

Állatorvostudományi Egyetem
Patológiai Tanszék

Macska morbillivírus hazai előfordulásának vizsgálata

Készítette: Nemes Katalin

Témavezető: dr. Szilasi Anna

ÁTE, Patológiai Tanszék, egyetemi tanársegéd

Budapest

2019

Tartalom

1. Bevezetés.....	1
2. Irodalmi áttekintés	3
2.1. Ázsiai felfedezés és előfordulás	3
2.2. Európai előfordulás	7
2.3. Amerikai előfordulás.....	9
2.4. A vírusról	10
2.5. A krónikus vesebetegség	13
2.6. A vese patológiája.....	16
3. Anyag és módszer	19
3.1. Kórszövettan	19
3.2. A PCR vizsgálat	20
4. Eredmények	22
4.1. Kórszövettan	22
4.2. A PCR-vizsgálat.....	28
5. Következtetések	29
Összefoglalás	31
Summary	32
Irodalom	33
Köszönetnyilvánítás	37

Rövidítések jegyzéke

Ab: ellenanyag	PBS: phosphate-buffered saline
AKI: akut vesekárosodás	PCR: polimeráz láncreakció
ALKP: alkalikus-foszfátáz	PDV: phocine distemper virus
ALT: alanin-transzamináz	PKD: polycisztás vesebetegség
ATI: acut tubular injury	PPRV: peste-des-petits-ruminants virus
ATP: adenzin-5'-trifoszfát	PTH: parathyreoid hormon
CDV: kutya szopornyica vírus	RNS: ribonukleinsav
CeDV: Cedar vírus	RPV: rinderpest virus
CeMV: cetacean morbillivirus	RT-PCR: real-time polimeráz
CKD: krónikus vesebetegség	láncreakció
CRFK: Crandell Reese Feline Kidney	SDMA: szimmetrikus dimetilarginin
DNA: dezoxiribonukleinsav	ssRNS: szimpla szálú RNS
EDTA: etilén-diamin-tetraecetsav	TIN: tubulointerstitialis nephritis
FCoV: macska coronavírus	UPC: urine protein:creatinine ratio
FeLV: feline leukemia vírus	
FeMV-GT2: feline morbillivirus	
genotype 2	
FGHV-1: felid gammaherpesvirus 1	
FIP: macskák fertőző peritonitise	
FIV: macskák immunhiányos	
betegségének vírusa	
FmoPV: feline morbillivirus	
GFR: glomerularis filtrációs ráta	
HeV: Hendra vírus	
ICTV: International Committee on	
Taxonomy of Viruses	
IgG: immunoglobulin-G	
IHC: immunhisztokémia	
IRIS: International Renal Interest	
Society	
MeV: measles virus	
NiV: Nipah vírus	

1. Bevezetés

A házimacska (*Felis catus*) vírusos megbetegedései rendkívül gyakoriak és tudományosan jól ismertek, mind virológiai, mind kórélettani szempontból. Ezek a vírusok különböző családokba tartoznak. A fontosabb dezoxiribonukleinsav (DNS) vírusok közül a macska panleukopaeniája a *Parvoviridae*, a macska fertőző rhinotracheitise a *Herpesviridae* családba, míg a ribonukleinsav (RNS) vírusok közül a fertőző peritonitis a *Coronaviridae*, a macska calicivírusos náthája a *Caliciviridae*, a macskaleukózis és a macskák immunhiányos betegsége a *Retroviridae* családba tartozik, a teljesség igénye nélkül. Az elmúlt évtizedben két új vírust is felfedeztek macskákban, amelyek patológiai szerepe ma még tudományos kutatás tárgyát képezi. Ezek a feline morbillivirus (FmoPV) és a felid gammaherpesvirus 1 (FGHV-1). Diplomamunkám a macska morbillivírusával foglalkozik, amely feltételezések szerint tubulointerstitialis nephritist okoz macskákban. A macska morbillivírusa a *Paramyxoviridae* családba, *Orthoparamyxovirinae* alcsaládba, a *Morbillivirus* nemzetségbe tartozik ('International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV)', 2018). A genusba tartozó vírusok több gerinces gazdában kimutatásra kerültek, a törzs nevét adó humán megbetegedést okozó kanyaróvírus, a keleti marhavész és a kiskérődzők pestisének vírusa, valamint a kutya, a foka és a delfin szopornyicája tartozik ide (Varga, Rusvai, & Fodor, 2018).

A paramyxovírusok patológiás veseelváltozásokat okoznak több fajban: emberben, patkányban, denevérben, mókusban (McCallum et al., 2018). Ez idáig macskában nem mutattak ki paramyxovírust, ám 2012-ben Hongkongban kóbor macskákban izolálták a macska morbillivírusát, és összefüggésbe hozták a tubulointerstitialis vesegyulladással és az idiopathikus krónikus vesebetegséggel (Woo et al., 2012). A vírust azóta számos országban kimutatták macskák vizeletéből. Japánban 2014-ben (Furuya et al., 2014), elsőként az európai kontinensen Olaszországban (Lorusso et al., 2015), majd Németországban (Sieg et al., 2015), az Egyesült Államokban (Sharp et al., 2016), Törökországban (Yilmaz et al., 2017), Brazíliában (Darold et al., 2017), Thaiföldön (Sieg et al., 2018), az Egyesült Királyságban (McCallum et al., 2018), továbbá az idei évben Malajziában is (Mohd Isa et al., 2019) izolálták a vírust. A tubulointerstitialis nephritis és a következményes vesefibrosis gyakori szövettani elváltozások az idiopathikus krónikus vesebetegségben (chronic kidney disease, CKD), amely a leggyakrabban diagnosztizált vesét érintő kórkép kutyákban és macskákban egyaránt, valamint az egyik leggyakoribb oka az idős házimacskák veseelégtelenségének, majd elhullásának (Woo et al., 2012).

Kialakulásának pontos etiológiája ismeretlen, így, ha bizonyításra kerülne a macska morbillivírus szerepe a bántalom pathomechanizmusában, az hozzásegíthetné az állatorvosokat a betegség ma még elég korlátozott kezeléséhez és esetleges prevenciójához, pl. vakcinák kifejlesztéséhez.

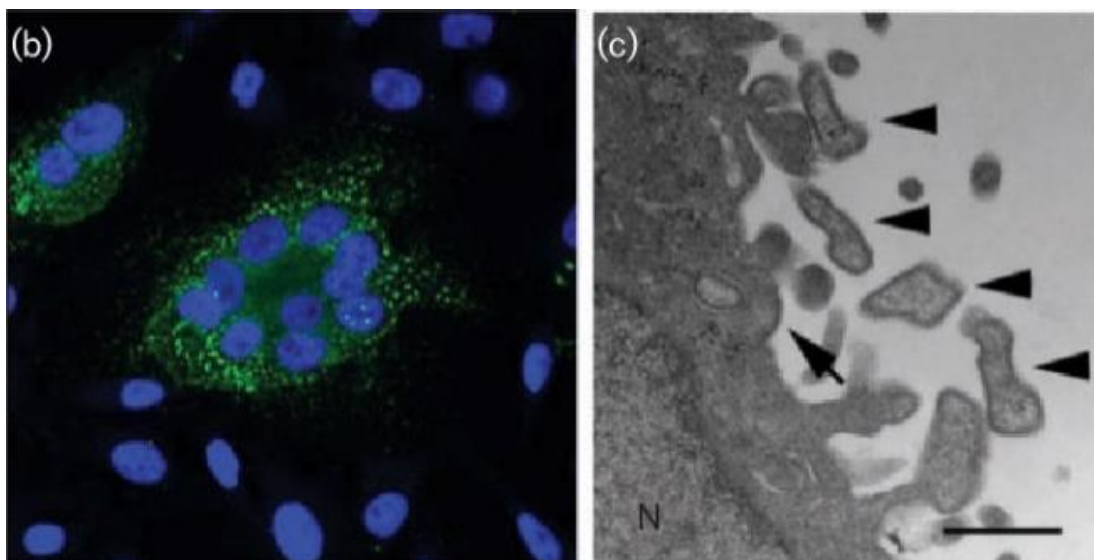
Diplomamunkám kutatási célja elhullott macskák vese- és vizeletmintáiból polimeráz láncreakciós (PCR) vizsgálattal kimutatni a vírus esetleges hazai jelenlétét, illetve megvizsgálni a vesékből készült szövettani metszeteket, és felfedni a lehetséges összefüggéseket a vírus jelenléte és a szövettani elváltozások között.

2. Irodalmi áttekintés

2.1. Ázsiai felfedezés és előfordulás

Először a világon Hongkongban fedezték fel és izolálták a házimacska morbillivírusát 2012-ben, melyre a feline morbillivirus nevet javasolták. Az volt a hipotézisük, hogy hasonlóan a kutyához, léteznek eddig nem felismert morbillivírusok macskában is. Ennek bizonyítására egy molekuláris epidemiológiai vizsgálatot végeztek kóbor macskákon Hongkongban. A vírus RNS-ét 56 macskában sikerült izolálni (n=457) real-time polimeráz láncreakciós (RT-PCR) vizsgálattal. Ötvenhárom vizeletmintából, négy rectális tampon mintából és egy vérmintából mutatták ki a vírust. A teljes genom szekvencia alapján az izolált három FmoPV törzs genomja 16050 bázisból áll, ezzel a legnagyobb méretű a morbillivírusok között. A vírust Crandell Reese Feline Kidney (CRFK) sejtekből izolálva citopatogén hatásokat okozott: sejtlekerekedést, sejtleválást, lízist, szintitiumképződést. A vírus képes volt szaporodni főemlős Vero E6 sejtvonalon is (Woo et. al., 2012).

Az elektronmikroszkópos vizsgálat egy burkos vírust mutatott, az N-protein paramyxovírusokra jellemző tipikus halszáлка megjelenésével (1. kép). A Western blot analízis során az *Escherichia coli* által expresszált rekombináns FmoPV N-protein ellen termelődött immunoglobulin-G (IgG) ellenanyagot mutattak ki az RT-PCR vizsgálattal pozitív macskák közül 49 egyedben, míg az RT-PCR-rel negatívok közül 78 állatban. Az ellenanyag jelenléte szignifikáns összefüggésben van a vírus jelenlétével.



1.kép: Macska morbillivírus immunofluoreszcens festése és elektronmikroszkópos képe. (b) FmoPV SS1 törzzsel fertőzött CRFK sejtek indirekt immunofluoreszcens vizsgálata az N-protein ellenanyag használatával. (c) FmoPV SS1 törzzsel fertőzött CRFK sejtek elektronmikroszkópos képe. A nyilak a vírus burkát és tüskéit mutatják (Sakaguchi et al., 2014).

Két FmoPV-pozitív macska veséjének postmortem szövettani vizsgálata gyulladásos infiltrációt mutatott az interstitiumban. A vesékben tubularis degeneratio és elhalás volt megfigyelhető csökkent cauxin expresszióval a károsodott tubularis hámsejtekben, amely elváltozás tubulointerstitialis nephritisnek (TIN) felel meg. A vizsgálatok a TIN jelenlétét mutatták ki a vírussal fertőzött tizenkét macskából hétben, míg a negatív macskák esetében tizenötből csak kettőben. Ez az eredmény összefüggést sugall a FmoPV fertőzés és a TIN között ($p < 0,05$).

A fertőzött sejtek a FmoPV N-proteinjének immunofluoreszcenciás festésével granulált és diffúz citoplazmatikus fluoreszcenciát mutattak (1. kép). Az immunohisztokémia alapján az is kiderült, hogy hasonlóan más morbillivírusokhoz, a FmoPV megfertőzi a mononukleáris és parenchymalis sejteket egyaránt. Mivel a macska morbillivírust főleg a vizeletből mutatták ki, az volt a hipotézisük, hogy a vírus főként patológiás veseelváltozásokat okozhat. Néhány friss tanulmány alapján a TIN egy immunmediált folyamat lehet, ezért lehetséges, hogy egy nephrotróp vírus, mint a FmoPV, triggerelhet egy önfenntartó immunopatológiás folyamatot a vesékben (Woo et al., 2012).

Két évvel később Japánban is kimutatták a macska morbillivírusát. Nyolcvankét vizeletmintából öt volt pozitív, a vérmintákból pedig tizből egy. A kimutatott törzs 92–94%-ban megegyezett a hongkongi törzsszel. A nephritist mutató formalinnal fixált, paraffinba ágyazott szövetek vizsgálatánál 40%-os pozitivitást találtak a macska morbillivírusra (1/10) (Furuya et al., 2014).

Ugyanebben az évben vizeletmintákat vettek véletlenszerűen Japán Kyoto és Ibaraki prefektúrájában, különféle okokból állatorvosi klinikákra vitt macskákból. RT-PCR alkalmazásával megállapították, hogy a macskák tizenhárom vizeletmintájából három pozitív volt a FmoPV-ra. A FmoPV-val fertőzött CRFK-sejtek citopatogén hatásokat mutattak. A FmoPV N fehérjét direkt immunfluoreszcencia vizsgálattal is detektálták. Ezen túlmenően glikoprotein-tüskékkel rendelkező pleomorf vírusrészecskéket is megfigyeltek elektronmikroszkópos módszerrel. A FmoPV H és L génjének szekvencia-elemzése során a FmoPV genetikai sokféleségét tapasztalták (Sakaguchi et al., 2014).

Egy másik tanulmányban RT-PCR vizsgálati módszert használtak a FmoPV L génjének kimutatására, amely tízszer szenzitívebb módszer, mint a konvencionális PCR, és alkalmas nagyobb számú minta kvantitatív vizsgálatára. A filogenetikai vizsgálatok alapján a Japánban detektált törzsek megegyeznek a hongkongi FmoPV törzsekkel. A macska vizeletmintákat állatorvosi klinikákról gyűjtötték Japán három különböző prefektúrájából (Hokkaido, Yamaguchi, Ehime). Nyolcvankét minta megegyezett az előző tanulmányban használt mintákkal. Összesen 25/166 minta volt pozitív (Furuya et al., 2016).

Egy szintén japán tanulmány a vírus biológiai tulajdonságait vizsgálta. A szerzett információk hasznosak lehetnek a hatékony vírusizolációs módszerek továbbfejlesztéshez, és információval szolgálhatnak a FmoPV fertőzés esélyének csökkentéséhez. A tanulmányban indirekt immunfluoreszcenciás módszert használtak. Megvizsgálták a tripszin és a polibrén hatásait a vírus titerértékekre, majd megvizsgálták a FmoPV replikációs kinetikáját CRFK sejteken. Meghatározták továbbá a FmoPV stabilitását különböző környezeti hőmérsékleteken, és kiértékeltek a hő-inaktiválás hatékonyságát 60°C és 70°C hőmérsékleten. Eredményeik alapján a vírus titrálásához és izolálásához a polibrén és a tripszin kezelés nem tűnt szükségesnek. A FmoPV relatíve stabil volt környezeti hőmérsékleten, és figyelemre méltóan stabil volt 4°C-on, legalább 12 napig jelentős titercsökkenés nélkül. Ez elősegítheti a minták hosszú távú tárolását a vírus kimutatására és izolálására. A 60°C-on 10 percig tartó inkubálás a vírus titerét

kimutathatatlan szintre csökkentette, 70°C-on pedig drasztikusan csökkent a fertőzőképesség, és ez 2 perc alatt megtörtént. Ezen adatok alapján azt a következtetést vonhatjuk le, hogy a 70°C-on végzett hőkezelés megbízható intézkedés az FmoPV inaktiválására, és a fertőzés kockázatának minimalizálására (Koide et al., 2015).

Japánban epidemiológiai kutatást is végeztek a macska morbillivírusával kapcsolatban. A száz macskából huszonkettőnél szérumban antitesteket találtak a FmoPV N-proteinje ellen direkt immunfluoreszcencia vizsgálattal, FmoPV N-proteint expresszáló HeLa sejtek alkalmazásával. A HeLa sejt vonalat 1951 óta folyamatosan fenntartják *in vitro*. Huszonkettő vizelet és/vagy vese szövet volt pozitív a FmoPV RNS-ének kimutatása szempontjából. Összesen 29 macska volt pozitív ellenanyag (Ab) és/vagy virális RNS szempontjából. Ezeket a FmoPV-fertőzött macskákat a fertőzés három különböző fázisába sorolták: RNS+/Ab+ (14 macska), RNA+/Ab- (8 macska) és RNS-/Ab+ (7 macska). Az immunhisztokémiai (IHC) vizsgálat során 19/29 volt pozitív FmoPV N fehérje szempontjából vese szövetekben, azonban csak a súlyos fokú gyulladásos elváltozásokban találták meg. Statisztikailag szignifikáns különbséget figyeltek meg a FmoPV fertőzés és a vese gyulladásos elváltozásainak jelenléte között, nem tudtak azonban kórszövettani bizonyítékot szerezni a FmoPV fertőzés és a TIN kapcsolatáról (Park et al., 2016).

Törökországban 96 beteg macskát és 15 macskatetemet vizsgáltak RT-PCR-rel. Vér- és vizeletmintákat gyűjtöttek, illetve kórszövettani vizsgálatot is végeztek a tetemek szerveiből. A minták 5,4%-ban (6/111) mutatták ki a FmoPV-t, három beteg macska vizeletmintájából, és három macskatetemből. A beteg macskák mind a negatív, mind a pozitív csoportban légzőszervi, húgyúti és emésztőszervi tüneteket mutattak. Azt találták, hogy a FmoPV-pozitív macskák utcai környezettel is érintkeztek, és két macska pozitív volt a macska koronavírusra (FCoV), egy pedig a feline leukemia vírusra (FeLV) is. A nem fertőzött macskákhoz képest a vérlabor eredményekben alacsonyabb volt az átlagos vörösvérsejt szám, a hemoglobin, albumin, albumin-globulin arány és az urobilinogén, míg magasabb volt az alanin-transzamináz (ALT), alkalikus-foszfataz (ALKP) és bilirubin értékei. Immunhisztokémiai vizsgálattal kimutatták a vírus N-proteinjét a tubularis parenchymalis sejtekben, illetve a veséből és a májból származó lymphocytákban és plazmasejtekben. A kórszövettani vizsgálatok TIN-t és lymphoid infiltrációt mutattak a vese kéregállományában és velőállományában. Filogenetikai vizsgálatok alapján a hat pozitív macskából kimutatott vírus 98,5–100%-os hasonlóságot mutatott a japán és németországi törzsekkel (Yilmaz et al., 2017).

2019-ben Malajziában is vizsgálatokat végeztek a FmoPV előfordulásának bizonyítására. Kétszáznyolc macska vér-, vizelet-, és vesemintáit vizsgálták RT-PCR-rel. Nyolcvankét pozitív macskát találtak, összesen 62/124 vizeletminta és 20/25 veseminta lett pozitív, míg a vérminták mind negatívak lettek. A fertőzött macskák közül 42 volt társállat, míg 34 menhelyi. Megvizsgálták a lehetséges kockázati tényezőket a fertőzöttségre, és azt találták, hogy a kandúrok szignifikánsan ($p=0,031$) többen voltak pozitívak a FmoPV-ra, mint a nőstények. Ugyanakkor a veséhez kapcsolódó tünetek előfordulásának tekintetében nem volt összefüggés a FmoPV fertőzöttséggel ($p=0,083$). A filogenetikai vizsgálatok alapján a kimutatott vírus 85–99%-os genetikai egyezést mutatott az eddig publikált japán, kínai és thaiföldi törzsekkel (Mohd Isa et al., 2019).

Szintén egy 2019-es ázsiai tanulmány vizsgált immunohisztokémiai és immunofluoreszcens módszerekkel 38 macska eredetű veseszövet mintát FmoPV antigénjeinek (P és N) kimutatása céljából, illetve, hogy megvizsgálják a FmoPV fertőzés vesére kifejtett patológias hatásait. Az elváltozások szignifikánsan többször/súlyosabban fordultak elő, amikor a FmoPV antigéneket kimutatták, különösen a tubulointerstitialis léziókat tekintve. A FmoPV antigénnel kapcsolatos patológias elváltozások magukban foglalják a krónikus vesebetegségekre jellemzőket, például az interstitium sejtes beszűrődését, a glomerulosclerosist, a tubuláris atrófiát és a fibrosist. A tubularis elváltozások tekintetében $p < 0.0005$, az interstitialis lézióknál pedig $p = 0.0058$ a gyulladásos sejt infiltrációt tekintve, és $p = 0.0008$ a fibrosist tekintve. A FmoPV-pozitív csoportban szintén szignifikánsan gyakoribb volt a glomerulosclerosis ($p = 0.0013$) és a glomerulusok kapilláris falainak megvastagodása ($p = 0.0390$). Vizsgálatuk alátámasztja azt a hipotézist, hogy a FmoPV fertőzés összefügg bizonyos veseszöveti elváltozásokkal (Sutummaporn et al., 2019).

2.2. Európai előfordulás

Európában először Olaszországban mutatták ki a macska morbillivírusát egy tizenöt éves ivartalanított európai rövidszőrű kandúr macskából. Az állat traumás sérüléssel és rendkívül rossz kondícióban került a teramo-i oktatókórházba (Veterinary Teaching Hospital of the University of Teramo). A hospitalizáció során a macska alkalmankénti hányást és polyuria-polydipsia szindrómát mutatott. Virologiai vizsgálatokat végeztek több fertőző betegség kimutatására is. A morbillivírusok L-fehérje kódoló génjének jelenlétére vizsgáltak PCR módszerrel vizeletmintát, etilén-diamin-

tetraecetsavas (EDTA) vérmintát és bélsármintát. A vizeletminta pozitív lett, míg a vér- és bélsárminta negatív. A két héttel később gyűjtött vizeletminta vizsgálata is pozitív eredményt mutatott. Ezt követően a minta nukleotidszekvenciáinak összehasonlító vizsgálata a legnagyobb hasonlóságot a macska morbillivírusának korábban Hongkongban kimutatott két törzsével mutatta. A macska életkorára, így az altatási kockázatokra, valamint a költségekre tekintettel nem vettek vesebiopsziát, így az eset szövettanilag feltáratlan maradt. Azonban mivel nem tudtak kimutatni más fertőző patogén ágenszt, a FmoPV szerepét feltételezik a veseelégtelenség kialakulásában (Lorusso et al., 2015). Egy évvel később véghez vitték a kandúr macskáról elnevezett Piuma/2015 törzs teljes genomszekvenálását is, elsőként Európában. Ahogyan a korábban szekvenált törzsek esetében is, a genom 16050 nukleotid hosszúságú, és a morbillivírusokra tipikusan jellemző „hatos szabályt” („the rule of six”) követi. Hat nem átfedő gént tartalmaz N-P/V/C-M-F-H-L sorrendben. A Piuma/2015 vírustörzs a legnagyobb nukleotid azonosságot (94,5%) az egyik legkorábbi, 2009-ben izolált kínai törzsszel mutatta. Ugyanakkor az USA-ból egyetlen elérhető teljes genommal is 94%-os volt az azonosság (Marcacci et al., 2016). Az idei évben Észak-Olaszországban végeztek kutatást a macska morbillivírusával kapcsolatban. Nyolcvanegy vizeletmintát és hetvenkét vesemintát vizsgáltak a Veterinary Teaching Hospital of the University of Milan-ba beérkező macskákból 2014 és 2017 között. FmoPV RNS-t egy vizeletmintában és két vesemintában találtak. Minden pozitív minta krónikus vesebetegség tüneteitől mentes macskából származott. Az eredmény nem támogatja azt a hipotézist, hogy a FmoPV fertőzőtlenség összefügg a krónikus vesebetegség kialakulásával (Stranieri et al., 2019).

Németországban Sieg et al. leírta több új paramyxovírus felfedezését is. A vírusokat krónikus vesebetegségben szenvedő macskák vizeletmintáiból izolálták (8/120). Nem találtak virális RNS-t olyan macskában, amelyek nem mutatták vesebetegség tüneteit (kontrollcsoport n=86), ami összefüggést sugall a macska paramyxovírus fertőzések és a CKD között. A nyolc fertőzött macska közül hét kandúr volt, ez a hímivart magasabb kockázati tényezőként jellemzi. A kimutatott vírusok filogenetikai elemzése azt mutatta, hogy legalább két különféle fajt képviselnek, amelyek közül az egyik a korábban Hongkongban és Japánban kimutatott macska morbillivírus. Ezen kívül három macska paramyxovírus szekvenciát is detektáltak, amelyek az L gén nukleotidjaiban csak 73%-os homológiát mutattak a jelenleg ismert fajokkal. Ezért különböző egyéb paramyxovírust kimutató primerekkel is megvizsgálták ezeket a mintákat, és azt állapították meg, hogy filogenetikailag a denevér paramyxovírusokhoz 72%-ban, a rágcsáló paramyxovírusokhoz

pedig 74%-ban hasonlóak. A három szekvencia egymással 95%-ban megegyezett, ezért valószínűsíthető, hogy egy faj három különböző izolátumáról/törzséről van szó. Egy másik tanulmányban elvégezték a vírus sejtkultúrából való visszaizolálását és teljes genomszekvenálását. A minta egy tizenöt éves kandúr macskából származott, amely polyuria-polydipsia szindrómát mutatott. A legnagyobb azonosságot a Japánban izolált törzsekkel találták (93,8%), míg jóval kisebb hasonlóságot az Olaszországban (88,0%), a Hongkongban (88,2%,) és az USA-ban izolált (87,8%) típustól. A filogenetikai vizsgálatok alapján a macska morbillivírusa két genotípusba sorolható (Sieg et al., 2018).

Az Egyesült Királyságban is bebizonyították a vírus jelenlétét. A vér- és vizeletmintákat 2013 és 2015 közötti időszakban gyűjtötték egy ingyenes vizsgálat során alapellátó praxisokból, egészséges és azotaemiás krónikus vesebetegségben szenvedő macskákból. A macskákat így azotaemiás és nem azotaemiás csoportokra osztották. Ezt a protokollt az Ethics and Welfare Committee at the Department of Veterinary Medicine, University of Cambridge hagyta jóvá. Hetvenkilenc macskát vizsgáltak, ebből 40/79-et a FmoPV kimutatására, és 72/79-et szerológiai vizsgálatra. A vírust RT-PCR-rel 5/40 vizeletmintában mutatták ki az azotaemiás csoportban, míg 4/24-ben a nem azotaemiásban. Ez alapján nem találtak szignifikáns összefüggést ($p=0.36$) a macska morbillivírusának jelenléte és a krónikus vesebetegség között. Három nem FmoPV jellegű paramyxovírust találtak a nem azotaemiás csoportban. 6/14 macska az azotaemiás csoportból és 40/55 a nem azotaemiásból volt szeropozitív. A tanulmány nem támasztja alá Woo et al. hipotézisét, miszerint a macska morbillivírus fertőzöttség összefügg az azotaemiával járó CKD kialakulásával (McCallum et al. 2018).

2.3. Amerikai előfordulás

Az Egyesült Államokban is kutatták a FmoPV jelenlétét, azt a hipotézist vizsgálva, miszerint a macska morbillivírusa más, ismert morbillivírushoz hasonlóan, Ázsián kívül is, világszerte elterjedt lehet. A macska vizeletmintákból ($n=327$) PCR vizsgálattal 10 mintában izolálták a FmoPV RNS-ét. Ebből három macska krónikus idiopathikus vesebetegségben szenvedett. Az egyik FmoPV-pozitív macskát, egy klinikailag egészséges, négy hónapos kandúr, európai rövidszőrűt tizenöt hónap elteltével újra megvizsgálták. A vizeletminta ismét pozitív lett, ami felveti a krónikus fertőzés gyanúját, és hogy a FmoPV képes tartósan ürülni a vizelettel. Az eddig ismert összes morbillivírus

akut fertőzést képes kialakítani, és a tipikus hosszútávú manifesztáció a központi idegrendszerben történhet, nem a húgyutakban (Sharp et al., 2016).

Dél-Amerikában Brazíliában mutatták ki a macska morbillivírusát szintén a paramyxovírusok L génjének vizsgálatával RT-PCR-rel vizeletmintákból. Tizenhét, húgyúti betegség tüneteitől klinikailag mentes, macskát vizsgáltak egy többmacskás háztartásból Nyugat-Brazíliában, valamint harmincöt véletlenszerűen kiválasztott macskát, amelyeket számos különböző okból vittek be a Department of Small Animal Medicine of the University of Cuiaba Teaching Veterinary Hospital-ba. A fertőzött macskák mind klinikailag, mind laboratóriumi és ultrahang vizsgálatokkal is mentesnek bizonyultak húgyúti betegségtől. Nem találtak összefüggést a vírus jelenléte és vesebetegség között. A kimutatott törzs a Japánban jelen lévő törzshöz volt genetikailag hasonló. Az eredmények azt sugallják, hogy a FmoPV főleg a hordozó macskák vizeletében perzisztál. Az USA-ban kimutatott esetek alapján a vírus vélhetően az amerikai kontinensen is széleskörben elterjedt (Darold et al., 2017).

2.4. A vírusról

A paramyxovírusok burkos vírusok, lineáris szimpla szálú RNS (ssRNS) genommal rendelkeznek, amely nem szegmentált, így ezek a vírusok genetikailag kevésbé változékonyak. A genusba tartozó fajok antigenitás tekintetében közeli rokonok, erős keresztreakciót, illetve keresztimmunitást eredményeznek egymással (Woo et al., 2012).

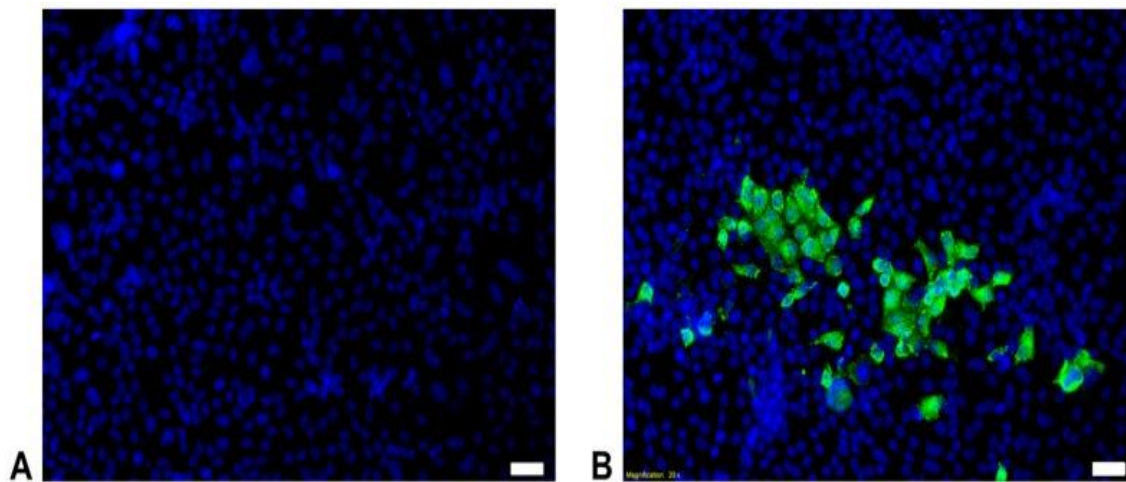
Rendszerint pleomorf, gömb alakú, 150–300 nm átmérőjű vírusok. Ellenállóképességük kicsi, savas közeg iránt érzékenyek, fertőtlenítőszer hatására percek alatt elpusztulnak. Váladékokkal ürülve a környezetben is legfeljebb néhány napig maradnak fertőzőképesek. A nukleinsav 7–11 fehérjét kódol, melyek közül kettő a virion felületén lévő glükoprotein. Ezen keresztül kötődik a vírus a sejtek felületén lévő receptorokhoz. A vírusok többségénél az egyik hemagglutinin és neuraminidáz funkciót tölt be, másoknál csak hemagglutinin vagy ilyen tulajdonságokkal nem rendelkező glükoprotein. A másik a fúziós protein, mely a vírusgenomnak a sejtbe történő bejutásáért, illetve a fertőzött sejtek összeolvadásáért, szinthyumok képződéséért felelős. A velük szemben képződött ellenanyagok a vírust neutralizálják.

A *Morbillivirus* genusba tartozó fajok felületén megtalálható a hemagglutinin és a fúziós protein, azonban nincs neuraminidáz aktivitásuk (Varga, Rusvai, & Fodor, 2018). Ezek a vírusok általában magas fertőzőképességűek, naiv populációban magas

morbidityással és mortalitással járó járványkitöréseket képesek előidézni. Erősen immunszuppresszívek, ám a fertőzésen átesett gazdában élethosszig tartó immunitást eredményeznek. A morbillivírusok prototípusa a humán kanyaró vírus, amely főemlősökben okoz megbetegedést, és közeli rokona a keleti marhavész vírusa (Rinderpest), mely szarvasmarhában okoz súlyos tüneteket, és a második betegség a Földön, amelyet sikerült teljesen eradikálni. A nemzetségbe tartozó vírusok még a kiskérődzők pestise (peste des petits ruminants), a kutya szopornyicája (canine distemper virus, CDV), amely számos ragadozófajt megbetegít, valamint a főkafélek és a cetfélék szopornyicájának vírusa. Habár a kutya szopornyicavírusa sporadikusan nagymacska fajokat is megbetegít, a macska morbillivírusa az első felfedezett paramyxovírus házimacskában (De Vries et al., 2015).

Az elmúlt évtizedben a macska morbillivírusa mellett felfedezésre került két új morbillivírus szekvencia braziliai vámpírdenevérből, habár fertőző vírust ez idáig nem sikerült kimutatni (De Vries, Duprex, & De Swart, 2015). Kínában pedig 11 gyümölcsdenevér fajban tudtak izolálni három új paramyxovírust (Tuhokovirus 1, 2, 3) (Lau et al., 2010).

Az idei évben izolálták a macska morbillivírus egy új genotípusát, amelyet elneveztek FeMV-GT2-nek (feline morbillivirus genotype 2) (2. kép).

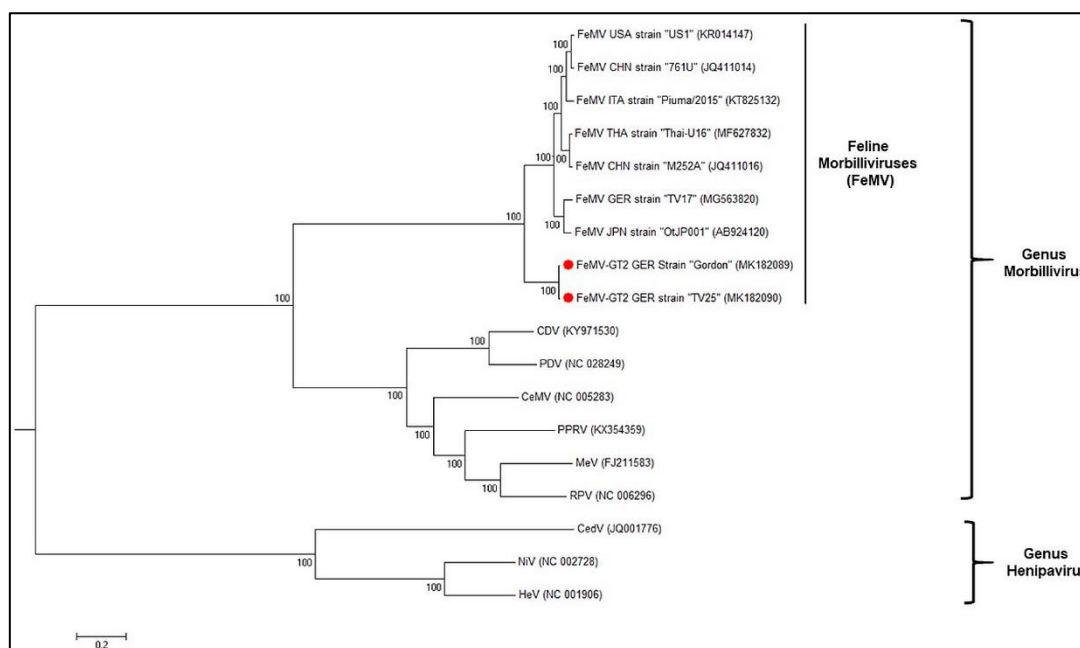


2.kép: FeMV-GT2-Gordon törzs izolációja LLC-MK2 (Rhesus-majom veseháms sejteken) öt nappal a fertőzés után FeMV-nukleoprotein-specifikus ellenanyaggal festve (zölddel)

200× nagyításban. A sejtmagok kék színnel láthatók.

A: negatív kontroll, B: FeMV-GT2-fertőzés (Sieg et al., 2019)

Húgyúti betegségben szenvedő macskák vizeletéből mutatták ki a vírust, amely 78%-os nukleotid homológiát mutatott az eddig ismert FmoPV törzsekkel (3. kép). A vizsgálat során különböző macska és főemlős sejtvonalakkal kísérleteztek, és kimutatták, hogy a FeMV-GT2 képes fertőzni vese és tüdő hámsejteket, elsődleges agyi és kisagyi sejteket, valamint a vér egyes immunsejtjeit, mint a CD4⁺ T sejteket, a CD20⁺ B sejteket és a monocytákat. Az eredményeik arra utalnak, hogy fokozott figyelmet kell fordítani erre a vírusra, amikor a fent említett szervek funkciójának kiesésére utaló klinikai tünetek előfordulnak macskákban, és más ismert kórképpel nem magyarázhatók (Sieg et al., 2019).










3. kép: A paramyxovírusok filogenetikai fája, teljes genom szekvencia alapján. A FeMV-GT2 törzsek pirossal jelölve. Rövidítések: CDV: canine distemper virus, PPRV: peste-des-petits-ruminants virus, MeV: measles virus, RPV: rinderpest virus, CeMV: cetacean morbillivirus, PDV: phocine distemper virus, CedV: Cedar virus, NiV: Nipah virus, HeV: Hendra virus (Sieg et al., 2019).

Szintén az idei évben Olaszországban elvégezték két vírustörzs genomszekvenálását. A két észak-olaszországi kandúr macska után, amelyekből a FmoPV-pozitív vizeletminták származtak, a két törzset FeMV Tremedino/2018 Italy-nak és FeMV Pepito 2018/Italy-nak nevezték el. A két törzs majdnem azonos, egymással 99,2%-ban megegyeznek, míg a 2015-ben izolált szintén olaszországi Piuma/2015 törzzsel csak 88,1%-ban. A legnagyobb nukleotid azonosságot a Japán törzsekkel mutatják (98,7% és

98,5%). A FeMV-GT2-hez csupán 78,1%-ban hasonlók, így ezek a törzsek az 1-es genotípushoz tartoznak (Donato et al., 2019).

2.5. A krónikus vesebetegség

A krónikus vesebetegség, amelyre gyakran az angol chronic kidney disease kifejezést használjuk, a leggyakrabban felismert formája a vesét érintő betegségeknek kutyában és macskában egyaránt. Hasonlóképpen, a Felidae családba tartozó gepárdban, fogságban tartott egyedekben is gyakori (Brown et al., 2016). A CKD definíciója szerint strukturális és/vagy funkcionális elváltozásokkal jár egy vagy mindkét vesében, amely legalább három hónapja folyamatosan jelen van. A betegség a működő nephronok számának jelentős csökkenésével jár, így klinikailag a vesefunkció kiesése dominál. A vese funkcionális szövetének helyét kötőszövet veszi át, amely folyamatot fibrosisnak nevezzük. A krónikus vesebetegség irreverzibilis, és kezelés mellett is progresszív lefolyású betegség. A betegség stádiumba sorolásához az International Renal Interest Society (IRIS) megalkotta az IRIS staging rendszert, mely alapján 1–4-ig hoztak létre kategóriákat a betegek monitorozására és a megfelelő terápia kiválasztásának támogatására (Ettinger, Feldman, & Cote, 2017). A besorolás alapvetően az éhgyomri vér kreatinin szint mérésén alapszik, amelyet legalább két alkalommal kell értékelni, nem dehidrált, stabil betegen. A 2019-es ajánlás alapján az éhgyomri vér kreatinin vagy az éhgyomri vér szimmetrikus dimetilarginin (SDMA) koncentrációját vagy mindkettőt együtt érdemes értékelni (4. kép). Az alstádiumba soroláshoz szükséges a proteinuria (fehérjevizelés) megítélése és a szisztémás vérnyomás mérése ('IRIS Kidney-Education-IRIS Staging System', n.d.). Vörös és mtsai 2019-es könyvében megkülönböztet egy nulladik, egészséges, de fokozott kockázatnak kitett stádiumot is, amelynél a kreatinin nem, csak az SDMA szint emelkedett, és nincs azotaemia, de vesebetegség más jelei észlelhetők.

					
		Stage 1 No azotemia	Stage 2 Mild	Stage 3 Moderate	Stage 4 Severe
Creatinine in mg/dL					
Stage based on stable creatinine	Canine	<1.4	1.4–2.0	2.1–5.0	>5.0
	Feline	<1.6	1.6–2.8	2.9–5.0	>5.0
 SDMA in µg/dL					
		>14	>14	Moderately increased	Markedly increased
	Consider understaged based on creatinine		≥25	≥45	
UPC ratio					
Substage based on proteinuria	Canine	Nonproteinuric <0.2	Borderline proteinuric 0.2–0.5	Proteinuric >0.5	
	Feline	Nonproteinuric <0.2	Borderline proteinuric 0.2–0.4	Proteinuric >0.4	
Systolic blood pressure in mm Hg					
Substage based on blood pressure		Normotensive <150	Borderline hypertensive 150–159	Hypertensive 160–179	Severely hypertensive ≥180
 SDMA = IDEXX SDMA® Test See iris-kidney.com for more detailed staging, therapeutic, and management guidelines.					

4. kép: Az IRIS staging rendszer ('SDMA case study: Bess-IDEXX South Africa', n.d.)

Az SDMA egy a kisállatgyógyászatban nem régóta használt laboratóriumi paraméter, az arginin metilált formája, amely a sejtekben viszonylag állandó mennyiségben keletkezik a proteolízis során (Vörös et al., 2019). A kreatininnál szenzitívebb a vesére, már 25%-os funkciókiesésnél emelkedik a szintje. Megbízhatóbb indikátora a vesefunkció csökkenésének, mert vérbeli szintjét nem befolyásolják más zavaró tényezők, például hormonbetegségek, vagy az izom-zsír aránya a testben ('Why SDMA Matters-IDEXX US', n.d.). A stádiumokhoz kialakított terápiás javaslatok célja egyrészt a betegség lefolyásának lassítása, a még működő vesefunkció megtartása, valamint a macskák életminőségének javítása a CKD tüneteinek enyhítésével.

A betegség becsült prevalenciája az Egyesült Államokban macskákban 1,6–20% között van. Egy retrospektív tanulmány alapján a krónikus vesebetegséggel diagnosztizált macskák 53%-a 7 éves kor feletti. Az átlagos túlélési idő az IRIS besorolás alapján egyedenként szignifikánsan eltérő volt. A kettes stádiumban átlagosan 1014–1565 nap volt, a hármásban 445–910 nap, míg a négyesben csupán 21–99 nap (Ettinger, Feldman, & Cote, 2017).

A krónikus vesebetegség kórfejlődése során a vesefunkció drasztikus csökkenéséhez, veseelégtelenséghez vezet. A veseelégtelenség klinikai manifesztációja az uraemia. Az uraemia egy szindróma, amely a vérben biokémiai változásokkal és gyakran extrarenalis elváltozásokkal jár. Az azotaemia biokémiai változásokkal, a vér karbamid és kreatinin koncentrációjának növekedésével jár, ám nem mindig látható a vesebetegség klinikai megjelenése. Az azoteamia lehet renalis vagy extrarenalis eredetű. A vese eredetű azotémia lehet prerenalis, amelyet a vese különböző eredetű hypoperfúziója okoz, pl. sokk, szívelégtelenség. A postrenalis azotaemiát a húgyutak elzáródása okozza. A normális vesefunkció károsodását a CKD progressziója alatt négy stádiumba sorolhatjuk. A csökkent veseműködésnél a glomerularis filtrációs ráta (GFR) kb. 50% a normálisnak, és az állat tünetmentes. A veseelégtelenség első stádiumánál a GFR 25–50% a normálisnak, és az állat azoteamiás. A következő stádiumban a GFR csupán 20–25 % a normálisnak, és a vesék nem tudják fenntartani a homeosztázist. Az állat ureamiás lesz, ami gastrointestinalis, szív-és érrendszeri, légzőszervi és csontrendszeri tüneteket okozhat. A végállapotú vese, angolul end stage kidney, kialakulásakor a GFR már csak <5% a fiziológiásnak, és az állat az uremia végstádiumába kerül. Az ureamiás állatok gyakran cachexiásak az étvágy csökkenése és hányás, hasmenés miatt. Krónikus uremiában gyakori az ulceratív necroticus stomatitis kialakulása. Az állapot az arteriolák necrosisával, fekélyek kialakulásával jár, és egy bűzös, barna filmréteg képződik a nyelven és a szájnyálkahártyán. Oka a nyálban a karbamidból bakteriális úton termelődő ammónia. A vese koncentrálókéességének csökkenése miatt az állatok dehidráltak, és az elektrolitzavar miatt metabolikus acidózis alakul ki. A vérplazmában kálium, nátrium és kalcium többlet keletkezik, amely károsítja a szív- és csontrendszert. Az endokrin rendszer is károsodik, a GFR csökkenése és a foszfát retenció miatt fokozódik a parathyreoid hormon (PTH) termelődése, és másodlagos hyperparathyreoidizmus alakulhat ki. A nem regeneratív anaemia kialakulása multifaktoriális, egyik oka a vese erythropoetin termelésének csökkenése. A terminális állapotban gyakran alakul ki tüdőödéma, amelynek pontos patogenezise még nem teljesen ismert (Jubb, Kennedy, & Palmer, 2016).

A CKD etiológiájában az idiopathikus volta mellett több faktor együttes szerepét feltételezik. Ilyen egy elsődleges krónikus vesebetegség, amely elindítja a CKD kialakulását, amelyek többek között lehetnek:

- amyloidosis
- veleszületett vesedysplasia vagy glomerularis betegség
- hosszútávú kiegyensúlyozatlan takarmányozás

- lymphoma
- polycisztás vesebetegség (PKD)
- bakterialis pyelonephritis
- vese- és húgykövesség
- krónikus fertőzés macskák immunhiányos betegségének (FIV) vírusával, FeLV-vel vagy macskák fertőző peritonitisének (FIP) vírusával
- immunkomplex glomerulonephritis
- akut vesekárosodás (AKI)

Továbbá szerepet játszik maga az öregedés, az ischaemia és egyéb akut oxigénhiánnyal járó vesekárosodások, valamint a környezeti tényezők, mint a foszforbevitel és a stressz (Brown et al., 2016).

2.6. A vese patológiája

A szerzett vesebetegségeket alapvetően feloszthatjuk glomerulopathiákra és tubulopathiákra. A glomerulus betegségei során a véráramlás csökkenésével megváltozik az ultrafiltrátum képződése, amely a teljes nephron elvesztéséhez vezethet. Glomerulitis esetén a gyulladás csak a glomerulusokra korlátozódik, míg a glomerulopathia kifejezés gyulladásos sejtek nélküli vagy ismeretlen etiológiájú betegségre utal. A glomerulonephritis során az elsődleges glomerularis betegséget másodlagos tubulointerstitialis és érrendszeri károsodás kíséri. Kutyaiban a glomerulopathiák körülbelül felében immunkomplex glomerulonephritis fordul elő, amely macskákban is gyakori. Ilyenkor a vérben elhúzódóan keringő immunkomplexek lerakódnak a glomerulus különböző részein, a podocyta körül, az alaphártyán és a mesangiumban. Ez alapján megkülönböztethetünk membranosus glomerulonephritist, amely az alaphártya megvastagodásával jár, és proliferatív glomerulonephritist, amely során a glomerulust gyulladásos és mesangium sejtek infiltrálják. A két forma kombinációja is előfordulhat. Macskákban gyakran különböző fertőző betegségek okozhatók a betegségtől, mint a macskák fertőző peritonitise, a macskaleukosis és a macskák immunhiányos betegsége. Kutyaiban örökletes glomerulopathiákat is leírtak számos fajtában (Vörös et al., 2019).

A glomerulusok számos szisztémás betegségben is érintettek lehetnek, ilyen például az amyloidosis. Háziállatokban az amyloidosis leggyakoribb formája a reaktív szisztémás amyloidosis. Az AA amyloid a szérumban amyloid A-ból származik, mely egy

akut fázisú lipoprotein, amelyet a májsejtek termelnek krónikus antigén stimuláció hatására. Ilyen pl. egy krónikus fertőző, gyulladásos vagy daganatos kórfolyamat. Az amyloid leggyakrabban a glomerulusokban rakódik le kutyákban, ám a shar-pei kutyaajtában és macskákban jellemzően inkább medullarisan. Macskákban az amyloidosis gyakrabban fordul elő a táplálék túlzott A-vitamin tartalma esetén (Jubb, Kennedy, & Palmer, 2016). Az abesszín macskafajtában az amyloidosis örökletes is lehet, valószínűsítik az autoszómális domináns öröklődést. Az első amyloid lerakódások 9 és 24 hónapos kor között jelennek meg a velőállomány interstitiumában. Az érintett macskákban átlagosan már hároméves korban CKD alakul ki, ám enyhe esetekben a túlélési idő ennél jóval hosszabb lehet. Az amyloid-lerakódások gyakran megtalálhatók más szervekben is. Habár az abesszín fajtára ez nem jellemző, a sziámi és a keleti rövidszőrű fajtákban az örökletes amyloidosis során nagy mennyiségű amyloid rakódhat le a májban (Lawson et al., 2015). A glomerulusok károsodásának klinikai megjelenése általában nem specifikus. A proteinuria utal a megnövekedett glomerularis permeabilitásra. Gyakran az érintett állatokban thrombosis alakul ki (főként a tüdőartériákban és a vesevénákban) az akut fázis fehérjék, mint a fibrinogén, megnövekedett termelődése, és az egyidejűleg a vizeletbe ürülő alacsony molekulatömegű antikoagulánsok, mint az antithrombin-III, vesztese miatt. A proteinuriát a vizelet fehérje és kreatinin koncentrációjának arányával mérjük (urine protein creatinine ratio, UPC). Ha az $UPC > 3$, a proteinuria nagy valószínűséggel glomerularis eredetű. A vizeletben lévő albumin/mikroalbumin a korai vesebetegség indikátora, míg a nagy molekulatömegű immunoglobulinok a glomerularis permeabilitás nagy mértékű növekedését jelzik (Jubb, Kennedy, & Palmer, 2016).

A tubulusok egy egységet alkotnak az interstitiummal, így az egyik károsodása esetén rendszerint a másik is sérül, így tubulointerstitialis betegségekről beszélhetünk. A tubuláris betegségek a hámsejtek morfológiai károsodásával járnak. A betegek gyakran azotaemiások, és glükózt vagy aminosavakat ürítenek a vizeletükkel a proximális tubulusok károsodása esetén. A szervezet reakciója a tubulusok pusztulására a megmaradt nephronok kompenzatórikus hypertrophiájára korlátozódik, a megmaradt tubulusok pedig gyakran nagyok és kitágultak. Ezek következtében a vese megnagyobbodik, és metszéslapja elődomborodik. A tubulusok leggyakoribb betegségei az akut tubular injury (ATI) kategóriába sorolhatók. Ez egy reverzibilis folyamat, amely során a tubulusok degenerálódnak, funkcionális változásokat szenvednek, melynek eredményeképpen súlyos azotaemia fejlődik ki az érintett állatokban. Ezek a betegek gyakran oliguriások vagy anuriások, és megfelelő terápia nélkül pár napon belül elhullanak. Az ATI fő okai az

ischaemia és a nephrotoxinok behatása. Az ischaemiás ATI oka egy hypotenzív periódus vagy a vese elhúzódó ischaemiája lehet. Nagy mértékű hemolízis okozhat haemoglobinuriához kötött ATI-t. A haemoglobin és myoglobin szerepe, mint nephrotoxin, még nem teljesen ismert. A tubulusok, főleg a proximális tubulusok, érzékenyek a különböző toxinokra magas metabolikus aktivitásuk miatt. A tubulusok alaphártyájának sértetlensége esetén lehetőség van a hámsejtek regenerációjára, így ez egy fontos prognosztikai faktor pl. vesebiopsziák értékelésekor. Háziállatainkban számos exogén nephrotoxint ismerünk: egyes antibiotikumok: tetraciklinek, szulfonamidok, aminoglikozidok, polymixinek, cephalosporinok, amphotericin B; mikotoxinok; nehézfémek; növényvédő szerek; állati mérgek; Liliaceae családba tartozó növényfajok; szőlő és mazsola; etilén-glikol.

A kutyák és macskák gyakran szenvednek mérgezést fagyálló folyadékoktól, amelyek etilén-glikolt tartalmaznak. A minimális letális dózis kutya esetén 6,6 mL/kg, míg macskáknál 1,5 mL/kg. Édes íze miatt a kutyák gyakrabban elfogyasztják, ám a macskák érzékenyebbek a méregre. Az etilén-glikol önmagában nem toxikus, a gyomorból hamar felszívódik, és legnagyobb része változatlan formában ürül a vizelettel. Egy kis része azonban az alkohol-dehidrogenáz enzim révén glikolaldehiddé oxidálódik a májban, majd glikolsavvá, glioxiláttá, végül oxaláttá, tejsav, hippuritsav és szén-dioxid képződése mellett. Az elsődleges nephrotoxinok a glikolaldehid és a glioxalát. Kimerítik az adenozin-5'-trifoszfátot (ATP-t), és károsítják a sejtmembránok foszfolipidjeit és enzimeit. A mérge felvételét követő első néhány órában súlyos metabolikus acidózis alakul ki, és ha az állat túléli, az első három napban kialakul az ATI. A vérben oldható formában jelen lévő kalcium-oxalát precipitál a tubulusokban lévő ultrafiltrátummal a pH csökkenés miatt. A kalcium-oxalát kristályok lerakódnak a tubulusokban, nagy mennyiségű jelenlétük pathognomisztikus jele az etilén-glikol mérgezésnek (Jubb, Kennedy, & Palmer, 2016).

3. Anyag és módszer

3.1. Kórszövettan

A kutatás alapját az Állatorvostudományi Egyetem Patológiai Tanszékére beérkező macskatetemek adták. A tetemeket 2018 nyarán vizsgáltuk, és minden tetem mindkét veséjéből vettünk mintát a kórszövettani és RT-PCR vizsgálatokra, illetve vizeletmintát RT-PCR vizsgálatra, amennyiben tartalmazott vizeletet a húgyhólyag. Összesen 165 tetemet vizsgáltunk, ebből 120 esetben volt vizeletminta is. A vizsgált halmazban egyaránt volt kölyök és felnőtt állat, aszerint, milyen tetem érkezett éppen a tanszékre.

A kórszövettani vizsgálatához a metszeteket a Patológiai Tanszék szövettani laboratóriumában készítették. A módszert az alábbiakban ismertetem röviden. Az első lépés a szövetdarabka fixálása volt, amelyet 10%-os pufferolt formaldehiddel végeznek 24 órán át. Ezután következik a kivágás, amely során műanyag kazettába kerül a minta. Majd víztelenítő automata segítségével felszálló alkohol sorokon megy keresztül a minta meghatározott ideig. Köztes oldószerként xilolt használnak, amelyben négy órán keresztül van a minta. A xilol egy szerves oldószer, amely intermedier anyagként viselkedik a vizes és az alkoholos bázis között. Ezután következik a meleg (65°C) paraffin, amelyben 5–6 órát tartózkodik a minta. A paraffin szobahőmérsékleten megszilárdul, és az így létrejött paraffinblokkokat már lehet mikrotómmal metszeni. A metszet 3–4 µm vastagságú, és tárgylemezre kerül. Ehhez először hideg vízfürdőt használnak, amelyben kisimul a paraffinos szelet, azután pedig egy 65°C-os fürdőt, amelyben „kiterül” a metszet. Nedves szűrőpapírral rásimítják a tárgylemezre, amelyre tökéletesen rászárad. A metszet festését festőautomatával végzik. Első lépés a paraffin kioldása háromszor váltott xilollal 15 percig. Ezután etil-alkohollal szintén háromszor váltva rehidrálják, majd néhány perces vizes mosás következik. Először a hematoxilin kerül rá a metszetre két percre, majd minimum tíz percig csapvízzel kell kezelni a magfestés színének elmélyítése céljából. A hematoxilin egy növényi eredetű bázikus festék, amely a sejtmagokat, a keratohyalin granulumokat és a kalcifikálódott részeket festi meg sötétlilára. Ezután kerül rá az alkoholos eozin, amely a citoplazmát és az extracelluláris mátrixot festi meg a rózsaszín árnyalataira. Ezután háromszor etil-alkoholos vízkivonás következik, majd kétszer xilolos kezelés, végül egy xilol alapú fedőanyaggal a fedés, amire az üveg fedőlemez kerül, végül a metszet alkalmas a vizsgálatra. A reprezentatív kórszövettani képeket Panoramic MIDI

II (3DHistech) metszet scannerrel készítettük, CaseViewer (3DHistech) szoftver segítségével.

3.2. A PCR vizsgálat

Kutatásunk bázisát a macska morbillivírus genetikai anyagának kimutatása képezte, melyhez a RT-PCR vizsgálatot a Patológiai Tanszék laboratóriuma végezte. A PCR egy direkt víruskimutatási módszer, amely képes DNS molekulák mesterséges megsokszorozására, és a DNS egy meghatározott szakaszáról milliós nagyságrendű másolat készítésére polimeráz enzim segítségével. A reakció a hőmérséklet ciklikus változásán alapul, amely során a DNS két szála szétválik, majd a polimeráz enzim a DNS egy meghatározott szakaszáról másolatot készít. A real-time PCR során mindezt valós időben követhetjük, mivel a DNS amplikonjait fluoreszcensen megjelölik, amely könnyen kimutatható a képződő nukleinsavszálak lézeres detektálásával, és a folyamat szemmel követhető számítógép segítségével. A vizsgálat előnye, hogy gyors, specifikus, és segítségével kis mennyiségű DNS is kimutatható. Hátránya, hogy speciális berendezéseket igényel, használata során különös gondot kell fordítani a kontamináció elkerülésére, és szükséges hozzá primer és pozitív kontroll. A primer egy rövid, szimpla szálú nukleinsav szekvencia, amely a kimutatni kívánt vírus genomjának meghatározott részén egy ugyanolyan hosszúságú szakasszal komplementer. A primer tapadási helye jelöli ki a DNS-másolás kezdőpontját. Esetünkben, RNS vírus vizsgálata során, a reakció első lépéseként reverz transzkriptáz enzim írja át a minta RNS-t DNS-re. A pozitív és negatív kontrollokkal a reakció megfelelőségét ellenőrizzük, minden esetben pozitívnak, illetve negatívnak kell lenniük a vizsgálatok során.

A macska morbillivírus kimutatásához a pozitív kontrollt a GenBank® adatbázis adatai alapján a Tanszék tervezte. A GenBank® egy szekvencia adatbázis, amely nyilvános elérhetőséget biztosít több, mint ötvenötezer DNS szekvenciához. A primerhez és a PCR protokollhoz Woo et al. 2012-es cikke szolgált alapul. Az alábbiakban ismertetem a vizsgálat pontos menetét.

Első lépés a minták izolálása a vizsgálatához a -80°C-os tárolás után. A natív vese mintákból PBS-el (phosphate-buffered saline) készült homogenizátumból vagy a tárolt vizeletből kimérünk 200 µl-t, és QIAcube (Qiagen) automatában, QIAamp cador Pathogen Mini Kittel (Qiagen) a gyártó utasításai szerint izoláljuk a nukleinsavat. Ezután következik a mastermix előkészítése RT-PCR-hez: Rotor-Gene SYBR Green RT-PCR Kit (Qiagen)

megfelelő arányú összetevőikhez keverünk 2,5 µl nukleinsav izolátumot PCR csövekbe (1 minta/1 cső), a végtérfogat 25 µl/cső lesz. A vizsgálat kivitelezése Rotor-Gene Q (Qiagen) PCR gépben történik az alábbi protokoll szerint:

- 1 ciklus 5 perc, 95°C (primer aktivációja és bekötése)
- 40 ciklus 5 mp, 95°C (denaturáció) majd 10 mp, 60° C (annelláció és extenzió)
- 1 ciklus 72°C-ról 95°C-ra, 1°C-ként emelve 5 mp-ként

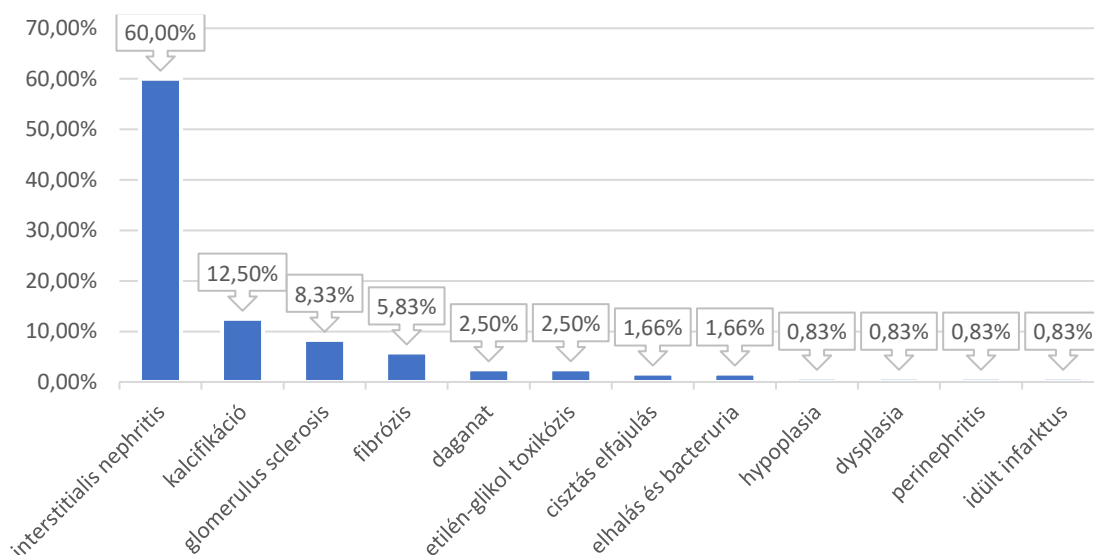
Végül a számítógép diagramjáról leolvasható az eredmény.

4. Eredmények

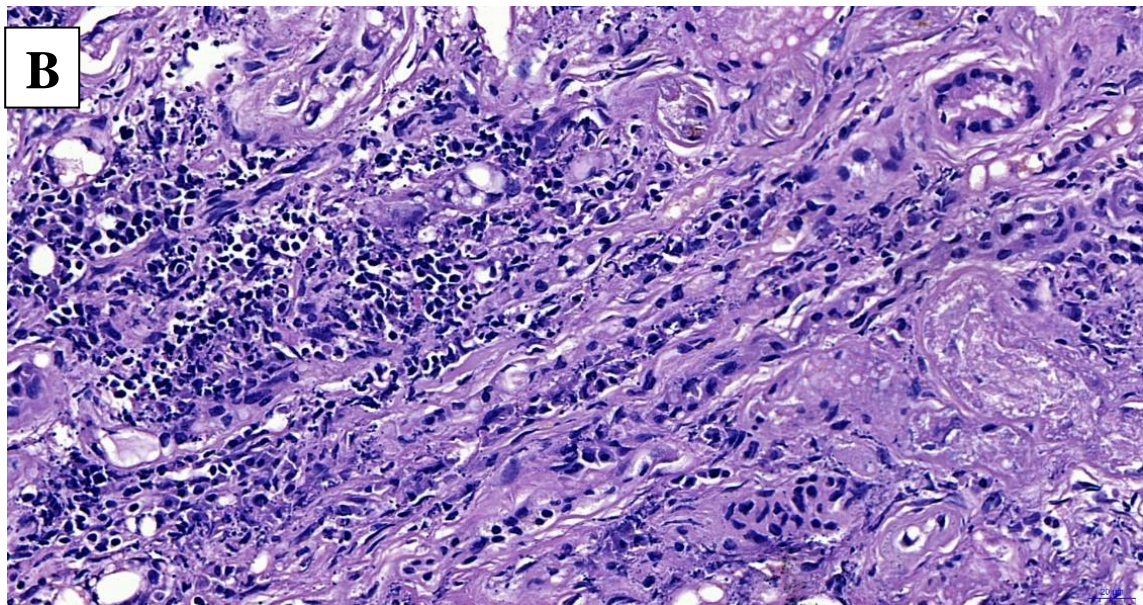
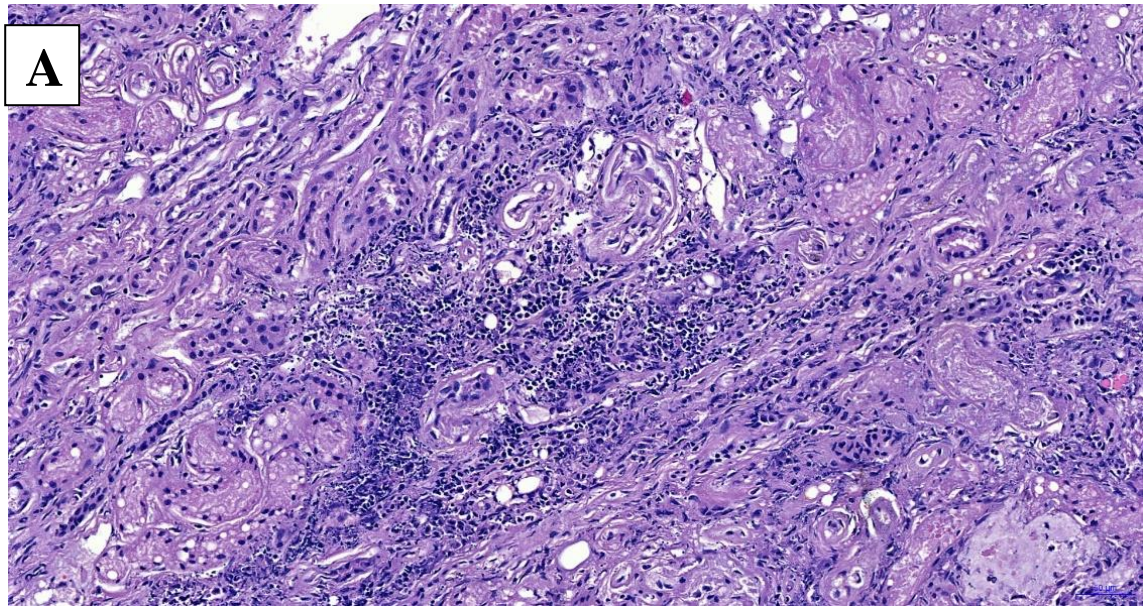
4.1. Kórszövettan

A vesék vizsgálata során többféle patológiás elváltozást is találtunk, gyakran egy metszeten többfélét is (1. diagram). Ugyanakkor a metszetek 27,27%-ban (45/165) nem volt szignifikáns szövettani elváltozás. Az elváltozást mutató 120 vese minta esetében a leggyakoribb lézió a multifokális interstitialis lympho-plasmocytás gyulladás volt. Ez 60%-ban (72/120) fordult elő. A kalcifikáció (15/120), glomerulus sclerosis (10/120) és vesefibrosis (7/120) hasonló gyakorisággal fordultak elő. Három mintában találtunk daganatot és szintén három mintában etilén-glikol toxikózisra utaló elváltozásokat. A legritkább elváltozások a cisztás elfajulás (2/120), elhalás és bacteruria jelei (2/120), hypoplasia (1/120), dysplasia (1/120), perinephritis (1/120) és idült infarktus (1/120) voltak.

A CKD tipikus szövettani megjelenése az idült interstitialis nephritis, a másodlagos glomerulosclerosis és a fibrosis (Brown, Elliott, Schmiedt, & Brown, 2016). Az interstitialis nephritis fő jellemzője a macrophagok megjelenése (5. kép). Számos, a fibrosist támogató anyagot termelnek, pl citokineket. Ennek következtében megnő a kollagén aránya, és a vesék makroszkóposan megkisebbednek. (Vörös et al., 2019)



1. diagram: A patológiás szövettani elváltozások megoszlása az elváltozást mutató metszeteken

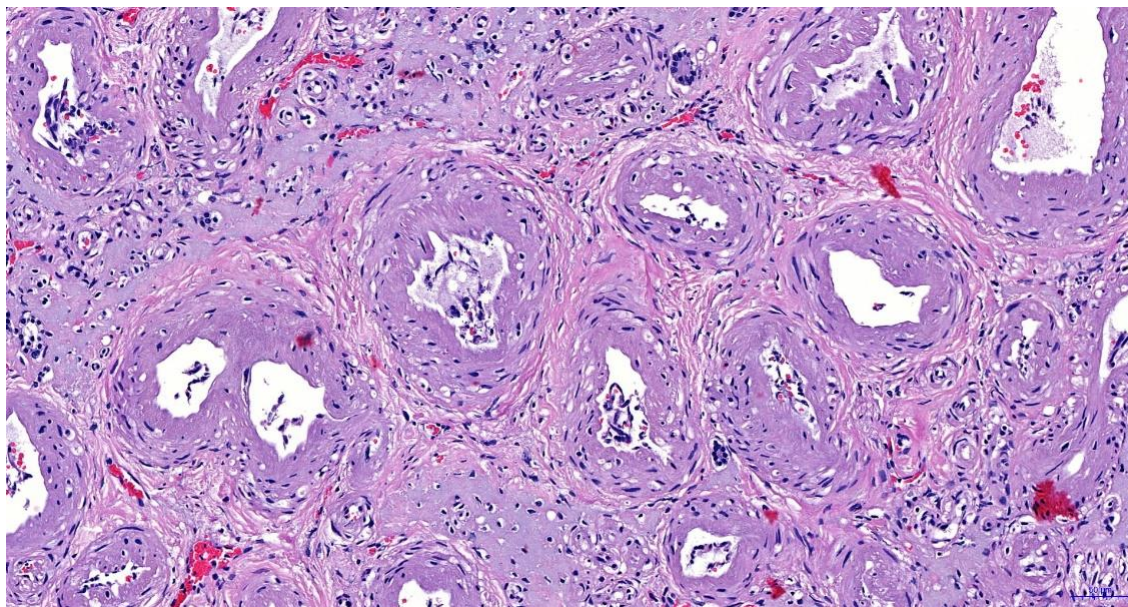


5. kép: Interstitialis lympho-plasmocytás nephritis, hematoxylin-eosin festett metszeten, 200× (A) és 400× (B)

A gyulladásos infiltráció tipikusan lymphocytákból áll, amely a CKD IRIS 1-es stádiumában gyakran az egyetlen előforduló gyulladásos sejttípus. Gyakran keverednek azonban plazmasejtekkel és macrophagokkal, amelyek tipikusan az atrofizált tubulusokat körülvevő interstitiumban helyezkednek el. Ezek a tubulusok a vese kéregállományában gyakran csoportosan fordulnak elő, méretük csökkent, és az alaphártya megvastagodása, gyűrődése vagy elvékonyodása látható.

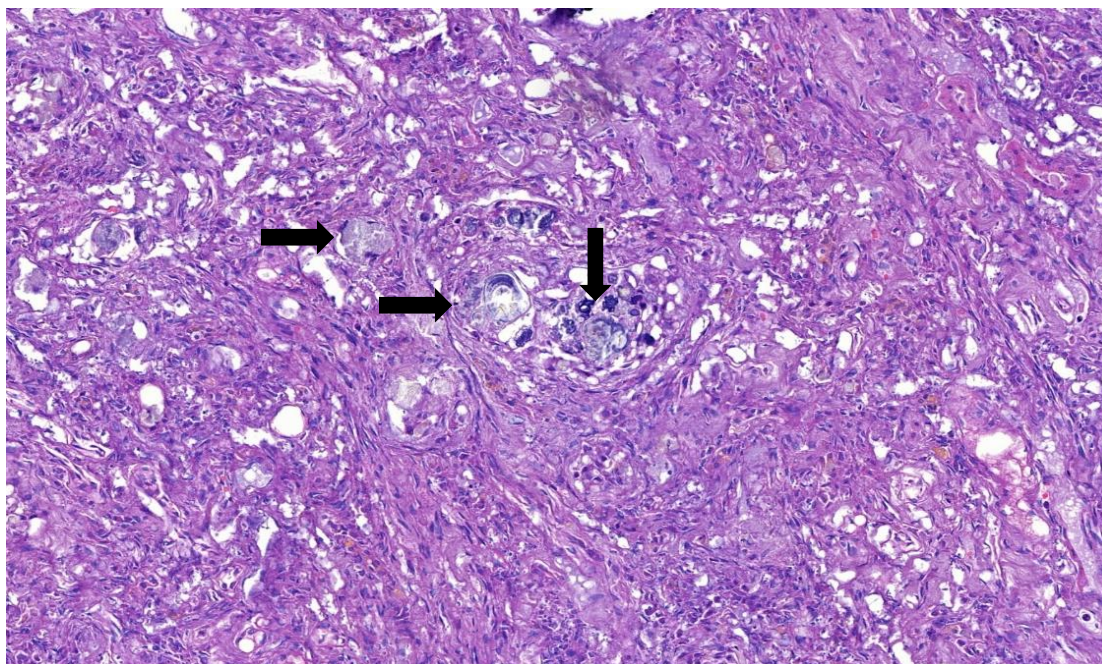
A glomerulus sclerosis a glomerulusok hegesedésével és a podocyták sérülésével jár. Szövettanilag a glomerulusok megnagyobbodása és a mesangiális mátrix kitágulása látható. Ezt nevezzük fokális szegmentális glomerulosclerosisnak. Kutyaikkal összehasonlítva a másodlagos glomerulosclerosis általában viszonylag enyhe fokú macskákban, és CKD-ben a fokális szegmentális glomerulosclerosis hasonlóan viszonylag kevés glomerulust érint. Noha a glomerulosclerosis az idősödő házimacskák normális geriátriai elváltozása, ez egyben olyan patológiai történés, amely jelentősen súlyosbíthatja a CKD progresszióját (Brown et al., 2016).

A vese-fibrosis az idős házimacskák egyik leggyakoribb vese-elváltozása. A fibrosis során az extracelluláris mátrix sejtjei, főként a kollagénrostokat képzők, felszaporodnak a vese interstitiumában (6. kép). Myofibroblast sejtek képződnek, amelyek számos intrinszc faktor mellett átalakítják a vese funkcionális szövetét. Makroszkóposan a vesék megkisebbednek, és tapintásuk tömött lesz. Ezt az elváltozást hívjuk end-stage kidney-nek, azaz „végállapotú vesének” (Stevens, Lowe, & Young, 2002). Az interstitialis fibrosis gyakran az interstitialis gyulladást és a tubuláris atrófiát kíséri, összefüggésben van az azotaemia súlyosságával a krónikus vesebetegségben (Brown et al., 2016).



6. kép: Egyoldali idült vese-fibrosis hematoxylin-eosin festett metszeten (200× nagyítás)

Az etilén-glikol toxikózis során megtaláltuk a kalcium-oxalát kristályokat a tubulusok lumenében három minta esetében (7. kép).



7. kép: Etilén-glikol toxikózis hematoxylin-eosin festett metszeten (200× nagyítás)
A kristályokat nyíl jelöli.

Vesedysplasia során a vese parenchymája rendellenesen fejlődik ki a veseszövet abnormális differenciálódása miatt. Kutyaiban számos fajtában örökletes hátteret bizonyítottak. Macskáknál a vesedysplasiát összefüggésbe hozták a magzatkori panleukopenia vírussal való fertőződéssel (Lawson et al., 2015).

A vesehypoplasia egy ritka, kvalitatív jellegű fejlődési rendellenesség. A vese megkisebbedik a kisebb számú, de szövettanilag ép nephron miatt. A vesehypoplasiát úgy definiálják, hogy vagy az egyik vese 50%-kal kisebb a normálisnál, vagy mindkét vese együttesen kisebb, mint a normális vesetömeg egyharmada (Graves, 2015).

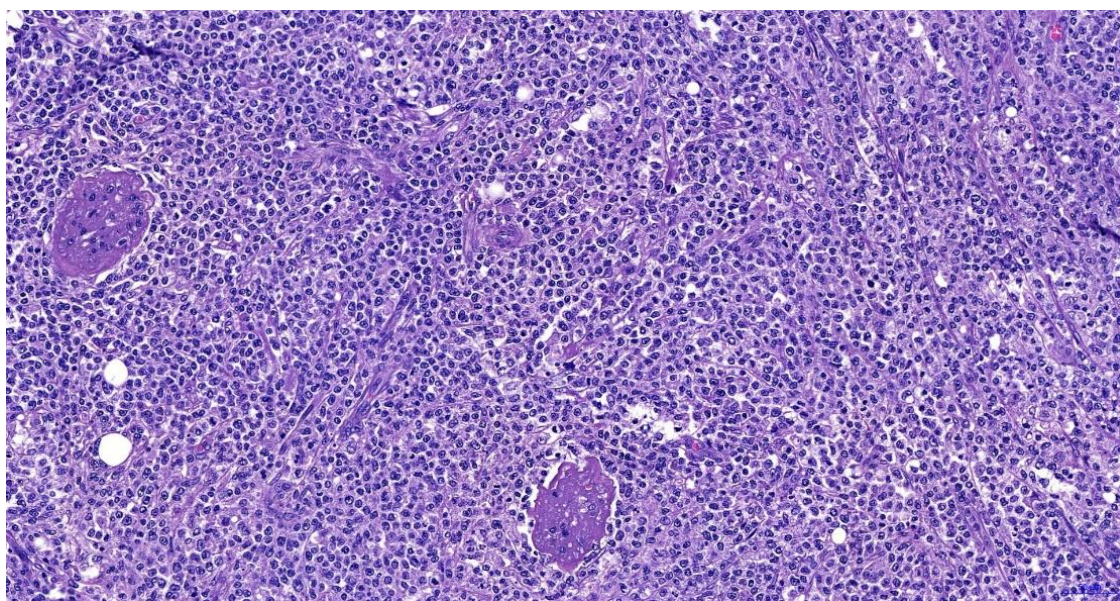
A perinephritis a vesét körülvevő kötőszövet és zsírszövet gyulladása.

Infarktus során koagulációs necrosis alakul ki a veseartéria vagy annak egyik ágának leggyakrabban thromboembóliás elzáródása miatt. Az infarktusos terület halványabban festődik, és demarkálódik a normális vesekéregtől egy hyperaemiás zónával. A necrotikus szövet a macrophagok és neutrophil granulocyták által lebomlik, és a helyét granulációs szövet veszi át (Stevens et al., 2002).

A bacteruria a vizeletben történő baktériumürítést jelenti.

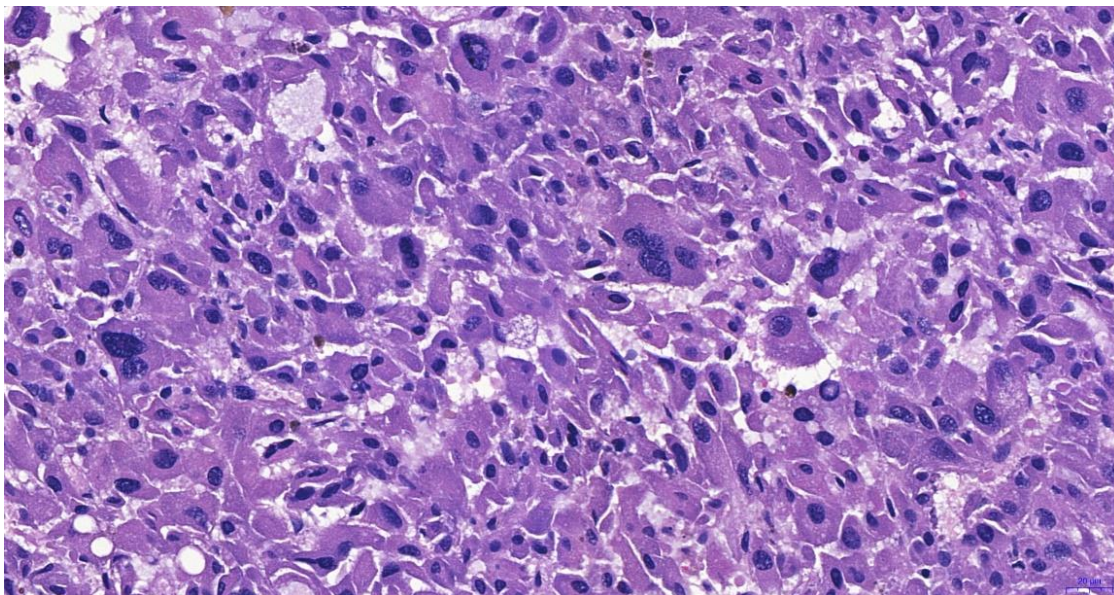
A daganatok közül két mintában is lymphomát találtunk (8. kép), a harmadikban renal cell carcinomát (9. kép).

A macskák tumoros megbetegedéseinek 30%-át a különböző lokalizációjú lymphomák adják. A vese daganatos elváltozásai közül macskákban a lymphoma a leggyakoribb. Az esetetek nagyobb részében nem primer tumor a vesében, hanem áttétként fordul elő (Jubb, Kennedy, & Palmer, 2016). A veselymphomás esetek körülbelül felében a macska FeLV vírussal is fertőzött. A veselymphoma hajlamos áttétet képezni a központi idegrendszerbe. Mindezen komplikációk miatt az átlagos túlélési idő 3–6 hónap ('Lymphoma in Cats - Mar Vista Animal Medical Center', n.d.).



8. kép: Low-grade, diffúz nagy B-sejtes lymphoma, hematoxylin-eosin festés, 200×

A renal cell carcinoma a tubularis hámsejtek malignus daganata, a vese leggyakoribb primer rosszindulatú tumora a legtöbb állatfajban (Stevens, Lowe, & Young, 2002). Ezt a tumorféleséget három altípusba sorolják: papilláris, tubuláris és szolid. Ezek tovább klasszifikálhatók a citológiai tulajdonságaik alapján chromophob, eosinophil és clear cell típusokba. Macskában a leggyakoribb forma a tubuláris és a tubulopapilláris. A csoportok között gyakran van átfedés, sokszor egy adott tumorban többféle altípus sejtei is előfordulnak. Különösen macskában nem tisztázott az altípusok biológiai viselkedése (Matsumoto et al., 2018).



9. kép: Renal cell carcinoma hematoxylin-eosin festett metszeten, 400×

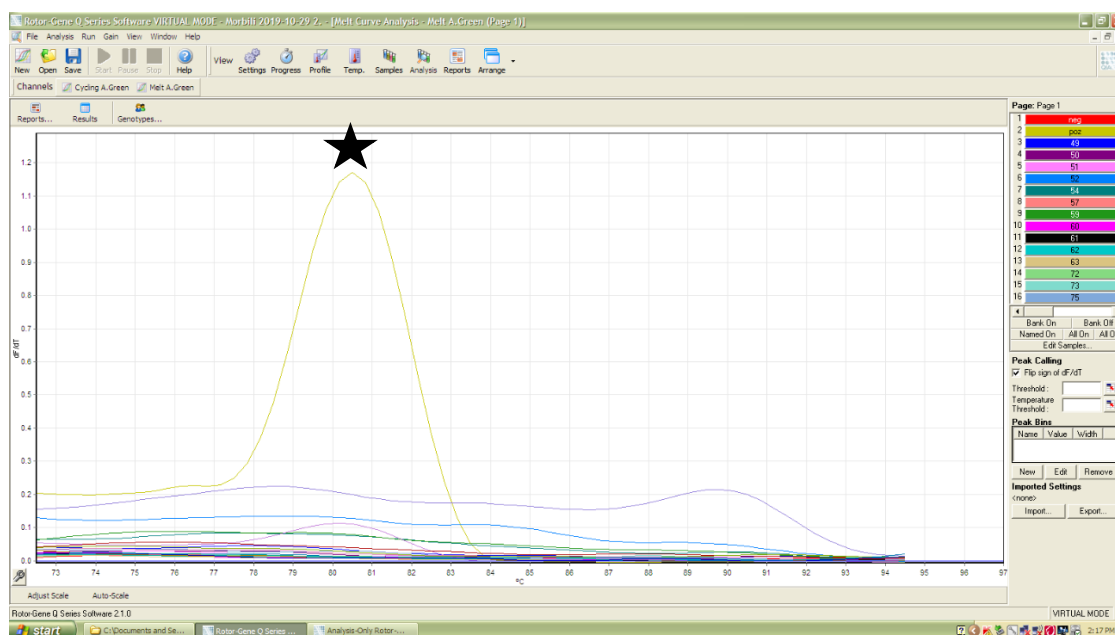
A cisztás elfajulás során a vese állományában egy vagy több cisztát találtunk, amelyek lehetnek ártalmatlanok, ha a vese többi része érintetlen, és a ciszták nem kommunikálnak a gyűjtőcsatornákkal. Azonban összevetve a makroszkópos megjelenéssel, lehetnek a polycisztás vesebetegség részei is.

A polycisztás vesebetegség egy autoszómális domináns öröklődésű betegség perzsa macskában. Világszerte körülbelül 38%-ban érinti a perzsa és perzsa keverék macskákat. Mostanában fedezték fel a feline PKD1 gén mutációját, amelyet felelőssé tesznek a betegség kialakulásáért. Az érintett macskákban számos ciszta alakul ki mindkét vesében és ritkán a májban is. Az élet első heteiben megjelennek, és a kor előrehaladtával egyre több és nagyobb ciszta képződik, ezzel vesemegnagyobbodást okozva. Gyakran a fizikális vizsgálat során ezt az egyetlen rendellenességet tapasztalhatjuk az egyébként egészségesnek tűnő macskákon. A következményes veseelégtelenség átlagosan 7 éves kor körül fejlődik ki (Lawson et al., 2015).

A kalcifikáció a kalcium-sók abnormális lerakódása a lágy szövetekben. Enyhe mértékben nem okoz problémát, azonban nagyobb mértékű lerakódás esetén hatással lehet a vesefunkcióra. Macskákban a magas foszfortartalmú diétát hozták összefüggésbe a vese kalcifikációjával (Lawson et al., 2015).

4.2. A PCR-vizsgálat

A PCR vizsgálat során a macska morbillivírus RNS anyagát sem a 120 vizeletmintából, sem a 165 vesemintából nem tudtuk kimutatni (0/285). A pozitív kontroll minden vizsgálat során működött, pozitív csúcsot eredményezve az olvadási görbén (10. kép).



10. kép: Az olvadási görbe ábrázolása grafikonon negatív eredmény során a pozitív kontroll kiugró csúcsával (csillag)

5. Következtetések

A szövettani elváltozások tekintetében a macskákban leggyakrabban leírt elváltozásokat találtuk meg. A vizsgált populációban a tubulointerstitialis nephritis, glomerulus sclerosis és vesefibrosis volt a leggyakoribb. A tumoros elváltozások közül a macskák leggyakoribb vesedaganatát, veselymphomát találtunk több esetben is. A Magyarországon gyakori etilén-glikol (fagyálló általi) mérgezés jeleit is tapasztaltuk a metszetek kórszövettani vizsgálata során.

A fejlődési rendellenességek bizonyultak a legritkébbnek, ami tükrözi sporadikus előfordulásukat.

Woo et al. a tubulointerstitialis nephritist hozta összefüggésbe a FmoPV-al, és az általunk megvizsgált szövettani metszetekben is a TIN volt a leggyakoribb elváltozás. Ám egyik ilyen mintából sem tudtuk kimutatni a macska morbillivírusát.

A szakirodalom alapján Ázsiában gyakrabban fordul elő a vírus, mint Európában. Woo et al. (2012) és Mohd Isa et al. (2019) tudták kimutatni a legtöbb FmoPV-pozitív esetet (56/456 és 82/208). Ezek a tanulmányok jelentősen több mintában tudták izolálni a vírust Ázsiában, összehasonlítva Japánnal: 5/82 (Furuya et al., 2014), 5/13 (Sakaguchi et al., 2014), 22/100 (Park et al., 2016) és Törökországgal: 6/111 (Yilmaz et al., 2017).

Az USA-ban is csekély (10/327) számú pozitív mintát találtak (Sharp et al., 2016). Európában inkább esettanulmányok jelentek meg, illetve a hozzánk földrajzilag legközelebb eső Németországban (Sieg et al., 2018) és az Egyesült Királyságban (McCallum et al., 2018) a vizsgált pozitív minták száma egyaránt nem érte el a tízet (8/120 és 9/64).

A PCR vizsgálatok negatív eredményéből arra lehet következtetni, hogy a macska morbillivírusa nem, vagy csak ritkán fordul elő hazánkban. Habár elég nagy mintaszámmal dolgoztunk (165 vese és 120 vizelet minta), konklúzió levonására ez nem elegendő. Azt állapíthatjuk meg, hogy a vizsgált populációban nem fordul elő a FmoPV. A negatív eredmények miatt a macska morbillivírus fertőzöttség és a TIN közötti esetleges összefüggést nem tudtuk megállapítani. Az eredmények azt sugallják, hogy hazánkban valószínűleg nem kell az elsők között számolni a macska morbillivírus kórtani szerepével, amennyiben CKD tüneteit mutató beteg macskával találkozunk.

Mivel az általunk használt RT-PCR protokoll és primerek már publikálásra kerültek, és működtek, valamint a jelen vizsgálatban is a pozitív és negatív kontroll minták minden esetben megfelelően működtek, így annak kicsi a valószínűsége, hogy technikai

hiba miatt kaptunk volna fals negatív eredményeket. Továbbá a RT-PCR módszer magas szenzitivitása és specificitása miatt az sem valószínű, hogy alacsony vírustiter/kópiaszám miatt bármelyik minta fals negatív eredményt mutatott volna.

A hazai előfordulás vizsgálatára javasolható egy hosszabb időperiódus alatt gyűjtött, nagyobb mintaszámú vizsgálat a jövőben, amelyben a részt vevő macskák az ország különböző tájegységeiről származnak, különböző (kinti és benti) tartási móddal. Javasolható továbbá nagy mintaszámú élő állatos prospektív kutatás indítása is, ahol egészséges, illetve veseelégtelenségben szenvedő macskák cystocentesissal nyert vizeletét lehetne vizsgálni (esetleg vérmintákat).

Összefoglalás

A macska morbillivírusa (FmoPV) egy 2012-ben Hongkongban újonnan felfedezett paramyxovírus, amelyet összefüggésbe hoztak a macskák tubulointerstitialis nephritisével (TIN), vesefibrosisával, és a krónikus vesebetegséggel, amely az idős házimacskák egyik leggyakoribb elhullási oka. Ez az első felfedezett házimacskákat is fertőző morbillivírus, amelynek kórtani szerepét még vizsgálják. Az első leírt eset óta a vírust világszerte több országban izolálták macskák vizeletmintáiból és veseszövet mintáiból, esetenként vérmintából. Hongkongi felfedezése óta Japánban, Olaszországban, Németországban, az Amerikai Egyesült Államokban, Thaiföldön, Brazíliában, az Egyesült Királyságban és Malajziában írták le. Kutatásunk célja az volt, hogy hazánkban is vizsgálatokat végezzünk a macska morbillivírusának kimutatására. Az Állatorvostudományi Egyetem Patológiai Tanszékére beérkező, véletlenszerűen kiválasztott, felnőtt és kölyök elhullott macskák 120 vizelet és 165 vesemintáját vizsgáltuk real-time polimeráz láncreakciós (RT-PCR) módszerrel, illetve a vesékből készült metszeteken kórszövettani vizsgálatot is végeztünk hematoxylin-eosin festéssel. A RT-PCR vizsgálatok minden minta esetében negatívnak bizonyultak (0/285). A kórszövettani metszeteken 120/165 mintán találtunk elváltozást. A leggyakoribb elváltozás a tubulointerstitialis nephritis volt (72/120), de gyakran előfordult még a glomerulus sclerosis (10/120) és a vesefibrosis (7/120) is. Néhány mintában találtunk daganatot (3/120) és etilén-glikol toxikózisra utaló elváltozásokat (3/120). A legritkébb elváltozások a cisztás elfajulás (2/120), elhalás és bacteruria jelei (2/120), hypoplasia (1/120), dysplasia (1/120), perinephritis (1/120) és idült infarktus (1/120) voltak.

A szövettani eredmények megfelelnek a macskákban leggyakrabban található elváltozásoknak. A PCR vizsgálatok negatív eredményéből arra lehet következtetni, hogy a macska morbillivírusa nem, vagy csak ritkán fordul elő hazánkban. A negatív eredmények miatt a FmoPV fertőzés és a TIN közötti esetleges összefüggést nem tudtuk megállapítani. Az eredmények azt sugallják, hogy hazánkban valószínűleg nem kell az elsők között számolni a macska morbillivírus kórtani szerepével, amennyiben krónikus vesebetegség tüneteit mutató beteg macskával találkozunk. A hazai előfordulás további mérésére javasolható egy nagyobb mintaszámú, elnyújtottabb időszak alatt gyűjtött populáció vizsgálata, ahol a részt vevő egyedek az ország különböző földrajzi területeiről származnak különböző tartási móddal.

Summary–Prevalence study of feline morbillivirus in Hungary

Feline morbillivirus (FmoPV) is a newly isolated paramyxovirus, first discovered in Hongkong in 2012, and was connected with feline tubulointerstitial nephritis (TIN), kidney fibrosis, and chronic kidney disease, which is one of the most frequent death causes of aging cats. This is the first discovered morbillivirus which infects domestic cats, however, its pathological role is still under research. Since Woo et al.'s first publication, the virus was isolated in many countries worldwide, such as Japan, Italy, Germany, United States of America, Thailand, Brazil, United Kingdom and Malaysia. The current study's aim was to perform an examination in order to isolate feline morbillivirus in Hungary too. Randomly selected dead adult cats' and kittens' 120 urine samples and 165 kidney tissues from the Department of Pathology of the University of Veterinary Medicine Budapest were tested by real-time polymerase chain reaction (RT-PCR). Also histopathological examination was performed on the kidney tissues with hematoxylin-eosin staining. RT-PCR was proved to be negative for all the samples (0/285). Regarding the histopathological samples, 120/165 showed some pathological changes. The most common one was tubulointerstitialis nephritis (72/120), but we often found glomerulus sclerosis (10/120) and renal fibrosis (7/120) also. We found tumours as well in some samples (3/120) and lesions referring to ethylene-glycol toxicosis (3/120). The rarest abnormalities were cystic degeneration (2/120), necrosis and signs of bacteruria (2/120), hypoplasia (1/120), dysplasia (1/120), perinephritis (1/120), and chronic infarct (1/120). The negative PCR results suggest that FmoPV is not or only rarely found in Hungary. Due to the negative results, a possible association between FmoPV infection and TIN could not be established. The results suggest that the pathological role of feline morbillivirus is probably not one of the first to be considered in our country if we encounter a diseased cat with symptoms of CKD. Further studies with a larger number of samples collected from the country's different regions from cats with different keeping conditions, during a more extended period of time are recommended to examine whether feline morbillivirus infection exists in Hungary.

Irodalom

- Arikawa, K., Wachi, A., Imura, J., Sutummaporn, K., Kai, C., Park, E., Morikawa, S., Uematsu, Y., Yamaguchi, T., Furuya, T., 2017. Development of an ELISA for serological detection of feline morbillivirus infection. *Arch. Virol.* 162 (8).
- Beatty, J.A., Sharp, C.R., Duprex, W.P., Munday, J.S., 2019. Novel Feline Viruses-Emerging significance of gammaherpesvirus and morbillivirus infections. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 21.
- Brown, C.A., Elliott, J., Schmiedt, C.W., Brown, S.A., 2016. Chronic Kidney Disease in Aged Cats: Clinical Features, Morphology, and Proposed Pathogeneses. *Vet. Pathol.* 53, 309–326. <https://doi.org/10.1177/0300985815622975>
- Darold, G.M., Alfieri, A.A., Muraro, L.S., Amude, A.M., Zanatta, R., Yamauchi, K.C.I., Alfieri, A.F., Lunardi, M., 2017. First report of feline morbillivirus in South America. *Arch. Virol.* 162, 469–475. <https://doi.org/10.1007/s00705-016-3124-0>
- De Luca, E., Crisi, P.E., Di Domenico, M., Malatesta, D., Vincifori, G., Di Tommaso, M., Di Guardo, G., Di Francesco, G., Petrini, A., Savini, G., Boari, A., Lorusso, A., 2018. A real-time RT-PCR assay for molecular identification and quantitation of feline morbillivirus RNA from biological specimens. *Journal of Virological Methods* 258, 24–28. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2018.05.002>
- De Vries, R.D., Duprex, W.P., De Swart, R.L., 2015. Morbillivirus Infections: An Introduction. *Viruses* 7, 699–706. <https://doi.org/10.3390/v7020699>
- Donato, G., De Luca, E., Crisi, P.E., Pizzurro, F., Masucci, M., Marcacci, M., Cito, F., Di Sabatino, D., Boari, A., D'Alterio, N., Pennisi, M.G., Lorusso, A., 2019. Isolation and genome sequences of two Feline Morbillivirus genotype 1 strains from Italy. *Vet. Ital.* 55, 179–182. <https://doi.org/10.12834/VetIt.1847.9883.1>
- Ettinger, S.J., Feldman, E.C., Cote, E., 2017. Textbook of veterinary internal medicine: diseases of the dog and the cat, eighth edition/Stephen J. Ettinger, Edward C. Feldman, Etienne Cote, Eighth edition. ed. Elsevier.
- Furuya, T., Morikawa, S., Miyazawa, T., 2016a. Discovery and current research status of feline morbillivirus. *Uirusu* 66, 147–154. <https://doi.org/10.2222/jsv.66.147>
- Furuya, T., Sassa, Y., Omatsu, T., Nagai, M., Fukushima, R., Shibutani, M., Yamaguchi, T., Uematsu, Y., Shiota, K., Mizutani, T., 2014. Existence of feline morbillivirus infection in Japanese cat populations. *Arch Virol* 159, 371–373. <https://doi.org/10.1007/s00705-013-1813-5>
- Furuya, T., Wachi, A., Sassa, Y., Omatsu, T., Nagai, M., Fukushima, R., Shibutani, M., Yamaguchi, T., Uematsu, Y., Shiota, K., Mizutani, T., 2016b. Quantitative PCR detection of feline morbillivirus in cat urine samples. *J. Vet. Med. Sci.* 77, 1701–1703. <https://doi.org/10.1292/jvms.15-0112>

Graves, E.A., 2015. Chapter 105 - Congenital Disorders of the Urinary Tract, in: Sprayberry, K.A., Robinson, N.E. (Eds.), *Robinson's Current Therapy in Equine Medicine* (Seventh Edition). W.B. Saunders, St. Louis, pp. 445–447. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-4555-5.00105-9>

International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) [WWW Document], n.d. URL <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/> (accessed 9.28.19).

IRIS Kidney - Education - IRIS Staging System [WWW Document], n.d. URL http://www.iris-kidney.com/education/staging_system.html (accessed 9.25.19).

IRIS Kidney - Guidelines - IRIS Staging of CKD [WWW Document], n.d. URL <http://www.iris-kidney.com/guidelines/staging.html> (accessed 10.21.19).

IRIS_Staging_of_CKD_modified_2019.pdf, n.d.

Jubb, K.V.F., Kennedy, P.C., Palmer, N.C., 2016. Jubb, Kennedy, and Palmer's pathology of domestic animals / edited by M. Grant Maxie—Sixth edition, Sixth Edition. ed. Elsevier.

Koide, R., Sakaguchi, S., Miyazawa, T., 2015. Basic biological characterization of feline morbillivirus. *J. Vet. Med. Sci.* 77, 565–569. <https://doi.org/10.1292/jvms.14-0623>

Lau, S.K.P., Woo, P.C.Y., Wong, B.H.L., Wong, A.Y.P., Tsoi, H.-W., Wang, M., Lee, P., Xu, H., Poon, R.W.S., Guo, R., Li, K.S.M., Chan, K.-H., Zheng, B.-J., Yuen, K.-Y., 2010. Identification and complete genome analysis of three novel paramyxoviruses, Tuhoko virus 1, 2 and 3, in fruit bats from China. *Virology* 404, 106–116. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2010.03.049>

Lawson, J., Elliott, J., Wheeler-Jones, C., Syme, H., Jepson, R., 2015. Renal fibrosis in feline chronic kidney disease: Known mediators and mechanisms of injury. *The Veterinary Journal* 203, 18–26. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.10.009>

Lorusso, A., Di Tommaso, M., Di Felice, E., Zaccaria, G., Luciani, A., Marcacci, M., Aste, G., Boari, A., Savini, G., 2015. First report of feline morbillivirus in Europe. *Vet. Ital.* 51, 235–237. <https://doi.org/10.12834/VetIt.833.4136.2>

Lowell Ackerman DVM, D., 2015. Tufts' Canine and Feline Breeding and Genetics Conference, 2005. VIN.com.

Lymphoma in Cats - Mar Vista Animal Medical Center [WWW Document], n.d. URL <https://www.marvistavet.com/lymphoma-in-cats.pml> (accessed 11.12.19).

Marcacci, M., De Luca, E., Zaccaria, G., Di Tommaso, M., Mangone, I., Aste, G., Savini, G., Boari, A., Lorusso, A., 2016. Genome characterization of feline morbillivirus from Italy. *J. Virol. Methods* 234, 160–163. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2016.05.002>

Matsumoto, I., Chambers, J.K., Nibe, K., Kinoshita, R., Nishimura, R., Nakayama, H., Uchida, K., 2018. Histopathologic and Immunohistochemistry Findings in Feline Renal Cell Carcinoma. *Vet Pathol* 55, 663–672. <https://doi.org/10.1177/0300985818776055>

McCallum, K.E., Stubbs, S., Hope, N., Mickleburgh, I., Dight, D., Tiley, L., Williams, T.L., 2018. Detection and seroprevalence of morbillivirus and other paramyxoviruses in geriatric

cats with and without evidence of azotemic chronic kidney disease. *J. Vet. Intern. Med.* 32, 1100–1108. <https://doi.org/10.1111/jvim.15097>

Mohd Isa, N.H., Selvarajah, G.T., Khor, K.H., Tan, S.W., Manoraj, H., Omar, N.H., Omar, A.R., Mustaffa-Kamal, F., 2019. Molecular detection and characterisation of feline morbillivirus in domestic cats in Malaysia. *Veterinary Microbiology* 236, 108382. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2019.08.005>

Park, E.-S., Suzuki, M., Kimura, M., Mizutani, H., Saito, R., Kubota, N., Hasuike, Y., Okajima, J., Kasai, H., Sato, Y., Nakajima, N., Maruyama, K., Imaoka, K., Morikawa, S., 2016. Epidemiological and pathological study of feline morbillivirus infection in domestic cats in Japan. *BMC Vet. Res.* 12, 228. <https://doi.org/10.1186/s12917-016-0853-y>

Sakaguchi, S., Nakagawa, S., Yoshikawa, R., Kuwahara, C., Hagiwara, H., Asai, K., Kawakami, K., Yamamoto, Y., Ogawa, M., Miyazawa, T., 2014. Genetic diversity of feline morbilliviruses isolated in Japan. *J. Gen. Virol.* 95, 1464–1468. <https://doi.org/10.1099/vir.0.065029-0>

SDMA case study: Bess - IDEXX South Africa [WWW Document], n.d. URL <https://www.idexx.co.za/en-za/veterinary/reference-laboratories/sdma/sdma-bess-case-study/> (accessed 10.24.19).

Sharp, C.R., Nambulli, S., Acciardo, A.S., Rennick, L.J., Drexler, J.F., Rima, B.K., Williams, T., Duprex, W.P., 2016. Chronic Infection of Domestic Cats with Feline Morbillivirus, United States. *Emerging Infect. Dis.* 22, 760–762. <https://doi.org/10.3201/eid2204.151921>

Sieg, M., Busch, J., Eschke, M., Böttcher, D., Heenemann, K., Vahlenkamp, A., Reinert, A., Seeger, J., Heilmann, R., Scheffler, K., Vahlenkamp, T.W., 2019. A New Genotype of Feline Morbillivirus Infects Primary Cells of the Lung, Kidney, Brain and Peripheral Blood. *Viruses* 11. <https://doi.org/10.3390/v11020146>

Sieg, M., Heenemann, K., Rückner, A., Burgener, I., Oechtering, G., Vahlenkamp, T.W., 2015. Discovery of new feline paramyxoviruses in domestic cats with chronic kidney disease. *Virus Genes* 51, 294–297. <https://doi.org/10.1007/s11262-015-1232-7>

Sieg, M., Vahlenkamp, A., Baums, C.G., Vahlenkamp, T.W., 2018. First Complete Genome Sequence of a Feline Morbillivirus Isolate from Germany. *Genome Announc* 6. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00244-18>

Stevens, A., Lowe, J.S., Young, B., 2002. *Wheater's basic histopathology, a colour atlas and text*, Fourth edition. ed. Elsevier Science Limited.

Stranieri, A., Lauzi, S., Dallari, A., Gelain, M.E., Bonsembiante, F., Ferro, S., Paltrinieri, S., 2019. Feline morbillivirus in Northern Italy: prevalence in urine and kidneys with and without renal disease. *Vet. Microbiol.* 233, 133–139. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2019.04.027>

Sutummaporn, K., Suzuki, K., Machida, N., Mizutani, T., Park, E., Morikawa, S., Furuya, T., 2019. Association of feline morbillivirus infection with defined pathological changes in cat kidney tissues. *Veterinary Microbiology* 228, 12–19. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2018.11.005>

Varga, J., Rusvai, M., Fodor, L., 2018. A háziállatok fertőző betegségei, Budapest, 2018. ed. MÁOK Kft., a Magyar Állatorvosi Kamara gazdasági társasága.

Vörös, K., Bende, B., Falus, F., Dudás Györki, Z., Dr. Gaál, T., Jerzsele, Á., Kungl, K., Magdus, M., Manczur, F., Máthé, Á., Pápa, K., Psáder, R., Sterczer, Á., Tarpataki, N., Vajdovich, P., Vizi, Z., 2019. Állatorvosi belgyógyászat, A kutyák és a macskák betegségei, Budapest, 2019. ed. MÁOK Kft., a Magyar Állatorvosi Kamara gazdasági társasága

Why SDMA Matters - IDEXX US [WWW Document], n.d. URL <https://www.idexx.com/en/veterinary/reference-laboratories/sdma/why-sdma-matters/> (accessed 9.25.19).

Woo, P.C.Y., Lau, S.K.P., Wong, B.H.L., Fan, R.Y.Y., Wong, A.Y.P., Zhang, A.J.X., Wu, Y., Choi, G.K.Y., Li, K.S.M., Hui, J., Wang, M., Zheng, B.-J., Chan, K.H., Yuen, K.-Y., 2012. Feline morbillivirus, a previously undescribed paramyxovirus associated with tubulointerstitial nephritis in domestic cats. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109, 5435–5440. <https://doi.org/10.1073/pnas.1119972109>

Yilmaz, H., Tekelioglu, B.K., Gurel, A., Bamac, O.E., Ozturk, G.Y., Cizmecigil, U.Y., Altan, E., Aydin, O., Yilmaz, A., Berriatua, E., Helps, C.R., Richt, J.A., Turan, N., 2017. Frequency, clinicopathological features and phylogenetic analysis of feline morbillivirus in cats in Istanbul, Turkey. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 19, 1206–1214. <https://doi.org/10.1177/1098612X16686728>

Köszönetnyilvánítás

Szeretném megköszönni dr. Szilasi Annának, hogy negyedév végén elvállalta a témavezetői felkérésemet és végig segítséget nyújtott a dolgozat elkészítésében.

Továbbá köszönettel tartozom Pop Renátának a Patológiai Tanszék kórszövettani laboratóriumából, aki elkészítette a szövettani metszeteket, és Schönhardt Kitti laborasszisztensnek a Molekuláris biológiai laboratóriumból, aki a PCR vizsgálatokat végezte. Nélkülük diplomamunkám kutatása nem jöhetett volna létre.

Végezetül köszönöm anyukámnak, barátaimnak és a páromnak, hogy támogattak, és átolvasták a munkám.

HuVetA
ELHELYEZÉSI MEGÁLLAPODÁS ÉS SZERZŐI JOGI NYILATKOZAT*

Név: KEMES KATALIN
Elérhetőség (e-mail cím): kemes.kati3@gmail.com
A feltöltendő mű címe: MACSKA MORBILLIV(RUS. HAZA) ELŐFORDULÁSÁNAK
VIZSGÁLATA
A mű megjelenési adatai: 2019
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 másolásvédett 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 törvénytisztító módon visszaélne.

Budapest, 2019. év11.....hó18.....nap

Nemes Katalin

aláírás

szerző/a szerzői jog tulajdonosa

A HuVetAMagyar Állatorvos-tudományi Archívum – Hungarian Veterinary Archive az Állatorvostudományi Egyetem Hutýra 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.*

Konzulensi ellenjegyzés

Alulírott Dr. Szilasi Anna igazolom, hogy

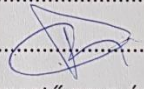
Nemes Katalin (a hallgató neve)

Magda Montillinos László előfordulásának
megszüntetése

című diplomamunkáját ismerem, azt beadásra és védésre alkalmasnak tartom.

Budapest, 2019. 11. 19.

Dr. Szilasi Anna



a témavezető neve és aláírása

Patológiai Tanszék

.....

tanszék