

dc_166_11

MTA Doktori Értekezés Tézisei

**HÁZIÁLLATOK TRAUMÁS MYIASISÁVAL ÉS A PARASITOSIST
OKOZÓ PETTYES HÚSLÉGGYEL (*WOHLFAHRTIA MAGNIFICA*)
KAPCSOLATOS VIZSGÁLATOK**

Farkas Róbert

Budapest

2011

1. BEVEZETÉS

Az ízeltlábú élősködők állat- és közegészségügyi szempontból egyik legfontosabb csoportját a kétszárnyúak rendjébe tartozó rovarok, köztük a legyek alkotják. A légyfajok életmódja, táplálkozása és kártétele sokféle. Közülük számos a házi- és vadon élő állatok valamint az ember környezetében él és szaporodik, miközben hosszabb-rövidebb ideig tartó élősködő életmódot folytatva jelentős, de nehezen felbecsülhető kárt okozhat. Kifejlett alakjaik zavarják az állatok és az emberek nyugalma. A vérszívók számuktól függően kisebb-nagyobb vérvesztést és gyakran allergiás bőrreakciót idéznek elő. Köztudott, hogy számos légyfaj az állatok és emberek fertőzéseit, betegségeit okozó vírusok, baktériumok, gombák, egysejtűek és férgek mechanikai vagy biológiai vektorai.

A kétszárnyúak kártétele kapcsán külön kell említeni azokat a fajokat, amelyeknek csak a lárvái folytatnak parazitikus életmódot. A légylárva-fertőzöttséget, más néven myiasist okozók lárvái élő szövetekben néhány napig-hónapig fejlődve a házi- és vadon élő állatok, esetenként az ember átmeneti vagy maradandó egészségkárosodását, sőt végzetes fertőzést okozhatják. A gerinces állatok vagy az ember kültakarójában, a nyálkahártyákkal borított részekben, a bőrben és/vagy a bőr alatti kötőszövetben, mindössze néhány napig fejlődő lárvák enyhébb-súlyosabb traumás sérüléseket idéznek elő, emiatt a parasitosis traumás vagy sebmyiasisnak nevezik. A bántalom évszázadok óta ismert, de ennek ellenére a harmadik évezred küszöbén továbbra is számottevő állat-egészségügyi, gazdasági és helyenként közegészségügyi kárral jár több kontinensen. A traumás myiasist okozó fajok közül többnek az életmódjáról, a gazdaszervezet fertőződésében valamint a kórtani folyamatokban szerepet játszó tényezőkről a mai napig hiányosak az ismereteink. Részben ezzel magyarázható, hogy több légyfaj okozta fertőzöttség hatékony gyógykezelése, és még inkább megelőzése az eddigi kutatások biztató eredményei ellenére még nem megoldott. Az iménti megállapítások különösen igazak a palearktikus régióban a háziállatokat és az embert fertőző pettyes húslegy, a *Wohlfahrtia magnifica* (Schiner, 1862) vonatkozásában, amelynek a lárvái természetes körülmények között csak élő szövetekben képesek imágóvá fejlődni. A húslegyek családjába (Diptera: Sarcophagidae) tartozó faj lárvái okozta myiasisról, ami wohlfahrtiosisként ismert a szakirodalomban, az 1800-as évek második felétől számos közlemény látott napvilágot. Kezdetben az emberek, majd az állatok fertőzöttségéről, valamint különféle szerekekkel végzett gyógyító és megelőző célzatú kezelésekről számoltak be. A jelentős gazdasági kárral járó és közegészségügyi veszélyt is jelentő légyfaj életmódjával, az állatok fertőződésében szerepet játszó tényezőkkel, a hatékonyabb gyógykezelés és megelőzés lehetőségével alig foglalkoztak, miközben a légyfaj földrajzi terjedését észlelték.

A háziállatok traumás vagy seb myiasisa régóta ismert hazánkban, amelyet sebkukacosodásnak, nyüvességnek, sebférgességnek, ill. futó pondrósságnak neveztek. A korabeli leírások szerint leggyakrabban a birkák voltak fertőzöttek, amelyeknek a sebeit beköpte a légy és abból kikeltek a kukacok. Az állatok kezelésére különféle hagyományos gyógymódokat használtak. A nyüves birkák kitisztított sebeit friss marhatrágyával kenték be, máshol a kukacokat petróleummal vagy benzinnel pusztították el. Gyulladás gátló és fertőtlenítő hatású egérfark (cickafark) főzet és a kreolin is szerepelt a javaslatok között. A légyköpések megelőzése érdekében azt ajánlották, hogy a friss sebeket disznózsírral kell bekenni. Az múlt században megjelent szakkönyvekben az aranyzöld döglégynek nevezett

Lucilia sericata (Diptera: Calliphoridae) lárváit főleg állatok, különösen a juhok gyakori sebs parazitákaként említették. Kotlán Sándor akadémikus tankönyvében mindössze néhány mondatot írt az általa myiasis cutanea, ill. myiasis cutis néven nevezett jelenségről, amikor egyes légyfajok élő állatok köztakarójába rakják petéiket, és lárváik a bőrben fejlődnek. A juhok bőr myiasisának nemzetközi előfordulását említette, de nem közölt adatokat a parasitosis hazai jelentőségéről. Mócsy János akadémikus véleménye szerint “az idejében felismert nyüvességnek a sebgyógyulásra nincsen különösebb hátráltató hatása, elhanyagolt esetekben azonban a lárvák súlyos, terjedő elhalásos gennyes folyamatot tartanak fenn, mind mélyebben furakodnak a bőrbe és a bőr alá, úgyhogy végül is több tenyérnyi rekeszes, alávájt, bőségesen gennyesedő, bűzös üregek keletkeznek, amelyek mélyén nyüzsögnek a különböző nagyságú fehér álcák”. A pettyes húslégyről is történt említés korábban, azzal a megjegyzéssel, hogy itthoni előfordulása ritka, emiatt nálunk nem jelent veszedelmet.

2. A KUTATÓMUNKA INDOKOLTSÁGA ÉS CÉLJAI

Kutatásaink megkezdése előtt a szabadban tartott háziállatok traumás myiasisának tudományos igényű vizsgálatára hazánkban nem került sor. Nem álltak rendelkezésre megbízható adatok a juhok és más állatfajok fertőzését okozó légyfajok, különösen a pettyes húslégy itthoni előfordulásáról, az általa okozott bántalom kialakulásában, kórfejlődésében és kártételében szerepet játszó folyamatokról. Számos európai, közel- és távol-keleti országban előforduló *W. magnifica* populációinak genetikai vizsgálata nem kezdődött el. A faj lárvái okozta wohlfahrtiosis hatékony gyógykezeléséről és megelőzéséről kevés ismerettel rendelkezünk. Az említett okok miatt az 1990-es évek közepén megkezdett kutatásaink egyik célja a traumás myiasis hazai előfordulásának és jelentőségének a megismerése volt. Másfelől a *W. magnifica* életmódjával és az általa okozott myiasissal kapcsolatos ismereteket igyekeztünk gyarapítani. A témakört érintő kutatásokra az itthoniak mellett külföldön is lehetőség nyílt, amikor a légyfaj kártételét észlelték az észak-afrikai Marokkóban és Görögország legnagyobb szigetén, Krétán.

Az országban és részben külföldön végzett terep- és laboratóriumi vizsgálataink legfontosabb céljai az alábbiakban foglalhatók össze:

1. Terepvizsgálatokkal és kérdőíves felméréssel ismereteket szerezni hazánkban a háziállatok traumás myiasisának oktanáról, állat-egészségügyi és gazdasági jelentőségéről.
2. A pettyes húslégy lárvái okozta parasitosis bakteriológiai, szövettani és immunológiai tanulmányozása.
3. A wohlfahrtiosis gyógykezelését, ill. megelőzését célzó kísérletek végzése juhnyájokban.
4. A *W. magnifica in vitro* tenyésztettségének a tanulmányozása, valamint morfológiai és molekuláris biológiai vizsgálata.

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1. Háziállatok traumás myiasisának vizsgálata

A vizsgálatok az ország különböző részén szabadba kijáró juhállományokban, ménesekben, legelőn tartott három szarvasmarha- és öt libaállományban történtek. Légylárvákkal fertőzött juhok környezetében tartott sertéseket, baromfit és kutyákat is vizsgáltunk. Nemzetközi együttműködéssel végzett kutatások keretében Görögország Kréta szigetén és Marokkóban kiskérődzők és kutyák fertőzöttségét tanulmányoztuk. Feljegyzésre került a vizsgálat időpontja, a fertőzött egyedek faja, fajtája, ivara és kora, valamint a légylárvákat tartalmazó seb(ek) testtájéki helyeződése, mérete és a klinikai tünet. Digitális fényképezőgéppel a felvételeket készítettünk. Megfigyeltük a sebek környékén tartózkodó legyek viselkedését és számos esetben hálózással imágókat fogtunk.

A vizsgálatok céljától függően a sebekből kiszedett lárvákat 70-80%-os alkoholban tároltuk, ill. egy részükből a Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Kar (SZIE ÁOTK) Parazitológiai és Állattani Tanszék inszektáriumában imágókat neveltünk. A lárvák és a legyek faji azonosítása határozókulcsok segítségével történt. Fajonként feljegyeztük az egyes lárvastádiumok, ill. a hím és nőivarú imágók számát.

Kísérőlevéllel és bélyeggel ellátott válaszborítékkal légylárvafertőzöttséggel kapcsolatos kérdéseket tartalmazó kérdőívet postáztunk gazdasági haszonállatokat ellátó 664 hazai állatorvosnak.

Átlagokat és ezek szórását számítottuk ki, a kapott értékek közötti szignifikáns eltéréseket χ^2 próbával vizsgáltuk. A kérdőíves felmérés adatai közül azoknál, amelyeknél lehetséges volt, szintén ezt a próbát alkalmaztuk. A juhokkal végzett vizsgálatokban a fajta, az ivar és a myiasis helyeződése közötti kapcsolatokat kontingencia-táblával értékeltük. A libák sebeiből kiszedett lárvák számának $\log_{10}(n+1)$ transzformációját követően a sebeket fertőző légyfajok lárváinak átlagos számát t-próbával hasonlítottuk össze.

3.2. Wohlfahrtiosissal kapcsolatos vizsgálatok

3.2.1. Bakteriológiai vizsgálatok

Wohlfahrtia magnifica 1. és 2., ill. 3. stádiumú lárváival fertőzött egy-egy juh pérájában helyeződő sebből és egy lárvamentes állat pératájának nyálkahártyájáról és bőrfelületéről vett minták, valamint egy juh pérájában helyeződő, lárvamentes sebből gyűjtött 2,5 ml sebváladék vizsgálatára került sor az ELTE TTK Mikrobiológiai Tanszékén. A minták olyan táptalajra voltak szélesztve, amelyekben a légyfaj lárvái okozta fertőzésből származó baktériumok a korábbi megfigyelések szerint a legjobban növekedtek. A 35 °C-on tartott minták telepformáló egységeinek becslése egy hét múlva történt, amikor a nem szelektív módon izolált telepek az eredetük és morfológiai tulajdonságaik alapján lettek csoportosítva. További vizsgálatok céljából 169 izolátum volt kiválasztva és megtisztítva. Ezek tanulmányozása a következő szempontok alapján történt: 24, 48 és 72 órás tenyészetek Gram festése, spórafestés, glukóz oxidációs-fermentációs tesztje, oxidáz és kataláz termelés, pigment termelése tojásfehérjét tartalmazó táptalajon és a mobilitás vizsgálata natív preparátumokban. A törzsek metabolikus ujjlenyomatának a tesztelése Biolog System (Biolog

Incorporated, Hayward, Kalifornia) segítségével történt, amellyel 95 különféle szénforrás használatát lehet tanulmányozni. Ezzel a rendszerrel a mintákat genus, alkalmanként faji szinten lehetett azonosítani. Több taxon (*Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Bacillus*, *Mycrobacterium*, *Micrococcus* és *Brevibacterium*) azonosítására is sor került.

3.2.2. Kórszövettani és immunhisztokémiai vizsgálatok

A pettyes húslég 2. és/vagy 3. stádiumú lárváival fertőzött juhok sebeinek a széli részéből kimetszett és 8%-os pufferolt formaldehidoldatban rögzített szövetminták feldolgozása a SZIE ÁOTK Kórbonctani és Igazságügyi Állatorvostani Tanszékén történt. A paraffinba ágyazott bioptátumokból 6µm-es metszetek készültek. A hematoxin-eozin festés mellett, a kollagén rostokat Endes-féle trikróm festéssel mutattuk ki. Giemsa- ill. orcein festéssel készült mintákban vizsgáltuk a hízósejteket és a rugalmas rostokat. PAS-festéssel történt a lárvák szénhidrát tartalmú kutikula-rétegének kimutatása. Brown-Brenn festés a Gramm-pozitív és Gram-negatív baktériumok vizsgálatára szolgált. A metszeteket fénymikroszkóp 50-, 250- és 450-szeres nagyításával tanulmányoztuk. A kórszövettani elváltozásokról, valamint a szövetekben helyeződő lárvametszetekről Nikon Optiphot-2 típusú fénymikroszkóppal és Nikon Coolpix 4500 digitális fényképezőgéppel készültek felvételek.

Az immunhisztokémiai vizsgálatokhoz a 6µm-es metszetekben a deparaffinálás és rehidráció után (xilol és leszálló alkoholsor) a szöveti antigén feltárása magas hőmérsékleten, 0,01 molos citrát pufferben (pH 6), mikrohullámú sütőben (800 W) 20 percig történt. Az endogén-peroxidáz aktivitását 3%-os hidrogénperoxiddal, metanolban blokkoltuk 5 percig. A metszeteket 5% juhsérum albuminnal (Jackson USA) 30 percig kezeltük az aspecifikus ellenanyagkötődés megakadályozására. Ezt követően a mintákat 60 percig szobahőmérsékleten többféle (Ki-67 monoclonal (Hisztopatológiai Kft Pécs) 1:100, PCNA monoclonal (DAKO Dánia) 1:50, CD-3 monoclonal (DAKO Dánia) 1:100, CD-79a monoclonal (DAKO Dánia) 1:100 és S-100 protein policlonal (DAKO Dánia) 1:100 hígításokban) antitesttel inkubáltuk. A reakció vizualizálásához DAKO REAL™ EnVision™ Peroxidase/DAB+, (biotinyalt) rabbit/mouse; detektáló rendszert (Dánia) használtunk, a kontrasztfestés hematoxilinnel történt. Az egyes lépések között a metszeteket háromszor PBS pufferben mostuk.

3.2.3. Juhok *W. magnifica* lárvákkal szembeni humorális immunválasza vizsgálata

Juhok sebeiből kisedett 3. stádiumú *W. magnifica* lárvák nyálmirigyeiből, bélcsatornáiból, a megtisztított kutikulákból és egy egész lárvából készítettük az antigénként használni kívánt mintákat. A PMFS-t (phenylmethylsulfonyl fluorid) és EDTA-t (ethylene diameteraetic) tartalmazó PBS oldatban tartott anyagokat egy órán át 4 °C-os hőmérsékleten szövet homogenizálókkal (Fisons Scientific Equipment, Loughborough, UK) homogenizáltuk. Ezen a hőmérsékleten 45 percen keresztül, 28000 rpm fordulaton történt

centrifugálást követően a felülúszókat használtuk antigénként, amelyeknek a fehérjetartalmát meghatároztuk. Pettyes húslégy lárváival többször, ill. még nem fertőződött juhokból alvadásban nem gátolt vérmintákat gyűjtöttünk. Centrifugálás után a savókat -20°C -on tároltuk.

Az ELISA lemezeket 4°C -on, egy éjszakán keresztül a vizsgált antigénnel érzékenyítettük. Kamránként $1\mu\text{g}$ proteint tartalmazó $100\mu\text{l}$ oldatot használtunk. A lemezeket $0,05\%$ Tween 20-at tartalmazó desztillált vízzel mostuk (2×10 mp), majd szárítottuk. Ezt követően PBS-ben oldott 5% -os tehéntejpor (TT-PBS) oldatával kezeltük 37°C -on, egy órán át. A TT-PBS-sel $1:10$ arányban hígított juhsavókból $100\text{--}100\mu\text{l}$ -t a kamrák első sorába öntöttünk, majd $1:160$ -ig hígítási sort készítettünk. A lemezeket egy órán keresztül 37°C -os vízfürdőben tartottuk, majd a korábban leírt módon mostuk. Kamránként $100\text{--}100\mu\text{l}$, TT-PBS-sel $1:1000$ arányban hígított peroxidázzal jelölt nyúl-antijuh immunglobulinnal (DAKO, Glostrup, Denmark) inkubáltuk a lemezeket 37°C -on, egy órán keresztül. Mosást után a reakció leállítást 100mM citrátot és 200mM foszfátot tartalmazó pufferben oldott 1mM ABTS-t (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) (Sigma Chemical, St. Louis, MO) és $0,01\%$ -os H_2O_2 -öt tartalmazó $100\mu\text{l}$ oldattal végeztük. Az optikai denzitást (OD) egy óra múlva 405 nm -en Multiskan Plus RS-232 C típusú ELISA leolvasóval (Labsystems, Helsinki, Finland) mértük. A tesztavó hígítása $1:80$ volt. Küszöbértéknek a nem fertőzött juhok mintáival mért átlagos OD értékek kétszeresét vettük.

3.3. Wohlfahrtiosis gyógykezelése, megelőzése juhnyájakban

3.3.1. Ivermektin-, ill. moxidectin hatóanyagú készítmény terápiás hatásának vizsgálata

A kísérletre egy nagyegyházi juhtelegen került sor, ahol a három nyájban tartott, közel 1000 juh $8,5\%$ -ában fordul elő wohlfahrtiosis. A fertőzött egyedek közül kiválasztott $19\text{--}19$ állat alkotott egy-egy csoportot. Az egyedi testsúly mérését követően az egyik csoport állatai ivermektint (Ivomec injection, Merck Sharp and Dohme B.V.), a másiké moxidectint (Cydectin 1% injection, American Cyanamid Company) tartalmazó injekciót kaptak a kísérlet $0.$ napján. Mindkét készítmény hatóanyagára számított adagja $0,2\text{ mg/testsúly kg}$ volt. Kezeletlen kontrollként a kísérlet ideje alatt a nyájak naponkénti vizsgálatakor az újonnan fertőzöttek számát feljegyeztük. A két csoport egyedei egymástól elkülönítve a szabadban legeltek, ahol a juhok folyamatos légyfertőzöttségnek voltak kitéve, amit az is jelzett, hogy a sebek környékén *W. magnifica* táplálkozó és/vagy lárvarakó nőstényeit lehetett látni.

A kezelést követő $19, 24, 28, 39, 43, 48, 52, 63, 67, 72, 87, 96, 120, 144$ és 168 óra múlva az állatok sebeit megvizsgáltuk, hogy tartalmaztak-e élő és/vagy elpusztult lárvát. A két készítménynek a lárvák bábozódására és/vagy az imágók kelésére kifejtett hatását tanulmányozva a kezelést követő $144.$ és $168.$ órában mindkét csoport $4\text{--}4$ fertőzött állatának a sebeiből kiszedtük a $3.$ stádiumú élő lárvákat, és laboratóriumi körülmények között nyomon követtük az imágóvá fejlődésüket. Kontrollként kezeletlen 4 juh sebeiből gyűjtött $3.$ stádiumú lárvákat használtunk.

A kezelt csoportok élő lárvákkal fertőzött állatainak átlagos számát kétmintás t-próbával, a kezelt és kezeletlen juhok sebeiből gyűjtött lárvákból nevelődött imágók számát kontingencia-tábla segítségével hasonlítottuk össze.

3.3.2. Dicyclanil hatóanyagú készítmény profilaktikus hatásának vizsgálata

A vizsgálatokra Görögország Kréta-szigetének hat juhnyájában került sor, amelyek közül hármat fél intenzív, a többi extenzív módon tartottak. Mindkét területen gyakori volt a wohlfahrtiosis. A fél intenzív környezetben az állatok körülkerített területen legeltek és automata berendezésekkel felszerelt tejházakban naponta kétszer történt a fejésük. Az extenzíven tartott nyájak az év nagy részében hegyi legelőn legeltek, fejésüket kézzel végezték. A kosok együtt legeltek a nőivarú állatokkal.

Mindkét területen 2-2 kezelt állomány volt, amelyeknek a kosai és a nem tejelő egyedek közül csak az egészséges, légylárvákkal nem fertőzöttek kezelése történt. A vizsgálat június és december közepe közötti 26 hetében született bárányok kezeletlenül maradtak. Egy-egy kezeletlen állomány alkotta a kontrollcsoportot. A juhokat 5% dicyclanilt tartalmazó CLIK nevű készítmény (Novartis, Switzerland), gyártó által javasolt adagjával kezeltük. A kiszámított mennyiség felét a gerincoszlop mentén, a másik felét a farok és a külső ivarszervek környékén juttattuk az állatok bőrére. A légylárvákkal fertőzött egyedek jelölve lettek, a sebekből kiszedett lárvákat 80%-os alkoholban tároltuk. A kitisztított sebek kezelése a gyógyulásig antibiotikus spray-vel történt.

A kezelt és kezeletlen nyájakban előfordult wohlfahrtiosis incidenciáját Yates korrekciót követően χ^2 próbával vizsgáltuk. A fertőzöttek számával Kaplan-Meier-féle túlélési analízist végeztünk és a túlélési görbéket Wilcoxon-próbával hasonlítottuk össze. A kezelés hatékonysági százalékát a következőképpen számítottuk: $([C-T]/C) \times 100$
C=fertőzöttség incidenciája a kontroll csoportban T=fertőzöttség incidenciája a kezelt csoportban

3.3.3. Traumás myiasist okozó legyek csapdázása

A vizsgálatok a Mezőfalvi Rt. Sárbogárd határában fekvő juhlegelőjén történtek. A 800 anyajuhból álló nyájban a rendszeres, hetenként egy, gyakran két alkalommal történt vizsgálatok és kezelések ellenére a légylárvákkal fertőzött állatok aránya olykor elérte az állomány 30-40%-át. Néhány esetet kivéve a bántalmat a *W. magnifica* lárvái okozták.

A cecelegyek tanulmányozására 1974-ben kifejlesztett, kétféle méretű (1x1 m és 0,5x0,5 m) elektromos csapdákat (Bonar Industries, Harare, Zimbabwe) használtunk. A csapdák két elektromos felülete közé lehetett elhelyezni a vizsgált fekete, kék, fehér vagy sárga színű szövetet. A csapda elektromos felületeit egymástól 8 mm távolságra rögzített fémszalagok alkották, amelyek egy 12V-os akkumulátorral működtetett transzformátorral (Ash Green Eletrincs, Bristol, U.K.) voltak összekötve. Az elpusztult legyek a csapdák előtt a földre helyezett, vízzel feltöltött tálcákba hullottak. A széliránytól függően a csapdák úgy voltak felállítva, hogy a szaganyagok hatására a legyek először ezekkel találkozzanak.

Csalétekként Swormlure-4 nevű, 11 szintetikus vegyületből összeállított oldatot, valamint *W. magnifica* lárvákkal fertőzött, ill. nem fertőzött juhok használtunk.

Az elektromos csapdákkal egyenként és párban a korábban említett négy szín legyekre kifejtett hatását vizsgáltuk. A csapdák helyét 4x4 latinnégyzet elve alapján naponta változtattuk. A kétféle méretű elektromos csapda összehasonlító vizsgálata fekete színű szövettel és Swormlure-4 csalétekkel történt, egymást követő négy napon. A Swormlure-4 csalogató hatását fekete színű szövetet tartalmazó csapdával vizsgáltuk, szintén négy napon keresztül. A kontrollként használt csapda csalétket nem tartalmazott. A *W. magnifica* lárvákkal fertőzött, ill. nem fertőzött juhok két kísérletet végeztünk. Egyik esetben a két állatnak a vizsgált légyfaj imágóira kifejtett csalogató hatását tanulmányoztuk négy, egymást követő nap. Az állatokat naponta délelőtt 11 és délután 3 óra között egy-egy háromszög alakú kerítésen belül, kb. 0,4 m² területen tartottuk, ahol ivóvíz és táplálék állt rendelkezésükre. A másik kísérletben a fertőzött állat mellett kontrollként a csapda közelében nem volt juh. Az állatok közelében, egymás mellé elhelyezett két elektromos csapda a széliránytól függően úgy volt felállítva, hogy a juhok felől érkező szaganyagok hatására az állatokat megközelítő legyek először ezekkel találkozzanak. A környezetben tartózkodó *W. magnifica* imágók ivararányának a megismerése céljából a juhok közelében és a legelőt körülzáró kerítés 100-150 cm magas oszlopainak a tetejéről hálózással legyeket gyűjtöttünk.

A meghatározott hím és nőstény legyek számát fajonként feljegyeztük. A log₁₀ (n+1) transzformációjával kapott értékek variancia-analízisével a vizsgálat napjának, a helynek és a csaléteknek a hatását értékeltük. Az előző kettő szignifikánsan nem befolyásolta a kapott eredményeket, ezért a transzformált értékek átlagait t-próbával hasonlítottuk össze. A különféle csapdázással fogott legyek nemenkénti száma, a légyfajok egyedszáma valamint a párhuzamosan két színnel végzett vizsgálatok esetében az adatok közötti eltérések értékelése χ^2 próbával történt.

3.4. A pettyes húslégy *in vitro* tenyésztetőségének a tanulmányozása, morfológiai és genetikai vizsgálata

3.4.1. *In vitro* tenyésztés

A SZIE ÁOTK Parazitológiai és Állattani Tanszék inszektáriumában történtek a vizsgálatok, ahol a levegő hőmérséklete 26±2 °C, relatív páratartalma 60±10%, az automatakapcsoló vezérelte mesterséges világítás időtartama napi 16 óra volt. Természetes úton fertőződött juhok és szarvasmarhák sebeitől gyűjtött 3. stádiumú lárvákból kifejlődött és egyedi jellel ellátott imágókat szövethálával borított fémvázak ketrecekben tartottuk, ahol különféle táplálékot és vizet helyeztünk el. Általában naponta kétszer, egy-egy órán keresztül megfigyeltük az imágók viselkedését, táplálkozását, párosodását és a nőstények lárvarakását. Juhvérrel átitatott vattára rakott, ill. nőstény legyek potrohának óvatos megnyomásával gyűjtött 1. stádiumú lárvák fejlődését követtük nyomon különféle összetételű, hatféle lárvanevelő anyagban. A 30-35 °C-os hőmérsékletű lárvanevelő 30 grammnyi mennyiségét tartalmazó műanyag poharakba a *W. magnifica* 1. stádiumú lárváiból mintánként 5-20-at helyeztünk, a poharakat 37 °C-os hőmérsékletű vízfürdőben tartottuk. Az élő lárvákat kétnaponta a vizsgált táptalaj új mintájába tettük át, esetenként a régivel együtt az újnak a

közepébe. A minták naponta kétszeri ellenőrzésekor a lárvák viselkedését (mozgás, helyeződés, táplálkozási aktivitás) vizsgáltuk, az elpusztultakat eltávolítottuk. A lárvanevelő tetején, szélén kúszó, táplálkozásukat befejező lárvákat három hétig fűrészpórában tartottuk. A bábok és a kikelt imágók számát feljegyeztük, a bábok egyedi súlyát lemértük. Táptalajonként a lárvák és a bábok mortalitását, a bábok átlagos súlyát, a bábozódás százalékos arányát és a kelési indexet (az 1. stádiumú lárvákból imágókká fejlődöttek százalékos arányát) számítottuk ki.

3.4.2. *Wohlfahrtia*-fajok összehasonlító morfológiai és genetikai vizsgálata

A vizsgált *Wohlfahrtia*-fajok a pettyes húsléggel való hasonlóság és az alapján voltak kiválasztva, hogy elegendő számú példány álljon rendelkezésre. A korábban leírt morfológiai jegyeket figyelembe véve, és néhányat tovább pontosítva 23 bélyeget vizsgáltunk. Fajonként 7-24, az ivarszervek esetében csak 1-6 példányt használtunk.

A londoni Természettudományi Múzeumban végzett molekuláris biológiai vizsgálatokban a DNS kivonása DNazol® kittel (Invitrogen Corp., Carlsbad, CA, U.S.A.) történt a lárvák középső potrohszelvényeinek izomszövetéből, ill. a legyek tori izmaiból, majd szilikát-alapú mátrixon (Geneclean II, Bio Inc.) tisztítottuk. Az anyai ágon öröklődő, és igen ritkán vagy soha nem rekombinálódó, citokróm-b fehérjét kódoló mitokondriális gén vizsgálata történt. A gén három szakaszát, egy 550, és az utolsó 300 bázispárnyi részen, részben egymást átfedő 196 és 132 bázispárból álló szakaszt szaporítottuk fel három primer párral, amelyeket a fémeslegyek vizsgálatára fejlesztettek ki, és a húslegyek fajainak a tanulmányozására is jónak találták. A termékek szekvenálása BigDye Terminator Cycle Sequencing Kittel (Applied Biosystems, Inc., Carlsbad, CA, U.S.A.) és automata szekvencia analízátorokkal (models 373 és 377; Applied Biosystems, Inc.) történt. A kapott szekvenciák elemzéséhez Sequence Navigator (Applied Biosystems, Inc.), Sequencher 3.1.1™ (Gene Codes Corp., Ann Arbor, MI, U.S.A.) és ClustalV programokat használtunk. A filogenetikai elemzés PAUP-pal történt.

3.4.3. Görög-, spanyol- és magyarországi valamint marokkói minták molekuláris genetikai vizsgálata

A görög minták az ország északi részén 9 juhból, 5 kutyából, 1-1 kecskéből és lóból valamint 4 ismeretlen állatból, valamint Krétán tartott 8 juh és 1 kutya sebéből származtak. A marokkói mintákat 19 állat (8-8 juh és kutya, 2 kecske és 1 ló), sebeiből kiszedett lárvák alkották. Harkakötönyben tartott sertésből, valamint a spanyolországi Zaragoza környékén vizsgált lóból és egy ismeretlen állatból származó lárvák, továbbá Görögországban, Marokkóban és Magyarországon fogott imágók vizsgálatára is sor került.

DNazol® kittel (Invitrogen Corp., Carlsbad, CA, U.S.A.) a lárvák 6-9 testszelvényeinek szöveteiből, ill. a legyek tori izmaiból volt kivonva a DNS. A citokróm-b fehérjét kódoló gén 3' végén lévő 715 bázispárnyi szakaszának felszaporítása GeneAmp® PCR System 9700 thermal cycler-rel (Applied Biosystems, Inc., Foster City, CA, U.S.A.) végzett polimeráz láncreakcióval történt. Pozitív és negatív kontrollokat használtunk. A

gélből kivágott DNS fragmentumok tisztítás (Geneclean II®; MP Biomedicals, Solon, OH, U.S.A.) után szálánként az egyik primerrel és ABI Prism® Big Dye™ Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit-tel (Version 2.0; PE Applied Biosystems, Inc.) voltak szekvenálva. A szekvenciák illesztése Sequencher™ (Gene Codes Corp., Ann Arbor, MI, U.S.A.) segítségével ABI protokollok (PE Applied Biosystems, Inc.) alapján, a filogenetikai elemzés PAUP-pal történt. Az egy sebből származó, egy haplotípusba tartozó egyedeket úgy tekintettük, hogy egy imágótól származtak, kivéve, ha a sebben fejlett 2. és 3. stádiumi lárvák fordultak elő, ami arra utalt, hogy legalább két lárvarakás történt.

4. AZ ÉRTEKEZÉSBEN ISMERTETETT ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

4.1. Terepvizsgálatokkal és kérdőíves felméréssel szerzett ismeretek a hazai állatfajok traumás myiasisának oktanáról, állat-egészségügyi és gazdasági jelentőségéről

Az állatorvosok körében végzett kérdőíves felmérés alapján (Farkas és Hall, 1998) kijelenthető, hogy a parasitosis országszerte előfordul a szabadban tartott háziállatok között a kora tavasztól késő ősziig tartó légszezónban. A terepvizsgálatokban több háziállatfaj légylárva-fertőzöttségét állapítottuk meg (Farkas és mtsai, 1997, 2001, 2009; Farkas és Képes, 2001). A legtöbb eset a juhokban fordult elő, amelyeknél a rendszeres kezelések ellenére számottevő állat-egészségügyi és gazdasági kárt okozott a bántalom. A juhállományok traumás myiasisának prevalenciája hasonló mértékű volt, mint a kelet-európai országokban, és nagyobb, mint a mediterrán országokban. Az importált juhajtást (romney, corriedale, kent valamint ausztrál merinó) és az ezekkel keresztezettek körében számottevően nagyobb arányban (651/2257, 28,8%) fordult elő, mint az őshonos fajták egyedeiben (123/2231, 5,8%). Ez különösen a sárréti legelőkön volt szembetűnő, ahol a nyáj 125 rackája nem volt fertőzött, ugyanakkor a 296 importált juh és ezek keresztezett utódjainak 41,2%-a (122/296) igen. A külföldről behozott fajták gyakoribb fertőződésével kapcsolatosan a szakirodalomban említett hajlamosító tényezők (pl. gyakoribb szemgyulladás és hasmenés, ill. a növények farokcsonkolása) jelentőségét az állattartókkal közös megfigyeléseink során nem tapasztaltuk.

A korábbi közlésekkel ellentétben, a hazai esetek túlnyomó többségét, az általunk vizsgált juhok 99,94%-át a húslegyek családjába (Diptera: Sarcophagidae) tartozó *Wohlfahrtia magnifica* lárvái okozták. A fertőzött lovakban (Farkas és Képes, 2001), kutyákban (Farkas és mtsai, 2009) valamint sertésekben és házityúkban csak e légyszárnyú lárvaíkat találtuk. A kérdőíves felmérés alapján is feltételezhető, hogy a legtöbb állat traumás myiasisát a pettyes húslégy lárvaíka okozták, mivel az állatorvosok többsége (67%) szerint a lárvaíka mélyen helyeződtek a sebekben, ami e légyszárnyú fajra jellemző (Farkas és Hall, 1998). Megfigyeléseink szerint a *Lucilia*-fajok lárvaíka, amelyek több nyugat-európai és tengerentúli országban a juhok traumás myiasisának leggyakoribb okozói, igen ritkán fejlődtek a vizsgált állományokban, annak ellenére, hogy az imágóik nagyszámban fordultak elő a környezetben. A parasitosis elsődleges hazai okozójának tartott *Lucilia sericata* lárvaíkat 12 liba kivételével csak olyan esetekben találtuk, amikor a *W. magnifica* okozta myiasishoz társultak (Farkas és mtsai, 1997, 2001). Azokban az állatokban, amelyeknek a fertőzöttségét a két légyszárnyú

egyidejűleg okozta, a selymes döglégy petéit és lárváit csak a pettyes húslégy lárváival fertőzött sebek körüli, idült gyulladásos vagy elhalt szövetekben lehetett megtalálni. A libák között megfigyeltek is azt bizonyítják, hogy két légyfaj közül a *W. magnifica* sokkal sikeresebben fejlődik az ilyen esetekben (Farkas és mtsai, 2001). A pettyes húslégy dominanciájának egyik lehetséges magyarázata, hogy az imágói hamarabb érkezhettek az érintett vagy már fertőzött testrészekhez, mint a selymes döglégyé. A lárvarakást követően gyorsabban képesek fejlődni, és emiatt többségbe kerülnek a *L. sericata* lárváival szemben, amelyeknek először ki kell kelniük a petékből. A másik lehetséges magyarázat, hogy a két légyfaj okozta bántalom kialakulásában egymástól eltérő hajlamosító tényezők, köztük a nőtények gazdára találását valamint pete-, ill. lárvarakását segítő szaganyagok játszanak szerepet. Lehetséges, hogy a *W. magnifica* által fertőzött testrészek termelődő illó kémiai anyagok a fakultatív myiasist okozók, így a *L. sericata* nőtényeit is ezekre a helyekre vonzzák, de azok a szaganyagok, amelyek a nőtényeket peterakásra készítik csak a perifériás szövetekben lezajló gyulladás során termelődnek. A *L. sericata* okozta fertőzöttség gyakrabban társul sebzésekhöz, amelyet a libák vizsgálatakor is megfigyeltünk. A faj lárvái olyan testrészekben fejlődtek, ahol a tolltépés sérüléseket okozott (Farkas és mtsai, 2001).

A légylárvafertőzöttség testtájankénti előfordulását vizsgálva azt lehetett megfigyelni, hogy szignifikánsan ($P < 0,0001$) több juh péréja vagy tasakja fertőződött (673/774, 87%), mint más testrész (101/774, 13%). Azokban a juhnyájokban, ahol a kosok is jelen voltak, közülük szignifikánsan ($P < 0,0001$) többnek (61/82, 74,3%) volt wohlfahrtiosis, mint nőivarú egyednek (713/4306, 16,5%). A külső ivarszerveken kívül más testrész, így pl. a lábvég, a fül és a szem is gyakran fertőződött. A vizsgált öt libaállomány mindegyikében előfordult légylárvákkal fertőzött madár, de ezek száma igen alacsony volt. A lárvákat tartalmazó sebek legtöbbször (14/26, 53,8%) a szárnyakon helyeződött. A juhokkal ellentétben a libák között a *L. sericata* többnek okozta a myiasist. A pettyes húslégyhez képest ezek a lárvák kevésbé hatoltak a szövetekbe, de három esetben mélyen beágyazódtak a sebekben. Hét madár sebében és környékén mindkét légyfaj lárvái jelen voltak. A vizsgált három ménes mindegyikében előfordult traumás myiasis, amelyet csak a pettyes húslégy okozott. A 163 ló közül 14 (9,0%) kanca volt légylárvákkal fertőzött, valamennyi esetben a külső ivarszerveknél. A lárvákkal teli seb a péra nyálkahártyájában vagy a hüvely boltozatában helyeződött. A vizsgálatba vont három szarvasmarha-állomány tehenei, bikái és borjai között több alkalommal találtunk fertőzött egyedeket. A legtöbb állat külső ivarszervében fordultak elő a *W. magnifica* lárváit tartalmazó sebek. Szabadban tartott sertések, házityúk és kutya *W. magnifica* okozta traumás myiasisa is előfordult, amelyek fertőzött juhok közelében éltek.

A wohlfahrtiosis testtájéki helyeződésétől és a lárvák számától függően enyhébb-súlyosabb mértékben károsodhat az állatok egészségi állapota és termelőképessége. A lábvég fertőződése miatt a sánta, deformált lábvégű állatok látványa nem ritka. A szemek fertőződése esetén előfordult, hogy a szemgolyó eltűnt, a külső nemi szervek szöveteinek a súlyos mértékű károsodása miatt kevesebb állat termékenyült és/vagy a fialási veszteség gyakoribb volt (Farkas és mtsai, 1997). Az állatorvosok körében végzett kérdőíves felmérés adatai szerint a legjelentősebb gazdasági kárt a nyájak gyakori, olykor hetenként 2-3-szori behajtása,

egyedi átvizsgálása és kezelése okozza (Farkas és Hall, 1998). Megfigyeléseink szerint a hagyományos inszekticidekkel (pl. szerves foszforsavészterekkel, piretroidokkal) végzett helyi kezelés hatására a lárvák elpusztultak, de a sebek többsége napokon belül újr fertőződött. Számításaink szerint egy átlagos létszámú nyáj rendszeres kezelése számottevő költséggel növelheti a légylárvák okozta gazdasági károkat. Az emberek többlet munkája, az állatok legelésre szánt idejének a csökkenése és az átvizsgálásuk okozta stressz is hozzájárul a parasitosis kártételéhez.

Kérdésként fogalmazódik meg, hogy a juh és más állatfaj wohlfahrtiosis-a vajon csak az utóbbi évtizedekben fordul-e elő hazánkban, ill. vált-e gyakoribbá. A légyfaj régóta jelen van az országban. Korábbi szakszerű vizsgálatok hiányában nem lehet tudni, hogy vajon évtizedekkel korábban a pettyes húslégy tömegesen okozott-e fertőzést az állatok körében, mint ahogyan a 1990-as évek óta tapasztaljuk. Lehetséges, de nem bizonyított, hogy a faj számára kedvezőbb időjárás hatására az imágók évente korábban jelennek meg és hosszabb ideig fordulnak elő a hazai legelőkön, s ez által több generációjuk, több állatot képes fertőzni. Vizsgálataink szerint új juhajták behozatalának is szerepe lehetett a wohlfahrtiosis gyakoribb előfordulásában, mivel az 1980-as évek második felében importált corriedale és romney fajtájú juhokkal érkezett új-zélandi szakemberek már hónapokkal később jelezték a traumás myiasis miatti gondokat. Az importált juhok gyakoribb fertőződésének számos oka lehet, így pl. a viselkedésükkel is magyarázható, mivel az egymástól elkülönülten legelő állatokat valószínűleg könnyebben találták meg és fertőzték a pettyes húslégy gravid nőstényei.

A fertőzött juhok körül tartott állatok között, ha kisebb számban, de előfordulhat wohlfahrtiosis. Ezt figyeltük meg Harkakötöny közelében, ahol a szabadban tartott sertésekben, kutyákban és egy házityúkban fejlődtek a pettyes húslégy lárvái. A hatékony védekezés érdekében a juhok környezetében élő más állatfajok rendszeres vizsgálata és kezelése is fontos. Marokkói és hazai megfigyeléseink szerint járványtani szempontból a kutyák fertőzöttségének is lehet jelentősége, ha a kutyatartók nem törődnek állataik egészségével (Farkas és mtsai, 2009). A gazdasági haszonállatok, különösen a juhok között előforduló esetekkel összehasonlítva a fertőzött ebek száma jóval kisebb, ez nem mindig szembetűnő, ill. a kóbor kutyák vizsgálata és kezelése gyakran lehetetlen. A wohlfahrtiosis elleni hatékony védekezés érdekében fontos a kutyatartókat is tájékoztatni a bántalom járványtani jelentőségéről.

4.2. Wohlfahrtiosissal kapcsolatos megfigyelések

A *W. magnifica* lárvái okozta parasitosis kialakulásában szerepet játszó hajlamosító tényezők szerepe kapcsán megoszlik a kutatók véleménye, hogy vajon az előzetes sebzésnek van-e jelentősége. Úgy gondoljuk, hogy mindkét tábornak igaza van. A krotáliázás, a nyírás, a kosok verekedése és egyéb okok miatt kialakult sebzések területén is fertőződhetnek az állatok. A gravid nőstények valószínűleg csak akkor találhatják meg az ilyen sebeket, ha a környezetből bejutott baktériumok a legyek számára csalogató hatású illó kémiai anyagokat termelnek. A sárréti legelőkön a frissen nyírt állatok sebei egyszer sem fertőződtek, holott a juhok között tömegesen fordult elő a bántalom. A pettyes húslégy lárvái leggyakrabban az

állatok külső ivarszerveinek a sebeiben fejlődtek (Farkas és mtsai, 1997, Farkas és Képes, 2001). Az ilyen egyedeknél a hüvelyben, a pérában, ill. a tasakban lezajló fiziológiás és/vagy patológias folyamatokban (pl. ivarzás, elnyúló involúció, szövetek gyulladása) keletkező váladékok, ezek és/vagy a vizelet bomlása során képződő illó kémiai anyagok csalogathatják a nőtényeket az érintett területekre és késztetik lárvarakásra. Ezt a feltevésünket igazolták a légyfaj csapdázása során tapasztaltak, valamint a juhok wohlfahrtiosisával kapcsolatosan végzett bakteriológiai vizsgálatok eredményei. A nem fertőzött állatok kifejezettebb csalogató hatást fejtettek ki a *W. magnifica* egyedeire, mint a selymes döglegyekre (Hall és mtsai, 1995). A pettyes húslégy említett viselkedésére a bakteriológiai vizsgálatok adtak magyarázatot. A nem fertőzött juh pérájának a nyálkahártyájáról vett mintában viszonylag nagy mennyiségben fordultak elő olyan baktériumok, amelyeknek a morfológiája leginkább a coryneformok '*Brevibacterium-Arthrobacter*' csoportjához hasonlított (Tóth és mtsai, 1998). Korábbi megfigyelések szerint az ezek által termelt kellemetlen szagú, illó kémiai anyagok, főleg tiolszármazékok a *W. magnifica* több nőtényét vonzották a csapdához, mint más családtagok. Az ivarzás során megváltozó baktériumközösség által termelt szemiokemikáliáknak a wohlfahrtiosis kialakulásában játszott szerepére utal az is, hogy a nagyegyházi juhállományban a bántalom olyan nőivarú egyedekben fordult elő tömegesen, amelyeknek a hüvelyéből eltávolították az ivarzásuk szinkronizálásához használt tamponokat. A bakteriális folyamatokban termelődő szaganyagok jelentőségével függhet össze az is, hogy a bűdös sántaságban szenvedő juhok közül sokban interdigitálisan fejlődtek a pettyes húslégy lárvái (Farkas és mtsai, 1997).

Az állatok sebeiben a légyfaj lárvái szorosan egymás mellett, fészekszerűen helyeződve táplálkoztak, amit a pettyes húslégy *in vitro* tenyésztésekor is megfigyeltünk (Farkas és mtsai, 2005). Csoportos előfordulásuk lehetséges oka az lehet, hogy könnyebben képesek elfolyósítani a gazdaállat szöveteit, ha egymás közelében választják ki a táplálkozásukhoz szükséges proteolitikus enzimeket, amelyek közül többet kimutattunk (Farkas, 2002). A nagyszámú, eltérő fejlettségű lárvák szájhorgaikkal, szelvényeiken helyeződő tüskékkel mechanikailag valamint kiválasztott enzimjeikkel, anyagcsere termékeikkel rövid időn belül jelentős szövetkárosodást okoztak.

A légyfaj lárváival természetes úton fertőződött juhok sebeiből vett biopsziás minták patomorfológiai vizsgálatával új ismereteket szereztünk a bántalom pato- és morfogeneziséről. Tudomásunk szerint a vizsgálatainkat megelőzően a wohlfahrtiosissal kapcsolatosan nem végeztek kórszövettani vizsgálatokat. A természetes úton fertőződött juhokból gyűjtött biopátumok vizsgálatakor félheveny, ill. idült folyamatokra utaló elváltozásokat észleltünk. Ez azzal magyarázható, hogy a helyszíni vizsgálatok során csak olyan állatokat találtunk, amelyeknek a sebeiben 2. és/vagy 3. stádiumú lárvák fejlődtek. A lárvák az irharétegig terjedő mély fekélyeket okoztak a környezetükben, ami részben az imént említett kártételükkel függ össze. A fekélyek alapi részén látható neutrophil granulocyták az elhalt szöveteket, és az ott lévő baktériumokat igyekeztek eltávolítani. A vörösvérsejtek tömeges előfordulása erőteljes helyi vérzésre utalt, ami a helyi kapillárisok falának a károsodásával magyarázható. Hasonlót tapasztaltunk, amikor a gazdaállat szöveteiben erősen

rögzült lárvák eltávolításakor szembetűnő vérzést figyeltünk meg. Az elhalt területeket a gazdaszervezet igyekezett elhatárolni és a keletkező szövethiányt mielőbb pótolni, erre utalt a sebek alapján látható granulációs szövet. Az érintett területek regenerációját jelezte az is, hogy a granulációs szövet felett a többrétegű laphám hyperplasiája, a hámréteg tetején hyperkeratosis mutatkozott. A lárvamentessé vált sebek gyógyulása során, a reparatív folyamatok következményeként a külső nemi szerveknél, a lábvégeken és más testrészeken végleges deformitás alakulhat ki, amit juhok, lovak és szarvasmarhák vizsgálatakor megfigyeltünk. A hámszövetben helyeződő, antigént prezentáló Langerhans-sejtek számában nem láttunk szignifikáns eltérést a kontrollhoz viszonyítva. A fekély széli részén, a proliferálódó hámban ezeket a sejteket S-100 proteinnel nem lehetett kimutatni, ami arra utal, hogy a légylárvák ellen védekezés krónikus szakaszában nincs szerepük. Annak ellenére, hogy néhány gennykeltő baktérium előfordult a fiatal lárvákkal fertőzött sebben, gennyesedésre utaló tüneteket nem lehetett látni. Ez azzal magyarázható, hogy a lárvák folyamatosan elfogyasztották a gennykeltőket és/vagy a jelenlévő baktériumközösség által termelt antimikrobiális anyagok gátolták a gennyesedést okozó mikroorganizmusok szaporodását. A *Staphylococcus* nem tagjai eltűntek a harmadik stádiumú lárvákkal fokozatosan kitöltött sebből, csak a lárvamentesből gyűjtött váladékban fordultak elő nagyobb arányban (Tóth és mtsai, 1998).

A wohlfahrtiosissal kapcsolatosan elsőként általunk végzett immunológiai vizsgálatokban a juhok *W. magnifica* lárvákkal szembeni humorális immunválaszát is tanulmányoztuk. Az eredmények alapján kijelenthető, hogy a fertőzött állatokban kimutatható ellenanyag képződik a faj lárváival szemben (Farkas és mtsai, 1997). A lárvák által kiválasztott enzimekkel szemben a gazdaszervezet jelentősebb mennyiségű ellenanyagot termel. Két ilyen enzim, a tripszin és a kimotripszin jelenlétét sikerült kimutatni a 3. stádiumú lárvák által kiválasztott anyagban (Farkas, 2002). Eredményeink szerint a lárvák testtájankénti helyeződése befolyásolja a parazitákkal szemben termelt keringő ellenanyagok mennyiségét. Ennek lehetséges magyarázata az egyes testrészek eltérő vérellátásával és/vagy a regionális nyirokcsomóknak az antigén bejutásától való távolságával függhet össze. Annyi biztosan kijelenthető, hogy a lárvák antigén természetű anyagaival szemben termelődő keringő ellenanyagok nem akadályozza meg az állatok újrafertőződését. További vizsgálatokra van szükség annak megválaszolására, hogy az egyszeri, ill. többszöri fertőződés valamint annak mértéke hogyan befolyásolja a juhban termelődő ellenanyag(ok) mennyiségét. Vajon a fertőződést követően legkorábban mikor és mennyi ideig mutatható ki a gazdaszervezet immunválasza s ebben a sejtközvetítette folyamatoknak milyen szerepe van? A megválaszolandó kérdések közé tartozik az is, hogy a juhok fajtája, kora valamint más paraziták, kórokozók okozta fertőzöttsége milyen szerepet játszik a pettyes húslégy lárváival szembeni immunválaszban.

4.3. Wohlfahrtiosis gyógykezelése, ill. megelőzése juhállományokban

A természetes úton fertőződött juhokkal végzett kísérletben az ivermektin, ill. a moxidektin hatóanyagú injekciós készítmény egyszeri, bőr alá adott adagjának csak részben

volt lárvicid hatása (Farkas és mtsai, 1996). A sebekben fejlődő lárvák közül csak azok pusztultak el, amelyek a kezeléskor két napnál fiatalabbak voltak. A kiszedett 3. stádiumú lárvák többsége bábozódott és életképes imágókká fejlődött, ami arra enged következtetni, hogy a vizsgált hatóanyagok terápiás adagjai, amelyek nem pusztítják el a lárvákat, nem képesek befolyásolni a további fejlődésüket sem. A juhok sebeinél nem mutatkozott repellens hatás, több sebben újonnan rakott lárvák fejlődtek. A 1. stádiumú lárvák viselkedése és az élő lárvákkal fertőzött juhok százalékos arányának növekedése azt jelezte, hogy egy idő után a fiatal lárvákra sem hatottak a vizsgált készítmények.

A légylárva-fertőzöttség, így a wohlfahrtiosis elleni küzdelem elsődleges célja a bántalom megelőzése. Ennek lehetőségét kínálják a rovarnövekedés-gátló tulajdonsággal rendelkező vegyületek is, amelyeket hatásosnak találtak a myiasist okozó fémeslegyek elleni küzdelemben. Ezek közé tartozik a krétai juhnyájokban vizsgált dicyclanil, amely hosszú ideig tartó védettséget biztosított az egyszer kezelt juhokban. Ez azzal magyarázható, hogy az 1. stádiumú lárvák továbbfejlődését jobban gátolja, mint az idősebbekét. A kosoknál legalább 12 hétig, a nem tejelő anyáknál még ennél is hosszabb ideig, legalább 20 hétig tartott az egyszeri kezelés 100%-os profilaktikus hatása (Sotiraki és mtsai, 2005). A wohlfahrtiosis incidenciája a kezelt csoportok kezeletlen bárányai között kisebb volt, mint a kontrollcsoportokban. A preventív kezelésben nem részesült tejelő juhok között a bántalom előfordulása a kezeletlen csoportokhoz képest szignifikánsan kisebb volt, ami azért fontos, mert az emberi fogyasztásra szánt tejet termelő állatokat tilos kezelni a készítménnyel. Megfigyeléseink szerint a nyáj egy részének a kezelésével csökkenteni lehetne a kezeletlen juhok fertőződésének a kockázatát. Számításaink szerint a nyáj kb. 15-20%-át alkotó, nem tejelő állatok kezelése a kontrollokhoz képest kb. 50%-al csökkentette a nyáj többi egyedének a fertőződését. Ennek egyik lehetséges magyarázat az, hogy a kosok kifejezettebb csalogató hatást fejtenek ki a *W. magnifica* nőtényeire, amit korábban megfigyeltünk (Farkas és mtsai, 1997). A kezelt állatok, különösen a kosok a nyájban „csapdaállatként” szolgálhatnak a lárvarakó nőtények számára, az ezeket fertőző lárvákból nem vagy kevés képes imágóvá fejlődni. A dicyclanilt tartalmazó készítménnyel, két alkalommal célszerű kezelni, másodjára a légy szezon félidejében, amikor az első kezelés hatása csökkenni kezd. Amennyiben hatásos csapdát lehetne kifejleszteni, ezt a dicyclanil kezeléssel együtt, egy integrált stratégia részeként eredményesebben lehetne alkalmazni a jelentős károkat okozó *W. magnifica* ellen.

Élelmezés-egészségügyi, környezetvédelmi és toxikológiai okok, ill. a bántalmat okozó légyfaj(ok)ban az inszekticidekkel szemben kialakuló rezisztencia veszélye miatt a szakembereket régóta foglalkoztatják a megelőzés nem vegyszeres lehetőségei. Ezek közé tartozik a myiasist okozó légyfajok számának csapdázással történő csökkentése a legelő állatok környezetében. Gazdaságosan előállítható csalétek/csalétkék és ennek kijuttatására szolgáló légycsapda/légycsapdák segítségével az eddigi módszereknél eredményesebben és környezetkímélőbben lehetne csökkenteni a myiasist okozó legyek számát a szabadban tartott állatok környezetében, s ez által a gazdasági haszonállatok jelentős állat-egészségügyi és gazdasági kárral járó parasitosisát. A *W. magnifica* és a *L. sericata* imágók csapdázásakor az elektromos csapda mérete számottevően nem befolyásolta a fogott legyek számát (Hall és

mtsai, 1995). A különféle színű csapdákból talált imágók száma alapján azt állapítottuk meg, hogy a csapda színének, mint vizuális ingernek jelentősége van. A fekete színű csapdák több imágót fogtak, amit a színpárokkal végzett kísérletek eredményei is igazoltak. Annak ellenére, hogy vizsgálatainkban a színek csalogató hatásának sorrendje mindkét légyfaj esetében azonos volt, a pettyes húslégy viselkedése a selymes döglégyéhez képest több szempontból is eltért. Az előbbi faj esetében a befogottak többsége hím, az utóbbinál nőstény volt. A *W. magnifica* hálózással gyűjtött példányai között is a hímek voltak többen. Megfigyeléseink szerint a legelő kerítésének az oszlopai olyan várakozó helyet biztosítottak a hímek számára, ahonnan párosodás céljából elindultak felkeresni a nőstényeket. Lehetséges, hogy az elektromos csapdákat is ilyen helynek tekintették, amelyeket főleg vizuális ingerek hatására találtak meg, ellentétben a *L. sericata* imágóival, amelyeknek a viselkedését a szaganyagok befolyásolták. A vizuális ingerek szerepének a tanulmányozásakor sikerült a színek jelentőségét megállapítanunk, de azt nem, hogy milyen szerepet játszanak a legyek csapdához való közeledésében és/vagy az arra történő leszállásában.

A *Cochiomyia hominivorax* csapdázásakor hatékonyan talált Swormlure-4 szintetikus csalétekkel a selymes döglégy és a pettyes húslégy közül az utóbbinak jóval kevesebb imágóját lehetett fogni. Vizsgálataink során alig fogtunk *L. sericata* imágókat az egészséges juhokon, ugyanakkor a legyek 26,8%-a *W. magnifica* volt. A fertőzött juhok közelében is gyakori volt a pettyes húslégy felbukkanása. Lehet, hogy a faj fiatal nőstényei táplálkozás céljából keresik az állatok sebeit. A csapdázási kísérleteink adatai szerint azonban az ilyen sebeket látogatók többsége fertőzte is azokat. Pontosán nem tudjuk, hogy milyen szaganyagokat észlelnek a pettyes húslégy nőstényei a sérüléstől mentes és a már fertőzött juhoknál. A bakteriológiai vizsgálatok arra engednek következtetni, hogy a juhok fertőződésében, különösen a külső ivarszervek esetében a helyi bakteriális folyamatokban képződő szemiokemikáliáknak fontos szerepe van. Az eddig vizsgáltaknál azonban jobb attraktív hatású csalétekre lenne szükség a gravid nőstények csapdázásához. Ennek érdekében a már megkezdett bakteriológiai vizsgálatok folytatásával több ismeretet kell szerezni a juhok kültakarójában, külső ivarszerveinek nyálkahártyáján a fertőződés előtt, alatt és után lejárvó mikrobiális folyamatokról. Lényeges feladat a tasakban, a pératájékon pangó vizelet mikrobiológiai szukcessziójának nyomon követése és a mikrobapopulációk szemiokemikáliát termelő domináns tagjainak az azonosítása, ill. a mikrobaközösségek illatanyag termelésének a vizsgálata. Amennyiben sikerülne ezeket a kémiai anyagokat mesterséges úton előállítani, úgy ezekkel az egészséges juhokhoz hasonló vagy nagyobb attraktív hatást lehetne kifejteni az imágókra.

4.4. A pettyes húslégy *in vitro* tenyésztése, morfológiai és genetikai vizsgálata

A *W. magnifica* *in vitro* tenyésztettségével foglalkozó vizsgálatban nagyon kevés életképes légy nevelődött (Farkas és mtsai, 2005). Az 1. stádiumú lárvák a lárvanevelő anyagokba történt helyezés után néhány percen belül táplálkozni kezdtek, és egy napon belül vedlettek. A természetesen fertőződött állatok sebei mellett megfigyeltekhez (Farkas és mtsai, 1997; 2001; Farkas és Képes, 2001) hasonlóan, a lárvák szorosan egymás mellett, feji végükkel a táptalajokba fúrva helyeződtek. Egy táptalaj kivételével megváltozott a

viselkedésük, miután ugyanolyan összetételű, de újra kerültek. A korábban megfigyelt fészekszerű helyeződésük megszűnt, többségük a lárvanevelő anyagok tetején mozgott, fejlődésük lelassult. A legtöbb mintában a lárvák többsége a második vedlés előtt vagy az azt követő napokban elpusztult. Azokban a mintákban, ahol a bábozódásuk előtt nem voltak zavarva, a lárvák egymás közelében maradvánnyal folytatták a táplálkozásukat és fejlődésüket. A jelentős lárvakori mortalitás oka nem ismert. Feltételezhető, hogy vizsgált táptalajok nem megfelelő mennyiségben/arányban tartalmazták a lárvák fejlődéséhez szükséges anyagokat. Lehetséges, hogy a táptalaj bomlásakor keletkező és/vagy a lárvák által kiválasztott és felhalmozódott toxikus anyagok károsan befolyásolták a fejlődésüket. A lárvakori fejlődés zavarásával magyarázható, hogy az életben maradtak fejlődése hosszabb ideig (9-19 nap) tartott, mint az élő állatokban (4-8 nap). A kisebb súlyú lárvákból kialakult kisebb bábok (bábsúly: 38,7-59,3 mg) többségéből (61,2-100%) nem kelt imágó, ill. amelyikből igen, az rövidebb ideig, mindössze 2-3 napig maradt életben. A mesterségesen kinevelt, életképes imágók többsége 10-20 napig élt, de ez idő alatt nem lehetett párosodásra utaló viselkedést megfigyelni, lárvákat nem raktak, s a boncolásuk során sem lehetett peteérlelésre utaló jeleket találni. A *Cochliomyia hominivorax in vitro* tenyésztésére alkalmasnak talált lárvanevelőben egyetlen *W. magnifica* imágó sem tudott kifejlődni, ami meglepő volt, hiszen mindkét légyfaj részben hasonló életmódú, lárváik fejlődéséhez élő szövetekre van szükség. Egy későbbi, nem közölt vizsgálatban a legjobbnak talált lárvanevelő táptalajba helyezett 264 első stádiumú lárvából 94 (36%) érte el a bábállapotot és 33 (12,5%) tudott imágóvá fejlődni. A kikelt legyek párosodtak, de a nőtények csak kevés lárvát raktak. A 46 lárvából 14 báb és ezek közül 8 imágó fejlődött ki. A kedvezőtlen eredmények ellenére kijelenthető az elvégzett laboratóriumi vizsgálatok során elsőként sikerült élő szöveteket nem tartalmazó anyagban kinevelnünk a faj életképes utódjait, gazdagítani a faj életmódjával kapcsolatos ismereteket. Közelebb jutottunk a pettyes húslégy *in vitro* tenyésztésének a megvalósításához, ami a wohlfahrtiosis immunológiai, bakteriológiai és más irányú vizsgálatai miatt igen fontos lenne. További kutatásokra van szükség ahhoz, hogy olyan összetételű táptalajt sikerüljön kifejleszteni, amiben az élő szövetekben fejlődöttékhez hasonló élet- és szaporodóképességgel rendelkező imágókat lehet *in vitro* kinevelni.

A *W. magnifica* hímjeit és nőtényeit a külső morfológia jegyek alapján el lehetett különíteni a nem többi fajától (Hall és mtsai, 2009). Az imágók testének és ivarszerveinek morfológiai valamint a citokrom-b fehérjét kódoló gén vizsgálata megerősíti azt a hipotézist, hogy a *W. magnifica* és a *W. vigil* testvérfajok. A molekuláris biológiai vizsgálatok alapján a pettyes húslégynek földrajzilag elkülönült két leszármazási vonalát találtuk meg Európában, amelyek mindössze két bázissal térnek el egymástól (Hall és mtsai, 2009a). Az egyik a nyugat-európai, a másik Európa keleti részén, a Közel-Keletig lelhető fel. A Görögországban, Marokkóban, Spanyolországban és hazánkban gyűjtött lárvák és imágók vizsgálatai is megerősítették a korábbi eredményeinket (Hall és mtsai, 2009b). A két leszármazási vonal létezésének valószínű magyarázata az lehet, hogy a faj példányai egymástól földrajzilag izoláltan maradtak életben a pleisztocén kori eljegesedés során, ahonnan később sem jutottak el nagyobb távolságra. Ez a jelenség más fajok kapcsán jól ismert. Lehetséges, hogy a Pireneusok és az Alpok magas hegyei megakadályozták a faj európai terjedését, de ennek

megismerése további vizsgálatokat igényel. Úgy gondoljuk, hogy a faj a palearktikum keleti régióinak jégkori menedékhelyeit is elfoglalta, hiszen Európa és Ázsia nyitott sztyeppéihez alkalmazkodva jól tűri a meleg és száraz nyarakat, képes nyugalmi állapotban átvészelni a hideg teleket. A két leszármazási vonal patogenitása, az eddigi ismereteink szerint nem tér el egymástól, mivel az ibériai félszigetről származó törzsek és a máshonnan származók viselkedése hasonló (Hall és Farkas, 2000).

A krétai mintákban talált két haplotípus eltért a marokkóitól, amelyek közül az egyik domináns volt, s ez azonos volt azzal, amelyet Magyarországon és a legnagyobb gyakorisággal Görögország szárazföldi területén találtunk (Hall és mtsai, 2009b). Ez az eredmény a Marokkóban megfigyeltekkel ellentétben azt jelzi, hogy Kelet-Európában hiányzik a faj genetikai diverzitása. A másik haplotípust csak Krétán találtuk meg, de ez nem bizonyítja a *W. magnifica* egy régen elkülönült populációjának a jelenlétét. A krétai juhokban a wohlfahrtiosis prevalenciája elérte a 15%-ot. Ez alapján valószínű, hogy a légyfaj a közelmúltban került a szigetre. Ezt a feltételezést támasztja alá az is, hogy az ottani farmerek és állatorvosok korábban nem találkoztak a parasitossal, és a légyfaj nem fordult elő az ottani gyűjteményben. Korábban úgy gondolták, hogy a *W. magnifica* lárvái Spanyolországból importált élő juhokkal kerültek a szigetre 1998-ban és 1999-ben. Ennek a valószínűsége azonban minimális volt, mivel a bevitelüket követően az állatok mintegy 80%-át két napon, a többit egy hónapon belül levágták. A molekuláris vizsgálataink eredményei sem igazolták azt a feltételezést, hogy a légyfajt Spanyolországból hurcolták be Krétára.

A marokkói állatorvosok szerint az ottani wohlfahrtiosis új problémaként jelentkezett az északi tartományban, de ezt a molekuláris vizsgálataink nem erősítették meg. Az ott gyűjtött minták között öt haplotípus fordult elő, amelyek közül három jellemző volt a régióra. Amennyiben a légyfajt a közelmúltban hurcolták volna be Marokkóba, akkor valószínű, hogy ez egy helyről történt volna, de a fertőzött állatokban legtöbbször két haplotípus példányait találtuk. Úgy gondoljuk, hogy ismeretlen ok(ok) miatt a faj régebben ott lévő populációi okozhatták az állatok körében megszorodott eseteket, de ennek ok nem ismert. Feltételezésünket az is alátámasztotta, hogy a rabati múzeum gyűjteményében *W. magnifica* példányokat találtunk, amelyek alapján meg lehetett állapítani, hogy a légyfaj legalább 30 éve jelen volt az országban. Eredményeink alapján azt feltételezzük, hogy Marokkó két régiójában előforduló populációk példányai között korlátozott lehetett a géncsere. Lehetséges, hogy ennek oka a térségben található Rif hegység, amelynek a magas hegyei akadályozzák a legyek két régió közötti mozgását. Ez azonban nem biztos, mivel Mongóliában 1200 méter magasságban, a francia Pireneusokban kétezer méter fölötti területeken is találtak fertőzött állatokat.

A palearktikum több országából származó minta további vizsgálatával ismerhetjük meg jobban a faj genetikai diverzitását. Ezek birtokában kaphatunk választ arra, hogy az ember közvetítésével honnét és hogyan terjedt el a *W. magnifica*. Krétán, Görögország szárazföldi részén és Magyarországon gyakori haplotípusok jelenléte bizonyára az Európában évszázadokon keresztül zajló intenzív állatkereskedelem következménye.

5. AZ ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

A hazai és külföldi kutatások új eredményei közül a legfontosabbak az alábbiakban foglalhatók össze.

1. A hazai juhállományok traumás myiasisának leggyakoribb okozója a húslegyek családjába (Diptera: Sarcophagidae) tartozó pettyes húslégy, a *Wohlfahrtia magnifica*. A wohlfahrtiosisnak nevezett parasitosis jelentős állat-egészségügyi és gazdasági kárt okoz. A bántalom az importált fajták egyedeiben gyakrabban fordul elő, mint az őshonos juhok között.
2. A bakteriológiai vizsgálatok megerősítik azokat a feltételezéseket, hogy a juhok és valószínűleg más állatfajok külső ivarszerveinek gyakori fertőződésében fontos szerepet játszanak a hüvelyben, a pérában, ill. a tasakban lezajló fiziológiás és/vagy patológias folyamatok (pl. ivarzás, elnyúló involúció, szövetek gyulladása) során megváltozó helyi baktériumközösség által termelt illó kémiai anyagok.
3. A nemzetközi összehasonlításban elsőként végzett immunológiai vizsgálatok szerint a *W. magnifica* lárvákkal szemben kimutatható ellenanyag termelődik a juhokban, amelyet a 3. stádiumú lárvák nyálmirigyeiből kivont antigénnel lehet a legjobban kimutatni. A juhok savójában talált ellenanyag mennyiségét a fertőzöttség helyeződése befolyásolja.
4. Az ivermektin, ill. moxidektin hatóanyagú injekciós készítmény terápiás adagja nem alkalmas a juhok wohlfahrtiosisának gyógykezelésére, és nem akadályozza meg az idősebb lárvák imágókká fejlődését.
5. A rovarnövekedés-gátló vegyületek közé tartozó dicyclanil hatóanyagú CLIK nevű készítmény egyszeri adagja a juhállományok kosainál legalább 12, a nem tejelő anyáknál legalább 20 hétig megakadályozza a wohlfahrtiosis kialakulását. Ezzel egy időben a kontrollcsoportokhoz képest a kezeletlen bárányok és tejelő juhok között is számottevően kisebb a fertőzöttek száma.
6. A csapdázott *Wohlfahrtia magnifica* imágók többsége hím, a *Lucilia sericata* esetében viszont a nőstény. A pettyes húslégy hímei a legelő kerítéseinek az oszlopait olyan várakozó helynek használják, ahonnan párosodás céljából keresik fel a nőstényeket. A faj nőstényeinek a többségét a fertőzött juhok környezetében lehet megtalálni s a selymes döglégyhez képest a nem fertőzött állatok közelében is gyakran előfordulnak.
7. A *Cochliomyia hominivorax* légyfaj csapdázásához használt Swormlure-4 szintetikus csalétek nem alkalmas a *Wohlfahrtia magnifica* imágók befogására.
8. A pettyes húslégy nemzetközi viszonylatban elsőként végzett molekuláris biológiai vizsgálata alapján a fajnak egy nyugat- és egy kelet-európai leszármazási vonala fordul elő kontinensünkön, amelyek mindössze két bázissal térnek el egymástól.
9. A *Wohlfahrtia magnifica* kelet-európai leszármazási vonalához tartozó hazai populációk között nem lehetett kimutatni különbséget, egy haplotípus tagjai.
10. A *Wohlfahrtia magnifica* imágók testének és ivarszerveinek morfológiai valamint a citokróm-b fehérjét kódoló gén vizsgálata megerősíti azt a hipotézist, hogy a *W. magnifica* és a *W. vigil* testvérfajok.

6. AZ ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK GYAKORLATI ALKALMAZÁSA

Kutatásaink eredményei hozzájárulnak a hazai állatfajok traumás légylárva-fertőzöttségével kapcsolatos ismereteink bővüléséhez. Ráirányítják a gyakorlatban dolgozó állatorvosok, állattenyésztők és állattartók figyelmét a jelentős állat-egészségügyi és gazdasági kárral járó parasitosisra. Kórokozója nem a szabadban tartott állatok környezetében nagy számban előforduló selymes döglégy, a *Lucilia sericata*, hanem a pettyes húslégy, a *Wohlfahrtia magnifica*, amely leggyakrabban a szabadban tartott juhok fertőzését okozza, de más állatfajok, így pl. a lovak, a szarvasmarhák, a sertések, a kutyák és a libák körében is előfordul a bántalom. A légylárvákkal fertőzött sebek inszekticidekkel végzett kezelésével, ill. makrociklikus laktonokat tartalmazó injekciós készítményekkel nem vagy csak részsikerek érhetők el. A fertőzött állatok gyógykezelése helyett a megelőzésre kell a figyelmet fordítani. Erre a célra alkalmasnak mutatkozik az általunk vizsgált dicyclinil hatóanyagú készítmény. A bántalom bakteriológiai kutatása során szerzett ismeretekre alapozva remény van olyan csalétek kifejlesztésére, amellyel az eddigieknél hatékonyabban lehetne csapdázni a pettyes húslégy imágóit, s ez által csökkenteni az állatok fertőződésének a kockázatát. Csalétekkel kombinált csapdák használatára valamint szelektív hatású lárvicidekkel végzett preventív célú kezelésekre épülő integrált stratégiával az eddigieknél eredményesebben és környezetkímélő módon lehetne védekezni a jelentős károkat okozó pettyes húslégy okozta parasitosis ellen.

7. AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBEN MEGJELENT SAJÁT KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

7.1. Eredeti közlemények

Hall, M.J.R., **Farkas, R.**, Kelemen, F., Hosier, M.J., El-Khoga, J.M. (1995): Orientation of agents of wound myiasis to hosts and artificial stimuli in Hungary. *Medical and Veterinary Entomology*, 9:77–84. **IF: 1.231**

Farkas, R., Hall, M.J.R., Dániel, M., Börzsönyi, L. (1996): Efficacy of ivermectin and moxidectin against larvae of *Wohlfahrtia magnifica* (Diptera: Sarcophagidae) in sheep. *Parasitology Research*, 82:82–86. **IF: 0.954**

Farkas R. (1996): A pettyes húslégy */Wohlfahrtia magnifica/* okozta myiasis. Irodalmi áttekintés. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 51:349–353. **IF: 0.084**

Farkas, R., Hall, M.J.R., Kelemen, F. (1997): Wound myiasis of sheep in Hungary. *Veterinary Parasitology*, 69:133–144. **IF: 1.147**

Farkas, R., Hornok, S., Gyurkovszky, M. (1998): Preliminary studies on humoral immun response of sheep to wohlfahrtiosis. *Veterinary Parasitology*, 75:279–284. **IF: 1.101**

Farkas, R., Hall, M. (1998): Traumatic myiasis in Hungary: a questionnaire survey of veterinarians. *Veterinary Record*, 143:440–443. **IF: 1.238**

Tóth, E., **Farkas, R.**, Márialigeti, K., Mokhtar, I.S. (1998): Bacteriological investigations on wound myiasis of sheep caused by *Wohlfahrtia magnifica* (Diptera: Sarcophagidae). *Acta Veterinaria Hungarica*, 46:219–229. **IF: 0.459**

Farkas, R., Szántó, Z., Hall, M. (2001): Traumatic myiasis of geese in Hungary. *Veterinary Parasitology*, 95:45–52. **IF: 1.401**

Farkas, R., Képes, Gy. (2001): Traumatic myiasis of horses caused by *Wohlfahrtia magnifica*. *Acta Veterinaria Hungarica*, 49:311–318. **IF: 0.420**

Hall, M.J.R., Hutchinson, R.A., **Farkas, R.**, Adams, Z.O., Wyatt, N.P. (2003): A comparison of Lucitrap® and sticky targets for sampling the blowfly *Lucilia sericata*. *Medical and Veterinary Entomology*, 17:280–287. **IF: 1.040**

Farkas, R., Hell, É., Hall, M.J.R., Gyurkovszky, M. (2005): *In vitro* rearing of the screwworm fly *Wohlfahrtia magnifica*. *Medical and Veterinary Entomology*, 19:22–26. **IF: 1.488**

Tóth, E., Márialigeti, K., Fodor, A., Lucskai, A., **Farkas, R.** (2005): Evaluation of efficacy of entomopathogenic nematodes against larvae of *Lucilia sericata* (Meigen, 1826) (Diptera: Sarcophagidae). *Acta Veterinaria Hungarica*, 53:65–71. **IF: 0.530**

Sotiraki, S., Stefanakis, A., Hall, M.J.R., **Farkas, R.**, Graf, J.F. (2005): Wohlfahrtiosis in sheep and the role of dicyclanil in its prevention. *Veterinary Parasitology*, 131:107–117. **IF: 1.686**

Farkas, R., Hall, M.J.R., Bouzagou, A.K., Lhor, Y., Khallaayoune, K. (2009) Traumatic myiasis of dogs caused by *Wohlfahrtia magnifica* (Diptera: Sarcophagidae) and its importance in the epidemiology of wohlfahrtiosis of livestock. *Medical and Veterinary Entomology*, 23 (Suppl. 1):80–85. **IF: 2.092**

Hall, M.J.R., Adams, Z.J.O., Wyatt N.P., Testa, J., Edge, W., Nikolausz, M., **Farkas, R.**, Ready, P.D. (2009a): Morphological and mitochondrial DNA characters for identification and phylogenetic analysis of the myiasis causing fleshfly *Wohlfahrtia magnifica* and its relatives (Diptera: Sarcophagidae), with a description of *Wohlfahrtia monegrosensis* sp. n. Wyatt & Hall. *Medical and Veterinary Entomology*, 23 (Suppl. 1):59–71. **IF: 2.092**

Hall, M.J.R., Testa, J., Smith, L., Adams, Z., Khallayoune, K., Sotiraki, S., Stefanakis, A., **Farkas, R.**, Ready, P.D. (2009b): A molecular genetic analysis of populations of *Wohlfahrtia*

magnifica (Diptera: Sarcophagidae) in outbreak populations of Greece and Morocco. Medical and Veterinary Entomology, 23 (Suppl. 1):72–79. **IF: 2.092**

Sotiraki, S., **Farkas R.**, Hall, M.J.R. (2010): Fleshflies in the flesh: epidemiology, population genetics and control of outbreaks of traumatic myiasis in the Mediterranean Basin. Veterinary Parasitology, 174:12–18. **IF: 2.331**

7.2. Könyvrészlet

Hall, M.J.R., **Farkas, R.** (2000): Traumatic myiasis of humans and animals. Chapter 1.18. pp. 751-768. In: Papp L. and Darvas B. (eds.): Contributions to a Manual of Palaearctic Diptera. Volume 1. Science Herald, Budapest, 978 p. ISBN 963 04 8839 6

7.3. Kongresszusi cikk

Cozma, V., Suteu, E., Fit, N., Sandru., D, Negrea, O., Gherman, C., Mircean, V., Cernea, C., Hall, M.J.R., **Farkas, R.** (2000): Sheep myiasis in a north-west ecosystem of Romania. pp. 117-119. In: Good, M., Hall, M.J.R., Losson, B., O'Brien, D., Pithan, K. & Sol, J. (eds): Mange and myiasis of livestock, Workshops held at the University of Cluj, Romania 2-3 September 1999, European Commission COST Action 833, EC Directorate General for Research, Brussels, EUR 19209, 193 pp. ISBN 92-828-9759-1

Farkas, R., Hall M.J.R., Tóth, E., Márialigeti, K., Gyurkovszky, M. (2000): *In vitro* rearing of *Wohlfahrtia magnifica* (Diptera: Sarcophagidae). pp. 128-133. In: Good, M., Hall, M.J.R., Losson, B., O'Brien, D., Pithan, K. & Sol, J. (eds): Mange and myiasis of livestock, Workshops held at the University of Cluj, Romania 2-3 September 1999, European Commission COST Action 833, EC Directorate General for Research, Brussels, EUR 19209, 193 pp. ISBN 92-828-9759-1

Hall, M., Testa, J., Edge, W., Nikolausz, M., Adams, Z., **Farkas, R.**, Ready, P. (2001): A comparative morphological and molecular analysis of flies in the genus *Wohlfahrtia* (Diptera: Sarcophagidae). pp. 155-162. In: Good, M., Hall, M.J.R., Losson, B., O'Brien, D., Pithan, K. & Sol, J. (eds): Mange and myiasis of livestock, Workshops held at the Institute of Entomology (Academy of Sciences) Ceske Budejovice, Czech Republic 28 to 30 September 2000, European Commission COST Action 833, EC Directorate General for Research, Brussels, EUR 19209, 203 pp. ISBN 92-894-1162-7

Farkas, R. (2002): Studies on proteases of third instar larvae of *Wohlfahrtia magnifica* (Diptera: Sarcophagidae). pp. 160-165. In: Good, M., Hall, M.J.R., Losson, B., O'Brien, D., Pithan, K. & Sol, J. (eds): Mange and myiasis of livestock, Proceedings of the workshop held at the École nationale vétérinaire de Toulouse, France 3 to 6 October 2001, European Commission COST Action 833, EC Directorate General for Research, Brussels, EUR 20364, 222 pp. ISBN 92-894-3860-6

Hall, M., **Farkas, R.**, Zoe, A., Wyatt, N. (2002): A comparison of Lucitrap and sticky targets for sampling *Lucilia sericata* (Diptera: Sarcophagidae). pp. 173-180. In: Good, M., Hall, M.J.R., Losson, B., O'Brien, D., Pithan, K. & Sol, J. (eds): Mange and myiasis of livestock, Proceedings of the workshop held at the École nationale vétérinaire de Toulouse, France 3 to 6 October 2001, European Commission COST Action 833, EC Directorate General for Research, Brussels, EUR 20364, 222 pp. ISBN 92-894-3860-6

Farkas, R., Hall, M.J.R., Bouzagou, A.K., Lhor, Y. (2003): Are dogs important in the epidemiology of wohlfahrtiosis in northern Morocco? pp. 172-176. In: Good, M., Hall, M.J.R., Losson, B., O'Brien, D., Pithan, K. & Sol, J. (eds): Mange and myiasis of livestock, Proceedings of the final conference held at the University of Bari, Italy 19 to 22 September

2002, European Commission COST Action 833, EC Directorate General for Research, Brussels, EUR 20364, 212 pp. ISBN 92-894-5683-3

7.4. Konferencián elhangzott előadások, bemutatott posztterek

El-Khoga, G.M., Márialigeti, K., **Farkas, R.** (1993): Odours produced by skin bacteria attract *Wohlfahrtia magnifica*. 14th International Conference of World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology. 8th-13th August, St John College and Magdalene College, Cambridge, UK. Abstract p. 94.

Hall, M.J.R., **Farkas, R.**, Kelemen, F., Khoga, J. (1993): Target oriented behaviour of *Wohlfahrtia magnifica* and *Lucilia sericata*, agents of myiasis, in Hungary. 14th International Conference of World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology. 8th-13th August, St John College and Magdalene College, Cambridge, UK. Abstract p. 95.

Farkas, R., Hall, M.J.R., Kelemen, F. (1995): Wound myiasis of livestock in Hungary. National Meeting of the Entomological Society of America. Las Vegas, Nevada. USA, 17-21 December 1995. Poster section.

Farkas, R., Hornok, S., Gyurkovszky, M. (1996): Preliminary studies on humoral immun response of sheep to wohlfahrtiosis. 7th European Multicolloquium of Parasitology, Parma, Italy, 2-6 September 1996, Abstracts p. 396.

Márialigeti, K., Khoga, J., **Farkas, R.** (1996): Skin bacterial population shift as a predisposing factor of flystrike disease in sheep. Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica, 43: 272-273.

Tóth, E., **Farkas, R.**, Márialigeti, K., Mokhtar, I.S. (1997): Microbiological investigations on wound myiasis of sheep caused by *Wohlfahrtia magnifica* (Diptera: Sarcophagidae). International Regional Seminar. Environment Protection: modern studies in ecology and microbiology. Uzhgorod, Ukraine, 13-16 May, 1997. p. 29-33.

Adams, Z.J.O., Hall, M.J.R., **Farkas, R.**, Wall, R. (1998): Seasonal availability of *Lucilia* species (Calliphoridae) at sticky targets in Hungary. 4th International Congress of Dipterology, Oxford, United Kingdom, 6 - 13 September, 1998. Abstracts Volume p. 5.

Farkas, R., Szántó, Z. (1998): Traumatic myiasis of geese in Hungary. 4th International Congress of Dipterology, Oxford, United Kingdom, 6 - 13 September, 1998. Abstracts Volume p. 53-54.

Farkas, R. (2000): Studies on traumatic myiasis of livestock in Hungary. pp. 155-156. In: Good, M., Hall, M.J.R., Losson, B., O'Brien, D., Pithan, K. & Sol, J. (eds): Mange and myiasis of livestock, Abstracts of papers presented at the first workshop held at the Aristotle University of Thessaloniki, Greece 1-3 October 1988, European Commission COST Action 833, EC Directorate General for Research, Brussels, EUR 19209, 193 pp.

Hall, M., **Farkas, R.**, Zoe, A., Wall, R. (2001): Spatial and temporal distribution of *Lucilia* species on a sheep farm in Hungary. pp. 158-159. In: Good, M., Hall, M.J.R., Losson, B., O'Brien, D., Pithan, K. & Sol, J. (eds): Mange and myiasis of livestock, Abstracts of papers presented at the first workshop held at the Aristotle University of Thessaloniki, Greece 1-3 October 1988, European Commission COST Action 833, EC Directorate General for Research, Brussels, EUR 19209, 193 pp.

Farkas, R., Hall, M., Tóth, E., Márialigeti, K., Hornok, S., Gyurkovszky, M. (2000): Studies on traumatic myiasis of livestock in Hungary. Livestock Insect Workers 44th Annual Conference, St. Augustine, Florida, USA, June 26-29, 2000. Abstracts. pp. 12-14.

Farkas, R., Hell, É., Hall, M.J.R. (2004) Laboratory study on the myiasis-causing fly species *Wohlfahrtia magnifica* (Schiner, 1962). IX European Multicolloquium of Parasitology,

Valencia, Spain. 18-23 July, 2004. Programme and Abstracts (eds. Mas-Coma, S., Bargues, M.D., Esteban, J.G., Valero, M.A.) 816. pp. 426-427.

Sotiraki, S., Stefanakis, A., Hall, M.J.R., **Farkas, R.**, Graf, J.F. (2004): Prophylactic chemotherapy for wohlfahrtiosis in sheep using IGRs. IX European Multicolloquium of Parasitology, Valencia, Spain. . 18-23 July, 2004. Programme and Abstracts (eds. Mas-Coma, S., Bargues, M.D., Esteban, J.G., Valero, M.A.) 817. p. 427.

Sotiraki, S., **Farkas, R.**, Stefanakis, A., Hell, E. (2005): Assesment of eprinomectin and ivermectin prophylactic activity against sheep wohlfahrtiosis. 6th International Sheep Veterinary Congress, Hersonissos, Crete, Greece. 17-25 June 2005. Proceedings (eds. Fthenakis, G.C. and McKaller) pp. 292-293.

Farkas, R. (2006): Traumatic myiasis of dogs caused by *Wohlfahrtia magnifica* (Diptera: Sarcophagidae). Infectious and Parasitic Diseases of Animals. Proceedings 2nd International Scientific Conference. September 18-20, 2006, Košice, The Slovak Republic. pp. 66-68.

8. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetemet fejezem ki a SZIE ÁOTK Parazitológiai és Állattani Tanszék korábbi vezetőinek, akik segítőkészségükkel, szakmai észrevételeikkel és példamutatásukkal meghatározó szerepet játszottak tudományos gondolkodásom kialakulásában, s abban, hogy a kutatás, az oktatás és a szakírás területén igényességre és állandó fejlődésre törekedjek. A legyészeti alapismereteim megszerzésében, a legyek állat-egészségügyi jelentőségének a felismerésében nyújtott felbecsülhetetlen segítségért Papp László akadémikusnak mondok őszinte köszönetet. Köszönöm a hazai és külföldi vizsgálatokban résztvevő kutatóknak, állatorvosoknak, hallgatóknak, állattartóknak és laboratóriumi asszisztenseknek az önzetlen segítségüket. Szükségesnek érzem, hogy külön is köszönetet mondjak Martin Hall kutatónak, akivel számos közös kutatást, szakmai és baráti beszélgetést folytattam. A külföldi szakemberek közül e helyen is megemlítem Smaro Sotiraki és Alekos Stefanakis (Görögország), Paul Ready (Anglia) valamint Khalid Khallaayoune (Marokkó) nevét, akik pótolhatatlan közreműködésükkel segítették a munkámat. Az ELTE TTK Mikrobiológiai tanszék vezetőjének, Márialigeti Károlynak és munkatársainak és a SZIE ÁOTK Kórbonctani és Igazságügyi Állatorvostani Tanszéken dolgozott Dr. Albert Mihálynak az értékes közreműködése, továbbá az időközben elhunyt Kobulej Tibor professzornak az orosz nyelvű cikkek fordításához nyújtott segítsége szintén hozzájárult e munka elkészültéhez. Hálás köszönet illeti Gyurkovszky Mónikát és Hell Éva volt PhD-hallgatót, akik a terepvizsgálatokban, a legyek tenyésztésében és a laboratóriumi kísérletekben nyújtottak felbecsülhetetlen segítséget. Köszönöm Solymosi Norbert állatorvos és Balázs Istvánné tanszéki előadó közreműködését is.

Az elvégzett kutatásokhoz hazai /OTKA (1991-94, 1998-2001), MKM K+F (1996-1997) és FKFP (1999, 1999-2001)/ és nemzetközi pályázatok /Royal Society (UK) Joint Projects with Central/Eastern Europe and The Former Soviet Union (1997-1999), Nemzetközi Atomenergia Ügynökség (2003-2007)/ továbbá COST (Mange and Myiasis of livestock) és magyar-görög együttműködések (TÉT, 2003-2005) nyújtottak anyagi és szakmai támogatást.

Befejezésül köszönöm feleségemnek és fiamnak a türelmüket és megértő támogatásukat.