

During our second research we investigated *Trichomonas gallinae* which is a geographically widespread flagellated protozoan parasite of birds. We collected oropharyngeal swab samples in Hungary and Romania from 99 columbiform birds, including 76 feral pigeons (*Columba livia domestica*), four common wood pigeons (*C. palumbus*), 16 ring doves (*S. risoria*) and three Eurasian collared doves (*S. decaocto*). Following DNA extraction, these samples were analyzed for the presence of *T. gallinae* using molecular methods. *Trichomonas gallinae* was detected in all four examined bird species. Racing feral pigeons had significantly higher prevalence of *T. gallinae* infection (95%) than urban feral pigeons (33%). Among other columbiform bird species, the rate of PCR-positivity was the highest among wood pigeons (100%), also high (94%) among ring doves and low among collared doves (33%). The occurrence of some genotypes appeared to be related to host species and locality. Clinical signs were associated with only one genotype. The results suggest that most of the detected *T. gallinae* genotypes are not host-specific and do not cause clinical signs. To the best of our knowledge, this is the first study on the genetic diversity of *T. gallinae* in Hungary, Romania and the whole southeastern European region. In conclusion, significantly more captive than free-living columbiform birds had *T. gallinae* infection.

10. IRODALOMJEGYZÉK

1. Ahmed H, Naz M, Mustafa I, Khan MR, Asif S, Afzal MS, Arshad M, Naveed M, Ali S, Simsek S (2017) Impact of epidemiological factors on the prevalence, intensity and distribution of ectoparasites in pigeons. *J Parasit Dis* 41:1074–1081. <https://doi.org/10.1007/s12639-017-0936-0>
2. Tayyub M, Ali S, Javid A, Imran M (2021) Prevalence and diversity of ectoparasites in Wild Rock Pigeon (*Columba livia*) in Punjab region, Pakistan. *Braz J Biol* 83:. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.246887>
3. Chauve C (1998) The poultry red mite *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778): current situation and future prospects for control. *Vet Parasitol* 79:239–245. [https://doi.org/10.1016/s0304-4017\(98\)00167-8](https://doi.org/10.1016/s0304-4017(98)00167-8)
4. Di Palma A, Giangaspero A, Cafiero MA, Germinara GS (2012) A gallery of the key characters to ease identification of *Dermanyssus gallinae* (Acari: Gamasida: Dermanyssidae) and allow differentiation from *Ornithonyssus sylviarum* (Acari: Gamasida: Macronyssidae). *Parasit Vectors* 5:104. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-5-104>
5. Moroni B, Barlaam A, Misia AL, Peano A, Rossi L, Giangaspero A (2021) *Dermanyssus gallinae* in non-avian hosts: A case report in a dog and review of the literature. *Parasitology International* 84:102378. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2021.102378>
6. Cafiero MA, Barlaam A, Camarda A, Radeski M, Mul M, Sparagano O, Giangaspero A (2019) *Dermanyssus gallinae* attacks humans. Mind the gap! *Avian Pathology* 48:S22–S34. <https://doi.org/10.1080/03079457.2019.1633010>
7. Bircher AJ Ectoparasites from feral pigeons affecting humans
8. Dr.Ballay A, Dr.Ballay A, Dr.Horn P, Dr.Kakuk T, Dr.Lovas L, Dr.Perényi M, Dr.Szappanos I, Dr.Szűcs L (1991) Galamb tenyésztők kézikönyve. Mezőgazdasági kiadó
9. Knee W, Proctor H (2007) Host Records for *Ornithonyssus sylviarum* (Mesostigmata: Macronyssidae) from Birds of North America (Canada, United States, and Mexico). *Journal of Medical Entomology* 44:709–713. <https://doi.org/10.1093/jmedent/44.4.709>
10. Murillo AC, Mullens BA (2017) A review of the biology, ecology, and control of the northern fowl mite, *Ornithonyssus sylviarum* (Acari: Macronyssidae). *Veterinary Parasitology* 246:30–37. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.09.002>
11. Haag-Wackernagel D (2005) Parasites from feral pigeons as a health hazard for humans. *Annals of Applied Biology* 147:203–210. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2005.00029.x>
12. Boxler B, Odermatt P, Haag-Wackernagel D (2016) Host finding of the pigeon tick *Argas reflexus*. *Medical and Veterinary Entomology* 30:193–199. <https://doi.org/10.1111/mve.12165>
13. Alipour Tehrani Y, Laffitte E (2018) *Argas reflexus* dermatitis and nocturnal pruritus. *IDCases* 14:e00456. <https://doi.org/10.1016/j.idcr.2018.e00456>
14. Buczek A, Bartosik K, Kulina D, Raszewska-Famielec M, Borzęcki A (2018) Skin lesions in humans bitten by European pigeon tick *Argas reflexus* (Fab.) (Ixodida: Argasidae) massively occurring in the Upper Silesian conurbation of south-west Poland. *Ann Agric Environ Med* 25:234–240. <https://doi.org/10.26444/aaem/74137>
15. Baldwin-Brown JG, Villa SM, Vickrey AI, Johnson KP, Bush SE, Clayton DH, Shapiro MD (2021) The assembled and annotated genome of the pigeon louse *Columbicola columbae*, a model ectoparasite. *G3 Genes|Genomes|Genetics* 11:jkab009. <https://doi.org/10.1093/g3journal/jkab009>

16. Fukatsu T, Koga R, Smith WA, Tanaka K, Nikoh N, Sasaki-Fukatsu K, Yoshizawa K, Dale C, Clayton DH (2007) Bacterial Endosymbiont of the Slender Pigeon Louse, *Columbicola columbae*, Allied to Endosymbionts of Grain Weevils and Tsetse Flies. *Appl Environ Microbiol* 73:6660–6668. <https://doi.org/10.1128/AEM.01131-07>
17. Raelle DA, Galante D, Pugliese N, La Salandra G, Lomuto M, Cafiero MA (2018) First report of *Coxiella burnetii* and *Borrelia burgdorferi* sensu lato in poultry red mites, *Dermanyssus gallinae* (Mesostigmata, Acari), related to urban outbreaks of dermatitis in Italy. *New Microbes New Infect* 23:103–109. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2018.01.004>
18. Chirico J, Eriksson H, Fossum O, Jansson D (2003) The poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*, a potential vector of *Erysipelothrix rhusiopathiae* causing erysipelas in hens. *Med Vet Entomol* 17:232–234. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2915.2003.00428.x>
19. Circella E, Pugliese N, Todisco G, Cafiero MA, Sparagano O a. E, Camarda A (2011) *Chlamydia psittaci* infection in canaries heavily infested by *Dermanyssus gallinae*. *Exp Appl Acarol* 55:329–338. <https://doi.org/10.1007/s10493-011-9478-9>
20. Valiente Moro C, Chauve C, Zenner L (2005) Vectorial role of some dermanyssoid mites (Acari, Mesostigmata, Dermanyssoidea). *Parasite* 12:99–109. <https://doi.org/10.1051/parasite/2005122099>
21. Sommer D, Heffels-Redmann U, Köhler K, Lierz M, Kaleta EF (2016) Rolle der Roten Vogelmilbe (*Dermanyssus gallinae*) bei der Übertragung von aviärem Influenza-A-Virus. *Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere* 44:26–33. <https://doi.org/10.15653/TPG-150413>
22. George DR, Finn RD, Graham KM, Mul MF, Maurer V, Moro CV, Sparagano OA (2015) Should the poultry red mite *Dermanyssus gallinae* be of wider concern for veterinary and medical science? *Parasit Vectors* 8:178. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-0768-7>
23. Sioutas G, Minoudi S, Tiligada K, Chliva C, Triantafyllidis A, Papadopoulos E (2021) Case of Human Infestation with *Dermanyssus gallinae* (Poultry Red Mite) from Swallows (Hirundinidae). *Pathogens* 10:299. <https://doi.org/10.3390/pathogens10030299>
24. Purple KE, Humm JM, Kirby RB, Saidak CG, Gerhold R (2015) *Trichomonas gallinae* Persistence in Four Water Treatments. *Journal of Wildlife Diseases* 51:739–742. <https://doi.org/10.7589/2014-05-137>
25. KOCAN RM (1969) VARIOUS GRAINS AND LIQUID AS POTENTIAL VEHICLES OF TRANSMISSION FOR *Trichomonas gallinae*. *Bulletin of the Wildlife Disease Association* 5:148–149. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-5.3.148>
26. Villanúa D, Höfle U, Pérez-Rodríguez L, Gortázar C (2006) *Trichomonas gallinae* in wintering Common Wood Pigeons *Columba palumbus* in Spain. *Ibis* 148:641–648. <https://doi.org/10.1111/j.1474-919X.2006.00561.x>
27. Amin A, Bilic I, Liebhart D, Hess M (2014) *Trichomonads* in birds – a review. *Parasitology* 141:733–747. <https://doi.org/10.1017/S0031182013002096>
28. Gerhold RW, Yabsley MJ, Smith AJ, Ostergaard E, Mannan W, Cann JD, Fischer JR (2008) Molecular Characterization of the *Trichomonas gallinae* Morphologic Complex in the United States. *para* 94:1335–1341. <https://doi.org/10.1645/GE-1585.1>
29. Stabler RM (1954) *Trichomonas gallinae*: A review. *Experimental Parasitology* 3:368–402. [https://doi.org/10.1016/0014-4894\(54\)90035-1](https://doi.org/10.1016/0014-4894(54)90035-1)
30. Gerhold RW, Tate CM, Gibbs SE, Mead DG, Allison AB, Fischer JR (2007) Necropsy Findings and Arbovirus Surveillance in Mourning Doves from the Southeastern United States. *Journal of Wildlife Diseases* 43:129–135. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-43.1.129>

31. Marx M, Reiner G, Willems H, Rocha G, Hillerich K, Masello JF, Mayr SL, Moussa S, Dunn JC, Thomas RC, Goodman SJ, Hamer KC, Metzger B, Cecere JG, Spina F, Koschkar S, Calderón L, Romeike T, Quillfeldt P (2017) High prevalence of *Trichomonas gallinae* in wild columbids across western and southern Europe. *Parasites Vectors* 10:242. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2170-0>
32. Yang R, Brice B, Elloit A, Ryan U (2016) Morphological and molecular characterization of *Eimeria labbeana*-like (Apicomplexa:Eimeriidae) in a domestic pigeon (*Columba livia domestica*, Gmelin, 1789) in Australia. *Experimental Parasitology* 166:124–130. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2016.04.009>
33. Arafa WM, Abolhadid SM, Moawad A, Abdelaty AS, Moawad UK, Shokier KAM, Shehata O, Gadelhaq SM (2020) Thymol efficacy against coccidiosis in pigeon (*Columba livia domestica*). *Prev Vet Med* 176:104914. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2020.104914>
34. Norman D. L (1985) *Veterinary Protozoology*, 1. Iowa State University Press
35. Parmentier SL, Maier-Sam K, Failing K, Gruber AD, Lierz M (2019) High prevalence of *Sarcocystis calchasi* in racing pigeon flocks in Germany. *PLOS ONE* 14:e0215241. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215241>
36. Olias P, Gruber AD, Hafez HM, Heydorn AO, Mehlhorn H, Lierz M (2010) *Sarcocystis calchasi* sp. nov. of the domestic pigeon (*Columba livia* f. *domestica*) and the Northern goshawk (*Accipiter gentilis*): light and electron microscopical characteristics. *Parasitol Res* 106:577–585. <https://doi.org/10.1007/s00436-009-1701-9>
37. USHIO N, WATANABE K, CHAMBERS JK, SHIBATO T, NAKAYAMA H, UCHIDA K (2015) *Sarcocystis calchasi* encephalitis in a rock pigeon. *J Vet Med Sci* 77:1523–1526. <https://doi.org/10.1292/jvms.15-0176>
38. Moss WW (1968) An Illustrated Key To The Species Of The Acarine Genus *Dermanyssus* (Mesostigmata: Laelapoidea: Dermanyssidae)1. *Journal of Medical Entomology* 5:67–84. <https://doi.org/10.1093/jmedent/5.1.67>
39. Denmark HA, Cromroy HL Tropical Fowl Mite, *Ornithonyssus bursa* (Berlese) (Arachnida: Acari: Macronyssidae). 3
40. Pezzi M, Leis M, Chicca M, Roy L (2017) Gamasoidosis caused by the special lineage L1 of *Dermanyssus gallinae* (Acarina: Dermanyssidae): A case of heavy infestation in a public place in Italy. *Parasitol Int* 66:666–670. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2017.05.001>
41. Roy L, Chauve CM, Buronfosse T (2010) Contrasted ecological repartition of the Northern Fowl Mite *Ornithonyssus sylviarum* (Mesostigmata: Macronyssidae) and the Chicken Red Mite *Dermanyssus gallinae* (Mesostigmata: Dermanyssidae). *Acarologia* 50:207–219. <https://doi.org/10.1051/acarologia/20101958>
42. Jansson DS, Otman F, Lundqvist L, Höglund J, Engström A, Chirico J (2014) Northern fowl mite (*Ornithonyssus sylviarum*) in Sweden. *Medical and Veterinary Entomology* 28:443–446. <https://doi.org/10.1111/mve.12053>
43. Dowling A, Oconnor BM (2010) Phylogeny of *Dermanyssoidea* (Acari: Parasitiformes) suggests multiple origins of parasitism. *Acarologia* 50:113–129. <https://doi.org/10.1051/acarologia/20101957>
44. Black M, Hoeh W, Lutz R, Vrijenhoek R DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. 7
45. Hornok S, Sándor AD, Beck R, Farkas R, Beati L, Kontschán J, Takács N, Földvári G, Silaghi C, Meyer-Kayser E, Hodžić A, Tomanović S, Abdullah S, Wall R, Estrada-Peña A, Duscher GG, Plantard O (2017) Contributions to the phylogeny of *Ixodes* (*Pholeoixodes*) *canisuga*, I. (Ph.) *kaiseri*, I. (Ph.) *hexagonus* and a simple pictorial key for the identification of their females. *Parasit Vectors* 10:545. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2424-x>

46. Sansano-Maestre J, Garijo-Toledo MM, Gómez-Muñoz MT (2009) Prevalence and genotyping of *Trichomonas gallinae* in pigeons and birds of prey. *Avian Pathology* 38:201–207. <https://doi.org/10.1080/03079450902912135>
47. Sargison ND, Jacinavicius FC, Fleming RH, Chaudhry UN, Costa-Junior LM (2020) Investigation of a gamasid mite infestation in a UK textile mill caused by *Dermanyssus gallinae* (DeGeer, 1778) (Mesostigmata: Dermanyssidae) special lineage L1. *Parasitol Int* 78:102146. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2020.102146>
48. Roy L, Dowling APG, Chauve CM, Buronfosse T (2009) Delimiting species boundaries within *Dermanyssus Dugès, 1834* (Acari:Dermanyssidae) using a total evidence approach. *Mol Phylogenet Evol* 50:446–470. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2008.11.012>
49. Roy L, Buronfosse T (2011) Using mitochondrial and nuclear sequence data for disentangling population structure in complex pest species: a case study with *Dermanyssus gallinae*. *PLoS One* 6:e22305. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022305>
50. Galante D, Antonio Raelo D, Mc N, E P, Cafiero MA, Lomuto M (2017) Outbreaks of *Dermanyssus gallinae* (Acari, Mesostigmata) Related Dermatitis in Humans in Public and Private Residences, in Italy (2001-2017): An Expanding Skin Affliction. *J Clin Case Rep* 7:. <https://doi.org/10.4172/2165-7920.10001035>
51. Neill S m., Monk B e., Pembroke A c. (1985) Gamasoidosis: avian mite dermatitis (*Dermanyssus gallinae*). *British Journal of Dermatology* 113:44–44. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.1985.tb13013.x>
52. Bardach H (1981) [Acariasis due to *dermanyssus gallinae* (gamosoidosis) in Vienna (author’s transl). *Z Hautkr* 56:21–26
53. Szép T, Liechti F, Nagy K, Nagy Z, Hahn S (2017) Discovering the migration and non-breeding areas of sand martins and house martins breeding in the Pannonian basin (central-eastern Europe). *Journal of Avian Biology* 48:114–122. <https://doi.org/10.1111/jav.01339>
54. Shirihai H, Svensson L (2018) *Handbook of Western Palearctic Birds, Volume 1: Passerines: Larks to Warblers*. Bloomsbury Publishing
55. Curry-Lindahl K (1963) Roosts of Swallows (*hirundo Rustica*) and House Martins (*delichon Urbica*) During the Migration in Tropical Africa. *Ostrich* 34:99–101. <https://doi.org/10.1080/00306525.1963.9633820>
56. Young MR, Proctor HC, deWaard JR, Hebert PDN (2019) DNA barcodes expose unexpected diversity in Canadian mites. *Molecular Ecology* 28:5347–5359. <https://doi.org/10.1111/mec.15292>
57. Foulk JD, Matthyse JG (1965) *Ornithonyssus sylviarum* (Acarina: Mesostigmata) from Wild Birds and Their Nests. *The Journal of Parasitology* 51:126–127. <https://doi.org/10.2307/3275658>
58. Stockdale JE, Dunn JC, Goodman SJ, Morris AJ, Sheehan DK, Grice PV, Hamer KC (2015) The protozoan parasite *Trichomonas gallinae* causes adult and nestling mortality in a declining population of European Turtle Doves, *Streptopelia turtur*. *Parasitology* 142:490–498. <https://doi.org/10.1017/S0031182014001474>
59. Martínez-Herrero MC, Sansano-Maestre J, López Márquez I, Obón E, Ponce C, González J, Garijo-Toledo MM, Gómez-Muñoz MT (2014) Genetic characterization of oropharyngeal trichomonad isolates from wild birds indicates that genotype is associated with host species, diet and presence of pathognomonic lesions. *Avian Pathology* 43:535–546. <https://doi.org/10.1080/03079457.2014.967660>
60. Lennon RJ, Dunn JC, Stockdale JE, Goodman SJ, Morris AJ, Hamer KC (2013) Trichomonad parasite infection in four species of Columbidae in the UK. *Parasitology* 140:1368–1376. <https://doi.org/10.1017/S0031182013000887>

61. Quillfeldt P, Schumm YR, Marek C, Mader V, Fischer D, Marx M (2018) Prevalence and genotyping of *Trichomonas* infections in wild birds in central Germany. *PLOS ONE* 13:e0200798. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200798>
62. Bobrek K, Urbanowicz J, Chorbiński P, Gawel A (2017) Molecular analysis of *Trichomonas gallinae* in racing pigeons from Upper Silesia, Poland. *Polish Journal of Veterinary Sciences* 20:185–187. <https://doi.org/10.1515/pjvs-2017-0023>
63. Santos N, Jambas J, Monteiro A, Amaral J, Martins N, Garcia J, Fernández AM, Tyler KM, Almeida T, Abrantes J, Esteves PJ (2019) *Trichomonas* Infection in a Community of Free-Ranging Domestic and Wild Columbiformes and Bonelli's Eagle (*Aquila fasciata*). *Front Vet Sci* 6:148. <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00148>
64. POWELL EC, HOLLANDER WF (1982) *Trichomonas gallinae* INFECTIONS IN THE RINGDOVE (*Streptopelia risoria*). *Journal of Wildlife Diseases* 18:89–90. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-18.1.89>
65. Stimmelmayer R, Stefani LM, Thrall MA, Landers K, Revan F, Miller A, Beckstead R, Gerhold R (2012) Trichomonosis in Free-Ranging Eurasian Collared Doves (*Streptopelia decaocto*) and African Collared Dove Hybrids (*Streptopelia risoria*) in the Caribbean and Description of ITS-1 Region Genotypes. *Avian Diseases* 56:441–445. <https://doi.org/10.1637/9905-082311-Case.1>
66. Grabensteiner E, Bilic I, Kolbe T, Hess M (2010) Molecular analysis of clonal trichomonad isolates indicate the existence of heterogenic species present in different birds and within the same host. *Veterinary Parasitology* 172:53–64. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.04.015>
67. Martínez-Herrero MC, Sansano-Maestre J, Azami-Conesa I, González-González F, Suárez Regalado L, Garijo-Toledo MM, Gómez-Muñoz MT (2021) Sequence subtyping of *Trichomonas gallinae* from Bonelli's eagle (*Aquila fasciata*) during four years (2014–2017) reveals that MLS type is associated with lesions. *Avian Pathology* 50:339–349. <https://doi.org/10.1080/03079457.2021.1940099>

11. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretném köszönetemet kifejezni témavezetőmnek, Dr. Hornok Sándor tanszékvezető Úrnak, aki hatalmas segítséget nyújtott a témaválasztásban, a szakmai munka tervezésében, kivitelezésében és kitartó munkájával segítette megvalósítani a kutatásomat.

Köszönettel tartozom Dr. Tuska-Szalay Barbarának a mintagyűjtésben és a DNS kivonásban nyújtott segítségével. Továbbá köszönetel tartozom Takács Nórának, a Parazitológiai és Állattani Tanszék munkatársának a PCR vizsgálatok végzésben, szekvenálás előkészítésben nyújtott segítségével.

Köszönöm dr. Berta Krisztián segítségét a kutatásomhoz használt minták gyűjtésében, köszönöm Varga Lászlónak, illetve a többi galambász ismerősömnek, aki hozzájárult a galambjaikon végzett mintavételezéshez. Továbbá köszönettel tartozom Sándor Attilának és Péter Áronnak az Erdélyben gyűjtött mintákért.

Köszönettel tartozom dr. Kerek Ádámnak és Dr. Jerzsele Ákosnak a Gyógyszertani és Méregtani Tanszék vezetőjének a táptalajok biztosításáért, és a tenyésztésben nyújtott segítségükért.

Köszönöm Dr. Kontschán Jenőnek a törzsfák elkészítését és a szakmai munkában nyújtott segítségét.


Hálás köszönettel tartozom a menyasszonyomnak, a családomnak és barátaimnak, akikre a legnehezebb pillanatokban is számíhattam, és a munkám folyamán végig támogattak és mellettem álltak.

A TKP2020-NKA-01 számú projekt a Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Alapból biztosított támogatással, a Tématerületi Kiválósági Program 2020 (2020-4.1.1-TKP2020) pályázati program finanszírozásában valósult meg.

TÉMAVEZETŐI NYILATKOZAT

Alulírott **Dr. Hornok Sándor**, mint témavezető nyilatkozom, hogy **Sipos Gábor** állatorvostan-hallgató „**Galambélősködők molekuláris járványtani vizsgálata**” c. dolgozata részt vehet az Állatorvostudományi Egyetem 2022. évi Tudományos Diákköri Konferenciáján.

Budapest, 2022. október hó 14. nap.



.....

Dr. Hornok Sándor

témavezető

1. melléklet Nyilatkozat TDK- és szakdolgozat azonosságáról

NYILATKOZAT

Alulírott **Sipos Gábor** (DPEEI8) nyilatkozom, hogy szakdolgozatom, melynek címe **„Galambélősködők molekuláris járványtani vizsgálata”** tartalmi és formai szempontból teljes mértékben megegyezik azonos című, a 2022. évi TDK konferencián szerepelt dolgozatommal.

Budapest, 2023. október 10.



Sipos Gábor



Diplomamunka konzultációs lap állatorvostan hallgatók részére

A hallgató neve: Sipos Gábor

Neptun-kódja: DPEE18

A témavezető neve és beosztása: Dr. Hornok Sándor – tanszékvezető, egyetemi tanár

Tanszék: Parazitológiai és Állattani Tanszék

A diplomadolgozat címe: Galambélősködők molekuláris járványtani vizsgálata

Konzultáció - 1. félév

	Időpont			Téma/Témavezető megjegyzése	Témavezető aláírása
	Év	Hó	Nap		
1.	2022.	02.	18.	Minták feldolgozása, kiértékelése	<i>Hok Sár</i>
2.	2022.	03.	17.	Minták feldolgozása, kiértékelése	<i>Hok Sár</i>
3.	2022.	04.	04.	Minták feldolgozása, kiértékelése	<i>Hok Sár</i>
4.	2022.	04.	22.	Minták feldolgozása, kiértékelése	<i>Hok Sár</i>
5.	2022.	05.	23.	Minták feldolgozása, kiértékelése	<i>Hok Sár</i>

Érdemjegy az első félév végén: *5 (jelas)*

Konzultáció - 2. félév

	Időpont			Téma/Témavezető megjegyzése	Témavezető aláírása
	Év	Hó	Nap		
1.	2022.	08.	22.	TDK dolgozat elkészítésének szempontjai	<i>Hok Sár</i>
2.	2022.	09.	13.	TDK dolgozat elkészítésének szempontjai	<i>Hok Sár</i>
3.	2022.	09.	27.	TDK dolgozat elkészítésének szempontjai	<i>Hok Sár</i>
4.	2022.	10.	11.	TDK dolgozat elkészítésének szempontjai	<i>Hok Sár</i>
5.	2022.	10.	18.	TDK dolgozat elkészítésének szempontjai	<i>Hok Sár</i>

Érdemjegy a második félév végén: *5 (jelas)*

A nyomtatvány a hallgatói és a tanszéki ügyintézői aláírás, valamint az átvétel dátuma nélkül nem érvényes. A konzultációs lap a diplomamunka mellékletét képezi!



A diplomamunka - a szakra vonatkozóan - a Tanulmányi- és Vizsgaszabályzatban, valamint az Útmutató a szakdolgozatok/diplomamunkák készítéséhez című mellékletében leírt követelményeknek megfelel.

A diplomamunka befogadható, védésre alkalmasnak találtam.

Hallgató aláírása:

Dr. Kőrösi

.....
témavezető aláírása

Tanszéki előadó aláírása: *Dr. Fülöp* Átvétel dátuma: *2022. 11. 15.*