

**Állatorvostudományi Egyetem
Állatorvostudományi Doktori Iskola**

**A *Schistosoma turkestanicum* Skrjabin, 1913
diagnosztizálása vadakban és hazai
elterjedtségének vizsgálata**

PhD értekezés

Dr. Juhász Alexandra

2018

Témavezető és témabizottsági 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

Készült 8 példányban. Ez a n. sz. példány.

.....
dr. Juhász Alexandra

Tartalomjegyzék

Tartalomjegyzék	3
Az alkalmazott rövidítések és feloldásuk	5
1. ÖSSZEFOGLALÁS	6
2. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK	9
3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	11
3.1. A <i>Schistosoma turkestanicum</i> vérmétely	11
3.1.1. A parazita felfedezése és előfordulása	11
3.1.2. Rendszertani helyének és rokonsági viszonyainak vizsgálata	13
3.1.3. A parazita morfológiája	16
3.1.4. A parazita életciklusa és gazdái	20
3.1.4.1. A <i>S. turkestanicum</i> fejlődésmenete	20
3.1.4.2. A <i>S. turkestanicum</i> köztigazdái	22
3.1.4.3. A <i>S. turkestanicum</i> végleges gazdái	28
3.2. A <i>S. turkestanicum</i> okozta fertőzés jellemzői	33
3.2.1. Klinikai tünetek	33
3.2.2. Kóros elváltozások	35
3.2.3. Szerológiai vizsgálattal kimutatható változások	36
3.2.4. Gazdasági kártétele	37
3.3. A <i>S. turkestanicum</i> fertőzés diagnosztikája	37
3.3.1. Morfológiai vizsgálatok	37
3.3.2. Kórbonctani vizsgálatok	38
3.3.3. Immunológiai módszerek és molekuláris módszerek	39
3.4. A schistosomosis elleni védekezés, megelőzés lehetőségei	39
3.4.1. Általános védekezési intézkedések	39
3.4.2. Gyógyszeres védekezés	40
3.4.3. Köztigazda csigák elleni küzdelem	42
4. ANYAG ÉS MÓDSZER	46
4.1. A lőtt vadak vizsgálata	46
4.1.1. A parazita hazai előfordulásának helyszíne és a vizsgált területek	46
4.1.2. A máj minták gyűjtése	48
4.1.2.1. A paraziták és petéik kimutatása a májból	50
4.1.2.2. Májdarabokból kigyűjtött paraziták azonosítása	52
4.1.2.3. Molekuláris biológiai vizsgálatok	53
4.2. A bélsár vizsgálata	56
4.2.1. A béltartalom és a hulladék gyűjtése	56
4.2.2. Petekimutatás a béltartalomból és a hullatékából	58
4.3. A köztigazda csigák vizsgálata	59
4.3.1. Az élőhelyen talált csigafajok vizsgálata	59
4.3.2. Az élő <i>Radix</i> példányok vizsgálata	60
4.3.2.1. A <i>R. auricularia</i> csigák akváriumai nevelése	61
4.3.2.2. A <i>R. auricularia</i> magyarországi elterjedésének vizsgálata	61
4.4. A cercáriák vizsgálata	64

4.4.1.	A cercáriák csapdázása attraktáns anyagokkal	64
4.4.1.1.	Csapdázás vontatott csapdával	64
4.4.1.2.	Csapdázás vízben álló csapdával	65
4.4.1.3.	Csapdázás vízben sodródó csapdákkal	65
4.4.2.	A cercáriák gyűjtése szűréssel	66
4.4.2.1.	A víz szűrése kézi sziták segítségével	66
4.4.2.2.	A víz szűrése vontatott szűrőeszköz segítségével	66
4.4.3.	A cercáriák fertőzőképességének vizsgálata	67
5.	EREDMÉNYEK	69
5.1.	A <i>S. turkestanicum</i> a májban	69
5.2.	A <i>S. turkestanicum</i> peték kimutatása a májból	71
5.3.	A petekimutatás a gyűjtött hulladék mintákból	72
5.4.	A <i>S. turkestanicum</i> köztigazdájának elkülönítése a hozzá hasonló fajoktól	75
5.5.	A magyarországi <i>R. auricularia</i> populációk eredete	81
5.6.	A <i>R. auricularia</i> magyarországi elterjedése	83
5.7.	<i>S. turkestanicum</i> cercáriáinak viselkedése	86
5.8.	A <i>S. turkestanicum</i> cercáriák kimutatása vízből	88
5.9.	A cercáriák bőrbe hatoló képességének vizsgálata egéren	90
5.10.	A cercáriák bőrbe hatoló képességének vizsgálata emberben	90
5.11.	A cercáriák fertőzőképességének vizsgálata egéren	91
6.	MEGBESZÉLÉS	94
6.1.	A <i>S. turkestanicum</i> kimutatása és elterjedése a végleges gazdában	94
6.2.	A <i>R. auricularia</i> magyarországi státusza és elkülönítése	98
6.3.	<i>S. turkestanicum</i> cercáriáinak kimutatása vízből	101
6.4.	A <i>S. turkestanicum</i> dermatitist előidéző képességének vizsgálata	101
7.	ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK	103
8.	IRODALOMJEGYZÉK	104
9.	A KUTATÁSI EREDMÉNYEK KÖZLÉSEI	117
9.1.	A TÉMÁBAN MEGJELENT TUDOMÁNYOS PUBLIKÁCIÓK	117
9.2.	A TÉMÁBAN TARTOTT ELŐADÁSOK	117
9.3.	EGYÉB KÖZLEMÉNYEK REFERÁLT FOLYÓIRATOKBAN	118
10.	KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	119

Az alkalmazott rövidítések és feloldásuk

ATP	adenozin-trifoszfát
BALB/c	egy beltenyésztett laboratóriumi fehéregér-törzs neve
cox	citokróm-oxidáz enzim
DEET	N, N-Dietil-meta-toluamid
DNS	dezoxiribonukleinsav
dNTP	nukleotidok
ELISA	(enzyme-linked immunosorbent assay) enzimhez kötött immunoszorbens teszt
IgA, IgE, IgG, IgM	immunglobulin-A, E, G, M
ITS	(internal transcribed spacer) ITS régió a riboszóma alegységeit kódoló gének közé ékelődő, nem funkcionáló szakasz
mtDNS	mitokondriális dezoxiribonukleinsav
NÉBIH	Nemzeti Élelmiszerbiztonsági Hivatal
PCR	(polymerase chain reaction) polimeráz láncreakció
PPG	grammonkénti peteszám
SEM	scanning (pásztázó) elektronmikroszkóp
Th1, Th2	1-es és 2-es típusú segítő T-limfocita
TI	terápiás index
UV	ultraibolya
WHO	World Health Organisation

Az alkalmazott mértékegység-rövidítések: **cm³** (köbc centiméter), **l** (liter), **µl** (mikroliter), **ml** (milliliter), **µm** (mikrométer), **g** (gramm)

1. ÖSSZEFOGLALÁS

Noha Európában többször is kimutattak emberi és állati vérmételyeket, az emlős vérmételyeknek a kontinensen való őshonosságát korábban egy faj esetében sem lehetett bizonyítani. A gemenci szarvasokban először 2002-ben megtalált *Schistosoma turkestanicum* vérmétely a későbbi vizsgálatok során őshonosnak bizonyult, így jelenlegi tudásunk szerint ez a faj Magyarország és egyben Európa egyetlen, nem behurcolt emlős vérmételye. Bár a *S. turkestanicum* Ázsia keleti feléből származik, ahol többféle vadon élő és házasított állatban is él, a természetes életterükben élő gímszarvasban egyedül csak hazánkban található.

Közeli rokona az emberi schistosomáknak, s ezért nem meglepő, hogy az ember bőrébe hatol a vízben úszó lárvája, de maga a métely 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 mint zoonózist okozó ágens és emberi fertőzést okozó paraziták biztonságosan tanulmányozható modelljeként érdemes a figyelemre.

A *S. turkestanicum* különleges, magyarországi jelenléte összetett problémarendszer, melynek sikeres vizsgálata csak úgy lehetséges, ha több oldalról közelítjük meg azt. A jelen értekezésben ismertetett munka során ökológiai, állattani, parazitológiai, orvosi és állatorvosi oldaláról is igyekeztem megvizsgálni a kérdéskört.

A gemenci erdők területén a vérmétely természetes előfordulását terepi vizsgálatokkal kutattunk, ezen kívül igyekeztünk az ország más, potenciálisan fertőzött területeit is felkeresni. A terepen gyűjtött mintákat hazai és külföldi laboratóriumokban dolgoztuk fel.

A szarvasok májából gyűjtöttük az adult vérmételyeket, majd a peték detektálását is megkíséreltük a szervből. Megállapítottuk, hogy a gazdaállatok májának néhány dekagrammnyi mennyiségéből is meg lehet állapítani a fertőzöttséget, ha a szervdarab a májkapu környékéről származik. Ez azért is fontos, mert a gyakorlatban általában nincs lehetőség arra, hogy a vérmételyek által benépesített egyéb szervek (pl.: bélfal, mesenterium) vizsgálatra kerüljenek. A *S. turkestanicum* mételyeket a *Fascioloides magna* vagy *Dicrocoelium dendriticum* mételyekkel való egyidejű fertőzés esetén is meg lehet

találni. A vérmétely petéit csak olyan májdarabokból lehetett kimutatni, amelyekben kifejlett mételyek is voltak.

A vadak zsigereinek országos szintű vizsgálata megoldhatatlannak bizonyult, így a métely hazai elterjedése csak úgy volt vizsgálható, hogy, ha a vadak elhullatott bélsarából is igyekeztünk kimutatni a féreg petéit. A hulladék mintákból, a vadászati idénytől függetlenül, bármely időszakban tudtuk vizsgálni a métely előfordulását. A hagyományos parazitológiai eljárások és a molekuláris biológiai módszerek kombinálásával a bélsárból ki tudtuk mutatni a petéket. Többféle koprológiai vizsgálati módszert próbáltunk ki a peték vagy a belőlük kikelő lárvák kimutatására, illetve a mintákban való koncentrálására, azért, hogy a DNS kimutatási technikák egyáltalán használhatóak legyenek a bélsár vizsgálatára. Festési eljárást is kidolgoztunk, aminek a segítségével a vérmétely-petéket egyszerűbben el tudjuk különíteni a bélsár egyéb alkotóelemeitől a mikroszkópos vizsgálat során. Ennek jelentősége abban van, hogy a vérmétely-petéek nagyon kis mennyiségben találhatóak az ürülékben, s míg ez a probléma az emberi vérmételykór diagnosztizálása esetén ismételt vizsgálatokkal áthidalható, a vadak esetében erre semmilyen esély sincs.

A Gemenc melletti erdőkben élő szarvasok májának és hulladékának vizsgálatával kísérletet tettünk az endemikusan fertőzött terület határainak meghatározására. Eredményeink szerint nincs nyoma annak, hogy a *S. turkestanicum* fertőzöttség a Duna árterén túli területekre is kiterjedne.

A métely potenciális hazai elterjedése a köztigazda csigák elterjedésétől függ, ezért megvizsgáltuk, hogy a természetes köztigazdája, a *Radix auricularia* vízicsiga hol fordul elő. Múzeumi és magángyűjteményekben őrzött példányok revíziója után, elsőként készítettünk el a csiga hazai előfordulási térképét. Felkerestünk néhány olyan helyet, ahol a szarvas állomány sűrű és a köztigazda egyaránt megtalálható. Ott hulladékokat gyűjtöttünk és megvizsgáltuk a *S. turkestanicum* peték jelenlétére.

Mivel a *R. auricularia* csigák sok esetben nehezen fedezhetők fel az élőhelyeiken, megpróbáltunk a *S. turkestanicum* vízben úszó cercáriájának közvetlen kimutatásával. Különböző eszközöket dolgoztunk ki a cercáriák gyűjtésére. A módszereket fertőzött, vagy potenciálisan fertőzöttnek vélt területeken teszteltük. Megállapítottuk, hogy a víz szitaszöveten keresztül való szűrésével a benne úszó cercáriák megtalálhatók.

Első alkalommal foglalkoztunk érdemben a Magyarországon ismerté vált, cercária dermatitisz fertőzésekkel. Egyes állati vérmételyekről régóta ismert volt, hogy abortív fertőzést alakíthatnak ki az emberben. A fürdőzési viszketésnek nevezett bántalmat is állati vérmételyek lárvái okozzák. E bántalom magyarországi előfordulásának bizonyítása eddig nem történt meg, pedig rendszeresen előfordultak mételylárva fertőzésre utaló klinikai esetek.

Laboratóriumban fertőzött egerek szövettani és kórtani vizsgálata bizonyította, hogy a gemenci *S. turkestanicum* lárvája is képes nem adekvát gazdába behatolni, s ez megerősítette azt a gyanúkat, hogy ez a mótely, felelős egy bizonyos típusú emberi dermatitisz kialakulásáért a gemenci ártéren.

Végül egy akcidentális illetve egy szándékos *S. turkestanicum* fertőzésre adott humán immunválasz vizsgálata lehetőséget adott a kórokozóval való kontamináció kimutatására. Ezzel igazoltuk a mótely lárvájának humán szervezetbe való behatolási képességét is. A megfigyelések és az elvégzett vizsgálatok tükrében bizonyítottnak látjuk, hogy a gemenci ártéren gyakori, vízzel való kontaktust követő emberi dermatitiszek okozója a szarvasokban élő *S. turkestanicum*.

2. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK

Az általunk végzendő kutatásnak egy olyan különleges élősködő az alanya, amelyikről indokoltan feltételezhető, hogy évmilliók óta észrevétlenül él Magyarországon, miközben Ázsiában a mezőgazdasági munkát végző emberek súlyos bántalmát okozza. Az 1930-as években, 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 vérmételykórt 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 szarvas-állományt amúgy nem veszélyeztető élősködő az emberi schistosomosis elleni küzdelem egyik fontos modellje lehet. A métely-cerkáriák szerológiai

áthangolódást, esetenként bőrgyulladást előidéző szerepét is jobban megismerhetjük általa, és többet tudhatunk meg a Duna mentén előforduló „fürdőzési viszketést” (swimmer’s itch) előidéző ágensek valódi természetéről.

A mótely 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.

3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

3.1. A *Schistosoma turkestanicum* vérmétely

3.1.1. A parazita felfedezése és előfordulása

A parazitát Skrjabin fedezte fel 1913-ban szarvasmarhában (*Bos taurus*) Közép-Ázsiában, az akkori Oroszország Turkesztán tartományában, Frunze városától nyugatra, Dzsambul vágóhidján (Skrjabin, 1913). Ez a terület a mai Kirgizisztán területére esik. Skrjabin a *Schistosoma turkestanicum* néven írta le a parazitát. Marotel 1908-ban, szintén szarvasmarhában találkozhatott a *S. turkestanicum* vérmétellyel Franciaországban, ő azonban azt már egy korábban leírt fajnak vélte, és *S. bomfordi*-ként azonosította (Marotel, 1908). Később Price kutatásai igazolták, hogy Marotel fajmeghatározása valószínűleg téves volt (Price, 1929).

Popov macskában találta meg az említett fajt, 1926-ban Kazahsztán területén (cit: Skrjabin, 1951). Price (1929) a mételyt átsorolta az *Ornithobilharzia* nembe, a csoportba tartozó más fajokkal mutatott küllembeli hasonlóságok miatt, így *Ornithobilharzia turkestanicum*-ra módosította a faj megnevezését. (Az *Ornithobilharzia* nemet először Rudolphi írta le 1819-ben, a Vörös-tengernél élő madarakban előforduló vérmételyek alapján.)

A madarakban előforduló vérmételyekkel mutatott morfológiai hasonlóság miatt Price azt feltételezte, hogy az általa *O. turkestanicum*-nak nevezett faj csak madarakban fordul elő, és a szarvasmarhában illetve birkában kimutatott előfordulása csak akcidentális fertőzés eredménye lehetett. Ezt követően Dutt és Srivastava (1955) egyes emlős vérmételyek számára egy új taxonómiai csoportot, az *Orientobilharzia* nemet hozott létre, míg Le Roux (1958) ugyanezen mételyek elnevezésére az *Eurobilharzia* nevet indítványozta, melyet később elvetettek (Le Roux, 1958).

Az ekkor még általánosan *Orientobilharzia* nembe sorolt mételyfajt egyre többen és egyre nagyobb területen találták meg. Yamagiwa (1931) Mongólia területén találta meg szarvasmarhában, Machattie és Chadwick (1932), illetve Machattie (1936) Irakban fedezte fel jelenlétét. Az Irakban vizsgált juhok 80%-a volt vele fertőzött. Ugyanők kecskében, szarvasmarhában és vízibivalyban is kimutatták és a vizsgált lovak 15%-a bizonyult fertőzöttnek. Ezen kívül szamarokban, tevékben és öszvérekben írták le. Hsu (1938) Észak Kínában, Abdussalam és Savar (1952) Pakisztán területén juhokban mutatta ki a parazitát még 2000 méter tengerszint feletti magasságban is. Indiában, szarvasmarhában többen is

megtalálták (Dutt és Srivastava, 1964; Srivastava és Trisal, 1957). A volt Szovjetunió területén több kutató is igazolta előfordulását szarvasmarhában, juhban és kecskében (Azimov, 1965, 1966; Azimov és Nurmukhamedov, 1968; Boev, 1944; Lavrov, 1964; Lavrov et al., 1969; Tuaev, 1946; Zakhryalov, 1972). Törökország déli részén a *Rattus* nembe tartozó patkányokban találták meg a mótelyeket. Ez volt az első eset, hogy a mótelyt olyan vadon élő állatban észlelték, amely nem volt patás állat (Witenberg és Lengy, 1966). A Bilharziasis Pilot Project néven indított nagy volumenű kutatást 1962-ben Irán területén levő Husestan tartományban végezték, amely a *S. turkestanicum* és más mótelyek elterjedését vizsgálta Közép-Ázsiában (Arfaa et al, 1965). Későbbiek során Sabbaghian (1964), Arfaa (1965) különféle gazdasági haszonállatokban, kiskérődzőkben és szarvasmarhában mutatta ki. Iránban egy esetben feljegyezték vaddisznóban is az előfordulását (Massoud, 1971).

Európában, Törökországban, 1986-ban állapították meg újra a jelenlétét (Kumar és De Burbure, 1986), mégpedig juhokban.

A filogenetikai vizsgálatok során kiderült, hogy közvetlen rokona az emberi vérmótelyeknek, ezért az *Orientobilharzia* nemből ismét a *Schistosoma* nembe sorolták át (Li et al., 2008; Wang et al., 2011).

Kínában a *S. turkestanicum* jelenlétét már 24 tartományban észlelték (Wang et al., 2002).

Magyarországon, a gemenci szarvasok májmótelykórjának vizsgálata során, 2002-ben megállapították, hogy az állatok májában nem ritka parazita a *S. turkestanicum* vérmótely (Majoros et al., 2010).

Ezek a szakirodalmi utalások bizonyítják, hogy a parazita széles körben elterjedt, főleg Ázsia középső részén, de a Koreától a Kelet-Törökországig terjedő sávban sokfelé megtalálható.

Az Uráltól nyugatra, tehát az európai területeken mindössze négy előfordulási adat található, tehát úgy tűnik, hogy a parazita elterjedési centruma Közép- vagy esetleg Kelet-Ázsia (ld. 16. o.: 2. ábra). Ugyanakkor nehéz helyzetben vagyunk, ha a *S. turkestanicum* eredeti előfordulását akarjuk meghatározni, mert a mótelyt a legtöbb esetben háziállatokban találják meg és vadon élő állatokban lévő előfordulási adatai nagyon hézagosak. Mivel a háziállatok általános elterjedtsége azt eredményezheti, hogy a vadon élő állatok is a közvetítésükkel fertőződhetnek ezzel a mótellyel, még az sem biztos, hogy a természetes élőhelyen élő állatok *S. turkestanicum* fertőzöttsége mindig természetes eredetű, hanem a juhok vagy a marhák itatóhelyein fertőződnek. A *S. turkestanicum* természetes élőhelyeinek csak azokat a területeket tekinthetjük, ahol a parazita a háziállatok tartási helyeitől távol eső részeken, őshonos emlősökben és köztigazda csigákban fordul elő.

Elvileg a mótely magyarországi élöhelye az őshonosság minden kritériumának megfelel, mert mind a gímszarvas, mind a mótely köztigazdjául szolgáló *Radix auricularia* csiga bizonyosan őshonos a Kárpát-medencében (Jánossy, 1986; Krolopp, 1982) és a Duna árterén lévő élöhely izolált az emberi településeken tartott háziállatoktól is. Ezért annak ellenére, hogy a *S. turkestanicum* jelenlegi elterjedési adatai a mótely ázsiai eredetét látszanak alátámasztani, igen érdekes annak vizsgálata, hogyan kerülhetett ez a faj Európába. Mivel kétségtelen, hogy a *S. turkestanicum* fő gazdaköre a kérődzők csoportja, közöttük kell keresnünk a mótely eredeti gazdáit. Emiatt azok az előfordulási adatai értékesek, amelyek a természetes gazdáiban való előfordulását mutatják, de hogy melyek azok, nem egyszerű megállapítani.

A paraziták a természetes gazdáikban kevésbé patogének, mint az új gazdáiban. [Egyik eklatáns példa erre az ázsiai *Anguillicoloides crassus* féreg destruktív hatása az európai angolnára. (Székely et al, 1996)]. A *S. turkestanicum* is nagy veszteséget okoz a háziállatokban (Machattie, 1936; Massoud, 1971). Ezért sokan tanulmányozták a kártételét háziállatokon (Wang et al., 2002), de ezek nem lehetnek a mótely eredeti gazdáit.

Ott ahol a *S. turkestanicum* a háziállatokban él, a lárvája az ember bőrébe is befurakodhat, és bőrgyulladást okoz (Malek, 1980). A mótely kifejlett formája az emberben megtelepedni nem tud, de a cercária lárvák, több más mótelyhez hasonlóan, az úgynevezett cercária-dermatitist okozzák, ami egy több napig tartó bántalom (Juhász et al., 2016). Az ilyen típusú, *S. turkestanicum* által okozott dermatitist Irán Kaszpi-tengeri térségében (Sahba és Malek, 1979) és a Kínai Népköztársaság több tartományában is megállapították (Bai et al., 1963; Li és Li, 1980; Li és Tian, 1980). Az emberekben és az állatokban okozott kártétele miatt a *S. turkestanicum* vizsgálata indokolt. Ezen felül azért is érdemes vele behatóbban foglalkozni, mert közvetlen rokona az emberi fertőzést okozó vérmótelyeknek, ugyanakkor a természetes élöhelyén megvalósuló életciklusa annak veszélye nélkül tanulmányozható, hogy fertőződnénk vele.

3.1.2. Rendszertani helyének és rokonsági viszonyainak vizsgálata

A vérmótelyek között található schistosomákat már elég régóta ismerik (Loker, 1983), de a laposférgek rendszertanának gyakori változása miatt a csoport beosztása gyakran változott. Az alábbiakban a *S. turkestanicum* rendszertani helyét Gibson (Gibson et al., 2002) munkája alapján adom meg:

Törzs: Platyhelminthes (laposférgek), Linne, 1758

Osztály: Trematoda (mételyek), Rudolphi, 1808.

Alosztály: Digenea (közvetett fejlődésű mételyek), Carus, 1863

Rend: Strigeida, (La Rue, 1926.), Sudarikov, 1959

Főcsalád: Schistosomatoidae, Stiles et Hassall, 1926.

Főcsalád: Schistosomatidae, Poche, 1907.

Nem: *Schistosoma*, Weinland, 1858

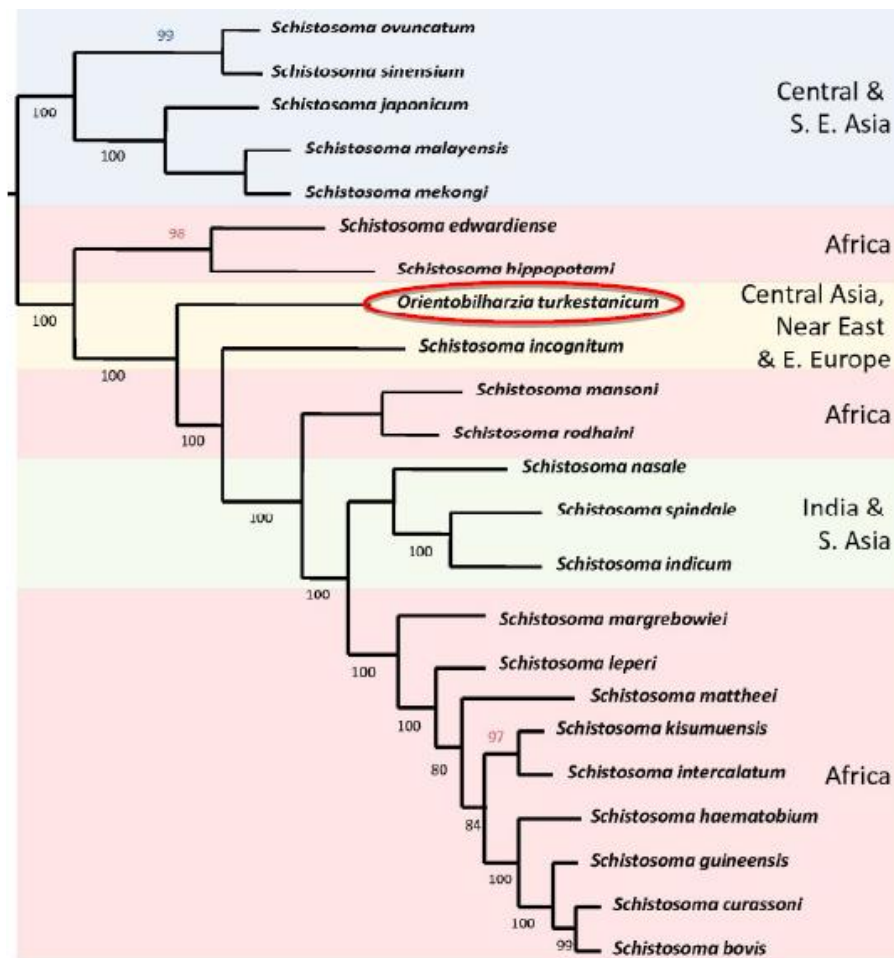
Faj: *Schistosoma turkestanicum*, Skrjabin, 1913

Ennek alapján a *S. turkestanicum* rendszertanilag a laposférgek törzsébe, a mételyek osztályába, a közvetett fejlődésű mételyek alosztályába, Strigeida rendbe és a Schistosomatidae család *Schistosoma* genus-ába tartozik.

A *S. turkestanicum* rendszertani besorolása bonyolult történetre tekint vissza (Wang, Li, et al., 2009). Mint korábban említettem, Oroszországban a hajdani Turkesztán területén 1913-ban Konstantin Ivanovics Skrjabin írta le először a parazitát szarvasmarha hasúri nagy vénáiban. Mivel az általa talált példányok felépítése hasonlított az emberi schistosomák felépítésére, a *Schistosoma* nembe sorolta be azokat. Price 1929-ben az *Ornithobilharzia* nemre változtatta azt, a parazita nagyszámú heréje, és egyéb morfológiai tulajdonságai alapján, ami véleménye szerint a madár-vérmételyekhez való közeli rokonság bizonyítéka. Mivel 1955-ben Dutt és Srivastava felismerte, hogy azok a mételyek, amelyeknek henger alakú petefészük van, nem tartoznak a madarakban élő vérmételyek csoportjába, a nem emberi emlős vérmételyek számára létrehozták az *Orientobilharzia* nemet. Ebbe sorolták be a *turkestanicum* fajt is, amire további támaszul az szolgált, hogy egyre gyakrabban találták meg juhokban, kecskében és szarvasmarhákban a parazitát. Ez időben összesen 5 *Orientobilharzia* faj, és 1 alfaj volt ismert, nevezetesen az *Orientobilharzia bomfordi* (Montgomery, 1906), *O. turkestanicum* (Dutt és Srivastava, 1955; Skrjabin, 1913), *O. turkestanicum* var. *tuberculata* (Bhalerao, 1932; Dutt és Srivastava, 1955), *O. cheni* (Hsü és Yang, 1957), *O. dattai* (Dutt és Srivastava, 1952) és *O. harinasutai* (Kruatrachue et al., 1965).

A parazita felfedezését követően főleg morfológiájára, életciklusára, az ellene való védekezésre és a bántalom megelőzésére összpontosultak a tanulmányok (Dutt és Srivastava, 1964; Machattie, 1936; Massoud, 1971; Massoud és Nelson, 1972; Tang et al., 1983). Később kezdtek meg a molekuláris, filogenetikai és földrajzi eloszlást érintő vizsgálatokat (Attwood et al., 2002; Brant és Loker, 2005; Snyder és Loker, 2000). A filogenetikai vizsgálatok során az a fontos dolog derült ki, hogy közvetlen rokona az emberi vérmételyeknek, ezért az *Orientobilharzia* nemből a *Schistosoma* nembe sorolták át a parazitát (Lockyer et al., 2003; Majoros et al., 2010; Webster és Littlewood, 2012). A riboszómális és mitokondriális markerek főleg az afrikai schistosomákkal való közelebbi rokonságot igazolták (Lawton et al., 2011; Li et al., 2008; Wang et al., 2011), amit az alábbi

rokonsági fán szemléltetnek.



1. ábra: Az ábrán még *Orientobilharzia* néven szereplő *S. turkestanicum* elhelyezkedése látható a többi *Schistosoma* származási viszonyait feltüntető genetikai rokonsági fán (Lawton et al., 2011)

Habár a schistosomák filogenetikája azt mutatja, hogy monofiletikusak, a *Schistosoma* nemzetség hat kládra osztható (az ábrán eltérő színsávokkal jelölve), melyek korrelálnak a különböző földrajzi eloszlásukkal. A *Schistosoma japonicum* komplexbe tartozó fajok (*S. sinensium*, *S. ovuncatum*, *S. japonicum*, *S. malayensis* és *S. mekongi*) alapi elhelyezkedésűek, ez a pozíció is megerősíti a klád ázsiai eredetét. A filogenetikai fa másik részét az „afrikai” schistosomák kládja alkotja, melyek kisebb egységekre oszlanak. Ezen belül a legősibb vonalat a *S. hippopotami* és *S. edwardiense* képviseli, s mind a két faj a vízilovak érrendszerében él, Nyugat-Ugandában. A következő klád az „afrikai” csoportból származik, de két olyan faj is tartozik ide, az „*Orientobilharzia*” *turkestanicum* és a *S. incognitum*, amely Dél- és Nyugat Ázsiában él. Ez azt támasztja alá, hogy az afrikai schistosomák ázsiai eredetűek. Az „afrikai” schistosomák további két különálló kládjában is találunk ázsiai fajokat (*S. spindale* és *S. nasale* és *S. indicum*). Ha figyelembe vesszük, hogy a vízilovak a földtörténeti múltban Ázsiában

és Európában is éltek, és azt, hogy a legfiatalabb klád csak afrikai fajokat tartalmaz, felismerhető, hogy a schistosomák kelet felől terjedtek nyugati irányban. Így elvileg lehetséges, hogy a *S. turkestanicum* európai populációja ősbibb, mint az Afrikában élő fajok egy része (1. ábra) (Lawton et al., 2011).

A *Schistosoma* nembe összefoglalt fajok egy része főleg emberben fordul elő (*S. mansoni*, *S. haematobium*), mások egyaránt gyakoriak emberben és állatban (*S. japonicum*, *S. intercalatum*), míg a többségüket eddig csak állatokból mutatták ki. Az általunk bemutatott származási fán látható, hogy a *S. turkestanicum* semmilyen szempontból nem foglal el elkülönült helyet a schistosomák csoportján belül, tehát a tulajdonságai joggal tükrözhetik az állati és az emberi vérmételyek egyes tulajdonságait egyaránt. Ennek tudatában érthető, hogy átmeneti fajnak tekinthető az emberben kifejlődni képes, és kifejlődni nem képes vérmételyek között amiatt, hogy cercáriája csak behatolni tud az emberi bőrbe, de a véráramba nem tör be.

A parazita származási viszonyainak kiderítésére irányuló vizsgálatok tehát megerősítik, hogy a *S. turkestanicum* tanulmányozása nagyon hasznos lehet a vérmételyek okozta emberi fertőzések folyamatának megismeréséhez. Ennek érdekében a *S. turkestanicum* felépítését és fejlődésének állomásait is érdemes tanulmányozni, amit a következőkben mutatok be.



2. ábra: A *Schistosoma turkestanicum* földrajzi elterjedése az idézett szakirodalmi adatok alapján. A piros rombuszok a *S. turkestanicum* egy-egy előfordulási helyét jelölik.

3.1.3. A parazita morfológiája

A vérmételyeknek öt fejlődési alakját különböztetjük meg: pete, miracidium, sporocysta, cercária és a kifejlett métely. Ezek a fejlődési állapotok minden digenetikus métely

fejlődési folyamata során megfigyelhetők, és általános jellemzésüket minden parazitológiai tankönyv tartalmazza (Kassai, 2011). Az alábbiakban a *Schistosoma* vérmételyekre, illetve konkrétan a *S. turkestanicum*-ra jellemző állapotokat mutatom be. A métely egy petéjéből egy miracidium és abból egy sporocysta képződik, de a sporocysta újabb sporocystákat és sok cercáriát hoz létre. Egy cercáriából egy nőstény vagy hím métely fejlődik ki.

A *S. turkestanicum* petéje, nagyon jellegzetes alakú. Az egyik végén egy meghajló tüske, másikon egy apró, gömbszerű képlet látható. A legtöbbször hosszúkás, ovális alakú, átlagosan 76 x 125 µm (Bhalerao, 1932). A terméketlen peték kisebbek ennél. A peték zigótát tartalmazó állapotban hagyják el a férgek testét, majd bennük fejlődik az első lárvastádium, a miracidium. Ennek következtében a peték kissé megnagyobbodnak, de alakjuk változatlan marad. Ilyen formában hagyják el a gazda testét, de csak kis százalékuk tartalmaz élő miracidiumot.

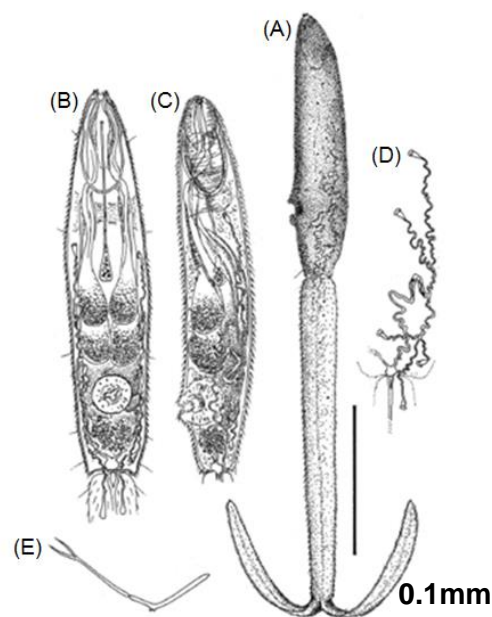
A miracidium teste csillós sejtekkel borított. Felépítése egy morulára emlékeztet, amennyiben egy tömör sejthalmazból áll. A lárva igen aktív mozgásra képes a vízben. A miracidium 85-134 µm hosszú és 31-61 µm széles. A csillóval borított epidermisz sejtek az elülső végétől a hátsó végéig négy egymást követő körben helyezkednek el. Az egyes körökben az epidermisz sejtek száma 6:9:4:3. Az elülső végén lévő érzékpapillák száma 6. Egy pár penetrációs mirigy segíti a behatolást a csiga testébe és egy apikális mirigyük is van. Centrális idegdúccal rendelkeznek. Kiválasztásuk a két, oldalt nyíló kiválasztó csatornával történik, mindkettő végén egy-egy lángzósejt van. A métely későbbi gonádját létrehozó csírasejtjeik halmaza a test hátsó végében van.

A következő fejlődési stádium a sporocysta, amely egy csírahámrétegből álló, nem mozgó tömlő a csigában. Sporocysta alakja pleomorf, mert a teste a fejlődő cercáriák sokaságát tartalmazza. Mivel a sporocystáknak több nemzedéke is fejlődhet a csigákban a vérmételyek esetében feltételezhető, hogy a *S. turkestanicum* is leány-sporocystákat tud létrehozni, bár ezt a fajt ebből a szempontból nem tanulmányozták.

A cercária lárvaforma, ivartalan szaporodás eredményeképpen, a csiga testében képződik a sporocystából a miracidium behatolását követő néhány hét alatt. Egy miracidiumból végül több száz cercária jön létre, amelyek mindegyike kifejlett métellyé válhat a végleges gazdában. A sporocysta falából leváló sejtek osztódásából először sejthalmazok képződnek, majd belőlük egy úgynevezett feji részből és farki részből álló „farkos lárva” képződik, amelyik a tudományos nevét is a farkról kapta. A *Schistosoma*-fajok esetében a cercária farkának vége kétnyúlványú, azaz villásan elágazó, amiért is a farkocercária nevet kapta ez a lárvatípus. A *S. turkestanicum* farkocercáriájának teljes szélessége 44-58 µm. A lárva teljes felülete apró tüskékkel borított az elülső végtől, a fark csúcsáig. A fej és a fark is

kontraktilis, és élő állapotban az alakja állandóan változó (3. ábra). A feji rész elején egy csökevényes szájszívóka, a közepén pedig egy kisebb hasi szívóka van.

A cercária szájszívókája (21-25 μm) szubterminális, és a feji rész ventrális oldalán helyezkedik el. A nyelőcső a zsákszerű vakbélben végződik a test közepén. Öt pár egysejtű, penetrációs mirigysejtjük van a test középvonalában. A két rövidebb pár a bélcső vége mellett, a hasi szívók előtt végződik. Ezek sejtjei sokkal szemcsésebbek, mint a maradék 3 pár, melyek a ventrális szívóka izomzata körül helyezkednek el. A *S. turkestanicum* cercáriában 1-1 oldalon 5 lángzósejt van, tehát összesen 10. Ezekből 8 a fejben, 2 a farkban található. A lángzósejtek formulája $2[2+2+(1)]$. A kiválasztó csatorna terminális része a farkon fut végig, elágazik a két farkvillába és azok csúcsa közelében ér véget.



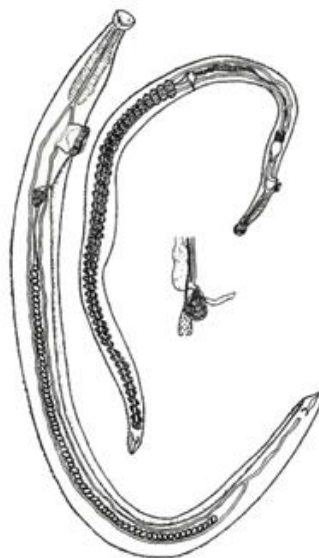
3. ábra: A *S. turkestanicum* cercária részletes rajza. (A) A megbénított cercária; (B) Belső szervek dorsoventralis nézete; (C) Belső szervek laterális nézete; (D) A kiválasztó csatorna a cercáriában lángzósejtekkel, mely formulája $2[2+2+(1)]=10$; (E) Az élő cercária, pihenő pozíciója (Majoros et al., 2010).

A kifejlett *S. turkestanicum* vérmételyek teste hengeres, hosszúkas, frissen elpusztult állapotban fehér színű. Váltivarú élőlények, az ivari dimorfizmus kifejezett.

A hímek hosszúsága 2-10 mm. Testük elülső részén 2 szívóka van, egyik szubterminálisan, a másik egy kissé lejjebb helyezkedik el (4. ábra), felületük tüskékkel borított. A féreg kültakarója, a tegumentum szincitiális hám. A kültakaró alatt található az izomzat 3 rétegben: legkívül a körkörös, alatta a hosszanti, és az alatt a dorsoventrális izomréteg helyezkedik el. Az orális szívóka garatban folytatódik, ezt követi a nyelőcső. A nyelőcsőnek a hátsó részén látható egy tágulat, amelyet mirigyek vesznek körül. A vérrel telt

nyelőcső vakon végződő bélbe folytatódik, amely először kettéágazik, majd ágai a test hátsó fele felé haladva újra egyesülnek egymással. A féreg kiválasztó szervei a lángzósejtekből álló elővesécskék (protonephridia). A herék egy egyenes vonal mentén rendeződtek, számuk 50 és 90 között váltakozhat. Teljesen kerek az alakjuk, szemben a többi *Schistosoma*-fajjal, ahol megnyúltak. A genitális nyílás a hasi szívóka előtt található. A vesicula seminalis kerek, 0,23 mm. A hímek vastagabbak, testük hosszirányban meggörbült és vályút formál. A hímeknél hosszabb és vékonyabb nőstények ebben a mélyedésben foglalnak helyet. A férgek testfelülete sima, nem dudorzos, eltérően több más *Schistosoma*-fajtól.

A nőstények hosszúsága 2-8 mm. A nyelőcső egyszerű felépítésű. Az egységes bélszakasz a test első felében helyezkedik el. Kettéoszló majd ismét egyesülő vakbéllel rendelkeznek. A vakbél a test felének hosszúságát éri el. Az ovárium a vakbelek egyesülése előtt helyezkedik el, 190—320 µm hosszú, spirális lefutású. Szikmirigyek a vakbél mellett találhatóak, annak mind a két oldalán. A szikmirigyek nem érik el a hátsó testfelet, ellentétben Skrjabin eredeti leírásával, hanem a vakbéllel együtt érnek véget. Az ovárium hátsó végétől kezdődik el a petevezeték, ami egy rövid kanyargós rész után a méhben folytatódik az elülső test fél irányában, a két bélág között. A héjmirigy az ovárium elülső része mellett található. A nőstények testében mindig csak egy pete található egyszerre. A nőstények a hímek testével körülölelve foglalnak helyet annak canalis gynecophorusában, ezért gyakran nehéz észrevenni jelenlétüket. Laboratóriumi körülmények között, 2 vagy akár 3 nőstényt is megfigyeltek a hím vályúszerű testében (Bhalerao, 1932).



4. ábra: A *S. turkestanicum* hím (balra) és nőstény (jobbra) egyedeinek sematikus ábrázolása (Skrjabin, 1913) és a pároszerv egy részlete.

3.1.4. A parazita életciklusa és gazdái

3.1.4.1. A *S. turkestanicum* fejlődésmenete

A közvetett fejlődésű mótelyek (Digenea) ősi csoportján belül, a vérmótelyek, evolúciós szempontból igen primitív élőlényeknek számítanak. Életmódjuk vízi környezethez kötött (Price, 1929; Yamaguti, 1975). A *S. turkestanicum* fejlődését a schistosomák általános fejlődésmenetén keresztül szemlélítve mutatom be (5. ábra).

A *S. turkestanicum* kifejlett mótelyei a májban párba állnak, párosodnak és a nőstények elkezdik a petetermelést. Mivel a kifejlett nőstény mótely teste mindig csak 1 petét tartalmaz, a pete a petehéj képződése után azonnal kiürül a testéből. A peték a kapillárisok falában elakadnak és a szövetek folytonos mozgása következtében a sejtek közé préselődnek. Ez a mozgás segíti őket a haladásukban, mivel aszimmetrikus alakjuk miatt nem egyenlő erejű nyomásnak vannak kitéve minden oldalról. A májszövetben, majd egyéb hasúri szervek szöveteiben is vándorolnak, s néhányuk a bélfalába is eljut. A peték tehát passzív mozgással jutnak el a szöveteken keresztül a bélrendszerbe, majd a bélsárral a külvilágra ürülnek. Ezt a haladást segíti elő a petén található hegyes túszerű képlet (Kassai, 2011).

A petékben levő zigóta már a végleges gazda testében miracidiummá kezd fejlődni. Általánosan igaz a vérmótelyekre, hogy a hosszú út alatt, amíg a vénákban élő mótelytől eljut a lassan vándorló pete a béltartalomba vagy a vizeletbe – vagy halak esetében a kopolytuba – a miracidium kifejlődik benne, és így nincs szüksége a gazda testén kívüli, hosszas barázdálódási folyamatra. A szövetek természetes mozgása következtében haladó peték, miután elhagyják a gazda testét, nem sokáig maradnak egyben, hanem a külvilágon azonnal kikel a burkukból a csillós sejtekkel borított testű lárva, a miracidium. Ez a folyamat mindig vízben történik. A kelést gyorsítja a megvilágítás és az oxigén (Malek, 1980).

A lárva teljes kifejlődése után a pete felnyílik, és a miracidium kiúszik. A külvilágra került fejlődési alakjaik nem ellenállóak a különféle kedvezőtlen behatásokkal szemben. Ezért nagyon aktívan úszkál, keresi a csigákat, és minden általa alkalmasnak vélt csigába igyekszik behatolni (Haas, 1994; Malek, 1980). A köztigazdát pozitív foto- és kemotaxisuk segítségével azonosítják, hogy ott tovább folytassák a fejlődésüket. Kezdetben nagyon aktívak, de ha egy nap alatt nem találnak megfelelő köztigazdát, energiatartalékaik elfogynak és elpusztulnak. Ezért a csillós lárvának órákon belül be kell furakodnia egy számára megfelelő köztigazdának alkalmas vízi csigába, különben elpusztul (Malek, 1980).

A csiga testfalában sporocystává alakulnak a bejutott miracidiumok. A sporocysta tömlő ágas-bogas nyúlványokat képez, amelyek lefűződve az eredeti sporocytáktól ú.n. leány-sporocystákat is létrehozhatnak. A sporocystáknak tehát több nemzedéke is lehet egy csigában,

de mindegyik nemzedék képezhet cercáriákat. A köztigazda csiga testében képződő sporocysta nemzedékek száma és a cercáriák mennyisége függ a csiga tápláltsági állapotától, sőt az ellenálló képességétől is. A sporocystán belül a következő lárvastádium, a cercária, mindig ivartalan szaporodással alakul ki. Egy sikeresen behatóló miracidiumból akár 1.000 cercária is fejlődhet néhány hét alatt, amelyek mindegyike kifejlett métellyé válhat a végleges gazdában (Malek, 1980).

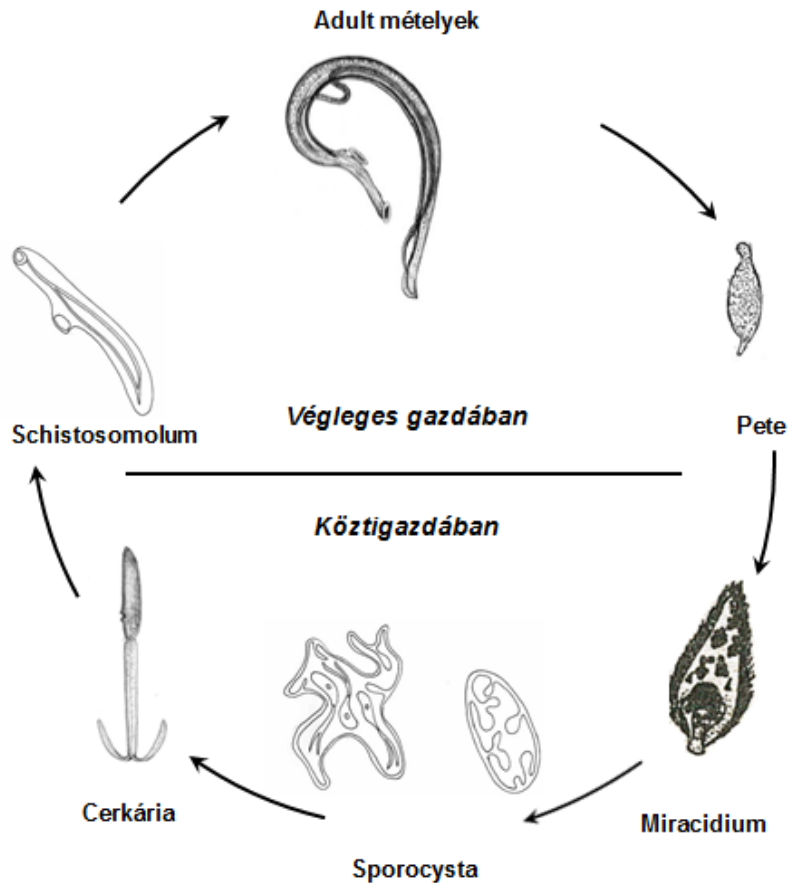
Az érett cercáriák a csiga légzőüregén keresztül hagyják el a köztigazdát, mert itt a legvékonyabb a test fala. A gazdák megtalálása nehéz feladat a farkos lárvafarmának. A nagyszámú cercária közül általában csak kevésnek sikerül gazdát találnia. Miután a lárva kirajzott a csiga testéből, órákon belül adekvát, gerinces gazdát kell találnia, hogy túléljen. A métellyel fertőzött csiga hosszú időn át a cercáriákat csoportokban bocsátja ki testéből. Az egyes cercária példányok átlagosan egy napot élnek, tehát igen rövid élettartamúak, s igyekezniük kell, hogy tovább tudjanak fejlődni. Próbálnak behatólni minden objektumba, mely a megfelelő gerinces gazdájuk testanyagaihoz valamelyest hasonló vegyületet bocsájt ki, és ez gyakran a végzetüket okozza (Haas, 1994). Gazdafelismerő képességük csekély hatékonyságát ellensúlyozza, hogy igen nagy számban képződnek a csigákban, tehát ez a stratégia előnyös a métely fennmaradása szempontjából.

Laboratóriumi kísérletekkel bizonyítható, hogy mind a miracidiumot, mind a cercariát is félrevezethetik a hamis forrásból kibocsátott kémiai ingerek, ezért kísérleti körülmények között és a természetes életterükben is gyakran olyan állatba kerülhetnek, ahol továbbfejlődni nem tudnak (Picard és Jousson, 2001). Nyilván a különféle gerinces állatok bőrébe is bejuthatnak a számukra nem adekvát mételylárvák, de ezt a folyamatot, mint megfigyelhető kórtünetet csak emberen tanulmányozták.

A cercáriák amikor behatólnak a bőrbe, proteolitikus enzimeiket használják a hámsejtek feloldására. A penetrációt követően elvesztik a farkukat és schistosomolumokká alakulnak (Ross et al., 2007). Ez a forma keresztülhalad a bőr rétegein és a véráramba vagy a nyirokkeringésbe kerül (Curwen és Wilson, 2003). A vérkeringés útján a szívbe, tüdőbe jutnak, végül a portális nagyerekben ivaréretté válnak (He et al., 2005).

Más vérmételyekhez hasonlóan, az adult *S. turkestanicum* is a portális és mezenterialis erekben marad, mint a *S. japonicum*, *S. mekongi*, *S. intercalatum* vérmételyek, míg a *S. haematobium* a húgyhólyag felé vándorol, a vesicalis plexushoz (Maguire, 2010). Az említett helyeken párba állnak és párosodnak. Nem tudjuk, hogy a féregpárok kapcsolata mennyire állandó, de abból kiindulva, hogy nőtény nélküli hímekeket gyakran lehet találni, viszont szoliter nőtényeket nem, arra lehet következtetni, hogy a párok az életük során együtt maradnak, mert egymagában a nőtény nem életképes (Ross et al., 2007). Hat héttel a cercáriák bőrbehatolása után, a kifejlett nőtény egyed megkezdi a peték termelését. Az

adult nőstények egész életük során képesek a petetermelésre (Bustinduy et al., 2014). Nem tudjuk, hogy a *S. turkestanicum* petetermelése milyen intenzitású, de az ismert, hogy naponta akár 300 petét is lerakhat a *S. mansoni* és a *S. haematobium*, míg ez a szám a *S. japonicum* esetében 3000 körül van. A lerakott pete mennyiségének körülbelül fele ürül ki, többi a szövetekben elakad.



5. ábra: A *Schistosoma turkestanicum* fejlődésmenete

3.1.4.2. A *S. turkestanicum* köztigazdái

A digenetikus mótelyeknek a lárva állapotban történő ivartalan szaporodáshoz és a lárvák továbbfejlődéséhez puhatestűeket is igénybe kell venniük, ezeket köztigazdának nevezzük. A *S. turkestanicum* vérmótelynek is, mint közvetett fejlődésű mótelynek feltétlenül szüksége van csiga köztigazdákra. A *S. turkestanicum* köztigazdái a Lymnaeidae családba tartozó tüdőcsigák, területenként eltérő fajokkal. E csigák számára optimális feltételeket a sekély (max. 35 cm mély), állóvízes vagy lassú folyású, jól átmelegedő, enyhén bázisos (pH 7,9-8,2), vízi élőhelyek nyújtanak (Clarke, 1981).

A különböző szerzők szerint számos, a Lymnaeidae családba tartozó csigafaj lehet a *S. turkestanicum* természetes köztigazdája, mint például a *Radix gedrosiana*, *Radix ovata*, *Radix lagotis*, *Radix tenera*, *Radix acuminata*, *Radix peregra* (syn. *Radix labiata*) és a *Radix auricularia rufescens* (Kumar, 1973; Yakhchali et al., 2013). Ezen kívül sok más csigafajt próbáltak fertőzni a *S. turkestanicum* vérmétellyel laboratóriumi körülmények között, de eredménytelenül. A *Radix*-fajok rendszertana mind a mai napig nem tisztázott, ezért nem tudhatjuk, hogy a fent említett csigafajok milyen fokú rokonságban vannak egymással, de az bizonyos ezek az eurázsiai fajok nagyon hasonlóak egymáshoz, és lehet, hogy némelyikük valójában csak változata a társainak. Annyi bizonyosnak látszik, hogy a *Radix* genus említett fajai egymással átfedő areákon élnek és az eredetük közös, ezért nem lehet véletlen, hogy egyaránt fogékonyak lehetnek a *S. turkestanicum* fertőzésre (2. táblázat).

Machattie a *Radix tenera* fajjal folytatott kísérleteket. A nem fertőzött *R. tenera* csigákat Bagdad mellett gyűjtötték, egy kisebb vízmosásból. Mivel parazitamentes csigákra volt szükségük a kísérlet elvégzéséhez, olyan helyen gyűjtötték azokat, ahol a *S. turkestanicum* alig fordul elő a juhokban. Az összegyűjtött egyedek közül néhányat felboncoltak, de mivel nem találtak lárvális alakokat a csigák testében, ezt követően még 6 hétig figyelték az életben maradt egyedeket, hogy megbizonyosodjanak lárvamentességükről. Ezután fertőzték azokat, Amarah vidékéről származó juhok bélnyálkahártyájából, és bélsarából származó nagyszámú petéből kikelt miracidiummal. Tizennyolc nappal később az egyik csigát összetörték. Ekkor a csigában a *S. turkestanicum* lárva alakjait megtalálták. Az életben maradt egyedeket tovább vizsgálták. A cercáriák első kirajzása a huszonegyedik napon következett be. A 20 csigából 16 bizonyult fertőzöttnek. *Bulinus truncatus*, egy *Melanoides*-faj és egy *Melanopsis*-faj kísérletes fertőzésével is próbálkoztak, de egyik faj sem volt fogékony a parazitára (Machattie, 1936).

Kumar (1973) kísérletei kimutatták, hogy a *R. auricularia rufescens* és a *R. auricularia auricularia* csigák, mind a természetben, mind a laboratóriumi körülmények közt fogékonyak a parazitára. Neki sem sikerült fertőzni a nem *Radix* nembe tartozó *Bulinus pulchella*, *Gyraulus convexiusculus*, *Helicorbis coenosus*, *Indoplanorbis exustus*, *Lymnaea luteola* és *Lymnaea stagnalis* csigákat. Kutatásai során Kumar különböző korú *R. auricularia* csigákat fertőzött meg a *S. turkestanicum* miracidiumával. A kísérlet során, 5, 9, 14 és 16 hetes egyedeket fertőzött, minden csoportból húszat (1. táblázat). Azt tapasztalta, hogy a kor előrehaladtával a fertőződés mértéke csökken (Kumar, 1973).

1. táblázat: Különböző korú *Radix auricularia* csigák fogékonysága a *S. turkestanicum* mételyre (Kumar, 1973).

Csigák			
Kora (hét)	Száma	Túlélő csigák	Fertőződött csigák
5	20	16 (68,7%)	11 (55%)
9	20	14 (50%)	7 (35%)
14	20	15 (26,6%)	4 (20%)
18	20	16 (25%)	4 (20%)

A parazita fejlődésmenetét Dutt és Srivastava Indiában kutatta. Ők is a *R. auricularia* csigát ismerték fel természetes köztigazdaként (Dutt és Srivastava, 1964). Arfaa a *L. gedrosiana* csigából *S. turkestanicum* cercáriák rajzását figyelte meg Iránban (Arfaa et al. 1965). Üzbegisztán területén a *R. auricularia obliquata*-t jelölték meg természetes vektorként (Azimov és Nurmukhamedov, 1968), míg Kazahsztánban a *R. auricularia* és a *L. peregra* is természetes köztigazdának bizonyult (Lavrov et al., 1968). Azimov *Galba truncatula*, *Physa acuta*, *Planorbis planorbis*, *Gyraulus albus* csigák fogékonyságát vizsgálta, de sem laboratóriumi, sem természetes körülmények között nem bizonyultak köztigazdának a *S. turkestanicum* szempontjából (Azimov, 1971) (2. táblázat).

2. táblázat: A *Schistosoma turkestanicum* köztigazdájaként vizsgált csigafajok

Vizsgált fajok	Kísérleti körülmények között végbement a fejlődés	Természetes élőhelyükön fertőződtek	Hivatkozás
<i>Bulinus pulchella</i>	-	-	(Kumar, 1973)
<i>Bulinus truncatus</i>	-	-	(Machattie, 1936)
<i>Galba truncatula</i>	-	-	(Azimov és Nurmukhamedov, 1968)
<i>Gyraulus albus</i>	-	-	(Azimov, 1971)
<i>Gyraulus convexiusculus</i>	-	-	(Kumar, 1973)
<i>Helicorbis coenosus</i>	-	-	(Kumar, 1973)
<i>Indoplanorbis exustus</i>	-	-	(Kumar, 1973)
<i>Lymnaea luteola</i>	-	-	(Kumar, 1973)
<i>Lymnaea stagnalis</i>	-	-	(Kumar, 1973)
<i>Melanoidea</i> sp.	-	-	(Machattie, 1936)
<i>Melanopsis</i> sp.	-	-	(Machattie, 1936)
<i>Physa acuta</i> drap.	-	-	(Azimov és Nurmukhamedov, 1968)
<i>Planorbis planorbis</i>	-	-	(Azimov és Nurmukhamedov, 1968)
<i>Radix acuminata</i>	nem vizsgált	+	

<i>Radix auricularia obliquata</i>	+	+	(Azimov és Nurmukhamedov, 1968)
<i>Radix auricularia rufescens</i>	+	+	(Kumar, 1973), Dutt szóbeli közlés
<i>Radix auricularia sensu stricto</i>	+	+	(Kumar, 1973)
<i>Radix gedrosiana</i>	+	+	(Arfaa et al., 1965; Yakhchali et al., 2013)
<i>Radix lagotis</i>	nem vizsgált	+	(Kumar, 1973)
<i>Radix ovata</i> (syn.: <i>R. balthica</i>)	nem vizsgált	+	(Kumar, 1973)
<i>Radix peregra</i> (syn.: <i>R. labiata</i>)	-	+	(Lavrov et al., 1969)
<i>Radix tenera</i>	+	+	(Machattie, 1936)

A Lymnaeida-k taxonómiája folyamatosan változik. Régen csak morfológiai alapon végeztek a besorolást. Az egy fajon belüli morfológiai variációk igen megnehezítik a fajok elkülönítését. Már tudjuk, hogy nem csak a héj és a páرزószerv morfológiája, a köpeny színe, élettani és szaporodásbiológiai tulajdonságok, hanem a genetikai állomány és a parazitás fertőzésekre való fogékonyság alapján is lehet osztályozni a csigákat. Az egyes szempontok alapján létrehozott faji kategóriák, egy más szempont szerint végzett csoportosítással nem biztos, hogy átfedésben lesznek (Huňová et al., 2012). Így, a különböző kísérletek eredményeit faj alapján nem lehet összehasonlítani egymással, mivel azok más fajmeghatározás alapján jöttek létre.

A Közép-Európai *Radix*-fajokat a *R. ampla*, *R. auricularia*, *R. labiata*, *R. lagotis* és *R. peregra* fajokba sorolták az rRNS-t kódoló DNS ITS-2 szekvenciája alapján, melyek után a „sensu Barges” jelölést szokták alkalmazni (Barges et al., 2001). Bizonytalan meghatározás esetén egyes szerzők *Radix* spp. megjelölést használnak a nevezéktani viták miatt. Európában a *S. turkestanicum* egyetlen bizonyított köztigazdája a *Radix auricularia* (Majoros et al., 2010). A *S. turkestanicum* globális előfordulását, kétséget kizáróan a köztigazdák széles elterjedtségének köszönheti.

A *Radix auricularia* legfontosabb tulajdonságai

A puhatestűek rendszertanának folyamatos változása miatt a csiga pontos taxonómiai besorolása bizonytalan. A legutóbbi időig *R. auricularia* hagyományos rendszertani helye az alábbi csoportokban volt:

Törzs: Mollusca (Puhatestűek)

Altörzs: Héjasok (Conchifera)

Osztály: Gastropoda (Csigák)

Alosztály: Pulmonata (Tüdőscsigák)

Rend: Basommatophora (ülőszemű tüdőscsigák)

Család: Mocsári csigák (Lymnaeidae)

Nem: *Radix*

Faj: *Radix auricularia* (Linnaeus, 1758)

Előfordulása

A *Radix auricularia* vagy, ahogy hazánkban nevezik a fülcsiga, Európában, Ázsiában egyaránt megtalálható, de nem egy gyakori faj. Az Amerikai Egyesült Államokba és Új-Zélandra betelepítették (Hubendick, 1951).

Morfológiája

A fülcsiga háza 25-35 mm magas és 25-30 mm széles. A tekercse rövid, nagyon hegyes, a ház magasságának legfeljebb egy hatod részét teszi ki, vagyis rövidebb, mint a szájadék. Egy populáció egyedei azonban általában csak a maximális méret felét érik el életük során (Clarke, 1981). Az utolsó kanyarulat az idősebb példányoknál erősen kiöblösödött. A szájadék szegélye szélesen elterül, fül alakú, innen kapta nevét a faj. A ház színe világos, sárgásbarna. Általában a köldök keskeny, mély, szinte zárt (Baker, 1902).

Világosabb alapon, sötét, kerekded foltokkal tarkított köpenye a ház vékony héján áttetszik (Falniowski, 1980). A testet és a fej hátsó részét apró fehér pöttyök is tarkítják, de a talpon már nem láthatók a fehér szemcsék (Baker, 1902). A tapogató lapos, háromszög alakú, szélesebb, mint a magassága (Jackiewicz és Buksalewicz, 1998).

A faj vére kék, hemocyanint tartalmaz (Jing, 1983). A szív pulzációja lassú és szabályos, harmincnégy percenként. Az állat lassú, előreirányuló mozgást végez (Baker, 1902). Belső szervei közül az ivarszerveket érdemes említeni, mert azok alapján különíthetjük el az egyes fajokat. A *R. auricularia* hímnős ivarszervének felépítése nagyon hasonló a többi *Radix*-faj ivarszervéhez, azzal a fontos különbséggel, hogy az idegen spermiumot befogadó párzótáskának (bursa copulatrix) nyele, éles határral határolódik el a gömb alakú tartálytól (21. ábra).

Életmódja

A fülcsiga álló, növényzettel dúsan benőtt édesvízi tavak, ártéri területek lakója. Gyakrabban találkozunk vele mesterségesen kialakított tavakban. Utóbbi időben kiderült, hogy

a faj képes volt alkalmazkodni, a nagyobb tavakhoz is, ahol erősebb hullámverésnek van kitéve. Ezt a jelenséget, a közelmúltban a Bajkál-tónál fedezték fel. A faj előfordulása Oroszországban korábban csak sekély öblökre és ártéri területekre korlátozódott. A Bajkál-tavi populációk csigáinak a héja az új élőhelyen nagyobb és tömörebb, mint a sekély zónákon élőké (Stift et al., 2004). Megállapították, hogy a faj leginkább a 6-7 pH értékű és 19 °C-os vizet kedveli (Maqbool et al., 1998). Ez az utóbbi érték a fotoperiódustól függően nagy ingadozást mutat (Rossetti et al., 1989).

Szaporodása

Mint valamennyi tüdőcsiga, a fülcsiga is hímnős. Egy petezés alkalmával körülbelül 30-80 darab petét rak le, ezeket egy megnyúlt, kocsonyás burokkal körülvéve helyezi el a kövek felületén (Piechocki, 1979). A peték gyorsabban fejlődnek, ha a hőmérséklet 10 °C fölé emelkedik, de a lárvák elpusztulnak bennük, ha a víz hőmérséklete eléri a 36 °C-ot (Salish et al., 1981). Európában július és szeptember között rakja le a petéit. A fiatalok 2-3 hét múlva kelnek ki. Élettartama egy év, s csak a fiatal egyedek telelnek át (Glöer, 2002).

Benne előforduló élősködők

Mint a rokonságba tartozó egyéb fajok is a *Radix auricularia* is számos parazita faj köztigazdája lehet. Különösen mótelylárva fordulnak elő benne (Malek, 1980). Ezek közül az alábbiak előfordulását bizonyították a csigában:

Az alábbi mótelyek cerkáriái kifejlődhetnek benne:

<i>Echinostoma revolutum</i>	(Soldanova et al., 2010)
<i>Echinoparyphium recurvatum</i>	(Sohn et al., 2002; Soldanova et al., 2010)
<i>Trichobilharzia franki</i>	(Ferte et al., 2005)
<i>Trichobilharzia ocellata</i>	(Zbikowska, 2004)
<i>Trichobilharzia szidati</i>	(Kolárová et al., 1997)
<i>Mantoscypthidia radix</i>	(Boshko, 1993)
<i>Schistosoma turkestanicum</i>	(Tang et al., 1990)
<i>Diplostomum spathaceum</i>	(Soldanova et al., 2010)
<i>Paryphostomum radiatum</i>	(Soldanova et al., 2010)
<i>Opisthioglyphe ranae</i>	(Soldanova et al., 2010)
<i>Plagiorchis elegans</i>	(Soldanova et al., 2010)

<i>Australapatemon burti</i>	(Soldanova et al., 2010)
<i>Hypoderaeum conoideum</i>	(Soldanova et al., 2010)
<i>Isthmiophora melis</i>	(Soldanova et al., 2010)
<i>Tylodelphis clavata</i>	(Soldanova et al., 2010)
<i>Notocotylus attenuatus</i>	(Soldanova et al., 2010)
<i>Fasciola gigantica</i>	(Soliman, 2008)
<i>Fasciola hepatica</i>	(Soliman, 2008)
<i>Clinostomum complanatum</i>	(Chung et al., 1998)

Az alábbi mótelyek metacerkáriái megtelepedhetnek benne:

<i>Echinostoma revolutum</i>	(Soldanova et al., 2010)
<i>Echinoparyphium recurvatum</i>	(Sohn et al., 2002; Soldanova et al., 2010)
<i>Apatemon gracilis</i>	(Soldanova et al., 2010)

Ezen paraziták némelyike, az embert is képes megfertőzni. Egy tanulmány megállapította, hogy a *R. auricularia* héjak számának sűrűsége és a humán fertőzés súlyossága egy adott területen, a *Trichobilharzia* spp. esetében, kapcsolatban áll egymással (Allgoewer, 1990).

Megfigyelték, hogy a *R. auricularia* képes a sertés orsóféreg (*Ascaris suum*) petéjét elfogyasztani. A pete túléli a csiga belén való áthaladást. A csiga aktivitása révén, ürülékével széles körben elterjesztheti a fonálférget (Asitinskaya, 1975).

3.1.4.3. A *S. turkestanicum* végleges gazdái

Végleges gazdának nevezzük azt az egyedet, melyben a parazita ivarérett lesz és petéket termel a fertőzést követően. A *S. turkestanicum* elsősorban a kérődzők (Ruminantia) élősködője, mint ahogy a többi *Schistosoma*-faj is főleg kérődzőkben él. Ezért az sem véletlen, hogy először szarvasmarhában találták meg, hiszen ez a faj Ázsia egyik leggyakoribb kérődzője. Korábban úgy vélték, hogy a *S. turkestanicum* előfordulása csak a szubtrópusi területekre korlátozódik, mert a legnagyobb intenzitással Irán és Irak területén kutatták ezt a parazitás fertőzést. Ezt a parazitát, azóta Ázsiában sok helyen felfedezték (3. táblázat).

3. táblázat: Természetes úton létrejött fertőzés alapján eddig az alábbi végleges gazdákat ismerték fel:

<i>Bos taurus</i>	szarvasmarha	(Yamagiwa, 1931; Machattie, 1936)
<i>Bubalus arnee</i>	vízibivaly	(Machattie, 1936)
<i>Ovis aries</i>	juh	(Abdussalam és Sarvar, 1952; Hsu, 1938)
<i>Capra hircus</i>	kecske	(Machattie, 1936)
<i>Cervus elaphus</i>	gímszarvas	(Majoros et al., 2010)
<i>Rangifer tarandus</i>	rénszarvas	(Yamagiwa, 1931; Machattie, 1936)
<i>Capreolus capreolus</i>	őz	(Zakhryalov, 1972)
<i>Sus scrofa</i>	vaddisznó	(Arfaa et al., 1965; Massoud, 1971)
<i>Camelus bactrianus</i>	kétpupú teve	(Machattie, 1936)
<i>Equus caballus</i>	ló	(Machattie, 1936)
<i>Equus asinus</i>	szamár	(Machattie, 1936)
<i>Equus asinus x caballus</i>	öszvér	(Machattie, 1936)
<i>Felis catus</i>	házimacska	(Skrjabin, 1951)
<i>Rattus sp.</i>	patkány	(Witenberg és Lengy, 1966)

A mótely nem ritka az iraki háziállatokban sem. Főként a déli régiók érintettek. A parazita előfordulását jelentették Amarah, Diwanayah, Nasiriyah, Kerbela, Hilla, Nejad és Khanaquin városok vágóhídjairól. Olykor ezres nagyságrendben volt jelen a fertőzött állatokban. Az Amarah-Basrah területeken mintegy 80%-a fertőzött a juh, kecske, szarvasmarha és a vízibivaly állományoknak. Körülbelül 15%-ban kimutatható a parazita jelenléte a lovakban, szamarokban, öszvérekben és a tevékben. Az ember azonban úgy tűnik, hogy immunis a fertőzés ellen. A vizsgált területeken sok embert is megvizsgáltak *S. turkestanicum* fertőzés nyomát keresve, de az emberi széklet és a vizelet minden esetben negatív volt. A veszettség elleni intézkedések kapcsán, 29 kóbor macskát és 256 kutyát extermináltak Amarahban. A posztmortem vizsgálatuk során, közülük minden egyed negatív volt a parazitára. A fertőzött tavak, medencék közelében a következő vadon élő madarakat vizsgálták meg Irakban: nyári lúd (*Anser anser*), bütykös ásólúd (*Tadorna tadorna*), nyílfarkú réce (*Anas acuta*), kis sárszalonna (*Lymnocryptes minimus*), nagy lilik (*Anser albifrons*), tőkés réce (*Anas platyrhynchos*), szürke gém (*Ardea cinerea*), fehér farkú lilebubic (*Chettusia leucura*). Mindegyik faj negatívnak bizonyult.

A *S. turkestanicum*-ot Pakisztánban a szarvasmarhában találták meg. India északi részén, Srinagar mellett egy fertőzött területen a végleges gazdák szarvasmarhák és juhek voltak (Kumar és De Burbure, 1986).

Kelet-törökországi juhok természetes fertőződését említik meg 1966-ban (Witenberg és Lengy, 1966), de kóros elváltozásokról nem számoltak be.

Oroszországban, szarvasmarhákban és juhokban mutatták ki a parazitát, Primorsky kerületben, és az Amur vidéken (Dél-Kelet Szibéria). Primorsky vidékén, a vágóhidakon összesen 160 szarvasmarha, 75 juh máját és a belét, egyaránt megvizsgálták. Kimutatták, hogy a szarvasmarhák esetében 56,7%-os volt a prevalencia, míg juhokban ez az érték 17,3%-ot ért el. A legfiatalabb *S. turkestanicum*-mal fertőzött állat 7 hónapos, a legidősebb 18 éves volt. Az Amur vidéken főleg a beleket vizsgálták a levágott állatokban, valamint 6 tehén esetében a májakat is. Összesen 188 szarvasmarhát és 30 juhot boncoltak fel. Megállapították, hogy mind a két területen, az idősebb egyedek fertőzöttebbek voltak a fiataloknál. A legtöbb férget a mesenterialis vénákban találták. A parazita jelenléte egész évben kimutatható volt (Zakhryalov, 1972).

Kérdőzőkkel folytatott oroszországi vizsgálatok során, bebizonyosodott, hogy az év bármely szakában fertőződhetnek a juhok és a szarvasmarhák a *S. turkestanicum*-mal (Azimov és Nurmukhamedov, 1968). A hajdani Szovjetunió területén, Karakalpaksy vágóhídján (Üzbegisztán), szarvasmarhákban mutatták ki a parazitát. A fertőzött egyedek száma 71,1% és 96% között volt a területen tartott állatokban. A férgek maximális száma 23.031 volt egy egyedben. A fertőzöttség tavasszal 93,9% volt, a legalacsonyabb értéket, pedig nyáron észlelték, 71,4%-ot. Ősszel egy újabb emelkedés volt megfigyelhető a fertőzöttség prevalenciájában, ami télen érte el a maximumát, 96%-ot (Azimov, 1965).

Kazahsztánban szarvasmarhákban mutatták ki a parazitát. Az ország alacsonyabban fekvő részein gyakori az árasztásos földműveléses gazdálkodás, valamint számos mesterséges tóval rendelkezik a terület. Ezek a környezeti viszonyok kitűnő feltételeket nyújtanak a parazita életciklusához. A földeken szarvasmarhát, kecskét, juhot és tevért tartanak, valamint a köztigazda csigafajok is megtalálhatóak itt.

A Szir-Darja folyó közelében lévő vágóhídon a megvizsgált szarvasmarhákat korcsoportokba sorolták. Az állatokban a *S. turkestanicum*-ot 7 hónapos kortól 10 éves korig vizsgálták. Kimutatták, hogy a fiatal marhák 26%-a, az idős egyebek 25,3%-a volt fertőzött a parazitával. A fiatal állatokban több (45-660) kifejlett parazitát találtak, mint az idősebb egyedekben (25-237). Vagyis a prevalencia hasonló értéket ér el a fiatal és idős állatok esetében is, azonban a fertőződés intenzitása magasabb a fiatalabb korosztályban. A kapott eredményt a korral járó immunitással magyarázták. Összesen 5.269 állatot vizsgáltak meg. Egy részüknek minden szervét meg tudták vizsgálni, de néhányuknál csak egyes szervek felboncolására volt lehetőségük. A legtöbb vérmétely a májban és mesenterialis erekben volt. Egy esetben, a szív jobb kamrájában találták meg a parazitát. A nagyobb intenzitású

fertőzöttség során a párba állt férgek száma elérte a 660 egyedet. Szir-Darja alacsonyabban fekvő vidékein a mótely igen gyakori volt, míg a folyó közepső szakaszán ritkább volt, illetve a sivatagi, és hegyvidéki területeken nem fordult elő. Ez a köztigazdák egyenlőtlen eloszlásával magyarázható (Lavrov, 1964).

Kínában az *S. turkestanicum* fertőzést először Hsu (1938) juhokban észlelte (Hsu, 1938). A mai napig az ország összesen 24 tartományában jelentették a parazita előfordulását. A fertőzésekkel főként az észak-keleti, az észak-nyugati és a Belső-Mongóliai régióban találkozhatunk. Kínában a szarvasmarhák 40%-a fertőződött a vizsgált területeken (Kuo, 1946). A fertőzés mindig szorosan kapcsolódik az esős évszakhoz. A korai és hosszabb esőzések súlyosabb fertőzéshez vezethetnek. Természetesen szarvasmarhák és juhok esetében a fertőzés előfordulási gyakorisága és intenzitása különböző földrajzi helyeken eltérő.

Kirívó esetként Shanxi tartományban, 40.092 vérmótely egyedét mutattak ki egyetlen juhból (Li, 1987), egy szarvasmarhában pedig 58.940 férget találtak Heilongjiang tartományban (Quan et al., 1986). A fertőzés súlyosabb tüneteket okozott kecskében, mint a szarvasmarhák és a juhok esetében. A Heilongjiang tartomány nyugati részén, amikor a Songhua folyó elárasztotta a területet súlyos fertőzöttség alakult ki. Egy kasmír kecske tenyészetben 40%-os elhullási arányt írtak le. Később, 2006 októberében 10%-os elhullási arányt regisztráltak egy kecskefarmon Daqingben, Heilongjiang tartományban, és a boncolások során, több mint 30.000 felnőtt férget észleltek egy kecske belekhez térő vénáiban. Az érintett kecskéket prazikvantellel kezelték, így 90%-ukat sikerült megmenteni (Wang, Chen, et al., 2009).

Az előbb említett eseteken kívül, számos országban végeztek fertőzési kísérleteket, hogy azonosítsák a végleges gazdák tényleges körét és jobban megismerjék a parazitát.

Azimov (1968) kísérleti állatfertőzést végzett, szájon és bőrön keresztül is. A cerkáriákkal 6 nyulat fertőzött. Kimutatták, hogy a paraziták 32-35 nap után váltak ivaréretté a nyulakban (Azimov és Nurmukhamedov, 1968).

Az indiai Izatnagarban szarvasmarha, juh, nyúl, tengerimalac, laboratóriumi patkány és egér kísérleti fertőzésével próbálkoztak. Közülük majdnem mindegyik vizsgált faj fogékonyak bizonyult, kivéve a laboratóriumi patkányt. Szarvasmarhában és juhbán a fertőzést követő 7-9. héten mutatták ki a peték jelenlétét. A nyúl, tengerimalac, laboratóriumi egér esetében ivarérett *S. turkestanicum* egyedeket találtak a boncolás során, de azok petéket nem ürítettek a bélsárral (Dutt és Srivastava, 1964). A szerzők szerint ennek az volt az oka, hogy a peték nem voltak életképesek és elakadtak a szövetekben.

Irak területén, körülbelül 4.000 *L. tenera euphratica* csigát gyűjtöttek össze és vizsgálták meg Amarahban városában. A begyűjtött példányok közül 76 tartalmazta a *S.*

turkestanicum lárvális alakjait. A köztigazda csigákból kirajzó cercáriákkal nyolc fehér egeret, hat nyulat és öt tengerimalacot fertőztek a kísérlet során. Az állatokat pipetta segítségével, három egymást követő napon át, per os fertőzték meg. Így mindegyik állat legalább három dózist kapott. Az applikáció után az egerek a mellső végtagjukhoz dörzsölték a szájukat, cercária dermatitiszhez hasonló elváltozást azonban nem észleltek náluk.

Később az állatokat Bagdadba vitték, ahol 2 hónap elteltével bélsarukat naponta megvizsgálták peték jelenlétére. Az bélsárvizsgálat minden esetben negatív volt. Három hónap elteltével a kísérleti állatokat leölték.

Egy egérből három nőstény *S. turkestanicum*-ot mostak ki a mesenterialis erekből. Egy másik egérben 4 hímet és 4 nőstényt találtak párba állva. Két esetben a nőivarú egyed, a normális pozíciótól eltérően feji végével a hím farki végéhez közel feküdt a hím canalis gynaecophorusában. A féregpárokon kívül két szabadon lévő hím és egy női egyed volt az egér májában, valamint egy nőivarú egyed sikertelenül kimosni a mesenterialis erekből.

A kísérlet során az egyik nyúlban tizenegy nőivarú *S. turkestanicum*-ot találtak, hat közülük kezdetleges petéket is tartalmazott. Egy másik nyúl esetében szintén 11 parazitát találtak a mezenterialis erek kimosásakor.

A tengeri malacok féregmentesek voltak. Ezek tüdejében, húgyhólyag falában, vizeletében és a bélnyálkahártya kaparékban sem találtak petéket (Machattie, 1936).

Egereken, szarvasmarhákon és juhokon, heterológ immunitással kapcsolatos vizsgálatot végeztek és az eredmények azt mutatták, hogy a különböző állatokban az ellenanyagok magas titerben jelennek meg a vérben, ezért a férgek inváziója ellen jelentős mértékű immunitás alakul ki (Massoud és Nelson, 1972).

Úgy tűnik, hogy az emberek és madarak rezisztensek, azaz veleszületett immunitással rendelkeznek, s még ha ki is vannak téve a fertőzés veszélyének, a testükben a parazitás betegség még akkor sem ered meg (Machattie, 1936). A volt Szovjetunió Amúri területein elhunyt emberek szerveinek vizsgálatából kiderült, hogy a *S. turkestanicum* nem telepszik meg az emberek szerveiben, noha a cercáriák okozta bőrgyulladás nem ritka bántalom azon a vidéken (Zakhryalov, 1972).

3.2. A *S. turkestanicum* okozta fertőzés jellemzői

3.2.1. Klinikai tünetek

Tünetek a végleges gazdáiban

A valódi végleges gazdák, a nagy kérődzők, jól tolerálják a fertőzést, legtöbbször nem mutatnak tüneteket. Ezzel szemben a kiskérődzőknél masszív fertőzés esetén vérfogyottság, levertség figyelhető meg, és hirtelen elhullhatnak. A tünetek fő oka *S. turkestanicum* szervekben vándorló petéje, amely roncsolja a szöveteket, miközben igyekszik elérni a bél lumenét. Főként a májat és portális vérkeringési rendszerét, valamint a bélnyálkahártyát érintik az elváltozások, azaz hepatointesztinális schistosomosis okoznak. A májban kialakult elváltozások miatt a szerv működésképtelenné válik (Malek, 1980).

Súlyosabb eseteknél, a *S. turkestanicum* fertőzés hasmenéssel, puffadással járhat a kérődzőkben (Massoud, 1971). Érdekes, hogy vadon élő bivalyokban és disznókban csak néhány életképtelen petét mutattak ki a szervekben. Mesterséges fertőzést is próbáltak előidézni bivalyokon, és az előbb említett eredményt kapták (Massoud, 1971). A szerző feltételezi, hogy a bivaly állandó kontaktusban van a vízben élő fertőzőképes lárvákkal, és rezisztencia alakul ki a *S. turkestanicum* vérmétellyel szemben. Ennek igazolása további vizsgálatokat igényel, mivel Kínában a bivaly gyakori gazdája a mótelynek. A fertőzés kórtanával foglalkozó közlemények általában meg se említik a klinikai tüneteket, s ezek szerint, ha vannak is ilyenek, nem jellegzetesek.

Tünetek az akcidentális gazdáiban

A *S. turkestanicum* egyik ismert okozója az emberben megfigyelhető cercária dermatitisznek. Ez a kórforma akkor következik be, amikor a kirajzó cercáriák nem a valódi végleges gazdába hatolnak bele, hanem sikerül egy alkalmi gazdába jutniuk. Míg a végleges gazdák saját vérmételyeinek lárvái általában nem okoznak bőrgyulladást, mert nem időznek sokat a bőrben, ugyanakkor a rájuk nézve nem gazdaspecifikus mótelyek lárvái megrekednek a hám alatt vagy az irhában, és gyulladást indukálnak (Haas et al., 1990; Ševcová et al., 1987).

Ennek oka az, hogy az evolúció folyamán a laposférgek közé tartozó mótelyek néhány faja megőrizte a bőrön át történő fertőzés képességét még abban az esetben is, ha szárazföldi gerincesekben telepedett meg. A madarak és emlősök mótelyei közül a keringési rendszerben élő vérmételyek (Schistosomatidae) lárvái használják ezt az utat a gazdába való

bejutáshoz, de természetesen ezek is csak az éppen vízben tartózkodó gazdájukat tudják ilyen módon megfertőzni (Loker, 1983). Az ember is többnyire így fertőződik meg vérmételyekkel, noha elvileg az ivóvízzel is megtörténhet a mételyes fertőzés (Giver et al., 1999; Malek, 1980). A világ különféle tájain sokféle helyi néven nevezett cercária dermatitisz valódi oka a múlt század első fele óta ismert. Először Észak-Amerikában (Cort, 1928), majd Európában (Vogel, 1930) írták le, és azóta a szakirodalma meglehetősen kiterjedt (Appleton, 1984; Kolárová et al., 1989). A cercáriák behatolása helyén viszkető, vörös foltok képződnek a bőrön, amelyek később kis göbökké duzzadnak. Az egyre fokozódóan viszkető, égő érzés néhány napig is megmaradhat, végül a göbök eltűnnek, de némelyik savót tartalmazó hólyagocskává vagy pusztulává alakul és felfakad (Várnai, 1987). Egyes helyeken a bántalom annyira endémiás és rendszeres a fürdőző emberekben, hogy megpróbálkoznak a csigák irtásával vagy eltávolításával (Blankespoor és Reimink, 1991). A mérsékelt égövben a cercáriák rajzása szezonális, de a melegebb vidékeken a lárvák megjelenésének ideje kiszámíthatatlan.

A *S. turkestanicum* által okozott cercária dermatitisz 1975 óta dokumentált, amikor Lien és mtsai írták le azt, Kína Kirin tartományában a rizsföldeken dolgozó emberek bántalmaként. Mivel ez a bántalom a tüneteiben nem tér el a fent ismertetett tünetektől, amelyek mindegyik cercária dermatitiszre jellemzőek, feltételezhetjük, hogy Ázsia azon területein, ahol a *S. turkestanicum* gyakori, más esetben is okozhatta az emberek bőrgyulladását. Mivel a rizsföldeket hagyományos módon, vízbivalyok segítségével szántják fel, érthető, hogy először ott figyeltek fel az általa okozott bőrgyulladásra, ahol a fertőzött végleges gazda a házibivaly és az ember is együtt tartózkodik a köztigazda számára is megfelelő életterben. Annak ellenére, hogy a szakirodalomban kevés közlemény foglalkozik ezzel a voltaképpen nem nagyon súlyos kórképpel, Kínában (Liu et al., 1976) és Iránban (Sahba és Malek, 1979) sem vehetjük biztosra, hogy nem ritka kórkép. Feltételezhető, hogy a *S. turkestanicum* okozta dermatitisz esetek ismertetése azért hézagos, mert a bőrgyulladás oka csak ritkán deríthető ki, másrészt olyan emberek szenvedik el, akik nemigen jutnak el orvoshoz a panaszaikkal. A cercária dermatitisz feltételezhetően csak abban az esetben jelent problémát, ha rendszeresen jelentkezik, mert máskülönben csak az a tény fontos, hogy a métely okozott-e maradandó elváltozást, vagy sem (Zakhryalov, 1972)?

Egyes vélekedések szerint a cercáriákkal való folyamatos expozíció bizonyos esetekben tüdőbetegséghez és anafilaxiás sokkhoz vezethet, ha a vándorló lárvák nem hálnak el a bőrben, hanem tovább haladnak a bőrön keresztül a tüdőbe, ahol I. típusú túlérzékenységi reakciót okoznak (Chung et al., 1998; Kolarova, 2007). Ezt laboratóriumi rágcsálókkal elvégzett kísérletek alapján feltételezik.

3.2.2. Kóros elváltozások

A megfigyelések többsége azt mutatja, hogy a *S. turkestanicum* nem okoz jelentős károsodást a nagykérődzők szervezetében. Juhok és kecskék esetében, viszont súlyos, halálos kimenetelű fertőzéseket is leírtak.

A kóros elváltozást mutató szervek, elsősorban a máj és annak portális rendszere, valamint a bélnyálkahártya. A máj fokozatosan működésképtelenné válik, kötőszövetesen átszövődik. A Glisson-tok alatt kötőszövetes infiltrációk figyelhetők meg és gyakran pigment lerakódás is lehet. Ritkán trombusok képződnek az erekben, főleg az elpusztult paraziták testéről kiindulva. A májszövetben a peték körül jól körülhatárolható granulomák láthatók. A vékony- és vastagbélhez térő mezenterialis erekben van a legtöbb adult példány. Erős megvilágítás elé tartva a savóshártya kettőzetet, jól láthatók a paraziták (Tabaripour és Youssefi, 2015). A májban található csomókhhoz hasonló granulomák alakulnak ki a belek falában az eltokolódott peték körül (Machattie, 1936).

Több tanulmány összevetette a gyakoribb schistosomák patogenezisét, az általunk is tanulmányozott vérmétely kórfejlődésével. Vizsgálták szarvasmarhában a *S. bovis* (Massoud, 1971) és a *S. japonicum* (Yamagiwa, 1931) kártételét is. Arra a következtetésre jutottak, hogy az előbb említett rokon fajok jelentősebb károsodást okoznak a belső szervekben, míg a *S. turkestanicum* vérmétellyel való fertőzöttség esetében a károsodás kisebb volt. Yamagiwa (1931) a patológiai eltérést azzal magyarázta, hogy a *S. turkestanicum* kevesebb petét rak le, mint az előbb említett vérmételyek. Massoud és Nelson (1972) megfigyelései szerint, a juhok, kecskék és szarvasmarhák májában és a bélfalában egyaránt alacsonyabb volt a *S. turkestanicum* peték száma, mint a gyakoribb *S. bovis* és *S. haematobium* petéinek száma. Ezzel magyarázható, hogy enyhébb kórbonctani elváltozások láthatók a *S. turkestanicum* okozta fertőzés esetében. Leginkább érintett szerv a duodenum, majd ezt követi a máj. Iráni vizsgálatok szerint, a kérődzők vastagbél szakaszaiból nem tudtak kimutatni petéket (Massoud, 1971). Ez utóbbi vizsgálatok alkalmával azt tapasztalták, hogy, különösen a juhok esetében a patológiás elváltozások súlyosabbak voltak, mint a *S. bovis* okozta fertőzés esetén.

A parazitás fertőzésre adott erőteljes immunválasz hozzájárulhat a szövetkárosodás kialakulásához. A vérmételyek produktumai a fertőzött egyedben granulomás sarjdagatos reakciót válthatnak ki, a velejáró fibrózissal együtt. Mindez a peték körül kialakuló gócek képződéséhez vezet. A granulomák elsődleges szerepe a schistosoma peték „betokozása”, azaz izolálása, ám a krónikus, késleltetett típusú túlérzékenységi reakció súlyos fibrózist idéz elő. Végül a folyamat a máj vénás véráramának akadályozásához, a máj-kapuér hipertenziójához és

indurációhoz, végül cirrhózishoz vezet. A keringő immunkomplexek lerakódhatnak a véredényekben és a vese érgomolyagaiban, ami vaszkulitist vagy nefritist okoz (Massoud, 1971).

3.2.3. Szerológiai vizsgálattal kimutatható változások

Bár *S. turkestanicum*-mal történő fertőzéseket nem ebből a szempontból vizsgálták részletesen, tudjuk, hogy a specifikus immunmechanizmusokat a *Schistosoma mansoni* vérmételyek okozta fertőzések során már tanulmányozták. A peték és a felnőtt férgek egyaránt humorális immunválaszt váltanak ki a gazda szervezetében, amely IgG, IgE, IgA vagy IgM antitestek termelését eredményezi (Caldas et al., 2008). A *S. mansoni* fertőzésben szenvedő pácienseknél megfigyelt, heveny fertőzések esetében a pete antigénjeire adott fokozott immunválasz során, különösen a Th1 és Th2 citokinek megjelenése tapasztalható. A krónikus betegek esetében azonban csak a Th2 szint magas. Az endémiás területeken élő betegek többsége tünetmentes, ami a tolerancia-szint kialakulását sugallja (Caldas et al., 2008). Ez lehet a magyarázata a *S. turkestanicum* okozta fertőzések enyhe tüneteinek is.

Noha emberben, mint végleges gazdában, nem mutattak még ki *S. turkestanicum* férgeket, elvileg fennáll annak a lehetősége, hogy némely populációja emberi fertőzést létrehozó kórokozóvá váljon, amely képes emberekben schistosomosiszt okozni, mivel ez a faj széles gazdaspektrummal rendelkezik. Kínában más vérmételyek, mint a *S. japonicum* állatban és emberben is él, és gyakran olyan mértékben fertőzi meg az embereket, hogy az komoly közegészségügyi problémát okoz az ország különböző területein (Piao et al., 2011). Az állati vérmételyek okozta emberi megbetegedésre van már példa, így például a *S. turkestanicum*-mal közeli rokonságban lévő, *S. incognitum* vérmételyt két esetben is azonosították emberekben (Chandler, 1926).

Egy Magyarországon megfigyelt, *S. turkestanicum* cercáriák okozta fertőzés kapcsán kiderült, hogy a métely által létrehozott szerológiai áthangolódást ELISA próbákkal nem lehetett elkülöníteni a *S. mansoni* okozta szerokonverziótól (Juhász et al., 2016). A specifikus ellenanyagok jelenlétét csak Western-blot analízissel lehetett felismerni a cercária dermatitiszen átesett személy vérében. Ez a fontos megfigyelés azt mutatja, hogy a rutinvizsgálatokra alkalmazott szerológiai tesztek nem feltétlenül alkalmasak annak kimutatására, hogy a *S. turkestanicum* lárvákkal kapcsolatba került emberek fertőzöttek-e vagy szeropozitívak-e a métely hatása következtében.

A *S. turkestanicum* fertőzést szarvasmarhák immunizálására is megpróbálták felhasználni olyan vidékeken, ahol a *S. bovis* nagy veszteségeket okozott a

marhaállományban. Mivel a *S. turkestanicum* nem olyan patogén a marhára, mint a *S. bovis*, a *S. turkestanicum* cercáriákkal történő fertőzés, majd a *S. bovis* cercáriákkal történő ráfertőzés után azt tapasztalták, hogy a vérmételyek mennyisége 40-80%-kal csökkent a csak *S. bovis*-sal fertőzött állatokban lévő férgek számához képest. A bélfalban található peték száma 75-90%-al csökkent a kontroll állatokban található peték mennyiségéhez képest (Massoud és Nelson, 1972). Ezek a szerzők a végleges gazdák inadekvát vérmétellyel történő immunizálását javasolják, ember és állat esetében is azokon a területeken, ahol az adekvát métellyel való fertőzés elkerülhetetlen, például amiatt, hogy az emberek és a különféle állatok azonos vízforráshoz juthatnak csak.

3.2.4. Gazdasági kártétele

Az endémiásan fertőzött területeken a parazita hatása a házasított állatok egészségére és értékére, valamint az ebből eredő termékekre, komoly gazdasági aggodalomra ad okot, olyan régiókban, ahol a *S. turkestanicum* fertőzés magas. Ilyen területek például Iránban és Irakban vannak. A *S. turkestanicum* fertőzés esetén a parazita okozta betegség közvetlenül befolyásolja az állatállomány értékét (Massoud, 1971). A kiskérődzők takarmányhasznosítása csökken, hizlalásuk megghiúsul vagy nem gazdaságos. A fertőzés súlyvesztést, a húsminőség romlását, meghosszabbodott elkészülési időt eredményez. A bél falában keletkezett elváltozások is jelentős gazdasági kárt okoznak, például ha a bél fala áteresztővé válik, már nem használható fel az élelmiszeriparban (Machattie, 1936).

A legfőbb gazdasági kárt, elsősorban a juhok és kecskék elhullása jelenti. Azokon a területeken, ahol *S. turkestanicum* enzootiás, nem lehet gazdaságosan kiskérődzőket tartani. Költséget jelentenek a megelőzésre és a védekezésre fordított erőfeszítések is (Machattie, 1936; Malek, 1980).

3.3. A *S. turkestanicum* fertőzés diagnosztikája

3.3.1. Morfológiai vizsgálatok

A kifejlett mételyek szabad szemmel, sztereomikroszkóp alatt, vagy szkennung elektronmikroszkóppal (SEM) vizsgálhatók. A legtöbb fertőzést a vágóhídi húsvizsgálatok alkalmával fedezik fel.

Néhány fontos bélyeg van, ami az adult *S. turkestanicum* vérmételyt elkülöníti a többi *Schistosoma*-fajtól. Először is a kifejlett féreg hosszúsága viszonylag kisebb a rokon fajok példányainak hosszúságánál (Massoud, 1971). Ezen kívül a hím példányok sok herével rendelkeznek (50-90), a nőstényeknek pedig spirál alakú a petefészke, és az uterus mindig csak egy petét tartalmaz. Majdnem az összes olyan vérmétely, amely patás állatokban előfordulhat egynél több, sőt jóval több (5-200) petét hordoz egyszerre a testében. Ez alól kivétel a *S. nasale*, mely a kérődzők orrürege körüli erekben él, illetve néhány ritka afrikai faj (pl. *S. hippopotami*, *S. echinodiense*) és a rágcsálók vérmételyei, amelyek ritkán telepednek meg kérődzőkben. A *S. turkestanicum* legjellegzetesebb morfológiai bélyege a petéjének alakja, aminek segítségével minden más vérmételytől elkülöníthető. A *S. turkestanicum* petéjének végén egy túske található, a másik végén egy apró gömbszerű képlet van (Massoud, 1971).

A petéket a bélsármintákból felszíndúsítással vagy ülepítéses dúsítással (pl. Benedek-féle), esetleg a kettő kombinált alkalmazásával (pl. Majoros-féle kombinált flotációs eljárás) mutatják ki (Kassai, 2011). A grammonkénti peteszám (PPG) meghatározásához a McMaster-módszert használják egy bélsármintában (Kassai, 2011).

A lárvális alakokat (miracidium, sporocysta, cercária) fény- és SEM segítségével vizsgálják. Ezek más rokon fajok, hasonló fejlődési alakjától nehezen különíthető el. A cercáriáknak sok példányát kell megvizsgálni ahhoz, hogy anatómiai részleteiket megfigyelhessük. Ennek alapján rajzokat vagy fényképfelvételeket kell készíteni róluk, és képzeletben összeállítani belső felépítésük szerkezetét. Sok egyedről készített szintézisrajzok segítségével ábrázolható a lárva morfológiája, amit aztán az identifikációra fel lehet használni (Majoros, 1998).

3.3.2. Kórbonctani vizsgálatok

Endemikus területeken már a boncolás alkalmával is felismerhetjük a *S. turkestanicum* okozta fertőzést. A vékony és vastagbélhez térő mezenterialis erekben található a legtöbb adult példány. A májából is számos egyedet lehet kinyerni. A schistosomosis megállapításához szükség van az állat célzott felboncolására, melynek célja, hogy az érintett szervek egészét át tudjuk vizsgálni, lehetőleg minden egyes metelyt megtalálva. *S. turkestanicum* fertőzöttség gyanúja esetén erre a célra Egri módszerét (Egri és Sztojkov, 1999) érdemes használni, amely a máj 1-2 cm-ként ejtett párhuzamos bemetszéseiből áll.

A szervek felvágásakor, egy állatból, akár több ezer *S. turkestanicum* vérmétely is

kinyerhető. A jellegzetes alakú peték a bélnyálkahártya kaparékban is megtalálhatók.

3.3.3. Immunológiai módszerek és molekuláris módszerek

Elvileg a *S. turkestanicum* vérmétely fertőzés a gazdáiban, a parazita keltette humorális vagy celluláris immunválasz alapján kimutatható. Ilyen vizsgálatokról nincs adat a szakirodalomban, de az emberi schistosomosis diagnosztizálására számos szerológiai és molekuláris biológiai eljárást vettek eddig igénybe, amit e helyen csak röviden felsorolok. Főleg a *S. japonicum* okozta fertőzöttség diagnosztikája kidolgozott, amelyhez intradermális tesztet, indirekt haemagglutinációt, ELISA eljárást és annak elektroforézissel kombinált változatát (Li, 1991), pete-antigének kimutatására alapozott módszereket (Liu et al. 1958, Zhu et al. 1996) és különféle oldható antigének felismerésére való gyorseszteket (Guan et al., 1991, Qui et al., 1985, Yan et al., 1990, Wang és Li, 1990, He, et al., 2000) használnak. A *S. mansoni* és a *S. haematobium* detektálására ugyancsak a szolubilis antigének kimutatására irányuló ELISA tesztek (Alarcón de Noya et al., 1992; Correa-Oliveira et al., 1988) illetve a PCR a legalkalmasabbak (Pontes et al., 2002, Garba et al., 2011).

3.4. A schistosomosis elleni védekezés, megelőzés lehetőségei

Az állati és emberi vérmételyek között nincs éles határ. Mivel rokon fajok, a fejlődési ciklusuk hasonló, ezért az ellenük való védekezés stratégiája is azonos. Ezért az alábbiakban egyben tárgyalom a két csoport elleni fellépés módjait. Természetesen, az emberben megtelepedő mételyfajok okozta vérmételykór sokkal súlyosabb következményekkel járó megbetegedés, mint a cercária dermatitisz (Malek 1980), de ez utóbbi bántalom hatása sem lebecsülendő, például olyan emberek esetében, akik rendszeresen tartózkodnak vízben. A rizsföldeken dolgozók gyakran szenvednek ilyen bőrgyulladástól (Li és Li, 1980), míg a nyugati világ országaiban a tópartok nyaralóvendégei leginkább a „swimmers' itch” néven ismerik e furcsa fertőzést (Blankespoor és Reimink, 1991).

3.4.1. Általános védekezési intézkedések

Napjainkban vakcina nem áll rendelkezésre a schistosomosis ellen. A *Schistosoma*

fertőzés megelőzésének egyik alapvető eszköze, a vízzel való érintkezés elkerülése, ha az potenciálisan fertőzött a parazitával. Az úszás vagy bármely más vízi tevékenység az érintett területen lehetőséget teremt arra, hogy a cercáriák a bőrbe jussanak, és végleges gazda esetén, később annak szervezetében továbbfejlődjenek. A tengerben és a klórozott vizű úszómedencékben az úszás általában biztonságos, habár Ausztráliában és Kaliforniában sós vízben élő cercáriákat is összefüggésbe hoztak az emberek bőrbántalmaival (Bearup és Langsford, 1966). Abban az esetben, ha mégis érintkezésbe kerülünk a fertőzött vízzel, a test törülközővel történő alapos dörzsölését javasolják. Ezzel megakadályozzuk a cercáriák bejutását a bőrbe. Fertőzött területeken palackozott víz ivása ajánlott. A természetes vízforrásokból származó vizet legalább 3 percig érdemes forralni. Ez a módszer elpusztít minden olyan kártékony parazitát, baktériumot vagy vírust, amely az emberre veszélyes lehet (Centers for Disease Control és Prevention, 2014). Finomszemcsés anyagokból álló szűrőket is használhatunk a vízben található lárvális alakok szűrésére. A jód ugyan elpusztítja a cercáriákat, de drága és illékony, ezért nem alkalmas a vizek lárvamentesítésére. Repellenes szerek némelyike, mint például a DEET (N, N-Dietil-meta-toluamid) használható a bőrbe igyekvő cercáriák távoltartására, de csak helyileg alkalmazható, az egész testfelületre nem (Montgomery, 2014).

A fertőzött vízzel való érintkezés nem mindig kerülhető el, különösen azoknál az embereknél, akik az endemikus területeken élnek és a foglalkozásuk (pl. halászat, rizstermesztés) vagy a sport tevékenységük ezekhez a vizekhez kötött.

3.4.2. Gyógyszeres védekezés

Noha a *S. turkestanicum* okozta fertőzés gyógykezeléséről semmilyen adatot nem találtam az alábbiakban röviden összefoglalom a vérmétely fertőzöttség medikációjára vonatkozó ismereteket. Jelenleg a praziquantel az egyetlen gyógyszer, ami a schistosomosis gyógyítására hatékonyan igénybe vehető.

A prazikvantel egy izokinolin származék. Viszonylag újonnan felfedezett, ember és állatgyógyászati célra is forgalmazott gyógyszer. (Kiváló galandféreg ellenes hatással is bír.) A prazikvantel hatásmechanizmusának alapja az, hogy megváltoztatja a férgek intracelluláris kalcium-ion anyagcseréjét. Fokozza az extracelluláris kalcium-ion beáramlását a sejtekbe, ezzel párhuzamosan elősegíti a kalcium-ion mobilizációját az intracelluláris raktárakból. A következmény a görcsös bénulás, az izomszövet gyors, tartós összehúzódása, mely a paraziták pusztulásához vezet. A férgek kültakaróját is roncsolja, s a károsodott paraziták emiatt nem tudnak ellenállni a bélcsatornában található emésztőenzimeknek. A vegyület

farmakokinetikai tulajdonságai kedvezőek. A gyomor-bélcsatornából a felszívódása gyors és szinte teljes. A juhban biológiai hasznosulása a készítmény per os alkalmazása esetén alacsonyabb, mert a máj elsődleges méregtelenítő hatása ebben az állatfajban jelentős mértékű. A gyógyszer a szövetekben található lárvaalakok ellen is hatékony, szöveti megoszlása jó. Kiválasztása főként vizelettel történik. Terápiás indexe nagy, gyakorlatilag nem toxikus (TI=50) (Doenhoff et al., 2008).

A WHO a schistosomosis ellen megelőző gyógyszeres kezelést ajánl, amely segít csökkenteni a betegség előfordulását, mértékét és súlyosságát (World Health Organization, 2013). Habár a megelőző kemoterápia nem képes teljesen megakadályozni az fertőzést, a petetermelés csökkenését okozza. A gyógyszerek megakadályozzák a peték felhalmozódását a szövetekben, melyek a tünetekért elsősorban felelősek (Stothard et al., 2013). A preventív kemoterápia alkalmazásakor, az endémiás területeken élő iskoláskorú gyermekek kezelését tartják a legfontosabbnak. Azokon a területeken, ahol a fertőzés prevalenciája legalább 10%, megelőző kezelést kell biztosítani azoknak, akik a foglalkozásuk miatt magas fertőzésveszélynek vannak kitéve, mint például a halászok, a mezőgazdasági termelők és az öntözőmunkások, valamint a nők, akik a házi munkák elvégzése során fertőzött vízzel érintkeznek. A terhes és szoptató nőket a magas prevalenciájú területen be kell vonni a megelőző kemoterápiás kezelésbe, mert nagy a kockázata a magzat morbiditásának a *Schistosoma* fertőzés miatt (World Health Organization, 2013).

Történetileg az egyik legkorábbi erőfeszítés a schistosomosis visszaszorítására az 1920-as években történt. Egyiptomban felnőttek és gyermekek számára biztosították az első tömeges gyógyszeres kezelést. Ezt követték, olyan nemzetközi programok, amely a kemoterápiát és a köztigazda csiga kontrollját együtt tartalmazták a betegség leküzdésére.

Később a biztonságos gyógyszerek, mint például a niridazol, a metrifonát, az oxamnikin és a prazikvantel felfedezése az emberi fertőzés kezelésére, a figyelmet elsősorban a kemoterápia irányába fordította. Az Egészségügyi Világkonferencia 2001-ben állásfoglalást dolgozott ki, amely szerint a kemoterápiát, azaz a tömeges gyógyszeres kezeléseket a schistosomosis elleni harc fő stratégiájaként támogatta. Ez a határozat rendszeres kemoterápiás kezelést célozott meg az iskoláskorú gyermekek (5-14 éves korig) számára (World Health Organization, 2013). A WHO felmérése szerint, 2010-ben több mint 108 millió iskoláskorú gyermeknek lett volna szüksége kezelésre, de végül csak kevesebb, mint 21 millió embert kezeltek (19%), amely messze elmarad a határozatban szereplő céltől (Schistosomosis, 2012). További aggodalomra adott okot, hogy a vérmételyek csökkent érzékenységéről és a romló gyógyulási arányról számoltak be Afrika egyes fertőzött területein (Doenhoff et al., 2008). Az állati schistosomák ellen inkább a gyógyszerek alkalmazása nélküli védekezési módszereket használják.

Figyelembe véve a tömeges gyógyszeradagolás nehézségeit, valamint a prazikvantel ismételt adagolásával kapcsolatban felmerülő aggodalmat, ami a rezisztenciához vezethet (Humphries et al., 2012), a schistosomosis visszaszorítására gyakran más stratégiákat is alkalmaznak.

3.4.3. Köztigazda csigák elleni küzdelem

A köztigazda csigák pusztításának stratégiája elvileg három fázisból áll, tervezés, kezelés és fenntartás (McCollough, 1992).

Tervezés során a fertőzöttség felmérése, a köztigazda csigák összes élőhelyének felkutatása, az irtás módjának kiválasztása, a szükséges eszközök és anyagok beszerzése történik.

Ezt követi a beavatkozás, amit addig kell folytatni, míg csak, a csigák újrafertőződésének lehetősége fennáll, vagyis fertőzött végleges gazda van a csigák által benépesített élőhelyen. Ez akár évekig is elhúzódhat. Érdeemes a köztigazdák elleni fellépést egyidejűleg a végleges gazdák anthelmintikus kezelésével is kombinálni, és annak eredményességét időről időre ellenőrizni.

A fenntartás során az újrafertőződés lehetőségét meg kell akadályozni, és folyamatos tervszerű monitorozást kell végezni.

Belátható, hogy ez az általános stratégia nehezen valósítható meg olyan helyeken, ahol a vérmételyek a vadon élő állatokban is előfordulnak, de hatékony lehet ott, ahol a háziállatok és az ember schistosomáitól kell megszabadulnunk.

Az édesvízi csigák populációinak felszámolására **kémiai, fizikai és biológiai** módszerek állnak rendelkezésre. Ezek kombinációját érdemes használni a parazita életciklusának megszakítására.

A **kémiai** védekezési módszer alatt a vegyszeres csigairtást értünk. A molluskicid, vegyületeket világszerte gyakran alkalmazzák a csigák gyérítésére (Yang et al., 2010). Ilyen módszerrel először az 1940-es években, Egyiptomban kezdték meg a köztigazdák irtását, ahol a kémiai reagens a rézszulfát volt. Ezt követte egy hatékonyabb szer, a nátrium-pentaklór-fenilát alkalmazása, amit szintén Egyiptomban használtak 1955-ben (Barbosa és Coimbra, 1992).

A WHO szakértői bizottságának beszámolójában 1972-ben még négy használható molluskicid vegyület volt felsorolva. Ezek a vegyületek a következők voltak: yurimin, nátrium-pentaklórát, N-tritil-morfolin és a niklozamid. Jelenleg csak a niklozamid az egyetlen WHO

által ajánlott molluskicid szer (Yang et al., 2010). A niklozamid a laposférgek legkülönbébb fajainak elpusztítására használt, igen hatékony vegyület, de Magyarországon nem engedélyezett a használata a csigairtásra. (Galandféreg ellenes gyógykezelésre elérhető szer, a humán és állatorvosi gyógyászatban egyaránt). Hatása az ATP szintézist gátolja, a teminális oxidáció és a foszforiláció szétkapcsolása révén. Trópusi országokban csigairtásra a 70%-os por és a 25%-os folyékony koncentrátumát keverik a vizekbe. Nemcsak a csigák ellen, hanem a petéik ellen is hatékony. A vegyületből a vízcsigák gyérítésére 0,6-1 mg/l szükséges 8 órás behatási idővel, de 0,3 mg/l koncentráció is elég hatékony, ha 24 óráig jelen van a vízben. A vízből kimászó, és a nedves iszapon tartózkodó amfibiótikus csigák ellen 0,2 g/m² hatóanyag a megfelelő érték. Amennyiben a csigák mellett halak is vannak a vízben, akkor azok pusztulását is okozza a hatóanyag, viszont ezeknek a halaknak az elfogyasztása nem veszélyes a magasabb rendű élőlényekre.

Azért, hogy a puhatestűek elleni védekezés hatékony legyen, a kezelést évente legalább kétszer el kell végezni (Yang et al., 2010). A kezelés megismétlésének szükségessége miatt, ez a stratégia időigényes és különösen a nagy területeken kevésbé költséghatékony (Yang et al. 2010). A költségeken kívül, a molluskicidok használatával kapcsolatos egyéb aggályok is felmerülnek, úgy, mint a toxikus hatásuk a makroorganizmusokra és a mikroorganizmusokra egyaránt, valamint a környezeti szennyezés lehetősége (Dunne et al., 2012; Wang, Li, et al., 2009).

Fizikai védekezési módszert is alkalmazhatunk a csigapopuláció gyérítésére. Ez alatt az élőhelyük felszámolását értjük, ami a mocsaras, vizes terület alagcsövezésével, lecsapolásával, kiszáritásával vagy feltöltésével történik. Az eljárás igen költséges, de végleges megoldást nyújt a problémára (Huang et al., 1998).

Biológiai védekezési módszerek alatt a köztigazdákat gyérítő élőlények felhasználását értjük. A *Makrobrachium* garnélarák-fajok közül számos faj szívesen fogyasztja el zsákmányaként a schistosomosis terjesztő csigákat. Szenegal vérmételykórral fertőzött területein, a *Makrobrachium vollenhovenii* betelepítését kezdeményezték a vizes területekre. Ez az édesvízi rák őshonos volt régebben Afrika szerte, de az emberi tevékenységek, például gátépítések és folyószabályozások, sok helyen a kihalás szélére sodorták a fajt (Savaya Alkalay et al., 2014). Manapság igyekeznek a garnélarák populációkat növelni a fertőzött területeken. A módszer környezetbarát, hatékony és olcsó.

Természetesen a schistosomosis eliminációja többet jelent, mint a tömeges gyógyszeradagolás és a csiga populációk szabályozása. Az Egészségügyi Világszervezet 54.19 számú állásfoglalása sürgette az egészségügyi oktatás előmozdítását, a biztonságos vízhez való hozzáférést és a szennyvízkezelést minden érintett országban (World Health

Organization, 2013). Az egészségügyi oktatás azért fontos, hogy az emberek el tudják kerülni a fertőzött vizeket. A higiénia javulása révén csökkenne a vizek szennyeződése az emberi és állati ürülékkel. Ahhoz, hogy ez megvalósulhasson, a fertőzött területeken lehetőséget kell arra biztosítani, hogy az embereknek ne legyen szüksége igénybe venni a cerkáriákkal kontaminált vizeket. Megfelelő vízellátást és a környezettől szeparált vizesblokkok kiépítését kell szorgalmazni (Colley et al., 2014).

Ghánában például, az iskoláskorú gyermekeknek egy faluban úszómedencét építettek, hogy visszatartsák őket a helyi folyóban való fürdözéstől. Ez a lépés a betegség előfordulási gyakoriságának jelentős csökkenését eredményezte (World Health Organization, 2011). A Kínai Népköztársaságban tartállyal rendelkező illemhelyeket alakítottak ki a folyami hajókon, hogy megakadályozzák az emberi széklet vízbe jutását (Wang, Li, et al., 2009). A stratégiák kombinációja, jelentősen csökkentette a morbiditást, a fertőzés prevalenciáját, valamint a súlyosságát Egyiptomban, Burkina Fasóban és Nigerben is (Boisier et al., 2009).

Egy sikeres példa volt különböző stratégiák ötvözésére egy integrált ellenőrzési program létrehozása 2004-ben, amely a Kínai Népköztársaságban valósult meg. A program elérte, hogy a vérmétellyel fertőzött emberek aránya 2008-ra <5%-ra, majd 2015-re <1%-ra csökkent. Az alkalmazott stratégiák közé tartozott a prazikvanteles tömegkezelés és az intenzív egészségügyi oktatás. Egy másik stratégiájuk a csigák fertőződésének megakadályozása volt. Az embereknek ivóvizet, az épületekben mosókonyhát és nyilvános vizesblokkokat biztosítottak. A program során a szarvasmarhákat kis mezőgazdasági gépekkel helyettesítették, és a szarvasmarhák legelőre hajtását megtiltották annak érdekében, hogy megszüntessék a legelőknél az állatok bélsara általi újrafertőződését. Ez a program már 30 hónap elteltével 75-90%-kal csökkentette a fertőzés mértékét. A fertőzés arányának csökkenése mellett a program jelentős hatást gyakorolt a csigák fertőződésére is. *S. japonicum* által fertőzött csigák száma 93-100%-kal csökkent a területen (Wang, Li, et al., 2009).

Mivel a schistosomosis azokban az országokban közegészségügyi probléma, ahol más trópusi betegségek is előfordulnak, az egyes betegségek ellenőrzési programjait integrálni lehet, hogy maximalizálják az erőforrások felhasználását a fertőzések csökkentése érdekében. Például a schistosomosis olyan helyeken gyakori az emberekben, ahol az intesztinális férgek is gyakoriak, amelyeket a talaj közvetít az egyes gazdák között. Az orsóférgesség és a kampósférgesség (*Ascaris* és *Ancylostoma* fertőzöttség) létrejöttéhez nem kell ugyan köztigazda, de a fertőzést továbbvivő peték a vérmételyekhez hasonlóan a széklettel ürülnek. A kétféle, parazitás megbetegedés területe ezért átfedi egymást, és a fertőzés forrása is közös, amennyiben a rossz higiénia, ivóvízhiány és a nem megfelelő szennyvízkezelés mindkét fertőzés elősegítője. Ezért a WHO által ajánlott kezelés azonos a

bélféregfertőzések és a schistosomosis esetén. Így a kontroll programok költséghatékonyabbá válhatnak, mert egyszerre több betegség ellen védekezhetünk, ugyanazzal a stratégiával.

Bár sikereket értek el, mégis, sok korlátja van a védekezési programoknak. Felismerték, hogy a tömeges gyógyszeres kezelés nem akadályozza meg az újrafertőződést, és annak abbahagyása után a fertőzöttség aránya 24 hónapon belül eléri a kiindulási értéket (Ross et al., 2002). Ezért az eljárást meg kell ismételni a kockázati szinttől függő gyakorisággal.

Manapság egy hatékonyabb, tartósabb védekezési módszer elérése a cél, ezért schistosoma elleni vakcinák kifejlesztésével is próbálkoznak. Ezek még kísérleti stádiumban vannak, és akár évtizedekig is eltarthat, még kereskedelmi forgalomba kerülhetnek. Addig is, az integrált ellenőrzési kezdeményezéseknek folytatódniuk kell (Inobaya et al., 2014).

Mindezek az emberi vérmételykór visszaszorítását célzó eljárások, a *S. turkestanicum* mótelyhez két vonatkozásban is kapcsolódnak. Az emberi fertőzést okozó mótelyek köztigazdáinak irtása nem egészen veszélytelen feladat azok számára, akik azt elvégzik, ezért hasznos lehet, ha a csigák elpusztítására alkalmazott eljárásokat olyan fertőzött csigákon próbálják ki, amelyekről nem lehet vérmétely fertőzést kapni. Ezért a csigák cercária kibocsátása, a lárvák előfordulásának szezonális és más jellemzők vizsgálata terepi viszonyok között is biztonságosan elvégezhető a *S. turkestanicum* köztigazdáival. Laboratóriumi körülmények között is biztonságosan végrehajthatók olyan kísérletek ezzel a fajjal, amelyek kivitelezéséhez speciális óvintézkedések kellenének, ha embert fertőző schistosomával és annak köztigazdájával végeznék el azokat.

Más szempontból, a vakcinák előállítása kapcsán lehetnek fontosak a *S. turkestanicum* mótelyek, mert az ellenük kialakult immunitás vagy a velük szembeni veleszületett rezisztencia segíthet megtalálni azokat az antigéneket, melyeket fel lehetne használni az emberi schistosomák elleni vakcinák készítésére.

4. ANYAG ÉS MÓDSZER

4.1. A lőtt vadak vizsgálata

4.1.1. A parazita hazai előfordulásának helyszíne és a vizsgált területek

A *S. turkestanicum* először felismert élőhelyén, A Gemenci-erdők területén tanulmányoztuk a mészely előfordulását a szarvasokban és a csigákban. Mivel ez az élettér oly nagyon sajátos és annyira izolált az ország máshol fekvő vadas területeitől, alapvetően meghatározza a mészely vizsgálatának lehetőségeit. Az alábbiakban azokat a jellemzőit mutatom be, amelyek fontosak a *S. turkestanicum* biológiájának megértéséhez.

Gemenc vagy más néven a Gemenci erdő egy nagy kiterjedésű, természetvédelmi oltalom alatt álló ártéri erdővel borított terület. Magyarország középső és déli részében a Duna jobb partján található. Természetvédelmi szempontból a Duna–Dráva Nemzeti Park működési területének része, annak igazgatósága alá tartozik. Erdő- és vadgazdálkodását a Gemenci Erdő- és Vadgazdaság Zrt. (rövidebb nevén Gemenc Zrt.) látja el.

Maga a Gemenc Zrt. Pakstól a déli országhatárig húzódó erdős területeken gazdálkodik, amelyből 180 négyzetkilométer ártér, amit a folyó alkalmanként elönt. Az általunk vizsgált szarvasok és csigák zöme az ártér legszélesebb részéről származik, amely a Szekszárdtól keletre fekvő Keselyűs, és a Bajához nyugat felől kanyarodó Duna jobb partja közé esik. Ezen a területen az erdőgazdaság Gemenci Erdészete fekszik, annak több erdészkerületével. Ezt az erdészetet keletről a Duna határolja, északról a Sió-csatorna, illetve a Kalocsa-Szekszárd közötti országút, Nyugatról az árvízvédelmi gát és szántóföldek, délről pedig ismét a Duna, továbbá a Bátaszék közötti út és vasútvonal. Mindezek a határok gyakorlatilag megszakítás nélküliek, ezért az általuk közrefogott területet meglehetősen elszigetelik a körülöttük lévő vidékektől.

A természetes úton létrejött ártéren őshonos vadállomány van, betelepített fajok nélkül. A mezőgazdasági művelés nélküli területe a Duna keskeny mellékágai és holtágai, illetve a részben természetes, részben telepített erdőkben húzódó nyiladékok és földutak tagolják. A vad szabadon mozoghat a középkor óta már biztosan vadászterületként hasznosított területen (Kőhalmy, 1999), de azt csak nagyon ritkán, leginkább csak nagy áradások alkalmával hagyja el. Ezért az itt élő szarvasállomány is őshonosnak tekinthető, amit alátámaszt az itt élő gímek erre a területre jellemző agancsformája és agancsának színe (Fodor, 1978).

Vizsgálatainkat elsősorban azon a területen végeztük, ahol meg tudtuk találni a szarvasok dagonyázó helyeit a holtágakban és az időszakos tavakban. Mind az állatokból származó szervek, mind a földről gyűjtött hullatékot, mind pedig a gyűjtött csigák főleg az alábbi erdőtagokból származtak: Gemenc, Grébec, Fekete-erdő, Rezét (Kis-és Nagyrezét), Cserta, Gyűrűsoldal, Pörböly, Pandúr, Keselyűs.

Ezekre az erdőrészekre jellemző volt az öntéstalajon nőtt, tisztásokkal megszakított puhafa-erdő, amelyben árkok, vízmosások tették egyenetlenné az egyébként lapos felszínt. Az árkok és a holtágak, illetve a szikesedő, velük kapcsolatban nem lévő, sekély tavak gyakran kiszáradnak, de az erdőségeket elválasztó mellékágakban és holtágakban mindig van víz. Ezért a szarvasok - és a vaddisznók is - még a nyár legforróbb napjaiban is tudnak dagonyázni.

A fent ismertetett terület puhatestű faunája nagyon gazdag. Richnovszky 25 vízi puhatestű fajt említ ebből a térségből (Richnovszky, 1967), és 35 szárazföldi csigát is (Richnovszky, 1989). A Magyarországon élő összes őshonos lymnaeida-faj él itt, s noha ez mindössze hat fajt jelent, azt mutatja, hogy az élőhely faunagazdagsága meghaladja a legtöbb magyarországi vizes élőhely faunagazdagságát.

A *S. turkestanicum* mótelyel kapcsolatos korábbi vizsgálatok kiderítették, hogy a parazita köztigazdája Gemencen a *Radix auricularia* csiga (Majoros et al., 2010). Ezeket a terepi vizsgálatokat igyekeztünk ott végezni, ahol a csigák megtalálhatóak voltak. A rövid életű csigáknak sok esetben csak a héjai voltak megtalálhatók, de ez is elég volt annak meghatározásához, hogy hol lehetnek azok a helyek, ahol a szarvasok fertőzése végbemegy.

A Gemenci Erdészetből származó mintákon túlmenően vizsgálni tudtunk olyan szervdarabokat is, amelyek az erdőgazdaság más területeiről származtak. Ezek hasonló erdők állataiból lettek gyűjtve, mint amilyenek a Gemenci-erdők voltak, de kevésbé nedves környezetből. Mintákat kaptunk Szekszárdi, Béda-Karapancai és Hajósi Erdészetekből is. Ezekben a helyeken is végeztünk terepbejárást a köztigazda csigák felderítése végett, de mivel ilyeneket nem találtunk, az élőhelyek részletes vizsgálatát mellőztük. A Gemenci Zrt. területén kívül nem vizsgáltuk a szarvasok és a csigák élőhelyeit, de sikerült szervdarabokat szereznünk néhány más vadászterületről is. Ezek a szervrészletek többnyire májak és végbél darabok voltak, de lőtt vad faján kívül más információt nem kaptunk, ami az állat élőhelyével lett volna kapcsolatos.

A vadászoktól kapott szervek az alábbi helyekről származtak: Szigetköz, Zala, Kisbalaton környéke, Mátra, Sirok környéke, Parádsasvár; Nyírség, Nyírerdő hetényháza, Galgamácsai Cservölgy, Nyírmihálydi; Pilisszentlászló, Balaton, Bakony, Zselic.

Hullatékot gyűjtöttünk még az alábbi helyekről: Pilis, Szigetköz, Zala, Kis-Balaton környéke, Bükk-Szarvaskő, Felsőtárkány, Mátra.

4.1.2. A máj minták gyűjtése

A morfológiai vizsgálatokat az Állatorvostudományi Egyetem Parazitológiai és Állattani Tanszékén végeztük. Igyekeztünk az ország egész területéről lőtt vadak májához és bélsarához jutni. Ezért a kutatás kezdetén, felhívó levelet küldtünk ki az ország legkülönbözőbb helyén lévő vadászársaságoknak, amiben felajánlottuk, hogy ha bélsármintát vagy szervmintákat küldenek be nekünk, azok teljes körű parazitológiai vizsgálatát ingyenesen elvégezzük. Reméltük, hogy ilyen módon olyan mintákhoz is jutunk, amelyekben vérmételyeket vagy azok petéit is megtalálhatjuk. Sajnos kevés társaság élt ezzel a vizsgálati lehetőséggel. Azonban a Gemenc Zrt. vadászai nagyon megértőek és segítőkészek voltak irányunkban, és ennek következtében az általunk megvizsgált minták zöme Gemencről származott. Három év alatt, 2014 szeptembere és 2017 októbere között 176 szarvasmájat, és emellett több bélsármintát, ürített hulladékot gyűjtöttek a vizsgálatainkhoz. Az ország különböző területeiről származó néhány mintát leszámítva, a gemenci szarvasokon kívül, nagyobb számban a szigetközi Duna-ártér szarvasaiból származó máj- és ürülmintákat vizsgáltuk, mely egy hasonló természeti adottságokkal bíró terület, mint Gemenc. Az említett két területen kívül Segesd, Zselic, Mecsek-Ófalu, Lovasberény, Sirok, Göbös és Csermajor vidékéről kaptunk még májmintákat (4. táblázat).

4. táblázat: A három év alatt megvizsgált szarvasmájak származási helyei

Terület	Származási hely	Májminták
1. Gemenc	Gemenc	176 gímszarvas
2. Karapancsa	Karapancsa	32 gímszarvas
3. Szekszárdi dombtság	Mecsek, Ófalu	3 gímszarvas
	Mecsek, Ófalu	4 dámszarvas
	Mecsek, Ófalu	3 vaddisznó
4. Zselic	Zselic	8 dámszarvas
	Segesd	2 gímszarvas
5. Bakony	Lovasberény	16 dámszarvas
	Göbös, Csermajor	9 gímszarvas
6. Szigetköz	Istvánpuszta	8 gímszarvas
7. Hanság	Lajta-Hanság	3 gímszarvas
	Lébény	6 gímszarvas
8. Mátra	Sirok	20 gímszarvas
9. Nyírség	Nyírerdő Hetényháza	1 dámszarvas
	Nyírmihálydi	2 gímszarvas
10. Gödöllői dombvidék	Galgamácsai Cservölgy	1 gímszarvas

A vadászok által gyűjtött májdarabokhoz mellékelt kísérőirat a legtöbb esetben

tartalmazta a kilőtt állat ivarát és korát (bika, tehén, borjú) és a származási helyét, illetve a kilövés dátumát. Ezek az adatok elsősorban a beküldők számára voltak fontosak, akiket ennek alapján tudtunk tájékoztatni a vadászati területükön előforduló parazitás fertőzöttség mértékéről.

Fontos leszögezni, hogy a beküldött májdarabok - és néha más szervekből is származó darabok- semmilyen szempontból nem voltak random módon vett, normális eloszlást tükröző, homogén minták, hanem csak azokból az állatokból gyűjtöttek szerveket a zsigerekből, amelyeket betegnek, fertőzöttnek vélték, vagy amelyeknek a májára nem tartott igényt senki. A heterogén, célzott mintavétel miatt meg se kíséreltünk számszerű következtetéseket levonni a vérmétely fertőzöttség valós prevalenciájáról a különböző csoportokban, és az intenzitást is csak óvatosan becsülhettük, mert nem vizsgálhattuk meg az állat összes szervét, ami mételyeket tartalmazhatott.

A gemenci vadászoknak érdeke fűződött ahhoz, hogy a májakat megvizsgáljuk, mert az ott élő szarvasokban nagyon gyakori a májmételyes fertőzöttség, aminek alakulásáról információkat akartak szerezni. A Magyarországra behurcolt, nagy amerikai májmétely (*Fascioloides magna*) tönkreteszi az agancsos vadak máját, ezért Gemencen is gyógyszeres kezeléssel védekeznek kártétele ellen. Az anthelmintikumok megölik ugyan a parazitákat, de azok maradandó károsodást hoznak létre a májban, ezért a gyógykezelés hatásának vizsgálata csak a szerv tüzetes vizsgálatával lehetséges. Emiatt a vadászok elsősorban azokat a szerveket küldték a vizsgálatra, amiben a *Fascioloides* kártételének nyomai látszottak.

A májmételyes fertőzöttség-vizsgálata párhuzamosan zajlott, az általam kutatott vérmétellyel. A tanszék évek óta felméréseket végez Gemencen az előbb említett parazitával kapcsolatban. Dr. Majoros Gábor a nagy amerikai májmétellyel fertőzött minták vizsgálata során, mintegy mellékletként bukkant rá a *S. turkestanicum* vérmételyre 1995-ben. Gemencen a májmétely fertőzöttség már évtizedek óta igen magas, a gyógykezelések ellenére is.

A májokban diónyi, petékkel telt kavernák képződnek a fertőzöttség következtében. Megkértük a vadászokat arra, hogy a látszólag májmétely-mentes májkból is tegyenek el mintákat a számunkra, és ez sok esetben meg is valósult. Egyrészt azok is fertőzöttek lehetnek az előbb említett parazitával, valamint több mintából nagyobb eséllyel tudjuk kimutatni a vérmételyek jelenlétét is. Javasoltuk, hogy az összes elejtett gímszarvas máját hozzák be a terepről, ezzel is elősegítve a *F. magna* terjedésének visszaszorítását. Ugyanis, ha a májakat a dögevők és ragadozók elfogyasztják, a nagy amerikai májmétely petéjét bélsarukkal szétszórhatják azok a területen, és abból életképes paraziták fejlődhetnek ki. A terítékből egyedi belátásuk szerint választották ki a vadászok a mintaként beküldött májdarabot. Kutatásainkat segítette, ha kevesebb

volt a *F. magna* pete a mintában, mert így könnyebben detektáltuk a vérmételyek petéjét, és magukat a vérmételyeket is.

A májmétely és a vérmétely együttes vizsgálata egy közös érdeken alapuló, kompromisszumos megoldás volt, ami ugyan befolyásolta a *S. turkestanicum* kimutatásának sikerességét, de e nélkül a kutatás megvalósíthatatlan lett volna

4.1.2.1. A paraziták és petéik kimutatása a májból

Elvileg a vérmétely fertőzöttséget a métely eddig ismert egyetlen, hazai végleges gazdájából, a gímszarvasból a zsigerek és a bélsár vizsgálatával lehet kimutatni. Az előbbi esetben a máj, vagy annak egy darabja volt az a szerv, amelyet ténylegesen felhasználhattunk a vizsgálatra. A hasúri zsigerek egyéb részei, ha kivételesen vizsgálatra is kerültek, soha nem tartalmaztak kifejlett vérmételyeket, petéket (húgyhólyag, lép, méh, vese), vagy a vizsgálatra való gyűjtésük nem volt megoldható a vadászat alkalmával (cseplesz, bélfodor, bélfal).

Az összegyűjtött gímszarvas májdarabokat és hullatékokat a vadászidény alatt a Gemenc Zrt. dolgozói fagyasztóládjába helyezték. A mintákat a vadászszезon lezárása után kaptuk meg, ezek vagy postai úton érkeztek, vagy mi mentünk el érte az érintett területre a kiszállások alkalmával. A tanszéken -20 °C-on tároltuk a kapott anyagot, amelyet folyamatosan dolgoztunk fel.

A minták vizsgálata során az első lépés a májak felületének megtisztítása volt. Levágtuk az esetlegesen még rajtuk levő faggyúdarabokat, vagy egyéb belső szerveket, és megtisztítottuk azokat a zsigereles közben rájuk tapadt szennyeződésektől. Ezt követően a felszínüket megtekintéssel vizsgáltuk. Feljegyeztük a nagy amerikai májmételyek által okozott elváltozásokat. Egri módszerét alkalmazva (Egri és Sztojkov, 1999), a májakat 1-2 cm-es darabokra vágtuk fel, majd a darabokat egy 5 literes vödörbe helyeztük. Az egyes mintákra annyi vizet töltöttünk, hogy az ellepje a szervet. Kézzel óvatosan kevergettük, nyomkodtuk a szervdarabokat a vízben, elősegítve a vérmételyek kijutását a máj ereiből. Ezután a májdarabokat kiemeltük, és a további vizsgálatukig félretettük. A szervekből kimosott folyadékot egy 1 mm lyukátmérőjű teaszűrőn átöntöttük, amelyben a juvenilis és kifejlett paraziták egyaránt fennakadtak. Az így felfogott törmeléket Petri-csészékbe helyeztük és a parazitákat sztereo-mikroszkóp alatt válogattuk ki belőle. A *S. turkestanicum* példányok mellett, más mételyek egyedeit is megtaláltuk ezzel a módszerrel. A vérmételyeket 70%-os alkoholba helyeztük, és további vizsgálatokig így konzerváltuk azokat.

A megmaradt májdarabokat 4-5%-os NaOH oldatba merítettük 6-12 órán keresztül. A lúggal puhított májszeleteket kevés vízzel együtt, úgy hogy az éppen ellepje a vizsgálni kívánt szervet, háztartási turmixgépbe helyeztük, és 2-3 percig, a legerősebb fokozaton turmixoltuk. Az így nyert szuszpenziót különböző lyukméretű hálót tartalmazó szitákon átszűrtük, hogy a szervdaraboktól, kötőszöveti rostoktól, és a *S. turkestanicum* peténél kissé nagyobb méretű *F. magna* petéktől megszabaduljunk. Ez utóbbiak nagyon megnehezítették volna a vérmételypeték megtalálását, mert sok esetben több nagyságrenddel nagyobb mennyiségben voltak a májban, mint a hozzájuk hasonló viselkedésű *S. turkestanicum* peték.

A turmixolással szuszpendált májat le vesszűrőkön, majd egyre kisebbedő lyukbőségű szeparáló szitákon (*Endocotts Test Sieve*) csapvízzel mostuk át és a szitákon átment, egyre kisebbedő szemcséjű szuszpenziót fogtuk fel. A sziták lyukbősége és átmérője a szűrni kívánt anyag sűrűségétől és mennyiségétől függően többféle is lehet, de az utolsó szita lyukbőségének mérete, 68 µm kellett, hogy legyen, mert azon a májmételypeték már nem mennek át, de a vérmétely-peték keresztülmoshatók rajta.

Az utolsó szüredéket 5-10 percig ülepedni hagytuk egy vödörben. Ülepedést követően a felülúszót leöntöttük, a dekantátumot pedig újra felöntöttük vízzel. Ezt az eljárást kétszer, háromszor megismételtük, míg fel nem tisztult az üledék feletti víz. Végül a felülúszót leöntöttük az üledékről. Az utolsó dekantálás után körülbelül 50-100 ml térfogatú üledék maradt, amit egy kevés desztillált vízzel és néhány milliliternyi 35%-os sósavval elkevertünk. A megsavanyított keverékhez 5%-os savanyú fukszin oldatot csepegtettünk, amíg az sötétpirosra nem vált. A savanyú festék oldatban általában egy éjszakán keresztül állt a minta, de 3-4 óra is elég volt ahhoz, hogy a benne lévő vérmétely-peték megfestődjenek.

A megfestett üledéket tárgylemezre kicsöpögtetve mikroszkópban vizsgálni lehetett, de ha ezzel a módszerrel nem találtunk benne petéket, az üledéket további pete-dúsító eljárásnak vetettük alá. Ekkor az üledéket 15 ml-es centrifugacsövekbe osztottuk szét, 1-2 perces centrifugálással pellettáltuk a szilárd részeket és a folyadékot kiöntöttük a csövekből. Az eltávolított vizes festékoldat helyére 1350 g/liter sűrűségű, úgynevezett dúsító oldatot töltöttünk, összeráztuk vele az üledéket, és újra centrifugáltuk 5000 g gyorsulással 1-2 percig. Ennek következtében a féregpeték az oldat tetejére úsztak fel, és jóval kevesebb sejttörmelék között lehetett megtalálni azokat, mint felszindúsítás nélkül kellett volna megtalálnunk őket az üledékben. A dúsító oldat tetejéről érdesre csiszolt végű üvegbottal levett, tárgylemezre helyezett folyadékcseppben kerestük meg a petéket a mikroszkópban.

A dúsító oldatot kristályos konyhasó, szacharóz és cink szulfát technikai tisztaságú anyagaiból és desztillált vízből kevertük ki Majoros (Majoros, 2015) által ajánlott módon, és a használat előtt areométerrel állítottuk be az éppen alkalmazni kívánt sűrűségét. Az így

összeállított oldat domború cseppet képzett a mikroszkópos tárgylemezen, és a legkiemelkedőbb pontján gyűltek össze a peték. Ezért a centrifuga csövekből kivett cseppeket fedőlemez használata nélkül, áteső fényben kellett vizsgálni. Az élénkpirosra festődött peték már 10 x-es objektívekkel is láthatóvá váltak, de alaposabb vizsgálatukhoz 20-40 x-es objektíveket (250-600 x-es nagyítással) is igénybe vettünk.

A felszindúsítást követően, a sókeverék tetején összegyűlő peték egyéb célú vizsgálatához szükséges, hogy a petéket megszabadítsuk a sótól, mert az például gátolja a DNS kivonásra használt enzimek vagy lúgos anyagok működését. Ezeket a sóoldatba került petéket átöntöttük egy üveg pohárba és a sóoldathoz bőséges mennyiségű desztillált vizet öntöttünk. Mivel a vízben mindig van valamennyi oldott széndioxid, ilyenkor a karbonát képződés megindul, és csapadék formájában kiválik az oldatból. Ezt elkerülendő, egy kevés tejsavat adtunk a vízzel felhígított sóoldathoz, amit elszűkülő aljú, kúpos poharakban, úgynevezett üleptető poharakba töltöttük ki. A poharak aljába leülepedtek az azt megelőzően a folyadék felszínén úszó peték és pipettával felszippanthatók voltak.

4.1.2.2. Májdarábokból kigyűjtött paraziták azonosítása

A szervmintákból kimosott parazitákat sztereo-mikroszkóp segítségével válogattuk ki a szüredékből. A vérmételyeken kívül egyéb élősködőket is találtunk, amelyek előfordulását feljegyeztük ugyan, de a továbbiakban nem foglalkoztunk velük.

A *S. turkestanicum* példányokat a morfológiájuk alapján azonosítottuk, Skrjabin és Azimov leírásai szerint (Azimov és Nurmukhamedov, 1968; Skrjabin, 1913). Az egyedeket megszámoztuk és 70%-os etanolban konzerváltuk. Az ily módon tartósított férgek molekuláris biológiai vizsgálatra használhatóak maradnak. Tartós preparátum céljára a férgeket először 10-20%-os etanolban áztattunk 4-5 napig, majd 50%-os etanolba kevert 20%-nyi glicerint tartalmazó oldatba helyeztük azokat. Ebből a keverékből hetek alatt elpárolgott a víz és az etanol, s közben a férgek teljesen átítatódtak glicerinnel. Az elpárolgó folyadékot glicerinnel pótoltuk és végül a paraziták majdnem 100%-os glicerinben konzerválódtak. Ebben az állapotban a példányok korlátlan ideig tárolhatók és összehasonlító morfológiai vizsgálatra felhasználhatók.

A faj tartósított egyedeiből referencia példányokat helyeztünk el a Magyar Természettudományi Múzeum Állattárában.

4.1.2.3. Molekuláris biológiai vizsgálatok

A *S. turkestanicum* vérmétellyel kapcsolatos DNS vizsgálatok jelentős része Angliában valósulhatott meg. A londoni Kingston Egyetem molekuláris parazitológia laboratóriumával évek óta folyamatos munkakapcsolatban állunk. Az együttműködés keretében molekuláris biológiai vizsgálatokat végeznek számunkra, amelyhez vizsgálati anyagot biztosítunk.

A Scott P. Lawton által vezetett kutatócsoport a *S. turkestanicum* génszerkezetét vizsgálja, hogy megismerje azokat a molekuláris tulajdonságokat, amelyek elkülönítik a fajt a patogén emberi schistosomáktól. Az angliai projekt közvetlen célja, hogy olyan molekuláris markereket fejlesszenek ki és alkalmazzanak, melyek képesek az antigén fehérjék és genetikai változatok meghatározására a szarvasokban található, egymástól különböző vérmétely populációkban. Ezek a markerek segítséget nyújthatnak abban, hogy azonosítsuk a molekuláris DNS-ben azokat a régiókat, melyek felelősek olyan antigének termeléséért, amelyeket az emberi szervezet felismer és megakadályozza, hogy a dermatitist okozó cercáriák tovább tudjanak fejlődni. Az általunk gyűjtött mételyek azért olyan értékesek a kutatás számára, mert egészen közeli rokonai az emberi vérmételyeknek, de mégis olyan gazdapopulációban élnek, amely elkülönül mind a háziállatoktól, mind az emberi településektől és nem tudnak adaptálódni sem az emberekhez sem az annak környezetében élő állatokhoz. Az emberi protektív immunitást kiváltó antigénfehérjék remélhetően más schistosomák invázióját is meg tudnák akadályozni, ezért vakcinák kifejlesztésére is használhatók volnának.

Ebbe a munkába 2017 nyarán személyesen is belekapcsolódhattam, amikor hat hetet töltöttem a fent említett laboratóriumban. Ott tartózkodásom alatt részben az általunk gyűjtött féregpéldányokat, részben pedig Irakból származó példányokat vizsgáltunk meg. Ennek a vizsgálatnak az volt a célja, hogy összehasonlítsuk a gemenci szarvasokban élő *S. turkestanicum* és az iraki szarvasmarhákban élő *S. turkestanicum* populációk genetikai variabilitását, ami alapvetően meghatározza az antigének változékonyságát is.

Az ITS régió variabilitásának összehasonlító vizsgálatát egy már korábban közölt eljárás alapján végeztük (Lawton és Majoros, 2013). Minden féregpéldányból egyenként vontuk ki a nukleinsavat.

A mintát először tárgylemezre helyeztük, és a pipetta segítségével többször desztillált vizet mértünk a mintára, majd itatóspapíron leitattuk a felesleget. Ily módon eltávolítottuk a féregből az alkoholt, amely zavarta volna a további reakciókat. Ezt követően fél órára 200 µl desztillált vizet tartalmazó Eppendorf csőbe helyeztük a vizsgálati anyagot.

Miután az lesüllyedt a cső aljára. A férgek testét tiszta Eppendorf csőbe helyeztük. A DNS kivonásához és megsokszorozásához a Dneasy Tissue Kit-et alkalmaztuk, a gyártók által javasolt lépések szerint (Qiagen, Valencia, CA, USA).

A férgekre 180 µl ALT puffert, mely a szövetek lipid membránjának líziséét végzi, és 20 µl protein kinázt mértünk. (Ez utóbbi a sejtek fehérjéit és a sejtmembránokat bontja le.) Ezt a szuszpenziót 10 másodpercig az asztali keverőgépen összekevertük, majd 56 °C-os inkubátorba helyeztük 2-3 órára. A folyamat végén egy áttetsző oldatot kaptunk.

Az inkubátorból kivett, megemésztett anyagokra 200 µl AL puffert mértünk rá, mely megállította a protein kináz további aktivitását. Ezután 200 µl, 96-100%-os etanolt adtunk hozzá és 10 másodpercig asztali keverőgépen alaposan összekevertük.

Az egész szuszpenziót, DNS kötő filtert tartalmazó, mini centrifugacsövekbe töltöttük át. A mintát 1 percig 8.000 g gyorsulással centrifugáltuk asztali centrifugában. A DNS a filterhez kötődött, a lecentrifugált folyadékot pedig elöntöttük. A nukleinsav megkötődése lehetővé tette, hogy további szennyező anyagoktól szabaduljunk meg. A szennyező anyagok hatékonyan lemoshatók az egymás után következő mosási lépésekben. A mosás 500 µl mosópuffer 1-gyel, 8.000 g gyorsulással, 1 percig zajlott, majd mosópuffer 2-vel, 13.000 g gyorsulással 3 percig. A lecentrifugált folyadékot mind a két esetben elöntöttük. A nukleinsavat elúciós pufferben oldottuk le a filterről. Tiszta Eppendorf csövet helyeztünk a filter alá, és 200 µl AE jelzésű oldatot mértünk rá. A mintát 1 percig állni hagytuk szobahőmérsékleten, majd lecentrifugáltuk 8.000 g gyorsulással 1 percig. Az így nyert leoldott, tisztított nukleinsav közvetlenül felhasználható volt a további reakciókhoz, illetve +4 °C-on tárolható a későbbi felhasználás céljára.

A nukleinsav megsokszorozására és azonosítására PCR technikát választottuk. A polimeráz láncreakció specifikus nukleinsav szekvenciák in vitro sokszorozására alkalmas eljárás, segítségével kis mennyiségű DNS is kimutatható. Ehhez szükséges primereket a londoni laboratóriumban tervezték meg, a GenBank-ban lévő *Schistosoma* szekvenciák alapján.

A legyártott primereket 10 x-es hígításra desztillált vízzel feloldottuk, majd az így elkészített oldat, 20 µl-éhez 180 µl desztillált vizet mértünk. A 20 *S. turkestanicum* minta PCR technikával történő kimutatása, több lépcsőből álló folyamat volt. A PCR vizsgálat során az intakt állapotú DNS szálat hőkészítéssel denaturáltuk, azaz, a kettős spirálszerkezet felbomlott és egyszálúvá vált. Ezt a folyamatot általánosan 95 °C körüli hőmérsékleten hajtják végre a PCR készülékben (Veriti 96 well thermal cycler (Applied Biosystems™)). Ezt követően a cél DNS 20-40-szer ismétlődő, három lépésből (denaturálás, primer kapcsolódás, lánchosszabbítás) álló ciklusban megsokszorozódik. A denaturáláskor a magas hőmérséklet miatt (95 °C) a DNS két szála szétválik és oligonukleotid primerek 40-60 °C-on hozzá

kapcsolódnak az egyszálú DNS-ekhez. A ciklus utolsó lépésében a DNS láncok meghosszabbítása zajlik 72 °C-on, melyhez dNTP szükséges, illetve DNS polimeráz (Candrian és Lüthy, 1991).

A reakcióhoz Dream Taq mastermix-et alkalmaztunk, amely 0,625 egység mesterségesen módosított Taq DNS-polimerázt, 1-szeres reakciópuffert, 1,5 mmol MgCl₂-ot és 0,2 mmol dNTP-t tartalmazott. A gyári készítmény használata, időt takarít meg és csökkenti a szennyeződés lehetőségét. A PCR ciklusok megkezdésekor a Taq polimeráz enzim egyszeri, tíz percig tartó 95 °C-os hőkezeléssel aktiválódik, így elkerülhető, hogy a PCR megkezdése előtt DNS szintézis történjen. A ciklusok lezajlása után, a végső lánchosszabbítással fejeződik be a reakció, amely során az összes DNS másolása lezárul. Egy ciklus alatt a DNS mennyisége elméletileg megkettőződik, így a 20-40 ciklus során már jól detektálható DNS mennyiséget kaphatunk.

Mintánként 22,5 µl premix oldatot mértünk össze 200 µl-es PCR csövekbe. A premix oldat az alábbi összetevőkből állt: 13 µl Dream Taq mastermix, 3,75 µl forward primer (0,5 µg/ml, TSP23F: CATCGCTATCATTGTTGTCG) 3,75 µl reverse primer (0,5 µg/ml, TSP23R: ACTCCTTTATTTGTCGACCC) és 2 µl steril, desztillált víz. Az összemért premixeket asztali rázógéppel segítségével homogenizáltuk, majd mindegyik csőhöz 5 µl-nyi vizsgálandó minta templát DNS-ét mértük. Az elegyet ismét összeráztuk, majd 3 másodpercig centrifugáltuk 3000 g-n. A mintákat Veriti 96 PCR készülékbe helyeztük, majd az amplifikációt az alábbi hőprofil beállításával végeztük: kezdeti denaturáció 94 °C-on 3 percig, majd 45 reakcióciklusban denaturáció 94 °C-on 1 percig, 1 percig primer-kötődés 50 °C-on és 2 perc elongáció 72 °C-on, végül 10 perc elongáció 72 °C-on és hűtés 4 °C-ra.

A PCR termékek kimutatása az amplifikált DNS alapján, agaróz gélben, gélelektroforézis segítségével történt. A minták futtatásával detektáltuk a DNS jelenlétét azokban. Ehhez először egy gélt kellett önteni, melyhez 0,8 agaróz port, és 80 ml IX TAE oldatot másfél percig mikrohullámú sütőben felforraltunk. A folyékony gélt folyó vízben, fél percig hűtöttük. A még folyékony gél festéséhez 2 µl GEL RED oldatot mértünk, és a futtató kádba töltöttük azt. Fél óra alatt megszilárdult és a mintákat a gélben lévő apró vájatokba mértük, és egy óráig futtattuk azokat. Kontrollként nukleinsavat nem tartalmazó premixet és ismert szekvenciájú *S. turkestanicum* nukleinsavat alkalmaztunk, ezen kívül a nukleinsavak hosszúságát jelző DNS keveréket, mint „létrát” is futtattuk a gélben. A gélben UV megvilágítás segítségével detektáltuk a DNS csíkokat, amelyek a pozitív kontrollnak megfelelő magasságban helyezkedtek el. A megfelelő DNS-t tartalmazó mintákat a londoni Természettudományi Múzeum munkatársai szekvenálták meg. Az így kapott adatok szekvenciáit az elektroferogramjaik alapján ellenőriztünk.

A minták analizálásához az alábbi programokat használtam, BioEdit, MEGA 7,

DnaSPv5. A DNS szekvenciák hasonlóságvizsgálatához, BioEdit módszerrel illesztettük össze azokat, segítségével megtudtuk, hogy az általunk szekvenált DNS megtalálható-e már az adatbázisokban, másrészt hogy milyen szekvenciákkal áll evolúciós rokonságban.

4.2. A bélsár vizsgálata

4.2.1. A béltartalom és a hullaték gyűjtése

A vadon élő nagyvadak friss hullatékait főként az állatok által használt csapásokon vagy a mesterséges etetőhelyeiken találtuk. Legtöbb mintát Gemencen gyűjtöttük, de az ország egyéb, nagyvadakban gazdag területéről is igyekeztünk mintákhoz jutni (5. táblázat).

Lőtt vadakból származó béltartalomból is elvégeztük a peték kimutatását. A lőtt vad zsigerelésekor a végbélből gyűjtött bélsár ideális a parazitológiai vizsgálatokhoz, mivel nem kontaminálódhat a külvilágon. Ezek gyűjtését főként vadászok végezték. A hullatékot nejlon zacskókban, szorosan, hűvös helyeken vagy hűtőszekrényben, mélyhűtő ládákban tárolták az átvételig. A bezacskózott minták +4 °C alatti hőmérsékletre hűtve hónapokig, mélyhűtve pedig, akár egy évig is eltarthatók voltak. Pincehűvösségű helyen néhány hétig állagváltozás nélkül lehetett tárolni a bélsarakat. Az így őrzött minták megfelelőbbek voltak a peték kimutatásához, mert a lefagyasztott mintákból kevesebb parazitát lehetett kimutatni, mint a nem fagyasztottakból.

5. táblázat: A három év alatt megvizsgált bélsár és hullaték minták származása

Terület	A minta származási helye	Hullaték	Lőtt vadból származó bélsárminta
1. Gemenc	Gemenc	75 gímszarvas	50 gímszarvas
	Gemenc		100 vaddisznó
2. Karapancsa	Karapancsa		32 gímszarvas
3. Szekszárdi domboság	Mecsek, Ófalu		3 gímszarvas
	Mecsek, Ófalu		4 dámszarvas
	Mecsek, Ófalu		3 vaddisznó
4. Zselic	Zselic	8 dámszarvas	8 dámszarvas
	Segesd	2 gímszarvas	2 gímszarvas
5. Kis-Balaton	Zala	21 gímszarvas	
		2 vaddisznó	
6. Bakony	Lovasberény		16 dámszarvas

	Göbös, Csermajor	7 gímszarvas
		16 vaddisznó
7. Szigetköz	Istvánpuszta	8 gímszarvas
	Istenpuszta	20 gímszarvas
	Lajta-Hanság	3 gímszarvas
	Lébény	6 gímszarvas
8. Pilis	Pilisszentlászló	22 gímszarvas
9. Mátra	Parádsasvár	46 gímszarvas
	Sirok	20 gímszarvas
10. Bükk	Szarvaskő	30 gímszarvas
	Felsőtárkány	6 gímszarvas
11. Nyírség	Nyírerdő hetényháza	1 dámszarvas
	Nyírmihálydi	2 gímszarvas
12. Gödöllői-domság	Galgamácsai Cservölgy	1 gímszarvas

Vadászati időszakban a hullatékok gyűjtése a vadetetőik körül történt, azon kívül pedig a vadcsapásokon, a dagonyák körül, és ott, ahol azok keresztezik az utakat, taghatárokat, vagyis az úgynevezett váltóknál. Az utóbbi esetben könnyű volt biztosítani, hogy az egy állatból származó hulladék egy mintagyűjtőbe kerüljön. A szórókon, etetők körül felhalmozódott ürülék esetében azonban gondosan kellett eljárni az egyes egyedek által ürített bélsár megmintázásakor, hogy azok ne keveredjenek. Az összekevert bélsárminták eredménye téves következtetésekre ad alkalmat, ezért főként csak egyedi mintákat vizsgáltunk. Gykezeltünk a friss hullatékot begyűjteni, de a vizsgálatok során kiderült, hogy még a fagyott vagy száraz hulladék is alkalmas a vizsgálatra. Szerencsére az endemikus fertőzöttségű területen a gímszarvason kívül más szarvasfaj nem él, ezért a hullatékok eredete, ha máshogy nem is, a bennük lévő egyéb paraziták alapján, kellő biztonsággal megoldható volt.

A földön heverő hullatékot a kezünkre húzott nejlonzacskón keresztül fogtuk meg, és a zacskót kifordítva húztuk le a kézről úgy, hogy a minta azonnal a zacskó aljára került. A zacskó anyagának merevségétől függően a száját csomóra kötöttük, vagy egyszerűen csak összegöngyöltük azt, és egy nagyobb szatyorba helyeztük. A minta gyűjtésének helyszínén alkoholos filctollal egyszerű jeleket tettünk a zacskó külső felszínére, így később könnyűszerrel tudtuk azonosítani a gyűjtés helyszínét.

Mivel előre nem lehetett tudni, hogy a *S. turkestanicum* peték ürülésének van-e szezonálisága, az év minden hónapjában, a vérmétellyel fertőzött szarvaspopuláció élőhelyén bélsár-hullatékot gyűjtöttünk.

4.2.2. Petekimutatás a béltartalomból és a hullatékából

A peték kimutatását a bélsárból a szokványos parazitológiai koprodiagnosztikában alkalmazott többféle módszer kombinálásával kíséreltük meg.

Mivel a fertilis vérmétely peték, a gazdából történő kiürülésük alkalmával már különböző fejlettségű állapotban lévő csillós lárvát tartalmaznak, fizikai és élettani sajátosságaik nem egyformák. Jelenlétük megállapítása céljából elvileg mindegy, hogy melyik állapotukat mutatjuk ki, de a detektálásukra alkalmazott módszerek nagyon különbözőek lehetnek. Egyes peték olykor súlyosabbak a bélsár egyéb alkotórészeinél, mint általában a mételyek esetében, mások pedig jóval könnyebbek, mert a fejlődő embrió metabolizálja a szik anyagát, ezáltal a fajsúlya csökken. A teljes érettséget elérő lárvá pedig órákon, de néha percekben belül kikel a peteburokból, ha langyos vízbe kerül, és csak az üres peteburok marad hátra a szilárd bélsárban. Emellett a gyűjtött bélsármintában előfordultak infertilis, csak petesejtet és sziket tartalmazó peték is, amelyek állapota a szervezetben megtett út hosszától függ. A peték és a bennük lévő lárvák állapota természetesen függ attól is, hogy a hulladék mennyi ideig hevert a külvilágon, és milyenek voltak az idő alatt az időjárási viszonyok. Ezért előre nem tudhattuk, hogy a fenti állapotú peték milyen arányban és mennyiségben fordulnak elő az egyes mintákban, és melyik kimutatása a legcélravezetőbb. (A humán vérmételyek diagnosztikájában ilyen probléma nem merül fel, mert a vizsgálat mindig friss székletből vagy vizeletből történik és megismételhető.)

A májak vizsgálata során kidolgozott módszerhez hasonló eljárást alkalmaztuk a hullatékok vizsgálatkor is. Mivel a májban több pete tokolódhat el és kevesebb zavaró törmelék is tartalmaz, nagyobb eséllyel találhattunk meg ebben a szervben az ivari produktumot, mint a bélsárban. Ez az oka annak, hogy először a májakon dolgoztuk ki a vizsgálati módszert, majd azt alkalmaztuk a hullatékon.

A bélsár vízben való szuszpendálása és szűrése után a peték fukszinios festése következett ebben az esetben is. Azonban a hulladék, szemben a máj mintával, rengeteg növényi törmelékot tartalmaz, mely a szűrőn átjut és a mérete a keresett vérmétely-petével megegyezik, vagyis megnehezíti a vizsgálatot. Ezért a növényi törmelék kontrasztfestésére metilén-kéket alkalmaztunk. Ez úgy történt, hogy a 62 µm lyukátmérőjű szitán keresztülment bélsártörmelékot egy 38 µm lyukátmérőjű szitára is ráöntöttük és azon fennmaradt törmelékot egy pohárba mostuk. Néhány perces ülepítés után leöntöttük a vizet róla, és annyi mennyiségű savanyított 5%-os savanyú fukszin oldatot adagoltunk hozzá, hogy a szemcsék pirosra festődjenek. A festődési idő legalább 3, s legfeljebb 12 óra volt. Ezután a szuszpenziót ismételtén a 38 µm-es lyukátmérőjű szitára öntöttük, csapvízzel kimostuk belőle a festékoldatot, visszamosztuk egy

pohárba, és 1-2 ml, 1%-os metilénkék oldatot kevertünk hozzá. A metilénkék pillanatok alatt megfestette a növényi maradványokat, ezért a meg nem kötődött festékoldatot azonnal el lehetett távolítani a rostos üledékről. Ez vagy úgy történt, hogy ismét a 38 µm-es szitára öntöttük a szuszpenziót és csapvízzel átmostuk, vagy pedig úgy, hogy centrifugacsövekbe töltöttük azt, és 1 perces centrifugálás után leöntöttük róla a kék felülúszót. Frakcionált felszindúsítást hajtottunk végre emelkedő fajsúlyú oldatokkal (1200 g/l, 1300 g/l, 1350 g/l, 14000 g/l), hogy egy-egy frakcióban minél kevesebb legyen a vizsgálatot zavaró képlet. Minden egyes oldat használata után megvizsgáltuk a felülúszó felszínét és csak azután cseréltük a nála nagyobb sűrűségű oldatra. Általában, az 1350 g/l-es oldat felszínén úszott a legtöbb vérmétely pete. A felszínen úszó képleteket érdesre csiszolt végű üvegbot hozzáérintésével emeltük le, és a cseppet fedőlemez nélkül vizsgáltuk az átesőfényes mikroszkópban.

Az emberi *Schistosoma* fertőzések diagnosztizálásának egyik hatékony módszere az az eljárás, amikor a friss székletet vízbe helyezik és abból néhány óra alatt kirajzanak a petéből kikelő miracidiumok. A vízben élénken mozgó miracidiumok jobban észrevehetőek, mint a mozdulatlan peték, ezért ezt az eljárást érzékenyebbnek tartják a pete kimutatási módszernél. Ilyen megfontolás alapján mi is megpróbálkoztunk a miracidiumok keltetésével. Frissen gyűjtött, szarvas bélsár mintákból vizes szuszpenziót készítettünk. A sűrű, barnás folyadékot csapvízzel, többszöri dekantálással átmostuk. Ezután a petéket tartalmazó mintát nagyobb alapterületű Petri-csészékben szétszélesztettük, és annyi vízzel öntöttük fel, hogy az éppen ellepje. Az elpárolgó vizet időnként pótoltuk, hogy ne száradjon ki a vizsgálati anyag. Szobahőmérsékleten (20-22 °C) végeztük a peték keltetését. Napfényrel megvilágított helyre helyeztük a mintát, amely elősegíti a kelést, és sztereo-mikroszkóp alatt rendszeresen ellenőriztük a bélsár felett úszó vizet.

4.3. A köztigazda csigák vizsgálata

4.3.1. Az élőhelyen talált csigafajok vizsgálata

Az év minden szakában lehet üres csigahéjakat gyűjteni az egyes élőhelyekről, amelyek arra használhatók fel, hogy megállapítsuk az egyes fajok előfordulását az adott helyen. Az iszap felszínéről vagy a vízi uszadékról kézzel vagy merülő szűrővel összegyűjtött héjakat Majoros (Majoros, 1988) módszere szerint szeparáltuk. Ennek lényege, hogy a gyűjtött anyagot egy sűrű szövésű szitára helyezzük és csapvízzel átmoszuk, hogy megszabaduljunk a homokos és iszapos frakciótól. A szitán lévő anyagot egy főzőedényben, bő vízben felforraljuk és lehűtjük. A csigahéjak az edény aljára süllyednek, de a náluk könnyebb növényi törmelék a vízben lebeg, amit dekantálással eltávolítjuk. A forralással

megtisztított majd megszáritott és szétválogatott csigahéjakat a héj alakja és a felületi struktúrája alapján, boncolással azonosított példányokkal történő összehasonlítással határoztuk meg.

4.3.2. Az élő *Radix* példányok vizsgálata

Élő *Radix* csigákat természetes és mesterséges élőhelyeken tudunk gyűjteni. Ezeket boncolással azonosítottuk, és egyúttal megvizsgáltuk mételylárva fertőzöttségüket is (6. táblázat).

6. táblázat: A gyűjtött, élő *Radix* csigák természetes és mesterséges élőhelyei

Élőhely	Talált fajok
Pörböly, Móric-Duna	<i>Radix auricularia</i> <i>Radix labiata</i> <i>Galba truncatula</i> <i>Stagnicola palustris</i> <i>Lymnaea stagnalis</i>
Gemenc, Gyepes-lapok	<i>Radix auricularia</i> <i>Radix labiata</i> <i>Lymnaea stagnalis</i>
Gemenc, Káposztás-tó	<i>Radix auricularia</i> <i>Radix labiata</i> <i>Lymnaea stagnalis</i>
Gemenc, Tetves-tó	<i>Radix auricularia</i> <i>Lymnaea stagnalis</i>
Báta, Batai-Holt-Duna	<i>Radix auricularia</i> <i>Radix labiata</i> <i>Stagnicola palustris</i> <i>Lymnaea stagnalis</i>
Kesztölc, horgásztó	<i>Radix auricularia</i> <i>Lymnaea stagnalis</i>
Eger, Érsek-kert dísztó	<i>Radix auricularia</i>

A fent felsorolt helyeken kívül számos helyen gyűjtöttünk vízcsigákat, de közöttük nem találtunk élő *R. auricularia* csigát.

Az élő csigákat egyenként Petri-csészébe helyeztük, és állott, oxigéndús desztillált vizet öntöttünk rájuk, mert az esővizet imitáló desztillált víz segíti a cercáriák kirajzását. Napfényrel megvilágítva ablak mellé helyeztük az edényeket és legalább egy napig hagytuk

ott azokat úgy, hogy a megfigyelési időszakba egy reggel mindenképpen beleessen, mert a vérmétely cercáriák kirajzása általában ekkor várható. A vízbe kirajzott cercáriákat pipettával gyűjtöttük össze és mikroszkóppal vizsgáltuk.

A megfigyelési időszak után a csigákat forrásban lévő vízbe helyezve pillanatszerűen elöltük, majd felboncoltuk és megvizsgáltuk a köpeny mintázatát, és az ivarszervek felépítését. Ezzel ellenőriztük a külső jegyek alapján meghatározott példányok fajtát és meggyőződünk róla, hogy a testük tartalmazott-e ki nem rajzott cercáriákat.

4.3.2.1. A *R. auricularia* csigák akváriumi nevelése

Az élő *R. auricularia* példányok közül minden lelőhelyről néhány egyedet akváriumba helyeztünk továbbnevelés és petéztetés céljából. A csigák mennyiségétől és méretétől függően 1-15 l-es akváriumokat használtunk levegőztető készülékkel vagy anélkül és napi 12 órás megvilágítást alkalmaztunk napfényhez hasonló fényt adó Tungsram F29 Warmwhite fluorescent neoncsövekkel. Állott, klórmentes csapvizet használtunk az akváriumok feltöltésére, és a csigákat nyers vagy szárított salátalevével etettük. A hónapokig tartó használat alatt az akváriumok falát egysejtű zöldságák nőttek be. Ezt a biofilm réteget nem távolítottuk el, mert a növendék, de különösen a petékből kikelő kiscsigák előszeretettel fogyasztották. A növényi táplálékon felül eleinte néhány grammnyi CaCO_3 port szórtunk mészpótlásként az akváriumok vizébe, de ezt később elhagytuk, mert az általunk használt csapvíz nagy keménysége miatt mészkiválás képződött az akváriumok falán, ami elégséges mészforrásnak bizonyult a csigák számára.

4.3.2.2. A *R. auricularia* magyarországi elterjedésének vizsgálata

A korábbi években nem készült elterjedési térkép a magyarországi *R. auricularia* populációról, mert nem tudták a fajt jól elkülöníteni a hozzá nagyon hasonló *Radix labiata* (*peregra*) és *Radix balthica* (*ovata*) fajoktól (Pintér és Szigethy, 1979). Múzeumi és magángyűjtemények adatait gyűjtöttük össze ahhoz, hogy elkészítsem a *R. auricularia* elterjedési térképét. A katalogizált példányok egy részét magam revideáltam, más részüket a gyűjtők határozták meg. Csak azokat a példányokat és lelőhelyi adatokat használtuk fel a munkánk során, amelyeket, legalább két szakember (gyűjtő és kurátor) egyformán *R. auricularia* tételnek fogadott el és katalogizált, vagy azonos élőhelyen több gyűjtő is megtalálta ezt a fajt, és azonos módon nevezte meg. Erre a körültekintő

módszerre azért volt szükség, mert a gyűjtemények csak a héjakat őrizték meg és a lágy szervek vizsgálata nem volt lehetséges.

A lelőhelyi adatokat a GPS koordinátájuk szerint azonosítottunk és térképre vittem (25. ábra).

Az alábbi gyűjtemények kurátoraitól kaptam adatokat, illetve több esetben hozzáférést a gyűjteményhez:

Magyar Természettudományi Múzeum Állattára, Budapest (Erőss Zoltán Péter)

Magyar Földtani és Geofizikai Intézet recens gyűjteménye, Budapest (Szappanos Bálint)

Munkácsy Mihály Múzeum, Békéscsaba (Deli Tamás)

Mátra Múzeum, Gyöngyös (Varga András)

Majoros Gábor magángyűjteménye.

4.3.2.3. A *R. auricularia* genetikai variabilitásának vizsgálata

A palearktikus elterjedésű *R. auricularia* rokonsági viszonyainak elemzéséhez molekuláris biológiai vizsgálatot végeztem. Alkoholban konzervált példányokat kaptam, illetve saját magam által gyűjtött példányokat használtam fel a csigák mitokondriális citokróm oxidáz enzimét kódoló DNS-ének vizsgálatához.

A vizsgált csigapéldányok az alábbi helyekről származtak: Magyarország: Eger; Gemenc, Szarvas, Szentendre; Oroszország: Konobejevo, Novomihailovka, Bajkál-tó; Mongólia: Baidrag-gol folyó; Örményország: Tsavagyukh; Kazahsztán: Akmola.

A szintén, Angliában zajló molekuláris vizsgálat első lépéseként a mintát először tárgylemezre helyeztük, és a talpi vagy feji részből egy kb. 0,3 x 0,3 cm-es részt szikepengével levágtunk. Ezt követően a minták alkohol tartalmát a desztillált vízzel való mosás által csökkentettük. Az emésztéshez a vizsgálati anyagokat egy egész napra, 56 °C-os inkubátorba helyeztük, mivel a csigák szövetei nehezen emészthetők. Másnap kivettük az inkubátorba helyezett, már megemésztett anyagot és 200 µl AL puffert és 200 µl, 96-100%-os etanol adtuk hozzá, majd 10 másodpercig asztali keverőgépen alaposan összekevertük.

Az emésztett anyagból a DNS kötő filterrel vontuk ki a nukleinsavat. A szűrőre adszorbeált DNS +4 °C-on tárolható volt. A PCR-t 21 *R. auricularia* egyed mintáján végeztük el.

Mintánként 22 µl premix oldatot mértünk össze 200 µl-es PCR csövekbe. A premix oldat az alábbi összetevőkből állt, 13 µl Dream Taq mastermix, 3,5 µl forward primer (0,5 µg/ml, (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG, COX, LCO1490), 3,5 µl reverse primer (0,5 µg/ml, 5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3', HCO2198) és 2 µl desztillált víz. Az összemért

premixeket asztali rázógéppel segítségével homogenizáltuk, majd hozzáadtunk mindegyikhez 3 µl-templát DNS-t. Így 25 µl lett a végtérfogatú reakcióelegyben. Az elegyet ismét összeráztuk, majd 3 másodpercig centrifugáltuk 3000 g-n. A mintákat Veriti 96 PCR készülékbe helyeztük, majd az amplifikációt az alábbi PCR hőprofil beállításával végeztük: kezdeti denaturáció 94 °C-on 3 percig, majd 45 reakcióciklusban denaturáció 94 °C-on 1 percig, 1 percig primer-kötődés 52 °C-on és 2 perc elongáció 72 °C-on, végül 10 perc elongáció 72 °C-on és hűtés 4 °C-ra.

A PCR termékek kimutatása agaróz gélben, gélelektroforézis segítségével történt. A DNS jelenlétét UV fényben vizsgáltuk. A DNS-t tartalmazó mintákat a londoni Természettudományi Múzeum munkatársai szekvenálták meg. Az így kapott szekvenciákat az elektroferogramjaik alapján ellenőriztünk, majd összehasonlíthattuk a fajról, a GenBankban elhelyezett, 14 országból származó adatokkal.

A minták analizálásához az alábbi programokat használtam, BioEdit, MEGA 7, DnaSPv5. A filogenetikai vizsgálatok célja az volt, hogy a GenBank-ból az egyes *R. auricularia* haplotípusaihoz legközelebbi haplotípusokat összegyűjtsük és azok lehetséges leszármazási kapcsolatait ábrázoljuk egy törzsfán.

A fa felépítése az egyes haplotípusok citokróm-oxidáz (cox) régióiban található variációk alapján történt.

Adatbázist hoztunk létre, amely a GenBank adatbázisában fellelhető összes cox régióra vizsgált *R. auricularia* adatát tartalmazta (mintaszám=166), amit kiegészítettünk további publikálatlan magyar mintákkal (mintaszám=8). Az adatbázisból és a publikációkból egyenként kikeresztük a vizsgált mintánkkal megegyező, és ahhoz legközelebbi szekvenciák földrajzi származási helyét is. Ez az adatbázis tehát az egész világról eddig ismert összes *R. auricularia* mtDNS genomot tartalmazta.

A DNS szekvenciák hasonlóságvizsgálatához, BioEdit módszerrel illesztettük össze azokat, segítségével megtudtuk, hogy az általunk szekvenált DNS megtalálható-e már az adatbázisokban, másrészt hogy milyen szekvenciákkal áll evolúciós rokonságban.

Ezután kiválasztottuk az összehasonlítható mintával megegyező, ahhoz közeli és eltérő haplotípusú mintákat, majd az így kapott alcsoportokkal dolgoztunk tovább. MEGA v. 7.0.14 (Kumar et al., 2016) programmal konvertáltuk át ún. NEXUS fájlformátumra, amely az illesztett szekvenciákból kigyűjti, és rendezi az eltéréseket. A NEXUS fájlformátumból a PopART programmal (Leigh és Bryant, 2015) készítettünk Network-öt (Bandelt et al., 1999), amely egy filogenetikai leszármazási fa, szemléletesen ábrázolja a hasonló szekvenciák egymástól való filogenetikai távolságát és legvalószínűbb leszármazási viszonyait.

4.4. A cercáriák vizsgálata

A gyakorlatban nagy jelentősége lenne egy olyan eljárásnak, amellyel a vízben úszó cercáriákat is meg lehetne találni a terepen. A vízi növényzet közé rejtőző csigákat ugyanis egyenként kell megtalálni és megvizsgálni ahhoz, hogy egy adott élőhely vérmételey kontamináltságát meg lehessen állapítani. A vízben lebegő cercáriák kimutatása hozzásegítene ahhoz, hogy a fáradságos csigagyűjtés nélkül is meg lehetne állapítani nagyobb területek fertőzött vagy mentes voltát.

Nyáron a cercáriák vízben való megjelenése véletlenszerű, mivel a csigákból rendszertelen időközben rajzanak ki. Általában a vízben elhelyezett csapdákkal igyekeznek megtalálni ezeket az úszó, lárvális alakokat (Shiff et al., 1993). Az eddig alkalmazott eszközök nagyon rövid hatótávolságúak voltak, és csak tiszta vízben bizonyultak hatékonyak.

A cercáriák csapdázása azon az elven működött, hogy a lárvák vízben az illó zsírsav molekulákat kibocsájtó tárgyak felé úsznak, mert ezek az anyagok oldódnak ki az emlősök bőréből is. Ezért először mi magunk is illó zsírsavakat diszpergáló csapdákkal próbálkoztunk cercáriákat kimutatni a vízből, majd a mechanikus csapdával is megkíséreltük ugyanezt.

A vízben lebegő cercáriák kimutatása céljából olyan gemenci víztesteket választottunk, amelyekben *R. auricularia*-k éltek. Természetesen ez nem jelentette automatikusan azt, hogy a vizsgálatunk alkalmával bizonyosan jelen voltak ott a lebegő cercáriák, hiszen még ha tudtuk is azt, hogy az adott helyen hazánkban éltek fertőzött csigák, a cercáriák megjelenése rapszodikus, sok tényezőtől függő esemény. A különböző eljárásokat azonban mindenképpen terepen kellett kipróbálni, mert csak terepi viszonyok között lehetett megbecsülni egy-egy módszer alkalmazhatóságát.

4.4.1. A cercáriák csapdázása attraktáns anyagokkal

4.4.1.1. Csapdázás vontatott csapdával

Egy szabványos A4-es méretű fénymásoló fóliát, nyers étkezési lenolajjal lekentünk és egy vízben úszó műanyaglátkból készített keretbe helyeztük el. A fólia felső felületét az autók hátsó szélvédőjének fűtésére használt, üvegre ragasztható fűtőszállal melegítettük. A 12 Voltos akkumulátorral folyamatosan feszültség alatt tartott melegítőlap enyhén melegítette a fóliát, mialatt az illó zsírsavakkal borított alsó felszínével lefelé úszott a vízben. A szerkezetet kézzel vagy távirányítású modellhajóval lassan vontattuk. Egy-két óráig tartó vontatás után a

fóliát kiemeltük az úszó keretből és a lenolajos felszínét alkohollal pohárba mostuk. A pohárban leülepedett szilárd képleteket mikroszkópban vizsgáltuk. A vontatott szerkezetet a gemenci Gyepes-lapok egyik tavában próbáltuk ki.

4.4.1.2. Csapdázás vízben álló csapdával

Állóvízben a Gyepes-lapok egyik tavában, sűrű vízi növényzet között a vízre terített 0,5 m²-es, átlátszó, színtelen nejlonlapokat helyeztünk el, amelyeknek alsó felszínét vékonyan linol- és linolénsav tartalmú, sajtolt lenolajjal kentünk be. A műanyag lapokat a napsütés a környezetüknél kissé melegebbre melegítette fel, de fűtőszálat nem alkalmaztunk. A nejlonlapok 2 óráig álltak a vízben úszó békatutaj (*Hydrocharis morsus-ranae*) lebegő hínár által rögzítve a sekély tóban, ahol a *R. auricularia* csigák is éltek. A lapokat ezután leemeltük a vízről és a felületüket vödörbe mostuk. Az üledéket mikroszkópban vizsgáltuk.

4.4.1.3. Csapdázás vízben sodródó csapdákkal

Enyhén áramló vízben (a Bártai-Holt-Duna zsilipje mellett) 5 cm magas, téglatest alakú műanyaghabokat (Hungarocell) úsztattunk, amelyek pontosan akkora méretűek voltak, hogy az alsó felületüket egy szabványos méretű mikroszkópos tárgylemez lefedte. A tárgylemezeket vékony gumiszalaggal rögzítettük a műanyaghab darabokra, és alsó felületüket hidegen sajtolt lenolajjal vékonyan bekentük. A vízben úszó csapdákat a parti növényzet közé szórtuk, ahol ezeket a növényi szárok megakasztották, így a vízből kiálló objektumoknak ütközve, ide-oda sodródtak, de nagyjából egy helyen maradtak. A csapdákat egy éjszakán át hagytuk a vízben. A vízben úszó, tárgylemezt hordozó csapdákat vagy kézzel, vagy egy horgászbot rövid zsinórjának végére applikált erős mágnes segítségével szedtük össze, amelyik odatapadt a műanyagdarabok felületére ragasztott kis vaslemezhez. A műanyagdarabok aljáról leemelt tárgylemezeket megtisztítottuk, a felületüket alkohollal fixáltuk, híg metilénkék oldattal megfestettük és mikroszkóp alatt vizsgáltuk.

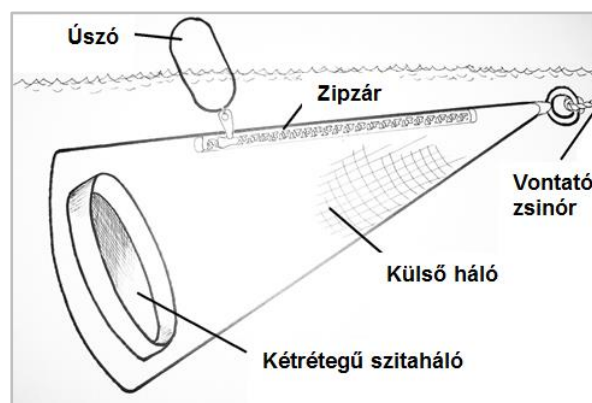
4.4.2. A cercáriák gyűjtése szűréssel

4.4.2.1. A víz szűrése kézi sziták segítségével

A fertőzött csigák egyik élőhelyén (a Gyepes lapok egyik tavában) a tóból kiemelt kb. 100 liter vizet két szűrőszitán engedték át. Először átcsorgattuk azt egy 1 mm lyukátmérőjű hálóval ellátott szitán, majd egy 38 μm lyukátmérőjű szitán. A második szitán fennmaradt szüredéket jól záródó tetejű edényekbe mostuk át, néhány csepp neutrál-vörös indikátorral összekevertük és ülepedés után az üledéket mikroszkóppal vizsgáltuk. A színezék az élő állati organizmusokat pirosra festette, amelyek így jobban észrevehetőek voltak a szüredék törmeléke között. Az alkalmazott sziták szembőségét a laboratóriumban kirajzolt cercáriákkal teszteltük le.

4.4.2.2. A víz szűrése vontatott szűrőeszköz segítségével

Zsinór végére kötött, kúp alakú hálót készítettünk 1 mm lyukbőségű, merev műanyagból. A kúp alakú eszköz alapja ugyancsak a fenti hálóból készült, és a kúp egyik alkotója mentén egy zipzárral nyitható és zárható nyílás helyezkedett el. A nyíláson keresztül a kúp alapjának megfelelő körátmérőjű belső szita volt behelyezhető, amit két, egymásra szoruló műanyag gyűrű, és a közepük csúsztatott két sűrűszövésű szitaháló alkotott. A műanyaggyűrűk a kúp csúcsa felé eső, nagyobb kb. 0,5 mm lyukméretű hálót és a közvetlenül mögötte lévő kis (kb 40 μm) lyukméretű, a kúp alapja felé eső hálót tartották kifeszítve. Az eszközt a ráerősített, levegővel telt úszógömb tartotta a felszínen, miközben az egész hálókúp a vízbe mélyedett. Az eszköz sematikus rajza a 6. ábrán látható.



6. ábra: A cercáriák vízből való kiszűrésére használt szűrőeszköz sematikus rajza

Az úszó szűrőeszközt kézzel, hosszú horgászbot végére szerelve, illetve távirányítású modellhajóval is vontattuk állóvízben és enyhén áramló vízben is. Fél-egyórányi vontatási idő után a kúp alakú hálóból kiemeltük a szitakeretet, eltávolítottuk a ritkább szitaszövetet a sűrű szövésű felületről, és a sűrű szövésű szita felületén fennakadt képleteket belemostuk egy jól záródó tetejű edénybe. Az edény tartalmát halvány rózsaszínűre festettük néhány csepp neutrál-vörös oldattal, majd állni hagytuk. Az üledéket kúp alakú üvegpoharakba töltve vízzel felöntöttük és folyamatos ülepedése közben pipettával mintát vettünk az üveg aljáról, amit tárgylemezre cseppentve mikroszkóppal vizsgáltunk.

4.4.3. A cercáriák fertőzőképességének vizsgálata

A *S. turkestanicum* adekvát gazdáinak fertőzésére nem volt módunk, ezért, hogy megbizonyosodjunk azok bőrbe és májba történő behatoló képességükről, laboratóriumi fehéregereket fertőztünk meg a csigákból kirajzó lárvákkal. A fertőzési kísérlethez 2014 és 2017 nyarán gyűjtött, természetes úton fertőződött *R. auricularia* csigákat használtunk fel.

Desztillált vízben tartottuk életben a köztigazdákat, és az ablakon át jövő természetes napfényel világítottuk meg azokat, hogy ne befolyásoljuk azt a fényperiódust, amelyet az élőhelyen megszoktak. A cercáriák emissziója a reggeli órákban volt a legintenzívebb, de nappal bármikor lehetett cercáriát nyerni a csigákból, ha azokat klórmentes vizet tartalmazó edénybe helyeztük át. Egy-egy csiga tartóedényébe kibocsátott cercáriák száma naponta az ezres nagyságrendet is elérte. Intenzív mozgásuk miatt a tényleges mennyiségüket csak előlésük után lehetett volna megbecsülni, de a cercáriákat fertőzési kísérletre használtuk fel.

Az első kísérlet alkalmával frissen kirajzott cercáriákat tartalmazó vizet 1 centiméter magasságú rétegben egy lapos műanyag edénybe öntöttük és abba egy kifejlett BALB/c egeret helyeztünk, háromnegyed órán keresztül. A víz az állat alsó testfelületével érintkezett. Ezután, az egyébként semmilyen rendellenes tünetet nem mutató állatot éteres kloroformmal túlaltattuk, és az egész állatot 5%-os pufferelt formalinba helyeztük. Egynapos fixálási idő után az állat hasának bőrét lenyúztuk, végtagjait lemetszettük, és pufferelt formalinban tovább fixáltuk. A teljesen fixált szervekből hematoxilin-eozinnal festett szövettani metszeteket készítettünk.

Az egerek bélsarában a bélsárvizsgálatok módszerénél ismertetett frakcionált felszindúsítási eljárással igyekeztünk megtalálni a petéket.

Az egyik fertőzött állatot, a fertőzést követő 4 hónap múlva éteres túlaltatással extermináltuk, és belső szerveit, elsősorban a májat vizsgáltuk meg a mételyek jelenléte szempontjából. A szervekben a férgeket és azok petéit is igyekeztünk kimutatni, a szarvasmájak

vizsgálatánál leírt módszer szerint.

A második esetben két egyedet ugyanazzal az eljárással fertőztük meg, de életben hagytuk azokat. Az egyik egeret per os is fertőztük, a második napon. A fertőzést követő 21. napon vizsgáltuk meg először a bélsarat, majd hetente megismételtük a vizsgálatot.

A vizsgálatok során voltaképp elkerülhetetlen, de az artéri strandokon való fürdőzés közben is bizonyosan bekövetkezik az ember kontaminációja a *S. turkestanicum* cercáriáival. Azt emberi szervezet szerológiai áthangolódásával kapcsolatban annak vizsgálatát is elvégeztük, hogy mennyire specifikusak a mótely ellen termelt ellenanyagok.

A kirajzott cercáriák zömét kísérletes emberi bőrgyulladás előidézésére is felhasználtuk, mert az adott technikai feltételek között ez volt az egyetlen lehetősége annak, hogy bizonyítsuk azok humán szervezetbe való behatolási képességét. A cercáriákat tartalmazó vizet alkarnyi hosszúságú műanyag kádba öntöttük, majd egyikünk (M. G.), aki már korábban cercária fertőzést szenvedett, 120 másodpercig tartotta benne alkarjának alsó felületét.

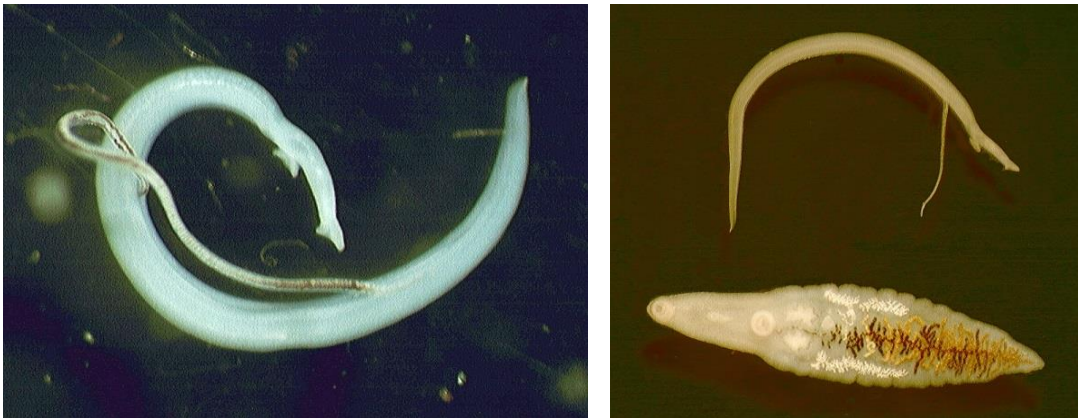
A NÉBIH Állategészségügyi Diagnosztikai Igazgatóságának Immunológiai Laboratóriumával együttműködve szolubilis antigéneket állítottunk elő az általunk gyűjtött csigákból kirajzott vérmótely-lárvákból, és agargél-precipitációs próbával megvizsgáltuk, hogy azok ellen termelődött-e az emberben valamilyen ellenanyag, s az ad-e bármilyen keresztreakciót a kifejlett *S. turkestanicum* antigénjeivel. Ez volt az alapfeltétele annak, hogy emberek – illetve esetleg állati vérminták – szerológiai szűrővizsgálatára a jövőben gondolni lehessen.

A természetes és kísérletes cercária dermatitist szenvedett személy szerológiai vizsgálatára, pontosan az utóbbi fertőzést követő egy év múlva került sor. A fertőzés után két héttel és az egy év múlva levett vérminták NovaLisa *Schistosoma mansoni* IgG ELISA kittel (Nova Tec Immundiagnostica GmbH, Németország) (*S. mansoni* antigén) és egy Schistosoma Western blot IgG (Ldbio Diagnostics, Franciaország) kittel vizsgálták.

5. EREDMÉNYEK

5.1. A *S. turkestanicum* a májban

A kutatás során 176 májból 50-ben (2014-ben 57-ből 6-ban, 2015-ben 59-ből 28-ben, 2016-ban 60-ből 16-ban) igazoltuk a vérmételyek jelenlétét, a Gemencről érkezett szervekben. A mételyek morfológiai vizsgálata egységesen a *S. turkestanicum* jelenlétét igazolta. A lándzsás mételyeknél kisebb férgek jól felismerhetők a májszövet mosadékában, és a tipikus féregpárok jellegzetesek erre a féregcsoportra (7. és 8. ábra), még ha ritkán figyelhetők is meg.



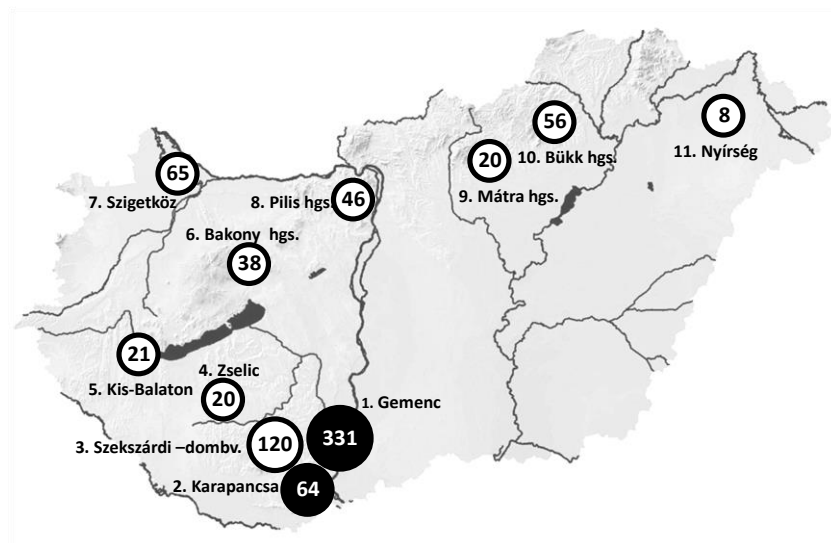
7. és 8. ábra: Az együtt élő *S. turkestanicum* féregpárok ritkán figyelhetők meg a lőtt szarvasok májában, feltehetőleg a gazda és a parazita agóniája következtében. A nagyobb nagyítású képen a nőstény vérrel telt, kettős ágú bélcsatornája látszik. E vérmételyek még a teljesen kifejlett állapotukban is csak ritkán haladják meg a *Dicrocoelium* mételyek testhosszát.

A Gemencről származó májak megtekintéses vizsgálata során nem tapasztaltuk, hogy a vérmételyek bármilyen szemmel látható, kóros elváltozást okoztak volna a májakon. A legtöbb vérmételyt, 97 egyedet tartalmazó máj, melyben *Fascioloides* májmételyek nem voltak, szintén épnek bizonyult. Ugyanakkor gyakran észleltünk kettős fertőzöttséget, azaz a *S. turkestanicum* és *F. magna* egyszerre volt jelen a gemenci mintákban. Ez utóbbi faj példányait nem mindig találtuk meg, de a májmételyre visszavezethető elváltozást (petetartalmú vagy elhalt anyaggal telt kavernák, cirrhosis, pigmentlerakódások) szinte minden májban találtunk. Ezért a legtöbb májminta esetében, a nagy amerikai májmételyek intenzív kártétele miatt, a vérmételyek esetleges kártételét nem lehetett felismerni. Vegyes fertőzöttség esetén előfordult, hogy a vérmételyek száma egy fél-háromnegyed kilós májmintában több száz volt, de az ilyen májakban látható elváltozások nem különböztek azoktól, amelyeket a pusztán *Fascioloides* mételyek okozta fertőzöttség esetén lehetett tapasztalni. Lándzsásmételyek okozta epeér megvastagodást 3 esetben, 2 esetben *cysticercus tenuicollis* hólyaglárvét is észleltünk.

Noha a *S. turkestanicum* elsődleges élőhelye a belek vénái (Majoros et al., 2010), és a májban csak kis hányaduk van, olykor így is jelentős számban találtuk meg azokat a mintákban. A változó súlyú és állapotú májmintákban nem volt értelme pontosan megszámolni a kinyert mételyeket, de az megállapítható volt, hogy a *S. turkestanicum* tartalmú májak darabjaiban néha csak 2-3, máskor 40-50, és ritkán több száz vérmétely volt. A mételyek szinte kizárólagosan ivarérett példányok voltak, testhosszúságuk nagyjából 0,5-1,0 cm hosszúságú volt. Ennél kisebb, fiatal példányokat, amelyek egészen friss fertőződésre utalnak, csak 1 lőtt szarvas májában találtunk. A karcsú egyedek nőstényeknek tűntek, de alaposabb vizsgálattal kiderült, hogy juvenilis hímek, mivel a canalis gynaecophorus kezdeménye megfigyelhető volt rajtuk. Szarvasborjakból származó májdarabokban is találtunk kifejlett példányokat, tehát a vérmétely egy éven belül eléri az ivarérettségét a szarvasban.

Elvileg a vérmételyek hím és nőstény egyedei állandó kopulációban vannak egymással, ennek ellenére, mégis döntő többségben magányos egyedeket találtunk. Főként a vastagabb hímeket detektáltuk, nőstényeket jóval kisebb arányban.

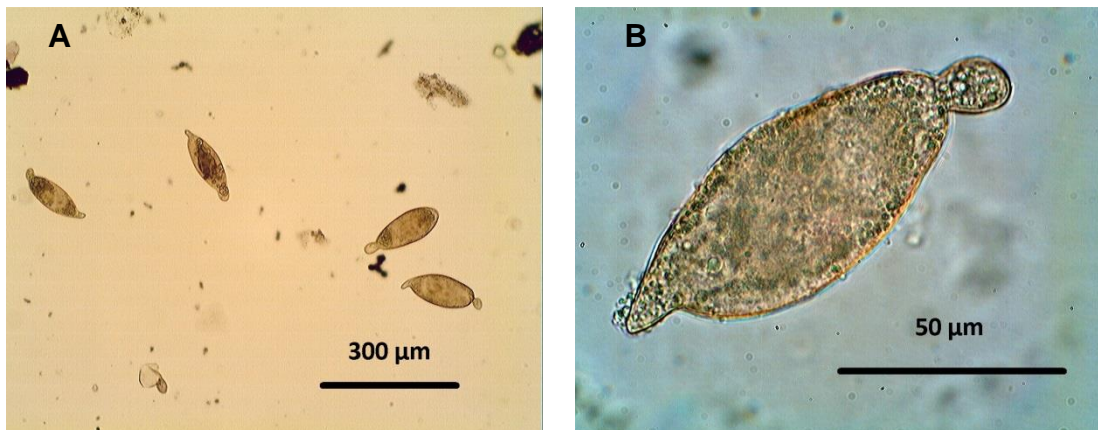
A gemenci és a hozzá kapcsolódó karapancsai erdőkből származó májmintákból tudtuk csak kimutatni a *S. turkestanicum* fertőzöttséget, a többi helyről származó mintákból nem. A *S. turkestanicum* fertőzöttség eddig felderített eloszlását a 9. ábra térképén szemléltetem.



9. ábra: A *S. turkestanicum* jelenlétére megvizsgált területek. A térképen azokat a magyarországi vadászati területeket jelöltem ahonnan a megvizsgált belső szervek és bélsárminták származtak. ● = schistosomával fertőzött terület, ○ = megvizsgált terület, de a *S. turkestanicum* jelenlétét nem mutattuk ki. A körökben szereplő számok megegyeznek (szervek+bélsár) az adott területről dämvdából és gimsszarvasból kapott összes minta számával.

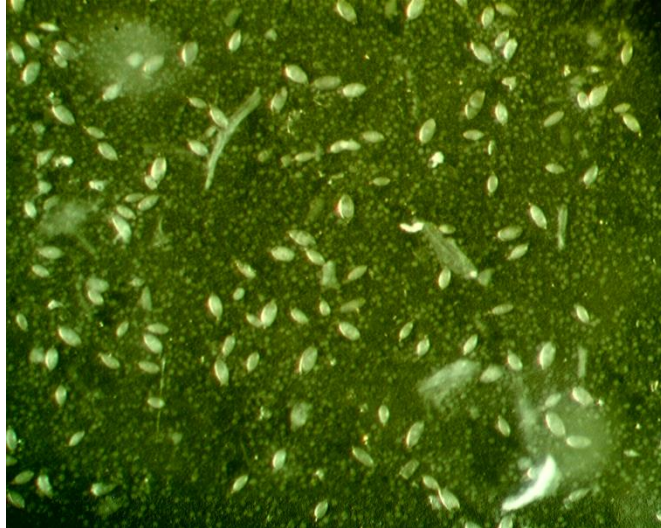
5.2. A *S. turkestanicum* peték kimutatása a májból

A *S. turkestanicum* féreg tartalmú májdarabok 50%-a tartalmazott vérmétely-petéket is. A májszövet híg lúggal történő feloldását követően a peték a májsejteket nem tartalmazó üledékben gyűltek össze (10. A ábra). A peték belső tartalma dezintegrálódott és csak a burkuk maradt ép (10. B ábra), de a jellegzetes alakjuk miatt jól felismerhetők voltak. A férgek száma és a kimutatott peték mennyisége között nem látszott szembeötlő kapcsolat, de sem a férgek, sem a peték pontos számát nem határoztuk meg, mert a szervdaraboknak nagyon eltérő volt a nagysága és az állapota, továbbá nem minden esetben ismertük az állatok életkorát sem. Mivel a legtöbb esetben a fertőzött májdarabokban csak néhány féreg volt (1-30 példány), és az egy szervben talált férgek mennyisége ritkán érte el a százat, a szarvasok tényleges fertőzöttségének leggyakoribb (medián) intenzitását legfeljebb néhány száz féregre becsüljük. Ennek megfelelően a májakban általában kevés pete volt kimutatható.



10. A és 10. B ábra: A májszövet lúgos elfolyósításával (ld. 51.o.) a szerv állományából kiszabadított *S. turkestanicum* peték. A peték karakterisztikus alakja mindegyik oldalnézetből jól látszik. Bennük a miracidium körvonala nem ismerhető fel.

A fagyasztott állapotban kapott májak szöveteiből származó petéket nem tudtuk kikeltetni. Néhány esetben azonban, amikor a vadászatot követően a hűtőházban őrzött szervekből is volt lehetőségünk mintát venni, és hűtéssel konzervált májakra tudtunk szert tenni, azokat lúgos kezelés nélkül szuszpendáltuk. Egy ilyen alkalommal egy olyan májat találtunk, amelyben több száz vérmétely mellett számtalan pete volt kimutatható. A petéket a májsejtek szuszpenziójában találtuk meg (11. ábra).



11. ábra: Natív *S. turkestanicum* peték a vízben szuszpendált máj sejtjei között. Az egyes peték nagysága elég változatos, ami a vérmételyekre általában jellemző.

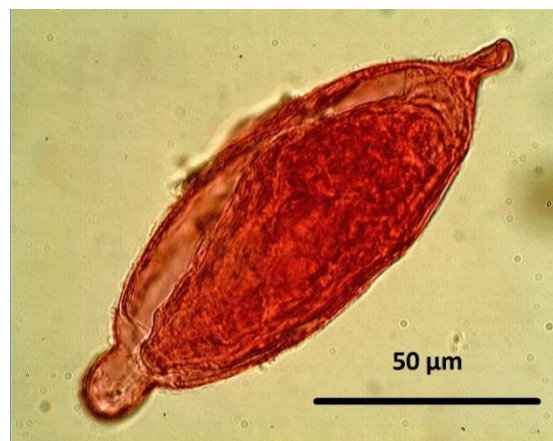
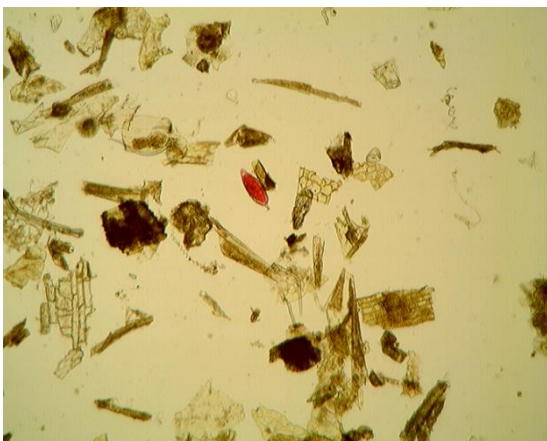
A natív májszuszpenzió üledékének mikroszkópos vizsgálatakor észlelhető volt, hogy néhány miracidium úszkált a peték tömege felett. A máj szuszpendálásának kb. félórányi ideje elég volt tehát ahhoz, hogy néhány petéből kikeljen a lárva a szobahőmérsékletű vízben. Ezeket a miracidiumokat *R. auricularia* csigák fertőzésére használtuk fel, amely kísérletnek az eredménye a dolgozat lezárása előtt még nem ismeretes. Azt azonban megállapíthattuk, hogy a vízben tartott peteszuszpenzióból másnapra már nem keltek ki miracidiumok, ami arra utal, hogy a máj szöveteiben lévő peték zöme nem tartalmazott életképes lárvát. A miracidiumok és a peték pontos arányát nem állapíthattuk meg, mert a gyorsan mozgó, kirajzó lárvák esetleg csak percekig életképesek, és nem ronthattuk azok fertőzőképességét további procedúrákkal. Annyit meg lehetett állapítani, hogy több száz petéből egy órán belül tíznél nem több miracidium kelt ki. Ennek megfelelően hasonló lehet a bélsárral kiürülő peték kelési aránya is.

5.3. A petekimutatás a gyűjtött hulladék mintákból

A vízzel elkevert bélsár szuszpenziójából dekantálással és szűréssel a növényi rostok legnagyobb részét eltávolítottuk. A 63 mikrométer lyukátmérőjű szűrő megakadályozta, hogy a nagy *Fascioloides*-peték a mikroszkóppal vizsgálendő szűrletbe kerüljenek, mert az ürülékben lévő, sok májmétely pete megnehezítette volna a vérmétely peték megtalálását. A 38 μm lyukátmérőjű szűrőn fennmaradt törmelék csak olyan méretű szemcséket tartalmazott, amelyek hasonló méretűek voltak a közékük került *S. turkestanicum* petékhez. A homogén, nagyjából egyforma méretű szemcsék között feltűnőbbek voltak a színes vérmétely-petek,

mintha eltérő méretű képletek között kellett volna megtalálnunk azokat.

A savanyú fukszin tartósan pirosra festette a bélsárban lévő *S. turkestanicum* petéket, vagyis ezek nem fakultak ki a flotáló oldatokkal történő ismételt elkeverés hatására sem. A fukszin élénkpirosra színezett néhány más, azokhoz hasonló nagyságú, bélsárban lévő képletet is, például a csillós egysejtűek cisztáit, egyes fonálféreg (pl. *Nematodirus*) petéket, az *Elaphostrongylus* tüdőféreg lárváit, a *Moniezia* galandféreg petéit, a kerekese férgek betokozódott formáit, és némely pollen- és spóraféleséget. Ezek a képletek azonban nem gyakoriak, nagyon eltérő alakúak a *S. turkestanicum* petéitől, ezért nem nehezítik azok megtalálását. A növényi rostok vagy egyáltalán nem festődnek meg a piros festéktől, vagy ha olykor halvány rózsaszínűre festődnek is, fokozatosan elvesztik a pirosas árnyalatukat az egymás után alkalmazott flotáló oldatokban. Ezért nagyon éles a szíkontraszt a mételypeték és az emésztetlen táplálékmaradványok között, tehát a petéket már kis nagyítással, például 10x-es nagyítású objektívvel is észre lehet venni a bélsártörmelékben (12. ábra). Ennél nagyobb nagyítású objektív használata esetén már a mételypeték jellegzetes alakja is jól látszik, ezért azok felismerése még könnyebb (13. ábra).



12. és 13. ábra: Savanyú fukszinnal megfestett *S. turkestanicum* peték a flotáló oldat felszínén. A sóoldatokkal elkevert szarvas bélsárból koncentrált peték könnyen felismerhetők az úszó növényi törmelék szemcséi között és nagyobb nagyítással a miracidium körvonala is felismerhető bennük.

Tíz, azonos minőségű és mennyiségű, friss bélsárminta flotációs vizsgálata azt mutatta, hogy a peték többségét az 1350 g/l (vagy annál nagyobb) sűrűségű oldatkeverék hozza a felszínre. Ha azokat a kisebb sűrűségű flotáló oldatokkal már eltávolítjuk a szuszpenzióból, az 1400 g/l sűrűségű oldat már csak igen kevés petét hoz felszínre. (7. táblázat). Ugyancsak kevés azoknak a petéknek a száma, amelyeket az 1200 g/l vagy az 1300 g/l sűrűségű oldat felszínén lehet megtalálni.

7. táblázat: A *S. turkestanicum* peték száma, 10, azonos minőségű és mennyiségű (10 g), friss gímszarvas bélsárminta növekvő fajsúlyú flotációs vizsgálata során.

Ugyanazon mintára, egymás után használt felszindúsító oldatok sűrűsége	10, azonos minőségű és mennyiségű, friss gímszarvas bélsárminta										Megtalált peték száma
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1200 g/l	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	3
1300 g/l	1	0	1	0	0	0	0	0	2	0	4
1350 g/l*	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>100
1400 g/l	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1

* A felszindúsító oldat tetején összegyűlt peték valós számát nem tudtuk pontosan megállapítani, a felszínen úszó sok, zavaró növényi képlet miatt.

A talajról gyűjtött, öreg bélsárból jóval kevesebb pete mutatható ki, mint az elejtett állat beléből származó bélsármintából, és ebben az esetben a megtalált peték nem koncentrálnak az 1350 g/l fajsúlyú oldatban, hanem a sűrűségük nagyon változó (8. táblázat). Ennek alapján, a bélben vagy a frissen ürült bélsárban lévő petéknek körülbelül 1,3 g/cm³ és 1,35 g/cm³ közé esik a fajsúlya, ezzel szemben a hosszabb ideje külvilágra került ürülékben ennél jóval könnyebbek vagy súlyosabbak is lehetnek a peték.

8. táblázat: A *S. turkestanicum* peték száma, 10, homogenizált, azonos minőségű (10 g) és mennyiségű, talajról gyűjtött gímszarvas bélsárminta növekvő fajsúlyú flotációs vizsgálata során.

Ugyanazon mintára, egymás után használt felszindúsító oldatok sűrűsége	10, homogenizált, azonos minőségű és mennyiségű, talajról gyűjtött, öreg gímszarvas bélsárminta										Megtalált peték száma
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1200 g/l	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	4
1300 g/l	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	3
1350 g/l	3	0	0	0	1	0	0	2	1	0	7
1400 g/l	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Schistosoma petéket 10 mintából 6-ban találtuk meg. Nem volt jelentős eltérés a kimutatott peték száma és az alkalmazott felszindúsító módszer között. A megtalált peték 1200-1350 g/l sűrűségű felszindúsító oldatban egyenlő arányban fordultak elő a bélsár mintákban.

Mivel a petetartalmú hulladékban száz grammonként alig van egy-két pete, azok megtalálása olyan bizonytalan, hogy a módszer érzékenységének kérdésében nem tudunk állást foglalni. Jelenleg azt is jelentős eredménynek tartjuk, hogy ilyen alacsony petekoncentráció esetén azok jelenlétét egyáltalán fel tudtuk ismerni.

A szervekben talált *S. turkestanicum* férgek előfordulásának megfelelően,

ugyancsak kizárólag a gemenci és a karapancsai szarvasok hullatéka bizonyult *Schistosoma*-pete tartalmúnak. A többi 9 vadászterületen gyűjtött minták egyikében sem találtuk meg a vérmétely petéit. A két fertőzött területen élő szarvasok megvizsgált hullatékában összesen 24,04%-volt a *S. turkestanicum* peték átlagos prevalenciája, ami alacsonyabb, mint a szervek vizsgálata alapján megfigyelt prevalencia.

A frakcionált felszindúsítást kipróbáltam olyan májminták háztartási turmixgéppel készített szuszpenzióján is, amelyekben előzőleg a *S. turkestanicum* mételyeket találtam. Ez esetben azt akartam megvizsgálni, hogy az a máj, amelyben vérmétely van, tartalmaz-e mindig vérmétely petéket? Összesen 19 ilyen májat vizsgáltam meg, s mindegyikükben megtaláltam a vérmételyek petéit is. Még akkor is sikerült azok kimutatása, ha az adott májdarab több ezer *F. magna* petét tartalmazott, mivel azok zömét a 68 µm lyukátmérőjű szitaszövet kiszűrte. Az ép *Fascioides*-peték fukszinnal nem festődtek meg, s e faj petéi közül csak néhány kisebb, torz pete festődött pirosra. Ezért hasonlóan a bélsárvizsgálat alkalmával tapasztalt erős szinkontraszthoz, a májszövet szuszpenziójából kinyert vérmétely-petéek is markánsan elkülöníthetők voltak a *Fascioides*-petéktől és alig festődő májsejtektől.

Schistosoma miracidiumokat nem tudtunk kikeltetni a bélsárból származó petékből.

5.4. A *S. turkestanicum* köztigazdájának elkülönítése a hozzá hasonló fajoktól

A *R. auricularia* csigát a morfológiája alapján tudtam elkülöníteni a Magyarországon élő két másik *Radix*-fajtól, a *Radix balthica* (régebbi nevén: *ovata*) és a *Radix labiata* (régebbi nevén: *peregra*) fajoktól. Megállapítottam, hogy amennyiben az ivarérett állat bursa copulatrix-a és a köpeny pigmentált szegélye megvizsgálható, a példány jól elkülöníthető más fajoktól. A héjak alapján történő fajdifferenciálás, amely a fiatal egyedek és az üres héjak azonosításával járható út, ennél jóval nehezebb, de sok példány vizsgálatával lehetséges, tehát populáció szinten megfelelő a *R. auricularia* csigák azonosításához.

A három *Radix*-faj közül a *R. labiata* a legtöbb esetben viszonylag könnyen elkülöníthető a másik két fajtól, mert a héj utolsó kanyarulata nem tágul ki, a ház csavarodott része hosszabb, mint a teljes hossz negyede, és a felülete növekedési vonalaktól egyenetlen. Az élő állat lágy részei sötétszürkék, és köpenyén a pigmentfoltok egybefolynak. Csak sekély vizekben, például patakokban, tócsákban él, de tavakban, folyókban

sohasem. Ezért a *R. auricularia* fajjal együtt soha sem él egy helyen.

A *Radix balthica* átmeneti faj a *R. auricularia* és a *R. labiata* között, és ennek megfelelően könnyen összetéveszthető velük. Elsősorban a fiatal példányai hasonlítanak a másik két csigafaj fiatal példányaihoz. Előfordulhat sekélyebb álló-és folyóvizekben, de mélyebb tavakban, holtágakban, sőt a folyók partján is, ezért egyes helyeken egyik vagy másik rokonával együtt élhet és, ilyen esetben az összetévesztés lehetősége fennáll. Kitágult utolsó kanyarulata hasonló lehet a *R. auricularia* héjának szájadékához, s héjának színe átmenetet képez a *R. labiata* és a *R. auricularia* héjának színe között. Teljesen kifejlett, idős korában elég jól elkülöníthető mindkét másik fajtól (14. ábra), de az azonos héjméret esetén az elkülönítés nehezebb (15. ábra).



14. ábra: A *R. labiata*, a *R. auricularia* és a *R. balthica* teljesen kifejlett, tipikus megjelenésű példányainak letisztított héjai (balról jobbra haladva). A fajra jellemző tulajdonságok alapján mind a három faj elkülöníthető egymástól.



15. ábra: A *R. labiata*, a *R. auricularia* és a *R. balthica* nagyjából azonos méretű példányainak letisztított héjai (balról jobbra haladva). A két utóbbi faj héjai nem különböznek annyira egymástól, hogy összehasonlításuk nélkül, egymagukban is felismerjük azokat.

Ha a héj felülete nem kopott, a felületi skulptúra különbözősége segíthet a két faj

elkülönítésében, különösen akkor, ha a fiatal és ivaréretlen példányok identifikációjára van szükség. A fiatalabb *R. auricularia* és *R. balthica* egyedek héjformája szinte teljesen azonos (16. ábra), de a héj tekercsének felülete eltérő domborzatú. A *R. auricularia* második-harmadik kanyarulatának felszíne a megkarcolt üveg mikrotöréseinek mintázatához hasonló, vagyis a karcolás irányára merőleges rovátkák sorozatából álló recézettséget mutat, ezzel szemben a *R. balthica* héjának ugyanezen része csak a héj növekedése miatt képződött, finom, hosszanti vonalkázottságot mutatja, amely utóbbi mintázat persze mindkét faj héjának felületén megtalálható (17. ábra). A héjak elkülönítése azért fontos, mert a csigák élőhelyét általában az üres héjak jelenléte alapján ismerjük fel. Ennek az az oka, hogy az üres héjak mindig nagyobb valószínűséggel találhatók, mint az élők, mert hosszabb időn át halmozódnak fel a vizek partjain, mint a csak éppen ott lévő élő egyedek.



16. és 17. ábra: A bal oldali *R. auricularia* és a jobb oldali *R. balthica* héjai általános megjelenésük alapján szinte megkülönböztethetetlenek egymástól, de a nagy nagyítású képen látható, hogy a *R. auricularia* héjfelületén függőleges rovátkákból álló spirális csíkok húzódnak a növekedési irányban, ezzel szemben a *R. balthica* héjának felülete gyakorlatilag sima. A héj folyamatos növekedésével járó, finom, függőleges csíkoltság mindkét héjon megfigyelhető. (A két példány azonos körülmények között növekedett, egymás melletti akváriumokban.)

Az élő egyedek vizsgálatával még biztosabban el tudjuk különíteni a két rokonfajt. A juvenilis példányok talpának színe is némileg eltérő (18. ábra) és ez a színelkülönbség a korral fokozódik. Hasznos információ ez a terepi gyűjtések alkalmával, amikor az élő csigákról kell eldönteni, hogy melyik fajba tartoznak. Élőhelytől függően a csigák héjának felszíne algákkal, mészkéreggel, vas- vagy mangánbaktériumok rétegeivel lehet beborítva, ezért a gyűjtés helyszínén nem mindig könnyű a héj jellemzőinek vizsgálata (19. és 20. ábra).



18. ábra: A bal oldali *R. auricularia* talpa kevesebb pigmentet tartalmaz, mint a jobb oldali *R. balthica* talpa. Ez a színelkülönbség a kor előre haladtával erősödik, bár vannak olyan példányok, amelyek esetében ez nem érvényes.



19. ábra: Bekérgezett vagy elszíneződött héjú *Radix* példányok héjai kevésbé mutatják a faj jellegzetességeit. Az egyes élőhelyeken szinte minden példány azonos módon szennyeződik a különböző vízi szervezetek hatása következtében, így bizonyos területeken alig találni olyan példányt, amelyik egyértelműen mutatná a faj jellegzetességeit. A fenti sorban balról a második és a jobbról az első *R. auricularia*, de alig különböznek a legnagyobb, vörösbarna kéreggel bevont héjtól, amely viszont *R. balthica*.



20. ábra: E két csiga mindegyike a *R. auricularia* fajba tartozik, amit anatómiai vizsgálatokkal lehetett igazolni. A bal oldali példány héjformája a *R. balthica* faj héjformájához hasonlít, a jobb oldali példányra pedig vízi szervezetek települtek rá, amelyek a héj sérülése nélkül nem lennének eltávolíthatók.

A *R. auricularia* biztos felismerése az ivarszerv párzótáskájának alapján (21. ábra) a köpenyszegély pigmentfoltjainak alapján (22. ábra) és a kezdő kanyarulatok csúcsossága alapján (23. ábra) lehetséges. Ha egy adott élőhelyen e három ismérvnek megfelelő példányokat találunk, kijelenthetjük, hogy a faj biztosan előfordul azon a helyen, tehát a *S. turkestanicum* potenciális köztigazdái jelen vannak azon a ponton.



21. ábra: Az ivarérett *R. auricularia* párzótáskája gömb alakú és a nyele átmenet nélkül kapcsolódik a tartályhoz, míg a *R. balthica* párzótáskája ovális és a nyele fokozatosan tágulva kapcsolódik a tartályhoz. Ez az anatómiai struktúra a legbiztosabb elkülönítő bélyege a két fajnak, azonban csak teljesen kifejlett, egészséges példányok esetében tanulmányozható. A mételylárvák általában elsorvasztják az ivarszerveket, ezért a trematoda hordozó példányokon nem mindig figyelhető meg.



22. ábra: A bal oldali *R. auricularia* lágy testére boruló, íves szegélyű köpeny szélén, kerek fekete pöttyök vannak, míg a jobb oldali *R. balthica* köpenyének ugyanazon részén felhőfoltokra emlékeztető alakú, rongyos szélű foltok. E jellegzetességek az idősebb példányokon figyelhetők meg, és néha az élő példányok áttetsző héján keresztül is megfigyelhetők – ha a héj nem kérgeződött be mikroorganizmusokkal.



23. ábra: A bal oldali *R. auricularia* abban különbözik a jobboldali *R. balthica* héjától, hogy a csúcsának körvonala hegyesebb, azaz a kanyarulatok nem oly lépcsőzetesen tekerednek egymásra, mint a *R. balthica* kanyarulatai. Mind a két példány a gemenci Gyepes-lapok egyik tavaiból származik, és az utolsó kanyarulatuk alakja pontosan az ellentéte annak, ami a fajokra jellemző. Tipikus esetben a *R. auricularia* csigának tágul ki jobban az utolsó kanyarulata, de ez a jelleg nagyon függ a példány növekedési erélyétől (15. ábra).

Megállapítottam, hogy Gemencen a *R. auricularia* és a *R. balthica* együtt is előfordulhat, például a Fekete-erdő Gyepes-lapok-nak nevezett tavaiban, vagy a Bártai-Holt-Dunában, és a pörbolyi Móric-Dunában. Ezekről az élőhelyekről több alkalommal sikerült élő példányokat gyűjtenem mindkét fajból, de csak a *R. auricularia* csigákban találtam *Schistosoma* lárvákat, a *R. balthica* csigákban soha. A boncolással vagy cercária

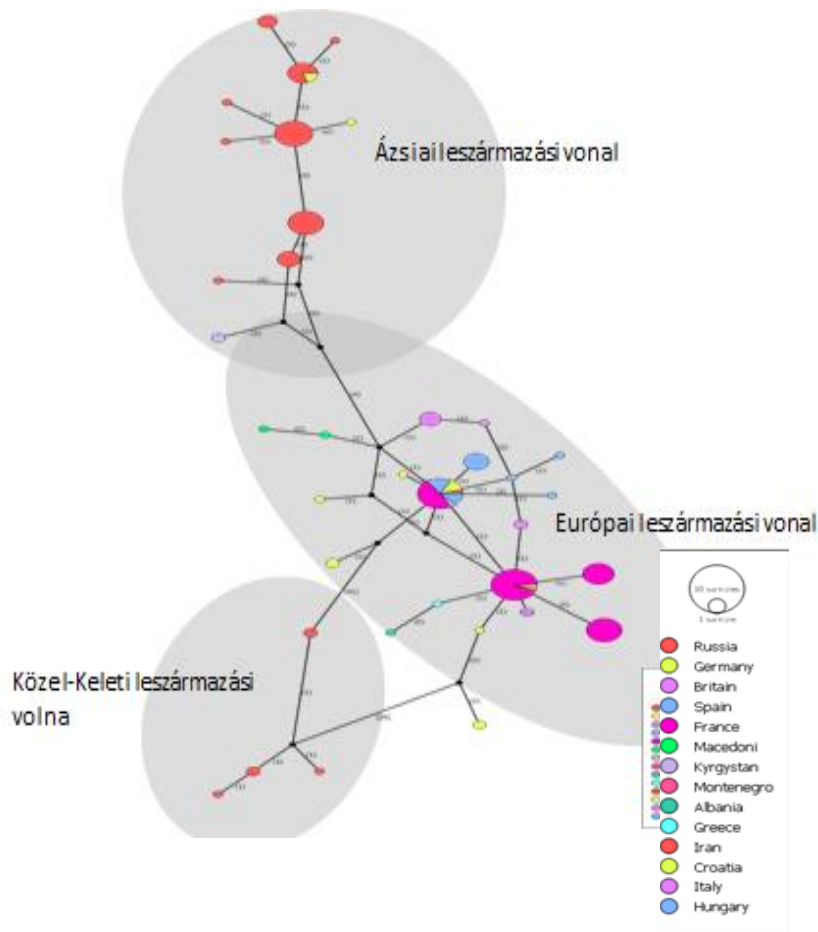
kirajoztatással kapott részletes eredményekről nem vezettem részletes jegyzőkönyvet, mert sok élő csigát csoportosan vizsgáltam a példányok kémelése érdekében, amelyeket a továbbiakban tenyésztésre használtam fel. Ennek ellenére megállapíthatom, hogy a *R. balthica* még akkor sem fertőződik a *S. turkestanicum* lárvákkal, ha együtt él a fertőzött *R. auricularia* csigákkal. A két csigafaj a szoros rokonság ellenére nem egyformán fogékony a *S. turkestanicum* fertőzésre. Ezért a két faj elkülönítése elvileg azon az alapon is lehetséges, hogy ha a csiga *S. turkestanicum* lárvát hordoz, akkor nagy valószínűséggel csak *R. auricularia* lehet és nem *R. balthica*.

5.5. A magyarországi *R. auricularia* populációk eredete

Nagyon kevés megtalált fosszilis példány támasztja alá a csiga magyarországi őshonosságát, de kétségtelen, hogy a Földtani Intézet 1951-ből származó, 2013. katalógusszámú (két gyűjtés a Szomod, Les-hegy DNY-i részén lévő feltárásból), és a 1991-ből származó, 11798. katalógusszámú (egy gyűjtés a Tata, Grébics-hegyi feltárásból), pleisztocén korú leletei egyértelműen bizonyítják a faj hazai jelenlétét még az emberi kultúra kifejlődése előtt. Ezek a héjmaradványok, amelyeket Dr. Krolopp Endre, a negyedidőszaki (kvarter) fosszilis gyűjtemény kurátora identifikált 1991-ben, és azután a gyűjteményi katalógus szerint rajta kívül 3 revidáló is megerősítette a határozást (Pintér László, Petró Endre, Majoros Gábor), meleg vízből kivált mészszipából kerültek elő Tata környékén. Figyelemre méltó, hogy ezen a vidéken még ma is sok meleg vizű forrás van (Csepregi et al. 2004) és az ember által jelentősen átalakított környezet ellenére a *R. auricularia* recens példányai jelenleg is élnek a Tatai-tóban (bizonyító példányok a Magyar Állami Földtani Intézet recens gyűjteményében, Majoros Gábor gyűjteményében, és a Magyar Természettudományi Múzeum gyűjteményében), amelynek partján pleisztocén korú forrásvízi mészkőpadok vannak. Ha mindez nem is jelent feltétlen kontinuitást a múltbéli és a jelenleg élő állományok között, megerősíti annak jogos feltételezését, hogy a *R. auricularia* preferálja az átlagosnál melegebb vizeket.

A recens csigapopulációk eredetére következtetni lehet a különböző földrajzi területeken élő állományok közötti rokonság fokából. A DNS vizsgálatokat a hazai és külföldi példányokon is elvégeztem, melyeket a GenBank-ban már korábban elhelyezett egyéb külföldi adatokkal vettem össze. Nyolc magyarországi *R. auricularia* szekvenciáját tudtam hasznosítani, az általam megvizsgált példányokból. Összesen 36 haplotípust tudunk felismerni. A mitokondriális *cox-1* gén vizsgálatán alapuló haplotípusok alátámasztották, hogy a *R. auricularia* európai populációi a Közép-és Kelet-Ázsiában élő állományokból

származtathatók, majd a Nyugat-ázsiai (Közel-Keleti) populációk feltehetőleg az európai populációkból alakultak ki. (24. ábra.)



24. ábra: A *R. auricularia* haplotípusainak rokonsági fája Eurázsiai populációk vizsgálata alapján. A különböző színek különböző országokban előforduló haplotípusokat jelölnek, egy-egy színes kör egy haplotípust (populációt) jelent. A fekete pontok hipotetikus haplotípusok, amelyek azt a mutációs állapotot jelzik, amelynek be kell következnie ahhoz, hogy az adott gén átalakuljon egy másik haplotípusba. A körök nagysága a megvizsgált példányok mennyiségével arányos, az adott gén relatív gyakoriságát a körcikkek aránya tükrözi. Az egyes populációk közti szekvenciában tapasztalható különbségeket a körök közti számok abszolút értéke fejezi ki. A legnagyobb genetikai diverzitást az európai populációk mutatják.

A bemutatott haplotípus rokonsági fa 14 országból származó 170 példány szekvencia analízisén alapul, és látható rajta, hogy a legnagyobb diverzitást az európai populáció példányai mutatják. Ez is alátámasztja a *R. auricularia* európai őshonosságát, és ezzel magyarországi eredetét is.

A *R. auricularia* itteni őshonosságát megerősíti az a tény is, hogy a Gemenci vizekben gyűjtött példányokban a *S. turkestanicum* lárvákon kívül több más mótely lárváját is megtaláltam. A csigákból a *Diplostomum*, *Sanguinicola*, *Strigea*, *Echinochasmus*

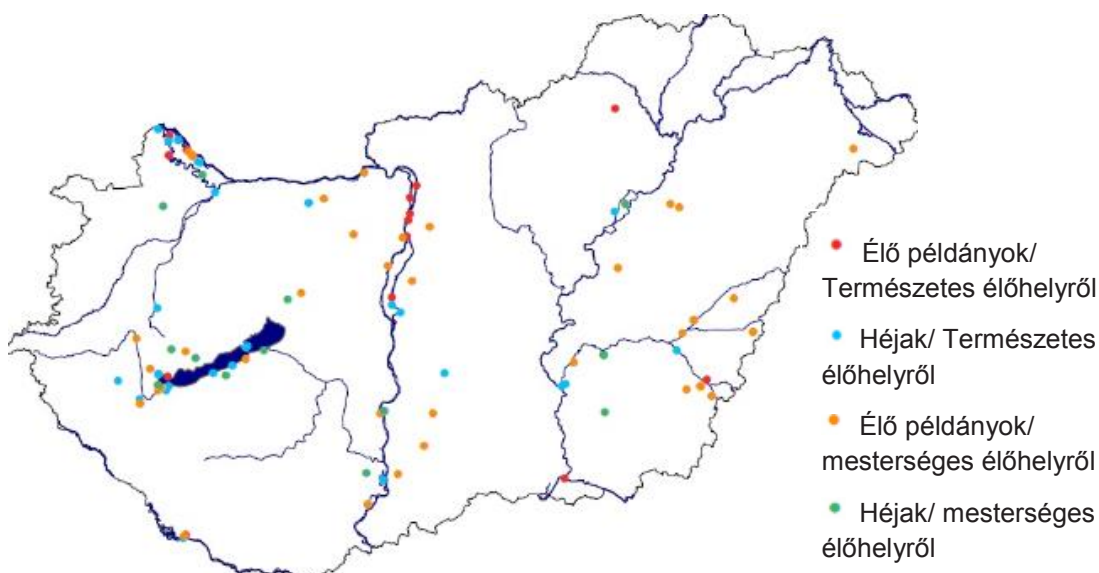
Trichobilharzia genusok cercáriáit és a Plagiorchida mételycsoport legalább 2 fajának cercáriáit tudtam kirajoztatni, amelyeket Majoros G. 2000-ben írt PhD disszertációja alapján határoztam meg (Majoros, 2000). Ezeknek a mételylárváknak a faji szintű azonosítását nem volt lehetőségem elvégezni, de így is állítható, hogy ezen a viszonylag szűk földrajzi területen a *R. auricularia* legalább 9 mételyfajnak egészen bizonyosan a köztigazdája, ami valószínűvé teszi, hogy az ott előforduló mételyfajok jól adaptálódtak hozzá, mint köztigazdához.

A fosszilis leletek, a genetikai rokonsági viszonyok és a paraziták iránti nagy fogékonyság együttesen bizonyítja, hogy a *R. auricularia* nem behurcolt faj Magyarországon.

5.6. A *R. auricularia* magyarországi elterjedése

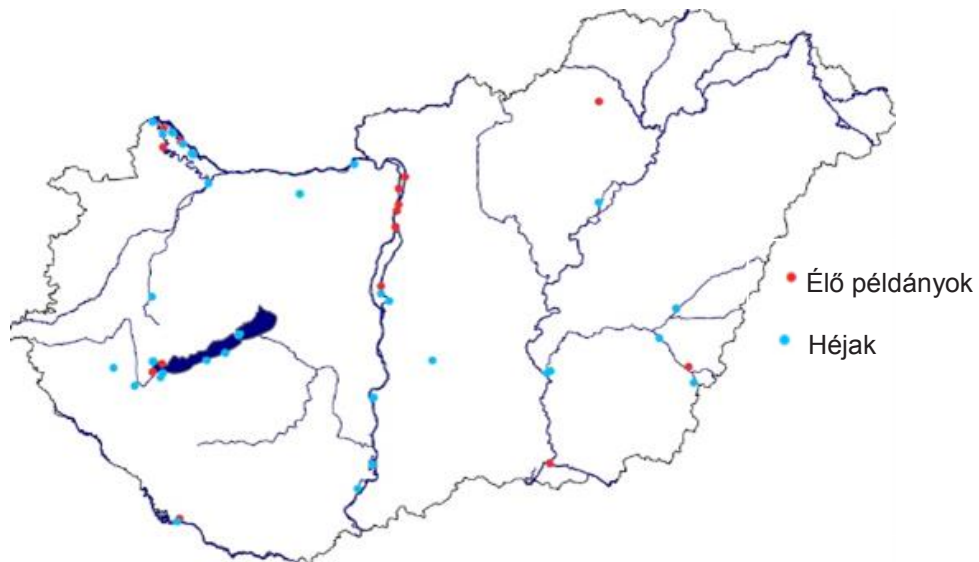
A fentebb említett malakológiai gyűjtemények és saját vizsgálataim alapján az ország 81 pontján találtam olyan élőhelyet, ahol a *R. auricularia* csigák előfordulnak. A gyűjteményi adatokkal (bizonyító példányokkal) alátámasztott gyűjtési adatok egyértelművé teszik a faj előfordulását az adott ponton, de azt nem bizonyítják, hogy mindig is ott él vagy jelenleg is él azon a helyen. Az előfordulási adatok viszont arra használhatóak, hogy jelezzék azokat a helyeket, amelyek nagy valószínűséggel alkalmasak a csiga populációinak fenntartására.

A lelőhelyi adatokból szerkesztett térképen (25. ábra) látható, hogy a *R. auricularia* élőhelyei a mélyebben fekvő területek nagy folyói, tavai mentén találhatóak, de nem feltétlenül esnek azok partjára. Ha például a folyókban élnének, a térképen sok pont aggregálna a folyók mentén, mert a folyóhordalékokban gyakran meg lehet találni a héjakat, mivel a vizek üledékét igen sokszor vizsgálják malakológiai szempontból (pl. hidrobiológiai, üledék-rétegtani, faunisztikai célból).

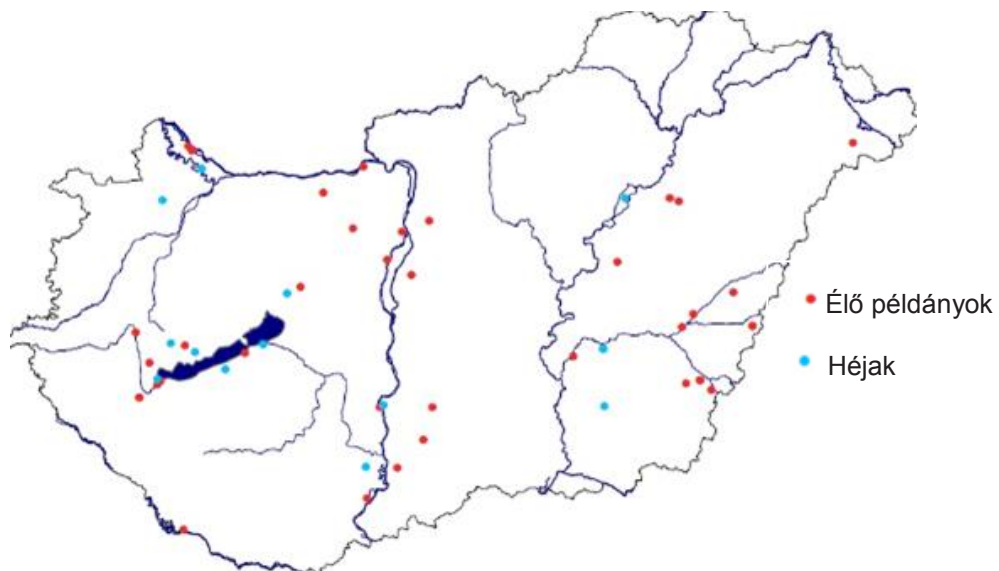


25. ábra: Mesterséges és természetes élőhelyeken élő *R. auricularia* populációk előfordulása

A lelőhelyi adatok elemzése során feltűnt, hogy sok gyűjtési adat származik olyan helyről, amely nem természetes élőhely, hanem ember által kialakított csatorna, mesterséges tó vagy medence. Ezért az adatokat kétfelé bontottam és külön ábrázoltam azokat az előfordulásokat, amelyek vélhetően eredeti, természetes élőhelyei voltak a csigának, és egy másik térképen azokat az adatokat, amelyek nyilvánvalóan mesterségesen létesített életterekből származnak. A „természetes” előfordulásokat jelző térképen (26. ábra) jóval kevesebb pont látható, mint a „mesterséges” élőhelyeken kimutatott előfordulásokat jelző térképen (27. ábra). Ez egyértelműen azt mutatja, hogy a *R. auricularia* preferálja az ember által létesített, állandó vízszintű, karbantartott víztesteket (tavak, csatornák). Az utóbbiak soha nem száradnak ki és nem fagynak be teljesen, sőt jó néhányukat meleg víz táplálja vagy táplálta, mint például az egri Érsekkert dísztavát, a tatai Fényes-forrás vizeit, a Kelenföldi Hőerőmű hűtőtavait, a lipóti horgásztavat, a Hévízi-csatornát, vagy a már megszűnt százhalmabattai Temperáltvízű Halgazdaság halastavait.



26. ábra: Természetes élőhelyeken élő *R. auricularia* populációk előfordulása



27. ábra: Mesterséges élőhelyeken élő *R. auricularia* populációk előfordulása

Ha mindezekhez hozzávesszük, hogy az általam „természetes” élőhelynek megjelölt helyek sem mind az érintetlen természet részei, hanem szabályozott folyású vizek, például a Ráckevei-Duna, a gemenci és a szigetközi Duna-holtágak, vagy a horgász- és halastavak, sőt maguknak a nagy folyóknak a partja és a Balaton is, akkor belátható, hogy a csiga kedveli a kevésbé ingadozó vízmélységű és ezért stabilabbnak tekinthető élőhelyeket, annak eredetétől függetlenül. Ebből az következik, hogy, amennyiben a *R. auricularia* valóban a *S. turkestanicum* egyetlen köztigazdája Magyarországon, elvileg arra lehet számítani, hogy olyan helyeken tapasztalható a méteyes fertőzöttség, ahol a folyam- vagy tószabályozással az ember lehetővé teszi a csiga tartós megtelepedését.

5.7. *S. turkestanicum* cercáriáinak viselkedése

Munkám során a *S. turkestanicum* cercáriáinak csigából való kirajzását, a külvilágon való élettartamát és a fertőzőképességét figyeltem meg. Lényeges megállapítani, hogy ezek a vizsgálatok nem előre megtervezett kísérletek voltak. Mert a mételyt laboratóriumi körülmények között fenntartani nem tudtuk, s mivel a cercáriákhoz csak alkalomszerűen, az időjárástól függő, kiszámíthatatlan időpontokban jutottunk hozzá, az elvégzett vizsgálatok ad hoc jellegűek voltak. Ennek ellenére olyan megállapításokat tehettem a segítségükkel, amelyek hasznosak lehetnek a métely járványtani jellemzőinek meghatározásához.

A köztigazda csigákat desztillált vízbe helyeztem, és ez a májmetelyt hordozó *Galba truncatula* csigák esetében is alkalmazott, hagyományos módszer jól bevált a *S. turkestanicum* lárvák kirajoztatása esetén is. Az üvegedényekben tartott csigákból a reggeli órákban rajzottak ki a cercáriák. Ha a délután folyamán tiszta vízbe tettem át a példányokat, azokból csak másnap reggelre rajzottak ki a cercáriák. Bebizonyosodott, hogy a napfény indukálta a cercáriák megjelenését, mert ha néhány egyed, amely korábban cercáriákat bocsájtott ki magából, sötétben tartottam, nem jött ki belőlük egy cercária sem.

A mesterséges fény hatását nem vizsgáltam, mert a fertőzött csigák csak 3-4 napig éltek a laboratóriumban, és ez idő alatt minden cercáriára szükség volt, hogy a fertőzöttségük tényét megállapíthassam. (Mint fentebb említettem, a csigákból nem mindig *Schistosoma* cercáriák rajzottak ki.)

A vízben kirajzott *S. turkestanicum* cercáriák az edény fény felőli oldalán csoportosultak, a vízfelszín közelében (28. ábra). Szinte állandóan mozogtak, és csak pillanatokra álltak meg egy merev pozícióban. A reggel 6-8 óra között kirajzott cercáriák este 8-9 órára általában már elpusztultak, bár néhány egyed még másnap reggel is mutatott életjeleket, amely rángó mozgások formájában volt megfigyelhető. A moribund állapotban lévő lárvák, és az elpusztultak is az edény aljára süllyedtek. A halál beállta után belső szerkezetük percek alatt dezintegrálódik, ezért az csak élő állapotban vizsgálható. A schistosomák cercáriái azáltal voltak elkülöníthetők a többi villás farkú cercáriától, hogy szemfoltjaik nincsenek, és a farokvilla ágai rövidebbek a faroknyél felénél. (A cercáriák részletes morfológiáját Majoros et al. 2010 cikke ismerteti.)



28. ábra: Élő, natív *S. turkestanicum* cercária kirajzás utáni állapotban. A nem mozgó lárván a fej és a faroktörzs megnyúlt, a farokvilla ágai szimmetrikusak. Az állat belső szervei csak a részlegesen bénított állapotban, immerziós nagyítás segítségével vizsgálhatók.

A *S. turkestanicum* cercáriák nagyon könnyen megfestődnek vagy a neutrál-vörös vagy a níluskék-szulfát szupravitális festékekkel, ha ezeknek az anyagoknak olyan kis mennyiségét juttatjuk a vízbe, amely azt egészen halvány rózsaszínűre illetőleg kékre színezi. A fenti festékek a cercáriák feji végét erősebben színezik el, mint a farki végüket és a festést követően 1-2 óráig életben maradnak, bár mozgásuk aktivitása csökken, zsugorodnak és a testtartásuk is megváltozik (29. ábra). Ezáltal jól tanulmányozhatók, továbbá felismerhetők olyan közegben is, amelyben nem volnának feltűnők, például a természetes vizek ázalékállatai (egysejtűek, férgek) között.



29. ábra: A neutrál-vörössel megfestett, de még élő cercária feji vége intenzívebben színeződik, mint a farka. A festék felvétele következtében később megbénul és testtartása nem szimmetrikus, a feje és faroktörzse pedig összehúzódik.

Az általam vizsgált *R. auricularia* példányokból általában csak egy faj cercáriái rajoztak ki, noha 2 esetben megfigyeltem a vegyes fertőzést is. Vegyes fertőzés nem fordult elő azokban a csigákban, amelyek *S. turkestanicum* cercáriát bocsájtottak ki magukból. A

vérmételyt hordozó csigák nem voltak több napon át életben tarthatók, még akkor sem, ha táplálékot adtunk nekik. A nem fertőzött *R. auricularia* egyedek salátalevével legalább egy hétig, vagy sok esetben egy-két hónapig is életben tarthatók, de ugyanezen a táplálékon a fertőzött csigák nem maradnak élve, noha elfogyasztják azt. Nem tudtam megállapítani, hogy a cercáriák kirajzása vagy maga a fertőzés az oka annak, hogy mesterséges környezetben a fertőzött csigák gyorsan elpusztulnak, de az bizonyos, hogy az elpusztult csigák testében mindig sok cercária marad. Ez arra utal, hogy természetes viszonyok között a köztigazda még sok cercáriát lett volna képes kibocsájtani magából. A frissen elpusztult csigákban a cercáriák még mozognak, de aktív kirajzásra képtelenek, tehát a vízben úszó cercáriák létrehozásához az élő csiga szükséges.

A kirajzott cercáriák nem mutattak hajlamot arra, hogy bármilyen szilárd felületen megtapadjanak, azaz sohasem tapadtak az üveg falára, a csigák héjára, és a vízbe helyezett sima vagy érdes felszínű, de kémiai anyagot nem kibocsájtó tárgyak (csipesz, szűrőpapír stb.) felszínére. Ezzel szemben az élő egér bőrébe percek alatt behatoltak, ha az állatot 1-2 cm magas vízoszlopba helyeztük, amelyben frissen kirajzott cercáriák voltak. Ugyanilyen heves affinitást mutattak az emberi bőr iránt is (Juhász et al., 2016). A bőrbe hatolt mételylárvákat az egér bőrének szövettani vizsgálatával lehetett megtalálni (lásd alább).

Mindezen megfigyelések alapján kijelenthető, hogy a magyarországi szarvasokban élő *S. turkestanicum* cercáriái főleg a reggeli órákban okozhatnak fertőzést adekvát gazdáikban, és csekély gazdafelismerő képességük miatt egyéb emlősökbe is képesek behatolni, hasonlóan az Ázsiában élő törzseikhez.

5.8. A *S. turkestanicum* cercáriák kimutatása vízből

A természetes élőhelyeken a cercáriák kirajzásának ideje és helye csak hozzávetőlegesen becsülhető meg, ezért a vízben úszó lárvák kimutatásának eleve kis esélye volt. Annak ellenére, hogy olyan helyen próbálkoztunk a cercáriák kimutatásával, ahol korábban már megállapítottuk a *S. turkestanicum* lárvákkal fertőzött csigák előfordulását, nem lehattunk biztosak abban, hogy éppen akkor rajzanak ki, amikor a kimutatásukra irányuló próbálkozásainkat végeztük.

Az általam alkalmazott módszerek közül, laboratóriumi körülmények között a szűréssel történő vizsgálatot tudtam előzetesen tesztelni *S. turkestanicum* cercáriákon, az attraktáns anyagok hatását nem. Ez utóbbiakkal végzett csapdázási kísérleteim a terepen nem jártak eredménnyel, de ennek pontos okát technikai és munkaszervezési nehézségek

miatt nem tudtam kideríteni. Sem a vontatott, melegített csapdával, sem a vízben álló csapdákkal, sem a vízben sodródó, úszó csapdákkal nem tudtam kimutatni a cercáriákat. Ezekről a csapdáról származó, megtapadt uszadékból csak egysejtűek, algák és alacsonyabb rendű gerinctelen állatok (kerekesférgek, rákok, fonálférgek stb.) példányait találtam, de mótelylárvaakat nem.

A szűréssel történő lárvakimutatást laboratóriumban kirajzolt cercáriákon próbáltam ki, és megállapítottam, hogy a 38 µm lyukátmérőjű szitaszöveten nem tudnak átjutni a cercáriák, de az 1 mm lyukátmérőjű szitán könnyen keresztül jutnak. E megfigyelés alapján a terepen kézi sziták segítségével szűrtük a *R. auricularia* csigák élőhelyén a vizet. A Gyepes-lapok két tavának egy-egy pontján hozzávetőlegesen 100-100 liternyi vizet szűrtünk át és a szüredéket mikroszkóppal vizsgáltuk meg. Ezek a szüredékek nem tartalmaztak cercáriákat.

A vontatott szűrőeszközt a gemenci erdők 3 pontján próbáltuk ki: a Gyepes-lapokon 60 percig, a Batai-Holt-Dunán 60 percig és a pörbölyi Móric-Dunán 30 percig vízben tartva azt. A megvizsgált élőhelyek közül a kézi erővel vontatott csapda a Móric-Duna vizében fogott cercáriákat. A csapda használatát követően 5 óra múlva megvizsgált szüredékben élő cercáriákat tudtunk kimutatni, amelyek csak a *S. turkestanicum* fajtól származtak (30., 31. ábra). A szűrő sűrűbb szitájának felületén fennakadt organizmusok között a cercáriák a mozgásukról, az alakjukról és a rózsaszínűre festődött feji részükről jól felismerhetők voltak. A szitáról lemosott anyag üledékében gyűltek össze, mert a szupravitális festés miatt a mozgásuk nem volt olyan intenzív, hogy a vízben lebeghettek volna (30., 31. ábra).

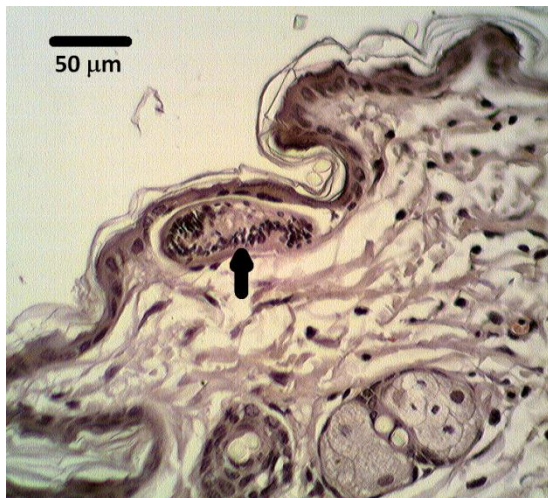


30. és 31. ábra: Élő *S. turkestanicum* cercáriák a tóvíz szüredékében, mikroorganizmusok és törmelék között. Élő voltukat az bizonyítja, hogy még csak a feji részük színeződött el, a holt szöveteket máskülönben homogén pirosra festő neutrál-vörös festéktől, illetve az, hogy a közepén lévő példány farokvillájának mozgása az egymás után készített képeken felismerhető.

5.9. A cercáriák bőrbe hatoló képességének vizsgálata egéren

A 67. oldalon leírt módon, a kísérleti fertőzésre használt egereken a cercáriákkal történő kontaktust követően, sem egyértelmű klinikai tüneteket, sem makroszkóposan megfigyelhető külső elváltozásokat nem tapasztaltam. A bőrbe hatoló cercáriák a fertőzött egér múltó izgatottságán túl, egyéb tünetet nem okoztak. A szőrös bőrön nem látszottak bőrpír vagy kiütések nyomai, de az izgalmi állapot arra engedett következtetni, hogy viszkető érzés kialakulhatott és legalábbis enyhe dermatitisz fejlődhetett ki.

A 45 percen keresztül cercária tartalmú vízben pihenő egér bőrében később a szövettani vizsgálat során cercáriákat tudtam kimutatni. A metszetek tanúsága szerint a cercáriáknak csak a feji vége jutott be a bőrbe, mint más vérmétely fajok esetében is. Ez idő alatt a mételylárva feji vége az epithel bazális részébe és közvetlenül a hám alatti kötőszövetbe tudott befurakodni, de mélyebbre nem. A has bőrében megfigyelt féreglárva körül sejtes reakció és ödéma még nem volt megfigyelhető (32. ábra). Megállapítható, hogy a cercáriákkal történő kontaktust követően ennyi idő alatt az egérben nem alakultak ki makroszkópos és mikroszkópos kóros elváltozások, noha a *S. turkestanicum* lárva sikeresen behatolt az állat testébe.



32. ábra: A *S. turkestanicum* cercáriájának feji része az egér hasfali bőrének epidermisze alatt. Az irhában lévő parazita körül semmilyen szöveti reakció nem figyelhető meg, noha a lárva már egy ép szaruréteggel borított hámrészlet alatt fekszik, tehát a behatolási helyétől már elmozdult.

5.10. A cercáriák bőrbe hatoló képességének vizsgálata emberben

A korábban már természetes körülmények között cercária dermatitiszen átesett személy vállalkozott arra, hogy alkarját 2 percig belemerítse olyan vízbe, amelyben nagy mennyiségű cercária volt. Viszkető érzés már a vízbe merítés idejének második percében tapasztalható volt, de a bőrön az első, piros foltok formájában megfigyelhető elváltozások csak

órák múlva tűntek fel. A határozatlan kiterjedésű, fokozatosan erősödő színintenzitású foltok 24 óra múlva váltak egyértelműen detektálhatóvá. Ekkor miliáris és egybefüggő dermatitisz volt megfigyelhető, lassan kialakuló papulákkal (33. ábra). A bőrgyulladás intenzitása a kontamináció utáni 3.napon kulminált, és a 7. nap végéig volt detektálható. A fertőzést követő 14. napon már csak a bőr finom egyenetlensége volt tapasztalható. A bőrelváltozás a 20. napra nyom nélkül gyógyult, miként a természetes úton korábban elszenvedett cercária dermatitisz is.



33. ábra: Szándékosan előidézett cercária dermatitisz az alkaron, a fertőzés után egy nappal. Az összefolyó erythaemák a cercária tartalmú víz felszínének vonalát rajzolják ki a bőrön, ami egyértelműen bizonyítja, hogy a *S. turkestanicum* aktívan mozgó lárvái aggregálódnak a víz felszínén.

Ez a megfigyelés összhangban van azzal, hogy a kísérletesen fertőzött egér 45 percen belül nem mutatott semmilyen bőrtünetet, tehát a tünetek jelentkezése előtt a lárvák már a hámrétegben vagy az alatt vannak. A spontán emberi fertőződésről és fertőzési kísérletek eredményéről, illetve annak egészségügyi konzekvenciáiról külön cikkben számoltunk be (Juhász et al., 2016), ezért a humán szerológiai vizsgálatok részletes eredményére itt nem térek ki. Lényeges megállapítás viszont az, hogy a fertőzés után két héttel és az egy év múlva levett vérmintákban az ELISA teszt *Schistosoma mansoni* antigént felismerő ellenanyagot jelzett. Ugyanezen vérmintákból azonban a Schistosoma Western blot IgG teszt megállapította, hogy nem tartalmaznak egyetlen emberi schistosoma antigén ellen termelt ellenanyagot sem.

5.11. A cercáriák fertőzőképességének vizsgálata egéren

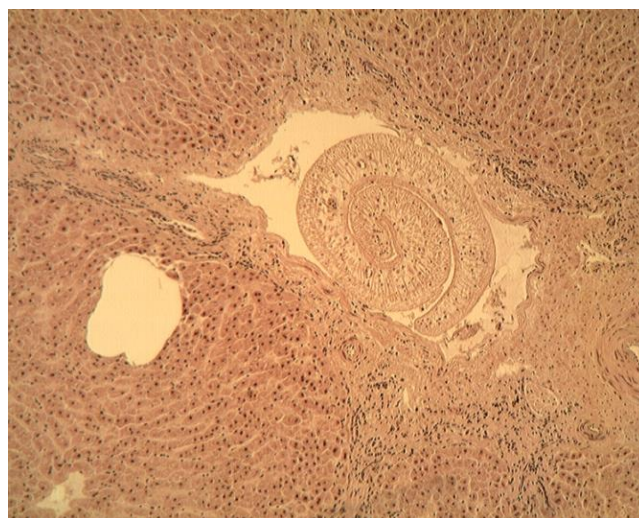
A cercáriák hatásának kitétt egyik állatot 4 hónapos megfigyelési idő után extermináltuk és a májában nem párba állott, szoliter, fejlett herék nélküli, apró, hím metelyeket tudtunk kimutatni (34. ábra). A férgek a máj natív parenchimájának szétnyomósos vizsgálatával voltak kimutathatók (35. ábra). A 200-300 µm hosszúságú férgek nem érték el a kérődzőkben

megfigyelhető legalább 10 mm-es testnagyságot, de ez önmagában nem feltétlenül jelenti azt, hogy ezért nem voltak ivarérettek, mert a kistestű gazdáiban a mótelyek eleve kisebbre nőnek. Mivel azonban a májban petéket nem lehetett kimutatni, az bizonyosan megállapítható volt, hogy a fertőzött egér gravid nőstényeket sem tartalmazott. Ilyen módon a talált hím példányokról sem lehetett megállapítani, hogy csak a nőivarú példányok hiánya miatt fejletlenek, vagy eleve nem tudták elérni a teljes ivarérettséget. A májban a mótelyek jelenlétén kívül a natív szövettani vizsgálattal kóros elváltozást nem lehetett találni, például góccok vagy vérzések nyomát.



34. és 35. ábra: Egy hónapos korú *S. turkestanicum* mótelyek a fertőzött egér májában. A szövetből kiszabadított példány laterális nézetén a jól fejlett ventrális szívóka, a máj szövetével együtt szétlapított példányban a vérrel telt bélcsatorna részletei ismerhetők fel. Az ivarszerveknek még a kezdeményei sem vehetők ki a tömzsi férgek.

A májból készített 45 szövettani sorozatmetszetben 2 hím féreg átmetszetét tudtuk megfigyelni (36. ábra).



36. ábra: A nőstény hiányában a hossz tengelye mentén összecsavarodott hím féreg egy nagyobb vénában volt megfigyelhető. Körülötte sejtes reakció vagy szövetkárosodás nem volt.

Egy másik alkalommal fertőzött egeret a cercáriákkal való kontaktust követő 5 hónap múlva altattuk el. Ez időszak alatt az egér nem ürített mételypetéket a bélsarával. A boncolás során csak a májában találtunk mételyeket. Ezek egyike sem volt ivarérett. Mind az 53 megtalált példány juvenilis hím volt (37. ábra) és ennek megfelelően petéket nem lehetett találni a májparenchimában. A teljes mételypopuláció kigyűjtésének szükségessége miatt a májat oly apró foszlányokra kellett szétszaggatni, hogy a maradványokból szövettani metszeteket már nem lehetett készíteni, de a szövetmaradványok natív, szétnyomással történő vizsgálatával kóros elváltozásokra utaló gócok, elhalt szövetrészek vagy cirrhotikus szövetszaporulatok nem voltak kimutathatók. Ennek alapján azt állapíthatjuk meg, hogy maguk a mételyek az egérben nem okoztak morfológiailag szembetűnő kóros folyamatokat.



37. ábra: Natív, juvenilis, hím *S. turkestanicum* az öt hónapos fertőzöttséget hordozó egér májából. A példányban csak az emésztett vért tartalmazó bélcsatorna egyes részei különülnek el a homogén, ivarszerveket nem tartalmazó parenchymától. A testből kitüremkedő, viszonylag nagy hasi szívókája a hím férgekre jellemző. A féreg hossza 300 μm .

A cercáriák behatolását elviselő harmadik egeret 7 hónapig figyeltük meg. Ez időszak alatt az állat semmilyen rendellenes tünetet nem mutatott. Kéthavonként az állat ürülékét megvizsgálva, abban sem találtunk *S. turkestanicum* petéket. A fertőzött állat a dolgozat lezárásának idején is életben van. Mivel a benne kialakuló patens fertőzöttségnek nagy jelentősége lenne, igyekszünk életben tartani spontán elhullásának időpontjáig.

6. MEGBESZÉLÉS

6.1. A *S. turkestanicum* kimutatása és magyarországi elterjedése a végleges gazdában

A *S. turkestanicum* vérmétely előfordulási viszonyairól nagyon nehéz egzakt adatokat gyűjteni, mert a vadak nem vizsgálhatók olyan megtervezhető és viszonylag standardizált módon, mint a háziállatok. Jellemző, hogy a *S. turkestanicum* szakirodalma elsősorban a háziállatokban való előfordulásával foglalkozik, noha nyilvánvaló és a járványtani adatok bizonyítják, hogy azokon a területeken is előfordul a vadállományban, ahol a házi tülkös szarvúakban okoz kárt. Mivel Magyarországon eddig még csak a szarvasokban találták meg, szükségszerű volt, hogy a mételyt a szarvasokban kutassam, noha elvileg nem kizárt, hogy más kérődző is fertőződhet ezzel a parazitával. Mivel a gemenci ártereken gyakorlatilag házi kérődző nem fordul elő, legalábbis ott, ahol a vadállomány rendszeresen tartózkodik, egyelőre kevés esélyt látok arra, hogy a vérmétely átterjedjen a haszonállatokra. Úgy tűnik, hogy *S. turkestanicum* a jelenlegi helyzetben kötődik az ártéri szarvas-populációhoz. Ez a tény önmagában nem igazán indok arra, hogy behatóbban foglalkozzunk vele, mert a parazita endemikus, terjeszkedésre nem hajlamos voltát támasztja alá, ezért sem állategészségügyi, sem közegészségügyi szempontból nem tekinthető fontosnak.

Ezzel szemben két egyéb szempontból érdemes foglalkozni vele, amikre már e dolgozat bevezetésében is kitértem. Mint a *Schistosoma* genus egyik tagja, amelyik emberben vérmételykórt előidézni nem képes, szinte beláthatatlan nagy jelentősége lesz a jövőben a trópusi vérmételyek elleni védekezés kidolgozásában. Mivel ez elsősorban embergyógyászati feladat, az orvosi kutatásra hárul a munka jó része. A cercária dermatitisz előidézésében játszott szerepe is alapvetően orvosi feladat, de mindkét fontos területen támogathatja az állatorvosi kutatás a közegészségügyi problémák megoldását. Munkám során ezért igyekeztem a technikai nehézségek ellenére olyan információkat szerezni a szarvasok vérmétely fertőzöttségéről, amelyek felhasználhatók a további kutatások számára is. Megállapítottam, hogy a Magyarország 9 vadászterületéről származó májakban nem volt található vérmétely, ezzel szemben a Duna déli árterén lőtt szarvasokban Gemencen és Karapancsán a vizsgált 395 máj és bélsárminta 24%-a *S. turkestanicum* mételyt tartalmazott. Ez nem bizonyítja, hogy a *S. turkestanicum* csak a két utóbbi területen fordul elő, de mivel majdnem ugyanannyi mintát vizsgáltam meg az ország egyéb területeiről (394 minta) nem

tűnik valószínűtlennek az az állítás, hogy a mótely előfordulása koncentrálódik a Duna déli szakaszát körülvéő erdőkben. Ugyanakkor nem zárható ki, hogy a *S. turkestanicum* a Duna folyása mentén még délebbre is előfordul.

Fontosnak tartom azt a megállapítást is, hogy a *S. turkestanicum* mótelynek egyetlen egyértelmű, szabad szemmel felismerhető, makroszkópos kártételét sem tudtuk megfigyelni, aminek két következménye van. Az egyik az, hogy önmagában a korbonctani vizsgálattal nem lehet felismerni a fertőzöttséget, a másik az, hogy a markáns patogenitás hiánya megerősíti azt a korábbi feltételezést, hogy a vérmótely évmilliók alatt alkalmazkodott a gazdájához, tehát a szarvasokban jóval régebben élhet, mint például az emberi schistosomák az emberben. Ez a helyzet érthetővé teszi, hogy az állati kórokozókból emberi parazitává lett 3 *Schistosoma*-faj, a *S. haematobium*, *S. japonicum* és a *S. mansoni* miért olyan patogén az emberben és miért okoz aszimptomatikus fertőzést például a patkányokban, és némely háziállatban. Eddigi ismereteink szerint a *S. turkestanicum* nem tudta megtenni azt a lépést, hogy a gazdaváltással az embert, mint új gazdát megfertőzze, de ha ennek okára rájövünk, az kulcsot ad kezünkbe az emberi schistosomák fertőzési mechanizmusának megértéséhez is.

Munkám során megállapítottam, hogy a *S. turkestanicum* gyakran előfordul a *Fascioloides magna* mótelyekkel együtt, és bár a Gemenc nedves területein a lándzsásmótely fertőzöttség eleve nem lehet gyakori az árteret érhetően nem kedvelő hangyák hiánya miatt, mégis megállapítottam *Dicrocoelium dendriticum* és *S. turkestanicum* vegyes fertőzöttséget is. Ezek a vegyes fertőzöttségek arra utalnak, hogy a májban élő mótelyek egymás ellen nem indukálnak immunitást a gazdában, tehát ha a vérmótelyek ellen egyáltalán valamiféle immunitás kifejlészthető, annak nagyon specifikus természetűnek kell lennie, hogy protektív legyen.

A szavasborjak fertőzöttsége arra enged következtetni, hogy a mótely egy év alatt elérí az ivarérettséget ebben a gazdában. A vizsgálat módjából adódóan arra esélyem sem volt, hogy a mótelyek élettartamát megbecsüljem, de annyit ki lehet jelteni, hogy mivel az idősebb és fiatalabb állatok mája egyaránt tartalmazott mótelyeket, a *S. turkestanicum* vagy évekig perzisztál a fertőzött gazdában, vagy minden korosztály fogékony a fertőzöttségre. Járványtani szempontból ez azt jelenti, hogy minden életkorú szarvas, a legfiatalabbaktól eltekintve (amelyeket természetesen vizsgálni nem lehet) potenciálisan mótelyhordozónak tekinthető. Ezt figyelembe kell venni például abban az esetben, ha Gemencről élő szarvasokat kívánnak telepíteni más területekre, netán külföldre.

A fertőzöttséget nem könnyű kimutatni, sem a lőtt vad májából, sem az élő állat ürülékéből. Vizsgálataim során egyértelműen megállapítottam, hogy a boncolás során feltétlenül parazitológiai vizsgálatnak kell alávetni a májat, hogy ha meg akarjuk találni a

vérmételyeket. A szervből kimosott férgek bizonyítják a *S. turkestanicum* fertőzöttséget. Sok esetben még az alapos vizsgálattal is csak a hímek találhatók meg, de azok is elegendőek a parazita felismeréséhez. A májszövet elfolyósításával kimutatott peték is elegendőek a *S. turkestanicum* fertőzöttség diagnózisának felállításához. Ez az eljárás akkor lehet nagyon hasznos, ha az egyébként egészségesnek tűnő máj nem tartalmaz férgeket, például azért mert a paraziták már bármely ok miatt elpusztultak benne, vagy a májdarab nem tartalmaz olyan ereket, amelyben a mételyek éltek, vagy esetleg a kivéreztetéskor kiürültek a szervből.

Általánosan megfigyelt jelenség, hogy a *Schistosoma*-fajoknál az ivararány a hímek javára tolódik el (Beltran és Boissier, 2010). A különálló egyedek észlelésének egyik oka az lehet, hogy a párok a gazda halálát követően azonnal szétválnak egymástól.

A májmintákból ki tudtuk mutatni az adult parazitát, és ivari produktumát is, ugyan akkor megállapíthatjuk, hogy nincs szoros összefüggés a mételyek száma és a peték mennyisége között, mert ez utóbbiak jóval a férgek pusztulása után is a májban maradhatnak, sőt hiányozhatnak is, ha a szerv csak fiatal mételyeket, vagy csak hím férgeket tartalmaz. Így kijelenthető, hogy a két eljárás eredménye nem mindig fedi egymást

Eredményeim azt látszanak alátámasztani, hogy a májban lévő peték zöme életképtelen, és ugyanaz mondható el a bélsárral ürülő petékről is. Mivel egyetlen miracidiumból sok ezer cercária tud képződni a köztigazda csigában, a petéknek ez a nagyarányú pusztulása járványtani szempontból nem jelentős, de fontos figyelembe venni akkor, ha laboratóriumi körülmények között akarunk fertőzést létrehozni. Akkor is figyelembe kell venni ezt a tényt, ha a humán széklet vizsgálatához hasonlóan, a miracidium kikeltetésével szándékoznánk kimutatni az ürülékben lévő vérmétely peték jelenlétét. Mivel ennek az egyszerűnek és érzékenynek tartott módszerrel nekem soha nem sikerült megbízhatóan kimutatnom a *S. turkestanicum* peték jelenlétét a mintákban, más módszert kellett keresnem a kimutatásokra.

Az általam alkalmazott petekimutatási módszert sok próbálkozás után fejlesztettük ki, miután meggyőződünk arról, hogy a hagyományosan használt, ülepítésen és felszindúsításon alapuló koproduktosztikai eljárások önmagukban nem alkalmasak a vérmételypeték jelenlétének detektálására. A módszer kifejlesztésének lényeges ösztönzője volt az a törekvés, hogy a vadak hullatékából is ki tudjuk mutatni a vérmételyes fertőzöttséget, ne csak a lőtt vad szerveiből. Csak ilyen módon remélhető az, hogy nagyobb mintaszám vizsgálatával legyen lehetőségünk több területen utánajárni a vérmételyes fertőzöttség meglétének vagy hiányának.

Mivel a talajon lévő hullatékban a peték tönkremenetele miatt a kimutatás esélye csökken, ahhoz az állapothoz képest, amikor közvetlenül a béltartalomról próbálnánk meg

azokat kimutatni, eleve nagyon kevés felismerhető, megtalálható petére számíthatunk a hullatékok vizsgálata alkalmával. A koncentrálni vagyis dúsítani módszert ezért még hatékonyabbá kellett tenni az egyéb parazita peték kimutatásánál alkalmazott eljárásokhoz képest.

Az általam kidolgozott eljárás összeköti a nehéz (nagy fajsúlyú) peték kimutatásánál alkalmazott ülepitéses dúsítás és a könnyű peték kimutatásánál alkalmazott felszindúsítás előnyeit. A vizes ülepitéssel eltávolítható növényi anyagok kiszűrésével és az emelkedő fajsúlyú flotáló oldatok alkalmazásával a vérmétely peték, legalább egyes frakciókban olyannyira koncentrálnak, hogy megtalálhatók még abban az esetben is, ha 100 grammnyi hulladékban csak néhány van belőlük. Ezt azért tekinthetjük jelentős eredménynek, mert például a jelenleg alkalmazott orvosi diagnosztikai vizsgálatok alkalmával is megelégszenek azzal, hogy a fertőzöttség kimutatható abban az esetben, ha a széklet 10-100 petét tartalmaz grammonként (Bustinduy et al. 2014).

Az általam alkalmazott eljárás előnyös abban a tekintetben is, hogy egyéb mótelyek petéinek jelenléte esetében is ki lehet vele mutatni a vérmétely-petéket jelenlétét. Ennek az állatok bélsarának vizsgálatakor nagy jelentősége van, ha például a gazda májmetellyel is erősen fertőzött. Az általam alkalmazott szűrés eltávolítja a *S. turkestanicum* petéknél nagyobb és náluknál jóval kisebb mótelypetéket is (például a *Fascioloides* és a *Dicrocoelium* petéket), illetve a vérmétely-petéket erős színeződése jól elkülöníthetővé teszi azokat mindenféle egyéb petétől. A fukszin festés nagyon segíti a peték hatékonyabb megtalálását és lerövidíti a mikroszkópos vizsgálatok idejét. Ez nem elhanyagolható tény akkor, ha figyelembe vesszük azt, hogy minden mikroszkópos vizsgálat legnagyobb változó hibája a vizsgáló személy fáradékonysága, aminek minimálisra való csökkentése kívánatos.

Úgy vélem, hogy az általam alkalmazott frakcionált flotációval és a vérmétely peték feltűntetésére alkalmazott piros színezéssel olyan eljárást sikerült kifejleszteni, amely alkalmas lehet nem csak a *S. turkestanicum*, hanem más vérmétely-fajok bélsarából való kimutatásra is. Nem valószínű, hogy Magyarországon egyéb emlős vérmételyek előfordulhatnak, de mint ahogy az is valószínűtlennek tűnhet, hogy egy ázsiai mótely az őshonos európai szarvasokban előforduljon, ez a lehetőség nem zárható ki. Szardínia szigetére behurcolták a *S. turkestanicum* mótelyt és Spanyolországban gondot okozott az Afrikából behurcolt *S. bovis* azokban a marhákban, amelyeket bikaviadalokra használtak (Loker és Hofkin, 2015). Ilyen megfontolás alapján Magyarország sem olyan földrajzi régió, ahol egzotikus vérmételyek megtelepedése elképzelhetetlen. A szabad tartásos bivalyak például dagonyázó szokásuk miatt potenciálisan ki vannak téve a bovin schistosomák inváziójának, amelyeket import tenyészállatokkal lehet behurcolni. Amennyiben szükség volna a domesztikált kérődzők koprológiai vizsgálatára az esetleges vérmétely fertőzöttség

kiderítése céljából, a frakcionált flotáció alkalmazásával ez bizonyosan megoldható.

A magyarországi víziszárnyasokban és halakban már kimutattak vérmételyeket (Edelényi, 1974). Ezeknek a gazdafajoknak a vérmételyes fertőzöttségét nem szokták bélsárvizsgálattal megállapítani, hanem csak boncolással. A vérmételyek megtalálása a kistestű állatokban nagyon nehéz, mert e paraziták maguk is kicsik és olyan szervekben élnek, amelyek erei nehezen vizsgálhatók (pl. kopoltyú, szem körüli vénák, arcüregi vénák, tüdőerek). Mivel a frakcionált felszínűsítés nemcsak bélsárral, hanem szövetszuszenzióval is elvégezhető, feltételezem, hogy alkalmas azoknak a petéknek a kimutatására is, amelyeket a madarak vagy a halak vérmételyei juttatnak be a gazdájuk különféle szöveteibe. Ha a madár és hal vérmételyek petéi ilyen módon megtalálhatók lennének, nagyobb valószínűséggel ismernénk fel a fertőzött állatokat. Ebben az esetben az összegyűjtött petékből elvégezhetőek lennének olyan molekuláris biológiai vizsgálatok, amelyeknek segítségével akkor is meg lehetne határozni a métely fajtát, ha morfológiai vizsgálatokra alkalmas példányt nem sikerülne belőle gyűjteni.

6.2. *A R. auricularia* magyarországi státusza és elkülönítése

A helyi parazita fauna azokhoz a csigákhoz alkalmazkodik, amelyek a legrégebben élnek az adott területen, és ez a mételyek endemikus előfordulásának magyarázata (Kotlán, 1944; Lotfy et al., 2008). Arra a jelenségre, hogy az együttélés tartama fokozza a közös paraziták és más kórokozók előfordulását, konkrét bizonyíték az, hogy minél régebben házasítottak egy állatfajt, annál több a közös patogén ágenseinek száma az emberével (Loker és Hofkin, 2015). A behurcolt csigák az új hazájukban nem fertőzöttek mételyekkel és azt a tényt a mételyhordozó fajok visszaszorítására is felhasználják (Madsen, 1989). Ezért volt fontos a *R. auricularia* őshonosságának vizsgálata.

A *R. auricularia* őshonossága a fosszilis leletek és az általam végzett vizsgálatok alapján nem kérdőjelezhető meg, de mindenképpen magyarázatra szorul az a furcsa helyzet, hogy a csiga a többi 5 rokonához képest (*R. labiata*, *R. balthica*, *L. Stagnalis*, *Stagnicola palustris*, *Galba truncatula*) nemcsak, hogy a legritkább, hanem élőhelyei elsősorban emberi tevékenységgel kialakított területekre esnek. Bár fentebb említett rokon fajaiknak jó néhány populációja előfordul szünantróp környezetben (például halastavakban, esővíz levezető útszéli árkokban, sőt úti pocsolyákban is), (Majoros Gábor személyes közlése), azok általában mégis csak a természetes élőhelyükön gyakoribbak. A *R. auricularia* csak egy évig él, és a telet a víz hőmérsékletétől függően juvenilis vagy adult csiga formájában vészeli át.

Eger városának központi parkjában, az Érsek-kertben például adult példányok találhatóak még a tél közepén is egy meleg vizű tóban, amit a városi strand vizének biztosítására fűrt artézi kút táplál. Ez a vitathatatlanul mesterséges élőhely tökéletes környezet a csiga számára, mert a tóban mindig van belőle élő példány - pedig a víz a közterületeken lévő medencék állapotának megfelelően nem is nagyon tiszta.

Az említett példát az általam készített elterjedési térképek általánosságban is megerősítik, amennyiben mutatják, hogy a csiga magyarországi élőhelyeinek többsége (81 hely) olyan, amit emberi beavatkozás alakított ki, vagy megváltoztatta természetes jellegét. Noha a *R. auricularia* minden élőhelyét felkeresni nem tudtam, a csiga meleg víz kedvelő természetét nemcsak az egri előfordulás, de több más élőhelyi adat is alátámasztotta (lásd Eredmények: 89. oldal).

Ezt a szituációt úgy tudom értelmezni, hogy a *R. auricularia* voltaképpen egy reliktum-faj, amely a földtörténeti múlt egy olyan szakaszából maradt itt, amikor a klíma a jelenleginél melegebb volt. A hozzá legjobban hasonlító lymnaeida fajok Afrikában (*L. natalensis*), Közép-Ázsiában (*L. gedrosiana*) élnek és maga a *R. auricularia* előfordul egész Ázsiában is. Vizsgálódásaim keretét meghaladja a *R. auricularia* eredetének tisztázása, de azt megállapítottam, hogy a hazai populációk cox-1 szekvenciái mind az európai csoportba tartoznak.

Az 24. ábrán látható ágak rövidsége az európai populációk között arányos a köztük lévő genetikai távolsággal, ami lényegesen kisebb, mint az európai és ázsiai populációcsoportok egymástól való távolsága. Ez az állapot a földtörténet viszonylag közeli múltjában, talán a jégkorszak végén bekövetkezett betelepülést jelez. A *R. auricularia* tehát valószínűleg később kolonizálta Európát, mint a többi őshonos Lymnaeida csiga, és megőrizte melegkedvelő természetét. Ezért nem indokolatlan az a tény, hogy éppen ez a csiga a köztigazdája az Ázsia melegebb tájairól származó *S. turkestanicum* mótelynek Európában is. Ha ez az állítás helyes, akkor a további kutatást olyan területeken kell végezni, ahol a *R. auricularia* a szabad természetben is megél.

Valószínűleg az sem véletlen, hogy a csiga a Gemenc sekély tavaiban és holtágaiban fennmaradt, mert ezek a vizek nyáron nagyon felmelegednek. A kiszáradást kompenzálhatja az, hogy a nagy árterületen mindig van olyan víz, amelyikben a csiga átvészeli a kedvezőtlen időszakokat, és az időszakos árvíz elterjeszti példányaikat olyan vizekben is, ahol azelőtt nem éltek, vagy korábban kipusztultak. Ez a változó környezet valószínűleg megfelel a rövid életű csigának, és mindig van olyan zuga a holtágakkal és vízfolyásokkal szabdalta erdőségeknek, ahol prosperáló-állományai vannak. Magam is tapasztaltam, hogy a csiga nem minden évben található meg mindegyik élőhelyen, és ez

összhangban van azzal is, hogy a „vízi rühösséget” elszenvedő személyek különféle helyeket jelöltek meg fertőzési pontokként, amelyeken a vizsgálatunk alkalmával már csigákat nem találtunk.

A Gemenchez hasonló, változó vízszintű mocsarak és folyóágak Magyarország területén máshol alig találhatók. Ha mégis további kutatás céljára alkalmas helyet kellene megjelölnöm, akkor a Szigetközt és a Kis-Balaton környékét tartanám a legalkalmasabbnak a *S. turkestanicum* további hazai elterjedésének vizsgálatára. Országhatáron túli léptékben gondolkodva, valószínűleg a Duna-delta vidéke lenne még az a hely, ahol a *S. turkestanicum* előfordulását érdemes lenne megvizsgálni. Mivel azon a területen is sok őshonos faj él, és az emberi hatások viszonylag csekélyek, jó esélyt látok, arra, hogy a *S. turkestanicum* újabb endemikus előfordulását ki lehessen mutatni ott.

Annak tudatában, hogy a *R. auricularia* bizonyosan köztigazdója a *S. turkestanicum* mótelynek, és feltételezve azt, hogy reliktum-faj, a természetes élőhelyen való előfordulása nagy jelentőségű a vérmótely szempontjából. Ezért fontos az elkülöníthetősége a többi, hozzá hasonló csigától. Megállapítottam, hogy a héj felületi skulptúrája, a héj csúcsának formája, a köpeny és a talp festenyezettsége a leghasználhatóbb bélyege a faj példányainak felismerésekor. A héj utolsó kanyarulatának alakja és az ivarszerveken megfigyelhető morfológiai jellegzetességek bár még karakterisztikusabban jellemzik a fajt mint az előbb említettek, azok kizárólag csak teljesen kifejlett, ivarérett egyedeken ismerhetők fel, amelyek csak igen kis hányadát alkotják a populációknak. Ezért fontos, hogy a parazitológiai célú gyűjtések alkalmával minden morfológiai tulajdonságot figyelembe vegyünk, ami segít a faj felismerésében. Ha egyes élőhelyeken nem tudunk élő példányokat találni, például azért mert a *Radix* populációk éppen kipusztultak a szárazság vagy a fagy miatt, a víz partján heverő héjak alapján is meg tudjuk állapítani, hogy élhetett-e ott *R. auricularia* vagy sem. Hasonló helyzet adódhat akkor is, ha csak juvenilis egyedeket találunk, mert ezek identifikálása sokkal nehezebb, mint az ivarérett példányok azonosítása. Ha az élő, ivarérett példányok hiányában is megbízhatóan tudjuk meghatározni a gyűjtött csigákat, nem kell arra várni, hogy egy élőhelyen ilyeneket találjunk, hanem az év bármelyik szakaszában tudunk identifikációra alkalmas héjat vagy kifejletlen csigát gyűjteni. Az általam felismert morfológiai jellegzetességek vizsgálatával remélhetőleg a jövőben több *Radix auricularia* és *Radix balthica* populációt tudnak elkülöníteni egymástól, és nem lesz szükség „gyűjtőfaj” fogalma alatt összevontan kezelni ezeket a csigákat, amikor előfordulásukat regisztrálni akarjuk egy-egy élőhelyen.

6.3. *S. turkestanicum* cercáriáinak kimutatása vízből

A cercária dermatitist okozó vérmétely cercáriák jelenlétét mindig annak alapján állapítjuk meg, hogy az emberek egy adott helyen elszenvedték-e ezt a lárvainváziót vagy sem? Nem tudunk arról, hogy bárkinek is sikerült volna előre jelezni a cercária előfordulását a bekövetkezett emberi kontamináció előtt. Az emberi vérmételyek cercáriáinak vízből való kimutatását többen is megkísérelték (Sandt, 1973.; Barret, 1965), de gyakorlatban alkalmazható módszer - úgy tűnik - nem született. Az általam alkalmazott, úszó szűrővel történő cercária gyűjtés eredményesnek mutatkozott egy olyan élőhelyen, ahol biztosan számíthattunk *S. turkestanicum* cercáriák előfordulására, de az még kérdéses, hogy olyan helyen is hatékonyan szűri ki a mételylárvákat a vízből, ahol bizonytalan a cercáriák előfordulása. Az eljárás hasznos volt annak bizonyítására, hogy az általam vizsgált métely cercáriái is a víz felszínén tartózkodnak, miként az emberi schistosomák cercáriái is. Bár ez önmagában nem meglepő eredmény, megerősíteti azt a törekvést, hogy a vízfelszínről kell gyűjteni a cercária dermatitist okozó *Schistosoma* lárvákat, ha a jelenlétüket fel akarjuk ismerni. Eddig az ilyen cercáriák vizsgálata úgy történt, hogy az emberi kontaktust követően csigákat gyűjtöttünk azon a helyen, ahol az eset történt, és azokban kerestük a lárvákat. Az ilyen eljárással post festum többnyire ki lehet deríteni a dermatitisz okát, de kívánatosabb volna előre jelezni a lehetséges lárvainváziót. A természetes víz szűrésével megkísérelt cercária kimutatás is kétséges eredményű, mert kis esély van arra, hogy éppen a mintavétel idejében rajzanak a cercáriák, de éppen ugyanilyen kis esély van a taláalomra végzett csigagyűjtéssel megtalálni a fertőzött köztigazdákat. Amennyiben egy „vízi rühösséghez” hasonló bántalom okának kiderítése szükségessé válik, a víz szűrés és a köztigazdák gyűjtésén alapuló járványtani vizsgálatokat egyaránt javasolni lehet.

6.4. *A S. turkestanicum* dermatitist előidéző képességének vizsgálata

Magyarországon és egyben Európában elsőként mutattuk ki egy emlős vérmétely által okozott cercária dermatitisz eredetét, és ezzel bebizonyítottuk, hogy kontinensünkön is lehetséges állati schistosomák által okozott fertőzés az emberben. A *S. turkestanicum* ilyen természetű viselkedése Ázsiában már elég széles körben ismert volt, ezért az önmagában nem különleges megfigyelés, mégis érdekes abból a szempontból, hogy egy múlt század eleje óta ismert furcsa tünet eredetét tisztázta. A gemenci halászok „vízi rühössége” manapság

valószínűleg ritkán jelentkezik, de okának kiderítése felhívja a figyelmet a cercária dermatitisz előfordulásának lehetőségére Magyarországon. Feltételezhető, hogy a Balatonban vagy más vizekben fürdőző emberek néha jelentkező bőrbántalmi hasonló okokra vezethetők vissza, amelyeket madarak vérmételyei okoznak.

A *S. turkestanicum* által előidézett emberi dermatitisz leírása egyébként felhívta a magyar orvosok figyelmét a jellegzetes tünetekre, másrészt az eset vizsgálata bebizonyította, hogy a cercáriák eredetének kiderítése csak azáltal lehetséges, hogy fajspecifikus szerológiai módszereket alkalmazunk a páciensen. Ennek érdekében fajspecifikus antigének és fajspecifikus ellenanyagok előállítására van szükség. Ahhoz, hogy ez megoldható legyen, számításba kell venni, hogy melyek azok a mételyfajok, amelyek egy adott területen dermatitiszt képesek okozni az emberben, és ez inkább állatorvosi feladat, mint az orvosokat érdeklő probléma.

A cercária dermatitisz előidézésére képes mételylárvák felismerése első lépésben az általunk is alkalmazott egér modellen vizsgálható. Ha egy emlősállat bőrébe képes behatolni a cercária, nem zárható ki, hogy az ember bőrébe is be tud hatolni. Magától értetődő, hogy egy ismeretlen cercária dermatitiszt okozó képessége nem vizsgálható közvetlenül az emberben, mert nem tudhatjuk előre annak következményeit. Esetünkben csak azért vizsgálhattuk meg a *S. turkestanicum* dermatitisz okozó képességét egy önként vállalkozó személyen, mert a métely fajának ismeretében tudtuk, hogy ez a faj soha nem fejlődik ki emberben, illetve a kísérletre vállalkozó személy korábban természetes körülmények között szerzett ilyen dermatitiszt, aminek bizonyíthatóan nem volt tartós következménye.

A madarak vérmételyeitől és egyéb emlős vérmételyektől eredő cercária dermatitisz vizsgálatára a mesterséges egér fertőzési kísérletet lehet javasolni. Ennek segítségével el lehet dönteni, hogy a métely cercáriák behatolnak-e a bőrbe, illetve bizonyos esetekben azt is, hogy ha behatoltak a kísérleti állatba, vajon továbbfejlődnek-e abban? Az emberi schistosomák mindegyikét fenn tudják tartani laboratóriumi rágcsálókban (egerekben, patkányban, aranyhörcsögben (Malek, 1980)) és ez azt bizonyítja, hogy a rágcsálók, de legalábbis a mókus formájúak közé tartozó fajok (Sciuromorpha) rágcsálók nagyon érzékenyek a vérmétely fertőzésre. Saját vizsgálataim egyelőre azt látszanak alátámasztani, hogy a *S. turkestanicum* legalább bizonyos ideig túlél a fertőzött egérben, ezért ez az állat alkalmas lehet hasonló vérmétely-fajok inadekvát gazdáiban történő viselkedésének vizsgálatára.

7. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Vizsgálati módszert dolgoztam ki a májban lévő vérmétely peték kimutatására, amely akkor hasznos, ha a vizsgálni kívánt szervmintában nem található métely.
2. A szarvasok hullatékában lévő *S. turkestanicum* peték kimutatására egy kombinált eljárást dolgoztam ki, amely egyesíti magában az ülepítéssel dúsítás, a felszíndúsítás 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 vérmétely 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 gímszarvas.
7. Magyarországon először mutattam ki cercáriákat közvetlenül az élőhelyen, a természetes vízből.

8. IRODALOMJEGYZÉK

- Abdussalam, M. és Sarvar, M.H. (1952), 'Occurrence of *Ornithobilharzia turkestanicum* in Pakistan', *Proc 4th Pakistan Sci Conf*, Vol. 3. p. 143.
- Alarcón de Noya, B., Noya, O., Balza´ N.C. és Cesari, I.M. (1992), 'New approaches for the control and eradication of schistosomiasis in Venezuela', *Memo´ Rias Do Instituto Oswaldo Cruz*, Vol. 87, pp. 227–231.
- Allgoewer, R. (1990), 'The trematode fauna of several Freiburg dredging pools with special regard to the pathogen of cercarial dermatitis in humans', *Mitteilungen Des Badischen Landesvereins Fuer Naturkunde Und Naturschutz E V Freiburg Im Breisgau*, Vol. 15 No. 1, pp. 59–80.
- Appleton, C.C. (1984), 'Schistosome dermatitis – an unrecognized problem in South Africa?', *S Afr Med J*, Vol. 65 No. 12, pp. 467–469.
- Arfaa, F., Sabaghian, H. és Ale-Dawood, H. (1965), 'Studies on *Ornithobilharzia turkestanicum* (Skrjabin 1913), Price 1929 In Iran', *Ann Parasitol Humaine et Comparee*, Vol. 40., pp. 45–50.
- Asitinskaya, S.E. (1975), 'The role of mollusks as benthos components in purification of water bodies from *Ascaris suum* eggs', *Paraziologiya*, Vol. 9 No. 5, pp. 432–433.
- Attwood, S.W., Meng, X.H., Southgate, V.R., Upatham, E.S. és Qiu, D.C. (2002), 'The phylogeography of Asian *Schistosoma* (Trematoda: Schistosomatidae)', *Parasitology*, Vol. 125., pp. 99–112.
- Azimov, D.A. (1965), '*Ornithobilharzia turkestanicum* in sheep and cattle in Uzbekestan-Ussr (in Russian)', *Trudy Uzbek, Nauchnoissled Inst Vet*, Vol. 17., pp. 9–10.
- Azimov, D.A. (1966), 'Epidemiology of *Ornithobilharzia turkestanicum* infection in ruminants (in Russian)', *Veterinaria Moscow*, Vol. 43., pp. 50–52.
- Azimov, D.A. (1971), 'Ontogeny of *Orientobilharzia turkestanica* (Skrjabin, 1913) trematode', *Uzbekskiy Biologitseskiy J*, Vol. 2, pp. 49–52. (in Russian).
- Azimov, D.A. és Nurmukhamedov, K.N. (1968), 'New data on the biology of trematoda *Ornithobilharzia turkestanicum*', *Zool Zhurnal*, Vol. 48., pp. 1471–1478. (in Russian)
- Bai, G.M., Liu, Z. és Liu, Z.M. (1963), 'Survey and research of the etiology of Swimmer's Itch in Jilin province. I. *Orientobilharzia turkestanica* and its relations associated with rice paddy itch', *Proceedings of Scientific Conference in Parasitology*, pp. 167–168.

- Baker, F.C. (1902), 'The Mollusca of the Chicago Area, Part II. Gastropoda. Bulletin No. III. of the Natural History Survey', *The Chicago Academy of Sciences*, Vol. 418, pp. 408–409.
- Bandelt, H.J., Forster, P. és Röhl, A. (1999), 'Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies', *Mol Biol Evol*, Vol. 16 No. 1, pp. 37–48.
- Barbosa, F.S. és Coimbra, C.E.J. (1992), 'Alternative approaches in schistosomiasis control', *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Vol. 87., Suppl, pp. 215–220.
- Bargues, M.D., Vigo, M., Horák, P., Dvořák, J., Patzner R., A., Pointier, J.P., Jackiewicz, M., et al. (2001), 'European Lymnaeidae (Mollusca: Gastropoda), intermediate host of trematodiasis, based on nuclear ribosomal DNA ITS2 sequences', *Infection, Genetics and Evolution*, Vol. 1., pp. 85–107.
- Barret, P. D. és Ellison, P.R. (1965) 'A continuous flow centrifuge for testing the presence of *Bilharzia cercariae* in water. *The Central African journal of medicine*, Vol. 11., pp. 338-340.
- Bearup, A.J. és Langsford, W.A. (1966), 'Schistosome dermatitis in association with rice growing in the northern territory of Australia', *Medic J Aust*, Vol. 1 No. 13, pp. 521–525.
- Beltran, S. és Boissier, J. (2010), 'Male-biased sex ratio: why and what consequences for the genus *Schistosoma*?', *Trends Parasitol*, Vol. 26 No. 2, pp. 63–69.
- Bhalerao, G.D. (1932), 'On the identity of the Schistosome found in cases of bovine nasal granuloma and some observations on a few other members of the Schistosomidae', *Indian, J of Vet Sci and An Husb*, Vol. 2 No. 4, pp. 338–356., ref.21.
- Blankespoor, H.D. és Reimink, R.L. (1991), 'The control of swimmer's itch in Michigan: Past, present, future', *Michigan Academician*, Vol. 24., pp. 7–23.
- Boev, C.H. (1944), 'No Title', *Trudy Inst Vet Alma-Ata*, Vol. 3., pp. 130–131. (*in Russian*)
- Boisier, P., Bosqué-Oliva, E., Dembelé, R., Fenwick, A., Garba, A., Koukounari, A., Tohon, Z., et al. (2009), 'Present and future schistosomiasis control activities with support from the Schistosomiasis Control Initiative in West Africa', *Parasitology*, Vol. 136 No. 13, pp. 1731–1737.
- Boshko, E.G. (1993), 'New species of ciliophoran infusoria genus *Mantoscypthidia* (Peritricha) from fresh water mollusks', *Vestnik Zoologii*, Vol. 0 No. 6, pp. 14–19.
- Brant, S.V. és Loker, E.S. (2005), 'Can specialized pathogens colonize distantly related hosts? Schistosome evolution as a case study', *PLoS Pathogens*, Vol.1 No 3; pp. 167-169.
- Bush, A.O., Fernández, J.C., Esch, G.W. és Seed, J.R. (2001), 'Parasitism: The diversity and ecology of animal parasites', *Cambridge University Press*, pp. 118–123.

- Bustinduy, A.L., Colley, D.G., King, C.H. és Secor, W.E. (2014), 'Human schistosomiasis', *Lancet*, Vol. 28 No. 383(9936), pp. 2253–2264.
- Caldas, I., Campi-Azevedo, A., Oliveira, L., Silveira, A., Oliveira, R. és Gazzinelli, G. (2008), 'Human schistosomiasis mansoni: Immune responses during acute and chronic phases of the infection', *Acta Tropica*, Vol. 108 No. 2–3, pp. 109–117.
- Candrian, U. és Lüthy, J. (1991), 'Molekularbiologische Methoden in der Lebensmittelanalytik', *Chimia*, Vol. 45, pp. 49–52.
- Centers for Disease Control és Prevention. (2014), 'Parasites – schistosomiasis', <http://www.cdc.gov/parasites/schistosomiasis/>.
- Chandler, A.C. (1926), 'A new schistosome infection of man with note on other human fluke infection in India', *Indian Journal of Medical Research*, Vol. 14, pp. 179–183.
- Chung, D.I., Joo, H.H. és Kong, C.-Y. (1998), '*Radix auricularia* coreana: natural snail host of *Clinostomum complanatum* in Korea', *Korean Journal of Parasitology*, Vol. 36 No. 1, pp. 1–6.
- Clarke, A.H. (1981), 'The freshwater molluscs of Canada, National Museum of Natural Sciences', *National Museums of Canada, Ottawa, Canada*, p. 447.
- Colley, D.G., Bustinduy, A.L., Secor, W.E. és King, C.H. (2014), 'Human schistosomiasis', *Lancet*, Vol. 383 No. 9936, pp. 2253–2264.
- Correa-Oliveira, R., Dusse, L.M.S., Vianal, R.C., Colley, D.G., Carvalho, O.S. és Gazzinelli, G. (1988), 'Human antibody responses against schistosomal antigens. I. Antibodies from patients with *Ancylostoma*, *Ascaris lumbricoides* or *Schistosoma mansoni* infections react with schistosome antigens', *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Vol. 38, pp. 348–355.
- Cort, W.W. (1928), 'Schistosome dermatitis in the United States (Michigan)', *J Am Medic Assoc*, Vol. 90 No. 13, pp. 1027–1029.
- Curwen, R.S. és Wilson, R.A. (2003), 'Invasion of skin by schistosome cercariae: some neglected facts', *Trends Parasitol*, Vol. 19 No. 2, pp. 63–66.
- Csepregi, A., Izápy, G. és Klecskó, B. (2004) 'A tatai források és vízműutak vizsgálata', *Hidrológiai Tájékoztató*, pp. 52-58.
- Doenhoff, M.J., Cioli, D. és Utzinger, J. (2008), 'Praziquantel: mechanisms of action, resistance and new derivatives for schistosomiasis', *Current Opinion in Infectious Diseases*, Vol. 21 No. 6, pp. 659–667.
- Dunne, D.W., Heukelbach, J., Kinung'hi, S.M., Mazigo, H.D., Morona, D., Nuwaha, F., Pinot de Moira, A., et al. (2012), 'Epidemiology and control of human schistosomiasis in Tanzania',

Parasit Vectors, Vol. 28 No. 5, p. 274.

Dutt, S.C. és Srivastava, H.D. (1952), 'On the morphology and life history of a new mammalian blood-fluke- *Ornithobilharzia dattai* n.sp. (preliminary report)', *Indian Veterinary Research Institute, Izatnagar, India*, pp. 144–150.

Dutt, S.C. és Srivastava, H.D. (1955), 'A revision of the genus *Ornithobilharzia* Odhner, 1912 (trematoda schistosomatidae)', *Proc 42nd Sci Congr*, part 3 (abstract), p. 285.

Dutt, S.C. és Srivastava, H.D. (1964), 'Studies on the life-history of *O. turkestanicum* (Skrjabin, 1913) Dutt and Srivastava, 1955 (preliminary report)', *Current Science*, Vol. 33, pp. 752–753.

Edelényi, B. (1974): 'Mételyek II. - Trematodes II. Közvetett fejlődéstí metelyek-Digenea. In: Magyarország Állatvilága II.', *Akadémiai Kiadó*, pp. 343.

Egri, B. és Sztojkov, V. (1999), 'Újabb megfigyelések az Északnyugat-magyarországi gímszarvasok *Fascioloides magna* fertőzöttségéről', *Magy Áo Lapja*, Vol. 120, pp. 304–305.

Falniowski, A. (1980), 'Pigmentation of the mantle border in Polish representatives of the subgenus *Radix* (Lymnaeidae, Basommatophora, Gastropoda)', *Basteria*, Vol. 11 No. 1–4, pp. 3–8.

Ferte, H., Depaquit, J., Carre, S., Villena, I. és Leger, N. (2005), 'Presence of *Trichobilharzia szidati* in *Lymnaea stagnalis* and T-franki in *Radix auricularia* in northeastern France: molecular evidence', *Parasitology Research*, Vol. 95 No. 2, pp. 150–154.

Fodor, T. (1978), 'Szarvasaink', *Nimród*, Vol. 9, pp. 404–405.

Garba, A., Lamine, S.M. és Shiff, C. (2011), 'Diagnosis of *Schistosoma haematobium* by detection of specific DNA fragments from filtered urine samples', *Am J Trop Med Hyg*, Vol. 84, pp. 998–1001.

Gibson, D.I., Jones, A. and Bray, R. A. (2002), 'Keys to the Trematoda.', *CABI Publishing, Nosworthy Way, Wallingford*.

Giver, H., Johansen, M. V., Christensen, N.O., Bøghb, H. és Nansen, P. (1999), 'Peroral infection of pigs with *Schistosoma japonicum* cercariae', *Vet Parasitol*, Vol. 83 No. 2, pp. 161–165.

Glöer, P. (2002), 'Die Süßwassergastropoden Nord- und Mitteleuropas. In: Die Tierwelt Deutschlands 73', *Conchbooks, Hackenheim*.

Guan, X., Qiu, Z., Mai, L., Tao, R., Wu, Y., He, Q., Wu, G., et al. (1991), 'The establishment and characterization of the anti-idiotypic monoclonal antibody-MP30 of *Schistosoma japonicum*', *Chin J Parasitol Parasitic Dis*, Vol. 9, pp. 261–264.

Haas, W. (1994), 'Physiological analyses of host-finding behaviour in trematode cercariae:

- adaptations for transmission success', *Parasitology*, Suppl. 109., pp. S15–S29.
- Haas, W., Granzer, M. és Brockelman, C.R. (1990), 'Finding and recognition of the bovine host by the cercariae of *Schistosoma spindale*', *Parasitol Res*, Vol. 76 No. 4, pp. 343–350.
- He, W., Zhu, Y., Hua, W. és Liu, Y. (2000), 'Development of a rapid immunodiagnosis assay for schistosomiasis-colloidal dye strip immunoassay', *Chin J Schisto Contr*, Vol. 12, pp. 18–20.
- He, Y.X., Ramaswamy, K. és Salafsky, B. (2005), 'Comparison of skin invasion among three major species of *Schistosoma*', *Trends Parasitol*, Vol. 21 No. 5, pp. 201–203.
- Hsu, H.F. (1938), '*Schistosoma turkestanicum* in North China', *Chinese Med J*, Vol. 54, pp. 508–570.
- Hsü, S. és Yang, P. (1957), 'A preliminary study on blood flukes of cattle and sheep in Kansu province, including descriptions of a new species', *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, Vol. 2, pp. 117–124.
- Huang, K., Jackson, S., Li, X. és Sleigh, A. (1998), 'Eradication of schistosomiasis in Guangxi, China, Part 1: Setting, strategies, operations, and outcomes, 1953-92', *Bull World Health Organ*, Vol. 76 No. 4, pp. 361–372.
- Hubendick, B. (1951), 'Recent Lymnaeidae', *Kungliga Svenska Vetenskaps-Akademiens Handlingar*, Vol. 3 No. 1, p. 222.
- Humphries, D., Nguyen, S., Boakye, D., Wilson, M. és Capello, M. (2012), 'The promise and pitfalls of mass drug administration to control infections', *Curr Opin Infect Dis*, Vol. 25 No. 5, pp. 584–589.
- Huňová, K., Kašný, M., Hampl, V., Leontovyč, R., Kuběna, A., Mikeš, L. és Horák, P. (2012), '*Radix* spp.: Identification of trematode intermediate hosts in the Czech Republic', *Acta Parasitologica*, Vol. 57, pp. 273–284.
- Inobaya, M.T., Olveda, R.M., Chau, T.N., Olveda, D.U. és Ross, A.G. (2014), 'Prevention and control of schistosomiasis: a current perspective', *Res Rep Trop Med*, Vol. 5, pp. 65–75.
- Jackiewicz, M. és Buksalewicz, R. (1998), 'Diversity in tentacle shape of European lymnaeid species (Gastropoda, pulmonata: Basommatophora)', *Biological Bulletin of Poznan*, Vol. 35 No. 2, pp. 131–136.
- Jánossy, D. (1986), 'Pleistocene vertebrate faunas of Hungary', *Elsevier Sci Publ Amsterdam, New York*, pp. 1–208.
- Jing, Z. (1983), 'Anatomy of the circulatory system of *Radix auricularia*', *Acta Zoologica Sinica*, Vol. 29 No. 2, pp. 133–140.

- Juhász, A., Dán, A., Dénes, B., Kucsera, I., Danka, J. és Majoros, G. (2016), 'A rare zoonosis in Hungary: cercarial dermatitis caused by *Schistosoma turkestanicum* blood-fluke', *Orvosi Hetilap*, Vol. 157 No. 40, pp. 1579–1586. (in Hungarian).
- Kassai, T. (2011), 'Helmintológia, 2. kiadás', *Magyar Állatorvosi Kamara, Budapest*.
- Kolárová, L. (2007), 'Schistosomes causing cercarial dermatitis: a mini- review of current trends in systematics and of host specificity and pathogenicity', *Folia Parasitologica*, Vol. 54, pp. 81–87.
- Kolárová, L., Gottwaldová, V., Cechová, D. és Sevcová, M. (1989), 'The occurrence of cercarial dermatitis in Central Bohemia', *Zentralbl Hyg Umweltmed*, Vol. 189 No. 1, pp. 1–13.
- Kolárová, L., Horak, P. és Sitko, J. (1997), 'Cercarial dermatitis in focus: schistosomes in the Czech Republic', *Helminthologia* (Bratislava), Vol. 34 No. 3, pp. 127–139.
- Kotlán, S. (1944), 'Parasitologia', *Magyar Országos Állatorvos-Egyesület*, p. 469.
- Kóhalmy, T. (1999), 'Vadászati enciklopédia', *Mezőgazda Lap- És Könyvkiadó Kft.*, p. 628.
- Krolopp, E. (1982), 'Verzeichnis der pleistozänen Mollusken Ungarns. (A magyarországi pleisztocén Mollusca-fajok jegyzéke.) – Soosiana', Vol. 10–11, pp. 75–78.
- Kruatrachue, M., Bhaibulaya, M. és Harinasuta, C. (1965), 'Ornithobilharzia harinasutai sp. nov., a mammalian blood-fluke, its morphology and life-cycle', *Ann of Trop Med and Par*, Vol. 59., pp. 181–188.
- Kumar, F. és De Burbure, G. (1986), 'Schistosomes of animals and man in Asia', *Helminthol Abstr Ser*, Vol. A 55, pp. 469–480.
- Kumar, S., Stecher, G. és Tamura, K. (2016), 'MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets', *Molecular Biology and Evolution*, Vol. 33, pp. 1870–1874.
- Kumar, V. (1973), 'Studies on snail hosts of *Orientobilharzia turketanicum* (skrjabin, 1913) Dutt and Srivastava, 1955 (schistosomatidae: Trematoda) in India', *Ann. Soc. Belge Med. Trop.*, Vol. 53 No. 1, pp. 17–23.
- Kuo, S.C. (1946), 'Further studies on distribution of *Schistosomosis japonica* in Szechwan Province, china', *Journal of Parasitology*, Vol. 32 No. 4, pp. 367–368.
- Lavrov, L.I. (1964), '*Ornithobilharzia turkestanicum* infection of cattle in southern Uzbek. Ussr. (Parasite of farm animals in Kazakhstan in Russian)', Vol. 3, pp. 108–113.
- Lavrov, L.I., Panin, V.Y. és Uvalieva, K.K. (1968), 'Epizootiology of *Orientobilharzia* infection in Kazakhstan', *Materiali Seminara-Saveshchaniya Po Borbe S Gel'mintozami Sel.'-khoz. Zhivotnikh v Chimkente, Alma-Ata*, p. 87.

- Lavrov, L.I., Panin, V.Y. és Uvalieva, K.K. (1969), 'Life-cycle of *Ornithobilharzia turkestanicum* (Skryabin, 1913), and some problems of its epizootiology in Kazakhstan', *Mater Nauch Konf Vses Obshch Gel'mint*, pp. 226–230.
- Lawton, S. és Majoros, G. (2013), 'A foreign invader or a reclusive native? DNA bar coding reveals a distinct European lineage of the zoonotic parasite *Schistosoma turkestanicum* (syn. *Orientobilharzia turkestanicum* (Dutt and Srivastava, 1955)).', *Infect Genet Evol*, Vol. 14, pp. 186–193.
- Lawton, S.P., Hirai, H., Ironside, J.E., Johnston, D.A. és Rollinson, D. (2011), 'Genomes and geography: genomic insights into the evolution and phylogeography of the genus *Schistosoma*', *Parasit Vectors*, Vol. 4, pp. 131–141.
- Le Roux, P.L. (1958), 'The viability of *Schistosoma capense* (Harley, 1864) amended as a species', *Trans Roy Soc Trop Med Hyg*, Vol. 52, pp. 12–14.
- Leigh, J. és Bryant, D. (2015), 'POPART: full-feature software for haplotype network construction', *Methods in Ecology and Evolution* 6, pp. 1110–1116.
- Li, C.L. és Li, Z.H. (1980), 'Studies on the etiology of rice paddy itch in Heilongjiang Province', *Proceedings of the Second National Conference on Parasitosis of Domestic Animals*, pp. 129–131.
- Li, L., Yu, L., Zhu, X., Wang, C., Zhai, Y. and Zhao, J. (2008), '*Orientobilharzia turkestanicum* is grouped within African schistosomes based on phylogenetic analyses using sequences of mitochondrial genes', *Parasitology Research*, Vol. 102 No. 5, pp. 939–943.
- Li, P.H. és Tian, W.Z. (1980), 'Survey and studies of the etiology of Swimmer's itch in Lasa', *Proceedings of the Second National Scientific Conference on Parasitic Diseases of Domestic Animals*, pp. 131–132.
- Li, Y. (1991), 'Immunology and Immunodiagnosis of Parasitic Diseases', *Jiangsu Science Technology Publishing House, Nanjing*, pp. 210–234.
- Li, Z.D. (1987), 'Studies on the life cycle and epidemiology of *Ornithobilharzia* spp', *Chin J Vet Med in Chinese*, Vol. 13, pp. 13–15.
- Lien, C.A., Pai, K.M., Su, L., Liu, C.M., Chen, M.S., Liu, C., (1975), 'A survey of the aetiological agent of rice-field dermatitis with studies in Chengnan People's Commune, Hailung Hsien, Kirin Province, with preliminary observation of the life history of *Orientobilharzia turkestanica* var. *tuberculata*', *Acta Zool. Sin*, Vol. 21, pp 183–189 (in Chinese with English summary).
- Liu, C., Chao, S. és Niu, S. (1976), 'A survey of the aetiological agent of rice-field dermatitis with studies on the life-cycle of *Orientobilharzia turkestanica* var. *tuberculata* in Jilin Province

- Province. *Acta Zool. Sinica*, 22', *Acta Zool Sinica*, Vol. 22, pp. 279–287. (in Chinese with English Summary).
- Liu, S., Wu, Y. és Lu, S. (1958), 'Diagnosis value of COPT for schistosomiasis: observation of 1626 clinical cases and animal experiment', *Chin. Med. J.*, Vol. 44, pp. 640–642.
- Lockyer, A.E., Olson, P.D., Østergaard, P., Rollinson, D., Johnston, D.A., Attwood, S.W. et al. (2003), 'The phylogeny of the Schistosomatidae based on three genes with emphasis on the interrelationships of *Schistosoma* Weinland', *Parasitology*, Vol. 126, pp. 203–224.
- Loker, E. S., Hofkin, B. V. (2015), 'Parasitology: A Conceptual Approach', Garland Science, *Taylor & Francis Group*, p. 218.
- Loker, E.S. (1983), 'A comparative study of the life-histories of mammalian schistosomes', *Parasitology*, Vol. 87 No. 2, pp. 343–369.
- Lotfy, W.M., Brant, S.V., DeJong, R.J., Le, T.H., Demiaszkiewicz, A., Rajapakse, R.P., Perera, V.B., Laursen, J.R., Loker, E.S. (2008), ' Evolutionary origins, diversification, and biogeography of liver flukes (Digenea, Fasciolidae)', *Am J Trop Med Hyg*, Vol. 79 No 2, pp. 248-55.
- Machattie, C. (1936), 'A preliminary note on the life-history of *Schistosoma turkestanicum* (Skrjabin, 1913)', *Trans Roy Soc Trop Med Hyg*, Vol. 30, pp. 115–124.
- Machattie, C. és Chadwick, C. R. (1932). '*Schistosoma bovis* and *Schistosoma mattheei* in Irak', *Trans R Soc trop Med Hyg*, Vol. 26 No. 2, pp. 147-156.
- Madsen, H., Frandsen, F. (1989) 'The spread of freshwater snails including those of medical and veterinary importance', *Acta Trop*, Vol. 46 No 3, pp. 139-46.
- Maguire, J. (2010), 'Trematodes (Schistosomes and Other Flukes) In: Mandell G, Bennett J, Dolin R, editors. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 7. Philadelphia', *Elsevier Churchill Livingstone*, pp. 3595–3606.
- Majoros, G. (2015), 'Állatorvosi parazitológiai diagnosztika I. Általános parazitológia és protozoológia' *Szent István Egyetem, Állatorvos-tudományi Kar, Parazitológiai és Állattani tanszék*
- Majoros, G., Dán, Á. és Erdélyi, K. (2010), 'A natural focus of the blood fluke *Orientobilharzia turkestanica* (Skrjabin, 1913) (Trematoda: Schistosomatidae) in red deer (*Cervus elaphus*) in Hungary', *Vet Parasitol*, No. 170, pp. 218–223.
- Majoros, G., Fehér, Z., Deli, T. és Földvári, G. (2008), 'Establishment of *Biomphalaria tenagophila* snails in Europe', *Emerg Infect Dis*, Vol. 14 No. 11, pp. 1812–1814.
- Majoros G. (2000), 'Mételyek fejlődési alakjainak előfordulása és kártétele a tógazdasági valamint természetesvízi halakban és a köztigazda csigákban', *PhD disszertáció*, p 150

- Majoros, G. (1998), 'A mételycerkáriákról és azok halkórtani jelentőségéről. Általános áttekintés és a hazai vizsgálatok', *Állattani Közlemények*, Vol. 83 No. 2, p. 28.
- Majoros, G. (1988) 'Csigák gyűjtése talajmintákból', *Malakológiai Tájékoztató* 6.
- Malek, E.A. (1980), 'Snail-Transmitted Parasitic Diseases.', *CRC Press, Boca Raton, Florida, Boca Raton, Florida*, Vol. 1, pp. 179–307.
- Maqbool, A., Hayat, C.S., Akhtar, T., Anjum, A.D. és Hayat, B. (1998), 'Prevalence and ecology of freshwater snails in Punjab', *P. Malaysian Applied Biology*, Vol. 27 No. 1–2, pp. 69–72.
- Marotel, G. (1908), 'Existence de la bilharziose bovine en France', *Recueil de Méd Vét*, 85, pp. 119–122.
- Massoud, J. (1971), 'The pathology of *Ornithobilharzia turkestanicum* and *Schistosoma bovis* in cattle, sheep and goats in Iran', *J Trans R Soc Trop Med Hyg*, Vol. 65(4), p. 431.
- Massoud, J. és Nelson, G.S. (1972), 'A new approach for assessing snail control measures where human and animal schistosomes are transmitted by the same intermediate host', *Trans R Soc Trop Med Hyg*, Vol. 66 No. 1, pp. 190–191.
- McCollough, F.S. (1992), 'The role of mollusciciding in schistosomiasis control', *World Health Organisation*.
- Montgomery, R.E. (1906), 'Observations on bilharziosis among animals in India', *II. Journal of Tropical Veterinary Science*, Vol. 1, pp. 138–174.
- Montgomery, S. (2014), 'Infectious diseases related to travel: schistosomiasis', *CDC Health Information for International Travel*.
- Piao, X., Cai, P., Liu, S., Hou, N., Hao, L. és Yang, F. (2011), 'Global expression analysis revealed novel gender-specific gene expression features in the blood fluke parasite, *Schistosoma japonicum*', *PLoS One.*, Vol. 6 No. 4., e18267
- Picard, D. és Jousson, O. (2001), 'Genetic variability among cercariae of the Schistosomatidae (Trematoda: Digenea) causing swimmer's itch in Europe', *Parasite*, Vol. 8 No. 3, pp. 237–242.
- Piechocki, A. (1979), 'Ślimaki', *Fauna Ślōdkowodna Polski*, z. 7. PWN, Warszawa-Poznań: 187 pp.
- Pintér, L. és Szigethy, A. (1979), 'Distribution of recent molluscs in Hungary Soósiana', , Suppl. 1, pp. 1–170. (*In Hungarian*)
- Pontes, L.A., Dias-Neto, E. és Rabello, A. (2002), 'Detection by polymerase chain reaction of *Schistosoma mansoni* DNA in human serum and feces', *Am J Trop Med Hyg*, Vol. 66, pp.

157–162.

- Price, E.W. (1929), 'A symposium of the trematode family Schistosomatidae with descriptions of new genera and species', *Proc U S Nat Mes*, Vol. 75 No. 18, pp. 1–39.
- Qiu, L., Xue, H., Zhang, Y. és Zhu, Z. (1985), 'Preliminary application of covalent latex antigen in the diagnosis of schistosomiasis japonica', *J Parasitol Parasitic Dis*, Vol. 3, p. 160.
- Quan, G.D., Wei, Y.T. és X.J. Liu. (1986), 'Investigation of helminth infection in cattle', *Proc. 2nd Conf Chin Soc Vet Parasitol in Chinese*, Vol. 4.
- Richnovszky, A. (1967), 'Data to the mollusc fauna of the flood area of the Danube', *Opusc Zool*, Vol. 7, pp. 195–205.
- Richnovszky, A. (1989), 'Az ártéri erdő puhatestű faunája és annak szerepe a gerincesek táplálkozásában', *In: Az Alsó-Duna-Ártéri Erdők Ökológiája, (ed:richnovszky) Eötvös József Tanítóképző Főiskola, Baja*, pp. 84–101.
- Ross, A.G., McManus, D.P., Shah, S.M. és Vickers, D. (2007), 'Katayama syndrome', *Lancet Infect Dis*, Vol. 7 No. 3, pp. 218–224.
- Ross, A.G.P., Bartley, P.B., Sleight, A.C., Olds, R.G., Li, Y., Williams, G.W. és McManus, D.P. (2002), 'Schistosomiasis', *N Engl J Med*, Vol. 346, pp. 1212–1219.
- Rossetti, Y., Rossetti, L. és Cabanac. M. (1989), 'Annual oscillation of preferred temperature in the freshwater snail *Lymnaea auricularia*; effect of light and temperature', *Animal Behaviour*, Vol. 37 No. 6, pp. 897–907.
- Sabbaghian, H., Bijan, H. és Arfaa, F. (1964), 'Data on trematode infections among livestock in Khuzestan, Iran', *Bull Tehran Coll Vet Med*, p. 2.
- Sahba, G. és Malek, E. (1979), 'Dermatitis caused by cercariae of *Ornithobilharzia turkestanicum* in the Caspian Sea area of Iran', *Am J Trop Med Hyg*, Vol. 28 No. 5, pp. 912–913.
- Salish, T., Al-Habbib, O., Al-Habbib, W., Al-Zako, S. és Ali, T. (1981), 'The effects of constant and changing temperatures of the development of eggs of the freshwater snail *Lymnaea auricularia* (L.)', *Journal of Thermal Biology*, Vol.6 No 4, pp. 379-388
- Sandt, D. G. (1973), 'Direct filtration for recovery of *Schistosoma mansoni* cercariae in the field', *Bulletin of the World Health Organization*, Vol. 48, pp. 27-34.
- Savaya Alkalay, A., Rosen, O., Sokolow, S., Faye, Y. és Faye, D. (2014), 'The Prawn *Macrobrachium vollenhovenii* in the Senegal River Basin Towards 2017.: Sustainable Restocking of All-Male Populations for Biological Control of Schistosomiasis', *PLoS Negl Trop Dis*, Vol. 8 No. 8.

- 'Schistosomosis: population requiring preventive chemotherapy and number of people treated in 2010'. (2012), *Wkly Epidemiol Rec.*, Vol. 87 No. 4, pp. 37–44.
- Ševcová, M., Kolárová, L. és Gottwaldová, A. (1987), 'Cercarial dermatitis. [Cerkariová dermatitida.]', *Ceskoslov Dermatol*, Vol. 62, pp. 369–374.
- Shiff, C.J., Chandiwana, S.K., Graczyk, T., Chibatamoto, P. és Bradley, M. (1993), 'A trap for the detection of schistosome cercariae', *J Parasitol*, Vol. 79 No. 2, pp. 149–154.
- Skrjabin, K.I. (1913), '*Schistosoma turkestanicum* non ap. ein neurr. parasit. de Rindes aus Russisch-turkestan', *Zeit. F. InfektionS'Krank*, Vol. 13, pp. 457–468.
- Skrjabin, K.I. (1951), 'Trematodes of Animala and Man', *Izdatelstvo Akademii Nauk SSSR, Moskva*, Vol. 5, p. 320–330. (in Russian).
- Snyder, S.D. és Loker, E.S. (2000), 'Evolutionary relationships among the Schistosomatidae (Platyhelminthes: Digenea) and an Asian origin for *Schistosoma*', *The Journal of Parasitology*, Vol. 86, pp. 283–288.
- Sohn, W.M., Woo, H.C. és Hong, S.J. (2002), 'Tegumental ultrastructures of *Echinoparyphium recurvatum* according to developmental stages', *Korean Journal of Parasitology*, Vol. 40 No. 2, pp. 67–73.
- Soldanova, M., Selbach, C., Sures, B., Kostadinova, A. és Perez-del-Olmo, A. (2010), 'Larval trematode communities in *Radix auricularia* and *Lymnaea stagnalis* in a reservoir system of the Ruhr River', *Parasites & Vectors*, Vol. 3 No. 56.
- Soliman, M.F.M. (2008), 'Epidemiological review of human and animal fascioliasis in Eryp', *The Journal of Infection in Developing Countries*, Vol. 2 No. 3, pp. 182–189.
- Srivastava, H.D. és Trisal, K.N. (1957), 'On the occurrence of *Ornithobilharzia turkestanicum* in cattle in India', *Proc 44M Indian Set Congr*, Vol. 3, p. 370.
- Stift, M., Michel, E., Sitnikova, T.Y., Mamonova, E.Y. és D. Y. Sherbakov, D.Y. (2004), 'Palaeartic gastropod gains a foothold in the dominion of endemics: range expansion and morphological change of *Lymnaea (Radix) auricularia* in Lake Baikal', *Hydrobiologia*, Vol. 513 No. 1–3, pp. 101–108.
- Stothard, J.R., Figueiredo, J.C. és Navaratnam, A.M. (2013), 'Advocacy, policies and practicalities of preventive chemotherapy campaigns for African children with schistosomiasis', *Expert Rev Anti Infect Ther*, Vol. 11 No. 7, pp. 733–752.
- Székely, Cs., Pazooki, J., Molnár, K. (1996), 'Host reaction in paratenic fish hosts against 3rd stage larvae of *Anguillicola crassus*' *Diseases of Aquatic Organisms*, Vol. 26 No. 3, pp. 173–180.

- Tabaripour, R. és Youssefi, M.R. (2015), 'Genetic Identification of *Orientobilharzia turkestanicum* from Sheep Isolates in Iran', *Iran J Parasitol*, Vol. 10 No. 1, pp. 62–68.
- Tang, C., Cui, G., Qian, Y., Lu, S. és Lu, H. (1990), 'Structural changes in different aged worms of *Orientobilharzia turkestanica* of sheep in Horqin pasture of inner Mongolia and the hatching periodicity of the Miracidia', *Acta Zoologica Sinica*, Vol. 36 No. 4, pp. 366–376.
- Tang, C., He, Y.X., Cui, G.W. és Qian, Y.C. (1983), 'Scanning electron microscopy of the integumental surface of *Orientobilharzia turkestanica*', *Acta Zoologica Sinica*, Vol. 29, pp. 159–162.
- Tuaev, S.M. (1946), 'The incidence of *Ornithobilharzia turkestanicum* (Skrjabin, 1913) in Zebu cattle in Azerbaijan Republic', pp. 264–266.
- Várnai, F. (1987), 'Tropical diseases. 3rd ed. [Trópusi betegségek. 3. kiadás', *Medicina Könyvkiadó*, Hungarian.
- Vogel, H. (1930), 'Skin lesions caused by *Cercaria ocellata* [Hautveränderungen durch *Cercaria ocellata*.]', *Dermatol Wochenschr*, Vol. 90, p. 577–581.
- Wang, C., Li, L., Zhai, Y., Chen, A., Chen, J. és Zhu, X. (2009), '*Orientobilharzia turkestanicum* is a member of *Schistosoma* genus based on phylogenetic analysis using ribosomal DNA sequences', *Exp Parasitol*, Vol. 121 No. 2, pp. 193–197.
- Wang, C., Pi, B., Song, Z., Yu, K. és Wang, W. (2002), 'Investigation on the epidemic situation and the distribution feature of *Orientobilharziasis* in cattle and sheep in Heilongjiang', *Prog Vet Med* 23, Vol. 23, pp. 91–93.
- Wang, C.R., Chen, J., Zhao, J.P., Chen, A.H., Zhai, Y.Q., Li, L. és Zhu, X.Q. (2009), '*Orientobilharzia* species: neglected parasitic zoonotic agents', *Acta Trop*, Vol. 109 No. 3, pp. 171–175.
- Wang, X. és Li, S. (1990), 'Study on rapid ELISA using PVC for immunodiagnosis of schistosomiasis and its application', *Chin J Schisto Contr*, Vol. 2, pp. 31–35.
- Wang, Y., Wang, C., Zhao, G., Gao, J., Li, M. és Zhu, X. (2011), 'The complete mitochondrial genome of *Orientobilharzia turkestanicum* supports its affinity with African *Schistosoma* spp. Infection', *Genetics and Evolution*, Vol. 11 No. 8, p. 1964–1970.
- Webster, B. és Littlewood, D. (2012), 'Mitochondrial gene order change in *Schistosoma* (Platyhelminthes: Digenea: Schistosomatidae)', *International Journal for Parasitology*, Vol. 42 No. 3, pp. 313–321.
- Witenberg, G. és Lengy, J. (1966), 'A case of natural infection of field rats with *Ornithobilharzia turkestanicum* (Skrjabin, 1913)', *Refuah Veterinarith*, Vol. 23, pp. 67–74.

- World Health Organization, (2011), 'Helminth Control in School-Age Children: A Guide for Managers of Control Programmes. 2nd ed.', Geneva, Switzerland, <http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241>.
- World Health Organization, (2013), 'Schistosomosis Progress Report (2001–2011) and Strategic Plan (2012–2020)', World Health Organization Press; Geneva, Switzerland, p. <http://www.who.int/schistosomosis/resources/en/>.
- Yakhchali, M., Mirrajei, S. és Malekzadeh-Viayeh, R. (2013), 'Detection of infection with larval stages of *Ornithobilharzia turkestanicum* using PCR in field-collected snails of *Lymnaea gedrosiana* from Northwestern Iran', *Iran J Parasitol*, Vol. 8 No. 4, pp. 627–633.
- Yamagiwa, S. (1931), 'A study of lesions caused by the invasion of *Schistosoma turkestanicum* in cattle', *J Jap Soc Vet Set*, Vol. 2, pp. 131–132.
- Yamaguti, S. (1975), 'A synoptical review of life histories of digenetic trematodes of vertebrates', *Keigaku Publishing Co, Kyoto*, pp. 1–590.
- Yan, Z., Wan, W., Lu, Z. és Wu, Y. (1990), 'Detection of circulating antigen in schistosomiasis by dot-ELISA with monoclonal antibody', *Chin J Parasitol Parasitic Dis*, Vol. 8, pp. 161–164.
- Yang, G.J., Li, W., Sun, L.P., Yi-Xin, H. és Xiao-Nong, Z. (2010), 'Molluscicidal efficacies of different formulations of niclosamide: result of meta-analysis of Chinese literature', *Parasit Vectors*, Vol. 3, pp. 84–94.
- Zakhryalov, Y.N. (1972), 'On the distribution of *Ornithobilharzia turkestanicum* in the Far-East', *Nater Nauch Konf Vses Obshch Gelminth*, pp. 128–131.
- Zbikowska, E. (2004), 'Infection of snails with bird schistosomes and the threat of swimmer's itch in selected Polish lakes', *Parasitology Research*, Vol. 92 No. 1, pp. 30–35.
- Zhu, Y., Hua, W., Liu, Y., He, W., Xu, Y. és Jiang, Y. (1996), 'A study on evaluation of efficacy of chemotherapy for schistosomiasis with fraction antigen of soluble egg antigen of *Schistosoma japonicum*', *Chin J Schisto Contr*, Vol. 8, pp. 321–324.

9. A KUTATÁSI EREDMÉNYEK KÖZLÉSEI

9.1. 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) vérmétely által okozott cercária dermatitis Magyarországon.

Orvosi Hetilap, 157. évfolyam 40. szám. IF.: 0,291

Összes impakt faktor: 2,21

9.2. A TÉMÁBAN TARTOTT ELŐADÁSOK

Juhász A (2018) A *Schistosoma turkestanicum* vérmétely 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 koncentrálása. Akadémiai Beszámolók Budapest, 2015. január 28

9.3. EGYÉB KÖZLEMÉNYEK REFERÁLT FOLYÓIRATOKBAN

Sándor Hornok, Relja Beck, Róbert Farkas, Andrea Grima, Domenico Otranto, Jenő Kontschán, Nóra Takács, Gábor Horváth, Krisztina Szőke, Sándor Szekeres, Gábor Majoros, Alexandra Juhász, Regina Hofmann-Lehmann, Michal Stanko, Gad Baneth (2018) Molecular and phylogenetic analyses of fleas (Insecta: Siphonaptera) collected from humans, carnivores and rodents in Central Europe and the Mediterranean Basin reveal highly divergent mitochondrial lineages within *Ctenocephalides felis*, *Pulex irritans*, *Leptopsylla segnis* and *Nosopsyllus fasciatus*

Parasites & Vectors, in press, IF.:3,035

Majoros G, Juhász A (2015) A *Dirofilaria immitis* és *Dirofilaria repens* mikrofiláriák fénymikroszkópos vizsgálata, 1. rész: Mikrofiláriák felismerése a különféle mintákban. Magyar Állatorvosok Lapja/ 3. p 173-180. IF.: 0.185

Majoros G, Juhász A (2015) A *Dirofilaria immitis* és *Dirofilaria repens* mikrofiláriák fénymikroszkópos vizsgálata, 2. rész: A *Dirofilaria*-fajok azonosítása a mikrofiláriák segítségével. Magyar Állatorvosok Lapja / 4. p 227-238. IF.: 0.185

10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Elsőként témavezetőmnek, Dr. Majoros Gábornak tartozom köszönettel, hogy lehetővé tette részvételemet ebben az izgalmas munkában, el nem fogyó baráti türelméért, amivel botladozásaimat az úton elviselte. A több éves terepmunkához számos szép emlékem kötődik, amelyekért elsősorban neki lehetek hálás. Nemcsak a számomra új vagy ismeretlen szakmai kérdésekben volt türelmes tanítóm, de a parazitológiától távol eső területeken – a zenétől az irodalmon át, a különböző társadalmi kérdésekig – is izgalmas beszélgetéseket folytathattunk.

Köszönettel tartozom Kassai Tibor Professzor Úrnak és Farkas Róbert Tanszékvezető Úrnak bátorító szavaiért, és életükben gyűjtött szakmai tapasztalatukért.

A labordiagnosztika rejtelméről sokat tanultam Cech Gábortól és Scott Lawton-tól, akiknek ezért hálás köszönettel tartozom. Ismereteiket mindig önzetlenül, példaértékű elhivatottsággal osztották meg velem.

A gemenci kutatást elindító nagy amerikai májmételykór a gazdaság számára egy nehéz helyzetet hozott. Ennek ellenére, a „fővárosi kutatók” számára szokatlan és a mai napig szinte felfoghatatlan kedvességgel és készséggel segítettek minket Gemencen mindenben, akár a vizsgálati terület pontos kijelöléséről, akár a szállással vagy a felszerelés raktározásával kapcsolatos gondjainkról volt szó. A terepvizsgálatok kutatási eredményei nem születhettek volna meg a Gemenci Zrt. dolgozóinak szakértelme és segítsége nélkül. Köszönöm a gemenci terepmunkában nyújtott több hónapos, esetenként több éves segítséget, Csonka Tibornak, Fodermayer Vilmosnak, Tóth Zoltánnak, Lőrincz Sándornak, Szutorcsik Dávidnak. Köszönöm a Pörbolyi Ökoturisztikai központ dolgozóinak a kedvességüket!

Köszönöm további szerzőtársaimnak, hogy ismereteikkel nagymértékben elősegítették a sikeres publikációk megszületését.

A szövettani metszetek elkészítésében Mészáros Ágnes segítségét kell megköszönnöm. A természettudományi gyűjteményekhez való hozzáférést Eröss Zoltánnak, Varga Andrásnak, Deli Tamásnak és Szappanos Bálintnak köszönöm.

Köszönöm Czikkelyiné Ágh Nórának a statisztikai adatbevitelben és ellenőrzésben nyújtott pótolhatatlan segítségét.

Néhány szakirodalom hozzáférhetetlen maradt volna Oláh Edit gyors és szakszerű segítségével, köszönet érte.

Kutatómunkánkhoz a Kutatókari, Új Nemzeti Kiválóság program PO/1911-1/2017. számú és a Campus Mundi pályázatai biztosították az anyagi feltételeket.