

**Állatorvostudományi Egyetem**  
**Állatorvostudományi Doktori Iskola**

***A Schistosoma turkestanicum***  
**diagnosztizálása vadakban és hazai**  
**elterjedtségének vizsgálata**

PhD értekezés tézisei

**Dr. Juhász Alexandra**

2018

Témavezető és bizottsági tagok:

Dr. Majoros Gábor

Állatorvostudományi Egyetem,

Parazitológiai és Állattani Tanszék

témavezető

Dr. Földvári Gábor

Állatorvostudományi Egyetem,

Parazitológiai és Állattani Tanszék

témabizottság tagja

Dr. Székely Csaba

Magyar Tudományos Akadémia

Állatorvos-tudományi Kutatóintézet

témabizottság tagja

## 1. A MUNKA ELŐZMÉNYEI ÉS A KITŰZÖTT CÉLOK

Az általunk végzendő kutatásnak egy olyan különleges elősködő az alanya, amelyikről indokoltan feltételezhető, hogy évmilliók óta észrevétlenül él Magyarországon, miközben Ázsiában a mezőgazdasági munkát végző emberek súlyos bántalmát okozza. A Közép-Ázsiában felfedezett *Schistosoma turkestanicum* Skrjabin, 1913., elsősorban a tülkös szarvú kérődzők véredényrendszerében élő endoparazita, amelynek csigában fejlődő lárvája az ember bőrébe behatolva bőrgyulladást okoz (Sahba és Malek, 1979; Skrjabin, 1951). A kutatások kiderítették, hogy ez a vérmétely-faj egy izolált populáció formájában a gemenci ártéren élő gímszarvasok fertőzöttségét okozza, és legalább a jégkorszak óta ott él (Lawton és Majoros, 2013; Majoros et al., 2010). Csak ezen az élőhelyen található gímszarvasban, noha szórványos előfordulását Ázsiában sok más kérődzőben és egyéb állatfajban is megállapították.

Az emberi vérmételykór (bilharziosis vagy schistosomosis) a malária után a legtöbb áldozatot követelő parazitás betegség a világon (Bush et al., 2001). Legalább 200 millió emberre becsülik a fertőzöttek számát, amely jelenleg nemhogy csökkenne, de egyre emelkedik, például az emberek mozgásterének kiszélesedése következtében. Az ivóvízzel vagy fürdővízzel bárki fertőződhet a meleg égövi országokban, amit a rendszeres gyógykezelés sem tud visszaszorítani, mivel a patkányoknak több faja, ember hiányában is fenntartja a vérmételyt akár néptelen, akár sűrűn népesült területeken is. Európában és Észak-Amerikában csak azért nem képződik állandó fertőzést fenntartó góc, mivel az emberi vérmételyek köztigazda csigái itt nem élnek. A globális felmelegedés következtében terjedő alacsonyrendű szervezetektől tartva azonban figyelem irányult a vérmétely terjesztő csigák eredeti élőhelyüktől távol történő megtelepedésének lehetőségére is. E félelem nem alaptalan,

hiszen éppen kutatócsoportunknak volt alkalma először felismerni a dél-amerikai vérmétely-kórt terjesztő *Biomphalaria tenagophila* első, mérsékelt övi (európai) előfordulását (Majoros et al., 2008).

Az ellene való védekezés csekély sikerének következtében a schistosomosis az utóbbi években világszerte intenzíven kutatják. Az emberi és állati fertőzés dokumentált eseteinek epidemiológiai elemzésének, valamint a fertőződési kockázatot befolyásoló tényezők vizsgálatának egyaránt széles az irodalma.

A *S. turkestanicum* részletesebb hazai vizsgálata a fentiek ismeretében indokolt, mert a faj behatóbb megismerésének elsősorban a nemzetközi kutatásokhoz kapcsolódó jelentősége van. A hazai szarvasállományt amúgy nem veszélyeztető élősködő az emberi schistosomosis elleni küzdelem egyik fontos modellje lehet. A métely-cerkáriák szerológiai áthangelődést, esetenként bőrgyulladást előidéző szerepét is jobban megismerhetjük általa, és többet tudhatunk meg a Duna mentén előforduló „fürdőzési viszketést” (swimming itch) előidéző ágensek valódi természetéről.

A métely laboratóriumi körülmények közötti fenntartása nagy előrelépés lenne a schistosomosis veszélytelen körülmények közötti tanulmányozásához.

A tervezett PhD munka célja, hogy minél több adatot tudjunk meg a *S. turkestanicum* természetes előfordulási körülményeiről, és megvalósítsuk a laboratóriumi körülmények között való fenntartását.

A 3 éven keresztül tartó felmérő vizsgálat során a **célkitűzéseink az alábbiak voltak:**

1. Kimutatható-e a *S. turkestanicum* petéje vagy az abból kikelő lárva a szarvasok hullatékából? Ennek jelentősége abban van, hogy

akkor is vizsgálható lenne valamely terület fertőzöttsége, ha a vad szerveiből nem adódik mód a mótelyek kimutatására.

2. A szarvasokkal benépesült területeken hol fordul elő a *Radix auricularia* csiga Magyarországon? Az ilyen területek felismerése elősegítené a mótelynek olyan helyeken való megtalálását, ahol még nem fedezték fel azt.

3. A gemenci Duna-ártéren kívül van-e más hazai élőhely, ahol a *S. turkestanicum* előfordul? A *S. turkestanicum* ázsiai élőhelyeitől ilyen távol eső élőhely óhatatlanul felveti annak a lehetőségét, hogy a mótely több stációban érte el Magyarországot, ezért nemcsak egy helyen élhet.

4. Fenntartható-e ez a mótely laboratóriumi körülmények között? A féreg részletesebb tanulmányozásához elengedhetetlen laboratóriumi vizsgálathoz kívánatos volna, ha nem csak kérődzőben, hanem rágcsálóban is fenntartható volna. Nehézséget jelent, hogy európai köztigazdáját, a *Radix auricularia* csigát eddig még nem tenyésztették laboratóriumi viszonyok között.

5. Okoz-e szerológiai áthangolódást és bármilyen tünetet az emberben a mótely cercáriáival történő kontamináció, ha azok behatolnak a bőrbe? Ennek jelentősége abban van, hogy a *S. turkestanicum* okozta reakciókat el kell különíteni az emberi schistosomák okozta tünetektől és immunreakcióktól.

## 2. MEGVIZSGÁLT MINTÁK ÉS ALKALMAZOTT MÓDSZEREK

Először a *S. turkestanicum* először felismert élőhelyén, a Gemenci-erdők és a tőle délre eső Karapanca területén tanulmányoztuk a mótely előfordulását a szarvasokban és a csigákban. Májdarabokat és bélsármintát kaptunk a vadászoktól, és a szarvasok hulladékát az etetők körül gyűjtöttük. E mintákon felül májmintákat kaptunk az alábbi helyekről: Szigetköz, Zala: Kis-Balaton környéke, Mátra: Sirok környéke és Parádsasvár, Nyírség, Pilis: Pilisszentlászló, Gödöllői-dombság, Bakony, Zselic, továbbá hulladékokat gyűjtöttünk a Pilisből, a Szigetközből, a Kis-Balaton környékéről, a Mátrából és a Bükk-hegységből is.

A májakat apró darabokra vágtuk fel, majd csapvízzel kimostuk belőlük a mótelyeket és alkoholban konzerváltuk azokat. A megmaradt májdarabokat lúgos áztatás után vízben szuszpendáltuk, a szuszpenziót szitákon átszűrtük és a petetartalmú frakciót fukszinnal megfestettük. Ezt vízzel elkevertük, és a felülülő dekantálása után közvetlenül az üledékben vagy annak nagy fajsúlyú sóoldattal való elkeverése után a folyadékfelszínen kerestük meg a mótelypetéket. Hasonló eljárással dúsítottuk a bélsárban és a talajról gyűjtött hulladékban lévő petéket is, azzal az eltéréssel, hogy többféle fajsúlyú flotáló oldatot alkalmazunk.

A morfológiájuk alapján meghatározott mótelyekből DNS-t vontunk ki, és az ITS régió variabilitásának összehasonlító vizsgálatát végeztük el. A Gemencről származó mótelyek szekvenciáit a GenBankban helyeztük el.

A mótely élőhelyén csigákat gyűjtöttünk, amelyeket a héjuk vagy belső szerveik alapján határoztunk meg. A *S. turkestanicum* köztigazdájának felismert *Radix auricularia* csigákból kirajoztattuk a mótely cercáriáit. Az élő cercáriákat tartalmazó vízbe egereket helyeztünk

és követtük a bőrbe hatoló lárvák további sorsát. Az egyik egeret a fertőzést követően leöltük, két másikat 1, illetve 5 hónappal azután, egy negyediket pedig életben hagytunk, hogy megfigyeljük a várható Peteürítést.

Az általunk gyűjtött és más országokból kapott *R. auricularia* csigákból DNS-t vontunk ki és megvizsgáltuk a cox-régió variabilitását. Elkezdtük a csiga akváriumban történő szaporítását. Múzeumi gyűjtemények adatainak alapján összegyűjtöttük a csiga magyarországi előfordulásának hiteles adatait és elkészítettük a faj hazai elterjedési térképét.

A mótely cercáriáinak vízből való kimutatására többféle csapdázási és szűrési módszert próbáltunk ki. Vízen úszó csapdák felületét lenolaj tartalmú attraktáns anyagokkal vontuk be, és azokon kerestük a cercáriákat. A vízen úsztatható, sűrű szitaszövetrel ellátott szűrőeszközzel, illetve kézi szitákkal kíséreltük meg a cercáriák összegyűjtését.

Megfigyeltük, hogy mik a következményei a *S. turkestanicum* cercáriákkal való, akcidentális emberi kontaminációnak, illetve mesterségesen előidézünk ilyen cercária-fertőzést, hogy bizonyítsuk a mótely dermatitisz okozó képességét.

### 3. EREDMÉNYEK

A Gemencről származó megvizsgált 176 szarvas máj közül 50-ben igazoltuk a vérmételyek jelenlétét. A Karapancsáról származó 36 máj közül 3 tartalmazott vérmételyeket. Nem tapasztaltuk, hogy a vérmételyek bármilyen szemmel látható, kóros elváltozást okoztak volna a májakon. Gyakran észleltünk kettős fertőzöttséget, azaz a *S. turkestanicum* és a *Fascioloides magna* egyszerre volt jelen a májban. Ez utóbbi faj példányait nem mindig találtuk meg, de a májmételyre visszavezethető elváltozást szinte minden májban találtunk. Lándzsásmételyek okozta epéér megvastagodást 3 esetben, 2 esetben *cysticercus tenuicollis* hólyaglárvét is észleltünk. A májdarabokban néha csak 2-3, máskor 40-50, és ritkán több száz vérmétely volt. A mételyek szinte kizárólagosan ivarérett példányok voltak. A legtöbb esetben csak a hím férgeket lehet kimutatni, mert a kicsiny nőtények tönkremennek a mintagyűjtés és tárolás során.

Csak gemenci és a hozzá kapcsolódó karapancsai erdőkből származó májmintákból tudtuk kimutatni a *S. turkestanicum* fertőzöttséget, Magyarország egyéb 9 vadászterületéről származó mintákban nem.

A *S. turkestanicum* féreg tartalmú májdarabok 50%-a tartalmazott vérmétely-petéket is. A májdarabok híg lúggal történő feloldásával tudtuk szeparálni a petéket a szövetekből. A májban lévő peték zöme nem tartalmazott életképes lárvét. Ezért az állatok bélsarában, illetve hullatékában eleve kevés ép petére lehet számítani.

A szarvasok földről gyűjtött hullatékának vízben történő szuszpendálásával, szítaszöveten keresztül történő szűrésével és emelkedő fajsúlyú oldatokkal való flotálásával tudtuk megtalálni a benne



lévő *S. turkestanicum* petéket. A szarvasokból kiürült peték változó fajsúlyúak, ezért az 1250-1400 g/l fajsúly közötti oldatok mindegyikében lehet petét találni a felszindúsítás alkalmával. Az eljárás során fukszinnal pirosra festett petéket a Gemencről és Karapancsáról származó hulladék minták 24 %-ában lehetett kimutatni. A többi 9 vadászterületen gyűjtött minták egyikében sem találtuk meg a vérmétely petéit.

A *S. turkestanicum* köztigazdája, a *Radix auricularia* gyakran együtt él a hozzá nagyon hasonló *Radix balthica* csigával, amitől ugyan anatómiai vizsgálattal el lehet különíteni, de az csak kifejlett példányok vizsgálata alapján lehetséges. Megállapítottuk, hogy a két faj héján lévő csúcsi kanyarulatok felülete eltérő domborzatú. A *R. auricularia* kanyarulatainak felszíne rovátkák sorozatából álló recézettséget mutat, ezzel szemben a *R. balthica* héja csak növekedési barázdákat visel. Csak a *R. auricularia* csigákban találtunk *Schistosoma* lárvákat, a *R. balthica* csigákban egyetlen alkalommal sem.

Megállapítottuk, hogy bár fosszilis leletek bizonyítják a köztigazda csiga őshonosságát, de a *R. auricularia* a jégkorszakban sem lehetett gyakori faj Magyarország területén. Magyarországi és külföldről származó *R. auricularia* példányok *cox* génjeit vizsgáltuk és meghatároztuk a haplotípusokat. A 14 országból származó 170 *R. auricularia* példány szekvencia analízisét alapul véve elkészítettük a faj ázsiai és európai populációjának rokonsági viszonyait feltüntető törzsfát. Ez a legnagyobb genetikai variabilitást, azaz diverzitást az európai területen mutatta.

Malakológiai gyűjtemények és saját vizsgálatok alapján az ország 81 pontján ismertem fel olyan élőhelyet, ahol a *R. auricularia* csigák előfordulnak. A lelőhelyi adatokból térképeket szerkesztettünk, amelyeken elkülönítve ábráztuk a csiga természetes és mesterséges élőhelyeit. Megállapítottuk, hogy jelenleg a csiga többnyire az ember által létrehozott, mesterséges élőhelyeken él, annak ellenére, hogy őshonos.

Megfigyeltük a *S. turkestanicum* cercáriák csigából való kirajzását, a külvilágon való élettartamát és a fertőzőképességét. A köztigazda elhagyása a reggeli órákban történik és a lárvák a vízfelszín közelében tartózkodnak körülbelül egy napig, azután elpusztulnak. A cercáriák képesek az egér és az ember bőrébe behatolni, és az utóbbi akcidentális gazdában dermatitist előidézni. Megállapítottuk, hogy a *S. turkestanicum* métely a fertőzött egér májában 1 hónap alatt 200-300  $\mu\text{m}$  hosszúságúra növekszik, és még 5 hónap múlva sem éri el benne az ivarérettséget.

A csigák természetes élőhelyén többféle módszer segítségével kíséreltük meg a cercáriák kimutatását. A vízben mozgó cercáriákat egy távirányítású hajómodellel vagy kézi erővel vontatott, úszó szűrő segítségével meg tudtuk találni. A vízben lebegő anyagokból kiszűrt törmelékben neutrál-vörös festékkel megfestve ismertük fel a mozgó cercáriákat.

#### 4. MEGBESZÉLÉS

A *S. turkestanicum* közeli rokona az emberi schistosomáknak, s emiatt az ember bőrébe hatol a vízben úszó lárvája, de maga a mótely nem tud kifejlődni benne. Ez a tulajdonsága teszi érdekessé a tudományos kutatás számára, mivel feltételezhető, hogy jobb megismerése által a trópusi schistosomák viselkedését is jobban megérthetjük, és hatékonyabban tudunk védekezni azok ellen. A *S. turkestanicum* vizsgálatának Magyarországon ezért nem elsősorban állategészségügyi jelentősége van, hanem figyelmet érdemel, mint zoonóziát okozó ágens és mint az emberi fertőzést okozó paraziták biztonságosan tanulmányozható modellje. A mi vizsgálataink alapján is, úgy tűnik, hogy Európában csak a gímszarvasban él.

Megállapítottuk, hogy a kilőtt szarvasok májának néhány dekagrammnyi mennyiségéből is fel lehet ismerni a fertőzöttséget, ha a szervdarab a májkapu környékéről származik. Ez azért is fontos, mert a gyakorlatban általában nincs lehetőség arra, hogy a vérmótelyek által benépesített egyéb szervek (pl.: bélfal, mesenterium) vizsgálatra kerüljenek. A *S. turkestanicum* mótelyeket és petéiket a *Fascioloides magna* vagy *Dicrocoelium dendriticum* mótelyekkel való egyidejű fertőzés esetén is meg lehet találni, noha az előbbiekkal ellentétben a szarvasban egyáltalán nem okoz semmilyen elváltozást.

Noha Európában többször is kimutattak emberi és állati vérmótelyeket, az emlős vérmótelyeknek a kontinensen való őshonosságát korábban egy faj esetében sem lehetett bizonyítani. A gemenci szarvasokban először 2002-ben megtalált *Schistosoma turkestanicum* vérmótely és köztigazdája a vizsgálatok során őshonosnak bizonyult, így jelenlegi tudásunk szerint ez a faj Magyarország és egyben Európa egyetlen, nem behurcolt emlős vérmótelye, noha ázsiai eredetű.

A vadak zsigereinek országos szintű vizsgálata megoldhatatlannak bizonyult, így a métely hazai elterjedése csak úgy volt vizsgálható, hogy, ha elhullatott bélsárból is meg tudjuk találni a féreg petéit. A hulladék mintákból, a vadászati idénytől függetlenül, bármely időszakban meg tudtuk állapítani a peték előfordulását. A petekoncentráció dúsítás mellett, festési eljárást is kidolgoztunk, aminek a segítségével a mikroszkópos vizsgálat során a vérmétely-petéket egyszerűbben el tudtuk különíteni a bélsár egyéb alkotóelemeitől. Ennek jelentősége abban van, hogy a vérmétely-petéek nagyon kis mennyiségben találhatóak az ürülékben.

A métely potenciális hazai elterjedése a köztigazda csigák elterjedésétől függ, ezért megvizsgáltuk, hogy köztigazdája, a *Radix auricularia* vízicsiga hol fordul elő. Megállapítottuk, hogy habár a csiga őshonos Magyarországon, az a szokása, hogy a mesterséges élőhelyeket kedveli, és többnyire a természetes vizeknél melegebb vizekben él, arra utal, hogy a jégkorszakot követően terjedt el Európában. Magyarországon a *S. turkestanicum* csak a *R. auricularia* csigában képes fejlődni, és még a csiga legközelebbi rokonában, a *R. balthica* fajban sem szaporodik. A métely cercáriája a nyár második felében rajzik ki a köztigazdákból, és egy napig él a vízfelszín közelében úszkálva. Úgy véljük, hogy attraktáns anyagokat tartalmazó csapdával valószínűleg nem, de szűrőeszköz segítségével a cercáriák kimutathatók a vízből, aminek a vízben fürdő emberek szempontjából van jelentősége. Megállapítottuk, hogy a szarvasokban élő *S. turkestanicum* is képes inadekvát gazdába, így például egérbe és emberbe is behatolni, és az utóbbiban a „fürdőzési viszketés” néven ismert bőrbántalmat előidézeni.

E megállapítások egyrészt segítenek abban, hogy a továbbiakban olyan helyeken keressük a *S. turkestanicum* előfordulását, ahol a gímszarvas és a *R. auricularia* csiga egyaránt előfordul, illetve közvetlenül a vízből mutassuk ki az éppen kirajzó cercáriákat, ha

közvetlenül egyik gazdát sem vizsgálhatjuk meg. Remélhetően ilyen módon más, olyan mótelyfaj cercáriáit is ki lehet mutatni a vízből, amelyek dermatitist okozhat emberben, például a vízmadarak egyes férgeinek lárváit.

Az emberi cercária dermatisz vizsgálata felfedte, hogy a *S. turkestanicum* lárvák invázióját a rutindiagnosztikában használt szerológiai módszerek trópusi vérmételyekkel való fertőzöttségnek tüntetik fel. Ezért jelentősége van annak, hogy egyes specifikusabb vizsgálatokkal el tudjuk különböztetni a valódi emberi schistosomák okozta szerológiai áthangolódást a csupán dermatitist okozó fajok által indukált szerokonverziótól.

A laboratóriumi fehér egér ugyan sikeresen fertőzhető a *S. turkestanicum* vérmétellyel, de legalább 5 hónap alatt nem alakul ki benne pátnens fertőzöttség. Mivel a fertőzött állat tünetmentesen elviseli ezt a fertőzöttséget, van remény arra, hogy a jövőben pátnens fertőzöttség is létrehozható legyen, ami nagy előrelépés volna a vérmétely mesterséges körülmények közötti fenntartásában.

## 5. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Vizsgálati módszert dolgoztam ki a májban lévő vérmétely peték kimutatására, amely akkor hasznos, ha a vizsgálni kívánt szervmintában valamely ok miatt már nem található metely.
2. A szarvasok hullatékában lévő *S. turkestanicum* peték kimutatására egy kombinált eljárást dolgoztam ki, amely egyesíti magában az ülepítéses dúsítást, a felszindúsítást és a kontrasztfestés előnyeit és nagyon kis petekoncentráció esetén is meg lehet találni vele a petéket a mintában.
3. Elkészítettem a *Radix auricularia* csiga magyarországi elterjedési térképét, elkülönítve ezt a fajt a hozzá nagyon hasonló *Radix balthica* és *Radix labiata* fajoktól.
4. Leírtam azokat a morfológiai ismérveket, amelyek segítségével az egymástól igen nehezen megkülönböztethető *R. auricularia* és *R. balthica* fajokat fiatal példányaik, vagy üres héjaik alapján is el lehet különíteni egymástól.
5. Magyarországon először bizonyítottam be az emlős vérmetelyek által okozott cercária dermatitisz előfordulását emberben.
6. Megállapítottam, hogy a gemenci halászok körében a múlt század eleje óta felismert sajátos tünetet, az úgynevezett vízi rühösséget a *Schistosoma turkestanicum* okozza, amelynek ott a rendes gazdája a gímsharvas.
7. Magyarországon először mutattam ki cercáriákat közvetlenül természetes élőhelyen a vízből.

## 6. A KUTATÁSI EREDMÉNYEK KÖZLÉSEI

### A témában megjelent tudományos publikációk

Juhász A., Majoros G. (2018) Investigations on the distribution *Schistosoma turkestanicum* Skrjabin, 1913 (Trematoda: Schistosomatidae) infection of red deer in Hungary and a combined method for detection of its eggs in droppings, Acta Parasitologica, in press. IF.: 1,16

Majoros G., Juhász A., (2018) Temporary puddles on forest roads as wallow sites of red deer may have important role to sustain *Fascioloides magna* infection in flood area of Danube River, Biologia, in press. IF.: 0.759

Juhász A., Dán Á., Dénes B., Kucsera I., Danka J., Majoros G (2016) Egy ritka zoonózis: a *Schistosoma turkestanicum* (Skrjabin, 1913) vérmétegy által okozott cercária dermatitis Magyarországon. Orvosi Hetilap 157. évfolyam 40. szám. IF.: 0,291

Összes impakt faktor: 2,21

### A témában tartott előadások

Juhász A (2018) A *Schistosoma turkestanicum* vérmétegy magyarországi köztigazdájának vizsgálata; Akadémiai Beszámoló, Budapest, 2018. január 24.

Juhász A (2017) Detection of eggs of *Schistosoma turkestanicum* in droppings of deer p.: 31. 3rd International Congress on Parasites of Wildlife, Kruger National Park, South Africa

Juhász A (2017) A *Schistosoma turkestanicum* fertőzöttség

kimutatása a végleges gazdában; Akadémiai Beszámolók, Budapest, 2017. január 25

Juhász A (2016) Search for snail-vectors of an endemic *Schistosoma* species in Hungary The 19th International Congress of Unitas Malacologica, The World Congress of Malacology (WCM) Malajzia, Georgetown, 2016. július 18-24.

Juhász A (2016) A magyarországi *Schistosoma* fertőzöttség elterjedésének vizsgálati lehetőségei; Akadémiai Beszámolók, Budapest, 2016. január 27

Juhász A (2015) Vérmétely cercáriák kimutatása vízből; MPT Jubileumi Ülés, Budapest, 2015. június 3.

Juhász A (2015) *Radix auricularia*, mint a *Schistosoma turkestanicum* köztigazdája; 39. Malakológiai Kongresszus, Budapest, 2015. szeptember 26.

Juhász A, Majoros G (2015) A felszindúsítás során identifikált peték DNS kivonáshoz történő koncentrációja; Akadémiai Beszámolók Budapest, 2015. január 28