

Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei

**MACSKA-RETROVÍRUSOK HAZAI ELŐFORDULÁSÁNAK FELMÉRÉSE
MOLEKULÁRIS BIOLÓGIAI MÓDSZEREKKEL, EGYES VÍRUSOK GENETIKAI
VIZSGÁLATA**

Dr. Szilasi Anna

Témavezető: Dr. Balka Gyula



ÁLLATORVOSTUDOMÁNYI EGYETEM

Állatorvostudományi Doktori Iskola

Budapest, 2021

Állatorvostudományi Egyetem

Állatorvostudományi Doktori Iskola

Témavezető:

.....

Dr. Balka Gyula

Állatorvostudományi Egyetem

Patológiai Tanszék

Készült 8 példányban. Ez a(z) számú példány.

.....

Dr. Szilasi Anna

Tartalomjegyzék

1.	A kutatás jelentősége és a kitűzött célok	3
2.	Összefoglalás.....	4
3.	Új tudományos eredmények	6
4.	Publikációk	7
	A disszertáció alapjául szolgáló tudományos közlemények.....	7

1. A kutatás jelentősége és a kitűzött célok

Magyarországon eddig nem zajlott átfogó molekuláris epidemiológiai kutatás a két vírus járványtani és genetikai tulajdonságait vizsgálva, csak kisebb, helyi felmérések készültek, vagy ugyan szélesebb körű, de nagyon régen folytatott szerológiai vizsgálati adataink vannak. Elsődlegesen ezt a hiányosságot szerettük volna pótolni ennek a PhD-kutatásnak a keretein belül.

Célunk az volt, hogy egy országos mintagyűjtést követően a vérmintákat többféle vizsgálati módszernek vessük alá (így biztosítva a mért adatok minél nagyobb pontosságát), majd a kapott eredmények statisztikai elemzése és az ezekből számított FeLV és FIV prevalenciaadatok meghatározása után elvégezzük a kimutatott FIV-törzsek részleges szekvenciavizsgálatát és filogenetikai jellemzését. FeLV esetében ilyen vizsgálatokat ritkán végeznek, hiszen a vírusnak csak az A-altípusa terjed a macskák között, a többi altípus endogén mutáció vagy rekombináció eredményként jön létre a fertőzött állatban, így az egyes altípusok megoszlása nem hordoz filogenetikai többletinformációt.

A FIV-vírus vizsgálatával célunk volt, hogy információt nyerjünk a hazai törzsek eredetéről és rokonsági viszonyairól. További célunk volt, hogy új módszerekkel tegyük láthatóvá a vírusok előfordulását fertőzött macskákból származó szöveteken, ezzel is bővítve a diagnosztikai lehetőségek skáláját.

Az eredeti célkitűzésen felül a kutatás során lehetőségünk adódott írországi vérmintákon is ugyanazt a felmérést elvégezni, amit Magyarországon, így célunkká vált az ottani FeLV és FIV elterjedtséget is felmérni, valamint a FIV-pozitív törzsek részleges szekvenciavizsgálatát elvégezni.

Azért tűztük ki ezeket a célokat, mert a retrovírusok okozta fertőzések napjainkban is nagy veszélyt jelentenek a macskákra. Csak úgy lehet azonban hatékonyan védekezni a megbetegedések ellen, illetve megfelelő tájékoztatást nyújtani a szakmabeli és laikus közösség számára, ha ismerjük a hazai előfordulási adatokat, tartási- és vakcinázási szokásokat, adott esetben a jelen lévő vírus altípusokat.

A következő célunk az, hogy a kutatási eredményeket széles körben ismertessük, ezáltal előmozdítva a FeLV- és FIV-fertőzések visszaszorítását Magyarországon.

2. Összefoglalás

A macskák immundeficiencia-vírusa (FIV) és a macskák leukaemiavírusa (FeLV) két olyan retrovírus, amik világszerte okoznak megbetegedéseket a macskafélék populációiban. Kutatásom célja az volt, hogy adatokat nyerjünk a két vírus magyarországi prevalenciájáról a házi macskák körében, illetve, hogy feltérképezzük az általunk izolált FIV-törzsek genetikai tulajdonságait és rokonsági viszonyait.

Összesen 335 alvadásában gátolt vérmintát gyűjtöttünk tünetmentes, illetve valamilyen betegség tüneteit mutató macskáktól, lefedve az ország összes nagyobb régióját. A mintagyűjtés 2016 és 2018 között zajlott. Menhelyi és kóbor állatok kizárásra kerültek a kutatásból. A két vírus vérben való jelenlétét először helyben, egy ELISA-teszttel vizsgáltuk, majd az Állatorvostudományi Egyetem Patológiai Tanszékén PCR-vizsgálattal is. Ezek után a kapott adatokat statisztikai módszerekkel elemeztük, amely az alábbi eredményeket hozta: hazánkban a kutatásba bevont macskákon elvégzett ELISA-vizsgálatok alapján a FIV valódi prevalenciája 9,89%, a FeLV-é 11,78% volt. A párhuzamosan elvégzett PCR eredményei alapján látszólagos prevalenciaértékeket számoltunk, amelyek FIV esetében 13,13%, FeLV esetében 17,31% volt. Összesen 22 FIV-pozitív mintán tudtuk a polimeráz gén részleges szekvenciáját meghatározni Sanger-módszerrel, és az azt követő filogenetikai vizsgálatok azt bizonyították, hogy Magyarországon a FIV-B altípus terjedt el. A törzsek több monofiletikus csoportot alkottak, amik általában jól mintázták a földrajzi származásukat is. Az átlagos genetikai azonosság a vizsgált szekvenciák között 98,2% volt.

Az eredeti célkitűzésen felül lehetőségünk volt szélesebb körben elvégezni ugyanezeket a vizsgálatokat 2017–2018 között, így Írországból összesen, további 183 alvadásában gátolt vért gyűjtöttük. A feltételek a magyarországi mintavétellel teljes mértékben egyeztek. Itt ELISA-vizsgálattal a látszólagos prevalencia 3,28% volt FeLV és 10,87% FIV esetén, a valódi prevalencia pedig 4,9% FIV esetében (FeLV-nél a valódi prevalencia nem volt mérhető). PCR-vizsgálattal a látszólagos prevalencia FeLV-nél 11,63%, FIV-nél 9,3% volt. A filogenetikai vizsgálatok során összesen 8 FIV-pozitív törzset tudtunk részlegesen megszekvenálni, ezekből 7 tartozott az A altípusba és 1 a B altípusba.

Kutatásunk során vizsgáltuk továbbá a FeLV és FIV szöveti jelenlétét RNAscope *in situ* hibridizációs technikával a Patológiai Tanszékre beérkező hullaanyagokon 2016 és 2020 között. Több esetben sikerült kimutatnunk a kórokozókat az általuk okozott elváltozásban, valamint a lymphoid, csontvelő és egyéb szövetekben. Egy ritka, extranodalis, gerincvelői lymphoma

esetében részletes klinikopatológiai és immunfenotipizálós vizsgálatokat végeztünk, és bizonyítottuk a kórkép hátterében a FeLV-fertőzést. Egy másik, szintén nagyon ritka kórkép, az osteochondromatosis esetében is sikerült igazolni annak FeLV-hátterét.

Vizsgálatainkat úgy tudjuk összefoglalni, hogy ez az első, szisztematikus, Magyarország közelítőleg teljes területére kiterjedő, átfogó vizsgálat a FeLV és FIV prevalenciájának feltárására. Eredményként a környező országokhoz képest kissé magasabb előfordulási gyakoriságot kaptunk, illetve betekintést nyertünk a kimutatott FIV-törzsek filogenetikai tulajdonságaiba.

3. Új tudományos eredmények

1. Elsőként végeztünk reprezentatív FeLV- és FIV-prevalenciavizsgálatokat országos szinten, két vizsgálati módszerrel (ELISA és PCR), nagy mintaszámmal, két országban: Magyarországon és Írországonban.
2. Elsőként határoztuk meg a Magyarországon és Írországonban kimutatott FIV-törzsek részleges genomszekvenciáját, illetve összehasonlító filogenetikai vizsgálatokat végeztünk. Megállapítottuk, hogy hazánkban a B altípus, míg Írországon az A altípus van leginkább jelen.
3. RNAscope *in situ* hibridizációs technikát dolgoztunk ki macska retrovírusok specifikus kimutatására, valamint Magyarországon elsőként írtuk le macska osteochondromatosisát, és mutattuk ki a FeLV jelenlétét a parenchymás szövetekben és daganatsejtekben *in situ* hibridizációval is.

4. Publikációk

A disszertáció alapjául szolgáló tudományos közlemények

- Szilasi A., Balka Gy.: **A macskák retrovírus fertőzései: Feline Immunodeficiency Virus (FIV) Irodalmi áttekintés 1. rész**, Magy. Allatorvosok Lapja, 137. 351-360, 2015.
- Szilasi A., Reinhard, E., Balka Gy.: **A macskák retrovírus fertőzései: Feline Immunodeficiency Virus (FIV) Irodalmi áttekintés 2. rész**, Magy. Allatorvosok Lapja, 137. 729-738, 2015.
- Szilasi A., Dénes, L., Balka, Gy.: **A macskák retrovírus fertőzései: Feline Leukemia Virus (FeLV) Irodalmi áttekintés**, Magy. Allatorvosok Lapja, 140. 457-472, 2018.
- Szilasi A., Dénes, L., Krikó, E., Heenemann, K., Ertl, R., Mándoki, M., Vahlenkamp T. W., Balka, Gy.: **Prevalence of feline immunodeficiency virus and feline leukaemia virus in domestic cats in Hungary**, J. Feline Med. Surg. Open Reports, 5(2). 1-7, 2019.
- Szilasi A., Dénes, L., Jakab, Cs., Erdélyi, I., Resende, T., Vannucci, F., Csomor, J., Mándoki, M., Balka, Gy.: **In situ hybridization of feline leukemia virus in a primary neural B-cell lymphoma**, J. Vet. Diagn., 32(3). 454-457, 2020.
- Szilasi A., Dénes, L., Krikó, E., Murray, C., Mándoki, M., Balka, Gy.: **Prevalence of feline leukaemia virus and feline immunodeficiency virus in domestic cats in Ireland**, Acta Vet. Hung., 68(4). 413-420, 2020.