

Állatorvostudományi Egyetem

Patológiai Tanszék

**A házimacskák retrovirális (Feline Leukemia Virus, FeLV)
fertőzése Magyarországon**

Retroviral (FeLV) infection of domestic cats in Hungary

Készítette: Borsodi Anna

Témavezető: dr. Szilasi Anna, tanszéki állatorvos

Budapest

2017

1. Tartalomjegyzék

1. Tartalomjegyzék	1
2. Rövidítések jegyzéke.....	3
3. Bevezetés.....	4
4. Irodalmi áttekintés.....	5
4.1. A betegség története.....	5
4.2. Kóroktan	5
4.2.1. A FeLV genomja és szerkezete.....	5
4.2.2. FeLV altípusok.....	6
4.3. Járványtan	7
4.3.1. Gazdaspektrum	7
4.3.2. Prevalencia	7
4.3.3. Terjedés	8
4.4. Kórfejlődés.....	8
4.4.1. A fertőzés típusai	9
4.5. Klinikai tünetek.....	10
4.5.1. Daganatok	10
4.5.2. Hematológiai rendellenességek.....	13
4.5.3. Immunszuppresszió.....	14
4.5.4. Immunmediált kórképek	14
4.5.5. Egyéb szindrómák.....	15
4.6. Diagnózis	15
4.7. Kezelés.....	17
4.8. Megelőzés	18
4.8.1. A fertőzés megelőzése	18
4.8.2. Vakcinázás	18

5. Anyag és módszer	20
5.1. Mintagyűjtés	20
5.2. Witness-gyorsteszt	21
5.3. PCR.....	21
5.4. Statisztikai módszerek	23
6. Eredmények.....	24
7. Megbeszélés	29
8. Összefoglalás.....	32
9. Summary: Retroviral (FeLV) infection of domestic cats in Hungary.....	33
10. Irodalomjegyzék.....	34
11. Köszönetnyilvánítás	39

2. Rövidítések jegyzéke

+ssRNS: pozitív irányultságú szimplaszálú ribonukleinsav	FPV: Feline panleukopenia vírus
AAFP: American Association of Feline Practicioners	gag: group-specific antigen
bp: bázispár	Ht: hematokrit
CBC: complete blood count	ISS: injection site-associated sarcoma
db: darab	LTR: long terminal repeat
DNS: dezoxiribonukleinsav	MDS: myelodysplasiás szindróma
DNáz: deoxiribonukleáz	MuLV: Murine leukemia virus
dNTP: deoxinukleotid	myc: sejtoncogén
EDTA: etilén-diamin-tetraecetsav	NPV: negatív prediktív érték
ELISA: enzyme linked immunosorbent assay	PCR: polimeráz láncreakció
enFeLV: endogenous Feline leukemia virus	Pit1: phosphate transporter protein-1
env: envelope	pol: reverz transzkriptáz
FA: free antigen	PPV: pozitív prediktív érték
FAE: FeLV-asszociált enteritis	PRCA: pure red cell aplasia
FAIDS: macskák szerzett immunhiányos szindrómája, FeLV-AIDS	RD-114-vírus: D-type retrovirus
FCV: Feline calicivirus	RNáz: ribonukleáz
FeLIX: FeLV infectivity X-essory protein	RNS: ribonukleinsav
FeLV: Feline leukemia virus	RT-PCR: reverz transzkripció polimeráz láncreakció
FeSV: Feline sarcoma virus	sec: szekundum
FHV: Feline herpesvirus	spec: specificitás
FIV: Feline immunodeficiency virus	szenz: szenzitivitás
FOCMA: feline oncornavirus-associated cell membrane antigen	TBE: tris-borát-EDTA
FPLS: Feline Panleukopenia-like Syndrome	TNF- α : tumor nekrozisfaktor- α
	tp: valódi prevalencia
	ún: úgynevezett

3. Bevezetés

A macskák leukaemia vírusa (Feline leukemia virus – FeLV) világszerte elterjedt a házi, illetve vadon élő macskák körében. Korábban a FeLV-fertőzéshez köthető betegségek okozták a házi macskák körében a legtöbb elhullást (3, 4, 11). Mára ez a szám, a megfelelő szűrési és vakcinázási protokolloknak köszönhetően, csökkent (9, 10, 36). A vírus elterjedtsége a macskák immunhiányos kórképét okozó vírusától (Feline immunodeficiency virus – FIV) eltérően a különböző országokat tekintve csaknem azonos (1–8%). Kivételt képezhetnek azok az országok, amelyekben a kóbornacská-populáció nagyobb (pl. Spanyolország, Olaszország) (3, 32).

A FeLV a *Retroviridae* család *Orthoretrovirinae* alcsaládjába tartozó γ -retrovírus, amely a macskaféléket betegíti meg. Fehérje magja egy burokkal körbevett pozitív irányultságú szimplaszálú ribonukleinsavat (+ssRNS) tartalmaz (1, 4). A vírus több szövettípusban is képes replikálódni, mint például a csontvelő, a nyálmirigyek és a légzőhám. Ha nincs megfelelő immunválasz a fertőzés kezdetén, a vírus eljut a csontvelőbe, és megfertőzi a hematopoietikus prekurzor sejteket. A szimplaszálú RNS genom reverz transzkriptáz segítségével dezoxiribonukleinsavvá (DNS) alakul, ami aztán véletlenszerűen integrálódik a gazdasejt genomjába (ez az ún. provírus) (1, 4, 16). A sejt retrovírussal való fertőződése nem feltétlenül jelenti a sejt halálát. Ha a vér- és immunsejtek fertőződnek, a vírus eliminációja lehetetlenné válik a szervezet számára (1).

Kutatásunk célja az volt, hogy felderítsük Magyarország FeLV-fertőzöttségi státuszát, valamint összehasonlítsuk a klinikumban használatos egyik gyorseszteszt (Witness FIV-FeLV, Zoetis®) érzékenységét és specificitását a klasszikus end-point polimeráz láncreakcióval (PCR). Erre a célra 184 vérmintát gyűjtöttünk az ország különböző területeiről. Ezen kívül vizsgáltuk, hogy van-e szignifikáns összefüggés a tesztek pozitivitása és a különböző változók tekintetében (nem, a kor és a tartási körülmények).

4. Irodalmi áttekintés

4.1. A betegség története

A vírust először 1964-ben William Jarret és munkatársai írták le, amikor víruspartikulákat sikerült kimutatniuk lymphoma malignus lymphoblastjainak sejtmembránjához rögzülve (1, 4). A felfedezés után minden hematopoietikus daganatot FeLV-indukálnak ítélték attól függetlenül, hogy fertőzött volt-e az állat. Később megállapították, hogy a tumoros megbetegedések csupán egyharmada FeLV-indukált, és a fertőzött macskák többsége anaemiában és a legyengült immunrendszer miatt fellépő másodlagos megbetegedésekben hullanak el. Jelenleg elfogadott tény, hogy főleg idősebb állatok esetében a FeLV-től eltérő, más tumoros folyamatokat kiváltó tényezők nagyobb szerepet játszanak a daganatos megbetegedésekben (1).

4.2. Kóroktan

A nukleotidszekvenciák hasonlósága alapján valószínű, hogy a FeLV a patkány ősének egy vírusából fejlődött ki, körülbelül 10 millió évvel ezelőtt Észak-Afrikában (1, 16). A vírus a macskákra az emésztőrendszeren keresztül, valamint harapás által terjedt. Bizonyos endogén, nem patogén retrovírusok (pl. endogenous Feline leukemia virus [enFeLV], D-type retrovirus [RD-114-vírus], MAC-1-vírus) gyakran kimutathatók a macskák genomjából, és öröklődéssel is terjednek. Az enFeLV valószínűleg 100.000 évvel ezelőtt alakult ki az egér leukaemiavírusából (Murine leukemia virus, MuLV) azáltal, hogy a macskák fertőzött egeret ejtettek el, és a vírus képes volt a ragadozó sejtjeibe is beférkőzni. A MuLV ezután átjutott, és adaptálódott a macskafélék utódjaira is (1).

4.2.1. A FeLV genomja és szerkezete

A genom úgynevezett long terminal repeat (LTR) szekvenciákat tartalmaz (3, 16), amelyeknek a többi virális génre nézve expressziószabályozó funkciója van. Az 5' és a 3' vég közötti szakaszok az LTR-gag-pol-env-LTR (**1. táblázat**) (1, 16). Az LTR régió nagy szerepet játszik a célsejttropizmus és patogenitás meghatározásában (3).

1. táblázat: A FeLV génszakaszainak elhelyeződése és funkciója

Gén	Helyeződés	Típus	Funkció
<i>gag</i> (group-specific antigen)	mag	p15c	mátrix protein
		p12	nem ismert
		p27	capsid protein, antigénkimutatáshoz használják
		p10	nucleocapsid protein
<i>pol</i> (reverse transcriptase)	mag	RT	virális reverz transzkripció
<i>env</i> (envelope)	burok	gp70	külső felületi egység, ez alapján FeLV altípusok meghatározása neutralizációs és védő ellenanyagok képződését befolyásolja
		p15e	transzmembrán protein, immunszuppresszióban játszik szerepet

4.2.2. FeLV altípusok

A FeLV számos altípusát ismerjük, amelyek a gazdasejt típusa alapján lettek meghatározva. A három legfontosabb altípus a FeLV-A, FeLV-B és FeLV-C, amelyek immunológiailag mind közel állnak egymáshoz (1, 4, 3, 16). Más, kevésbé fontos altípusokat is azonosítottak, mint például a T-altípust, ami erősen cytoliticus hatású a T-lymphocytákra, és immunszuppressziós hatása is van (1). Csak a FeLV-A képes a természetben horizontálisan terjedni (3, 4). A többi altípus FeLV-A-val fertőzött macskákban mutációval alakul ki. A B-altípus a FeLV-A gazdaszervezet génjeivel vagy endogén retrovírussal (enFeLV-vel) való rekombinációjából származik, míg a FeLV-C az *env* gén mutációjából alakul ki, de ez a típus kevésbé gyakori (3, 16). Ennek a két altípusnak (B és C) a replikációjához szükség van a FeLV-A jelenlétére, mivel csak ebben van meg a megfelelő génszakasz. A B- és C-altípus patogenitása FeLV-A-val történő rekombináció esetén jóval nagyobb, mint kizárólagos FeLV-A-fertőzöttség esetén. A FeLV-C csontvelőre gyakorolt immunszuppresszív hatása jelentős, míg a FeLV-B jelenléte főleg rosszindulatú daganatos elváltozásokhoz köthető (1, 4). Ez a feltevés kísérleti fertőzések során is bizonyosságot nyert (kimutatták, hogy a FeLV-B kölyökmacskákban egy év alatt közel 100%-ban okozott lymphomát, míg a FeLV-C nem regeneratív anaemiát) (1). Egy másik betegség, a FAIDS (macskák szerzett immunhiányos

szindrómája, FeLV-AIDS) kialakulásában a FeLV-A és erősen patogén variánsai játszanak szerepet, megtámadva a CD4⁺ és CD8⁺ lymphocytákat, a B-lymphocytákat, valamint a myeloid sejteket. Ez a forma végzetes immunszuppressziót okoz (ilyen jellegű fertőzés esetén 100%-os a letalitás), valamint ez a széleskörű replikációs képessége erősen károsítja a szervezet immunválaszát más behatásokkal szemben is (1, 4, 16, 46).

4.3. Járványtan

4.3.1. Gazdaspektrum

A természetben a FeLV bizonyítottan főleg házimacskákat (*Felis catus*) fertőz, bár a vadmacskafélék között is vannak fogékonyak (1, 25, 41). *In vitro* körülmények között a FeLV képes nem macska eredetű sejtekben is replikálódni (1, 3). Például FeLV-B szaporodhat macska, kutya, szarvasmarha, sertés, hörcsög, majom és emberi sejtekben, míg a FeLV-C macska, kutya, tengerimalac és emberi sejtekben. A FeLV-A is képes megfertőzni más álltípusú sejteket, viszont azokban nem képes elváltozások kialakítására. A vírus egyes vadmacska fajokat is képes megfertőzni, mint például vadmacska (*Felis silvestris*), eurázsiai hiúz (*Lynx lynx*) és ibériai hiúz (*Lynx pardinus*), floridai puma (*Puma concolor coryi*), namíbiai gepárd (*Acinonyx jubatus*) (25, 41).

4.3.2. Prevalencia

A FeLV világszerte elterjedt vírus. Egyedül a Grenada-szigeteki, a kelet-indiai, az Izabella-szigeteki és a Galapagos-szigeteki macskák esetében mutattak ki teljes FeLV-mentességet (1). A FeLV elterjedésére nagyobb esély van olyan helyeken, ahol a macskák szabadon mozognak a környezetben, mivel a vírus átadásához közvetlen érintkezésre van szükség. A fertőzöttség nem mutatott szignifikáns különbséget a nemek között, bár a kandúrok esetében kissé nagyobb ez az arány. Nem lehet biztosan megmondani, hogy van-e olyan macskafajta, amely érzékenyebb lenne a fertőzésre, mivel a fajtatiszta, drágább állatokat általában lakásban tartják, így a fertőződés esélye minimális (1, 42). A szűréseknek, vakcinázásoknak köszönhetően a FeLV elterjedtsége szignifikánsan csökkent az elmúlt években (11, 36). Azonban ezek az eredmények nem tekinthetők teljesen bizonyosnak, mivel a gyors tesztek csak a FeLV p27 antigénjének jelenlétét mutatják ki. Szabad p27 antigén kizárólag produktív viraemia esetén van jelen. Regresszív fertőzöttség során a vérből csak a provírus mutatható ki, maga a vírus csak a csontvelőben található meg (1, 3, 10).

4.3.3. Terjedés

A FeLV horizontálisan, közvetlen érintkezés útján terjed a macskák között (1, 4, 16). A víruspartikulák legnagyobb koncentrációban a nyálban találhatók meg (35). A macskák (főleg kandúrok) agresszív magatartása, mint szociális viselkedés, az étel megosztása, egymás ápolása a leggyakoribb módjai a vírus terjedésének (3, 4, 34). Iatrogén fertőzés is szóba kerülhet egymás után többször ugyanazon tű használata, nem megfelelően tisztított eszközök, vagy vérátömlesztés esetén (1).

A FeLV vertikális úton (anyáról kölyökre) való terjedése gyakori viraemiás nőstények esetében. Az újszülött macskák fertőződhetnek az ellés alatt, valamint akkor, mikor az anyjuk tisztítani és gondozni kezdi őket. Transzplacentáris fertőződés esetén a legtöbbször még a méhen belül megtörténik a magzatok elhullása, csupán az esetek 20%-ban születnek meg a kölykök, amik aztán 1–2 héten belül elpusztulnak, vagy perzisztensen fertőzött felnőttek lesznek (3, 4, 16).

4.4. Kórfejlődés

A FeLV-fertőzöttség megjelenési formája változatos. Nagymértékben függ a macska immunstátuszától és korától a fertőződés időpontjában, de befolyásolja a vírus patogenitása, a bejutó vírus mennyisége, a fertőzöttség mértéke, valamint mind a vírus, mind pedig a gazdaszervezet genetikai variációja (1, 3).

A tartós fertőzöttség kialakulásához hat szakasz köthető:

- 1. szakasz:** 2–4 nap, a vírus replikálódik a mandulákban és a garattájéki nyirokcsomókban (4).
- 2. szakasz:** 1–14 nap, a FeLV megfertőz néhány, a vérben keringő lymphocytát és monocytát.
- 3. szakasz:** 3–12 nap, a vírus eljut a lépbe, nyirokcsomókba és az emésztő rendszerhez tartozó lymphoid szövetekbe.
- 4. szakasz:** 7–21 nap, a FeLV eljut a csontvelőbe, megtámadja a neutrophil granulocytákat, vérlemezke-prekurzorokat valamint a bélnyálkahártya kriptáit.
- 5. szakasz:** 14–28 nap, a FeLV a csontvelő fertőzése után viraemiát okoz.
- 6. szakasz:** 28–36 nap, a vírus több szövet hámrétegébe bejut (oropharynx, nyálmirigy) és megjelenik a nyálban, vizeletben (1, 2, 35).

A szakaszok között természetesen van időbeni átfedés, nem lehet őket határozottan elválasztani egymástól.

4.4.1. A fertőzés típusai

- **Regresszív fertőzés**

Regresszív fertőzés esetén a viraemia csupán hetekig vagy hónapokig tart (a legtöbb macskában 3–6 hét). Ezalatt a periódus alatt az állat üríti a vírust, és fertőzhet, valamint a szabad FeLV p27 antigének kimutathatók a vérből. A viraemia tünetei lehetnek levertség, láz, nyirokcsomó-megnagyobbodás. Néhány macskában a vírus 3 hétnél tovább perzisztál, így a csontvelő sejtjei is fertőződhetnek, emiatt ezek a vérképző prekursor sejtek fertőzött granulocytákat és vérlemezkéket kezdenek termelni. Ha a viraemia megszűnik, de a csontvelő fertőződött, akkor a vírus jelenléte megmarad, bár a vérből nem lehet kimutatni, és klinikai tünetek sem jelentkeznek. Ilyenkor csontvelő-biopszia vételével lehet kimutatni ezt a korábban látens fertőzöttségnek nevezett formát (1, 16). Az állat ilyenkor nem üríti a vírust, és más állatokat sem fertőz. A regresszív fertőzés reaktiválódhat bármiféle immuszuppresszív (pl. vemhesség, illetve bármilyen más immungyengítő tényező, így glükokortikoidok adása, stressz) hatásra (1, 4). Regresszív FeLV-fertőzés magyarázza, hogy miként lehet egy állatban FeLV-indukálta myeloszuppresszió és vérképzési zavar annak ellenére, hogy a diagnosztikai tesztek negatív eredményt mutatnak (1).

- **Progresszív fertőzés**

Progresszív kórforma esetén az immunválasz nem elég erős fertőződéskor, ezért a viraemia 16 hétnél is tovább tart, így az állat viraemiás és fertőzőképes marad hosszú időn át. A legtöbb progresszíven fertőzött macskában a kevés neutralizáló ellenanyag jelenléte miatt hamar kialakulnak a FeLV-asszociált betegségek, valamint másodlagos fertőzések (4, 11). Nagy százalékuk a fertőzést követő 3 évben elhullik (3).

- **Abortív fertőzés**

Bizonyos erős immunrendszerrel rendelkező macskák esetében a vírus osztódását megállítja a humorális és celluláris immunválasz, ezek az állatok nem válnak viraemiássá, mivel képesek a vírus gp70 glikoproteinje ellen vírusneutralizáló antitestek termelésére. Ezek az ellenanyagok a colostrum útján tovább adhatóak a kölyköknek is (4, 8). Ezen állatok vizsgálata során az ellenanyag-kimutatáson kívül az összes diagnosztikai teszt eredménye negatív. Ez azt jelenti, hogy sem FeLV-antigén, sem pedig DNS-provírus nem jelenik meg a vérükben (1, 3). Az abortív fertőzöttség kialakulásának oka valószínűleg az alacsony fertőző

vírus koncentráció. Ez a jellegű immunitás nem terjed ki az állat egész életére, így ezen állatok vírusürítő macskával való együtt tartása a későbbiekben esetleg viraemiát idézhet elő (1).

- **Fokális/atipikus fertőzés**

Az atipikus fertőzés ritka természetes fertőződés esetén. A vírusreplikáció ilyenkor csak bizonyos szövetekre korlátozódik, mint például az emlőmirigy, a lép, a vékonybél, egyes nyirokcsomók. Ez okozhatja a p27 antigén időszakos, illetve alacsonyabb szintű jelenlétét, így a tesztek gyenge pozitivitását, valamint negatív és pozitív eredmények váltakozását egy állat többszöri tesztelése esetén. Az anyaállatok, amelyek emlőmirigyében a vírus jelen van, negatív teszt eredmény mellett is képesek a tej útján utódaiknak átadni a vírust (16, 37).

4.5. Klinikai tünetek

A FeLV-fertőzés klinikai tünetei nem specifikusak, nagyban függenek a vírus, illetve a gazda tulajdonságaitól (1).

4.5.1. Daganatok

A FeLV genomja a gazdasejt genomjába olvad, közel a sejtoncogénhez (*myc*), ezzel annak aktiválódását és túlműködését okozza (1, 33). Ezek a hatások a sejt kontrollálhatatlan osztódásához, tumorképződéshez vezetnek (4, 16).

- **Lymphoma és leukaemia**

A leggyakoribb FeLV okozta elváltozások a haematopoieticus sejt eredetű daganatok, azok közül is a lymphoma. A FeLV-asszociált lymphomák döntően T-sejt eredetűek (4, 18, 38).

Mediastinalis vagy *thymus eredetű* lymphoma gyakran társul FeLV-fertőzéshez, főleg 3 év alatti macskákban. Döntően T-sejtes formájú. (2) A tumor a thymus környékéről ered, és mellkasi folyadékgyülem felhalmozódásával járhat. A folyadék magvassejtszáma gyakran 8000/μl-nél is nagyobb, a többségük nagy, éretlen lymphocytá (17). A leggyakoribb tünet a dyspnoe, de néha a nyomásfokozódás miatt nyelőcsői regurgitáció, vagy a sympaticus ideget ért nyomás miatt Horner-szindróma alakul ki (1, 16).

Alimentaris vagy *abdominalis* lymphoma elsődlegesen idősebb macskákban alakul ki. (2) Tünetei: hányás vagy hasmenés, anorexia és súlycsökkenés (1). A tumor a gyomorban és belekben fokálisan vagy diffúzan lehet jelen, valamint általában a mesenterialis nyirokcsomók is érintettek. **(1. ábra)**

1. ábra: FeLV indukálta alimentaris lymphoma

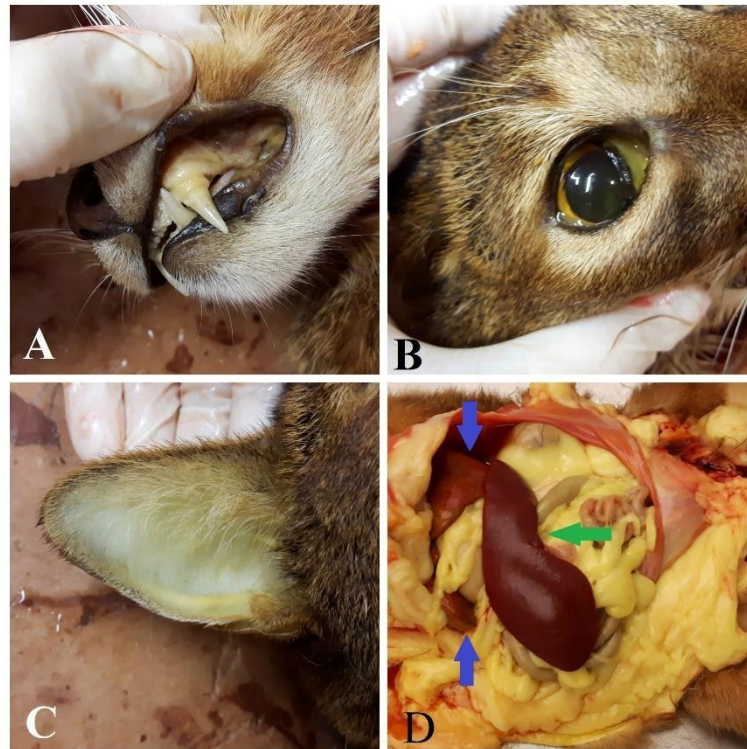


A kórbonctani kép egy FeLV-fertőzött macska lymphoma következtében megvastagodott vékonybél szakaszát mutatja

A *multicentrikus* lymphoma esetében több primer dagantközpont is kialakul. Főként 4 év körüli macskákban jelentkezik (2). Ez esetben a csontvelő körülbelül 70% is érintett, annak ellenére, hogy a teljes vérsejtszám (complete blood count, CBC) nem mutat eltérést (1, 4).

A *leukaemia* leggyakrabban a lymphoid sejteket érinti, bár kiterjedhet más véralkotókra is (16). Heveny leukaemia vagy MDS (myelodysplasiás szindróma) esetén a csontvelőben nagy számban van éretlen blastsejt, és a normál vérképzés jelentős zavart szenved (38). Tünetei közé tartozik az anaemia okozta fáradtság, szepszis jelei neutropeniával, valamint vérzések a thrombocytopenia miatt. Májmegnagyobbodás, icterus és lépmegenagyobbodás is gyakran kimutatható az extramedulláris vérképzés miatt (**2. ábra**). A diagnózis csontvelő-biopsziával és vérlabor-vizsgálattal történik (1, 2).

2. ábra: Hepatomegalia, splenomegalia és icterus FeLV fertőzés következményeként



A képeken jól látható a szájnyálkahártya (A), az ínhártya (B) és a fül bőrének (C) sárga elszíneződése (icterus). A D képen kék nyilak jelölik a megnagyobbodott máj lekerekedett széléit, valamint zöld nyíl a megnagyobbodott lépét

- **Fibrosarcoma**

A FeLV indukálta fibrosarcomát valójában a Feline sarcoma virus (FeSV) okozza, ami a FeLV-A a gazdasejt celluláris onkogénjével létrehozott rekombinánsa (3). A FeSV gyorsan átalakuló vírus, ami polyclonalis elváltozásokat okoz multifokális tumorképződéssel, melyek hajlamosak a gyors növekedésre és áttétképződésre. A FeSV kiváltotta fibrosarcoma leggyakrabban fiatal macskákban alakul ki. Nem szabad összetéveszteni az úgynevezett „injection site-associated sarcomával” (ISS), amely kevésbé invazív, és lassabban képez áttétet. Kialakulásának oka a vivőanyagot tartalmazó vakcinák helyén létrejövő granulomatous gyulladás (1, 3).

- **Egyéb daganatos elváltozások**

A bőrön kialakuló kinövések a keratinocyták jóindulatú hyperplasiája következtében jöhetnek létre FeLV-fertőzött macskákban. Ide sorolható még az olfaktórikus neuroblastoma is, amelyet szintén FeLV-pozitív állatokban diagnosztizáltak gyakrabban (3, 45), valamint a multiplex osteochondroma (porcos kinövések a lapos csontokon), amely főként a csigolyákon

alakul ki, ezzel nyomást gyakorolva a környező idegekre (1). Ezen tumorok kórfejlődése még nem teljesen tisztázott.

4.5.2. Hematológiai rendellenességek

Vérképzési zavarok, különösen a cytopéniák hátterében, leggyakrabban csontvelőelégtelenség áll, ami FeLV-fertőzött macskákban nagyon jellemző. Súlyos esetekben a csont teljes belső állománya károsodott. Ilyenkor a diagnózis felállításához nem elegendő a vékonytúaspiráció, hanem csontvelő-biopszia szükséges (1).

A FeLV-fertőzés egyik fő, nem daganatos jellegű következménye az anaemia, aminek több formája is előfordul. A legtöbb FeLV-indukálta anaemia nem regeneratív jellegű a myelosuppressio miatt (**3. ábra**). Kialakulhat másodlagos fertőzés következtében (hemolyticus anaemia), a megjelenő idegen antigének vörösvérsejtekhez való kötődése miatt (immunmediált hemolyticus anaemia), a csontvelő vagy a vérlemezkék működésbeli zavara miatt (vérvesztéses anaemia). Teljes vörösvérsejthiány (pure red cell aplasia, PRCA) általában FeLV-C fertőzéshez társítható. A sejtek felületén megjelenő FeLV-C gátolja az erythroid sejtek differenciálódását (1, 3).

3. ábra: FeLV fertőzés következtében kialakult anaemia



A kórbonctani képen látható a fertőzött egyed kötőhártyájának porcelánfehér színe

Immunmediált thrombocytopenia alakulhat ki a csontvelő szuppressziója vagy leukaemiás beszűrődése miatt. A thrombocytopenia oka a vírus replikációja a vérlemezkékben, amellyel működési rendellenességeket és csökkent élethosszt okoz a sejteknek (1, 16). FeLV

indukálta lymphopenia esetén a sejtekben szaporodó vírus hatására a lymphocyták elpusztulnak. Mikor a vírus daganatkeltő hatása megjelenik az erythrocyták, granulocyták és vérlemezkék előalakjaiban is, myeloproliferatív kórképről beszélünk (1, 38). A myeloblastopenia vagy Feline Panleukopenia-like Syndrome (FPLS), másnéven FeLV-asszociált enteritis (FAE) esetében általában a FeLV-fertőzöttség mellett egyéb vírusos megbetegedés, mint például macska panleukopenia vírus (Feline panleukopenia virus, FPV) is jelen van (46, 47).

4.5.3. Immunszuppresszió

FeLV-vel fertőzött macskák hajlamosabbak a másodlagos megbetegedésekre/fertőzésekre az immunrendszer csökkent működése miatt (ez az immunszuppresszív jelleg erősebb, mint FIV esetén) (3). Ez a kórkép nagyon hasonló az emberi HIV-fertőzés esetén kialakuló másodlagos fertőzésekhez. A pontos mechanizmus, amellyel a vírus károsítja az immunrendszert, nem igazán ismert, mivel a legtöbb állat másként reagál a fertőzésekre. Feltételezik, hogy ezen szuppresszióért a vírus p15e burokfehérjéje felelős, amelyet nagy számban termelnek az elpusztult sejtek, valamint egy patogén altípus, a FeLV-T szerepe is felmerül, ami a T-lymphocytákat támadja meg egy membránreceptor molekula (phosphate transporter protein-1, Pit1) és egy koreceptor fehérje (FeLV infectivity X-essory protein, FeLIX) közreműködésével (3, 4).

Leggyakrabban ezen állatok vérének megnövekedik a tumor nekrozis faktor alfa (TNF- α) tartalma, illetve kevesebb T-helper sejt (CD4+) képződik, ezzel eltolva a CD4/CD8 arányt. A fertőzés kezdeti stádiumában a cytotoxikus T-sejt (CD8+) szám is csökkenhet, de ez idővel rendeződik (4). Annak ellenére, hogy a jelenlévő T-sejtek meglehetősen kevesebb B-sejt stimuláló faktort termelnek, mint az egészséges macskákban, a B-sejt-aktivitás FeLV-fertőzött macskákban csupán enyhén károsodott (1, 4).

4.5.4. Immunmediált kórképek

Mivel a krónikusan fertőzött állatokban a B-sejtek működése és az ellenanyagtermelés viszonylag normális, nagy mennyiségben termelődnek ellenanyagok a vírus ellen is. Ezek az ellenanyagok a virionokkal vagy oldható fehérjékkel kombinálódva immunkomplexeket képeznek (1, 4). Az immunkomplekképződés és -lerakódás miatt glomerulonephritis, polyarthrititis és uveitis alakulhat ki (39). Ezen felül a virális antigének képesek a vörösvérsejtek megkötésére is, ezzel immunhaemolyticus anaemiát okozva (4).

4.5.5. Egyéb szindrómák

FeLV-fertőzött nőtény macskák tovább tudják adni a vírust transzplacentárisan is. Ez leggyakrabban a magzatok felszívódásához, újszülöttkori elhullásához vezet (1). A neutropeniás állatokban kialakulhat bakteriális méhgyulladás is (3).

Azok a kölykök, amelyek fertőzött anyától születnek, nem csak transzplacentárisan vannak kitéve a fertőzésnek, ez bekövetkezhet a születés során, illetve a gondozáskor is. Ezek az állatok rendszerint életük első két hetében elpusztulnak kiszáradás, kihűlés, thymussorvadás következtében. Ez az úgynevezett „fading kitten syndrome” (40).

A legtöbb idegrendszeri tünetet FeLV-fertőzöttség esetén a lymphoma és annak agy- és gerincvelőbe való beszűrődése okozza. A morfológiai elváltozások nélkül létrejövő neuropathia oka a FeLV kiváltotta neurotoxicitás (31, 43). Tünetei: ataxia, anisocoria, mydriasis, nystagmus, hyperaesthesia, paresis, centrális eredetű vakság, Horner-szindróma, inkontinencia (43). Kórszövettanilag a fehérállomány degenerációja, az axonok duzzadása az agy- és a gerincvelőben, a myelinhüvelyek kitágulása figyelhető meg. Immunhisztokémiai vizsgálatok során látható a p27 antigén jelenléte az ideg-, endothel- és gliasejtekben (3). A vírus glikoproteinjei feltehetőleg képesek a sejten belüli szabad kalciumion-tartalom megnövelésére, ezzel az emberi HIV-fertőzéshez hasonlóan neuronelhalást idézve elő (1, 31).

A fertőzött macskák hajlamosabbak bakteriális, vírusos, gombás és parazitás megbetegedésekre, illetve ezek kezelése is nehezebb az esetükben. Közvetetten néhány más betegség kialakulását is befolyásolja a FeLV. Ilyen például számos gyulladással és degeneratív elváltozással járó májbetegség, májlipidosis, az immunszuppresszió miatt csökkent ellenállóképességű nyálkahártyák és a bőr elváltozásai. A sérülések sokkal nehezebben gyógyulnak, így fokozottan ki vannak téve a fertőzéseknek (1, 11, 16).

4.6. Diagnózis

A FeLV-fertőzöttség kórjelzése általában a p27 antigén kimutatásával történik (23). Az egyik legkézenfekvőbb teszt erre a rendelőben egy csepp vérből is elvégezhető rapid immunomigráción alapuló gyorseszteszt elvégzése (SNAP FIV/FeLV Combo® [IDEXX], Witness FeLV/FIV® [Zoetis], Anigen Rapid FIV/FeLV® [Bionote]) (19, 20, 21). Ennek előnye, hogy így a maternális immunitás, valamint a védőoltás nem befolyásolják a vizsgálat eredményét, hiszen antigén-kimutatás történik (1). Hátrányai között szerepel viszont, hogy csak a viraemiás állapotban lévő macskákat tudjuk kiszűrni (19, 23). A fertőzött macskák diagnosztizálása a legfontosabb szempontok között szerepel a FeLV terjedésének megakadályozásában. A

klinikumban az ELISA-alapú (enzyme linked immunosorbent assay) módszerek alkalmazása ajánlott. Kétféle ELISA-teszt típus van forgalomban: a több minta vizsgálatára alkalmas polisztirollemezen végezhető, ún. *microwell-technikán* alapuló tesztek sorozatvizsgálatokra, és az ún. *migrációs tesztek*, amelyek egyedi vizsgálatokra (monotesztek) alkalmasak (2). A módosított ELISA-teszt során egy kis edény aljára (microwell) adszorbeált, tormaperoxidázzal jelzett specifikus ellenanyagok a mintában lévő p27 antigént megkötik. Ha az antigén-ellenanyag komplexképződés végbe ment, színreakciót látunk. Vér, plazma vagy szérum vizsgálata során a pozitív eredmény az állat viraemiás állapotát jelenti. Ezek a tesztek már a korai időszakban, akár egy héttel a fertőzés után, még a csontvelő érintettsége előtt pozitivitást mutatnak. A teljes vérből végzett vizsgálatok esetében a fals pozitív eredmény a hemolízis miatt gyakoribb. Így a fals eredmények elkerülése érdekében a standard ELISA tesztekét célszerű vérplazmából vagy szérumból elvégezni (4, 16). Fals pozitív eredményt adhatnak azok a tesztek is, amelyek egérből származó reagenseket használnak. Ennek oka, hogy a macskák 1–2%-nak szervezetében úgynevezett „anti-egér antitestek” lehetnek jelen, amelyek reagálva az egér sejtekből származó egyes fehérjékkel, befolyásolhatják a vizsgálat eredményét (1, 2). A legújabb tesztek a probléma kiküszöbölésére kontroll lépéseket tartalmaznak (1). A vizsgálatok elvégezhetőek nyál- vagy könnymintából is, de ezekben az esetekben jóval nagyobb a technikai fals eredmény esélye (20, 22, 24).

A szabad antigén immunfluoreszcens direkt vizsgálatát vér, illetve csontvelő kenetek felhasználásával végzik. Lényege, hogy a kenetben a fertőzött thrombocytákból és fehérvérsejtekből FeLV eredetű (sejtasszociált p27) antigént vagy FOCMA-t (feline oncornavirus-associated cell membrane antigen) mutatnak ki (2). Elvégzéshez speciális feldolgozás és fluoreszcens mikroszkóp szükséges, illetve csak az arra kvalifikált laboratóriumok végezhetik. Ezen vizsgálat legkorábban a csontvelő fertőződése után (legalább 3 hét viraemia) mutat pozitivitást (pedig az állat már fertőzőképes más macskákra nézve), így szűrővizsgálatként nem ajánlott (1).

A FeLV fertőzöttség felderítésében a legérzékenyebb diagnosztikai eljárás a PCR (polimeráz láncreakció), mellyel a vírus egyes nukleinsavszekvenciáit mutatjuk ki (provirális [sejt asszociált] DNS, vagy virális RNS). Megbízhatósága miatt gyakran alkalmazzák a nem egyértelmű teszteredmények értelmezésében és felülvizsgálatában (19, 26). A vizsgált minta lehet vér, szövet, vagy akár csontvelő (regresszív fertőzés esetén ez a legjobb) is (1, 28). A PCR *in vitro* nukleinsav amplifikálás. Az amplikonok vizuális megjelenítése agarózgél elektroforézissel történik (3, 26). A PCR technikát az „Anyag és módszertan” fejezetben tárgyalom részletesebben.

A *vírusizolálás* klinikumban való használata nem praktikus, mivel bonyolult és időigényes eljárás, valamint speciális felszerelést igényel (1, 24).

FeLV hatására termelődött *ellenanyagok vizsgálata* nem gyakori a klinikumban, mivel sok FeLV-re immunizálódott macska rendelkezik antitestekkel, illetve progresszív fertőzöttség esetén sincs kimutatható antitest az állat szervezetében (29). Vakcinázás, regresszív-, vagy abortív fertőzés esetén is termelődnek ellenanyagok, amelyeket a tesztek nem tudnak elkülöníteni egymástól. A fenti okok miatt FeLV fertőzöttség esetén az antitest vizsgálat nem megbízható módszer (1, 23, 24).

4.7. Kezelés

Általános irányelvként elmondható, hogy több macskás háztartások esetén a fertőzött egyedeket izoláltan kell tartani. A vírus ürítése a nyálmirigyen keresztül történik, így akár egymás tisztogatásával, táplálkozás útján (táplálék megosztásával, közös tál használatával), valamint verekedés közben is fertőzheti a többieket (1, 10). A háztartás többi macskáját is le kell tesztelni FeLV-re.

A fertőzött állatot szigorúan lakásban kell tartani (11), ezzel megelőzve más macskákkal való érintkezésüket, valamint így csökkentve a másodlagos fertőzések kialakulásának esélyét. Táplálásuk nagy odafigyelést igényel. Kerülendő a nyers hús, tojás, pasztörizálatlan tej, mivel ezek adása a táplálék eredetű bakteriális és parazitás megbetegedések kockázatát jelentősen növeli (1).

Ájánlott félévente ellátogatni az állatorvoshoz ellenőrző vizsgálatok céljából. Az ivaros macskákat célszerű ivartalanítani ezzel csökkentve az ivarzási időszakban jelentkező stresszt, valamint kóborlási hajlamot. Szükséges az oltások (FPV, FHV [Feline herpesvirus], és FCV [Feline calicivirus]) gyakoribb ismétlése is, mert az immuszuppresszív állapot miatt az állat nem képes adekvát immunválasz kialakítására (1, 10, 11). Élő, attenuált vakcinákkal való oltás veszélyes lehet, mivel a fertőzött macskákban ezek a vakcinák nagy eséllyel visszanyerhetik patogenitásukat (11).

A FeLV-pozitív macskáknál a másodlagos kórképek kezelésekor intenzívebb és hosszabb terápia szükséges. Számos aspektust figyelembe kell vennünk, akár leukaemiákról, akár sarcoma megjelenéséről, anaemiáról vagy neutropeniáról beszélünk, azonban a dolgozat keretei túlmutatnak a gyógykezelés részletes tárgyalásán, így erre csak igen röviden térünk ki.

4.8. Megelőzés

4.8.1. A fertőzés megelőzése

A FeLV a progresszív fertőzött macskák testváladékaival ürül (legnagyobb mennyiségben a nyállal). Ezeket az állatokat el kell különíteni a többi macskától és azok környezetétől. Az állatkórházakban a FeLV-ürítő macskák lehetnek egy teremben a többivel, de szigorúan külön ketrecben tartva, nagy elővigyázatossággal. A vírus nagyon érzékeny, a környezetben csupán percekig marad fertőzőképes, valamint minden fertőtlenítő szer (a szappant is beleértve) képes inaktiválni, így a kórházon belüli terjedése a megfelelő higiéniaszabályok betartásával megakadályozható (44). A fogászati és sebészeti kellékek, endotrachealis tubusok és egyéb műszerek kontaminálódhatnak testváladékokkal, így ezek fertőtlenítése, tisztántartása kifejezetten fontos. Minden véradó macskát le kell tesztelni mind FeLV-, mind pedig FIV-fertőzöttségre többek között (4, 44).

4.8.2. Vakcinázás

Az első FeLV elleni vakcinát 1985-ben engedélyezték (1). Azóta ez az eredeti vakcina több módosításon ment keresztül, és több másik termék is megjelent. Három féle vakcina található meg a piacon. Az egyik típus inaktivált teljes vírust tartalmaz általában erős adjuvánssal. Egy másik típus FeLV-vel perzisztensen fertőzött sejtvonalból készített felülúszót tartalmaz, melyben megtalálhatóak a vírus főbb fehérjéi. A harmadik vakcinatípus canarypox eredetű rekombináns vakcina, mely nem igényel adjuvánst (4, 7, 30). Az ajánlott alkalmazás 2 dózis bőr alá adva a kezdeti védettség eléréséhez (2–3 hét időközzel), majd évente vagy 3 évente emlékeztető oltás (ez a vakcina típusától függ) (8, 9). Nem minden macska reagál egyformán, azok például, amelyek immunszuppresszáltak, sok esetben nem tudnak megfelelő immunitást kialakítani az oltás után. Így például FIV-pozitív státuszú állatokban a vakcina nem véd megfelelően a FeLV fertőzéstől. Az oltások hatásosságával kapcsolatos információk meglehetősen ellentmondásosak (5, 7).

- **Injection site-associated sarcoma**

Bizonyított összefüggés van a FeLV elleni vivóanyagot tartalmazó vakcina (ugyanígy a veszettség elleni oltás is) és később, az oltás helyén jelentkező lágyszöveti sarcoma kialakulása között (1, 18). Jellegét tekintve túlnyomó többségben fibrosarcoma képződik, de a leírásokban előfordultak már kevésbé differenciált sarcoma, rhabdomyosarcoma, chondrosarcoma, osteosarcoma típusok is. A tumor a szúrás helyén kialakuló granulomatosus gyulladásból

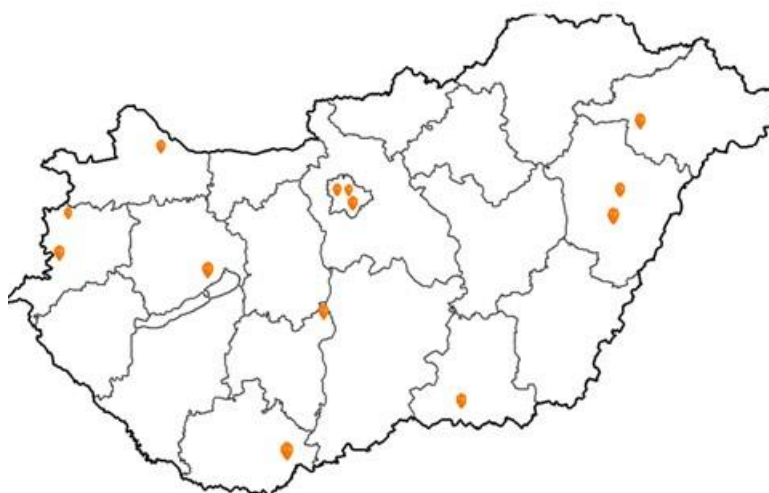
fejlődik ki (18). Minden csomót, ami 3 hónapnál tovább jelen van az oltás helyén, nagy kimetszési széllel el kell távolítani, valamint szövettanilag megvizsgálni. Az AAFP (American Association of Feline Practitioners) kidolgozott egy módszert e vakcinák biztonságosabb és felügyelhetőbb alkalmazására. A FeLV elleni oltás helye a bal hátulsó láb distalis vége, míg a veszettség elleni a jobb hátulsó láb distalis vége („left for leukemia, right for rabies”). Ez a megoldás nagy segítséget nyújt az esetlegesen kialakuló daganatos elváltozás gyógyításában. Ez általában a végtag amputációját jelenti, mivel ez a fajta daganat könnyen recidiválhat. További ajánlás az oltás helyére (a nehezen műthető nyak-válltájék elkerülésére) a test oldala vagy a farok, szintén a könnyebb plasztikai vagy amputációs lehetőségek miatt (1, 18).

5. Anyag és módszer

5.1. Mintagyűjtés

Kutatásunk során a mintavételre 13 klinikát jelöltünk ki az ország egész területéről. A közreműködő rendelőket és állatorvosokat tájékoztattuk arról, hogy munkánk célja Magyarország FeLV-fertőzöttségének felmérése és annak vizsgálata, hogy mennyire megbízható a klinikumban használt gyors tesztek diagnosztikai célú alkalmazása. Erre a célra megkértük őket, hogy teszteljék le tüneteket nem mutató, fizikálisan egészségesnek mondható, valamint a FeLV-fertőzésre gyanús tüneteket mutató állatot rapid immunomigráción alapuló gyors teszttel (WITNESS® FeLV-FIV, Zoetis), majd küldjék be az ezen állatokból vett EDTA-val (etilén-diamin-tetraecetsav) alvadásban gátolt vérmintát a Patológiai Tanszékre, ahol a mintákat PCR-módszerrel is vizsgáltuk. A vizsgálat elvégzését egy általunk küldött kérdőív kitöltéséhez kötöttük, melyben az állat főbb adataira (név, kor, ivar, születési év, ivartalanítási státusz, kórelőzmény, tünetek), illetve vakcinázási státuszára voltunk kíváncsiak. Felhívásunkra 184 db vérminta érkezett az ország különböző területeiről. A minták országos eloszlása az alábbi ábrán látható (4. ábra).

4. ábra: Mintagyűjtési pontok Magyarországon



A felhívásunkra az ország különböző pontjairól érkezett 184 minta gyűjtőpontjainak eloszlása Magyarországon

5.2. Witness-gyorsteszt

A kolorimetriás ELISA-alapú diagnosztikai módszerek a legelterjedtebbek, de a szabad antigének vizsgálata (free antigen, FA test) is máig használatos a klinikumban. Mindkét tesztípus a FeLV p27 magfehérjéjét ismeri fel, ami minden fertőzött állatban nagyszámban megtalálható. Az ELISA-tesztek nagyobb érzékenységgel rendelkeznek, és kevesebb szabad oldható FeLV p27 antigén elég a szérumból vagy plazmából a kimutathatósághoz (24, 27). Hogy eldönthessük, progresszív vagy regresszív fertőzöttségről van szó, 6 héttel az utolsó pozitív eredményű teszt után újra kell vizsgálni az állatot. Ha akkor is pozitív, akkor 10 hét elteltével egy újabb vérvizsgálat szükséges (1). Ha az állat vértesztje ilyenkor is pozitív, akkor progresszív fertőzöttségről beszélünk, és a FeLV-vizsgálat eredménye a macska élete végéig pozitív lesz.

A Witness gyorsteszt a FeLV p27 antigén vérből való kimutatására alkalmas. A vizsgálat során a gyártó utasításai szerint egy csepp alvadásban gátolt vért használunk, amelyet a tesztcsíkra cseppentünk. Ezek után két csepp puffert (antigén-specifikus ellenanyag) teszünk rá, majd várunk 10 percet. Pozitív eredmény esetén két piros csík látható a teszten. Az egyik csík jelzi, ha a mintában FeLV antigének vannak jelen, amelyek kapcsolódva az ellenanyaggal, majd rátapadva az aljzatra, színreakciót adnak. A kontroll csík mindig látható, ez jelzi, hogy a teszt megfelelően működik. Ha ez a csík nem jelenik meg, akkor értékelhetetlennek kell nyilvánítani a tesztet, és meg kell ismételni azt.

5.3. PCR

A külső klinikákról beérkezett mintákat klasszikus end-point RT-PCR (reverz transzkripciós polimeráz láncreakció) vizsgálatnak vetettük alá. A tanszékre való beérkezés időpontjáig a minták tárolása hűtőben (+4°C) vagy mélyhűtőben (-20°C) történt.

A PCR-vizsgálat során a mintából a FeLV-re jellemző nukleinsav-szekvenciát mutatjuk ki. Ennek első lépése a mintából a nukleinsav kivonása. A nukleinsav extrakciót QiaCube (Qiagen®) automatával végeztük a gyártó utasításai szerint QiAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen®) reagensekkel. Ennek során a vérmintához AVL puffer kerül, 10 perces inkubációval ezáltal a sejtes alkotóelemek szétesnek, feltárjuk a sejteket. 96%-os etil-alkohol hozzáadásával a sejtmembránok további roncsolása történik, ami által a sejtmagból kiszabaduló nukleinsavat speciális szeparáló oszlop szilika membránjára tudjuk kötni. A mosási fázis során AW1 és AW2 mosóoldatokkal tisztítjuk a membránhoz kötött nukleinsavat, végül egy elúciós puffer

hozzáadásával a nukleinsavat egy eppendorfcsőbe oldjuk. Ezt a nukleinsavat tartalmazó elegyet felhasználásig -80°C -on tároljuk.

Ezután a kivont nukleinsavval való reakcióelegy készítése következik, amelyhez One Step RT-PCR Kitet (Qiagen[®]) alkalmazunk. Az elegy tartalmaz DNáz (deoxiribonukleáz) és RNáz (ribonukleáz) mentes tisztított vizet, $5\times$ puffert, dNTP-t (deoxinukleotid), RNázinhibítort, polimeráz enzim mixet, a forward és reverse primereket, valamint $1,5\ \mu\text{l}$ -t a templátunkból. A végtérfogat $10,5\ \mu\text{l}$ egy-egy reakcióelegy esetén. A folyamat egy, a primerek által meghatározott, többlépcsős protokoll alapján zajlik ezután, amelyet Thermal Cycler (Tianlong[®]) PCR-automatában futtattunk. A kezdeti szakaszban történik a reverz transzkripció (50°C 30 perc, 94°C 3 perc), amit a keletkezett DNS szálhoz való új, komplementer szál képzése követ 45 cikluson át (95°C 15 sec, 60°C 1 perc, 72°C 1 perc). A végső láncépítés 72°C -on 10 percig történik. A ciklusok ismétlésével az elongáció során (ez esetben 45 ciklus) $n \times x^{2a}$ számú DNS másolatot kapunk (n = kezdeti DNS templátok száma, a = ciklusok száma). Így kis mennyiségű minta esetén is biztos eredményhez juthatunk. Az általunk használt primerek: forward $5'$ AACAGCAGAAGTTTCAAGGCC $3'$ és reverse $5'$ TTATAGCAGAAAGCGCGCG $3'$ (51).

Ezek a primerek a FeLV genom LTR szakaszának U3 régióján tapadnak, és diagnosztikai primerként használhatók, mert a három leggyakoribb altípus (FeLV-A, FeLV-B és FeLV-C) genomján tapadnak.

A kontamináció elkerülése érdekében az egyes munkafázisokat külön helyiségben végeztük, és a minták csak egy irányba mozoghattak ezen helyiségek között.

A PCR-reakciók végeztével az amplikonok láthatóvá tétele agarózgél elektroforézissel történt. Ehhez készítettünk $100\ \text{ml}$ végtérfogatú $1,5\%$ -os agarózgél nukleinsav festékkel (GR Green nucleic acid stain) keverve, amelyet a futtatókádban hagyunk megszilárdulni, benne az ún. fésűvel, ami a későbbi „zsebeket” alakítja ki. A futtatáshoz a szilárd géltre 1% -os TBE puffert (Tris-borát-EDTA) öntünk. Az amplikonokból $7,5\ \mu\text{l}$ mennyiséget pipettával kimérve elkeverünk $1,5\ \mu\text{l}$ festékkel (6X Orange DNA Loading Dye), majd ezt az elegyet pipetázzuk a kialakított zsebekbe. Az elektroforézist Package of ME15-7-10-15 and Mini-300 horizontális futtatórendszerben $140\ \text{V}$ feszültség mellett végeztük 50 percen át. Eredményként a 150 bázispár (bp) hosszúságú amplikon válik láthatóvá pozitív minta esetén. A fotodokumentációt Gel documentation system VWR[®] Basic rendszerrel végeztük.

5.4. Statisztikai módszerek

Az eredmények statisztikai elemzése R 3. 3. 2. szoftverrel történt.

A kutatás során az ország különböző pontjairól érkező minták vizsgálati eredményei alapján meghatározható a FeLV magyarországi prevalenciája. Ezeket az értékeket a RoganGladen formulával becsültük (48), a szereplő konfidencia intervallumokat a Blaker-Reiczigel módszerrel (49) számoltuk ki. Az egyes megyékre lebontott elterjedtséget a nem egyforma mintaszám eloszlás miatt nem érdemes jelenleg meghatározni, de a későbbi tervezett mintavételek során erre is lesz lehetőség.

A pozitív és negatív prediktív értékek is kiszámíthatók a gyűjtött adatokból, ezeket az R 3.3.2. statisztikai szoftver `epiR` csomagjának `epi.nomogram` eljárásával készítettük.

Kiszámítható az egyes diagnosztikai módszerek egymáshoz viszonyított érzékenysége és fajlagossága is. Érzékenység (relatív szenzitivitás): a Witness-teszt pozitivitásának valószínűsége, ha a PCR-teszt pozitív. Képlettel $P(\text{Witness}+|\text{PCR}+)$. Fajlagosság (relatív specificitás): a Witness-teszt negativitásának valószínűsége, ha a PCR-negatív. Képlettel: $P(\text{Witness}-|\text{PCR}-)$. A konfidenciaintervallumok az egzakt binomiális próbára épülő ún. Clopper-Pearson módszerrel készültek.

Azt, hogy a tesztek pozitivitásának esélyét módosítja-e a macskák kora, ivara, vagy egyéb változó, logisztikus regresszióval vizsgáltuk, a számításokat az R 3.3.2 statisztikai szoftver `stats` csomagjának `glm` eljárásával végeztük.

6. Eredmények

A tanszékre beérkezett vérminták már a mintavétel helyszínén meg lettek vizsgálva rapid immunomigráción alapuló gyorseszttel (WITNESS® FeLV-FIV, Zoetis), így mi ezt a diagnosztikai eljárást már nem ismételtük meg, pusztán az eredményeket hasonlítottuk össze az általunk végzett PCR-módszerrel.

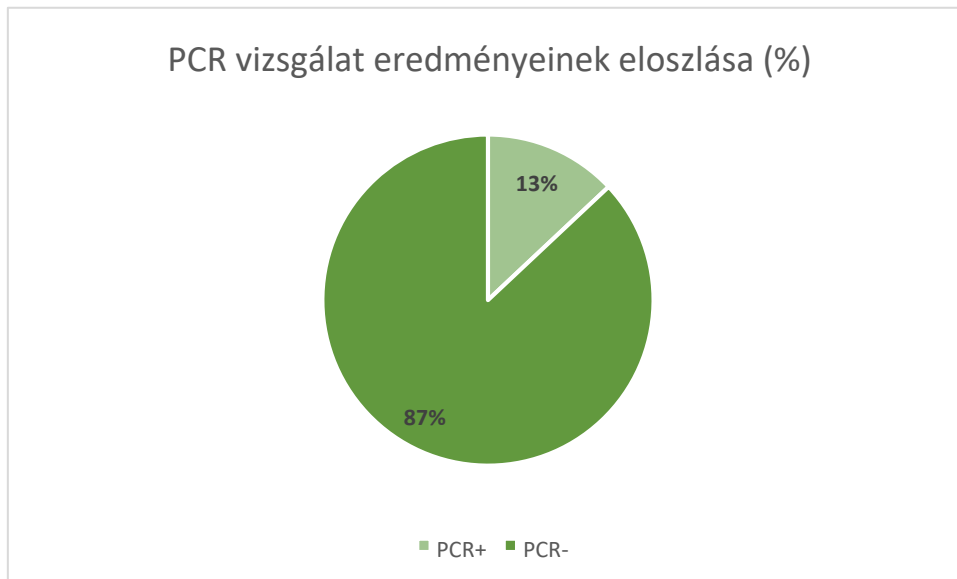
A minták Witness-gyorseszttel való vizsgálata során a 184 mintából 24 vérminta lett pozitív eredményű, 160 negatív (**5. ábra**).

5. ábra: A Witness-gyorseszt eredményeinek százalékos eloszlása



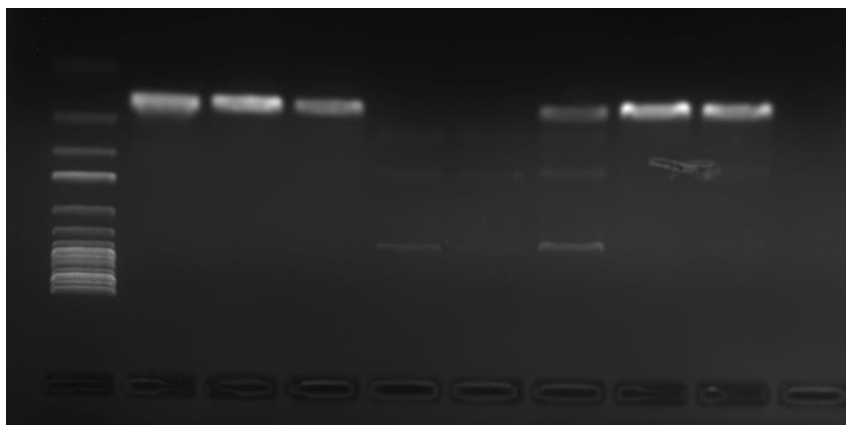
Az általunk végzett RT-PCR vizsgálattal a 184 mintából 24 lett pozitív, 160 pedig negatív FeLV-fertőzésre (**6. ábra**).

6. ábra: PCR vizsgálat eredménye 184 db mintából



Alább az egyik agarózgél elektroforézis futtatás eredménye látható (7. ábra).

7. ábra: Agarózgél elektroforézis eredménye



Balra a molekulatömeg-marker látható, ettől jobbra a 3 db pozitív minta, 2 db negatív minta, 1 db kétes és 1 db pozitív minta, majd a pozitív kontroll és a negatív kontroll. Az általunk vizsgált szekvencia 150 bp hosszúságú

A statisztikai számítások során kapott adatokat a vírus valódi prevalenciájára, a tesztek pozitív és negatív prediktív értékeire a **2. táblázat** tartalmazza. A Witness-gyorstesztrel a valódi prevalencia 9,0% lett, PCR vizsgálattal 8,2%. A gyorsteszt pozitív prediktív értéke 72,4%, negatív prediktív értéke 99,3%, ugyanezek a PCR-módszernél 68,2% és 99,6%.

2. táblázat: A FeLV valódi prevalenciája az egyes vizsgálati módszerek szerint

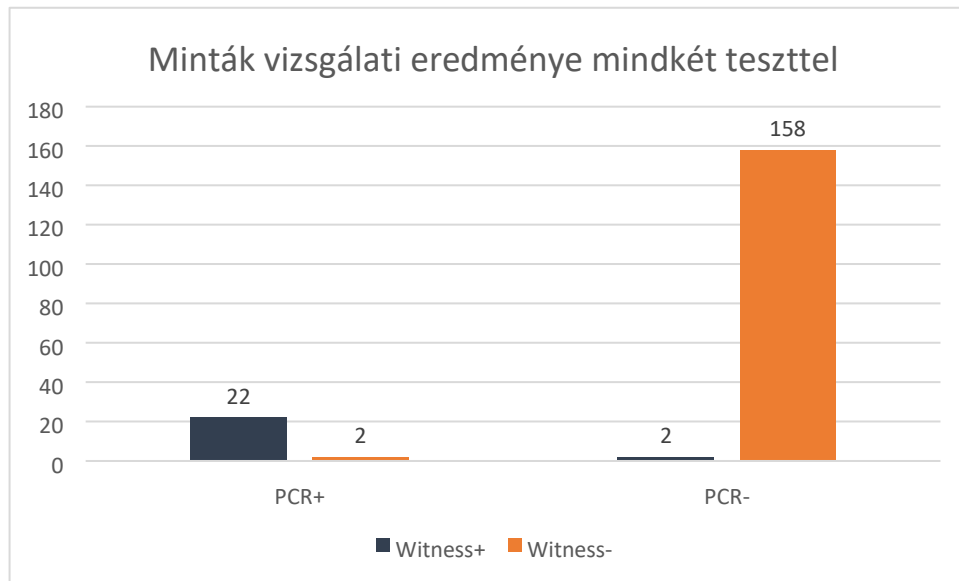
	Szenz.	Spec.	tp	PPV	NPV
PCR FeLV	96,0*	96,0*	8,2 (4,0;13,8)	68,2 (50,3;79,3)	99,6 (99,3;99,8)
Witness FeLV	92,9	96,5	9,0 (4,7;14,7)	72,4 (56,8;82,1)	99,3 (98,7;99,6)

Szenz.=szenzitivitás, Spec.=specifititás, tp.=valódi prevalencia, PPV= pozitív prediktív érték, NPV=negatív prediktív érték Zárójelben a 95%-os konfidencia intervallumok láthatók.

* A PCR szenzitivitását és specifititását az általunk használt diagnosztikai primerekkel még nem vizsgálták kísérletben, így a szakirodalomban fellelhető adatok alapján becsültük ezeket az értékeket (50). A Witness-tesztnél írt értékek kísérletben bizonyított, a gyártó által megadott adatok.

A 184 vérminta közül mind Witness-gyorstesztel, mind pedig PCR-vizsgálattal 22 db bizonyult egyértelműen pozitívnak, valamint mindkét diagnosztikai módszer esetén 2–2 az egyikkel pozitív, a másikkal negatív eredményű lett (**8. ábra**). 72 tünetmentes állatból 4 macska tesztje lett FeLV+, míg 112 tüneteket mutató állatból vett minta esetében 20 db lett pozitív a vírusra (ebből 6 db lett mind FeLV-re, mind pedig FIV-re is pozitív párhuzamos vizsgálatunk alapján).

8. ábra: A két vizsgálati módszer által kapott eredmények összehasonlítása



A 184 vizsgált minta eredményeinek összehasonlítása, megoszlása PCR és Witness diagnosztikai módszerek alkalmazásával

A tesztek vizsgálata során az egymáshoz viszonyított érzékenység 0.92 (0.73, 0.99) és a fajlagosság 0.99 (0.96, 1.00), ahol zárójelben a 95%-os konfidencia intervallumokat jelöltük. Ezek kiszámításához a **3. táblázat** adatait használtuk.

3. táblázat: A Witness-teszt PCR-hez viszonyított érzékenysége (relative sensitivity) és fajlagossága (relative specificity)

	PCR+	PCR-	Összes
Witness+	22	2	24
Witness-	2	158	160
Összes	24	160	180

Vizsgálatunk céljai között szerepelt annak a kérdésnek a megválaszolása, hogy összefüggésbe hozható-e a vizsgálat pozitív eredménye egyes változókkal (kor, ivar, tartási körülmény, oltási státusz). Az általunk vizsgált 184 állat kor, tartási körülmény, ivar és vakcinázási státusz szerinti megoszlását a **4. táblázat** foglalja össze.

4. táblázat: A 184 vizsgált állat eloszlása kor, ivar, tartási körülmény és oltási státusz alapján

		Összes (184db)	Witness+ (24db)	PCR+ (24db)
Kor	>3 év	88	13	13
	<3 év	96	11	11
Tartás	benti	41	2	3
	kinti-benti	75	10	10
	kinti	68	12	11
Ivar	F +	48	6	6
	F -	33	4	3
	M +	73	9	10
	M -	30	5	5
Vakcinázás	igen	66	5	5
	nem	118	19	19

F+: ivaros nőstény, F-: ivartalanított nőstény, M+: ivaros kandúr, M-: ivartalanított kandúr

A tesztek pozitivitása és az egyes változók között kutatásunk során nem találtunk szignifikáns ($p < 0,05$) kapcsolatot logisztikus regresszió alkalmazásával, bár megfigyelhető az a tendencia, hogy a kandúrok, illetve a 3 évnél idősebb macskák nagyobb eséllyel fertőzöttek.

7. Megbeszélés

Jelenleg a házimacskák többsége inkább társállatként, szinte családtagként szerepel életünkben. Ezzel megnövekedett az igény betegségeik kivizsgálására, kezelésére és legfőképpen ezek megelőzésére. Elkezdődtek a macskák fertőző betegségeivel foglalkozó kutatások, illetve kialakítottak egy, a macskák számára is ajánlott (bár törvényileg nem kötelező) vakcinázási protokollt.

A macska leukemiavírusa világszerte széles körben elterjedt kórokozó. Nagy arányban fertőz házi és vadon élő macskákat, és okozza megbetegedésüket, majd a fertőzöttség következtében fellépő elváltozások, másodlagos kórképek kialakításával elhullásukat. A vírus terjedési módjának következtében a vírusürítő állatok könnyen és gyorsan adhatják tovább a vírust az arra kompetens társaiknak. Megelőzésében nagy szerepet játszik a kóbor állatok számának csökkentése, valamint a kedvencként tartott macskák rendszeres vakcinázása, szűrése. Mivel a vírus zsíroldékony burokkal rendelkezik, és ezért érzékeny a fertőtlenítő szerekre, szappanra, hőre és a szárazságra, a FeLV a környezetben meglehetősen gyorsan inaktiválódik. Terjedésének megakadályozásában a fent említett, az állatokat érintő módszereken kívül, a környezet (főleg a rendelők, kórházak) tisztántartására is nagy hangsúlyt kell fektetni. Korábban a kevésbé rendelkezésre álló, illetve nem megbízható diagnosztikai módszerek miatt a fertőzés felderítése és vizsgálata akadályozott volt.

Vizsgálatunk során arra fektettük a hangsúlyt, hogy az európai adatokkal összevetve megvizsgáljuk a betegség magyarországi elterjedtségét. Ezen felül az ország különböző pontjairól begyűjtött vérminták segítségével összehasonlítottuk a megbízható PCR technológia eredményeit a helyszínen alkalmazható, azonnali eredményt adó Witness gyorseszttel. Az általunk kapott valódi prevalencia értékek (9,0% és 8,2% a kétféle módszer esetén) illeszkednek azokhoz az adatokhoz, amiket a tőlünk nyugatabbra lévő országokban (pl. Németország, Ausztria, USA) mértek: az eredmények 1,0–15,6% között oszlanak meg (3). További szakirodalmi adatok egyes mediterrán országokból (pl. Spanyolország, Olaszország) akár 30%-os előfordulást is említenek (1), de itt fontos megjegyezni, hogy ezekben az országokban jelentősen magasabb a kóbormacska-populáció, és ezt a populációt be is vonták a vizsgálatokba. A mi felmérésünkben kizártuk a kóbor állatokat, hogy az adatokat jobban lehessen értelmezni, és a praktizálók számára relevánsabb eredményt tehesünk közzé. A későbbiekben tervezünk egy csak kóbor állatok bevonásával járó vizsgálatot is hasonló kísérleti felépítéssel.

Eredményeink alapján jól látható, hogy a FeLV magyarországi prevalenciája kicsit nagyobb a környező országokénál, ahol általában 2–3% előfordulást mértek. Ennek hátterében több magyarázat is húzódhat: egyrészt hazánkban a tapasztalatok alapján még kevésbé terjedt el az állatorvosi és tulajdonosi körben a szűrési lehetőség (ennek sokszor anyagi vonzatát jelölik meg eltántorító tényezőként), mint a tőlünk nyugatabbra fekvő országokban, másrészt felmerülhet az ún. „false-positive paradox” jelenség is. Ennek lényege, hogy ha egy vizsgált populációban elég alacsony egy vírus előfordulásának prevalenciája, akkor megnő az alkalmazott diagnosztikai tesztek eredményei közt a fals-pozitív aránya, nehezebb lesz kiszűrni a valóban fertőzött egyedeket. Ezt a jelenséget többek között azzal próbáltuk kiküszöbölni, hogy nem csak egy, hanem két vizsgálati módszert is alkalmaztunk, a kapott eredményeket összevetettük.

Az egyes változók hatásának vizsgálata során statisztikailag ugyan nem kaptunk szignifikáns eredményt, de a logisztikus regresszióval látható tendenciák így is jól mutatják a szakirodalomban korábban már leírt jellemzőket (1): nagyobb eséllyel látunk pozitív teszteredményt (akár ELISA-alapú vizsgálatról, akár PCR-módszerről beszélünk) idősebb, kandúr macskák vizsgálatánál. Ennek magyarázata a vírus terjedési mechanizmusában keresendő: legnagyobb koncentrációban viraemia során a nyálban található, fertőzni közvetlen érintkezés (pl. harapás, karmolás, kölcsönös tisztálkodás) útján képes, erre pedig legnagyobb esély a kandúrok kóborló, sokszor agresszív territóriális viselkedése során van. Alacsonyabb százalékos adatokat kapunk, ha többségében szigorúan lakásban tartott egyedeket vizsgálunk.

A macskák társállatként való tartásának elterjedésével egy időben megnövekedett a kisállatokkal foglalkozó állatorvosok szerepe és felelőssége is. Kutatásunkkal ezen állatorvosok munkáját próbáljuk segíteni, illetve felhívni a figyelmet arra, hogy hazánkban is fontos a házimacskák szűrése, vakcinázása, egészségügyi státuszának rendszeres ellenőrzése. Eredményeink segítséget nyújthatnak a praktizáló állatorvosoknak abban, hogy bátran ajánlják az elérhető gyorsteszteket a tulajdonosoknak, illetve ismerjék az alkalmazható vizsgálatok előnyeit, indikációit és korlátait. Az ún. „in-clinic” gyorstesztek előnye, hogy szűrés során igen megbízhatóak, nem túl költségesek, azonnali eredményt adnak. Amennyiben kétség merül fel a gyorstesztek eredménye kapcsán, nem megállapítható a fertőzöttségi státusz, akkor javasolható a PCR vizsgálat elvégzése. A vizsgálatok időbeni elhelyezését, a kapott eredmények értelmezését segíti a korábban már említett AAFP szűrési protokoll javaslata.

Fontos kihangsúlyozni, hogy a FeLV fertőzés önmagában véve semmiképp sem tekinthető eutanázia indikációnak, hacsak az állat általános állapota, tüneteinek súlyossága ezt nem teszi szükségesszerűvé. Nem szabad elfelejteni a fertőzés jelentette immunkompromittált állapot okozta nehézségeket sem: az egyes betegségek hosszabb kezelést igényelhetnek, csak a legvégső esetben adható glükokortikoid, illetve a vakcinázásoknál sem lehet figyelmen kívül hagyni mindezt.

Célunk, hogy kiemeljük a szűrés fontosságát, növeljük a populáció átoltottságát, és csökkentjük Magyarországon a FeLV incidenciáját.

8. Összefoglalás

A Feline Leukemia Virus (FeLV) egy, a *Retroviridae* család *Orthoretrovirinae* alcsaládjába tartozó γ -retrovírus, amely macskaféléket betegít meg. Világszerte elterjedt a házi, illetve vadon élő macskák körében, korábban a macskák elhullásának egyik legnagyobb jelentőséggel bíró fertőzése volt. Mára ez a szám, a megfelelő szűrési és vakcinázási protokollnak köszönhetően csökkent. A vírus elterjedtsége a Feline immunodeficiency virustól (FIV) eltérően a különböző országokat tekintve csaknem azonos (1–8%).

A FeLV egy exogén kórokozó, ami több szövetben is képes replikálódni, és mind proliferatív, mind pedig degeneratív elváltozásokat előidézni. Fehérjemagja egy burokkal védett pozitív irányultságú szimplaszálú RNS-t (+ssRNS) tartalmaz. Ha a vér- és immunsejtek fertőződnek, a vírus eliminációja lehetetlenné válik a szervezet számára. A FeLV számos altípusát ismerjük, amelyek a gazdasejt típusa alapján lettek meghatározva. A három legfontosabb altípus a FeLV-A, FeLV-B és FeLV-C, amelyek immunológiailag mind közel állnak egymáshoz. Csak a FeLV-A képes a természetben horizontálisan, macskáról macskára terjedni. Fontos még a vertikális fertőződés, mely során az anyaállat transzplacentárisan, vagy később a gondozás során (tisztogatás, szoptatás) fertőzi utódjait.

Vizsgálatunk célja az volt, hogy felmérjük Magyarország macskapopulációjának FeLV fertőzöttségét, illetve megvizsgáljuk a klinikumban is használatos diagnosztikai tesztek használhatóságát. Erre a célra 184 vérmintát (EDTA-s alvadásában gátolt vér) gyűjtöttünk az ország különböző pontjairól házimacskáktól. Vizsgálatunk kiterjedt ezenkívül arra, hogy a pozitív eredménnyel rendelkező állatok esetében van-e jelentősége egyes változóknak, például tartási körülmények, ivar, kor.

Eredményeink alapján elmondható, hogy a 184 vérmintából 24 lett pozitív ELISA gyorseszttel (Witness FIV-FeLV, Zoetis®), 24 lett pozitív klasszikus end-point polimeráz láncreakcióval (PCR). A statisztikai számításokat R szoftverrel végeztük, amely szerint a vírus valódi prevalenciája 9,0% a Witness teszttel, 8,2% PCR vizsgálattal. Az ivar (kandúrok körében magasabb a fertőzöttségi arány) és az életkor (3 éves kor felett magasabb a fertőzöttségi arány) változók esetében statisztikailag szignifikáns összefüggést nem találtunk a változó és a tesztek pozitív eredménye között, de a tendencia megfigyelhető, ahogy azt több más szakirodalom is lejegyzí.

A nyugati országok adataival összevetve eredményeink felhívják a figyelmet arra, hogy fokozottabban kellene foglalkoznunk a prevencióval, vakcinázással, valamint a már fertőzött állatok ellátásával.

9. Summary: Retroviral (FeLV) infection of domestic cats in Hungary

Feline leukemia virus (FeLV) is a member of the family *Retroviridae*, subfamily *Orthoretrovirinae*. This γ -retrovirus infects feline species. It occurs worldwide and was the main cause of death of domestic cats formerly. Nowadays, due to the proper screening and vaccination protocols, this number has decreased. The prevalence of the virus is almost the same in every countries (1–8%) unlike prevalence of Feline immunodeficiency virus (FIV). FeLV is an exogen pathogen that replicates in many types of tissues, and causes both proliferative and degenerative changes. It contains a protein core with positive-sense singlestranded RNA (+ssRNA), protected by an envelope. If FeLV spreads to the bone marrow and infects hematopoietic precursor cells, the elimination of the virus become impossible for the immune system. FeLV has several subtypes, that are mainly defined by host cell spectrum. The three most important subtypes are FeLV-A, FeLV-B and FeLV-C, all immunologically closely related. Only FeLV-A is passed horizontally. Vertical infection can occur transplacentally or when the queen licks and nurses the kittens.

The purpose of our research was to assess FeLV-infected cat population in Hungary and to examine the utility of diagnostic tests used in clinics. We collected 184 EDTAanticoagulated blood samples from cats in different parts of the country. Above this, we examined if there was any singificant correlation between the positivity of tests and some variables (eg. holding, gender, age).

Regarding to our results, 24 specimens were positive to FeLV with ELISA in-clinic test (Witness FIV-FeLV, Zoetis[®]), 24 specimens were positive with classic end-point polimerase chain reaction (PCR). Statistic analysis has been carried out with R software. The true prevalence of FeLV was 9,0% with Witnesss test and 8,2% with PCR. Correspondence between positivity and some variables was analyzed with logistic regression ($p < 0,05$): a higher tendency of infection can be seen in case of male cats and cats with more than 3 years of age, but the results are not significant.

Our results emphasise the importance of screening and monitoring retroviral infections, also the need of keeping the appropriate vaccination guidelines.

10. Irodalomjegyzék

1. HARTMANN, K., 2013.: Feline Leukemia Virus Infection In: Greene, C. E.: *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. St Louis, Missouri, Elsevier. 11. pp. 108-135.
2. ALBERT, M., FODOR, L., GAÁL, T., KISS, G., KÓTAI, I., KULCSÁR, M., MAGDUS, M., NAGY, P., RIBICZEY, PÉTERNÉ, RUSVAI, M., SOÓS, P., SRÉTER, T., SZÁSZ, F., SZILÁGYI, A., VAJDOVICH, P., 1999.: Klinikai Mikrobiológia: *Állatorvosi klinikai laboratóriumi diagnosztika*. Budapest, Sík Kiadó. pp. 322-325.
3. SZILASI, A., DÉNES, L., BALKÁ, GY. 2017.: A macskák retrovírus-fertőzései: Feline Leukemia Virus (FeLV) Irodalmi áttekintés. *Magyar Állatorvosok Lapja.*, közlésre elfogadva
4. TIZARD, R. I., 2013.: Retrovirus Infections in Cats in: *Veterinary Immunology*, St Louis, Missouri, Elsevier. 38. pp. 454-456.
5. Leucogen INN-FeLV. [pdf] URL:https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2015/20151127133563/anx_133563_hu.pdf Megtekintve: 2017.09.10.
6. Leucofeligen FeLV/RCP. [pdf] URL:http://www.ema.europa.eu/docs/hu_HU/document_library/EPAR_Product_Information/veterinary/000143/WC500063754.pdf Megtekintve: 2017.09.10.
7. Purevax RCPCh FeLV [pdf] URL:http://www.rhonevet.hu/uploadedfiles/customitem_98_Purevax%20RCPCh%20FeLV.pdf Megtekintve: 2017.09.10.
8. WILSON, S., SAUNDERS, G., STOEVA, M., LUDLOW, D., VON REITZENSTEIN, M., STURE, G., SALT, J., THOMPSON, J., 2014.: Co-administration of an adjuvanted FeLV vaccine together with a multivalent feline vaccine to cats is protective against virulent challenge with feline leukaemia virus, calicivirus, herpes virus and panleukopenia virus. *Trials in Vaccinology*, 3. 26-32.
9. PATEL, M., CARRITT, K., LANE, J., JAYAPPA, H., STAHL, M., BOURGEOIS, M., 2015.: Comparative Efficacy of Feline Leukemia Virus (FeLV) Inactivated Whole-Virus Vaccine and Canarypox Virus-Vectored Vaccine during Virulent FeLV Challenge and Immunosuppression. *Clinical and Vaccine Immunology*, 22. 7. 798-805.
10. HARTMANN, K., 2015.: Efficacy of antiviral chemotherapy for retrovirus-infected cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 2015. 17. 925–939.
11. HARTMAN, K., 2017.: Regressive and progressive feline leukemia virus infections – clinical relevance and implications for prevention and treatment. *Thai Journal of Veterinary Medicine*, 47. 109-112.

12. CHALHOUB, S., LANGSTON, C.E., AND FARRELLY, J., 2012.: The Use of Darbepoetin to Stimulate Erythropoiesis in Anemia of Chronic Kidney Disease in Cats: 25 Cases. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 26. 363–369.
13. DE MARI, K., MAYNARD, L., SANQUER, A., LEBREUX, B., AND EUN, H. M., 2004.: Therapeutic Effects of Recombinant Feline Interferon- ν on Feline Leukemia Virus (FeLV)-Infected and FeLV/Feline Immunodeficiency Virus (FIV)-Coinfected Symptomatic Cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 18. 477–482.
14. EURÓPAI NYILVÁNOS ÉRTÉKELŐ JELENTÉS (EPAR)., Virbagen Omega. EPAR összefoglaló a nyilvánosság számára., European Medicines Agency. *Veterinary Medicines*, EMEA/V/C/061.
15. LIMMER, S., EBERLE, N., NERSCHBACH, V., NOLTE, I. AND BETZ, D., 2014.: Treatment of feline lymphoma using a 12-week, maintenance-free combination chemotherapy protocol in 26 cats. *Veterinary and Comparative Oncology*, 14. 1. 21–30.
16. PEDERSEN, N. C., 1987.: Feline Leukemia Virus In: Appel, M. J.: *Virus infections of carnivores*. New York, Elsevier. 30. pp. 299-320.
17. SANTAGOSTINO, S. F., MORTELLARO, C. M., BORACCHI, P., AVALLONE, G., CANIATTI, M., FORLANI, A. AND ROCCABIANCA, P., 2015.: Feline Upper Respiratory Tract Lymphoma: Site, Cyto-histology, Phenotype, FeLV Expression, and Prognosis. *Veterinary Pathology*, 52 (2). 250-259.
18. ROCCABIANCA, P., AVALLONE, G., RODRIGUEZ, A., CRIPPA, L., LEPRI, E., GIUDICE, C., CANIATTI, M., MOORE, P. F. AND AFFOLTER, V. K., 2016.: Cutaneous Lymphoma at Injection Sites: Pathological, Immunophenotypical, and Molecular Characterization in 17 Cats. *Veterinary Pathology*, 53 (4). 823-832.
19. SAND, C., ENGLERT, T., EGBERINK, H., LUTZ, H., HARTMANN, K., 2010.: Evaluation of a new in-clinic test system to detect feline immunodeficiency virus and feline leukemia virus infection. *Veterinary Clinical Pathology*, 39/2. 210–214.
20. LIU, J., O’CONNOR, T., BEALL, M., CHANDRASHEKAR, R. AND LAPPIN, M., 2016.: Evaluation of rapid diagnostic test kits for feline leukemia virus infection using samples from naturally infected cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports*, 2 (2). 1-4.
21. L FIRTH, C. AND MÖSTL, K., 2015.: A survey of feline leukaemia virus antigenaemia among cats in eastern Austria: a retrospective analysis of serum samples routinely tested between 1996 and 2011. *Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports*, 1(2). 1-7.

22. BOESCH, A., CATTORI A, V., RIOND, B., WILLI, B., MELI, M. L., RENTSCH, K. M., HOSIE, M. J., HOFMANN-LEHMANN, R., LUTZ, H., 2015.: Evaluation of the effect of short-term treatment with the integrase inhibitor raltegravir (IsentressTM) on the course of progressive feline leukemia virus infection. *Veterinary Microbiology*, 175. 167–178.
23. BANDE, F., ARSHAD, S. S., HASSAN, L. AND ZAKARIA, Z., 2014.: Molecular Detection, Phylogenetic Analysis, and Identification of Transcription Motifs in Feline Leukemia Virus from Naturally Infected Cats in Malaysia. *Veterinary Medicine International*, 760961.
24. WESTMAN, M. E., 2016.: Diagnosis of FeLV infection in the domestic cat using blood and saliva. In: *Epidemiology and diagnosis of feline retroviruses (FIV and FeLV) in Australia and a trial of FIV vaccine effectiveness in the field*. Sydney, The University of Sydney. 7. pp 170-196.
25. DE LA CRUZ-HERNÁNDEZ, N. I., MERINO-CHARRES, J. O., SALINASNAVARRETE, E. M., MONREAL GARCIA, A. E., MARTINEZ BURNES, J., RANGEL LUCIO, J. A., VENEGAS-BARRERA, C., 2016.: Amyloidosis associated with feline leukemia virus in a white bengal tiger (*Panthera tigris tigris*). *Thai Journal of Veterinary Medicine*, 46 (4). 679-683.
26. WILKES, R. P., ANIS, E., DUNBAR, D., A LEE, P., TSAI, Y., LEE, F., G CHANG, H., T WANG, H. AND GRAHAM, E. M., 2017.: Rapid and sensitive insulated isothermal PCR for point-of-need feline leukaemia virus detection. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 6. 1-7.
27. WESTMAN, M. E., MALIK, R., HALLA, E., SHEEHY, P. A., NORRISA, J. M., 2017.: Comparison of three feline leukaemia virus (FeLV) point-of-care antigen test kits using blood and saliva. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 50. 88– 96.
28. GALDO NOVO, S., BUCAFUSCO, D., DIAZ, L. M., BRATANICH, A. C., 2016.: Viral diagnostic criteria for *Feline immunodeficiency virus* and *Feline leukemia virus* infections in domestic cats from Buenos Aires, Argentina. *Revista Argentina Microbiologia*, 48 (4). 293-297.
29. BOENZLI, E., HADORN, M., HARTNACK, S., HUDER, J., HOFMANN-LEHMANN, R., LUTZ, H., 2014.: Detection of Antibodies to the Feline Leukemia Virus (FeLV) Transmembrane Protein p15E: an Alternative Approach for Serological FeLV Detection Based on Antibodies to p15E. *Journal of Clinical Microbiology*, 52. 6. 2046-252.
30. GROSENBAUGH, D. A., FRANCES-DUVERT, V., ABEDI, S., FEILMEIER, B., RU, H., POULET, H., 2017.: Efficacy of a nonadjuvanted recombinant FeLV vaccine and two inactivated FeLV vaccines when subject to consistent virulent FeLV challenge conditions. *Biologicals*, 49. 76-80.

31. FAILS, A.D. – MITCHELL, T.W. ET AL., 1997.: An oligopeptide of the feline leukemia virus envelope glycoprotein is associated with morphological changes and calcium dysregulation in neuronal growth cones. *Journal of Neurovirology*, 3. 179-191.
32. HOOVER EA, MULLINS JI., 1991.: Feline leukemia virus infection and disease. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 15. 199(10). 1287-97.
33. FUJINO, Y., OHNO, K. ET AL., 2008.: Molecular pathogenesis of feline leukemia virus-induced malignancies: Insertional mutagenesis. *Veterinary Immunology Immunopathology*, 123. 138-143.
34. GOLDKAMP, C.E., LEVY, J.K. ET AL., 2008.: Seroprevalences of feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus in cats with abscesses or bite wounds and rate of veterinarian compliance with current guidelines for retrovirus testing. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 232. 1152.
35. GOMES-KELLER, M.A. – GÖNCZI, E. ET AL., 2006.: Detection of feline leukemia virus RNA in saliva from naturally infected cats and correlation of PCR results with those of current diagnostic methods. *Journal of Clinical Microbiology*, 44. 916.
36. HARDY, W.D. JR., 1981.: Hematopoietic tumors of cats. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 17. 921-940.
37. HAYES, K.A., ROJKO, J.L. ET AL., 1989.: Atypical localised viral expression in a cat with feline leukaemia. *Veterinary Record*, 124. 344.
38. KISELOW, M.A., RASSNICK, K.M. ET AL., 2008.: Outcome of cats with low-grade lymphocytic lymphoma: 41 cases (1995-2005). *Journal of American Veterinary Medical Association*, 232. 405.
39. KOHN, B., WEINGART, C. ET AL., 2006.: Primary immune-mediated hemolytic anemia in 19 cats: diagnosis, therapy, and outcome (1998-2004). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 20. 159.
40. LEVY, J.K., 2000.: FeLV and non-neoplastic FeLV-related disease. In: ETTINGER, S.J. FELDMAN, E.C. (eds): *Textbook of veterinary internal medicine*. WB Saunders, Philadelphia. 424-432.
41. LUACES, I., DOMÉNECH, A. ET AL., 2008.: Detection of feline leukemia virus in the endangered Iberian lynx (*Lynx pardinus*). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 20. 381.
42. LUTZ, H., ADDIE, D. ET AL., 2009.: Feline leukaemia. ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11. 565.

43. MITCHELL, T.W., ROJKO, J.L. ET AL., 1997.: FeLV envelope protein (gp70) variable region 5 causes alterations in calcium homeostasis and toxicity of neurons. *Journal of Acquired Immune Deficiency. Syndromes and Human Retrovirology*, 14. 307-320.
44. NESINA, S., HELFER-HUNGERBUEHLER, K. ET. AL., 2015.: Retroviral DNA—the silent winner: blood transfusion containing latent feline leukemia provirus causes infection and disease in naïve recipient cats. *Retrovirology*, 12. 105.
45. SCHRENZEL, M.D., HIGGINS, R.J. ET AL., 1990.: Type C retroviral expression in spontaneous feline olfactory neuroblastomas. *Acta Neuropathologica*, 80. 547-553.
46. HARTMANN, K.: Clinical aspects of feline retroviruses., 2012.: A Review. *Viruses*, 4. 2684-2710.
47. LUTZ, H. – CASTELLI, I. ET AL, 1995.: Panleukopenia-like syndrome of FeLV caused by co-infection with FeLV and feline panleukopenia virus. *Veterinary Immunology Immunopathology*, 46. 21-33.
48. ROGAN, W.J., GLADEN, B., 1978.: Estimating prevalence from the results of a screening test. *American Journal of Epidemiology*, 107. 71–76.
49. REICZIGEL, J., FÖLDI, J., ÓZSVÁRI, L., 2010.: Exact confidence limits for prevalence of a disease with an imperfect diagnostic test. *Epidemiology and Infection*, 138. 1674–1678.
50. WESTMAN ME, ET AL, 2016.: Diagnosing feline immunodeficiency virus (FIV) infection in FIV-vaccinated and FIV-unvaccinated cats using saliva. *Comp. Immunol. Microbiology and Infectious Disesease*, 46. 66-72.
51. TANDON, R. ET AL, 2005.: Quantitation of feline leukaemia virus viral and proviral loads by TaqMan[®] real-time polymerase chain reaction. *Journal of Virological Methods*, 130. 124-132.

11. Köszönetnyilvánítás

Köszönöm a külső klinikáknak, állatorvosoknak, akik a kutatásunk során felkérésünknek eleget téve, a megfelelő mennyiségű és minőségű minta beküldésével segítették munkánkat.

Köszönöm a Zoetis Hungary Kft.-nek és Varga Zsoltnak a technikai és anyagi hozzájárulást kutatásunkhoz.

Nagyon köszönöm Dénes Lillának és Dr. Balka Gyula egyetemi docensnek odaadó, fáradtságos munkáját, akik vizsgálatunk technikai háttérnek megvalósulásában voltak segítségünkre, valamint tudásukkal hozzájárultak dolgozatom végleges formájának kialakításához.

Köszönet illeti Dr. Reiczigel Jenő egyetemi tanárt, az MTA doktorát, a Biomatematikai és Számítástechnikai Tanszék tanszékvezetőjét és Dr. Lang Zsolt, a Biomatematikai és Számítástechnikai Tanszék tudományos fő munkatársát, akik kutatásunk statisztikai vizsgálatához nyújtottak segítséget.

Köszönöm Dr. Jerzsele Ákos egyetemi docensnek a közreműködését abban, hogy dolgozatom elérje végső formáját.

Legnagyobb köszönet témavezetőmnek, Dr. Szilasi Anna klinikai állatorvos, PhD hallgatónak a támogatásért, kitartó munkáért és a rengeteg segítségért, amit tőle kaptam.

4. melléklet Konzulensi ellenjegyzés

Alulírott Dr. Szilasi Anna Igazolom, hogy

..... Dorosi Anna (a hallgató neve)

A házimacskák retrovirális (Feline Leukemia Virus, FELV) fertőzése Magyarországon
című diplomamunkát ismerem, azt beadásra és védésre alkalmasnak tartom.

Budapest, 2018. 11. 15.

Dr. Szilasi Anna



a témavezető neve és aláírása

Patológiai Tanszék

tanszék

5. melléklet Nyilatkozat TDK- és diplomamunka azonosságáról

NYILATKOZAT

Alulírott Borsodi Anna..... nyilatkozom, hogy diplomamunkám,
melynek címe A házimacska retroszíves (Feline Leukemia Virus,
FeLV) fertőzése Magyarországon.....
tartalmi és formai szempontból teljes mértékben megegyezik azonos című, a 2017
évi TDK konferencián szerepelt dolgozatommal.

Budapest, 2018. 11. 20......

Borsodi Anna
.....

a hallgató neve és aláírása

HuVetA
ELHELYEZÉSI MEGÁLLAPODÁS ÉS SZERZŐI JOGI NYILATKOZAT*

Név: Borsodi Anna
Elérhetőség (e-mail cím): borsodianna93@gmail.com
A feltöltendő mű címe: A köznevelési reformok (Felné Kertész Erzsébet, FELV) bevezése Magyarországon
A mű megjelenési adatai: 2014
Az átadott fájlok száma: 1

Jelen megállapodás elfogadásával a szerző, illetve a szerzői jogok tulajdonosa nem kizárólagos jogot biztosít a HuVetA számára, hogy archiválja (a tartalom megváltoztatása nélkül, a megőrzés és a hozzáférhetőség biztosításának érdekében) és másolásvédelemmel PDF formára konvertálja és szolgáltatassa a fenti dokumentumot (beleértve annak kivonatát is).

Beleegyezik, hogy a HuVetA egynél több (csak a HuVetA adminisztrátorai számára hozzáférhető) másolatot tároljon az Ön által átadott dokumentumból kizárólag biztonsági, visszaállítási és megőrzési célból.

Kijelenti, hogy az átadott dokumentum az Ön műve, és/vagy jogosult biztosítani a megállapodásban foglalt rendelkezéseket arra vonatkozóan. Kijelenti továbbá, hogy a mű eredeti és legjobb tudomása szerint nem sérti vele senki más szerzői jogát. Amennyiben a mű tartalmaz olyan anyagot, melyre nézve nem Ön birtokolja a szerzői jogokat, fel kell tüntetnie, hogy korlátlan engedélyt kapott a szerzői jog tulajdonosától arra, hogy engedélyezhesse a jelen megállapodásban szereplő jogokat, és a harmadik személy által birtokolt anyagrészt mellett egyértelműen fel van tüntetve az eredeti szerző neve a művön belül.

A szerzői jogok tulajdonosa a hozzáférés körét az alábbiakban határozza meg (egyetlen, a megfelelő négyzetben elhelyezett x jellel):

- engedélyezi, hogy a HuVetA-ban -ban tárolt művek korlátlanul hozzáférhetővé váljanak a világhálón,
- az Állatorvostudományi Egyetem belső hálózatára (IP címekre) korlátozza a feltöltött dokumentum(ok) elérését,
- a Könyvtárban található, dedikált elérést biztosító számítógépre korlátozza a feltöltött dokumentum(ok) elérését,
- csak a dokumentum bibliográfiai adatainak és tartalmi kivonatának feltöltéséhez járul hozzá (korlátlan hozzáféréssel),

Kérjük, nyilatkozzon a négyzetben elhelyezett jellel a helyben használatról is:

Engedélyezem a dokumentum(ok) nyomtatott változatának helyben olvasását a könyvtárban.

Amennyiben a feltöltés alapját olyan mű képezi, melyet valamely cég vagy szervezet támogatott illetve szponzorált, kijelenti, hogy jogosult egyetérteni jelen megállapodással a műre vonatkozóan.

A HuVetA üzemeltetői a szerző, illetve a jogokat gyakorló személyek és szervezetek irányában nem vállalnak semmilyen felelősséget annak jogi orvoslására, ha valamely felhasználó a HuVetA-ban engedéllyel elhelyezett anyaggal törvénytörtő módon visszaélne.

Budapest, 2018 év¹¹.....hó²⁰.....nap

Borostyán Anna

aláírás

szerző/a szerzői jog tulajdonosa

A HuVetAMagyar Állatorvos-tudományi Archívum – Hungarian Veterinary Archive az Állatorvostudományi Egyetem Hutjra Ferenc Könyvtár, Levéltár és Múzeum által működtetett egyetemi és szakterületi online adattár, melynek célja, hogy a magyar állatorvos-tudomány és -történet dokumentumait, tudásvagyonát elektronikus formában összegyűjtse, rendszerezze, megőrizze, kereshetővé és hozzáférhetővé tegye, szolgáltassa, a hatályos jogi szabályozások figyelembe vételével.

A HuVetA a korszerű informatikai lehetőségek felhasználásával biztosítja a könnyű, (internetes keresőgépekkel is működő) kereshetőséget és lehetőség szerint a teljes szöveg azonnali elérését. Célja ezek révén

- *a magyar állatorvos-tudomány hazai és nemzetközi ismertségének növelése;*
- *a magyar állatorvosok publikációira történő hivatkozások számának, és ezen keresztül a hazai állatorvosi folyóiratok impakt faktorának növelése;*
- *az Állatorvostudományi Egyetem és az együttműködő partnerek tudásvagyonának koncentrált megjelenítése révén az intézmények és a hazai állatorvos-tudomány tekintélyének és versenyképességének növelése;*
- *a szakmai kapcsolatok és együttműködés elősegítése,*
- *a nyílt hozzáférés támogatása.*