

Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Kar
Parazitológiai és Állattani Tanszék

**KULLANCSOK ÉS EZEKBEN ELŐFORDULÓ KÓROKOZÓK
VIZSGÁLATA A NYÍREGYHÁZI SÓSTÓI-ERDŐBEN**

Készítette: Tóth Dorottya Zsuzsanna szigorló

Témavezető: Dr. Farkas Róbert egyetemi tanár

**Budapest
2012**

Tartalomjegyzék	oldal
1. Bevezetés	3
2. Irodalmi áttekintés	4
2.1. A városi területeken előforduló kullancsok	4
2.2. Az <i>Ixodes ricinus</i> vektorjelentősége	6
3. Saját vizsgálatok	11
3.1. Anyag és módszer	11
3.1.1. Vizsgálatok helyszíne	11
3.1.2. Kullancsok gyűjtése	15
3.1.3. Molekuláris biológiai vizsgálatok	15
4. Eredmények	21
4.1. A vizsgált területeken talált kullancsok	21
4.2. A molekuláris biológiai vizsgálatok eredményei	24
5. Megbeszélés	26
6. Összefoglalás	31
7. Summary	32
8. Irodalomjegyzék	33
9. Köszönetnyilvánítás	39

1. Bevezetés

Az utóbbi évtizedben a kullancsok földrajzi terjedése és aktivitásuk növekedése figyelhető meg világszerte. Olyan területeket is meghódítanak, ahol korábban nem voltak jelen. Ezek a paraziták az emberre és állatra veszélyt jelentő különféle kórokozókat (vírusokat, baktériumokat, egysejtűeket) hordoznak, amelyeket képesek fenntartani és átvinni egyik állatból a másikba, az állatokból az emberbe. Számottevő állat- és közegészségügyi jelentőségükkel magyarázható, hogy a kullancsok és az általuk terjesztett kórokozók vizsgálata a legtöbb európai országban, így hazánkban is a kutatás középpontjába került.

Napjainkban a külvárosok házainak a kertjeiben, a köztereken, az emberek által látogatott városi és város környéki parkokban, sétálásra és sportolásra alkalmas zöld területeken is mind gyakrabban lehet kullancsokkal találkozni. A fákkal, bokrokkal borított városi és városszéli területeken sétáló, bicikliző, kutyáikat sétáltató emberek és állataik észrevétlenül fertőződhetnek az ott előforduló kullancsokkal és az általuk hordozott kórokozókval.

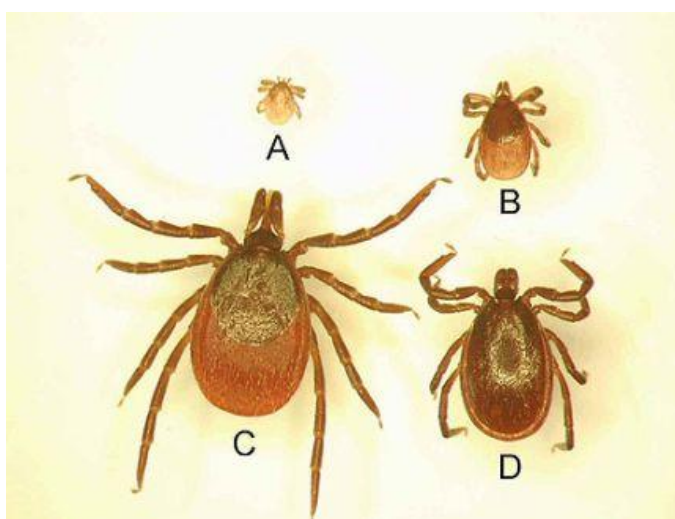
Ahhoz, hogy az embereket és a környezetükben élő társállatokat megvédjük a kullancsok által terjesztett kórokozóktól tudnunk kell, hogy a gyakran látogatott helyeken élnek-e ezek a vérszívó élősködők s milyen kórokozókat hordoznak. Ezért egyre több országban az ilyen területek kullancsfertőzöttségének s az ezekben lévő kórokozóknak a vizsgálatára is egyre nagyobb figyelmet fordítanak. Ennek leginkább az az oka, hogy az emberek körében növekvő számban állapítják meg az *Ixodes*-fajok terjesztette *Borrelia burgdorferi* okozta Lyme-kórt.

Tudomásunk szerint ilyen jellegű tanulmányokra hazánkban ez idáig alig került sor. Vizsgálatainkkal arra kerestünk választ, hogy a Nyíregyháza északi részén fekvő, az emberek által kedvelt pihenőhelyként ismert Sóstói-erdőben mely kullancsfaj(ok) egyedei fordulnak elő, mely időszakban tapasztalható az aktivitásuk s vajon hordoznak-e az ott megforduló emberek és állatok fertőzését okozó kórokozókat.

2. Irodalmi áttekintés

2.1. A városi területeken előforduló kullancsok

Az utóbbi évtizedekben egyre nagyobb figyelem fordul a kullancsok és az általuk terjesztett kórokozó vizsgálata felé, napjainkig kevés tanulmány foglalkozik ezek városi előfordulásával. Az e témakörrel kapcsolatos európai kutatások tárgya szinte minden esetben az *Ixodes ricinus* kullancsfaj és az általa hordozott kórokozók. Az *Ixodes ricinus* Európa szerte elterjedt kullancsfaj, gyakorlatilag minden, a kullancsok számára lakható területen megtalálható a kontinensen, így hazánkban is (Hornok és Farkas, 2009).



1. ábra: Az *Ixodes ricinus* lárva (A), nimfa (B), nőstény (C) és hím (D)

forrás: Magyar Parazitológusok Társasága honlapja

Széles körben elterjedt, de leggyakrabban a számára ideális mikroklimát biztosító fás társulásokban fordul elő. Az erdők, fával gazdagon beültetett parkok alacsonyabb hőmérsékletet, kevesebb direkt napsugárzást és magasabb páratartalmat biztosítanak mint a nyílt élőhelyek, emellett a fák jelenléte csökkenti a szélereősséget, így a kullancsok hosszabb ideig, kevesebb energiát felhasználva tudnak a gazdára várakozni. Az abiotikus tényezők mellett kiemelkedő annak szerepe is, hogy a fás társulások széles gazdaspektrum számára biztosítanak megfelelő élőhelyet. Meghatározó a cserjeszint minősége is: a cserje- és aljnövényzetben gazdag területeken a kullancsok előfordulási gyakorisága jóval magasabb, egyrészt mivel kedvezőbb környezetet nyújtanak számukra, mint a szárazabb mikroklimájú, gyéresebb vegetációjú részek, másrészt táplálékot és kiváló búvóhelyet biztosítanak a nagy- és a kistestű gazdaállatok számára (Dobson és mtsai, 2011; Tack és mtsai, 2012). Ezt támasztja alá

Sytykiewicz és társai (2012) vizsgálata is, melyben három különböző lengyelországi élőhelyet tanulmányoztak: két természetes erdőt, három gondozott városi parkot és ugyanennyi külvárosi fás területet. A legalacsonyabb kullancssűrűséget a városokon belüli parkokban találták, ezután a városszéli élőhely következett. A legtöbb *Ixodes ricinus* a természetes erdőben találták. Ez a cikk nem tért ki a vizsgált területek részletes leírására, ellentétben Corrain és társai 2012-ben végzett tanulmányával, melyben négy olaszországi város pihenőhelyeiről gyűjtöttek kullancsokat. Az első három, fákkal borított park, amelyeket rendszeresen karbantartottak, ezek lakói csak kisemlősök voltak. A negyedikben az avar- és cserjeszint jóval változatosabb és az állatvilág gazdagabb volt, nagyobb emlősök, köztük az őzek is előfordultak. Az *I. ricinus* egyedek 99%-át ezen a helyen találták. Az ökológiai faktorok azonban viszonylag kis területen belül is változatosak lehetnek, amelyek jelentős különbségeket okozhatnak a kullancsok elterjedésében egy parkon belül is. Ezt bizonyítja Corrain és társai (2012) által végzett vizsgálatok folytatása, melyben egy parkon belül négy különböző vegetációjú útvonalat vizsgálva megfigyelték a gyéresebb avarszintű területek kisebb kullancssűrűségét.

A kullancsok eloszlásában a mikroklíma mellett alapvető szerepe van a gazdának is (Cinco és mtsai, 2008; Dobson és mtsai, 2011; Tagliapietra és mtsai, 2011; Tack és mtsai, 2012). Az emberi jelenlét is hatással lehet az urbanizált területek kullancssűrűségére. Egy angol kutatás során azt figyelték meg, hogy a nyílt, alacsony növényzetű, száraz területeken, ahol az emberek – különösen tavasszal és nyáron, szabadidős tevékenységeik során – hosszabb időt töltenek el, a kullancssűrűség hasonló a fás társulásokéhoz (Dobson és mtsai, 2011).

Európában az *Ixodes ricinus* időbeli eloszlása kettős csúcsot mutat. Számuk a meteorológiai tavasz elején kezd növekedni, csúcsát májusban éri el. Júniusban aktivitásuk csökkenni kezd, majd nyár végéig nagyon alacsony szinten marad. Ősszel egy második, a tavaszinál alacsonyabb csúccsal is előbukkannak (Hancock és mtsai, 2011; Tagliapietra és mtsai, 2011). Közelmúltban közölt két magyarországi tanulmányban is áprilistól júniusig és szeptembertől októberig tartó aktivitási periódusát figyelték meg e fajnak, erős tavaszi dominanciával (Hornok és Farkas, 2009; Egyed és mtsai, 2012). Ennek oka, hogy a kullancsok aktivitása és fejlődése nagymértékben függ a környezeti viszonyoktól. Mérsékelt éghővön a rövidülő nappalok és a hőmérséklet kedvezőtlen változásainak hatására az ősszel vedlett kullancsok nagy része nem válik aktívvá, hanem beszünteti a gazdakereső tevékenységét, csökkenti fizikai aktivitását és metabolizmusát a következő tavaszig. Az ún. viselkedési diapauzával az általuk hordozott kórokozókat is képesek átteleltetni. A vészívás

után lévő kullancsok a fent említett környezeti hatásokra morfogenetikus diapauzával reagálhatnak, azaz késleltethetik fejlődésüket a klimatikus viszonyok kedvezővé válásáig, elhalasztva a vedlést illetve a nőtény esetében a peterakást (Gray, 1987; Goodman és mtsai, 2005; Randolph, 2008; Egyed és mtsai, 2012). Kontinentális éghajlaton, bolygónk általános felmelegedésének hatására aktivitásuk időben elhúzódhat, enyhe telek esetén egész évben fellelhetők a gazdára várakozó példányaik, ezáltal fokozottabb veszélynek kitéve az embereket és társállatokat (Dautel és mtsai, 2008).

2.2. Az *Ixodes ricinus* vektorjelentősége

Az *Ixodes ricinus* nem gazdaspecifikus, a vadon élő állatok mellett számos háziállaton és az emberen is képes élősködni. Háromgazdás kullancsfaj, azaz a lárva, a nimfa és az adult más-más gazdán szív vért, mely során kórokozókat képes felvenni és egyik áldozatból a másikba juttatni. Az egyes stádiumok eltérő gazdapreferenciával jellemezhetők. A lárvák és a nimfák áldozatai nagyrészt kisebb emlősök, madarak vagy hüllők, míg az ivarérett példányok főleg nagyobb emlősökön élősködnék, de mindhárom stádium megtámadhatja a háziállatokat és az embert is (Farkas és mtsai, 2004; Goodman és mtsai, 2005). Az éhes kullancs a növényzetre mászva várakozik az elhaladó áldozatra. Táplálkozás során számos gyulladásgátló, fájdalomcsillapító és a gazda immunválaszát szuppresszáló bioaktív anyagot termel, hogy a vérszívást napokon át fenntarthassa. A táplálkozás alkalmával felvett vér víztartalmát nyálmirigyével kiválasztja és visszajuttatja a sebbe, ami lehetővé teszi a fertőző ágensek gazdába jutását. Ugyanakkor a gazdaállat vérével sokféle patogént képesek a kullancsok felvenni, amelyek életciklusukat a kullancsban folytathatják, majd további gazdákat fertőzhetnek (Goodman és mtsai, 2005).

A kullancsok számos baktérium, vírus és protozoon rezervoárjai, mechanikai és/vagy biológiai vektorai, azaz képesek felvenni, tárolni és átadni a fertőző organizmust a gerinces gazdák között. Közülük a legtöbb zoonotikus jelentőségű patogént az *Ixodes ricinus* hordozza. Európai városok zöld övezeteiben gyűjtött *I. ricinus*okban a köz- és állategészségügyi veszélyt jelentő kórokozók közül a következőket vizsgálták, leggyakrabban: *Borrelia burgdorferi* s. l., *Anaplasma phagocytophilum*, *Babesia*- és *Rickettsia*-fajok. Olaszország, Németország, Hollandia, Lengyelország és Törökország városaiban az *Ixodes ricinus* 1,8-14,5%-ában fordult elő az *Anaplasma phagocytophilum* (Stanczak és mtsai, 2004; Wielinga és mtsai, 2006; Silaghi és mtsai, 2008; Wójcik-Fatla és mtsai, 2009; Reye és mtsai, 2010; Sen és mtsai, 2011; Sytykiewicz és mtsai, 2012; Corrain és mtsai, 2012).

Az *A. phagocytophilum* (korábban *Ehrlichia phagocytophilum*, *Ehrlichia equi*) a Rickettsiales rend Anaplasmataceae családjába tartozó, 0,4-1,5 mikrométer átmérőjű, pleomorf, Gram negatív baktérium. A humán granulocitás anaplazmózis nevű megbetegedést okozó, obligát intracelluláris élősködő. A bántalom világszerte, az Egyesült Államok, Európa, Ázsia egyes részein endémiásan fordul elő (Ismail és mtsai, 2010). Elsőként 1994-ben Bakken és társai írták le az Amerikai Egyesült Államokban (Blanco és Oteo, 2002), Európában 1997-ben Szlovéniában okozott először igazoltan humán megbetegedést (Petrovec és mtsai, 1997). Kutyákban az első fertőzödést 1996-ban, az Egyesült Államokban diagnosztizálták (Veterinary Medicine, 2012). Azóta Európában számos országában jelentették emberek és kutyák megbetegedését (Sréter és mtsai, 2005a; Veterinary Medicine, 2012). Leggyakrabban általános, influenzaszerű tüneteket (láz, fejfájás, fáradékonyság, izom- és ízületi fájdalmak, izzadás) észleltek. Mortalitást eddig csak kevesebb, mint az esetek 1%-ánál jelentettek, többnyire valamilyen gombás vagy vírusos opportunist fertőzéssel összefüggésben (Dumler és Choi, 2005; Ismail és mtsai, 2010; Sréter és mtsai, 2005a; Veterinary Medicine, 2012). Az endémiás területeken mért magas szeroprevalencia (Ismail és mtsai, 2010) arra utal, hogy a fertőzés többnyire enyhe, esetleg szubklinikai formában, tünetmentesen zajlik.

Európában csak az *Ixodes ricinus* terjeszti, amelyet csak transzstadiálisan képes átvinni, fenntartásában a kistrágyák és a szarvasfélék játszanak kulcsszerepet (Parolaa és mtsai, 2005).

Az európai városokban gyűjtött *Ixodes ricinus* kullancsok 0,4-6,5%-ában találtak *Babesia*-fajokat. Németországi, luxemburgi és lengyelországi parkokban gyűjtött I. kullancsokban a *B. microti* és *B. venatorum* fajok fordultak elő leggyakrabban. A kontinensünkön a legtöbb emberi megbetegedést okozó *B. divergens* mindössze 1-1 példányban azonosítottak Németországban és Luxemburgban (Stanczak és mtsai, 2004; Wójcik-Fatla és mtsai, 2009; Reye és mtsai 2010; Schorn és mtsai, 2011; Sytykiewicz és mtsai, 2012).

A babesiák a Piroplasmida rendbe, azon belül a Babesiidae családba tartozó protozoonok. Méretük alapján két csoportba sorolják őket: (1) kis babesiák, amelyeknek az átmérője 1,0-2,5 mikrométer, ezek közé tartozik a *B. microti* és a *B. divergens*, valamint (2) nagy babesiák, átmérőjük 2,5-5,0 mikrométer, ilyen a *B. venatorum*. Megkülönböztetésük az alapján is lehetséges, hogy a kis babesiákat a kullancsok transzovariálisan nem viszik át (Homer és mtsai, 2000; Gray és mtsai, 2010).

Az első humán megbetegedést 1957-ben, a volt Jugoszlávia területén egy lépeltávolított embernél írták le (Homer és mtsai, 2000). Európában eddig bizonyítottan három *Babesia*-faj okoz megbetegedést emberben, ezeket az *I. ricinus* hordozza. E fajok a következők: *Babesia microti*, amiről sokáig úgy gondolták, csak rágcsálóban élőszködik, a szarvasmarha-parazita *Babesia divergens*, valamint a *Babesia venatorum* (korábbi elnevezése: *Babesia* EU1) (Gray és mtsai, 2010). Kutyaiban kontinensünkön eddig *I. ricinus* által terjesztett egy fajt, leginkább a *B. microti*hoz hasonlító, ún. *B. microti*-like patogént találtak (Lindgren és mtsai, 2006). A dokumentált megbetegedések nagy részére enyhe maláriaszerű tünetek jellemzőek: rossz közérzet, hidegrázás, izom és ízületi fájdalmak, fáradékonyság, fejfájás, hányinger, köhögés, magas láz. Súlyosabb megbetegedés és halál főleg immunszupprimáltaknál (legjellemzőbb lépeltávolított betegeknél) és időseknél alakul ki. (Homer és mtsai, 2000; Sréter és mtsai, 2005a; Vannier és Krause, 2009). A kontinensen az esetek többségét a *B. divergens* okozza, a kórkép általában súlyosabb, mint a *B. microti* és *B. venatorum* esetében, melyekről csak néhány igazolt megbetegedést írtak le kontinensünkön (Homer és mtsai, 2000; Herwaldt és mtsai, 2003; Hildebrandt és Hunfeld, 2007; Gray és mtsai, 2010). A kutyák *B. microti*-like okozta fertőzése is nagy százalékban letális (Camacho és mtsai, 2001).

Európában a *B. microti* esetében a rágcsálók, a *B. divergens*nek a kérődzők és a *B. venatorum*nak az őzek legfontosabb rezervoárok.

Európa kullancs által terjesztett, legtöbbet vizsgált kórokozója a *Borrelia burgdorferi sensu lato*. Kontinensünk urbanizált területeinek kullancsfertőzöttségével foglalkozó tanulmányok többsége is e fajcsoport előfordulását kutatta. A vizsgált kórokozók közül a városokban talált *I. ricinus*ok fertőzöttségének aránya ezek esetében volt a legmagasabb, 2-55% (Junttila és mtsai, 1999; Gray és mtsai, 1999; Stanczak és mtsai, 2004; Wielinga és mtsai, 2006; Wójcik-Fatla és mtsai, 2009; Reye és mtsai, 2010; Sen és mtsai, 2011; Corrain és mtsai, 2012). Luxemburgban, Hollandiában és Törökországban a parkokban gyűjtött *I. ricinus*okban talált genotípusok: *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. valaisiana*, *B. burgdorferi sensu stricto* és *B. lusitaniae* (Wielinga és mtsai, 2006; Reye és mtsai, 2010; Sen és mtsai, 2011).

A *Borrelia burgdorferi sensu lato* a Spirochetales rendbe tartozó, spirális alakú, 5-25 mikrométer hosszú, Gram-negatív baktériumok csoportja. Napjainkig e fajkomplexbe tartozó 17 különböző fajt azonosítottak, amelyek közül a *B. burgdorferi sensu stricto*, a *B. afzelii*, a *B. garinii*, a *B. spielmanii*, a *B. lusitaniae*, a *B. valaisiana* és a *B. bissettii* genotípusokról már bebizonyosodott, hogy a Lyme-kór okozója lehet (Margos és mtsai, 2010).

A *B. burgdorferi* s. l. okozta megbetegedést először 1957-ben írták le, a betegség kórokozóját 1982-ben, Willy Burgdorfer izolálta kullancsból (Margos és mtsai, 2010). Azóta világszerte jelentenek emberi megbetegedést, mely során leggyakrabban a csípés helyén ovális, terjedő bőrkiütésről (erythema migrans), ezen kívül influenzaszerű tünetekről, mint magas láz, gyengeség, fejfájás, izom- és ízületi fájdalom, nyirokcsomó-duzzanat is számolnak be. A tünetek sok esetben spontán gyógyulhatnak, de egy részüknél hetek vagy hónapok múlva krónikus bőrgyulladás (acrodermatitis chronica atrophicans), idegrendszeri (agyhártyagyulladás, kétoldali facialis bénulás), mozgásszervi (krónikus arthritis) vagy keringési (szívizomgyulladás) szövődmények alakulnak ki (Stanek és Strle, 2003). A kutyában okozott megbetegedést első alkalommal 1985-ben dokumentálták (Steere és mtsai, 2004), melyre legjellemzőbb az ízületgyulladás (acut polyarthritis), idült esetekben pedig az intermittáló sántaság. Bár az esetek nagy része tünetmentesen zajlik, súlyos esetekben veseelégtelenség és ennek következtében elhullás is előfordul (Gülanber és mtsai, 2007; Little és mtsai, 2010).

A kórokozó vektoraként több *Ixodes*-faj is ismert, Európában legnagyobb jelentőségű az *I. ricinus*. A genotípusok gazdaigénye eltérő: *B. afzelii* és az egyik *B. garinii* szerotípus főleg rágcsálókkal hozható összefüggésbe, a *B. valaisiana* és a többi *B. garinii* szerotípus madarakkal, míg a *B. burgdorferi* s. s. mindkettővel (Gray és mtsai, 1999; Reye és mtsai, 2010). A nagyobb testű emlősök, mint a szarvasfélék, vaddisznó, ló, szarvasmarha inkompetens rezervoárok, a fertőzés továbbadásában nem vesznek részt, de fontosak a kullancspopuláció fenntartásához. A kórokozó transzovariális átvitele bizonyított, de megfigyelések szerint ritka (Rijpkema, 1994; Juntilla és mtsai, 1999; Gray és mtsai, 1999).

Kontinensünk olaszországi, németországi és luxemburgi városaiban kimutatták *Rickettsia*-fajok jelenlétét *Ixodes ricinus* kullancsokban. Olaszországban az azonosított fajok többsége *R. monacensis* volt, mellette kis százalékban *R. helvetica* fordult elő, Németországban *R. helvetica* találtak magasabb arányban.

A rickettsiák a Rickettsiales rend Rickettsiaceae családjába tartozó kis méretű, Gram-negatív, pleomorf, obligát intracelluláris baktériumok. *Rickettsia*-fajokat az általuk előidézett kórkép alapján hagyományosan két csoportba sorolják: typhus illetve foltos láz. Az utóbbi tagjai okozzák a kullancs által terjesztett rickettsiózisokat (Parola és mtsai, 2005; Elfving és mtsai, 2010).

A rickettsia okozta dokumentált első humán megbetegedés, a később *Rickettsia rickettsii*-re keresztelt patogén által okozott szikláshegyi foltos láz volt 1899-ben. A

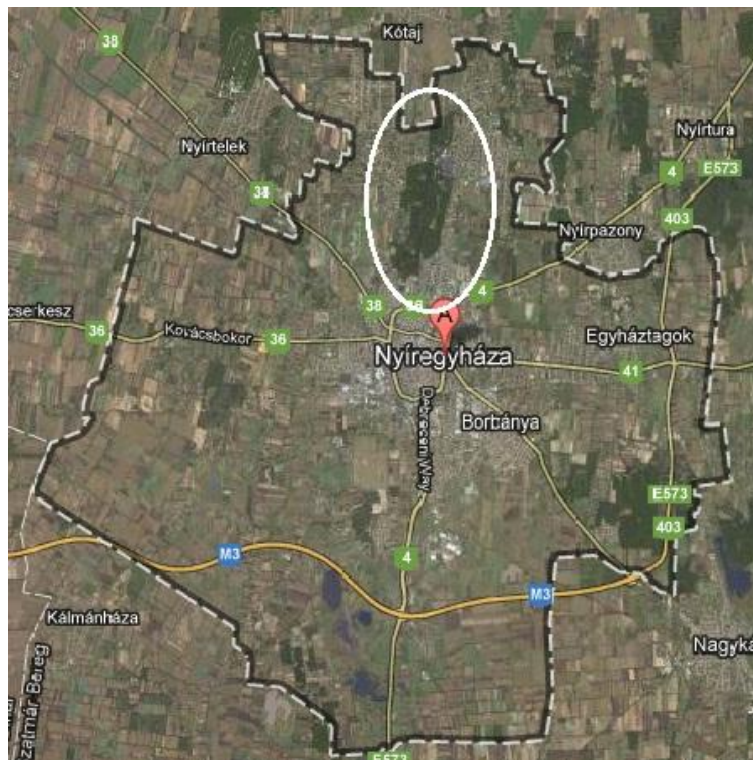
kórokozót 1906-ban Howard T. Ricketts írta le. A 20. század alatt számos új fajt azonosítottak, napjainkig legalább 17 fajról tudjuk, hogy emberi megbetegedést okoz (Parola és mtsai, 2005; Elfving és mtsai, 2010). Ezek között szerepel a *R. helvetica* (Burgdorfer és mtsai, 1979) és a *R. monacensis* (Simser, 2002) is. A megbetegedések nagy részénél lázról, fejfájásról, izomfájdalmakról, kiütésről, nyirokcsomó-megnagyobbodásról számoltak be, kis százalékban fordultak elő neurológiai tünetek, halálos kimenetelű vese- és szívelégtelenség (Raoult és Roux, 1997; Parola és mtsai, 2005; Elfving és mtsai, 2010).

A *R. helvetica* és *R. monacensis* vektoraként több kullancsfaj szerepel, köztük az *Ixodes ricinus*, rezervoárjai rágcsálók (Raoult és Roux, 1997).

3. Saját vizsgálatok

3.1. Anyag és módszer

3.1. 1. Vizsgálatok helyszíne

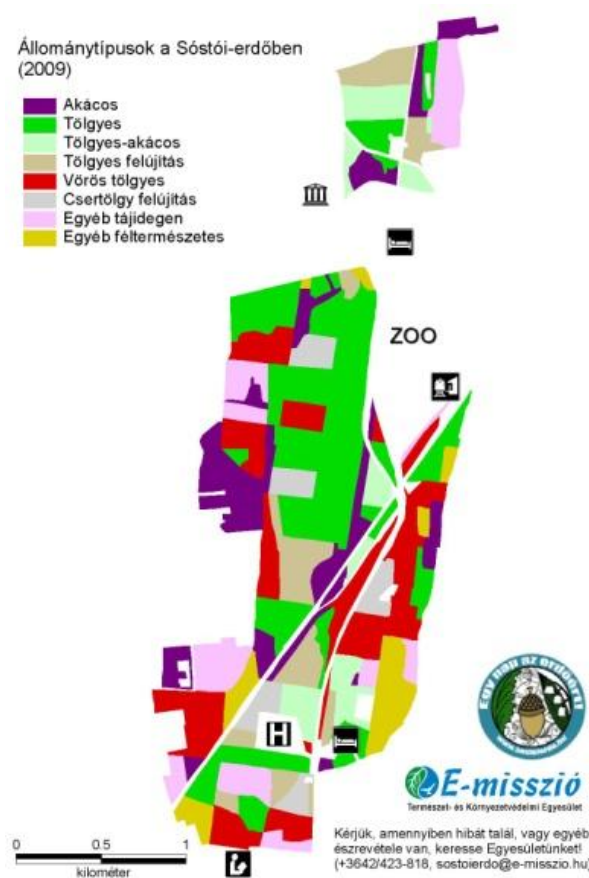


2. ábra: A Sóstói-erdő elhelyezkedése

A Sóstói-erdő Nyíregyháza északi részén terül el, kisebb megszakításokkal Kótaj határáig tart (é. sz. $47^{\circ}59'44''$, k. h. $21^{\circ}43'4''$). Jelenlegi területe 370 hektár (2. ábra). Ebben a térségben az évi átlagos csapadékmennyiség 562 mm, ami országos szinten közepesnek mondható, nyár eleji és késő őszi maximummal. Az évi középhőmérséklet $9,8^{\circ}\text{C}$, a napfényes órák száma 1950-2000. Legalacsonyabb havi átlaghőmérséklet $-2,4^{\circ}\text{C}$ januárban, legmagasabb $20,6^{\circ}\text{C}$ júliusban (Lenti, 2005; Tuba, 2003).

Az erdő nagyobb részében a talaj humuszos homok, nyugati szegélyén réti talaj is előfordul, rozsdabarna erdőtalaj csupán kis területen található. A faállomány mintegy harmadát kocsányos tölgy adja (3. ábra). A szárazabb talajokon a tölgy ritkábban áll, igen sűrű cserjeszint és fejlett gyepszint alakul ki, ami ideális élőhelyé teszi az erdőt a gazdaállatok és a kullancsok számára. A második legnagyobb területű faállományt a fehér akác alkotja. Ehhez hasonló kiterjedésben lelhető fel a vörös tölgy is. Az akácok és a vörös tölgyek alatt az aljnövényzet szegényes. Az említett fafajták mellett kisebb területeken mezei

juhar, szil, fekete dió, fehér nyár és magyar kőri található (2. ábra) (Tuba, 2003; Lenti, 2005; E-misszió, 2012).



3. ábra: Fák állománytípusai a Sóstói-erdőben

Emlősállatok közül az európai őz (*Capreolus capreolus*), a mezei nyúl (*Lepus europaeus*), a vörös róka (*Vulpes vulpes*) és a borz (*Meles meles*) jellemző lakói a Sóstói-erdőnek, de előfordul menyét (*Mustela nivalis*), nyest (*Martes foina*), nyuszt (*Martes martes*) és közönséges görény (*Mustela putorius*) is. Az idős tölgyesek odvas fái és dús aljnövényzete búvóhelyet szolgáltatnak sok kisemlős számára is, így az erdei egér (*Apodemus* spp.) és pocok (*Microtus* spp.) fajoknak, a vándorpatkánynak (*Rattus norvegicus*), az erdei cickánynak (*Sorex araneus*), a mogyorós pelének (*Muscardinus avellanarius*) és az európai sünnnek (*Erinaceus europaeus*). A Sóstói-erdő madárvilága különösen gazdag, otthonául szolgál számos talajon táplálkozó madárfajnak. Hüllők és kételtűek közül az erdei fajok mellett előfordulnak az erdővel szomszédos csatornához kötődő teknős, sikló, béka, varangy, gyík és gőtefajok is (E-misszió, 2012).



4. ábra: A vizsgált útvonalak: az 1-es jelű fehér, a 2-es jelű út sárga színnel feltüntetve.

Az erdő a pihenni vágyók kedvelt célpontja, gyakori látogatók a kiránduló családok, a kutyáikat edző fiatalok és sétáló idősek (6. ábra).



5. ábra: 1-es jelű túraútvonal



6. ábra: 2-es jelű, dús aljnövényzetű útvonal

3.1.2. Kullancsok gyűjtése

A kullancsok gyűjtésére 2010 augusztusa és 2012 júniusa között került sor, félévente 4-4 hónapban, az őszi időszakban augusztusban, szeptemberben, októberben és novemberben, tavasszal márciusban, áprilisban, májusban és júniusban. A havonta kétszer, 2-3 hét különbséggel végzett kullancsgyűjtést minden alkalommal délután 17 és 18 óra között végeztük. Ennek során mindkét útvonal mentén véletlenszerűen kiválasztott 100-100m hosszúságú 5 szakasz növényzetéről ún. dragging módszerrel, egy rúdra erősített, 1x1m méretű, világos színű vászon segítségével gyűjtöttük a kullancsokat, amelyet a rúdhoz erősített kötél segítségével magunk után húztunk a növényzet felületén. A szövetet kb. 10 méterenként szabad szemmel alaposan átvizsgáltuk és a talált kullancsokat 70%-os alkoholt tartalmazó, azonosító jellel ellátott fiolákba tettük.

A kullancsok határozását a Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Kar Parazitológiai és Állattani Tanszékén sztereomikroszkóp alatt Hillyard (1996) határozókulcsa alapján végeztük. Ennek során feljegyeztük az egyes időpontokban gyűjtött fejlődési alakok számát valamint a kifejelettek egyedek nemét.

3.1.3. Molekuláris biológiai vizsgálatok

Nukleinsav-kivonása kullancsokból

Molekuláris biológiai vizsgálat céljára 69 nőstény kullancsból 23 ún. pool mintát alakítottunk ki, melyek 1-5 nőstényt tartalmaztak. A kullancsokat az alapján választottuk ki, hogy mindkét útvonal mentén, minden hónapban gyűjtött egyedeket vizsgáljunk. A DNS kivonását blackPREPTick DNA Kit-tel (Analytik Jena AG, Jena, Németország) végeztük, a gyártó által megadott protokoll szerint.

Anaplasma phagocytophilum kimutatása

TaqMan rendszerű real-time PCR módszerrel vizsgáltuk, amely az msp2 gén 77bp hosszúságú szakaszát képes specifikusan felszaporítani. A reakcióhoz Courtney és munkatársai (2004) által leírt módszer alkalmazva KAPA Taq Hot Start DNA polimerázt tartalmazó KAPA FastProbeMasterMixet (Kapa Biosystems Inc., Woburn, MA, USA), ApMSP2f és ApMSP2r primereket, valamint az ApMSP2p specifikus próbát használtunk (5. táblázat), a reakcióelegy összetételét a 1. táblázat tartalmazza. Pozitív kontrollként

konvencionális PCR-rel pozitívnak talált kullancs DNS extraktumot, negatív kontrollként templát-mentes reakcióelegyet használtunk. A reakcióhoz szükséges hőprogramot egy Illumina ECO real-time PCR készülék (Illumina Inc. San Diego, CA, USA) biztosította. A hőprogram 95°C-on denaturációval (olvasztás) kezdődött (20 mp majd 3 mp), amelyet annealáció (kapcsolódás)/elongáció (lánc hosszabbítás) követett 60°C-on (30 mp) 40 cikluson keresztül. Az eredményeket az ECO Software 4.0.7.0 verziószámú programmal értékeltük.

1. táblázat: Az *Anaplasma phagocytophilum* kimutatásához használt reakcióelegy

desztillált víz	1,8µl
1x KAPA MasterMix	5µl
ApMSP2f (10 pmol/µl)	0,3µl
ApMSP2r (10 pmol/µl)	0,3µl
ApMSP2p (10 pmol/µl)	0,1µl
DNS-templát	2,5µl
összesen	10µl

Babesia-fajok kimutatása

A babesiák vizsgálata hagyományos PCR reakcióval történt, amely a piroplasmák 18S rDNS lokuszának egy kb. 450 bp méretű fragmensét specifikusan, nagy érzékenységgel dúsítja föl. Földvári és mtsai (2005) által leírt s részben általunk módosított módszert alkalmaztuk. Ehhez a PIRO-A1 és a PIRO-B primerpárokat (5. táblázat) és HotStarTaq DNS polimeráz enzimet (QIAGEN GmbH, Hilden, Németország) használtunk. Az alkalmazott reakcióelegy összetételét az 2. táblázat tartalmazza. Pozitív kontrollként *Babesia canis* fertőzöttséggel diagnosztizált kutya mintája, negatív kontrollként templát-mentes reakcióelegy szolgált. A DNS amplifikálása Tpersonal (Biometra GmbH, Göttingen, Németország) PCR készülékben történt. A program egy bevezető 5 perces 95°C-os denaturáló lépéssel kezdődött, ami aktiválta a polimeráz enzimet. Ezután a hőprogram 40 cikluson keresztül a következő lépésekből állt: olvasztás 94°C-on (30 mp), kapcsolódás 60°C-on (30

mp) és 72°C-on láncszabítás (40 mp). Végezetül egyszeri 5 percig, 72°C-on történő kiterjesztéssel és 4°C-on végzett biztosító lépéssel záródott a program.

2. táblázat: A *Babesia*-fajok kimutatásához használt reakcióelegy

desztillált víz	15,875µl
10x Coraload PCR puffer	2,5µl
dNTP-oldat (10 mmol/l)	0,5µl
PiroA1 (50 pmol/µl)	0,5µl
PiroB(50 pmol/µl)	0,5µl
HotStartTaq DNA PLUS polimeráz (5 U/µl)	0,125µl
DNS-templát	5µl
összesen	25µl

Borrelia-fajok kimutatása

A mintákban található *Borrelia*-fajok vizsgálata során a Derdáková és társai (2003) által közölt, az *rrfA-rrlB* intergenic spacer régió 222-255 bp hosszúságú fragmensének specifikus felerősítésén alapuló módszert alkalmaztuk. A reakcióhoz IgsA és IgsB primerpárt (5. táblázat), valamint GoTaq DNA polimeráz enzimet (QIAGEN GmbH, Hilden, Németország) használtunk (3. táblázat). A pozitív kontroll borreliával fertőzöttnek talált kullancsból kivont nukleinsav, a negatív kontroll DNS-mentes PCR víz volt. Az DNS feldúsítása Tpersonal PCR készülékben a következő hőprogram szerint történt: 94°C-on 2 perces denaturáció után 40 cikluson keresztül 15 mp olvasztás 94°C-on, 30 mp anelláció 55°C-on, 30 mp elongáció 72°C-on, majd 72°C-on 5 perc kiterjesztés és 4°C-on tartós inkubáció.

3. táblázat: A *Borrelia*-fajok kimutatásához használt reakcióelegy

desztillált víz	12,875µl
5x GreenGoTaqReactionpuffer	5µl
dNTP-oldat (10 mmol/l)	0,5µl
IGSa(10 pmol/µl)	0,5µl
IGSb (10 pmol/µl)	0,5µl
MgCl ₂	0,5µl
Go Taq DNA polimeráz (5 U/µl)	0,125µl
DNS-templát	5µl
összesen	25µl

A *Borrelia*-fajok meghatározásához a PCR vizsgálattal pozitívnak talált mintát szöuli Macrogen Inc. (Szöul, Korea) laborjába küldtük szekvenálás céljából.

Rickettsia-fajok kimutatása

Rickettsiák kimutatása során a *gltA* gén egy 380 bp méretű szakaszát erősítettük fel Regnery és társai (1991) által leírt és általunk módosított módszer szerint, hagyományos PCR reakcióban. Az amplifikáláshoz RpCS.877p és RpCS.1258n primereket (5. táblázat), továbbá GoTaq DNA polimeráz enzimet (Promega, Madison, USA) használtunk a 4. táblázatban szereplő összetételben. Pozitív kontrollként rickettsiával fertőzött kullancsból kivont DNS-t, negatív kontrollként PCR vizet használtunk. A hőprogram bevezető 5 perces 95°C-os denaturálás után a következő lépéseket alkalmazta 40 cikluson keresztül: 20 mp-es denaturáció 95°C-on, 30 mp-es anelláció 48°C-on és 60 mp-es elongáció 72°C-on. Végül a program egyszeri 5 perces, 72°C-os kiterjesztéssel és 20°C-os tartós inkubáló lépéssel záródott.

4. táblázat: A *Rickettsia*-fajok kimutatásához használt reakcióelegy

desztillált víz	16,3µl
5x GreenGoTaqReaction puffer	5µl
dNTP-oldat (10 mmol/l)	0,5µl
RpCS.877p (50 pmol/µl)	0,25µl
RpCS.1258n (50 pmol/µl)	0,25µl
GoTaq DNA polimeráz (5 U/µl)	0,2µl
DNS-templát	2,5µl
Összesen	25µl

A módszer önmagában nem alkalmas a különböző *Rickettsia*-fajok elkülönítésére, ezért a pozitív eredményt adó minták közül nyolc PCR termék nukleotid szekvenciáit határoztattuk meg (Macrogen Inc., Szöul, Korea). A kapott szekvenciákat a GenBank adatbázisban lefektetett referenciákkal hasonlítottuk össze az NCBI BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) alkalmazásának segítségével.

5. táblázat: A reakciókhoz használt primerek illetve próba adatai

Specifititás	Primer/próba	Cél	Termék mérete (bp)	Szekvencia	Referencia
Anaplasma ph.	ApMSP2f	msp2	77	5' - ATG GAA GGT AGT GTT GGT TAT GGT ATT -3'	Courtney és mtsai, 2004
	ApMSP2r	msp2	77	5' - TTG GTC TTG AAG CGC TCG TA - 3'	
	ApMSP2p (próba)	msp2	77	FAM - 5' - TGG TGC CAG GGT TGA GCT TGA GAT TG - 3' - TAMRA	
Borrelia spp.	IgsA	rrfA-rrlB	222-255	5' - CGA CCT TCT TCG CCT TAA AGC - 3'	Derdáková és mtsai, 2003
	IgsB	rrfA-rrlB	222-255	5' - AGC TCT TAT TCG CTG ATG GTA- 3'	
Piroplasma	PIRO-A1	18S rDNS	450	5' - AGG GAG CCT GAG AGA CGG CTA CC - 3'	Földvári és mtsai, 2005
	PIRO-B	18S rDNS	450	5' - TTA AAT ACG AAT GCC CCC AAC - 3'	
Rickettsia spp.	RpCS.877p	gltA	350	5' - GGG GGC CTG CTC ACG GCG G - 3'	Regnery és mtsai, 1991
	RpCS.1258n	gltA	350	5' - ATT GCA AAA AGT ACA GTG AAC A - 3'	

4. Eredmények

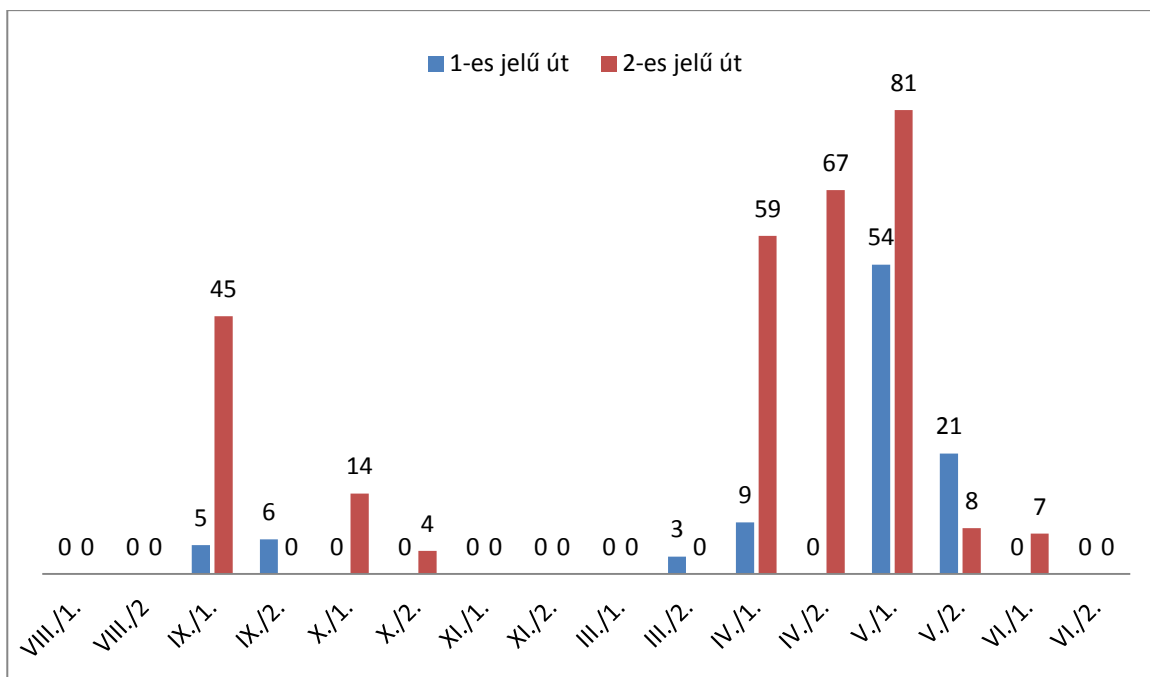
4.1. A vizsgált területeken talált kullancsok

Összesen 769 kullancsot gyűjtöttünk, ezek mindegyike az *Ixodes ricinus* példányai voltak. Többségük (456, 59,3%) nimfa volt, az adultok között több volt a hím (177/769, 23%), mint a nőstény (136/769, 17,7%). A 2010 őszi/2011 tavaszi és a 2011 őszi/2012 tavaszi időszak hónapjaiban közel azonos számban (383 illetve 386) találtunk kullancsokat, a tavaszi hónapokban azonban közel hétszer többet (667) találtunk, mint ősszel (102) (6. táblázat). Mindkét vizsgált útvonal mentén az *I. ricinus* számottevően több példánya fordult elő tavasszal (6. és 7. táblázat).

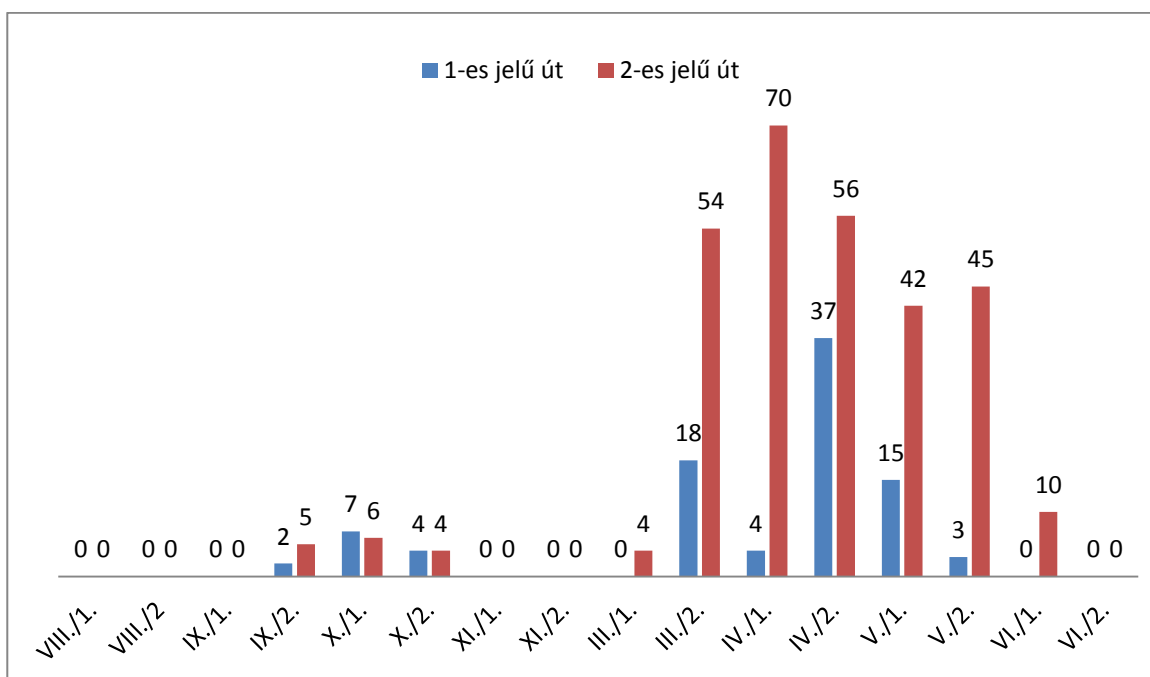
6. táblázat: A két útvonalon havonta gyűjtött kullancsok száma

		őszidőszak (hónapok)				tavaszi időszak (hónapok)				összesen
		VIII.	IX.	X.	XI.	III.	IV.	V.	VI.	
2010/ 2011	1-es jelű út	-	11	-	-	3	9	75	-	383
	2-es jelű út	-	45	18	-	-	126	88	8	
2011/ 2012	1-es jelű út	-	2	11	-	18	41	18	-	386
	2-es jelű út	-	5	10	-	58	126	87	10	
összesen		102				667				

Tavasszal áprilisban és májusban, ősszel szeptemberben és októberben gyűjtöttük a legtöbb kullancsot, augusztusban és novemberben egyik útvonal mentén sem találtunk (7. és 8. ábra).

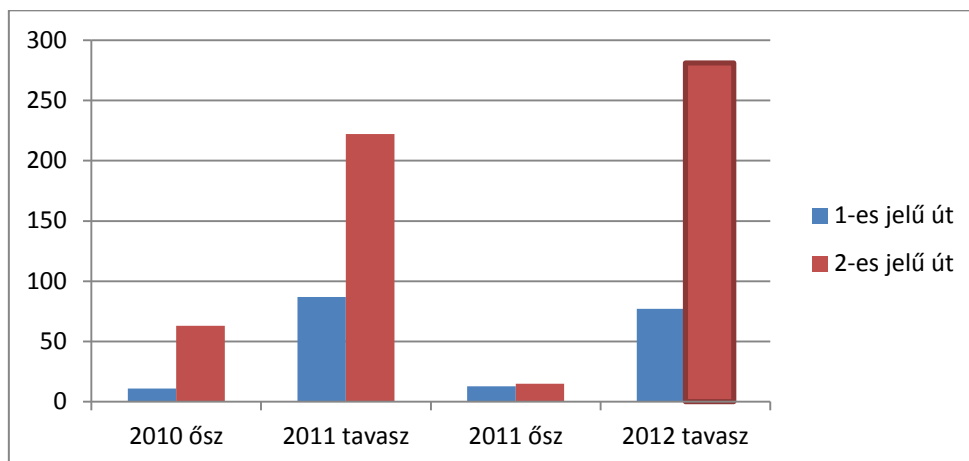


7. ábra: A havi két gyűjtés során talált *Ixodes ricinus* egyedek száma
a 2010 őszi/2011 tavaszi időszakban



8. ábra: A havi két gyűjtés során talált *Ixodes ricinus* egyedek száma
a 2011 őszi/2012 tavaszi időszakban

A két útvonal mentén gyűjtött kullancsok számában jelentős eltérést tapasztaltunk (9. ábra). Az összes kullancs 75,6%-át, 581 példányt a dús aljnövényzetű 2-es jelű útvonalon találtuk, a többit (188) az emberek által gyakran használt 1-es jelű túraútvonal mentén. A két gyűjtési területen talált *I. ricinus* példányok között a nimfák számában volt jelentős eltérés. Az 1-es jelű túraút mentén 56-ot, míg a másik útvonal mentén 400-at gyűjtöttünk. A négy gyűjtési időszakban a túraút közelében az adultokat, a másik mentén viszont a nimfákat találtuk meg nagyobb számban (7. táblázat).



9. ábra: A két útvonal mentén gyűjtött kullancsok száma évszakonként

7. táblázat: A két útvonal mentén talált *Ixodes ricinus* egyedek száma

Évszak	1-es jelű útvonal			2-es jelű útvonal		
	összesen	adult	nimfa	összesen	adult	nimfa
2010 ősz	11	11	0	63	46	17
2011 tavasz	87	64	23	222	91	131
2011 ősz	13	10	3	15	5	10
2012 tavasz	77	47	30	281	39	242
Összesen	188	132	56	581	181	400

4.2. A molekuláris biológiai vizsgálatok eredményei

Anaplasma phagocytophilum vizsgálata

A vizsgált 23 pool minta közül négyben (17,4%) fordult elő *Anaplasma phagocytophilum* a fajspecifikus primerekkel végzett real-time PCR módszerrel. A 2010 őszi/2011 tavaszi időszakban és a 2011 őszi/2012 tavaszi periódusban gyűjtött nőtény kullancsokból álló minták közül is kettő-kettő tartalmazta a keresett DNS-t. Ezek a két útvonal mentén egyenlően oszlottak el, kettőben tavasszal, kettőben ősszel gyűjtött kullancsok voltak (8. táblázat). A prevalencia minimális értéke az általunk vizsgált időszakban 5,8% volt, ha feltételezzük, hogy egy-egy mintában csak egy fertőzött kullancs fordult elő.

Babesia-fajok vizsgálata

A vizsgált minták egyikében sem fordultak elő babesziák.

Borrelia-fajok vizsgálata

Mindössze egy mintát (1/23, 4,3%) találtunk fertőzöttnek. Ebben olyan kullancsok voltak, amelyeket 2011 tavaszán az 1-es jelű útvonal mentén gyűjtöttük (8. táblázat). A *Borrelia*-fajok minimum prevalenciája 1,4% volt. A szekvenálásra küldött minta vizsgálata nem adott értékelhető eredményt.

Rickettsia-fajok vizsgálata

A 23 minta közül 14-ben (14/23, 60,9%) fordultak elő rickettsziák. A 2010 őszi/2011 tavaszi és a 2011 őszi/2012 tavaszi időszakban talált kullancsok alkottak fertőzöttnek talált 7-7 mintát. Mindkét útvonal mentén minden vizsgált évszakban találtunk rickettsziával fertőzött kullancso(ka)t (8. táblázat). A kiszámított minimum prevalencia 20,3% volt, ha azt feltételezzük, hogy mindegyik mintában csak egy kullancs tartalmazott rickettsziát. A szekvenálásra elküldött 8 PCR termék közül hét nagyfokú (99-100%) hasonlóságot mutatott különböző *Rickettsia*-fajok referencia szekvenciáival. Elemzéseink alapján a következő fajokat azonosítottuk: négyben *R. helvetica*, kettőben *R. monacensis* és egyben *R. slovaca* (9. táblázat).

8. táblázat: A két útvonal mentén gyűjtött kullancsok alkotta minták fertőzöttsége

gyűjtés évszaka	1-es jelű út			2-es jelű út		
	<i>Anaplasma</i>	<i>Borrelia</i>	<i>Rickettsia</i>	<i>Anaplasma</i>	<i>Borrelia</i>	<i>Rickettsia</i>
2010 ősz			1	1		1
2011 tavasz	1	1	3			2
2011 ősz	1		1			1
2012 tavasz			1	1		4
összesen	2	1	6	2	0	8

9. táblázat: *Rickettsia*-fajok azonosítása

Szekvencia hossza	Referencia szekvencia	<i>Rickettsia</i> -faj	Hasonlóság
315bp	JX040638.1	<i>R. helvetica</i>	99%
316bp	JX040638.1	<i>R. helvetica</i>	100%
317bp	JX003686.1	<i>R. monacensis</i>	100%
317bp	JX003686.1	<i>R. monacensis</i>	100%
315bp	JX040638.1	<i>R. helvetica</i>	100%
314bp	JX040638.1	<i>R. helvetica</i>	100%
320bp	JN182787.1	<i>R. slovaca</i>	99%

5. Megbeszélés

Számos kutatás foglalkozik a kullancsokkal és az általuk hordozott kórokozókkal, azonban kevés ismerettel rendelkezünk arról, hogy a városi környezetben milyen kullancsfajok, milyen aktivitással fordulnak elő, s vajon ezekben előfordulnak-e olyan kórokozók, amelyek az ott élő emberek és társállataik fertőzését okozhatják. Tudomásunk szerint a miénkhöz hasonló vizsgálatot hazánkban csak a budapesti Margit-szigeten végeztek, ahol az ott élő sünökről gyűjtöttek kullancsokat és molekuláris módszerrel keresték az azokban lévő kórokozókat (Földvári és mtsai, 2011).

Az emberek által kedvelt kiránduló, pihenő helyként ismert Nyíregyháza melletti Sóstói-erdőben két éven át tartott vizsgálatunk alatt talált kullancsok mindegyike az Európában legelterjedtebb kullancsfaj, az *Ixodes ricinus* példánya volt. A kontinens urbanizált területein végzett vizsgálatok többségében szintén ennek a fajnak az egyedeit találták (Silaghi és mtsai, 2008; Reye és mtsai, 2010; Schorn és mtsai, 2011; Sen és mtsai, 2011; Sytykiewicz és mtsai, 2012). Hazánk 16 megyéjére kiterjedő vizsgálat során, valamint 37 élőhelyen a vegetációról gyűjtött kullancsok határozása szerint az *I. ricinus* a leggyakrabban előforduló faj az országban (Sréter és mtsai, 2005b; Hornok és Farkas, 2009). Kutyákon (Földvári és mtsai, 2007) és rókákon (Sréter és mtsai, 2005b) is e faj egyedei voltak többségben.

A kullancsok többségét, 86,7%-át a tavaszi hónapokban gyűjtöttük. Ez az eredmény összhangban van a külföldi vizsgálatok megállapításaival (Cinco és mtsai, 2008; Dobson és mtsai, 2011; Tagliapietra és mtsai, 2011; Hancock és mtsai, 2011). Hazánkban Egyed és munkatársai (2012) vizsgálataik során is az *Ixodes ricinus* tavaszi dominanciájáról számoltak be. A kullancsok előfordulását nagymértékben meghatározzák a környezeti tényezők, így a levegő hőmérséklete és páratartalma, az ezt és fejlődési alakjaik táplálékforrásául szolgáló állatok jelenlétét befolyásoló növényzet. Ha ezek nem biztosítanak kedvező feltételeket, a kullancsok jelentős részénél nyugalmi állapot, ún. viselkedési diapauza veszi kezdetét. A vért szívott és vedlett lárvák és/vagy nimfák tavaszig beszüntetik gazdakereső tevékenységüket. Ezzel függ össze, hogy a tavaszi időszakhoz képes ősszel kisebb számban jelennek meg a vegetáción (Hancock és mtsai, 2011; Egyed és mtsai, 2012).

A hazai szakirodalomban (Széll és mtsai 2006; Hornok és Farkas, 2009) arról írnak, hogy a legtöbb *I. ricinus* májusban fordul elő, azonban vizsgálataink mindkét évében a két útvonal mentén áprilisban hasonló számban találtuk meg a faj egyedeit, mint májusban. Ez

véleményünk szerint részben azzal magyarázható, hogy ezek a kullancsok a dús aljnövényzetű tölgyerdőben kedvező életfeltételeket találtak koratavasszal s ezáltal nyugalmi állapotukat hamarabb fejezték be. Ebben a klímaváltozás miatti enyhülő telek is szerepet játszhattak. A kullancsok többségét (75,6%-át) a dús aljnövényzetű 2-es jelű útvonal mentén találtuk. Korábbi vizsgálatokban is arról számoltak be, hogy e kullancsfaj kedvelt élettere a természet azon részei, ahol adús növényzet miatt a levegő páratartalma magas (Tack és mtsai, 2012).

Az általunk vizsgált két útvonal mentén jelentős eltérést tapasztaltunk a nimfák számában. A 2-es jelű, növényekkel sűrűn borított ösvényekből álló útvonal közelében több mint hétszer több nimfát gyűjtöttünk, mint az 1-es jelű túravonalon. Számos vizsgálat bizonyítja, hogy az *I. ricinus* nimfái leggyakrabban különféle rágsálókon (Kurtenbach és Kampen, 1995; Paulauskasa és mtsai 2009), madarakon (Hasle és mtsai, 2011; Dubska és mtsai, 2011) és gyíkokon (Földvári és mtsai, 2009; De Sousa és mtsai, 2012) élőködnek. A Sóstói-erdő sokféle kisemlős, talajon táplálkozó agyszámú madárfaj és több gyíkféle otthonául szolgál, amelyek leginkább a védelmet és táplálékot biztosító dús cserje- és gyepszinttel rendelkező területeken fordulnak elő, mint amilyen a 2-essel jelölt útvonal, s táplálékforrásként szolgálnak az *I. ricinus* nimfáinak.

Az adultokat megközelítőleg azonos számban találtuk a két vizsgált területen. A kifejlett kullancsok a lárvák és a nimfák gazdaállatain is táplálkozhatnak, de gyakoribb, hogy nagyobb emlősökön, így a mezei nyúlön, őzekén (Hoby és mtsai, 2009; Kjelland és mtsai, 2011) vagy kutyákon (Földvári és Farkas, 2005; Földvári és mtsai, 2007) szívnak vért. Mindezek jelen vannak a Sóstói-erdőben, ahol a vért szívott nőtények a gazdaállatok útvonala mentén a talajra pottyánva fertőzhetik az utak és ösvények menti területeket.

Az Európaszerte elterjedt *Ixodes ricinus* számos köz- és állategészségügyi jelentőségű kórokozót hordoz, így a humán granulocitás anaplazmózis kórokozóját, az *Anaplasma phagocytophilum*ot, a Lyme borreliózist okozó *Borrelia*-fajokat és különféle *Babesia*- és *Rickettsia*-fajokat (Schorn és mtsai 2011; Egyed és mtsai, 2012).

Számos tanulmány közöl adatokat arról, hogy az *A. phagocytophilum* előfordul az európai városokban. Lengyelországban, Németországban, Hollandiában, Luxemburgban és Törökországban az előfordulásának átlagos prevalenciája 1,8-14,5% (Stanczak és mtsai 2004; Wielinga és mtsai, 2006; Silaghi és mtsai, 2008; Wójcik-Fatla és mtsai 2009; Reye és mtsai,

2010; Sen és mtsai 2011; Sytykiewicz és mtsai 2012). Több országban megfigyelték, hogy a természetes erdőkben gyűjtött *I. ricinus* példányok nagyobb arányban fertőzöttek, mint a városi területeken találtak (Wielinga és mtsai, 2006; Reye és mtsai, 2010; Sen és mtsai, 2011). Magyarországon gyűjtöttekben (Egyed és mtsai, 2012) kisebb arányban fordult elő ez a baktériumfaj, mint a vizsgálatainkban. Egy németországi tanulmány szerint is a városi parkokban talált kullancsok szignifikánsan nagyobb arányban voltak fertőzöttek (Silaghi és mtsai, 2008). A kullancsok transzovariálisan nem képesek terjeszteni az *A. phagocytophilum*-ot, ezért a kórokozó fenntartásában fontos szerepet játszanak a fertőzött gazdaállatok. A Sóstói-erdőben is jelen vannak az *A. phagocytophilum* rezervoárjaiként ismert őzek és kis emlősök (Parolaa és mtsai, 2005) ezért valószínű, hogy a talált kullancsok is ezektől fertőződhetnek. Mind a négy vizsgált félév során találtunk a baktérium DNS-ét tartalmazó kullancsokat és a minták felét az 1-es jelű túraútvonal mentén gyűjtöttük. Ez arra hívja fel a figyelmet, hogy az arra sétáló emberek és kutyáik fertőződhetnek az *A. phagocytophilum*-mal (Parolaa és mtsai, 2005).

Mintáinkban nem találtuk babesiák DNS-ét. Németországi, luxemburgi és lengyelországi parkokban gyűjtött kullancsokban a protozoonok átlagos prevalenciája 0,4-6,5% volt (Stanczak és mtsai, 2004; Wójcik-Fatla és mtsai, 2009; Reye és mtsai, 2010; Schorn és mtsai, 2011; Sytykiewicz és mtsai, 2012). Legnagyobb gyakorisággal a közegészségügyi jelentőségű *B. microti* és *B. venatorum* fajokat azonosították, kisebb gyakorisággal a szarvasmarha parazitájaként ismert, emberi megbetegedést is okozó *B. divergens*. Korábban hazánkban is megállapították a *B. microti* és *B. divergens* jelenlétét, amelyeknek a minimum prevalenciája alacsony, egyenként mindössze 0,33-0,88% illetve 0,33-1% volt (Egyed és mtsai, 2012).

A legtöbb tanulmány a *Borrelia burgdorferi* s. l. fajcsoporttal foglalkozik. A vizsgált kórokozók közül Európa szerte ez fordul elő leggyakrabban az *I. ricinus*-ban. Kontinensünk hét országának városi területein mindenhol megtalálták, a parkokban talált kullancsok fertőzöttségének aránya 2 és 55% között volt (Junttila és mtsai, 1999; Gray és mtsai, 1999; Stanczak és mtsai, 2004; Wielinga és mtsai, 2006; Wójcik-Fatla és mtsai, 2009; Reye és mtsai, 2010; Sen és mtsai, 2011; Corrain és mtsai, 2012). Négy luxemburgi élőhelycsoportot vizsgáló tanulmány a kullancsok *Borrelia burgdorferi* s. l. okozta fertőzöttségének az aránya és az urbanizáció mértéke között pozitív korrelációt talált (Reye és mtsai, 2010). Hasonló eredményről számoltak be törökországi vizsgálatok kapcsán is (Sen és mtsai, 2011).

Vizsgálatunkban mindössze egy pool mintában találtunk *Borrelia*-fertőzöttséget. Lehetséges, hogy egy erdei rágcsálótól vagy őztől történt a kullancs(ok) fertőződése. A borreliák esetében előfordul a transzovariális átvitelük, megfigyelések szerint azonban ez ritka (Rijpkema és mtsai, 1994). A szekvenált minta alapján azonban nem sikerül megállapítani, hogy mely fajt fordult elő. Luxemburgi, hollandiai és törökországi városokban eltérő gyakorisággal a *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. burgdorferi* s.s., *B. valaisiana* és *B. lusitaniae* fajokat azonosították, (Wielinga és mtsai, 2006; Reye és mtsai, 2010; Sen és mtsai, 2011). Az eltérő eredmények oka nagy valószínűséggel a genotípusok különböző gazdapreferenciájában keresendő (Gray és mtsai, 1999; Reye és mtsai, 2010). Magyarországi vizsgálat során szintén ezeket a baktériumokat mutatták ki az *I. ricinus* kullancsokból (Egyed és mtsai, 2012), és a Sóstói-erdőben a felsorolt fajok potenciális gazdái (rágcsáló- és madárfajok) megtalálhatók, ezért feltételezhető, hogy a fertőzött mintában is e fajok valamelyike fordult elő. Az említett genotípusok Lyme-kórt okozó képessége bizonyított, ezért a vizsgálati területen megforduló embere és kutyák valószínűleg ki vannak téve egy vagy több helyi faj okozta fertőzésnek, de ennek igazolása további vizsgálatokat igényel.

A pool minták közül meglepően sokban fordultak elő rickettsiák. *Rickettsia*-fajokat mindkét vizsgált év során, mind a két útvonal mentén gyűjtött kullancsokból álló minták több mint 60%-ában megtaláltuk. Luxemburgban városi területeken végzett kutatás során a fertőzöttség prevalenciája 5,1% (Reye és mtsai, 2010), Németországban 7,3% (Schorn és mtsai, 2011), Olaszországban 15,7% (Corrain és mtsai, 2012) volt. A németországi és luxemburgi vizsgálatokban az általunk is azonosított *R. helvetica* és *R. monacensis* fajokat mutatták ki (Schorn és mtsai, 2011; Corrain és mtsai, 2012). Magyarországi erdőkben gyűjtött kullancsok lényegesen kisebb arányban voltak fertőzöttek, a *R. helvetica* esetében ez az érték 1,83% volt, a *R. monacensis* pedig 0,11%-os minimum prevalenciával fordult elő (Egyed és mtsai, 2012). Schorn és munkatársai (2011) a *Rickettsia*-fajok eloszlásában földrajzi különbségeket találtak. Dél- és Kelet-Európában az *I. ricinus*ból leggyakrabban kimutatható faj a *R. monacensis*, Közép- és Nyugat-Európában viszont csak sporadikusan fordul elő a *R. helvetica* mellett. Csak az utóbbi fajt találták Észak-Európában (Schorn és mtsai, 2011). Az általunk kapott eredmény is illeszkedik ebbe az eloszlásba: a szekvenálásra küldött minták közül négy bizonyult *R. helvetica*-nak és kettőben volt *R. monacensis*. Bizonyított, hogy mindkét faj emberek megbetegedését okozza (Parola és mtsai, 2005; Jado és mtsai, 2007; Elfving és mtsai 2010). Egy poolban a TIBOLA kórokozója, a *R. slovaca* fordult elő (Selmi és mtsai, 2008). Ezt a fajt európai urbanizált területeken végzett vizsgálatok egyikében sem

találták meg, azonban hazai jelenlétét korábban már megállapították (Sréter-Lancz és mtsai, 2006). A rickettsiák gyakori előfordulásának egyik valószínű magyarázata az lehet, hogy ezek rezervoárjaiként ismert rágcsálók (Parolaa és mtsai, 2005) jelen vannak a vizsgált területeken, másfelől ezeket a kórokozók a fertőzött nőtény kullancsokból transzovariális úton átjutnak a petékbe és az azokból kifejlődött lárvák közül sok fertőzött lehet. Ily módon egy fertőzött kullancs baktériumot hordozó peték ezreit rakhatja a környezetben. Ez komoly veszélyt jelent a Sóstói-erdőbe látogatókra.

Vizsgálataink során megállapítottuk, hogy Nyíregyháza északi részén elterülő, az emberek által kedvelt Sóstói-erdőben is jelen vannak az országszerte előforduló kullancsfaj, az *I. ricinus* egyedei. Életterüket tekintve gyakoribbak a dús növényzettel benőtt, az ember által kevésbé látogatott útvonalak mentén, ahol a tavaszi hónapokban tömegesen fordulnak elő a nimfák. Ezeken a részeken, de a gyakrabban használt túraútvonal mentén is fenn áll a veszélye, hogy az arra sétáló emberek és kutyáik olyan kullancsokkal fertőződjenek, amelyek egészségükre veszélyes kórokozó(ka)t olthatnak be. Fontosnak tartjuk, hogy erre felhívják az odalátogatók figyelmét. Megfigyeléseink alapján szükségesnek tartjuk hasonló vizsgálatok végzését az ország más városainak a közkedvelt pihenőhelyein is, hogy felmérjék az ott megforduló emberek és társállataik kullancsok által hordozott parányi élősködők okozta fertőződés kockázatát.

6. Összefoglalás

A Nyíregyháza északi részén elterülő pihenőhelyen 2010 augusztusa és 2012 júniusa közötti időszakban, félévente 4-4 hónapon keresztül, havonta kétszer kullancsokat gyűjtöttünk ún. dragging módszerrel két, kb. 1500 m hosszúságú útvonal több szakaszán. Az egyik kedvelt túraútvonal, ritka aljnövényzettel, amelyen gyakran haladnak el sétáló, kerékpározó emberek kutyáikkal. A másik útvonal kis ösvények hálózata, ahol dús a cserje- és gyepszínti vegetáció, emiatt errefelé az emberek és társállataik ritkán járnak.

A két őszi és két tavaszi időszakban összesen 769 kullancsot gyűjtöttünk. Ezek mindegyike a hazánkban legelterjedtebb és leggyakoribb faj, az *Ixodes ricinus* példánya volt. Többsége, 59,3%-a nymphta (456), a többi hím (177) és nőstény (136) volt. Az adultok száma a két útvonal mentén nem tért el annyira számottevően (132, ill. 188), mint a nimfáké, melyek az emberek által ritkán látogatott kis ösvényeken lényegesen nagyobb számban fordultak elő (400), mint a túraútvonal mentén (56). Mindkét vizsgált területen szignifikánsan több kullancsot találtunk tavasszal (164, ill. 503), mint ősszel (24, ill. 78).

Az egyes évszakokban a két útvonal mentén talált nőstény kullancsok közül véletlenszerűen kiválasztott 69 példány alkotta 23 mintából kórokozók molekuláris biológiai vizsgálata céljából kivontuk a DNS-t. Egy-egy mintában 1-5 kullancs volt. *Babesia*-fajokat nem találtunk, de mindkét útvonal mentén gyűjtöttekből álló 4 mintában állat- és közegészségügyi jelentőségű *Anaplasma phagocytophilum* volt kimutatható real-time PCR vizsgálattal. *Rickettsia*- és *Borrelia*-fajok vizsgálatát is elvégeztük. A 23 minta közül egyben *Borrelia*, 14-ben, amelyeket mindkét út mentén az őszi és tavaszi hónapokban is gyűjtöttünk, *Rickettsia* fordult elő. Nyolc termék szekvenálása alapján *Rickettsia helvetica*, *R. monacensis* és *R. slovaca* volt azonosítható, amelyek 99-100% hasonlóságot mutattak a génbankban talált szekvenciákhoz.

Tudomásunk szerint ez első olyan hazai vizsgálat, amely az emberek által látogatott városi, város közeli pihenőhelyeken gyűjtött kullancsok és az ezekben előforduló kórokozók vizsgálatával arra keres választ, hogy milyen kullancsfaj(ok) milyen kórokozók átvitelével veszélyeztetik az ott megforduló emberek és kutyáik egészségét.

7. Summary

Questing hard ticks were collected along two, approximately 1500m long walking roads with dragging method twice a month in four spring and autumn months between August 2010 and June 2012. One of these sampling sites having sparse undergrowth was a popular walking path of local people who walk with their dogs and ride a bicycle. The other sampling site consisted of unfrequented trails with rich shrub layer and ground vegetation.

In total, 769 ticks were collected. All of them were identified as *Ixodes ricinus*, the most common tick species in Hungary. Majority of the specimens were nymphs (456), there were some males (177) and females (136). There was no considerable difference between the number of adults (132 and 188) collected in the two sampling sites. Along the unfrequented trails nymphs were more frequently collected (400) than in the walking path (56). Majority of ticks were collected in spring (164 and 503, respectively) in both areas.

DNA was extracted from 23 pooled samples of 69 females randomly selected for detecting any tick-borne pathogens with PCR. No *Babesia*-species were found. *Anaplasma phagocytophilum* was detected in four samples with real-time PCR. Most samples (14) were positive for *Rickettsia* of which 8 ones were sequenced. GenBank analysis showed 99-100% homologous to sequences of *Rickettsia helvetica*, *R. monacensis* and *R. slovaca*. Only one pooled sample contained *Borrelia* sp.

To our knowledge this is the first study on ticks and tick-borne pathogens in urban recreational areas of Hungary.

8. Irodalomjegyzék

- Blanco, J. R., Oteo, J. A., 2002. Human granulocytic ehrlichiosis in Europe. *Clinical Microbiology and Infection*, 8(12), 763-772.
- Burgdorfer, W., Aeschlimann, A., Peter, O., Hayes, S. F., Philip, R. N., 1979. *Ixodes ricinus*: vector of a hitherto undescribed spotted fever group agent in Switzerland. *Acta Tropica*, 36, 357-367.
- Camacho, A. T., Pallas, E., Gestal, J.J., Guitián, F. J., Olmeda, A.S., Goethert, H. K., Telford, S. R., 2001. Infection of dogs in north-west Spain with a *Babesia microti*-like agent. *Veterinary Record*, 67(149), 552-555.
- Cinco, M., Floris, R., Menardi, G., Boemo, B., Mignozzi, K., Altobelli, A., 2008. Spatial pattern of risk exposure to pathogens transmitted by *Ixodes ricinus* in north-eastern Italy and Italy/Slovenia transborder territory. *International Journal of Medical Microbiology*, 298, 211-217.
- Corrain, R., Drigo, M., Fenati, M., Menandro, M.L., Mondin, A., Pasotto, D., Martini, M., 2012. Study on ticks and tick-borne zoonoses in public parks in Italy. *Zoonoses and Public Health*, 59(7), 468-476.
- Courtney, J. W., Kostelnik, L. M., Zeidner, N. S., Massung, R. F., 2004. Multiplex real-time PCR fordetection of *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi*. *Journal of ClinicalMicrobiology*, 42(7), 3164-3168.
- Dautel, H., Dippel, C., Kammer, D., Werkhausen, A., Kahl, O., 2008. Winter activity of *Ixodes ricinus* in a Berlin forest. *International Journal of Medical Microbiology*, 298, 50-54.
- Derdáková, M., Beati, L., Petko, B., Stanko, M., Fish, D., 2003. Genetic variability within *Borrelia burgdorferi* sensu lato genospecies established by PCR-SSCP analysis of the rrfA-rrlB intergenic spacer in *Ixodes ricinus* ticks from the Czech Republic. *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 509-516,
- Dobson, A. D. M., Taylor, J. L., Randolph, S. E., 2011. Ticks (*Ixodes ricinus*) abundance and seasonality at a recreational sites in the UK: Hazards in relation to fine-scale habitat types revealed by complementary sampling methods. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 2, 67-74.
- Dubska, L., Literak, I., Kocianova, E., Taragelova, V., Sverakova, V., Sychra, O., Hromadko, M., 2011. Synanthropic birds influence the distribution of *Borrelia* species: Analysis of *Ixodes ricinus* ticks feeding on passerine birds. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(3), 1115-1117
- Dumler, J. S., Choi, K. S., 2005. Human granulocytic anaplasmosis and *Anaplasma phagocytophilum*. *Emerging Infectious Diseases*, 11(12), 1828-1834.
- Egyed L., Élő P., Stréter-Lancz Zs., Széll Z., Balogh Zs., Sréter T., 2012. Seasonal activity and tick-borne pathogen infection rates of *Ixodes ricinus* ticks in Hungary. *Ticks and Tick-borndiseases*, 3, 90-94.

Elfving, K., Olsen, B., Bergström, S., Waldenström, J., Lundkvist, A., Sjöstedt, A., Mejlön H., Nilsson, K., 2010. Dissemination of spotted fever rickettsia agents in Europe by migrating birds. *Plos one*, 5(1).

E-misszó Természet- és Környezetvédelmi Egyesület: A mi erdőnk – Honlap a Sóstói-erdőért, 2012. URL: <http://www.sostoierdo.hu/index.php/hasznos-informaciok/olvasnivalok-szakirodalom> Letöltés időpontja: 2012.09.25.

Farkas R., Fok É., Hornok S., 2004. Állatorvosi parazitológiai diagnosztika. Budapest: A/3 Nyomdaipari és Kiadói Szolgáltató Kft., 236.

Földvári G., Farkas R., 2005. Ixodid tick species attaching to dogs in Hungary. *Veterinary Parasitology*, 20, 125-131.

Földvári G., Hell E., Farkas R., 2005. *Babesia canis canis* in dogs from Hungary: detection by PCR and sequencing. *Veterinary Parasitology*, 127(3-4), 221-226.

Földvári G., Márialigeti M., Solymosi N., Lukács Z., Majoros G., Kósa J. P., Farkas R., 2007. Hard ticks infesting dogs in Hungary and their infection with *Babesia* and *Borrelia* species. *Parasitology Research*, 101, 25-34.

Földvári G., Rigó K., Majláthová V., Majláth I., Farkas R., Pet'ko B., 2009. Detection of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in lizard and their ticks from Hungary. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 9, 331-336.

Földvári G., Rigó K., Jablonszky M., Biró N., Majoros G., Molnár V., Tóth M., 2011. Ticks and the city: ectoparasites of the Northern white-breasted hedgehog (*Erinaceus roumanicus*) in an urban park. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 2, 231-234.

Goodman, J. L., Dennis, D. T., Sonenshine D. E., 2005. Tick-Borne Diseases of Humans. Washington, DC: American Society for Microbiology Press, 401.

Gray, J. S., Kirstein, F., Robertson, J. N., Stein, J., Kahl, O., 1999. *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks and rodents in a recreational park in south-western Ireland. *Experimental and Applied Acarology*, 23, 717-729.

Gray, J. S., 1987. Mating and behavioural diapause in *Ixodes ricinus* L. *Experimental and Applied Acarology*, 3, 61-71.

Gray, J., Zintl, A., Hildebrandt, A., Hunfeld, K. P., Weiss, L., 2010. Zoonotic babesiosis: overview of the disease and novel aspects of pathogen identity. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 1(1), 3-10.

Gülenber, E. G., Gülanber, A., Albayrak, R., Gülanber, N. G., Polat, E., 2007. Lyme disease (borreliosis) in a saint bernard dog: first clinical case in Turkey. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 31(5), 367-369.

Hancock, P. A., Brackley, R., Palmer, S. C. F., 2011. Modelling the effect of temperature variation on the seasonal dynamics of *Ixodes ricinus* tick populations. *International Journal for Parasitology*, 41, 513-522.

Hasle, G., Leinaas, H. P., Roed, K. H., Qines, Q., 2011. Transport of *Babesia venatorum*-infected *Ixodes ricinus* to Norway by northward migrating passerine birds. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 53(1), 41.

Herwaldt, B. L., Cacciò, S., Gherlinzoni, F., Aspöck, H., Slemenda, S. B., Piccaluga, P. P., Martinelli, G., Edelhofer, R., Hollenstein, U., Poletti, G., Pampiglione, S., Löschenberger, K., Tura, S., Pieniazek, N. J., 2003. Molecular characterization of a non-*Babesia divergens* organism causing zoonotic babesiosis in Europe. *Emerging Infectious Diseases*, 9(8), 943-948.

Hildebrandt, A., Hunfeld, K. P., 2007. First confirmed autochthonous case of human *Babesia microti* infection in Europe. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 26(8), 595-601.

Hillyard, P. D., 1996. Ticks of North-West Europe. In: Barnes, R. S. K., Chrothers, J. H.: Synopses of the British Fauna (New Series). Field Studies Council, Shrewsbury, 178 pp.

Hoby, S., Mathis, A., Doherr, M. G., Robert, N., Ryser-Degiorgis, M.P., 2009. *Babesia capreoli* infections in alpine chamois (*Rupicapra r. Rupicapra*), roe deer (*Capreolus c. Capreolus*) and red deer (*Cervus elaphus*) from Switzerland. *Journal of Wildlife Diseases*, 45(3), 748-753.

Homer, M. J., Aguilar-Delfin I., Telford, S. R., Krause, P. J., Persing, D. H., 2000. Babesiosis. *Clinical Microbiology Reviews*, 13(3), 451-469.

Hornok S., Farkas R., 2005. First autochthonous infestation of dogs with *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in Hungary: case report and review of current knowledge on this tick species. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 127, 623-629.

Hornok S., Farkas R., 2009. Influence of biotope on the distribution and peak activity of questing ixodid ticks in Hungary. *Medical and Veterinary Entomology*, 23, 41-46.

Ismail, N., Bloch, K. C., McBride, J. W., 2010. Human ehrlichiosis and anaplasmosis. *Clinical Laboratory Medicine*, 30(1), 261-292.

Jado, I., Oteo, J. A., Aldamiz, M., Gil, H., Escudero, R., Ibarra, V., Portu, J., Portillo, A., Lezaun, M. J., Garcia-Amil, C., Rodriguez-Moreno, I., Anda, P., 2007. *Rickettsia monacensis* and human disease, Spain. *Emerging Infectious Diseases*, 13(9), 1405-1407.

Junttila, J., Peltomaa, M., Soini H., Marjamäki, M., Viljanen, M. K., 1999. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes ricinus* ticks in urban recreational areas of Helsinki. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(5), 1361-1365.

Kjelland, V., Ytrehus, B., Kjelland, V., Ytrehus, B., Stuen, S., Skarpaas, T., Slettan, A., 2011. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes ricinus* ticks collected from moose (*Alces alces*)

and roe deer (*Capreolus capreolus*) in southern Norway. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 2(2), 99-103.

Kurtenbach, K., Kampen, H., 1995. Infestation of rodents with larval *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) is an important factor in the transmission cycle of *Borrelia burgdorferi* s. l. in German woodlands. *Journal of Medical Entomology*, 32(6), 807-817.

Lenti I., 2005. A Nyíregyházi Sóstói-erdő gombavilága. *Szabolcs-Szatmár-Beregi Szemle* 40, 234-256.

Lindgren, E., Jaenson, T.G.T., 2006. Lyme Borreliosis in Europe: Influences of climate change, epidemiology, ecology and adaptation measures. In: Menne, B., Ebi, K.L.: Climate change and adaptation strategies for human health – Darmstadt, Germany, Steinkopff Verlag, 157-188.

Little, S. E., Heise, S. R. et al., Blagburn, B. L., Callister, S. M., Mead, P. S., 2010. Lyme borreliosis in dogs and humans in the USA. *Trends in Parasitology*, 26(4), 213-218.

Margos, G., Hojgaard, A., Lane, R. S., Cornet, M., Fingerle, V., Rudenko, N., Ogden, N., Aanensen, D. M., Fish, D., Piesman J., 2010. Multilocus sequence analysis of *Borrelia bissettii* strains from North America reveals a new *Borrelia* species, *Borrelia kurtenbachii*. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 1(4), 151-158.

Parola, P., Davoust, B., Raoult, D., 2005. Tick- and flea-borne rickettsial emerging zoonoses. *Veterinary Research*, 36(3), 469-492.

Paulauskasa, A., Radzijeuskajaa, J., Rosef, O., 2009. Infestation of mice and voles with *Ixodes ricinus* ticks in Lithuania and Norway. *Estonian Journal of Ecology*, 58(2), 112-125.

Petrovec, M., Lotric Furlan, S., Zupanc, T. A., Strle, F., Brouqui, P., Roux, V., Dumler, J. S., 1997. Human disease in Europe caused by a granulocytic *Ehrlichia* species. *Journal of Clinical Microbiology*, 35(6), 1556-1559.

Randolph, S. E., 2008. The impact of tick ecology on pathogen transmission dynamics. In: Bowman, A. S., Nuttall, P. A.: Ticks: Biology, Disease and Control. Cambridge: Cambridge University Press, 40-72.

Raoult, D., Roux, V., 1997. Rickettsioses as paradigms of new or emerging infectious diseases. *Clinical Microbiology Reviews*, 10(4), 694-719.

Regnery, R. L., Spruill, C. L., Plikaytis B. D., 1991. Genotypic identification of rickettsiae and estimation of intraspecies sequence divergence for portions of two rickettsial genes. *Journal of Bacteriology*, 173(5), 1576-1589.

Reye, A. L., Hübschen, J. M. Sausy, A., Muller, C. P., 2010. Prevalence and seasonality of tick-borne pathogens in questing *Ixodes ricinus* ticks from Luxembourg. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(9), 2923-2931.

- Rijpkema, S., Nieuwenhuijs, J., Franssen, F. F. J., Jongejan, F., 1994. Infection rates of *Borrelia burgdorferi* in different instars of *Ixodes ricinus* ticks from the Dutch North Sea Island of Ameland. *Experimental and Applied Acarology*, 18(9), 531-542.
- Schorn, S., Pfister, K., Reulen, H., Mahling, M., Silaghi, C., 2011. Occurrence of *Babesia* spp., *Rickettsia* spp. and *Bartonella* spp. in *Ixodes ricinus* in Bavarian public parks, Germany. *Parasites & Vectors*, 4, 135-140.
- Selmi, M., Bertolotti, L., Tomassone, L., Manelli, A., 2008. *Rickettsia slovaca* in *Dermacentor marginatus* and tick-borne lymphadenopathy, Tuscany, Italy. *Emerging Infectious Diseases*, 14(5), 817-820.
- Sen, E., Uchishima, Y., Okamoto, Y., Fukui, T., Kadosaka, T., Ohashi, N., Masuzawa, T., 2011. Molecular detection of *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes ricinus* ticks from Istanbul metropolitan area and rural Trakya (Thrace) region of north-western Turkey. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 2, 94-98.
- Silaghi, C., Gilles, J., Höhle, M., Fingerle, V., Just, F.T., Pfister, K., 2008. *Anaplasma phagocytophilum* infection in *Ixodes ricinus*, Bavaria, Germany. *Emerging Infectious Diseases*, 14(6), 972-974.
- Simser, J. A., Palmer, A. T., Fingerle, V., Wilske, B., Kurtti, T. J., Munderloh, U. G., 2002. *Rickettsia monacensis* sp. nov., a spotted fever group rickettsia, from ticks (*Ixodes ricinus*) collected in a European city park. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(9), 4559-4566.
- Sréter-Lancz Z., Széll Z., Kovács G., Egyed L., Máraligeti K., Sréter T., 2006. Rickettsiae of the spotted-fever group in ixodid ticks from Hungary: identification of a new genotype ('*Candidatus Rickettsia kotlanii*'). *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 100(3), 229-236.
- Sréter T., Kálmán D., Sréterné Lancz Zs., Széll Z., Egyed L., 2005. *Babesia microti* és *Anaplasma phagocytophilum*: két növekvő jelentőségű kórokozó Európában és hazánkban. *Orvosi Hetilap*, 146(13), 595-600.
- Sréter T., Széll Z., Varga I., 2005. Spatial distribution of *Dermacentor reticulatus* and *Ixodes ricinus* in Hungary: evidence for change? *Veterinary Parasitology*, 128(3-4), 47-351.
- Stanczak, J., Gabre R. M., Krumunis-Lozowska, W., Racewicz, M., Kubica-Biernat, B., 2004. *Ixodes ricinus* as a vector of *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia microti* in urban and suburban forests. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 11, 109-114.
- Stanek, G., Strle, F., 2003. Lyme borreliosis. *The Lancet*, 362(9396), 1639-1647.
- Steere, A. C., Coburn, J., Glickstein, L., 2004. The emergence of Lyme disease. *The Journal of Clinical Investigation*, 113(8), 1093-1101.

Sytykiewicz, H., Karbowiak, G., Hapunik, J., Szpechcinski, A., Supergan-Marwicz, M., Golawska, S., Sprawka, I., Czerniewicz, P., 2012. Molecular evidence of *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia microti* co-infections in *Ixodes ricinus* ticks in central-eastern region of Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 19(1), 45-49.

Széll Z., Stréter-Lancz Z., Márialigeti K., Sréter T., 2006. Temporal distribution of *Ixodes ricinus*, *Dermacentor reticulatus* and *Haemaphysalis concinna* in Hungary. *Veterinary Parasitology*, 141, 377-379.

Tack, W., Madder, M., Baeten, L., Vanhellemoint, M., Gruwez, R., Verheyen, K., 2012. Local habitat and landscape affect *Ixodes ricinus* tick abundances in forests on poor, sandy soils. *Forest Ecology and Management*, 265, 30-36.

Tagliapietra, V., Rosa, R., Arnoldi, D., Cagnacci, F., Capelli, G., Montarsi, F., Hauffe, H. C., Rizolli, A., 2011. Saturation deficit and deer density affect questing activity and local abundance of *Ixodes ricinus* (Acari, Ixodidae) in Italy. *Veterinary Parasitology*, 183, 114-124.

Tuba Z., 2003. Nyíregyháza város florisztikai-növényföldrajzi vázlata. In: Frisnyák S.: Nyíregyháza. Nyíregyháza, Optime Nyomda, 51–63.

Vannier, E., Krause, P. J., 2009. Update on Babesiosis. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*, 2009, 1-9.

Veterinary Medicine: An update on anaplasmosis in dogs. URL: <http://veterinarymedicine.dvm360.com/vetmed/article/articleDetail.jsp?id=506867&pageID=1&sk=&date=> Letöltés időpontja: 2012.11.02.

Wielinga, P. R., Gaasenbeek, C., Fonville, M., Boer, A., Vries, A., Dimmers, W., Jagers, G. A. O., Schouls, L. M., Borgsteede, F., Giessen, J. W. B., 2006. Longitudinal analysis of tick densities and *Borrelia*, *Anaplasma*, and *Ehrlichia* infections of *Ixodes ricinus* ticks in different habitat areas in the Netherlands. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(12) 7594-7601.

Wójcik-Fatla, A., Szymanska J., Wdowiak, L., Buczek, A., Dutkiewicz, J., 2009. Coincidence of threepathogens (*Borrelia burgorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesiamicroti*) in *Ixodes ricinus* ticks in the Lublin macroregion. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 16, 151-158.

9. Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom témavezetőmnek, Dr. Farkas Róbert tanszékvezető úrnak a rengeteg segítségért, támogatásért és türelemért, amivel irányt mutatott a dolgozatom elkészítéséhez és biztosította a minták laboratóriumi feldolgozásának lehetőségét.

Külön köszönetemet fejezem ki a Parazitológiai és Állattani Tanszék munkatársainak, Czene Anikónak, Gyurkovszky Mónikának és Tánczos Baláznak a munkák során nyújtott felbecsülhetetlen értékű segítségért, akik nélkül e dolgozat nem készülhetett volna el.

És végül, de nem utolsó sorban hálás köszönettel tartozom Anyukámnak és Páromnak, akik a dolgozat készítése alatt mindvégig támogattak és segítettek.