

MTA doktori értekezés opponensi bírálatára adott válasz

A jelölt neve: **dr. Hornok Sándor**
Az értekezés azonosítója: **dc_1605_18**
Az értekezés címe: **Kullancsok, óvontagok és általuk hordozott kórokozók
rendszereti, öko-járványtani és földrajzi vizsgálata**
Az opponens neve: **dr. Kassai Tibor, az MTA doktora**

Tisztelt Bíráló!

Szeretnék köszönetet mondani doktori értekezésem szakmai bírálatáért, és az abban megfogalmazott elismerő szavakért. Külön köszönöm az értekezés előzményeinek ismertetését, továbbá az új tudományos eredmények közül a fontosabbak kiemelését és jelentőségük összefoglalását. A Tisztelt Bíráló által feltett kérdésekre az alábbi válaszokat szeretném adni.

Ad 1.: A szóban forgó cikk a külső váz elváltozásairól ("exoskeleton anomália") tesz említést. A szerzők felhívják rá a figyelmet, hogy a klímaváltozás mellett a környezetszennyezés is fontos tényezője lehet annak, hogy napjainkban nő a kullancsok által terjesztett kórokozókvaló fertőződés kockázata. Konkrétabban, a nehézfém-szennyezettség hatását vizsgálták az *Ixodes*-fajú kullancsok fenotípusos (ill. feltételezhető genetikai) változásának hátterében. Pozitív korrelációt találtak ugyanis a kadmium ion felhalmozódása és a pajzs felületi elváltozásai között, ami tehát a morfológiai anomália egyik okaként feltételezhető. Az ilyen, morfológiai rendellenességet mutató kullancsokra jellemző volt (intakt társaikhoz képest), hogy (a) gyakrabban hordoztak kullancs közvetítette kórokozót, ill. (b) több ilyen kórokozót egyszerre (Alekseev és Dubinina, 2008). Ennek okaként a szerzők azt feltételezik, hogy a detoxikálásra fordított energia hiányzik a kórokozókkal szembeni védekezéshez.

Jóllehet közvetlen bizonyíték nincs rá, de vannak arra utaló adatok, amelyek szerint a kórokozókkal való fertőződés iránti fogékonyság eltérhet a kullancs egyedek között. Ismert ugyanis, hogy a kullancsok kórokozók iránti fogékonysága összefügg a mikrobiomjuk összetételével (Gall és mtsai, 2016), ami pedig egyedi eltéréseket mutathat (Greay és mtsai, 2018). Általánosságban szólva, a kullancsok bonyolult kölcsönhatásba lépnek a bennük élő mikroorganizmusokkal, így az általuk közvetíthető kórokozókkal is (de la Fuente és mtsai, 2017), aminek a kullancs "egészségi állapota" és védekezési mechanizmusai szempontjából egyedi eltéréssel jellemezhető genetikai háttere van. Az utóbbinak egy indikátora szerepel az értekezés témái között is, nevezetesen a földrajzilag elkülönült kullancspopulációk között fennálló genetikai eltérés, amely az adott kórokozóval szembeni, földrajzilag eltérő fogékonyságban nyilvánulhat meg. Ezt leírták többek között a *Dermacentor andersoni* esetében, mivel a más régióban gyűjtött kullancsok *Anaplasma marginale* fajra eltérő fogékonyságot mutattak, és ez a fogékonysági ráta az évek során az adott területen belül nem változott jelentősen (Scoles és mtsai, 2005).

Ad 2.: Attól, hogy mi az adott időpillanatban gazdáról leválasztott ektoparazitát, ill. kullancsot PCR negatívnak találtuk, nem biztos, hogy mindig az volt. Másrészt a szóban forgó vizsgálatban az ektoparazita mintaszám alacsony volt ahhoz, hogy általános következtetéseket vonjunk le. Mindazonáltal a kullancsok vérszívása szakaszosan történik (Franta és mtsai, 2010), így nem kizárt, hogy az adott kullancs korábban eltávolítva PCR pozitív lett volna, de időközben

megemésztette azt a kórokozót, amelynek nem vektora. A kullancs egyes, első vonalbeli védekezési mechanizmusai már vérszívás előtt rendelkezésre állnak. Ilyen korai fegyver a kullancs eszköztárában a cisztein proteázok közé tartozó katepszin-B, amely a vérszívás kezdetétől aktív (Franta és mtsai, 2010). Az ilyen enzimek már a középbeli lumenében – dózisfüggő módon – megölhetik a kullancs közvetítette kórokozókat, például a babesiákat, elősegítve azok megemésztését (Tsuji és mtsai, 2008). A kullancs emésztési folyamatai főként azokat a kórokozókat közömbösítheti hamar, amelyek alacsony (de PCR-rel kimutatható) mennyiségben vannak jelen a gazda vérében, ill. szabadon vagy a vörösvértesteken felületesen találhatóak. Utóbbira jó például szolgálnak a Bíráló által említett rágcsáló ektoparazita vizsgálatban is kimutatott haemoplasmák (4.4.1. fejezet). Egy másik tanulmányunkban (Hornok és mtsai, 2012) olyan marhákról gyűjtöttünk 673 kullancsot, amelyek mintegy 90%-a haemoplasmákat hordozott a vérében (tehát PCR pozitív volt). Ennek ellenére, vizsgálatunk során az ilyen PCR pozitív vért szívott kullancsaik mind PCR negatívnak bizonyultak, vélhetően a fent említett okból kifolyólag. Az ilyen eredmények amellet szólnak, hogy a szóban forgó kullancsok nem vektorai a haemoplasmáknak.

De még ha olyan kullancs szív is vért a bakteraemia szakában lévő (PCR pozitív) gazdából, amely vektora az adott bakteriális kórokozónak, akkor sem biztos, hogy fertőződik, tehát a kullancs PCR negatívvá válhat. Ismert, hogy az obligát intracelluláris rickettsiák egyes gerincesek vérpályájában olyan alacsony (de PCR-rel kimutatható) koncentrációban vannak jelen, hogy nem képesek a kullancsot fertőzni (Bozeman és mtsai, 1967). Hasonló lehet a következménye annak, ha a rickettsaemia intermittáló jellegű (Kelly és mtsai, 1992), kiemelve annak fontosságát, hogy végső következtetések levonásához ismételt mintavétel szükséges.

Ad 3.: Ismereteim szerint élettani (vitalitási) szempontból a kórokozó-hordozás háromféle hatással lehet a kullancsokra. Számos példája ismert annak, hogy (a) noha egy kórokozónak sohasem célja kárt tenni vektorában (amelynek aktívan kell a kórokozót célba juttatnia), ez mégis előfordulhat. Például a mediterrán foltos láz egyik okozója, a *Rickettsia conorii* csökkenti a biológiai vektoraként ismert *Rhipicephalus sanguineus* túlélési esélyét (Levin és mtsai, 2009). Ugyanígy hatással van a *Dermacentor andersoni* kullancsfajra az általa közvetített *R. rickettsii* (Niebylski és mtsai, 1999). Egy további lehetőség, hogy (b) a kórokozó megváltoztatja a hordozó kullancs viselkedését. Például a borrelia – vagy anaplasma – fertőzött kullancsok idegéletteni funkciói úgy változnak meg, hogy csökken a mászási sebességük, vagy éppen magasabbra jutnak a növényzeten (Romashchenko és mtsai, 2012). Ezt a kórokozó általi vektor manipuláció példáinak tartják, és összefügghet az adott, kullancs közvetítette kórokozó rezervoár gazdáinak testméretével (megkönnyítve a kullancs gazdára találását) (Mejlon és Jaenson, 1997). Végül, de nem utolsósorban (c) arra is találhatunk szakirodalmi adatokat, hogy a kórokozók metabolikusan kiéheztetik és aktívabbá teszik az őket terjesztő kullancsokat (Rachinsky és mtsai, 2008), és így mi is azt figyeltük meg, hogy a *Babesia canis*-fertőzött *D. reticulatus* kullancsok aktívabbak, szezonálisan korábbiak (Hornok és mtsai, 2016).

Végezetül, kiváltképp megtisztelőnek tartom, hogy Prof. Kassai Tibor személyében a hazai állatorvosi parazitológia kiemelkedő, hosszú távon meghatározó és iskolateremtő vezetője foglalt állást tudományos munkássággal kapcsolatban. Összegzésképpen még egyszer köszönöm a pozitív bírálatot, a konstruktív kérdéseket, és tisztelettel kérem ez utóbbiakra adott válaszaim elfogadását.

Budapest, 2019. november 8.

dr. Hornok Sándor

Hivatkozott irodalom

- Alekseev AN, Dubinina HV. Enhancement of risk of tick-borne infection: environmental and parasitological aspects of the problem. *J Med Entomol.* 2008;45:812–5.
- Bozeman FM, Shiral A, Humphries JW, Fuller HS. Ecology of Rocky Mountain spotted fever. II. Natural infection of wild mammals and birds in Virginia and Maryland. *Am J Trop Med Hyg.* 1967;16:48–59.
- de la Fuente J, Antunes S, Bonnet S, Cabezas-Cruz A, Domingos AG, Estrada-Peña A, Johnson N, Kocan KM, Mansfield KL, Nijhof AM, Papa A, Rudenko N, Villar M, Alberdi P, Torina A, Ayllón N, Vancova M, Golovchenko M, Grubhoffer L, Caracappa S, Fooks AR, Gortazar C, Rego ROM. Tick-pathogen interactions and vector competence: identification of molecular drivers for tick-borne diseases. *Front Cell Infect Microbiol.* 2017;7:114.
- Franta Z, Frantová H, Konvičková J, Horn M, Sojka D, Mareš M, Kopáček P. Dynamics of digestive proteolytic system during blood feeding of the hard tick *Ixodes ricinus*. *Parasit Vectors.* 2010;3:119.
- Gall CA, Reif KE, Scoles GA, Mason KL, Mousel M, Noh SM, Brayton KA. The bacterial microbiome of *Dermacentor andersoni* ticks influences pathogen susceptibility. *ISME J.* 2016;10:1846–1855.
- Greay TL, Gofton AW, Papparini A, Ryan UM, Oskam CL, Irwin PJ. Recent insights into the tick microbiome gained through next-generation sequencing. *Parasit Vectors.* 2018;11:12.
- Hornok S, Micsutka A, Fernández de Mera IG, Meli ML, Gönczi E, Tánczos B, Mangold AJ, Farkas R, Lutz H, Hofmann-Lehmann R, de la Fuente J. Fatal bovine anaplasmosis in a herd with new genotypes of *Anaplasma marginale*, *Anaplasma ovis* and concurrent haemoplasmosis. *Res Vet Sci.* 2012;92:30–35.
- Hornok S, Kartali K, Takács N, Hofmann-Lehmann R. Uneven seasonal distribution of *Babesia canis* and its two 18S rDNA genotypes in questing *Dermacentor reticulatus* ticks in urban habitats. *Ticks Tick Borne Dis.* 2016;7:694–697.
- Kelly PJ, Matthewman LA, Mason PR, Courtney S, Katsande C, Rukwava J. Experimental infection of dogs with a Zimbabwean strain of *Rickettsia conorii*. *J Trop Med Hyg.* 1992;95:322–326.
- Levin ML, Killmaster L, Ereemeeva ME, Dasch GA. Effects of *Rickettsia conorii* infection on the survival of *Rhipicephalus sanguineus* ticks. *Clin Microbiol Infect.* 2009;15 Suppl 2:277-8.
- Mejlon HA, Jaenson TGT. Questing behaviour of *Ixodes ricinus* ticks (Acari: Ixodidae). *Exp Appl Acarol.* 1997;21:747–754.
- Niebylski ML, Peacock MG, Schwan TG. Lethal effect of *Rickettsia rickettsii* on its tick vector (*Dermacentor andersoni*). *Appl Environ Microbiol.* 1999;65:773–778.
- Romashchenko AV, Ratushnyak AS, Zapara TA, Tkachev SE, Moshkin MP. The correlation between tick (*Ixodes persulcatus* Sch.) questing behaviour and synganglion neuronal responses to odours. *J Insect Physiol.* 2012;58:903–910.
- Rachinsky A, Guerrero FD, Scoles GA. Proteomic profiling of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* midgut responses to infection with *Babesia bovis*. *Vet Parasitol.* 2008;152:294–313.
- Scoles GA, Ueti MW, Palmer GH. Variation among geographically separated populations of *Dermacentor andersoni* (Acari: Ixodidae) in midgut susceptibility to *Anaplasma marginale* (Rickettsiales: Anaplasmataceae). *J Med Entomol.* 2005;42:153–162.
- Tsuji N, Miyoshi T, Battsetseg B, Matsuo T, Xuan X, Fujisaki K. A cysteine protease is critical for *Babesia* spp. transmission in *Haemaphysalis* ticks. *PLoS Pathog.* 2008;4:e1000062.