

Szent István Egyetem, Állatorvos-tudományi Kar

Parazitológiai és Állattani Tanszék



***A *Borrelia burgdorferi* sensu lato és a *Borrelia miyamotoi* baktériumok  
járványtani vizsgálata a gemenci kisemlősökben és kullancaikban***

**Készítette:** Krizsán Boglárka

**Témavezető:** Dr. Földvári Gábor  
Parazitológiai és Állattani Tanszék  
SZIE-ÁOTK, egyetemi adjunktus

Budapest

2015

## Tartalomjegyzék

<b>1. Bevezetés és célkitűzések</b> .....	3
<b>2. Irodalmi áttekintés</b> .....	4
2.1 A Gemencen előforduló kisméltós fajok .....	4
2.2 A kullancsok.....	4
2.3 A <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato .....	5
2.4 A <i>Borrelia miyamotoi</i> .....	8
<b>3. Anyag és módszer</b> .....	10
3.1 Helyszín.....	10
3.2 Kullancsgyűjtés .....	11
3.3 Szövetminták.....	11
3.4 Molekuláris biológiai vizsgálatok .....	12
3.4.1 DNS kivonás .....	12
3.4.2 Polimeráz láncreakció .....	12
<b>4. Eredmények</b> .....	14
4.1 A csapdázott kisméltósok és vizsgálati eredményeik.....	14
4.2 A növényzetről gyűjtött kullancsok és vizsgálati eredményeik .....	15
4.3 A rágcsálókról gyűjtött kullancsok és vizsgálati eredményeik .....	17
4.4 A szekvenálás eredményei .....	19
<b>5. Megbeszélés</b> .....	21
<b>6. Összefoglalás</b> .....	24
<b>7. Summary</b> .....	25
<b>8. Köszönetnyilvánítás</b> .....	26
<b>9. Irodalomjegyzék</b> .....	27

## 1. Bevezetés és célkitűzések

A hazánkban élő kisemlős közösségek leggyakoribb képviselői az egerek és pockok, melyek a táplálékláncban betöltött szerepükön kívül betegségek terjesztésében is fontos szerepet játszanak. Jelentős ektoparazitáik a kullancsok, melyek közismerten számos kórokozó vektorai. A gazdaállaton történő élősködésük során ezeket a kórokozókat adhatják át a kisemlősöknek, így azok a mikroorganizmusok rezervoárjaivá válnak: később egy új, esetleg még fertőzésmentes kullancs a vérszívás során fertőződhet tőlük.

A kisemlősökön gyakran megtalálható *Ixodes*-fajok felelősek a *Borrelia burgdorferi* sensu lato (s. l.) baktériumok terjesztéséért is. Ez a zoonotikus, kullancsok terjesztette baktérium okozza a humán Lyme-kórt. Ugyanezen *Ixodes*-fajok más kórokozók vektorai is, így például a *Borrelia miyamotoi* baktériumé, amely a visszatérő láz nevű kórkép okozója. Ez a kórokozó szoros rokonságban áll a Lyme-borreliózist okozó baktériumokkal, mégis számos tulajdonságában eltér attól.

Munkánk során igazolni kívánjuk a gemenci rágcsálók potenciális rezervoár szerepét azáltal, hogy a róluk gyűjtött kullancsokban és szövetmintákban, valamint a növényzetről gyűjtött kullancsokban kimutatjuk a *B. burgdorferi* s. l. és *B. miyamotoi* baktériumokat. Utóbbi kórokozó meglehetősen új kutatási területnek számít: klinikuma, háttere és gyógykezelése sem teljesen tisztázott, így amennyiben sikerül bebizonyítanunk jelenlétét a gemenci kisemlősökben és kullancsaikban, az hozzájárulhat az általa okozott betegség szélesebb körű megismeréséhez.

Célkitűzések:

- a *Borrelia burgdorferi* s. l. és a közelmúltban leírt *Borrelia miyamotoi* baktériumok kimutatása a kullancsokból
- a kisemlős szövetminták vizsgálata a fentebb említett kórokozókra

## 2. Irodalmi áttekintés

### 2.1 A Gemencen előforduló kisemlős fajok

Hazánk természetes élőhelyein nagy diverzitásban és egyedszámban fordulnak elő kisemlősök, így Gemenc területén is számos képviselőjükkel találkozhatunk. Irodalmi adatok alapján (Lanszki et al. 2008) kijelenthetjük, hogy az egérfélék dominálnak e területen (90,6%), közülük is a pirók erdeieger (*Apodemus agrarius*) a leggyakoribb. Ezt követi a közönséges erdeieger (*Apodemus sylvaticus*) és a sárganyakú erdeieger (*Apodemus flavicollis*), míg a kislábú erdeieger (*Apodemus uralensis*) igen ritkán csapdázható. Az egérféléket a pockok követik 8,8%-os előfordulási gyakorisággal, jelentősebb képviselőik a vöröshátú erdeipocok (*Myodes glareolus*), a mezei pocok (*Microtus arvalis*), a közönséges kószapocok (*Arvicola amphibius*) és védett csalitjáró pocok (*Microtus agrestis*). Mindössze 0,6 %-ban képviseltetik magukat a cickányfélék, közülük is a törpe cickány (*Sorex minutus*) (Lanszki et al. 2008). Egy új, a kisemlősök kullancsainak járványtani szerepeire irányuló kutatás során több mint ötszáz rágcsáló került befogásra Gemencen, melyek között a pirók és a sárganyakú erdeieger, a vöröshátú erdeipocok és a mezei pocok képviseltették magukat, de a fajlistán két eddig nem csapdázott faj is megjelent: a törpeeger (*Micromys minutus*) és a házi egér (*Mus musculus*) (Szekeres et al. 2015).

A kisemlősök gazdaállatai számos ektoparazitának, közöttük sok csáprágósnak (kullancsoknak és atkáknak) is. Feltehetőleg több kullancsfaj élőszködik a rágcsálókön, mint bármely más rend tagjain (Hillyard, 1996).

### 2.2 A kullancsok

A kullancsok az ízeltlábúak (Arthropoda) törzsébe, a csáprágósok (Chelicerata) altörzsébe, a pókszabásúak (Arachnida) osztályába, ezen belül az atkák (Acari) alosztályába és a kullancsfélék (Ixodidae) családjába tartoznak. Testük az elülső gnathoszómára és a hátulsó idioszómára osztható, ez utóbbi a lábakat viselő podoszómát és az e mögötti opiszthoszómát foglalja magába. A lárvák hat, míg a nimfák és adultok (kifejlett egyedek) nyolc lábbal rendelkeznek (Hillyard, 1996). A feji részen találjuk a tapogatókat, a szipókat, az alsó és a páros felső állkapcsot. A tulajdonképpeni testen helyezkedik el a pajzs. Az adult kullancsok ivara a pajzs és a test aránya alapján könnyedén megkülönböztethető, ugyanis hímeekben a pajzs az egész háti felületre kiterjed, míg nőstények esetében csak a hát elülső részét fedi, tehát a kullancsok ivari

dimorfizmusa igen kifejezett (Nosek & Sixl 1972). Első lábukon helyezkedik el a Haller-szerv, mely érzékelő funkciót lát el: kemoreceptorok, illetve egyéb, a páratartalmat és hőmérsékletet érzékelő receptorok találhatóak itt (Foelix & Axtell 1971).

A kullancsok a gazdaállat vérével táplálkoznak. Nyálmirigy-váladékuk érzéstelenítőt, valamint véralvadást és sebgyógyulást gátló faktorokat tartalmaz, és olyan cementszerű anyagot választanak ki, ami rögzíti az állatot táplálkozás közben. A nőstény kullancsok több napon keresztül szívják az áldozat vérének, közben testük a többszörösére duzzad. Hímek esetében a jelentős méretnövekedést a hátukat teljesen beborító pajzs gátolja, így ők többször, kis mennyiséget szívhatnak (Wall & Shearer 1997).

Fejődésük részleges átalakulás. A nőstény megtermékenyítése a gazdaállaton történik, majd lehullva a földre egyszerre több ezer petét is lerakhat. A kikelő lárvák így egy helyen nagy számban fordulnak elő (Hillyard 1996). Életük során egy, két vagy három gazdaegyedről szívhatnak vért. A legtöbb kullancs háromgazdás, azaz minden fejlődési stádium leválik a gazdaállatról táplálkozás után. Egyes *Rhipicephalus*- és *Hyalomma*-fajok kétgazdásak, míg a korábban *Boophilus* nembe sorolt *Rhipicephalus*-fajok, az *Amblyomma nitens* és a *Dermacentor albipictus* egygazdásak, azaz egész életüket egyetlen gazdaállaton töltik (Barker & Murrell 2004).

Leggyakrabban a gazda által nem elérhető, vékonybőrű helyeken (pl. fülek töve) táplálkoznak, ahol kezdetben alig észrevehetőek, de vérszívás közben megduzzadva már jól láthatóak. Az áldozatukban vérveszteséget, és az átadott kórokozók által különféle kórképeket alakíthatnak ki (Bowman & Nuttall 2008).

Némely kullancsok sok gazdafajt elfogadnak táplálékforrásként (pl. *Ixodes ricinus*), mások ennél szelektívebbek (pl. *I. acuminatus* és *I. hexagonus*), és akadnak kis számban olyanok is, melyek kizárólag egyetlen fajt preferálnak (pl. az *I. lividus*). Az európai rágcsálókön leggyakrabban fellelhető kullancsok az *I. acuminatus*, *I. apronophorus*, *I. hexagonus*, *I. ricinus*, *I. trianguliceps*, *Dermacentor marginatus*, *D. reticulatus* és *Haemaphysalis concinna* (Hillyard, 1996).

### 2.3 A *Borrelia burgdorferi* sensu lato

A *Borrelia* genusz a Spirochetales rend genuszainak egyike. Mozgékony, 5-25 µm hosszú, 0,2-0,5 µm széles baktériumok tartoznak ide, járványtanilag legfontosabb képviselőjük a *Borrelia burgdorferi* sensu lato (s. l.) csoport (Lakos 2009).

Ebbe a csoportba jelenleg 20 fajt sorolnak, melyek között megtalálhatjuk a Lyme-kór kórokozóit. Bizonyítottan előidézi a betegséget a *Borrelia burgdorferi* sensu stricto (s. s.), a *B. garinii*, *B. afzelii*, *B. bissettii*, *B. lusitaniae* és *B. spielmanii* (Földvári et al. 2005; Stanek et al. 2012). Más fajok, mint a *B. japonica*, *B. andersonii*, *B. sinica*, *B. turdi* és *B. tanukii*, nem okoznak megbetegedést (Richter et al. 2006).

A Lyme-borreliózist először az USA-ban észlelték egy rheumatoid arthritis járvány kapcsán 1975-ben, Old Lyme városának közelében. A kórokozó Willy Burgdorfer után kapta a nevét, aki szarvasokon talált kullancsokból izolálta a mikroorganizmust. Azóta a betegség jelentős közegészségügyi problémává nőtte ki magát, nemcsak az Egyesült Államokban, hanem Európában is. Hazánkban 1998 óta bejelentési kötelezettség alá tartozik, évente minden 100.000 emberből 80-100 betegszik meg, és a szubklinikai eseteket legalább ugyanennyire becsülik (Wagner et al. 2010; Lakos 2009).

A Lyme-kórt kullancs vektorok közvetítik, Európában és Ázsiában az *I. ricinus* és *I. persulcatus*, Észak-Amerikában pedig az ott gyakori *I. scapularis* és *I. pacificus*. Az egész világon vektor szerepet tölthet be a vándormadarakon élősködő *I. uriae* (Ruel 1993). A betegség fő rezervoárjai a kisemlősök, néhány madárfaj (Stanek et al. 2012), és egyes gyíkfajok (Földvári & Rigó 2009). A rezervoárokból fajoként eltérő ideig és eltérő intenzitással alakul ki bakterémia, ez befolyásolja a rajtuk táplálkozó, betegséget még nem hordozó kullancsok fertőződését (Rigó et al. 2012).

A kullancsok a kórokozót a középbelükben hordozzák. A spirochéták által itt termelt OspA és a kullancs nyálmirigyében termelt OspC protein segítik a kórokozót a gazdaszervezet sejtjeihez való kötődésben. A táplálkozás során a fertőzött kullancs az áldozata szervezetébe juttathatja a baktériumokat nyálmirigyváladéka által (Stanek et al. 2012). A fertőződés szezonalitást mutat, leggyakrabban május-júliusban és kisebbrészt ősszel jelentkezik. Ha a *Borrelia*-t hordozó kullancs már több mint egy napja szív vért a gazdán, a fertőződés csaknem teljesen biztos. Ennél hamarabb eltávolítva a parazitát a betegség kockázata jelentősen csökkenthető, kivéve ha szakszerűtlen az eltávolítás, amelynek során nagy mennyiségű nyálmirigyváladék jut az áldozat bőrébe (Lakos 2009).

A Lyme-kór tüneteit három stádiumra oszthatjuk. Az első stádiumba a legkorábbi tünetek tartoznak, melyek a fertőződést követő 2.-3. héten jelentkeznek: jellegzetes bőrtünetként az erythema migrans (lassan terjedő bőrkiütés), emellett influenzaszerű tünetek, mint nyirokcsomó-elváltozások, izomfájdalom, láz, rossz közérzet. A második stádium a 3.-6.

hétre tehető: intermittáló ízületgyulladás, agyidegtünetek, agyvelőgyulladás, pitvar-kamrai blokk, szívizomgyulladás, súlyos gyengeség. Ezután a páciens akár hónapokig is tünetmentes lehet, majd bekövetkezik a harmadik stádium: krónikus ízületgyulladás, krónikus agyvelőgyulladás, izomgyulladás, a lábak gyengesége beidegzési zavar miatt és krónikus fáradtság szindróma. A néha súlyos tünetek ellenére is csak néhány halálesetről van tudomásunk eddig. Tekintve, hogy gyakran krónikus formában jelentkezik a betegség, és hónapok, esetleg évek telhetnek el panaszmentesen, a tünetek kialakulása gyakran nem követ szezonálisitást, ellentétben a fertőződés idejével (Wagner et al. 2010; Lakos 2009).

A tünetek nemcsak az idő előrehaladtával változnak, hanem attól függően is, hogy a *B. burgdorferi* s. l. csoport mely faja okozta a fertőzést, ugyanis az egyes kórokozónak más predilekciós helyei vannak, így a *B. burgdorferi* s. s.-t leggyakrabban ízületgyulladásos esetekben mutatták ki, a *B. afzelii*-t erythema migrans, míg a *B. garinii*-t idegrendszeri tünetek esetén (Hubalek & Halouzka 1997).

Emberek esetében a legkifejezettebbek és legsúlyosabbak a tünetek, de ugyanúgy háziállatainkat is megbetegíti a Lyme-kór. Kutyaiban leggyakoribb az ízületgyulladás, mely főleg a lábtőcsontok ízületeit érinti. Láz, levertség, étvágytalanság jelentkezhet, idősebb állatokban pedig vese és idegrendszeri diszfunkció. A szívelváltozások, valamint a klinikai esetek ritkák (Skotarczak 2002).

Szarvasmarha és ló esetén fő tünet a sántaság, mely ízületgyulladás miatt alakul ki és lázzal párosul. Ritkábban patairha-gyulladás, vetélés, súlycsökkenés, az uvea gyulladása és teheneknél csökkenő tejtermelés jelentkezik. Nem kizárt erythema migrans jelenléte sem, de háziállatainknál a szőrrel borított testfelületen nagy kihívás ezt észrevenni (Stefancikova et al. 2008).

A Lyme-kór kezelése antibiotikummal történik, a leggyakrabban alkalmazott szerek: doxiciklin, amoxicillin, cefuroxim, benzilpenicillin és fenoximetilpenicillin. Ezek gyógyítják a tüneteket, megakadályozzák a baktériumok terjedését, és a betegség kései stádiumban is hatásosak (Cerroni 2004).

Mivel a tünetek a bőrpír kivételével igen általánosak, melyek differenciál diagnózisában rengeteg betegség neve felmerülhet, a pontos kórjelzést laboratóriumi vizsgálattal hozhatjuk meg. Ez szerológiai módszerekkel történik, az ellenanyagok vizsgálatára

immunfluoreszcencia, ELISA (enzym-linked immunosorbent assay) és Western-blot használható (Lakos 2009; Lőrinczi 2005).

#### 2.4 A *Borrelia miyamotoi*

A *Borrelia* genuszba nemcsak Lyme-borreliózt (LB), hanem visszatérő lázat (relapsing fever, RF) okozó mikroorganizmusok is tartoznak, melyeket nagyrészt az Argasidae család (óvantagok) ektoparazitái terjesztenek. Az *Argas*-fajok felelősek a *Borrelia anserina* terjedéséért, illetve *Ornithodoros*-fajok játszanak vektor szerepet a *B. duttonii*, *B. crocidurae* és *B. hispanica* esetében. Emberi ruhatetűhöz (*Pediculus humanus*) adaptálódott a *B. recurrentis*, de egyes kutatások bebizonyították, hogy a többi visszatérő lázat okozó baktérium is képes tetvek által terjedni. A csoportból némileg kilóg két mikroorganizmus, mert kullancsból izolálták őket: a *B. lonestari*, melyre egy *Amblyomma*-fajban bukkantak rá, és a *B. miyamotoi*, ami *Ixodes*-kullancsok által terjesztett baktérium. Így ezen fajok egy ideig taxonómiai problémát jelentettek (Ras et al. 1996). A vektora alapján a *B. miyamotoi*-t a Lyme-borreliózis csoportba sorolhatnánk, hiszen ezt is *Ixodes*-fajok terjesztik, melyek csak távoli rokonai az Argasidae családnak; valamint ugyanúgy lineáris DNS-sel rendelkezik, mint a Lyme-kórokozók. Azonban genetikai vizsgálatok kiderítették, hogy mégsem a *B. burgdorferi* s. l. csoporttal áll rokonságban, hanem a visszatérő láz kórokozóival (Takahashi & Fukunaga 1996).

A *B. miyamotoi*-t először Japánban izolálták 1995-ben az *I. persulcatus* kullancsból, valamint az *Apodemus argenteus* eger vérmintájából. Az azóta eltelt két évtizedben számos helyen detektálták jelenlétét Európában, Oroszországban és az Egyesült Államokban is. Az első humán megbetegedést Oroszországból jelentették 2011-ben, majd később az Egyesült Államokban és Hollandiában is leírtak eseteket (Fukunaga et al. 1995; Hovius et al. 2013). Minden esetben *Ixodes* genuszba tartozó kullancsból került kimutatásra a *B. miyamotoi*, ezek Amerikában az *I. scapularis*, *I. dentatus* és *I. pacificus* voltak, míg Európában az *I. ricinus*. A kórokozó legjelentősebb rezervoárjai az egérfélék, melyek közül leírták már *Apodemus*-, *Myodes*- és *Peromyscus*-fajokban is, valamint Észak-Amerikában mókusról gyűjtött kullancsokban is felfedezték jelenlétét (Burri et al. 2014). Kutatások során az került megállapításra, hogy a vérminták alapján bizonyítottan *B. miyamotoi*-fertőzött rágcsálókon főként a kullancsok lárva stádiumai fordulnak elő, mely arra enged következtetni, hogy a fertőzödést a lárvák okozzák (Taylor et al. 2013). Mivel a kullancsok életciklusában a lárva az első stádium, ami táplálkozik, már a gazdára kerülés előtt fertőződnie kellett, ami úgy lehetséges, ha a kórokozó transzovariálisan is



terjed (Dibernardo et al. 2014). Fertőzött nőtény kullancsok tojásaiból kikelt lárvákban keresték a baktériumot, és magas százalékban kaptak pozitív eredményt, azonban a kórokozó átadása nem 100 %-os, tehát egy fertőzött nőtény tojásaiból is kelhet ki nem fertőzött lárva (Taylor et al. 2013). Más kutatások a még nem táplálkozott nimfa és adult stádiumokra irányultak, és a mikroorganizmus bennük is kimutatható volt, tehát bizonyított a transzstadiális terjedés is (Hamase et al. 1996).

Bár a *B. miyamotoi* leggyakoribb és legkönnyebben vizsgálható rezervoárjai a rágcsálók, más fajokban is megtalálták már, így vízimadarokban, vadpulykában, verébalkatúakban, nyúlban, szarvasmarhában és szarvasfélékben is (Scott et al. 2010).

A betegség tüneteinek és gyógykezelésének meghatározása nehézségekbe ütközik. Egyrészt mert az első humán esetet 2011-ben írták le, így az azóta eltelt négy év nem nyújtott elegendő időt, hogy jelentős mennyiségű adatot gyűjtsenek róla a kutatók, főleg hogy azóta sem számít gyakran diagnosztizált megbetegedésnek. A legtöbb európai országból például még egyetlen humán esetet sem jelentettek (Rizzoli et al. 2014). Másrészt a kórokozó általában nem önmagában fordul elő, hanem egyidejűleg van jelen a páciensekben más fertőző mikroorganizmusokkal, így tüneteik különválasztása nem mindig egyszerű. Kimutatták már Lyme-borreliózissal és Powassan vírussal (Tokarz et al. 2010), illetve *Babesia*-val is együttes fertőzést okozva (Krause et al. 2014). Sok esetben nemcsak a betegekben, hanem már a kullancsokban is egyszerre több kórokozó található meg, így egyetlen vérszívással is polimikrobiális fertőzést tudnak átadni (Tokarz et al. 2010). Az bizonyos, hogy a *B. miyamotoi* felelőssé tehető agyvelő- és agyhártyagyulladás, illetve visszatérő láz kialakulásáért (Sato et al. 2014). Ez utóbbi mindig magas lázzal, fejfájással és izomfájdalommal jár. Az első lázas periódus (1-3 nap) után tünetmentes időszak következik (3-10 nap), majd a tünetek visszatérnek, általában súlyosabb formában, mint először. Ez többször is váltakozhat egymás után. Bakteriemiával csak a lázas időszakokban találkozhatunk, ekkor rengeteg spirochéta kering a vérben. Komplikációként idegrendszeri tünetek jelentkezhetnek 10-30%-ban, melyek megegyeznek a Lyme-borreliózis fejezetben felsoroltakkal (Cadavid & Barbour 1998). Az orvosok dolgát az is nehezíti, hogy agyvelőgyulladást még a Powassan vírus is okozhat (Tokarz et al. 2010).

Utólag átnézve korábbi kórházi eseteket, többször is előfordult, hogy hasonló tünetekkel fordult a páciens orvoshoz, de diagnózist nem sikerült felállítani. Humán granulocitás

anaplazmózist (HGA) gyanítottak a háttérben, de végül a tesztek negatívak lettek *Anaplasma phagocytophylum*-ra és *Babesia microti*-ra is, *Borrelia*-ra viszont pozitívak, de a biztosan megállapítható, hogy nem *B. burgdorferi* s. l. állt a háttérben. Könnyen lehet, hogy ezen megbetegedések háttérében is a *Borrelia miyamotoi* állt, csak akkoriban még nem ismerték, így tesztet sem tudtak végezni (Chowdri et al. 2013). Ma már pontosan meghatározhatjuk, hogy ez a baktérium okozza-e a megbetegedést, ugyanis a visszatérő láz csoportba tartozó minden egyes *Borrelia*-fajnak egyedi a glpQ (glicerofoszfodiészterfoszfodiészteráz) gén szekvenciája, így PCR vizsgálattal egyértelmű eredményhez juthatunk (Fomenko et al. 2010). A mikroorganizmus kimutatható vérmintából és agygerincvelői folyadékából is (Hovius et al. 2013).

*Borrelia miyamotoi* okozta kórkép esetén is sokszor más, hasonló tüneteket okozó, de már részletesebben ismert kórokozókra gondolnak az orvosok, és az ellen kezdik meg a kezelést doxiciklinnel. Ezzel azonban nem kezelik félre a betegeket, mert ez a tetraciklin hatásos a *B. miyamotoi* ellen is. Jelenlegi ismereteink alapján 14 nap doxiciklin kúra elegendő a kórokozó eliminálásához (Krause et al. 2014). Egyéb hatóanyagok és terápiás protokollok kidolgozása még a jövő feladata.

### **3. Anyag és módszer**

#### **3.1 Helyszín**

A vizsgálat helyszíne Gemenc, a Duna- Dráva Nemzeti Park egyik területi egysége. Ez a terület az ország legnagyobb, zömében erdő borította ártere, amely 30 km hosszú és 7 km széles. Összefüggő, sűrű erdői kiváló élőhelyet biztosítanak számos védett és vadászható fajnak is. Gemenc igen erős vadgazdálkodással büszkélkedhet, hazánk legértékesebb trófeáit növesztő gímszarvas- állománya tette világhírűvé ezt a vadászterületet.

A tanszék munkatársai 2010-2012 között csapdáztak itt kisemlősöket, Bába és Pörböly községek közelében (1. táblázat). A rágcsálók befogására módosított Sherman-csapdákat használtak, melyek minden alkalommal két éjszakán át voltak kihelyezve.

## 1. táblázat: A csapdázás helyszínei és időpontjai

időpont	2010.07.06	2010.09.17	2010.11.12	2011.05.20	2011.10.07	2011.11.25	2012.05.11
helyszín	Pörböly	Báta	Báta	Báta	Pörböly	Pörböly	Báta

### 3.2 Kullancsgyűjtés

A kullancsok egy részének összegyűjtése a vegetációról történt egy textília aljnövényzeten való húzásával (dragging), illetve zászlózással (flagging). Erre a gemenci térség öt különböző pontján került sor 2012-ben. Egy botra szerelt fehér szövetdarabra kapaszkodtak fel a táplálékforrásra váró kullancsok, ahol könnyen észrevehetővé váltak. Csipesszel helyezték őket alkoholtartalmú Eppendorf csőbe, a csöveket pedig felcímkézték a dátummal és hellyel.

A vizsgálandó kullancsok másik része a csapdázott kisémlősökről származott. Az éterrel túlaltatott állatokat alkoholban tárolták, róluk távolították el az ektoparazitákat a Parazitológiai és Állattani Tanszék laboratóriumában. A szörzet alapos átvizsgálása során talált összes parazitát Eppendorf csőbe gyűjtötték, a bolhákat és atkákat is félretették későbbi vizsgálatra. Minden rágcsálót megszámoztak a csapdázáskor, ezt a számot a kullancsok tárolására használt csöveken is feltüntették a nyomonkövethetőség érdekében.

A vegetációról és a kisémlősökről gyűjtött kullancsokat is faji szinten szétválogattuk határozókulcs segítségével (Hillyard, 1996; Nosek & Sixl, 1972). Ebbe a munkába kapcsolódtam be 2013-ban. A lárvákról és nimfákról lejegyeztük, hány darabot szedtek le az adott kisémlősről és azok milyen fajba tartoznak, míg adultok esetében a nemüket is feltüntettük. Ehhez sztereomikroszkópot használtunk. A rágcsálókról gyűjtött kullancsok esetében sokszor talákoztunk azzal a nehézséggel, hogy a rágcsáló szövetdarabjai a kullancs szájszervén maradtak. Ezeket mikroszkóp alatt két csipesz segítségével távolítottuk el, hogy láthatóvá váljon a szájszervük, mely fontos tájékozódási pont a meghatározásuk során.

### 3.3 Szövetminták

Minden egyes rágcsálóról lejegyzésre került, hogy mikor és hol került befogásra. Egyes kisémlősök boncolása közvetlenül csapdázás után történt, a többire a tanszék laboratóriumában került sor. A későbbi molekuláris biológiai vizsgálatok számára szövetmintákat gyűjtöttünk a lépükből, májukból, tüdejükből és bőrükből. A kontamináció elkerülése érdekében az eszközöket leégettük és alkoholos/hypós oldattal mostuk le.

### 3.4 Molekuláris biológiai vizsgálatok

#### 3.4.1 DNS kivonás

Annak érdekében, hogy megbízhatóbb eredményeket kapjunk, a tanszék elkülönített laboratóriumaiban végeztük a DNS kivonást és a PCR (polymerase chain reaction) összemérését. A kontamináció elkerülése érdekében a kesztyűket és pipettahegyeket rendszeresen cseréltük, és negatív kontrollként PCR vizet alkalmaztunk.

A kullancsok esetében a DNS kivonást alkalikus hidrolízissel valósítottuk meg. A mintákat addig alkoholban tároltuk, ennek nagy részét szűrőpapírral távolítottuk el, aztán időt hagyunk neki, hogy a még rajtuk maradt alkohol elpárologjon. A nagyobb nőstényeket kettévágtuk felületnövelés céljából, míg a kisebb kullancsokat egészben tettük 1,25%-os ammónium-hidroxid oldatba. Következő lépésként minden kullancsot 2-3 részre vágtunk steril szikével, majd mikrocentrifuga csövekben fél óráig zárt fedővel forraltuk, hogy a DNS kiszabaduljon a sejtekből. Ezt követően fél órás nyitott fedős forralás során párologtattuk el az ammónium-hidroxidot. A kivont DNS-t fagyasztva (-20°C) tároltuk. A kisemlősökről begyűjtött kullancsok esetében az egy gazdáról származó lárvákból poolokat készítettük, míg a többi stádiumú parazitát egyenként vizsgáltuk.

A levett szövetminták közül a bőr- és lépmintákból már korábban megtörtént a DNS kivonása módosított Miniprep Express Matrix protokollt (MP Biomedicals, Santa Ana, USA) használva. A szövetminták egy éjszakán át tartó, proteináz-K enzim emésztése után DNS-kötő mátrixot adtak a lepipettázott felülúszóhoz, majd alkoholos lemosással a szennyeződésekeltávolították. Az alkohol elpárologása után a száraz mikrogöngyökről pufferrel oldották le a megkötött DNS-t (Szekeres et al. 2015).

#### 3.4.2 Polimeráz láncreakció

Munkánk során a *B. burgdorferi* s. l. és *B. miyamotoi* baktériumok jelenlétét kívántuk igazolni az összegyűjtött kullancs- és szövetmintákban, ehhez kvantitatív valós idejű PCR-t (qPCR) alkalmaztunk. Detektálásukra a flagellin B (flaB) gén egy szakaszát használtuk, hogy felerősítsük a keresett baktériumok génállományában megtalálható, a flaB gén kódolásáért felelős génszakaszt. A *B. burgdorferi* s. l. esetében használtunk B-FlaB-F forward primert (5' CAGAIAGAGGTTCTATACAIATTGAIATAGA 3') , reverz primereket, mint a B-FlaB-Rc (5' GTGCATTTGGTTAIATTGCGC 3') és a B-FlaB-Rt (5'

GTGCATTTGGTTAIATTGTGC 3'), valamint a próbát: B-FlaB-P (5' CAACTIACAGAIGAAXTAAIAGAATTGCTGAICA 3', X=black hole quencher) (Heylen et al. 2013). A *B. miyamotoi* baktérium esetében a forward primerünk a FlabBm.motoiF (5' AGAAGGTGCTCAAGCAG 3') volt, a reverz primer a FlabBm.motoiR (5' TCGATCTTTGAAAGTGACATAT 3'), a próba pedig a FlabBm.motoiPro (5' AGCACAACAGGAGGGAGTTCAAGC 3') (Hovius et al. 2013). A qPCR vizsgálat eredményei közül kiválogattuk a pozitívakat, ehhez egyrészt a görbék alakját hasonlítottuk össze a pozitív kontrollal, másrészt a ciklusok határértékeit (threshold cycle, CT) tanulmányoztuk. A CT értékek közül *B. miyamotoi* esetében a 38 ciklus alatti, *B. burgdorferi* s. l. esetében pedig a 41 ciklus alatti mintákat ítéltük pozitívnak.

A qPCR vizsgálat során pozitívnak talált mintákat tovább vizsgáltuk konvencionális PCR-rel. A *B. burgdorferi* s. l. kimutatása érdekében a riboszomális fehérjéket kódoló régiók közötti nem kódoló szakasz, az úgynevezett IGS (intergenic spacer) régió jelét erősítettük fel a B5Sborseq (5' GAGTTCGCGGGAGAGTAGGTTATTGCC 3') forward primerrel és a B23Sborseq (5' TCAGGGTACTTAGATGGTTCACTTCC 3') reverz primerrel (Coipan et al. 2013). A *B. miyamotoi* esetében kutatásunk a glicerofoszfodiészter- foszfodiészteráz (glpQ) génre irányult, forward primerünk a glpQ-BM-F2 (5' ATGGGTTCAAACAAAAAGTCACC 3'), reverz primerünk pedig a glpQ-BM-R1 (5' CCAGGGTCCAATTCCATCAGAATATTGTGCAAC 3') volt (Hovius et al. 2013). A PCR vizsgálatok során negatív kontrollt használtunk a kontamináció kizárására. A konvencionális PCR-rel pozitívnak talált mintákat megszekvenáltuk.

A statisztikai analízishez az R programot (R Development Core Team 2008), és a Quantitative Parasitology 3.0 (Rózsa et al. 2000) programot használtuk. A 0,05 alatti p-értékeket tekintettük szignifikánsnak.

## 4. Eredmények

### 4.1 A csapdázott kisemlősök és vizsgálati eredményeik

A 2010-2012 között csapdázott kisemlősök mindegyike -néhány cickány kivételével- rágcsálónak bizonyult. Hat fajt sikerült befogni, faji összetételüket és egyedszámukat a 2. táblázatban tüntetem fel.

#### 2. táblázat: A befogott rágcsálók és egyedszámuk

pirók erdeieger ( <i>A. agrarius</i> )	241
sárganyakú erdeieger ( <i>A. flavicollis</i> )	168
vöröshátú erdeipocok ( <i>M. glareolus</i> )	36
mezei pocok ( <i>M. arvalis</i> )	12
törpeeger ( <i>M. minutus</i> )	11
házi eger ( <i>M. musculus</i> )	5

A rágcsálókból az eutanázia után szövetmintákat vettünk, a pirók erdeieger esetében 202 állatból bőr-, 92-ből lépmintát, a sárganyakú erdeieger 102 egyedéből bőr-, 67 egyedéből lépmintát. 29 bőr- és 11 lépminta került vizsgálatra a vöröshátú erdeipocokból, hét bőr-, négy lépminta a mezei pocok egyedeiből. A törpeegerekből három bőrmintát, míg a házi eger esetében öt bőr-, és három lépmintát vizsgáltunk.

A PCR-vizsgálatok eredményei alapján *B. burgdorferi* s. l. baktériummal volt fertőzött a bőrminták 6,6%-a és a lépminták 2,3%-a. A kórokozót pirók és sárganyakú erdeiegerekből, valamint vöröshátú erdeipocokból gyűjtött mintákban találtuk meg. A *B. miyamotoi* mikroorganizmust a bőrminták 0,3%-ában, míg a lépminták 0,5%-ában tudtuk kimutatni. Jelenléte két sárganyakú erdeieger hímében igazolódott be. Eredményeink részletes leírása a 3. táblázatban látható. A bőr- és lépminták nem ugyanazon egyedekről származtak.

### 3. táblázat: A rágcsálók szövetmintáinak vizsgálati eredményei

Fajok	<i>B. burgdorferi</i> s. l.		<i>B. miyamotoi</i>	
	pozitív/tesztelt/prevalencia			
	bőr	lép	bőr	lép
pirók erdeiegeér ( <i>A. agrarius</i> )	16/202/7,9%	1/92/1%	0/202/-	0/92/-
sárganyakú erdeiegeér ( <i>A. flavicollis</i> )	6/102/5,8%	3/67/4,5%	1/102/0,9%	1/67/1,5%
vöröshátú erdeipocok ( <i>M. glareolus</i> )	1/29/3,5%	0/11/-	0/29/-	0/11/-
mezei pocok ( <i>M. arvalis</i> )	0/7/-	0/4/-	0/7/-	0/4/-
törpegeér ( <i>M. minutus</i> )	0/3/-	-	0/3/-	-
házi egér ( <i>M. musculus</i> )	0/5/-	0/3/-	0/5/-	0/3/-
<b>Összesen</b>	<b>23/348/6,6%</b>	<b>4/177/2,3%</b>	<b>1/348/0,3%</b>	<b>1/177/0,5%</b>

#### 4.2 A növényzetről gyűjtött kullancsok és vizsgálati eredményeik

Az öt helyszínen végzett dragging és flagging során 162 kullancs került befogásra, melyeket mikroszkóp alatt meghatároztunk, és megállapítottuk, hogy négy faj képviselőit sikerült begyűjteni, ezek az *I. ricinus*, *Dermacentor marginatus*, *D. reticulatus* és *Haemaphysalis concinna*. Legnagyobb számban a *D. reticulatus* nőstények és *H. concinna* lárvák képviselték magukat, míg *D. marginatus* nőstényből mindösszesen kettőt találtunk. A *H. concinna* esetében mindhárom fejlődési stádiumot megtaláltuk, a többi fajban csak kettőt, míg *D. marginatus* esetében csak adult stádiumot. A pontos adatok a 4. táblázatban olvashatók.

**4. táblázat:** A vegetációról gyűjtött kullancsok

faj/stádium/ivar	egyedszám
<i>D. marginatus</i> nőstény	2
<i>D. reticulatus</i> hím	23
<i>D. reticulatus</i> nőstény	41
<i>I. ricinus</i> nimfa	21
<i>I. ricinus</i> hím	8
<i>I. ricinus</i> nőstény	5
<i>H. concinna</i> lárva	33
<i>H. concinna</i> nimfa	10
<i>H. concinna</i> hím	8
<i>H. concinna</i> nőstény	11

Összesen nyolc *I. ricinus* minta lett pozitív *B. burgdorferi* s. l. mikroorganizmusra, ezen minták közt a nimfa és adult stádiumából is kimutatható volt a kórokozó. Mindössze egy kullancsban találtunk *B. miyamotoi* baktériumot, ez egy *I. ricinus* nimfa volt. A tesztelt *I. ricinus* minták 23,5%-a volt fertőzött *B. burgdorferi* s. l.-vel, ez szignifikánsan magasabb, mint a 2,9%-os *B. miyamotoi* fertőzöttség ( $p=0,03$ ; Fisher egzakt teszt). Az eredményeket az 5. táblázat foglalja össze.

**5. táblázat:** A vegetációról gyűjtött kullancsok vizsgálati eredményei

Kullancsfaj	<i>B. burgdorferi</i> s. l.	<i>B. miyamotoi</i>
	pozitív/tesztelt/prevalencia	
<i>D. marginatus</i>	0/2/-	0/2/-
<i>D. reticulatus</i>	0/64/-	0/64/-
<i>I. ricinus</i>	8/34/23,5%	1/34/2,9%
<i>H. concinna</i>	0/62/-	0/62/-
<b>Összesen</b>	<b>8/162/4,9%</b>	<b>1/162/0,6%</b>



### 4.3 A rágcsálókról gyűjtött kullancsok és vizsgálati eredményeik

A csapdázott kisméltokról a szőrzet többszöri átvizsgálása során 181 kullancsot sikerült begyűjteni. Legnagyobb egyedszámmal *D. marginatus* és *I. acuminatus* lárvák fordultak elő. A kullancsok nimfa stádiumaiból keveset, míg kifejlett egyedeket csak egyetlen faj esetében (*I. acuminatus*) találtunk. (6. táblázat)

A legtöbb kullancs sárganyakú erdeiigéren fordult elő, ennél lényegesen kevesebb pirók erdeiigéren, vöröshátú erdei pockon és mezei pockon, míg törpeegérről és házi egérről egyetlen kullancs sem gyűjtöttünk. Részletes számadataikat a 7. táblázat foglalja össze.

#### 6. táblázat: A kisméltokról gyűjtött kullancsok

<b>faj/stádium/ivar</b>	<b>egyedszám</b>
<i>D. marginatus</i> lárva	61
<i>D. marginatus</i> nimfa	5
<i>I. ricinus</i> lárva	36
<i>I. ricinus</i> nimfa	5
<i>I. acuminatus</i> lárva	52
<i>I. acuminatus</i> nimfa	1
<i>I. acuminatus</i> nőstény	3
<i>H. concinna</i> lárva	15
<i>H. concinna</i> nimfa	3

7. táblázat: A kullancsok előfordulása az egyes rágcsáló fajokon

Kisemlős fajok	Kullancs fajok			
	<i>D. marginatus</i>	<i>I. ricinus</i>	<i>I. acuminatus</i>	<i>H. concinna</i>
sárganyakú erdeiegér ( <i>A. flavicollis</i> )	46	34	54	15
pirók erdeiegér ( <i>A. agrarius</i> )	11	2	2	-
vöröshátú erdeipocok ( <i>M. glareolus</i> )	5	4	-	-
mezei pocok ( <i>M. arvalis</i> )	4	1	-	3
törpeegér ( <i>M. minutus</i> )	-	-	-	-
házi egér ( <i>M. musculus</i> )	-	-	-	-
<b>Összesen</b>	<b>66</b>	<b>41</b>	<b>56</b>	<b>18</b>

A PCR vizsgálatok során a rágcsálókról gyűjtött kullancsokban *B. burgdorferi* s. l. és *B. miyamotoi* baktériumokat is találtunk. A *B. burgdorferi* s. l. mikroorganizmus *I. ricinus*, *I. acuminatus* és *D. marginatus* mintákban adott pozitív eredményt, a kisemlősökről begyűjtött összes kullancs 6,6%-a volt fertőzött (8. táblázat). *Ixodes ricinus* esetében négy pozitív mintánk lett: egy-egy lárva pool sárganyakú erdeiegér nőtényről és hímről, egy önállóan vizsgált lárva sárganyakú erdeiegér nőtényről és egy nimfa, mely sárganyakú erdeiegér hímről származott. *Ixodes acuminatus* esetében sárganyakú erdeiegér hímekekről származtak a pozitív mintáink, ezek három lárva pool és egy egy nimfa DNS-ét tartalmazó minták voltak. Az összesen leszedett *I. acuminatus* kullancs 8,9%-a volt fertőzött, míg ez a szám *I. ricinus* esetén 9,7%. A két *Ixodes* faj fertőzöttsége között az eltérés nem szignifikáns ( $p > 0,05$ ; Fisher egzakt teszt). A *D. marginatus* minták 4,5%-a volt pozitív, mind hím rágcsálóról származott: egy-egy lárva pool sárganyakú és pirók erdeiegérről, valamint egy önállóan vizsgált lárva sárganyakú erdeiegérről.

*Borrelia miyamotoi* baktériumot kizárólag *I. ricinus* kullancsokban találtunk. Sárganyakú erdeiegér hímekekről származó két lárva pool lett pozitív, ez az *I. ricinus* kullancsok 4,9%-a,

míg az összes leszedett kullancs 1,1%-a (8. táblázat). Az *I. ricinus* kullancsokban a *B. miyamotoi* fertőzöttség szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a *B. burgdorferi* s. l. fertőzöttség ( $p=0,03$ ; Fisher egzakt teszt).

**8. táblázat:** A rágcsálókról gyűjtött kullancsok vizsgálati eredményei

Kullancsfaj	<i>B. burgdorferi</i> s. l.	<i>B. miyamotoi</i>
	pozitív/tesztelt/prevalencia	
<i>D. marginatus</i>	3/66/4,5%	0/66/-
<i>I. ricinus</i>	4/41/9,7%	2/41/4,9%
<i>I. acuminatus</i>	5/56/8,9%	0/56/-
<i>H. concinna</i>	0/18/-	0/18/-
<b>Összesen</b>	<b>12/181/6,6%</b>	<b>2/181/1,1%</b>

**4.4 A szekvenálás eredményei**

A szövetmintákból, a vegetációról és a rágcsálókról gyűjtött kullancsok közül is szekvenáltunk mintákat. A vizsgálatot a tanszék munkatársa, Szekeres Sándor egy tanulmányi út során Hollandiában végezte a kinti együttműködő partnerrel. Az alábbi (9.) táblázat összefoglalja, milyen mintákból lett pozitív az eredményünk, részletezve azt is, hogy a *B. burgdorferi* s. l. fajcsoport mely tagja okozta a fertőzést. Rágcsálókról gyűjtött kullancsok esetében „fertőzésmentes” megjelölést kapott az a minta, mely olyan kisemlősről származott, amiből szövetminta is lett tesztelve és negatív lett az eredménye, valamint „ismeretlen” jelöléssel láttuk el azt, amelyikről szövetminta nem került tesztelésre.

**9. táblázat:** Pozitív szekvenált minták Gemencről

<b><i>Borrelia</i>-faj</b>	<b>Minta forrása</b>	<b>Gazda fertőzöttsége</b>	<b>Génbanki szám</b>
<i>B. lusitaniae</i>	<i>I. ricinus</i> nimfa	-	KM657411
<i>B. afzelii</i>	sárganyakú erdeieger hím bőr	-	KM657412
<i>B. afzelii</i>	pirók erdeieger hím bőr	-	KM657417
<i>B. afzelii</i>	<i>I. ricinus</i> nimfa	-	KM657413
<i>B. afzelii</i>	<i>I. ricinus</i> nimfa	-	KM657418
<i>B. afzelii</i>	<i>I. ricinus</i> nőstény	-	KM657421
<i>B. afzelii</i>	<i>I. ricinus</i> nőstény	-	KM657423
<i>B. afzelii</i>	<i>I. ricinus</i> hím	-	KM657414
<i>B. afzelii</i>	<i>I. ricinus</i> hím	-	KM657415
<i>B. afzelii</i>	<i>I. ricinus</i> lárva sárganyakú erdeieger nőstényről	ismeretlen	KM657425
<i>B. afzelii</i>	<i>I. ricinus</i> pool (4 lárva) sárganyakú erdeieger nőstényről	fertőzésmentes	KM657426
<i>B. afzelii</i>	<i>I. ricinus</i> pool (8 lárva) sárganyakú erdeieger hímről	ismeretlen	KM657416
<i>B. afzelii</i>	<i>I. ricinus</i> nimfa sárganyakú erdeieger hímről	ismeretlen	KM657424
<i>B. afzelii</i>	<i>I. acuminatus</i> pool (6 lárva) sárganyakú erdeieger hímről	ismeretlen	KM657427
<i>B. afzelii</i>	<i>I. acuminatus</i> pool (10 lárva) sárganyakú erdeieger hímről	ismeretlen	KM657428
<i>B. afzelii</i>	<i>I. acuminatus</i> nimfa sárganyakú erdeieger hímről	fertőzésmentes	KM657419
<i>B. afzelii</i>	<i>D. marginatus</i> pool (4 lárva) pirók erdeieger hímről	fertőzésmentes	KM657422
<i>B. afzelii</i>	<i>D. marginatus</i> pool (8 lárva) sárganyakú erdeieger hímről	fertőzésmentes	KM657420
<i>B. miyamotoi</i>	<i>I. ricinus</i> nimfa	-	LC006119.1
<i>B. miyamotoi</i>	<i>I. ricinus</i> pool (8 lárva) sárganyakú erdeieger hímről	ismeretlen	LC006120.1
<i>B. miyamotoi</i>	sárganyakú erdeieger nőstény lép	-	LC006118.1

magyarázat: kék: rágcsáló szövet; zöld: vegetációról gyűjtött kullancs;

fekete: rágcsálókról gyűjtött kullancs

## 5. Megbeszélés

A rágcsálók fontos táplálékforrásai a kullancsoknak, ezen felül számos kullancsok által terjesztett kórokozónak a rezervoárjai is. Kiemelt szerepet játszanak a kullancsok-közvetítette kórokozók endémiás ciklusában. Komoly veszélybe kerülhet azon emberek és állatok egészsége, akik kontaktusba kerülnek fertőzött rágcsálókkal és kullancsokkal (Silaghi et al. 2012). Vizsgálatunk célja az volt, hogy a Gemenc területén csapdázott rágcsálókból és begyűjtött kullancsokból kimutassuk a *B. burgdorferi* s. l. és *B. miyamotoi* baktériumokat, hozzájárulva ezzel a kórokozók hazai előfordulásának feltérképezéséhez.

A növényzetről 162 kullancs került befogásra, köztük négy faj képviselői fordultak elő: *D. marginatus*, *D. reticulatus*, *I. ricinus* és *H. concinna*. Ezzel szemben a rágcsálókról gyűjtött 181 kullancs között nem találtunk *D. reticulatus*-t, viszont az *I. acuminatus* mindhárom fejlődési stádiumát igen. Ezek a kullancsfajok különböző életmódot folytatnak: vannak közöttük exofilek mint az *I. ricinus* és *H. concinna*, endofilek mint az *I. acuminatus*, és olyanok is, amelyek lárva és nimfa stádiumukban endofilek, majd adultként exofil életmódra térnek át, ezek a *Dermacentor*-fajok (Sobrino et al. 2012).

A legtöbb kullancsot sárganyakú erdeiegeerről gyűjtöttük. Ennek a jelenségnek az oka valószínűleg a rágcsálófaj nagyobb testmérete és nagyobb mozgásterét. Feltehetően ugyanilyen okból kifolyólag nem találtunk egyetlen kullancsot sem a törpeegéren és házi egéren, ezek ugyanis meglehetősen apró rágcsálók, és mozgásterük is kisebb területre tehető.

A vizsgált mintáink három forrásból származtak: a rágcsálók szövetmintái (bőr és lép), valamint a vegetációról és a rágcsálókról gyűjtött kullancsok. Összesen 868 mintát vizsgáltunk meg PCR-rel, ebből 47 bizonyult pozitívnak a *B. burgdorferi* s. l. baktérium jelenlétére. Ez 5,41%-os prevalenciát jelent. A rágcsálókról gyűjtött kullancsok közül *I. ricinus*, *I. acuminatus* és *D. marginatus* kullancsokban bizonyítottuk be jelenlétét, míg a vegetációról zászolózott kullancsok esetében csak *I. ricinus*-ban találtuk meg. Egy korábbi magyarországi kutatás alapján a növényzetről gyűjtött *I. ricinus* kullancsok 2,5%-a volt *B. burgdorferi* s. l. pozitív (Egyed et al. 2012), ez az arány a mi kutatásunkban 23,5%. A nagyfokú eltérés egyik oka az lehet, hogy Egyed és munkatársai nagyobb mintaszámmal dolgoztak. Annak érdekében, hogy a két tanulmány eredményei összehasonlíthatóvá váljanak, érdemes lenne a jövőben a gemenci területen összegyűjtött *I. ricinus* példányok számát a többszörösére növelni.

Az *I. acuminatus* kullancsok leggyakrabban a rágcsálók fészkeiben fordulnak elő, esetenként rókákön és nyestféléken is élösködhetnek, míg madarakon és emberen csak nagyon ritkán fordulnak elő. Életmódjukból adódóan a kórokozók endofil patogén ciklusában játszanak szerepet, míg az exofil ciklusért az *I. ricinus* felelős, amely nemcsak rágcsálókön élösködik, hanem gyakori ektoparazitája más gerinces fajoknak, beleértve az embert is. E két *Ixodes*-faj *B. burgdorferi* s.l. fertözöttsége között szignifikáns különbséget nem találtunk, vagyis a kórokozó továbbadásának ez a kettős (endofil-exofil) ciklusa kiváló evolúciós stratégiának bizonyul. A *Dermacentor*-fajok esetében egy kullancsfajon belül valósul meg a kettős ciklus azáltal, hogy a különböző fejlődési stádiumok más életmódot folytatnak.

A szövetmintáink eredményeit tanulmányozva megállapíthatjuk, hogy mind bőr-, mind lépmintákból sikerült kimutatnunk a *B. burgdorferi* s. l. mikroorganizmust. A sárganyakú és pirók erdeieger, valamint a vöröshátú erdeipocok bőrmintái adtak pozitív eredményt, illetve ugyanezen fajok lépmintái, a vöröshátú erdeipocok kivételével. Legmagasabb százalékban a pirók erdeieger bőrmintái lettek pozitívak (7,9%). Ha megfigyeljük a rágcsálók kullancsfertözöttségének arányát (7. táblázat), észrevehetjük, hogy ez a három rágcsáló faj volt az, amiről a legtöbb kullancsot be tudtuk gyűjteni, így párhuzamot vonhatunk a két eredmény között: a kutatásunk során vizsgált kisemlősök közül azon fajok fertözöttsége magas, amelyeken a legtöbb kullancs élösködött.

Szekvenált mintáink közül 18 lett pozitív *B. burgdorferi* s. l.-ra nézve. Ebből egyetlen esetben állt a *B. lusitaniae* a fertözés háttérében, amit egy vegetációról gyűjtött *I. ricinus* nimfából sikerült kimutatni. A *B. lusitaniae* baktérium rezervoárjai a gyíkfélék, így valószínűleg ez a nimfa egy gyíkon élösködhetett a lárva stádiumában, és attól fertözödhetett. Kimutatták már zöld gyíkbán (*Lacerta viridis*), fúrge gyíkbán (*Lacerta agilis*) és fali gyíkbán (*Podarcis muralis*) is e baktérium jelenlétét (Majláthová et al. 2008; Földvári et al. 2009). A többi, azaz 17 pozitív minta esetében *B. afzelii* került kimutatásra, ami a *B. lusitaniae*-hoz hasonlóan a *B. burgdorferi* s. l. csoport patogén kórokozói közé tartozik (de Carvalho et al. 2008). Európában a legtöbb Lyme-kóros megbetegedés háttérében a *B. afzelii* áll, a vele való fertöződés esetén a leggyakoribb tünet a vándorló bőrpír megjelenése. Lefontosabb rezervoárjai a rágcsálók. (Stanek et al. 2012). A *B. burgdorferi* s. l. kullancsok közötti terjedésére a transzstadiális forma jellemző, tehát a vegetáción lévő lárvákban nem fordul elő a kórokozó (Hu et al. 1997). Ezt alátámasztja a kutatásunk, mert minden pozitív mintánk nimfa és adult stádiumú kullancsból származott, illetve amennyiben lárvából történt a kimutatása, azok mindegyikét a gazdaállatról gyűjtöttük be. A vegetáción talált lárvák egyike sem adott pozitív eredményt.

A *B. miyamotoi* egy újonnan felfedezett mikroorganizmus, így sem életmódja, sem az általa okozott kórkép nem tisztázott teljes mértékben. Eddigi kutatások alapján bizonyított a rezervoár szerepe a japán erdeiegeérnek (*Apodemus argenteus*) Ázsiában (Fukunaga et al. 1995), a fehérlábú egérnek (*Peromyscus leucopus*) Észak-Amerikában (Scoles et al. 2001) és a vöröshátú erdeipocoknak (*M. glareolus*) Európában (Cosson et al. 2014). Laboratóriumi körülmények között xenodiagnosztikai módszerrel a vöröshátú erdeipocok mellett a sárganyakú erdeiegeér rezervoár szerepe is beigazolódott (Burri et al. 2014). Tudomásunk szerint a mi kutatásunk az első, amelynek sikerült bebizonyítania a *B. miyamotoi* baktérium jelenlétét vadon élő sárganyakú erdeiegeér populációban. A rezervoár fajok listája feltehetően ezen rágcsálókkal nem ér véget, és amint egyre több tanulmány fog a jövőben a *B. miyamotoi*-ra irányulni, valószínűleg úgy növekszik majd a bizonyítottan rezervoár fajok száma is.

A 868 vizsgált mintánk közül öt adott pozitív eredményt *B. miyamotoi* baktériumra, ez 0,58%-os prevalenciát jelent. A befogott hat rágcsáló faj közül csak sárganyakú erdeiegeérből tudtuk kimutatni, egy bőr-, és egy lépminta lett pozitív a PCR-vizsgálat során. A növényzetről gyűjtött kullancsok esetében egyetlen *I. ricinus* nimfában sikerült igazolnunk a jelenlétét, ami az összesen vizsgált *I. ricinus* kullancsok mindössze 2,9%-a (szemben a *B. burgdorferi* s. l.-val, amelynél ez az arány 23,5% volt). A rágcsálókról gyűjtött kullancsok esetében is kizárólag *I. ricinus*-ból tudtuk kimutatni a *B. miyamotoi*-t, itt két ektoparazita bizonyult fertőzöttnek. Szekvenálásra küldött mintáinkból három pozitív eredményt kaptunk, ezek egy vegetációról gyűjtött *I. ricinus* nimfa, egy nyolc lárvából álló *I. ricinus* pool sárganyakú erdeiegeér hímről és egy nőstény sárganyakú erdeiegeér lépmintája voltak. A *B. miyamotoi* mikroorganizmus a transzstadiális terjedés mellett transzovariálisan is terjed (Dibernardo et al. 2014), így a vegetációról gyűjtött kullancsok lárva stádiumában is kimutatható lehet. Kutatásunkban nem sikerült a növényzetről begyűjteni az *I. ricinus* kullancsok lárva stádiumát, így ezt a megállapítást nem tudjuk alátámasztani ezzel a vizsgálattal.

Mindez idáig *B. miyamotoi*-okozta humán megbetegedésről nincs tudomásunk hazánkban, bár az irodalmi áttekintésben leírtak alapján nagy az esélye a félrediagnosztizálásnak. A *B. burgdorferi* s. l. által okozott Lyme-kór azonban gyakori kórkép Magyarországon is. Mindkét baktériumot kullancsok közvetítik, így megelőzésükben fontos szerepe van a magunkon vagy háziállatainkon talált kullancsok azonnali eltávolításának. Különösen nagy figyelmet kell erre fordítaniuk az erdőben dolgozóknak (vadászok, erdészek, favágók), valamint a túrázóknak.

## 6. Összefoglalás

Hazánk számos rágcsáló populációnak ad otthont, melyek a kullancsok fontos gazdaállatai, így szerepet játszanak a kullancsok által terjesztett betegségek fenntartásában. Korábbi kutatások már bizonyították a rágcsálók rezervoár szerepét a *Borrelia miyamotoi* és *Borrelia burgdorferi* sensu lato (s.l.) baktériumok esetében. Vizsgálatunk célja az volt, hogy kimutassuk e két kórokozó jelenlétét a gemenci kisemlősökből és kullancsaikból, illetve a vegetációról zászolózott kullancsokból.

A csapdázások során hat rágcsálófaj képviselőit sikerült befogni, ezek a pirók erdeieger (*Apodemus agrarius*), sárganyakú erdeieger (*A. flavicollis*), vöröshátú erdeipocok (*Myodes glareolus*), mezei pocok (*Microtus arvalis*), törpeegér (*Micromys minutus*) és házi egér (*Mus musculus*) voltak. Túllátásuk után bőr- és lépmintát vettünk belőlük, illetve begyűjtöttük a rajtuk lévő ektoparazitákat. A kullancsok közül az *Ixodes ricinus*, *I. acuminatus*, *Dermacentor marginatus* és *Haemaphysalis concinna* fajok képviselőit találtuk meg rajtuk. A vegetációról zászolózással történt a kullancsok gyűjtése, köztük az *I. ricinus*, *D. marginatus*, *D. reticulatus* és *H. concinna* egyedeit sikerült beazonosítani.

Mintáinkból a DNS-kivonást követően PCR (polimeráz láncreakció) vizsgálatot végeztünk. A tesztelt 348 bőrmintánk közül 23 lett pozitív *B. burgdorferi* s. l.-ra (vöröshátú erdeipocok, pirók és sárganyakú erdeieger) és egy *B. miyamotoi*-ra (sárganyakú erdeieger), míg a tesztelt 177 lépmintából négy lett *B. burgdorferi* s. l.-pozitív (pirók és sárganyakú erdeieger), és egy *B. miyamotoi*-pozitív (sárganyakú erdeieger). A rágcsálókról gyűjtött 181 tesztelt kullancs közül 12-ben mutattuk ki a *B. burgdorferi* s. l.-t (*D. marginatus*, *I. ricinus*, *I. acuminatus*), és kettőben a *B. miyamotoi*-t (*I. ricinus*), míg a vegetációról zászolózott 162 tesztelt kullancs közül csakis *I. ricinus*-ban találtunk kórokozókat: nyolcban igazolódott be a *B. burgdorferi* s. l., és egyben a *B. miyamotoi* jelenléte. Pozitív mintáinkat a tanszék munkatársai Hollandiában szekvenálták. Ennek eredménye alapján a *B. burgdorferi* s. l. csoport tagjai közül a *B. afzelii* és *B. lusitaniae* fordultak elő az általunk vizsgált mintákban.

Vizsgálatunk során elsőként igazoltuk a *B. miyamotoi* baktérium jelenlétét egy vadon élő sárganyakú erdeieger populációban, illetve Magyarországon.



## 7. Summary

Rodent species are common in Hungary like in other parts of Europe. These small mammals are important hosts of ticks so they are playing a relevant role in spreading tick-borne pathogens. Previous studies already proved the reservoir role of rodents in case of *Borrelia burgdorferi* sensu lato (s. l.) and *Borrelia miyamotoi* bacteria. The aim of this study was to detect the presence of these two causative agents from small mammals and their ticks in Gemenc and from field-collected ticks.

Six rodent species were trapped: striped field mouse (*Apodemus agrarius*), yellow-necked mouse (*Apodemus flavicollis*), bank vole (*Myodes glareolus*), common vole (*Microtus arvalis*), Eurasian harvest mouse (*Micromys minutus*) and house mouse (*Mus musculus*). After their euthanasia we took skin and spleen samples from them and collected the ticks that we found on them. These ticks belonged to *Ixodes ricinus*, *I. acuminatus*, *Dermacentor marginatus* and *Haemaphysalis concinna* species. Ticks were collected from the vegetation with flagging as well, we found *I. ricinus*, *D. marginatus*, *D. reticulatus* and *H. concinna* individuals among them.

After DNA extraction we used PCR (polymerase chain reaction) examination to determine whether tissue or tick samples are infected with any pathogens. 23 out of 348 tested skin samples were *B. burgdorferi* s. l.-positive (bank vole, striped field and yellow-necked mouse) and one was *B. miyamotoi*-positive (yellow-necked mouse). We found *B. burgdorferi* s. l. in four out of 177 tested spleen samples (striped field and yellow-necked mouse) and *B. miyamotoi* in one case (yellow-necked mouse). *Borrelia burgdorferi* s. l. was detected in 12 out of 181 engorged ticks (*D. marginatus*, *I. ricinus*, *I. acuminatus*) and *B. miyamotoi* in two engorged *I. ricinus*. 162 out of the questing ticks were tested and we found causative agents just in *I. ricinus* ticks: *B. burgdorferi* s. l. in eight cases and *B. miyamotoi* in one. Our positive samples were sequenced in the Netherlands. This examination showed that *B. afzelii* and *B. lusitaniae* species were the causative agents in the *B. burgdorferi* s. l. infections in our samples.

To the best of our knowledge our study provides the first evidence for the presence of *B. miyamotoi* infection in a wild yellow-necked mouse population and in Hungary.

## **8. Köszönetnyilvánítás**

Szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Dr. Földvári Gábornak és Szekeres Sándornak, hogy bevontak kutatásukba, és türelmükkel és szakmai segítségükkel támogatták dolgozatom elkészülését.

Köszönöm Prof. Dr. Farkas Róbert tanszékvezető egyetemi tanárnak, hogy lehetőséget biztosított a Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Karának Parazitológiai és Állattani Tanszékén kutatómunkám elvégzéséhez.

Köszönöm a Gemenci Erdő- és Vadgazdaság Zrt.-nak, hogy lehetőséget biztosítottak a kutatásunkhoz szükséges minták összegyűjtésére.

Tanulmányunkat részben az FP7-261504 EDENext támogatta ([www.edenext.eu](http://www.edenext.eu)).

A kísérlet kivitelezését támogatta a SZIE-ÁOTK Kutató Kari és az NKB kutatási pályázata.

Vizsgálatainkat a Közép-Dunántúli Környezetvédelmi, Természetvédelmi és Vízügyi Felügyelőség engedélyével végeztük.

## 9. Irodalomjegyzék

- BARKER, S.C. & MURRELL, A., 2004. Systematics and evolution of ticks with a list of valid genus and species names. *Parasitology*, 129 Suppl(February), pp.S15–S36.
- BOWMAN, A. S. & NUTTALL, P. A., 2008. Ticks: Biology, Disease and Control. *Cambridge University Press*, 507 pp.
- BURRI, C., SCHUMANN, O., SCHUMANN, C. & GERN, L., 2014. Are Apodemus spp. mice and Myodes glareolus reservoirs for Borrelia miyamotoi, Candidatus Neoehrlichia mikurensis, Rickettsia helvetica, R. monacensis and Anaplasma phagocytophilum? *Ticks and Tick-borne Diseases*, 5, pp.245–251.
- CADAVID, D. & BARBOUR, A. G., 1998. Neuroborreliosis during relapsing fever: review of the clinical manifestations, pathology, and treatment of infections in humans and experimental animals. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 26, pp.151–164.
- CHOWDRI, H. R., GUGLIOTTA, J. R., BERARDI, V. P., GOETHERT, H. K., MOLLOY, P. J., STERLING, S. L. & TELFORD, S. L., 2013. Borrelia miyamotoi infection presenting as Human Granulocytic Anaplasmosis. *Original Research*, 12, pp.21-28.
- DE CARVALHO, I.L., FONSECA, J. E., MARQUES, J. G., ULLMANN, A., HOJGAARD, A., ZEIDNER, N. & NÚNCIO, M. S., 2008. Vasculitis-like syndrome associated with Borrelia lusitaniae infection. *Clinical Rheumatology*, 27(February 2006), pp.1587–1591.
- CERRONI, L., 2004. Lyme borreliosis. *Lancet*, 363(9), p.249.
- COIPAN, E. C., FONVILLE, M., TIJSSE-KLASSEN, E., VAN DER GIESSEN, W. B., TAKKEN, W., SPRONG, H. & TAKUMI, K., 2013. Geodemographic analysis of Borrelia burgdorferi sensu lato using the 5S-23S rDNA spacer region. *Infection, Genetics and Evolution*, 17, pp.216–222.
- COSSON, J.-F., MICHELET, L., CHOTTE, J., LE NAOUR, E., COTE, M., DEVILLERS, E., POULLE, M.-L., HUET, D., GALAN, M., GELLER, J., MOUTAILLER, S. & VAYSSIER-TAUSSAT, M., 2014. Genetic characterization of the human relapsing fever spirochete Borrelia miyamotoi in vectors and animal reservoirs of Lyme disease spirochetes in France. *Parasites & vectors*, 7, p.233.
- DIBERNARDO, A., COTE, T., OGDEN, N. H. & LINDSAY, L. R., 2014. The prevalence of Borrelia miyamotoi infection, and co-infections with other Borrelia spp. in Ixodes scapularis ticks collected in Canada. *Parasites & vectors*, 7(1), pp.183–190.
- EGYED, L., ELŐ, P., SRÉTER-LANCZ, Z., SZÉLL, Z., BALOGH, Z. & SRÉTER, T., 2012. Seasonal activity and tick-borne pathogen infection rates of Ixodes ricinus ticks in Hungary. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 3, pp.90-94.

- FOELIX, R.F. & AXTELL, R.C., 1971. Fine structure of tarsal sensilla in the tick *Amblyomma americanum* (L.). *Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie*, 114(3303), pp.22–37.
- FOMENKO, N. V., LIVANOVA, N. N., BORGOPYAKOV, V. Y., KOZLOVA, I. V., SHULAYKINA, I. V., PUKHOVSKAYA, N. M., TOKAREVICH, N. K., LIVANOV, S. G., DOROSCHENKO, E. K. & IVANOV, L. I., 2010. Detection of *Borrelia miyamotoi* in ticks *Ixodes persulcatus* from Russia. *Parazitologia*, 44(8), pp.201–211.
- FÖLDVÁRI, G., FARKAS, R. & LAKOS, A., 2005. *Borrelia spielmanii* Erythema migrans. *Emerging Infectious Diseases*, 11, pp.1794-1795.
- FÖLDVÁRI, G. & RIGÓ, K., 2009. Epidemiology of Lyme borreliosis and the role of lizards in disease maintenance. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 131, pp.494–502.
- FUKUNAGA, M., TAKAHASHI, Y., TSURUTA, Y., MATSUSHITA, O., RALPH, D., MCCLELLAND, M. & NAKAO, M., 1995. Genetic and phenotypic analysis of *Borrelia miyamotoi* sp. nov., isolated from the ixodid tick *Ixodes persulcatus*, the vector for Lyme disease in Japan. *International journal of systematic bacteriology*, 45, pp.804–810.
- HAMASE, A., TAKAHASHI, Y., NOHGI, K. & FUKUNAGA, M., 1996. Homology of variable major protein genes between *Borrelia hermsii* and *Borrelia miyamotoi*. *FEMS Microbiology Letters*, 140, pp.131–137.
- HEYLEN, D., TIJSSE, E., FONVILLE, M., MATTHISEN, E. & SPRONG, H., 2013. Transmission dynamics of *Borrelia burgdorferi* s.l. in a bird tick community. *Environmental Microbiology*, 15, pp.663–673.
- HILLYARD, P. D., 1996. Ticks of North-West Europe. Dorset, Dorchester, 178 pp.
- HOVIUS, J.W.R., DE WEVER, B., SOHNE, M., BROUWER, M. C., COUMOU, J., WAGEMAKERS, A., OEI, A., KNOL, H., NARASIMHAN, S., HODIAMONT, C. J., JAHFARI, S., PALS, S. T., HORLINGS, H. M., FIKRIG, E., SPRONG, H. & VAN OERS, M. H. J., 2013. A case of meningoencephalitis by the relapsing fever spirochaete *Borrelia miyamotoi* in Europe. *The Lancet*, 382(9892), p.658.
- HU, C.M., HUMAIR, P.-F., WALLICH, R. & GERN, L., 1997. Apodemus sp. rodents, reservoir hosts for *Borrelia afzelii* in an endemic area in Switzerland. *Zentralblatt für Bakteriologie : international journal of medical microbiology*, 285, pp.558–564.
- HUBALEK, Z. & HALOUZKA, J., 1997. Distribution of *Borrelia burgdorferi* sensu lato genomic groups in Europe, a review. *European Journal of Epidemiology*, 13(Table 1), pp.951–957.
- KRAUSE, P. J., NARASIMHAN, S., WORMSER, G. P., BARBOUR, A. G., PLATONOV, A. E., BRANCATO, J., LEPORE, T., DARDICK, K., MAMULA, M., ROLLEND, L., STEEVES, T. K., DIUK-WASSER, M., USMANI-BROWN, S., WILLIAMSON, P., SARKSYAN, D. S., FIKRIG, E. & FISH, D., 2014. *Borrelia miyamotoi*: Seroreactivity and Seroprevalence in the Northeastern United States. *Emerging infectious diseases*, 20(7), pp.1183–1190.

- KRAUSE, P. J., NARASIMHAN, S., WORMSER, G.P., ROLLEND, L., FIKRIG, E., LEPORE, T., BARBOUR, A. & FISH, D., 2014. Human *Borrelia miyamotoi* Infection in the United States. *NIH Public Access*, 368(3), pp.291–293.
- LAKOS, A., 2009. Lyme borreliosis — Lessons learnt from 25 years. *Clinical and Experimental Medical Journal*, 3(2), pp.213–225.
- LANSZKI, J., MÓROCZ, A. & DEME, T., 2008. Adatok három vizes élőhely (Gemenc, Béda és a balatoni Nagyberek) kisméltősfaunájához. *Állattani Közlemények*, 93, pp.29–37.
- LŐRINCZI, L., 2005. Orvosi Mikrobiológia Részletes bakteriológia., pp.1–173.
- MAJLÁTHOVÁ, V., MAJLÁTH, I., HROMADA, M., TRYJANOWSKI, P., BONA, M., ANTCZAK, M., VÍCHOVÁ, B., DZIMKO, S., MIHALCA, A. & PETKO, B., 2008. The role of the sand lizard (*Lacerta agilis*) in the transmission cycle of *Borrelia burgdorferi* sensu lato. *International Journal of Medical Microbiology*, 298, pp.161–167.
- NOSEK, J. & SIXL, W., 1972. Central-European Ticks ( Ixodoidea ) - Key for determination. *Mitt. Abt. Zool. Landesmus. Joanneum*, 1(217), pp.61–92.
- R DEVELOPEMENT CORE TEAM, 2008. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0.
- RAS, N. M., LASCOLA, B., POSTIC, D., CUTLER, S. J., RODHAIN, F., BARANTON, G. & RAOULT, D., 1996. Phylogenesis of relapsing fever *Borrelia* spp. *International journal of systematic bacteriology*, 46, pp.859–865.
- RICHTER, D., POSTIC, D., SERTOUR, N., LIVEY, I., MATUSCHKA, F.-R. & BARANTON, G., 2006. Delineation of *Borrelia burgdorferi* sensu lato species by multilocus sequence analysis and confirmation of the delineation of *Borrelia spielmanii* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56, pp.873–881.
- RIGÓ, K., MAJOROS, G., JABLONSKY, M., MOLNÁR, V., TÓTH, M. & FÖLDVÁRI, G., 2012. A sünök ektoparazitái és a sünökből kimutatott zoonotikus kórokozók. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 134, pp.353–360.
- RIZZOLI, A., SILAGHI, C., OBIEGALA, A., RUDOLF, I., HUBÁLEK, Z., FÖLDVÁRI, G., PLANTARD, O., VAYSSIER-TAUSSAT, M., BONNET, S., SPITALSKÁ, S. & KAZIMÍROVÁ, M., 2014. Ixodes ricinus and Its Transmitted Pathogens in Urban and Peri-Urban Areas in Europe: New Hazards and Relevance for Public Health. *Frontiers in Public Health*, 2, pp.1–26.
- RÓZSA, L., REICZIGEL, J. & MAJOROS, G., 2000. Quantifying parasites in samples of hosts. *The Journal of parasitology*, 86(2), pp.228–232.
- RUEL, M., 1993. Lyme borreliosis. *Annales de medecine interne*, 144, pp.117–126.

- SATO, K., TAKANO, A., KONNAI, S., NAKAO, M., ITO, T., KOYAMA, K., KANEKO, M., OHNISHI, M. & KAWABATA, H., 2014. Human infections with *Borrelia miyamotoi*, Japan. *Emerging Infectious Diseases*, 20(8), pp.1391–1393.
- SCOLES, G.A., PAPERIO, M., BEATI, L. & FISH, D., 2001. A Relapsing fever group Spirochete transmitted by *Ixodes scapularis* ticks. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 1, pp.21-34.
- SCOTT, M.C., ROSEN, M. E., HAMER, S. A., BAKER, E., EDWARDS, H., CROWDER, C., TSAO, J. I. & HICKLING, G. J., 2010. High-prevalence *Borrelia miyamotoi* infection among wild turkeys (*Meleagris gallopavo*) in Tennessee. *Journal of medical entomology*, 47(6), pp.1238–1242.
- SILAGHI, C., WOLL, D., MAHLING, M., PFISTER, K. & PFEFFER, M., 2012. *Candidatus Neoehrlichia mikurensis* in rodents in an area with sympatric existence of the hard ticks *Ixodes ricinus* and *Dermacentor reticulatus*, Germany. *Parasites & vectors*, 5(1), p.285.
- SKOTARCZAK, B., 2002. Canine borreliosis - epidemiology and diagnostics. *Annals of agricultural and environmental medicine : AEM*, pp.137–140.
- SOBRINO, R., MILLÁN, J., OLEAGA, Á., GORTÁZAR, C., DE LA FUENTE, J. & RUIZ-FONS, F., 2012. Ecological preferences of exophilic and endophilic ticks (Acari: Ixodidae) parasitizing wild carnivores in the Iberian Peninsula. *Veterinary Parasitology*, 184, pp.248–257.
- STANEK, G., WORMSER, G. P., GRAY, J. & STRLE, F., 2012. Lyme borreliosis. *The Lancet*, 379(11), pp.461–473.
- STEFANCIKOVÁ, A., ADASZEK, L., PET'KO, B., WINIARCZYK, S. & DUDINÁK, V., 2008. Serological evidence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in horses and cattle from Poland and diagnostic problems of Lyme borreliosis. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 15(February), pp.37–43.
- SZEKERES, S., COIPAN, E. C., RIGÓ, K., MAJOROS, G., JAHFARI, S., SPRONG, H. & FÖLDVÁRI, G., 2015. *Candidatus Neoehrlichia mikurensis* and *Anaplasma phagocytophilum* in natural rodent and tick communities in Southern Hungary. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 6(2), pp.111–116.
- TAKAHASHI, Y. & FUKUNAGA, M., 1996. Physical mapping of the *Borrelia miyamotoi* HT31 chromosome in comparison with that of *Borrelia turicatae*, an etiological agent of tick-borne relapsing fever. *Clinical and diagnostic laboratory immunology*, 3(5), pp.533–540.
- TAYLOR, K.R., TAKANO, A., KONNAI, S., SHIMOZURU, M., KAWABATA, H. & TSUBOTA, T., 2013. *Borrelia miyamotoi* infections among wild rodents show age and month independence and correlation with *Ixodes persulcatus* larval attachment in Hokkaido, Japan. *Vector borne and zoonotic diseases (Larchmont, N.Y.)*, 13, pp.92–97.

- TOKARZ, R., JAIN, K., BENNETT, A., BRIESE, T. & LIPKIN, W. I., 2010. Assessment of polymicrobial infections in ticks in New York state. *Vector borne and zoonotic diseases (Larchmont, N.Y.)*, 10(3), pp.217–221.
- WAGNER, V., ZIMA, E., GELLÉR, L. & MERKELY, B., 2010. Acute atrioventricular block in chronic Lyme disease. *Orvosi hetilap*, 151, pp.1585–1590.
- WALL, R. & SHEARER, D., 1997. *Veterinary Entomology*. Cambridge University Press, 656 pp.

## Nyilatkozat

Alulírott Krizsán Boglárka kijelentem, hogy „A *Borrelia burgdorferi* sensu lato és a *Borrelia miyamotoi* baktériumok járványtani vizsgálata a gemenci kisemlősökben és kullansaikban” című pályamunka a saját munkám.

Budapest, 2015.10.26.

Krizsán Boglárka