

Szent István Egyetem
Állatorvos-tudományi Doktori Iskola

**Kutyák és macskák húgykövességének epidemiológiai
vizsgálata Magyarországon**

PhD értekezés

Dr. Bende Balázs

2015

Témavezető és témabizottsági tagok:

.....
Prof. Dr. Németh Tibor PhD, dipl. ECVS

tanszékvezető egyetemi tanár

Szent-István Egyetem Állatorvostudományi Kar, Sebészeti és Szemészeti Tanszék és
Klinika

témavezető

Készült 8 példányban. Ez a n.sz. példány.

.....
Dr. Bende Balázs

Tartalomjegyzék

1. Összefoglalás	7
2. Bevezetés és irodalmi áttekintés.....	9
2.1. A húgykövek képződésének folyamata.....	9
2.1.1. Kristályképződés a vizeletben	9
2.1.2. A kőképződés mechanizmusának elméleti alapjai, okai.....	11
2.2. A kövek összetételének vizsgálata, kőanalízis.....	13
2.2.1. A kövek szerkezete, a kőtípus meghatározása	14
2.2.2. A kőanalízis módszerei.....	16
2.3. Kőtípusok és kialakulásuk háttértényezői	19
2.3.1. Köveket alkotó ásványi anyagok kutyákban és macskákban.....	19
2.3.2. Gyakori kövességek háttértényezői kutyákban	19
2.3.2.1. Struvit.....	19
2.3.2.2. Kalcium-oxalát (CaOx).....	20
2.3.2.3. Purinok.....	21
2.3.2.4. Cisztin	22
2.3.2.5. Kalcium-foszfátok	24
2.3.2.5.1. Ortofoszfátok.....	24
2.3.2.5.2. Hidrogén-foszfátok.....	24
2.3.2.6. Szilikát	25
2.3.3. Gyakori kövességek háttértényezői macskákban	26
2.3.3.1. Struvit.....	26
2.3.3.2. Kalcium-oxalátok	27
2.3.3.3. Purin	27
2.3.3.4. Cisztin	28
2.3.3.5. Egyéb típusok	29
3. Kutyák húgykövességének epidemiológiája és a kövességgel érintett kutyafajták a magyarországi populációban	30
3.1. Bevezetés	30
3.2. Anyag és módszer.....	30
3.3. Eredmények:.....	31
3.3.1. A kövek típusa és a betegek ivar és kor szerinti megoszlása	31
3.3.2. A különböző típusú kövességgel érintett fajták	31
3.3.3. A kövesség incidenciája	31
3.3.4. A különböző típusú kövek arányának változása 2001 és 2012 között	32
3.3.5. A kutyafajták populáción belüli aránya, különös tekintettel a kövességgel érintett fajtákra	32

3.4. Megbeszélés:	33
3.4.1. A különböző típusú kövességek előfordulása	33
3.4.2. A fajták érintettsége	33
3.4.3. Struvitkövesség	33
3.4.4. Oxalátkövesség	34
3.4.5. Purinkövesség	35
3.4.6. Cisztinkövesség	36
3.4.7. A kövesség incidenciája	36
3.4.8. A kőtípusok arányának változása 2001 és 2012 között	37
3.4.9. A fajták előfordulásának populáción belüli változása és ezek hatásának értékelése	38
3.5. Limitációk:	39
3.5.1. Az adatok teljességének kérdése	39
3.5.2. A kőanalízis módszerének kérdése	40
3.5.3. A fajták meghatározásának kérdése	40
3.5.4. Populációs adatbázisok összehasonlításának kérdése	40
3.5.5. Statisztikai elemzés elvi alapjainak kérdése	41
4. A purin húgykövességet okozó öröklődő betegség, a hyperuricosuria prevalenciájának vizsgálata a purinkövességgel érintett kutyákban	48
4.1. Bevezetés:	48
4.2. Anyag és módszer:	49
4.2.1. Kőanalízis, betegek kiválasztása	49
4.2.2. DNS-vizsgálat	49
4.3. Eredmények:	50
4.4. Megbeszélés:	50
5. A macskák húgykövességének epidemiológiai vizsgálata	53
5.1. Bevezetés:	53
5.2. Anyag és módszer	53
5.3. Eredmények	54
5.3.1. Kőtípusok megoszlása	54
5.3.2. A fajta, a kor és az ivar megoszlása kőtípusonként	54
5.4. Megbeszélés:	55
5.4.1. A megfigyelt tendenciák összehasonlítása	55
5.4.2. A kőtípus és a kor kapcsolata	57
5.4.3. A kövesség és az ivar kapcsolata	57
5.4.4. A kőtípus és az ivar kapcsolata	57

5.4.5. A kőtípus és a fajta kapcsolata.....	57
6. Új tudományos eredmények	65
7. Irodalom	66
8. A doktori kutatás eredményeinek közlései	73
9. Köszönetnyilvánítás	75
10. Függelék	77

Rövidítések jegyzéke:

ATR	Attenuated Total Internal Reflection / csökkentett teljes belső visszaverődés
AU	Ammónium-urát
BUC	Budapesti Urolith Centrum
CaOx	Kalcium-oxalát
CI	konfidencia intervallum
COD	kalcium-oxalát-dihidrát
COM	kalcium-oxalát-monohidrát
DHA	2,8-dihidroxi-adenin
EDAX	Energy Dispersive X-ray Analysis
FIC	Feline Idiopathic Cystitis / macskák idiopátiás húgyhólyaggyulladás
FLUTD	Feline Lower Urinary Tract Disease/ macskák alsóhúgyúti betegsége
FTIR	Fourier-transzformációs infravörös spektroszkópia
Hs	húgysav
HUU	hyperuricosuria
IRC	krónikus veseelégtelenség
NaU	Nátrium-hidrogén-urát
NÉBIH	Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal
OFT	orosz fekete terrier
OMIA	Online Mendelian Inheritance in Animals, katalógus számok (hivatkozást lásd a 7. Fejezet végén, internetes források, 72. oldal)
OR	esélyhányados
PSS	Porto-Systemic Shunt/portális és szisztémás keringés közötti sönt
RTA	renális tubuláris acidózis
SEM	Scanning electron microscopy / pásztázó elektronmikroszkóp
UMKA	ultramikro-kémiai analízis
UTI	Urinary Tract Infection/húgyúti fertőzés
VGL	Veterinary Genetics Laboratory (UC Davis, California, USA)

1. Összefoglalás

A Budapesti Urolith Centrumba 2001 és 2012 között, Magyarország egész területéről állatorvosok által beküldött, kutyákból származó 2543 húgykő (továbbiakban kő) összetételének vizsgálati eredményeinek részben retrospektív, részben prospektív feldolgozásával megállapítottuk a különböző kőtípusok előfordulását. Kimutattuk, hogy a vizsgált időszakban a kutyákból származó kövek típusát tekintve 64 százalék struvit, 15,5 százalék kalcium-oxalát-, 13,1 százalék purin- és 4,2 százalék cisztintartalmú volt. A legtöbb eddigi felmérésben leírt tendenciákkal szemben a magyarországi adatok elemzésével a struvitkövesség viszonylag magas és emelkedő arányát állapítottuk meg. Populációs adatok felhasználásával meghatároztuk, hogy a kutyák húgykövességének (továbbiakban kövesség) incidenciáértéke legalább 1,76/10 000/év.

A kapott epidemiológiai adatok statisztikai elemzésével kimutattuk, hogy melyek azok a fajták, amelyekben egy bizonyos típusú kövesség prevalenciája a keverék kutyákhoz – mint referencia csoporthoz – viszonyítva szignifikánsan nagyobb. Megállapítottuk, hogy a törpe pinscherek CaOx és cisztin-, a yorkshire terrierek CaOx és purin-, az angol bulldog fajta egyedei purin- és cisztinkövességgel érintettek. Ezeken kívül a struvitkövesség a berni pásztor, a német juhász, a shi-tzu és az angol cocker spániel; az oxalátkövesség a törpe uszár és a törpe schnauzer; a purinkövesség a dalmata, az orosz fekete terrier, tibeti spániel, óriás schnauzer, bichon bolognese és amerikai staffordshire terrier; és a cisztinkövesség a basset hound, a rottweiler, a francia bulldog, a szálkás és rövid szőrű tacskó, valamint a chihuahua fajta egyediben fordult elő szignifikánsan nagyobb arányban. Ezeknél a fajtáknál feltételezhetünk olyan örökletes betegséget vagy hajlamosító tényezőt, amely a kövesség halmozott előfordulását okozhatja. A kövességgel fokozottan érintett fajták tekintetében felmérésünk eredményei részben eltértek a nemzetközi szakirodalmi adatoktól.

Vizsgálatunkkal először írtuk le az orosz fekete terrierekben a purinkövesség halmozott előfordulását, és feltételeztük, hogy a jelenség hátterében a dalmatákhoz hasonló genetikai eredetű húgysavmetabolizmus-zavar lehet. Ezt a feltételezést más kutatók igazolták, és kimutatták a genetikailag determinált hyperuricosuria (HUU) jelenlétét több fajta egyedeiben is. Ehhez kapcsolódóan a magyar populációból származó 24, purinkövességgel érintett kutya genetikai vizsgálatával megállapítottuk, hogy azokban a fajtákban amelyekben a purinkövesség halmozottan fordul elő, elsősorban angol bulldogban és orosz fekete terrierben kell számítani a HUU-ra, mint háttérbetegségre. A genetikai elváltozást kimutattuk egy keverék és egy – a purinkövességgel nem érintett fajtájú – jagd terrierben is. Ennek

alapján feltételeztük, hogy a defektusnak a populáción belüli előfordulása jelentős lehet. A többi érintett fajtában (pl. yorkshire terrier) a HUU jelenlétét nem tudtuk kimutatni.

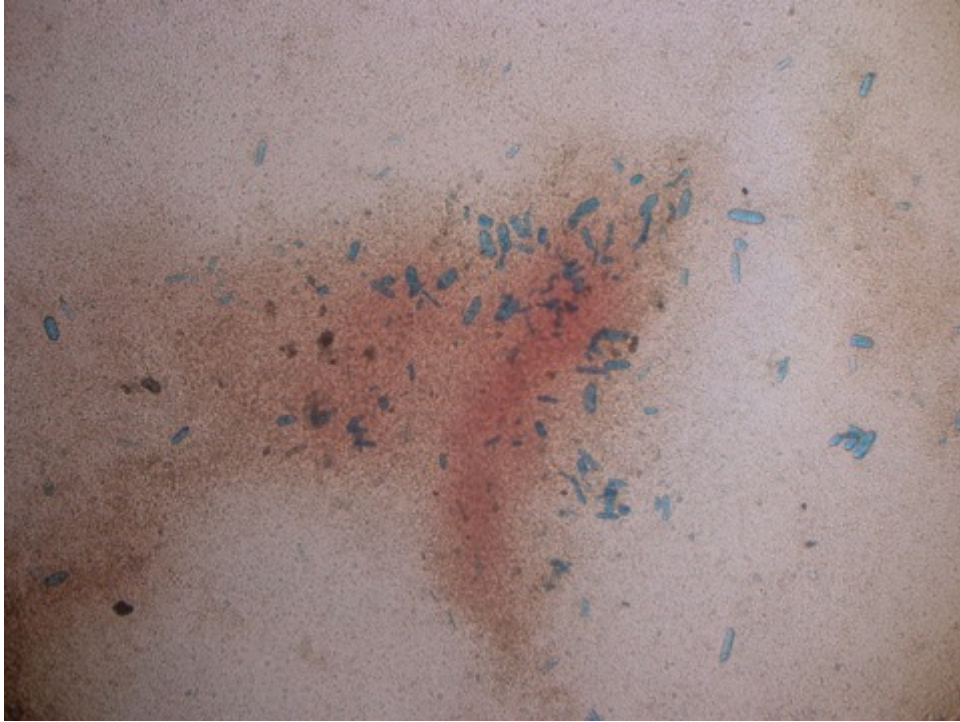
480 macskából származó minta feldolgozásával határoztuk meg a macskákra vonatkozó epidemiológiai adatokat. A minták 77,3 százaléka struvit, 17,8 kalcium-oxalát, 1,5 cisztin és 1 százaléka purin összetételűnek bizonyult. A struvitköves betegek átlagéletkora 71,2 hónap, míg az oxalátköveseké 90,1 hónap volt. Az oxalátkövek aránya a struvitéhoz mérten a vizsgálat kezdetétől évente fokozatosan nőtt 0,13-ról, 0,8-ra. Az érintett hím állatok száma struvitkövességben több mint kétszeresen, oxalátkövességben csaknem másfélszeresen haladta meg a nőstények számát. Perzsa és brit rövidszőrű macskákban – a struvit előfordulásához képest – kétszer, illetve ötször nagyobb gyakorisággal állapítottunk meg oxalátkövességet. Sziámi macskákban a cisztinkövesség halmozott előfordulását mutattuk ki.

2. Bevezetés és irodalmi áttekintés

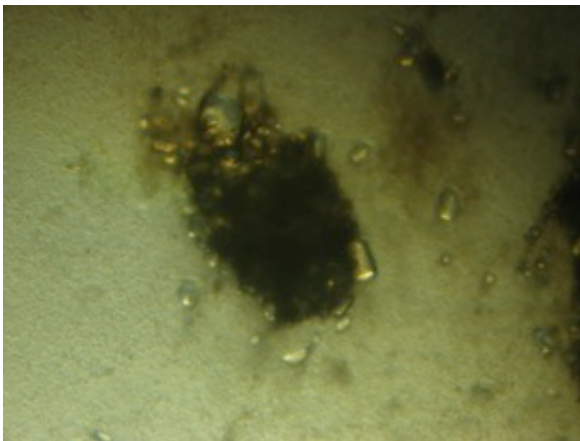
2.1. A húgykövek képződésének folyamata

2.1.1. Kristályképződés a vizeletben

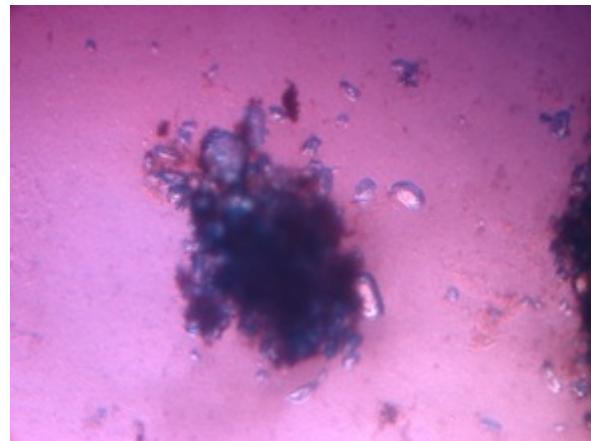
A kristályképződést a vizeletben, mint összetett oldatban, a különböző kémiai összetevők abszolút és relatív koncentrációja határozza meg. A pH és egyes anyagok jelenléte szintén befolyásolja a folyamatot (promotorok vagy ellentétes, inhibitor hatásúak lehetnek). A befolyásoló tényezők eredőjeként egy adott oldott anyag elérheti az ún. metastabil állapotot (amely egy anyagtól függő koncentrációzónát jelent), melyben megindulhat a kristályképződés, ha a körülmények (hőmérséklet-változás, inhibitorok hiánya, promotorok hatása, pH-változás stb.) a folyamat szempontjából kedvezően változnak. Szükségszerű kristályosodás csak a telítettség elérését követően (túltelített állapot) jelentkezik. A kristályosodás folyamata, a nukleáció, létrejöhet úgy, hogy eleinte kis méretű kristályok keletkeznek, melyek felületén a folyamat tovább zajlik, vagy megindulhat már jelenlevő felületeken (más kristályok, szilárd anyag, nagy molekulák, szöveti törmelék stb.) is mint heterogén nukleációs folyamat (**1. ábra**). Ebben a korai stádiumban a fiziológiásan lezajló folyamat, csökkentve az oldat telítettségét, leállhat és a kristályok a vizelettel kiürülhetnek. Ha a folyamat nem áll le, akkor a növekedő kristályok összetapadnak (**2a. és b. ábra**), egymáshoz nőnek és mikrolitekké fejlődnek (**3. ábra**). Ezek vagy kiürülnek a húgyutakból, vagy deponálódnak, és ha a körülmények kedvezőek, akkor tovább növekedve makroszkópos méretű húgykövekké válnak (Hesse és Neiger 2009).



1. ábra. Apró struvitkristályok nagy mennyiségű szerves üledékben. Macskavizelet mintából szeparált üledék. Fénymikroszkópos felvétel, 36x nagyítás, Harzalith (Reanal, Hungary) B1 reagenssel festett készítmény.



2.a ábra.



2.b ábra.

Aggregálódó struvitkristályok hím tibeti spániel vizeletmintájában. Natív (2a.) és Harzalith B1 reagenssel preparált (2b.) minta. Fénymikroszkópos felvétel, 36x nagyítás.



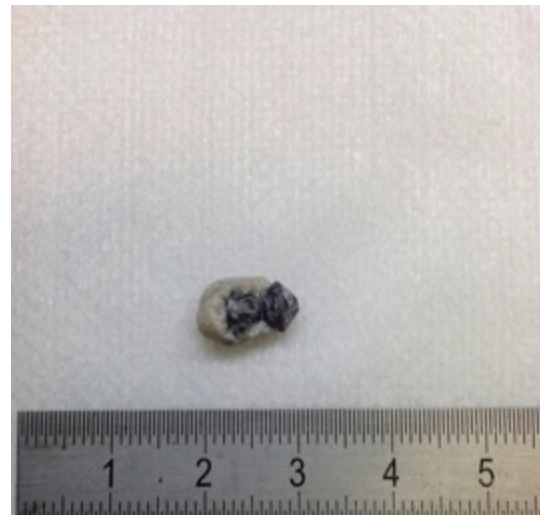
3.ábra. Ammónium-hidrogén-urát tartalmú mikrolitek. Felsőmegvilágítású fénymikroszkópos felvétel, 36x nagyítás. (A méretskála egy beosztása 0,5 mm-nek felel meg).

2.1.2. A kőképződés mechanizmusának elméleti alapjai, okai

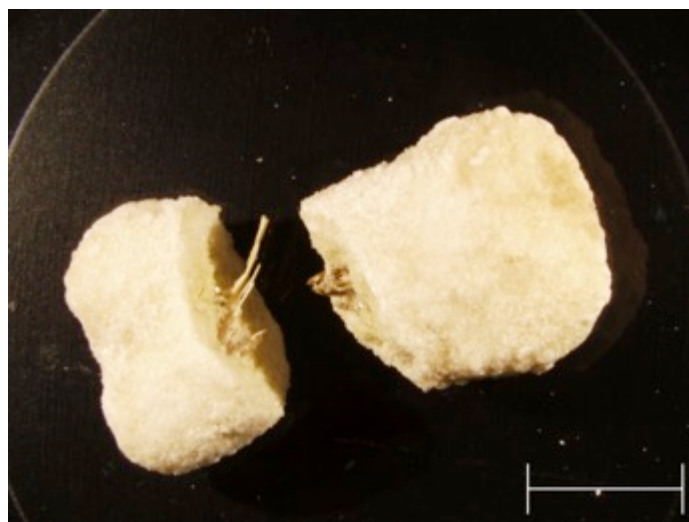
A *szupersaturációs* elmélet tulajdonképpen a homogén kristályképződés mechanizmusának alapján magyarázza a kőképződést. Ez a folyamat teljesen homogén szerkezetű kövek képződését okozná, ami csak a kövek kis hányadában figyelhető meg.

A *mátrixelmélet* szerint a kövek képződésének alapját valamilyen jelenlevő anyag, mint kristályosodási felület és kötőanyag adja. A legtöbb kő tartalmaz bizonyos (általában 1 százalék alatti) mennyiségű szerves eredetű összetevőt. Egyes makromolekulák, fehérjék kalciumot köthetnek meg ezzel például a kalcium-oxalát kövek képződését segítheti. Baktérium- illetve sejtmarmadványok jelentős mértékben lehetnek fertőzőes eredetű kövekben, és jól ismert, hogy idegen anyagok /lövedék (**4a. és 4b. ábra**), növényi anyagok (Del Angel-Caraza et al., 2011) (**5.a-c ábra**), sebészeti fonál maradványa (**6. ábra**)/ egyértelműen kiváltói a kőképződésnek.

Az *inhibitorelmélet* szerint egyes ionok (vegyületek), egy kérdéses anyag szempontjából metastabil oldatban, gátolják a kristályképződését. Ilyenek például a kalcium-oxalát esetében a Mg- és a citrát-ionok. Ezek koncentrációjának csökkenése a kalcium-oxalátra metastabil oldatban kristályképződéshez vezet (Lekcharoensuk et al., 2002). A folyamat fordítva is igaz, aminek viszont a kezelés szempontjából van jelentősége (Hesse és Neiger 2009). Inhibitorokat ugyanakkor csak egyes kőképző anyag tekintetében ismerünk.



4a. és 4b. ábra. Házimacska húgyhólyagjából származó struvitkő, melyben a kőképződési gócot légpuskaövedék okozta.



5.a-c ábra. Egérárpa (*Hordeum murinum*) termés (toklász) kis testű (pekingi, shi-tzu) kan kutyák húgyhólyagjából származó struvitkövekben. Az idegen test vélhetően a húgycsövön keresztül jutott be a húgyhólyagba (makrofotó).



6. ábra. Nem felszívódó jellegű sebészeti fonál keverék ivartalanított nőstény kutyából származó diónyi méretű, 80 százalékban struvit és 20 százalékban karbonát-apatit tartalmú húgykő magjában (keresztmetszeti kép, makrofotó).

A kőképződés háttérében egyidőben több folyamat is szerepet játszhat, és ezeken kívül a kövek kialakulását számos egyéb élettani tényező is befolyásolhatja (életmód, kondíció, vizeletürítési szokások, vizeletpangás, anatómiai okok) (Lekcharoensuk et al., 2000b).

2.2. A kövek összetételének vizsgálata, kőanalízis

A kövességgel járó különböző betegségek vagy állapotok eltérő anyagok kristályosodását idézik elő a vizeletben, így a kövek összetételének ismeretéből következtethetünk a képződés okaira. Ez a kő analitikai vizsgálatának elsődleges célja. Maga a kő kialakulása a szó szoros értelmében nem betegség – annak ellenére, hogy legtöbbször a kő okozta panaszokkal fordulnak a betegek orvoshoz –, hanem következménye annak a folyamatnak (alapbetegségnek, háttértényezőnek) amely a kialakulásához vezetett. A kő összetételének megismerése mutatja meg a további diagnosztikai vizsgálatok irányát annak érdekében, hogy a kőképződés okát lehessen megszüntetni vagy kezelni, a további következmények és recidívák elkerülése érdekében.

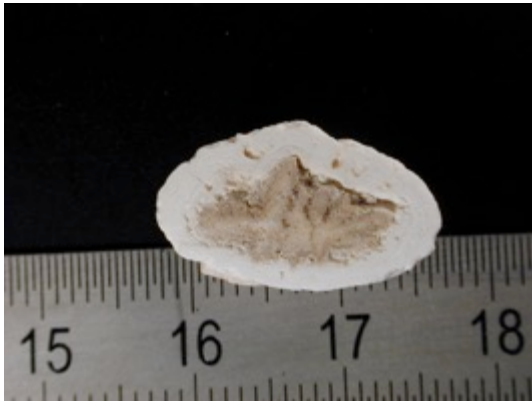
2.2.1. A kövek szerkezete, a kőtípus meghatározása

A kövek állhatnak egy (monominerális) vagy több ásványi összetevőből (poliminerális). Szerkezetüket tekintve lehetnek homogének (a kő minden részében azonos összetételű) vagy heterogének (eltérő összetétel a kő különböző részeiben). Ennek jelentősége a kőképződés folyamatának, mint kóroki tényezőnek a meghatározásában van. Homogén kövek képződésénél a teljes folyamat alatt ugyanazok a kóroki tényezők hatottak, míg heterogén köveknél a kőfolyamatok a kőképződés során megváltoztak, ami a kőösszetétel változását okozta. Az ilyen köveknél a különböző folyamatok időbeliségét az eltérő összetételű területek kövön belüli elhelyezkedése mutatja meg. A kő centrumának összetétele utal a legkorábbi, a kőképződést kiváltó elsődleges okra. A kő további területein a kőképződést fenntartó folyamatok, illetve a felületen a közvetlenül az eltávolítás idején fennálló folyamatok hatásait lehet azonosítani.

A kő típusát az összetételében 70 százalékot elérő ásványi jellegű összetevő alapján határozzuk meg. Ha nincs ilyen domináns összetevő, akkor kevert (mixed) kőről beszélünk és nem soroljuk egy adott típushoz (**7. ábra**). Heterogén köveknél a kő különböző részeiben más-más meghatározó összetevő is lehet. Az ilyen köveket összetett köveknek nevezzük (**8 a-d. ábra**). Az eltérő összetevők kövön belüli elhelyezkedéséből következtetünk a képződést kiváltó folyamatok időbeliségére.



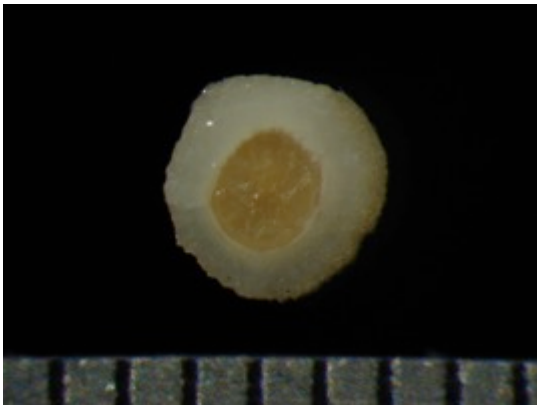
7.ábra. Szokatlan formájú és összetételű, ammónium-hidrogén-urát és kalcium-oxalát tartalmú, kevert kövek dalmata fajtájú kan kutya húgyhólyagjából.



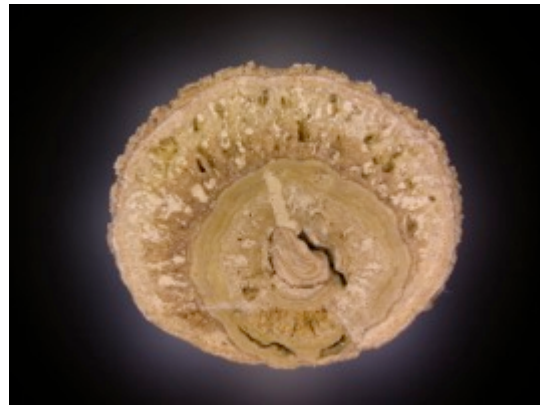
8a. ábra. COD mag és struvittartalmú köpeny nőstény welsh terrier húgyhólyagjából származó kőben.



8b. ábra. COM magot és struvit tartalmú köpenyt tartalmazó diónyi méretű kő kasztrált kan szamojéd kutyából.



8c. ábra. Ivartalanított kandúr perzsa macskából származó COD magot és struvit köpenyt tartalmazó kis méretű kő (a skála egy beosztása 0,5 mm).



8d. ábra. Dalmata kan kutya húgyhólyagjából származó tojasnyi kő (keresztmetszeti kép). AU mag és váltakozó, struvit- és AU-rétegegek.

2.2.2. A kőanalízis módszerei

Az kőanalízis módszerei kémiai vagy fizikai elven alapulnak.

A *kémiai módszerek* általában egyszerűek, nem költségesek és “asztal mellett” elvégezhetőek, de mennyiségi analízisre és bizonyos összetevők kimutatására általában nem alkalmasak. Viszonylag nagyobb mennyiségű minta vizsgálatára alkalmazhatók (Basiri et al., 2012). Gyakorlati jelentőségük az utóbbi években csökkent.

A *fizikai módszerek* között ma már kisebb jelentőséggel bír a *termikus analízis*, melynek során a mintát oxigén atmoszférában fokozatosan 1000 °C fokig hevítve folyamatosan mérték a tömegváltozást a hőmérséklet függvényében. Ennek alapján ismert anyagok viselkedéséhez hasonlítva állapították meg a mennyiségi összetételt.

Egyszerű, de kifejezetten szubjektív módszer a *fáziskontraszt* vagy *polarizációs krisztallográfia*, melynek alapelve, hogy a különböző összetételű kristályok a polarizált fényben eltérő módon viselkednek. Mikroszkóp alatt a minta refrakciós képét a megfelelő refrakciós indexű anyaghoz viszonyítva következtetni lehet az összetételre. A módszer nagy gyakorlatot igényel és mennyiségi analízisre nem alkalmas.

Az *ultramikro-kémiai analízis (UMKA)* (Berényi 1973) alapelveit és eredményességét tekintve átmenetet képez a kémiai és fizikai módszerek között (Bruckner et al., 1989). Fénymikroszkóp alatt történő manipulálás és egy speciális kit (Harzalith, Reanal Rt.) segítségével rendkívül kis mennyiségű (mikrogrammnyi) minták gyors és viszonylag olcsó, a klinikai igényeket kielégítő azonosítása végezhető el (Berényi és Frang 1989). Gyakorlott vizsgáló esetén a módszer az esetek nagyobb részében szemikvantitatív analízisre is lehetőséget ad.

Pásztázó elektronmikroszkópos (SEM) vizsgálatokkal főleg a kövek felületét és a kristályok alakját, elhelyeződését lehet vizsgálni. A SEM kiegészíthető EDAX rendszerrel is. Ezzel a módszerrel a beeső elektronsugár által gerjesztett röntgen sugárzás elemzésével feltérképezhető a minta elemi összetétele, illetve azok felületi eloszlása (Kaliński et al., 2012). Az optikai és az elektronmikroszkóppal morfológiai alapon végzett analitikai vizsgálatok pontosságát összehasonlítva a lényegesen olcsóbb és egyszerűbb optikai módszert a rutin vizsgálatok elvégzésére megfelelőnek találták (Marickar et al., 2009).

A kövek kristályos összetevőinek vizsgálatára alkalmazható a *röntgendiffrakciós* analitikai módszer is. A kristályszerkezet által előidézett diffrakció jellemző magára az anyagra, így ismert anyag diffrakciós képével összehasonlítható. A módszer nagyon pontos, de kifejezetten költséges, és nem kristályos összetevők kimutatására alkalmas.

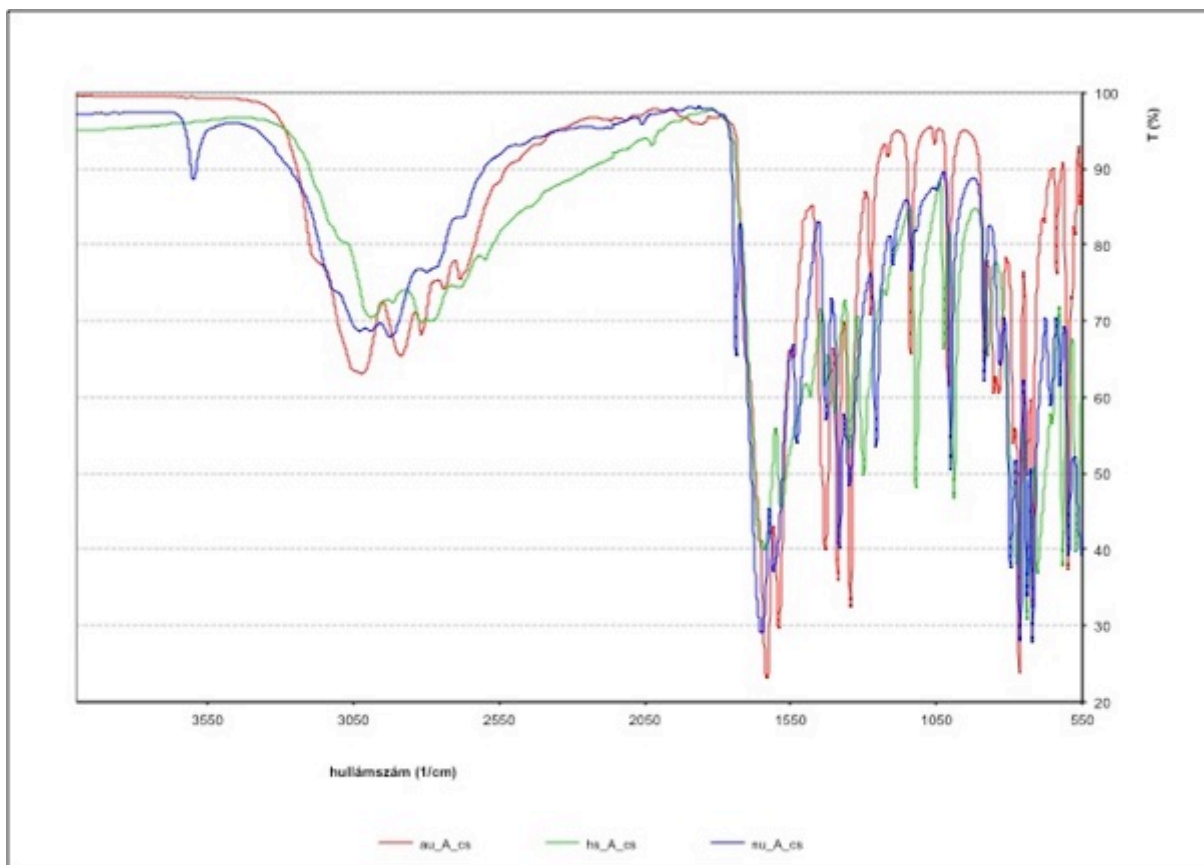
CT (computer tomographiás) vizsgálattal (elsősorban a humán diagnosztikában) pontosan meg lehet határozni a kövek in situ helyzetét, méretét. Az eltérő kőalkotó anyagok eltérő denzitásán alapulva ezeknek a CT-felvételeknek az elemzésével következtetni lehet az

összetételre. Az ezen alapuló automatizált módszer ugyanakkor az esetek csak 66 százalékában bizonyult pontosnak (Chevreau et al., 2009).

Hasonló elven működik, elsősorban kutatási célból használt, az összetett vagy kevert kövekben a különböző alkotó ásványok lokalizációjának in vitro kimutatására alkalmas *mikro-CT* módszer (Zarse et al., 2004) is.

A legelterjedtebb kőanalitikai módszer a *Fourier-transzformációs infravörös spektroszkópia* (FTIR). Lényege, hogy a mintát közép-infravörös tartományba eső fényvel megvilágítva vizsgáljuk a hullámhossz függvényében a minta fényelnyelő illetve áteresztő képességét. Minden anyagnak (a molekulákon belüli kötések, azok száma, térbeli konfigurációja miatt) jellemző elnyelési tulajdonsága van, ami a hullámhossz (vagy a hullámszám) függvényében akár görbeszerűen is megjeleníthető. Így egy ismeretlen anyag elnyelési görbáját az ismertekkel összehasonlítva megállapítható az anyag összetétele (**9. ábra**). A minta kezelését tekintve alapvetően két gyakoribb technika létezik. A „pellet”-módszer esetében a mintát porítani kell és kristályos kálium-bromiddal keverve tablettába kell préselni. Ezután történhet meg a spektrum felvétele a tablettán átvezetett fény segítségével. A másik, úgynevezett csökkentett teljes belső reflexió (FTIR-ATR) technika nem igényli a minta ilyen mértékű manipulálását (Gulley-Stahl et al., 2009). A FTIR-vizsgálatok viszonylag költségesek, de specializált laboratóriumokban elérhetőek (Hesse és Neiger 2009) (Basiri et al., 2012).

Tekintettel arra, hogy a kőösszetétel vizsgálati módszerei legtöbbször összehasonlító jellegűek, eredményeik egyes esetekben nem reprodukálhatók, és sokszor szubjektivitást sem nélkülöznek, nem meglepő, hogy azonos minták parallel vizsgálatainak eredményei adott esetben laboratóriumonként jelentősen eltérnek (Krambeck et al., 2010). Szakmai konszenzuson alapuló “Gold standard”-nak tekinthető kőanalitikai módszer jelenleg nincs.



9. ábra. Referenciaként értékelt, purinstandard (analitikai tisztaságú húgysav, ammónium-hidrogén-urát és nátrium-hidrogén-urát) minták FTIR vizsgálatával kapott transzmittancia görbéi. Spectrum 400 UATR (Universal Attenuated Total Reflectance)-FTIR készülék, kompozit gyémánt/ZnSe kristály, triglicin-szulfát detektor, levegő referencia, PerkinElmer, Waltham, MA, USA.

Dr. Gergely Szilveszter PhD, egyetemi docens (Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék, NIR Spektroszkópia Csoport, Budapest, Magyarország) jóvoltából.

2.3. Kőtípusok és kialakulásuk háttértényezői

2.3.1. Köveket alkotó ásványi anyagok kutyákban és macskákban

leírás	ásvány név
magnézium-ammónium-foszfát-hexahidrát	struvit
magnézium-hidrogén-foszfát-trihidrát	newberyit
kalcium-oxalát-monohidrát	whewellit
kalcium-oxalát-dihidrát	weddellit
húgysav	
nátrium-hidrogén-urát	
ammónium-hidrogén-urát	
2,8-dihidroxi-adenin	
xantin	
trikalcium-foszfát	whitlockit, apatit
kalcium-hidroxifoszfát	hidroxi-apatit
kalcium-hidroxifoszfát-karbonát	karbonát-apatit, dahllit
kalcium-hidrogénfoszfát-dihidrát	brushit
cisztin	
szilikát	
kálium-magnézium-pirofoszfát (Frank et al., 2002)	

2.3.2. Gyakori kövességek háttértényezői kutyákban

2.3.2.1. Struvit

Kutyák esetében a struvitkövesség (**10. ábra**) háttérében leggyakrabban ureázpozitív baktériumok (*Staphylococcus* spp., *Proteus* spp.) okozta húgyúti fertőzés (UTI) áll. A bakteriális aktivitás következtében a vizeletben a karbamidból ammónia képződik, amely emelkedő koncentrációjával egyrészt a struvit szubsztrátjaként, másrészt lúgosító hatása miatt kedvező környezetet teremt a struvitkristály-képződés számára. Steril körülmények között is megfigyeltek – elsősorban kiújuló esetekben – struvitképződést, amit fajtadiszpozícióval magyaráznak egyes szerzők (Hesse és Neiger 2009). Statisztikai elemzésekkel több olyan kockázati tényező is azonosítható, amely összefüggésbe hozható a struvitkövesség kialakulásával. Nagyobb valószínűséggel kell számítani a betegség

megjelenésére kistestű fajtákban, ivartalanított és elsősorban nőstény egyedekben (Okafor et al., 2013).



10. ábra. 90% feletti struvit tartalmú kő uszkár fajtájú kan kutyából.

2.3.2.2. Kalcium-oxalát (CaOx)

Az oxalátkövesség két kristályformában, mono- (COM) (**11a. ábra**) és dihidrát (COD), ásványi néven whewellit és weddellit (**11b. ábra**) formában jelentkezik. Bár a kristályformák önmagukban is átalakulhatnak (a COD vízvesztéssel COM-á alakul) a legtöbbször a képződés aktuális körülményei határozzák meg a kristályformát (Hesse és Neiger, 2009). A COD képződése jobbra kalciumtúlsúllyal (pl. hypercalciuria), míg a COM képződése leginkább az oxalát emelkedett koncentrációjával (pl. hyperoxaluria) függhet össze, elsősorban emberekben végzett vizsgálatok szerint (Daudon és Réveillaud, 1984). Állatokban az oxalátkövesség ismert és feltételezett háttérokai, valamint az eltérő kristályformák közötti kapcsolat nem tisztázott. Annak ellenére, hogy állatokban egyes betegségekkel (hyperparathyreoidismus, hyperadrenocorticismus, renális tubuláris acidózis) kapcsolatban jelentkezhet hypercalcaemia és hypercalciuria, amelynek következtében oxalátkövesség alakulhat ki (Hess et al., 1998). A köves esetek jelentős részében ilyen háttérok (betegség) nem állapítható meg (Bartges et al., 2004).

Oxalátköves és egészséges állatok vizeletének összehasonlításával 70 százalékban hasonló Ca/creatinin és oxalát/creatinin értékeket mértek, utalva arra, hogy a kövesség kialakulásában inkább más faktorok játszhatnak szerepet, mint a kalcium- vagy az oxalát-ionok relatív túlsúlya (Dijcker et al., 2012).

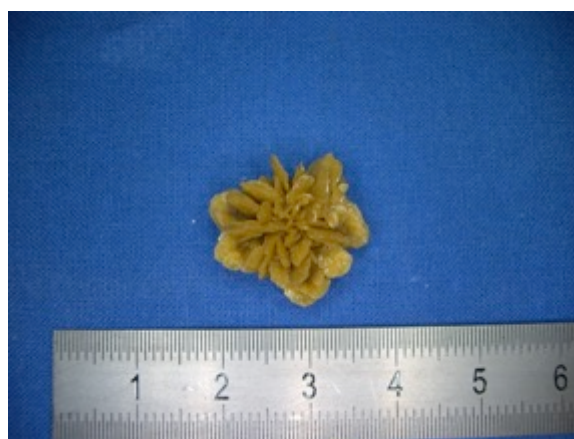
Városi körülmények között tartott, túlsúlyos, közép- és időskorú (8–12 év), elsősorban kistestű toy, illetve törpe fajták egyedeiben gyakoribb előfordulást állapítottak meg

(Lekcharoensuk et al., 2000b). Bár egyes fajták egyedeiben gyakoribb az oxalátkövesség, a fajta és a tartási körülmények, környezeti faktorok közötti kapcsolat is (kistestű kutyákat nagyobb számban tartanak városi körülmények között, lakásban, korlátozott mozgási lehetőségek között, túlsúlyos kondícióban) szerepet játszhat a betegség halmozott jellegű kialakulásában (urbanizációs jelenség).

A bélben az oxalátbontás csak bakteriális tevékenység következtében zajlik. Az oxalát bélbeli felszívódása ezzel az aktivitással fordítottan arányos. CaOx köves kutyák székletében és bélfloájában, egészséges kutyákkal összehasonlítva, kevesebb *Oxalobacter formigenes* mutattak ki, de az összefüggés nem volt szignifikáns az oxalátbontó baktériumtörzsek tekintetében (Gnanandarajah et al, 2012).



11a. ábra. Kalcium-oxalát-monohidrát (whewellit) kövek pumi fajtájú kan kutyából.



11b. ábra. Kalcium-oxalát-dihidrát (weddellit) kő hím törpe schnauzer kutya húgyhólyagjából

2.3.2.3. Purinok

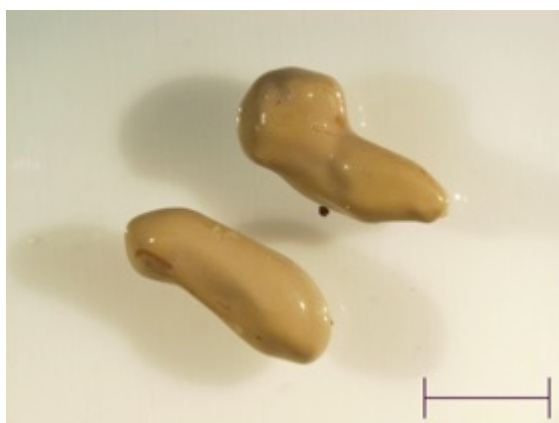
A purin anyagcseréből származó köztes és végtermékek, valamint azok különböző sóiból (húgysav, nátrium-urát, ammónium-urát) álló köveket nevezzük együttesen purintartalmú köveknek (**12a. és 12b. ábra**). Képződésük hátterében a purinanyagcsere károsodása következtében kialakult hyperuricaemia, illetve hyperuricosuria állhat. A purinanyagcsere veleszületett vagy szerzett okokból károsodhat. A dalmata fajta egyedeinek érintettsége régebb óta ismert tény. A jelenség hátterében elsősorban a vesében és a májban jelentkező húgysavtranszport-zavart, hyperuricosuriát (HUU) állapítottak meg (Giesecke és Tiemeyer 1984) (Sorenson és Ling 1993), amelyért egyik génben – SLC2A9 – jelentkező mutáció a felelős, amely autoszomális recesszív öröklésmenetet mutat (OMIA 001033-9615)

(Bannasch et al., 2008). Epidemiológiai vizsgálatok a dalmatákon kívül más fajtákban is kimutattak nagyobb arányú purinkövességet. A HUU-n kívül primer okú, vagy más anyagcserezavar miatt kialakult májfunkció-csökkenés, cirrhosis, szerzett vagy veleszületett portális keringési zavar (PSS) és táplálási rendellenesség (fehérjetületetés) állapítható meg legtöbbször a purinkövesség hátterében (Kruger és Osborne 1986).

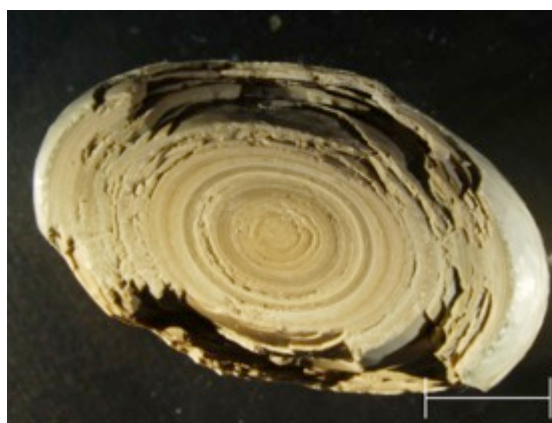
Ebbe a csoportba tartoznak a szintén purinanyagcsere köztes termékeként keletkező xantinból álló kövek is. Ezek előfordulása sporadikus, de egyes megfigyelések szerint bizonyos fajtákban (cavalier king charles spániel) gyakoribb, így örökletes anyagcserezavar sejtethető a jelenség hátterében (OMIA 001283-9615) (Jacinto et al., 2013).

Általában a vizeletben egyes krónikus betegségekkel vagy kezelésekkkel kapcsolatban is megállapítható a purinmetabolitok magasabb koncentrációja. (Rivara et al., 2013).

A 2,8-dihidroxi-adenin (DHA) tartalmú kövek rendkívül ritkák kutyákban. A legutóbbi vizsgálatok szerint az emberekhez hasonlóan a DHA-kövek kialakulásában az adenin-foszforibozil-transzferáz enzim működését érintő autoszomális, recesszíven öröklődő mutáció lehet a felelős (Furow et al. 2013).



12a. ábra. Ammónium-urát kövek shi-tzu fajtájú kan kutyából (bar= 4mm)



12b. ábra. Jellemzős, „hagymalevél” szerkezetű ammónium-urát összetételű kő egy keverék kan kutya húgyhólyagjából, keresztmetszet (bar=4mm).

2.3.2.4. Cisztin

Cisztintartalmú kövek (**13. ábra**) egy anyagcsere betegség, az úgynevezett cystinuria következtében képződnek a betegséggel terhelt egyedekben. A cisztin az enyhén savas kémhatású vizeletben viszonylag rosszul oldódik, könnyen kikristályosodik. Maga a cystinuria egy genetikailag determinált membrántranszport-defektus következménye. Az

ilyen betegeknél legtöbbször a cisztinnel együtt más aminosavak (lizin, ornitin, arginin) fokozott ürítése is megfigyelhető. Mivel ezek azonban nem esszenciális aminosavak, és a vizeletben is jól oldódnak, a kövességen kívül egyéb tüneteket, betegséget nem okoznak. A cisztint érintő transzport mechanizmusban résztvevő enzimeket (humán vizsgálatok szerint) két gén kódolja (SLC3A1 és SLC7A9), és mind a két gént tekintve a cystinuriával összefüggésben több mutációt is kimutattak. Emiatt a betegségnek több megjelenési formája van (Bannasch és Henthorn 2009). A feno- és genotípusosan heterogén megjelenésű formákat jelenleg 4 csoportba soroljuk kutyák esetében.

Az I-A típust (OMIA 000256-9615) az SLC3A1 gén mutációja okozza, amely autoszomális recesszív jelleggel öröklődő, elsősorban újfundlandi és labrador egyedekben jelentkező forma. A II-A típust (OMIA 001879-9615) az ausztrál pásztorkutya fajta egyes amerikai egyedeiben írták le. A genetikai elváltozás szintén az SLC3A1 gént érinti, de a mutáció következtében a heterozigótákban is fenotípusosan megjelenő, autoszomális domináns jellegű cystinuria jelentkezik. Hasonlóan autoszomális domináns megjelenésű a II-B típusú cystinuria (OMIA 001880-9615) is, amelyet európai miniatűr pinschereknek észleltek. A genetikai elváltozás azonban az SLC7A9 gént érinti, és a fenotípusos egyedek mindegyike heterozigóta volt. A mutáció homozigóta formában letális hatású. A III-as típusú cystinuria (OMIA 001881-9615) csak hím egyedeket érint. A legtöbb fajtára ez lehet jellemző (jellemzően az ír terriereknél megfigyelt forma). Bár a genetikai háttér egyelőre ismeretlen, nem valószínű, hogy nemhez kötött öröklődésről volna szó. Mivel a cystinuria felnőtt hím egyedekben jelentkezik leginkább, androgéndependens folyamat feltételezhető (Brons et al., 2013).



13. ábra. 100% cisztin összetételű húgyhólyagkő kan angol bulldogból (bar=3mm)

2.3.2.5. Kalcium-foszfátok

A vizelet emelkedett kalcium* és megfelelően magas foszfát-koncentrációja együttesen teremti meg a kalcium-foszfát kristályok keletkezésének kedvező feltételeket. A vizelet kémhatása elsődlegesen a foszfátkomponens összetételét befolyásolja. Bázikus jellegű környezetben orto-, enyhén savas körülmények között hidrogén-foszfát összetételű kristályok keletkeznek.

2.3.2.5.1. Ortofoszfátok

A trikálcium-foszfát (whitlockit), a hidroxipatit és a karbonátapatit általában kísérő ásványként van jelen (általában 20–30 százalék alatti mennyiségben), főként struvittartalmú kövekben. Önállóan rendkívül ritkán fordulnak elő. Ilyen esetekben a kalciumanyagcsere károsodása miatt kialakuló jelentős kalciumürítés (fokozott intestinalis felszívódás, csontresorpció, csökkent tubuláris reszorpció) állhat a jelenség hátterében. Emberekben túlzott kalcium- és D-vitamin-fogyasztás, illetve rosszindulatú daganatos betegségek, valamint renális tubuláris acidózis (RTA) következtében figyeltek meg trikálcium-foszfát kövességet.

2.3.2.5.2. Hidrogén-foszfátok

Kalcium-hidrogén-foszfát-hidrát (brushit) a fokozott kalciumürítés következtében – az ortofoszfátokkal ellentétben – enyhén savas közegben képződik. Legtöbbször oxalátkövekben kísérő ásványként van jelen. Önállóan ritka kőalkotó. Képződésének hátterében hyperparathyreoidismus vagy distalis RTA állhat (Hesse és Neiger, 2009). A túlnyomórészt brushitkövek az egyéb kőalkotókból álló kövekhez képest kifejezetten tömör szerkezetűek és kemények (**14. ábra**).



14. ábra: Brushitkő yorkshire terrier kutyából. A kő jobb oldalának sima felülete az összetétel vizsgálat során csiszolással keletkezett.

2.3.2.6. Szilikát

A szilikátkövek (**15. ábra**) viszonylag ritkák. Kialakulásuk kórélettani háttere nem ismert. Elképzelhető, hogy képződésük a táplálék vagy az ivóvíz fokozott szilikáttartalmával hozható összefüggésbe. Nemzetközi adatokat összehasonlítva egyes országokban (Svájc, Mexikó) kifejezetten nagyobb arányban találtak szilikát köveket kutyákban (Schenk et al., 2010a) (Del Angel-Caraza et al., 2010).

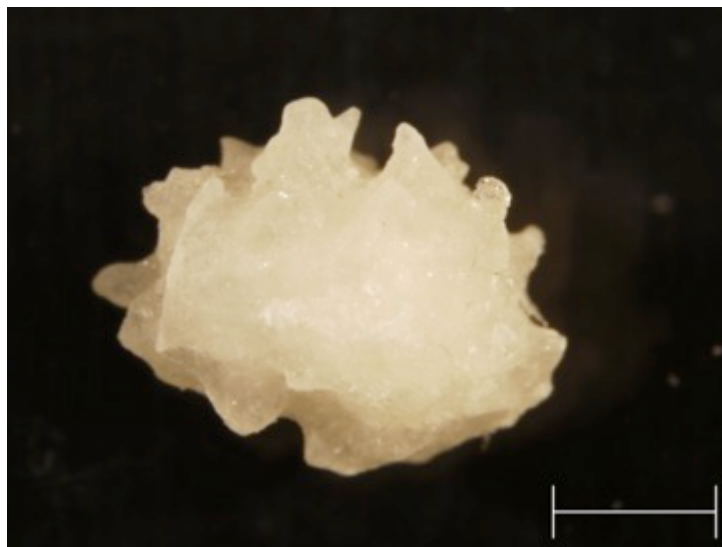


15. ábra. Jellegzetes formájú ("jackstone") szilikátkő kutyából (Mexikóból származó minta, Dr. Javier Del-Angel Caraza, UAEMX, Toluca, Mexikó, jóvoltából).

2.3.3. Gyakori kövességek háttértényezői macskákban

2.3.3.1. Struvit

A struvitkövek (**16. ábra**) képződése macskák esetében feltételezhetően metabolikus eredetű, és összefügghet a tartási körülményekkel is. A folyamat kórélettani háttere nem teljesen tisztázott. Kutyaikkal ellentétben a struvitkövek elsődlegesen steril körülmények között, vagyis nem a bakteriális ureáz aktivitása következtében jönnek létre. Általánosan elfogadott nézet szerint a macskák alsóhúgyútjai ellenállóak a bakteriális fertőzésekkel szemben. Egyes felmérések ugyanakkor a korábbi vizsgálatok eredményeinél nagyobb arányban mutattak ki szignifikáns bakteriuriát alsóhúgyúti betegségekkel, így kövességgel kapcsolatban is. A kimutatott baktériumok ugyanakkor nagyobb részben *E.coli*, illetve egyéb coliform baktériumok voltak, melyek nem rendelkeznek ureázaktivitással (Sævik et al., 2011). A macskák vizelete kifejezetten koncentrált és a kémhatást a táplálkozás jelentősen befolyásolja. A posztprandriálisan jelentkező kémhatásváltozás (pH-érték-emelkedés) markáns és perzisztáló jellegű is lehet, különösen az ad libitum etetett egyedeknél. A táplálék összetétele szintén befolyással van a vizelet kémhatására. A struvitkristályok keletkezése tekintetében a legfontosabb limitáló tényező a kémhatás. Az evést követően a relatív bázisfelesleg miatt emelkedő vizelet-pH kedvező környezetet teremt a struvitkristályok kicsapódására (Hesse és Neiger, 2009). A vizelet-pH értékének egyoldalú változtatása (savas irányba) ugyanakkor más, kristályosodás szempontjából aktív termékek (pl. kalcium-oxalát) keletkezésének kedvezhet (Markwell et al., 1998).



16. ábra. Kisméretű kristályos felületű struvitkő ivartalanított kandúr házimacskából (bar=1 mm)

2.3.3.2. Kalcium-oxalátok

Az oxalátkövek (**17. ábra**) képződésének a kalcium-anyagforgalom zavara következtében kialakuló fokozott kalciumürítés (hypercalciuria) lehet az egyik oka. A kőképződést is okozó mértékű hypercalciuriát a fokozott bélbeli felszívódás (abszorptív), fokozott csontbontás (reszorptív) vagy csökkent renális reszorpció is okozhatja. Kórokként hyperparathyreoidismus ritkán fordul elő oxalátköves macskákban. Idiopathiás hypercalcaemiával együtt figyeltek meg gyakrabban oxalátkövességet, amelynek hátterében néhány esetben szubklinikai acidózist állapítottak meg (például tartós savasító diéta következtében). Más, acidózissal járó kórkép (RTA, IRC) szintén okozhat oxalátkövességet, de a legtöbb esetben konkrét háttértényező nem mutatható ki. Közép- vagy időskorú (7–10 év), lakásban tartott, ivartalanított kandúrok gyakrabban érintettek, és egyes fajtákban szintén gyakoribb előfordulást állapítottak meg. Ezeknek a jelenségeknek a kórélettani háttere nem tisztázott (Palm és Westropp 2011) (Chew et al., 2011).



17. ábra. Kalcium-oxalát-dihidrát (weddellit) kő kandúr házimacska húgyhólyagjából.

2.3.3.3. Purin

Macskákban a kutyáknál leírt HUU-t, mint a purinkövesség (**18. ábra**) háttértényezőjét, ismereteink szerint eddig nem diagnosztizálták. PSS egyes retrospektív vizsgálatok szerint főleg fiatal egyedekben fordulhat elő, de a vizsgált purinköves macskák alig 5 százalékánál lehetett kórokként kimutatni. Néhány esetben krónikus jellegű májfunkciózavart állapítottak

meg purinköves macskáknál (Dear et al., 2011), azonban az esetek túlnyomó többségében a háttér ok ismeretlen.



18. ábra. Ivartalanított kandúr házimacskából származó, túlnyomórészt ammónium-urátból álló kő.

2.3.3.4. Cisztin

A cisztinkövesség (**19. ábra**) háttérében az örökletes cystinuria feltételezhető, azonban macskákban eddig csak az SLC3A1 gén mutációját mutatták ki, mint a cisztintranszport zavarával összefüggésbe hozható genetikai elváltozás (OMIA 001878-9685) (Mizukami et al., 2015). Az örökletes genetikai háttér jelenlétét erősíti az a megfigyelés is, hogy egyes fajtákban nagyobb a cisztinkövesség prevalenciája (lásd még 6.4. fejezet).



19. ábra. Nőstény sziámi macska cisztinköve (vizsgálat után, csiszolt felülettel a méretező centiméter skála felé fordítva, 1 beosztás=0,5mm).

2.3.3.5. Egyéb típusok

A kalcium-foszfát- és szilikátkövek rendkívül ritkán fordulnak elő macskákban. Képződésük háttere nem tisztázott. Ezekben az esetekben a kutyaénál tárgyalt kórélettani illetve környezeti faktorok szerepe kerülhet szóba.

3. Kutyák húgykövességének epidemiológiája és a kövességgel érintett kutyafajták a magyarországi populációban

3.1. Bevezetés

Az elmúlt évtizedekben a kutyák kövességéről számos epidemiológiai felmérés született (**3. táblázat**). Több szerző jellemezte a különböző földrajzi területeken megfigyelt eltérő fajtadiszpozíciókat, és a különböző típusú húgykövességek arányának időbeli változását (Ling et al., 2003 ; Lulich et al., 2013). A földrajzi régiók elkülönült populációinak jellemzői, és a szükségszerűen lezajló generációs változásokon túl a tenyésztői aktivitás és/vagy a tulajdonosok fajta preferenciái szintén befolyással lehetnek az eltérő epidemiológia adatokra. A kutyapopuláción belüli generációs váltások a fajták egymáshoz viszonyított arányában okozhatnak eltolódást ami további hatással lehet az epidemiológiai adatokra. Csak újabb vagy időszakosan ismétlődő elemzésekkel lehet ezeket a változásokat követni, hatásukat felmérni. Az újabb megállapítások ismeretében lehet meghatározni, hogy milyen irányba érdemes a vizsgálatokat folytatni, vagy esetleg beavatkozni a folyamatokba (genetikai markerek kutatása, diétás irányelvek módosítása, klinikai szűrőprogramok elindítása vagy tenyésztési alapelvek szabályozása). Kutatásunk célja a kövesség szempontjából eddig még nem vizsgált magyarországi kutyapopuláció epidemiológiai adatainak megállapítása volt. Az epidemiológiai adatok alapján meghatároztuk a kövesség incidenciáértékét és a populáción belül a különböző kőtípusok tekintetében prediszponált fajtákat is.

3.2. Anyag és módszer

2001 és 2012 között a BUC-ban 2543 kutyából származó kő összetételének elemzését végeztük el. A köveket Magyarország egész területéről küldték a referáló állatorvosok. Minden minta mellé a fajta, a kor és a nem megjelölése mellett az érintett állatra vonatkozó klinikai információkat is tartalmazó vizsgálati kérelmet mellékeltek a beküldő állatorvosok. A minták makro- és mikroszkópos vizsgálatát követően az adott kő minden rétegére vonatkozó kvantitatív vagy szemikvantitatív analízist végeztünk UMCA (Reanal, Magyarország) (Berényi and Frang, 1989) (Bruckner et al., 1989) és részben infravörös spektroszkópiás (Perkin Elmer 1600 FTIR) módszerekkel. A kövek típusba sorolását a meghatározó, a kő összes anyagának 70 százalékát elérő vagy meghaladó ásványi összetevő alapján végeztük. Az érintett fajták arányát egy adott kőtípuson belül a keverék kutyák arányához

viszonyítottuk. Az esélyhányados-értékek és szignifikanciaszintek meghatározására logisztikus regressziószámítást végeztünk az R statisztikai program (R Core Team, 2013) segítségével. Minden kőtípusra külön modellt illesztettünk, melyekben a fajtákat vettük független változónak. A szignifikanciaértéket 5% alatt fogadtuk el a modellben ($p < 0.05$). A felmérés 12 éve alatt lezajlott, a populáció fajtaösszetételét érintő változások értékeléséhez populációs adatokat tartalmazó két különböző adatbázist hasonlítottunk össze. Ehhez az adatokat a budapesti kutyapopuláció összetételéről publikált korábbi cikkünkben (n= 124.459) (Bende et al., 2003) és az aktuális mikrochip regiszter adatainak feldolgozásával nyertük (n=543.929). Az országban aktuálisan élő kutyák számának meghatározásához a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal Állategészségügyi Igazgatóságán (NÉBIH) 2010, 2011 és 2012 évben, az ebek évente kötelező, veszettség elleni immunizálásával kapcsolatosan regisztrált adatokat vettük figyelembe.

A kutyák kövességének incidenciáját az évente a laboratóriumba érkezett minták számával és az adott évben a NÉBIH által regisztrált adat alapján kalkulált egyedszámmal számítottuk ki.

3.3. Eredmények:

3.3.1. A kövek típusa és a betegek ivar és kor szerinti megoszlása

A különböző típusú kövességgel terhelt egyedek összesített adatait, azok kor és ivar szerinti megoszlását az **1. táblázatban** összegeztük (Lásd 42. oldal).

3.3.2. A különböző típusú kövességgel érintett fajták

Azokat a fajtákat, amelyek statisztikai elemzés szerint bizonyos típusú kövességgel szignifikánsan nagyobb arányban érintettek (predisponáltak) mint a referencia csoportként vett keverék kutyák a **2. táblázatban** soroltuk fel kőtípusok szerint csoportosítva (Lásd 43 oldal).

3.3.3. A kövesség incidenciája

Az évente regisztrált, veszettség elleni oltások száma 2010 és 2012 között, 3 egymást követő évben volt elérhető. 2010-ben 1,415,699, 2011-ben 1,369,000 és 2012 évben 1,387,600 oltást igazoló címkét használtak fel az állatorvosok az ország egész területén. A BUC-ba a jelzett években rendre 240, 236 és 260 kutyából származó mintát küldtek

vizsgálatra magyarországi tulajdonú ebekből a kezelő állatorvosok. Az adatok alapján számított incidenciavérték 1,69, 1,72 és 1,78/10.000/ év. A 3 év kumulatív incidenciavérték átlagértéke így 1,76/10.000/év.

3.3.4. A különböző típusú kövek arányának változása 2001 és 2012 között

A struvitkövesség aránya 54,4 százalékról 68,8 százalékra nőtt. Ugyanakkor a purinkövesség aránya 22-ről 8,1 százalékra csökkent. A felmérés ideje alatt az oxalát- és a cisztinkövesség aránya jellemzően nem változott. Összességében értékelve a vizsgált időszakban a populáción belül a struvitkövesség aránya az oxalátkövességhez viszonyítva nőtt (**20. ábra**) (Lásd 46. oldal).

3.3.5. A kutyafajták populáción belüli aránya, különös tekintettel a kövességgel érintett fajtákra

A felmérés 12 éve alatt a vizsgált kutyapopuláció fajtaösszetétele lényeges változásokon mehetett át. Ezek a változások kihathatnak a különböző típusú kövességek előfordulására is. A változások értékeléséhez 2, közel 10 év különbséggel készült adatbázis fajtaösszetételét (a budapesti kutyák adatbázisa és az országos mikrochip-adatbázis) hasonlítottuk össze elsődlegesen a kövesség szempontjából érintett fajták tekintetében. Bár a felmérésben 99 fajtát érintően állapítottunk meg kövességet, a vizsgált minták 80 százaléka mindössze 23 fajtából származott. Ezek közül 16 fajtánál állapítottunk meg fokozott kockázatot valamely típusú kövesség tekintetében (**2. táblázat**). A felmérés kezdeti és utolsó éveiben a 23 leginkább érintett fajta éves átlagos arányainak változását hasonlítottuk össze az adott fajta populáción belüli előfordulásának változásával (**21. ábra**) (lásd 47. oldal). A kő adatok tekintetében a többi fajtához százalékosan viszonyítva a mopsz (0,3-ról 4), bolognese (0,3-ról 2), bichon frisé (0,3-ról 1), angol bulldog (0,9-ről 2,4) és a yorkshire terrier (3,8-ről 11,1) aránya nőtt jelentősebben. Ugyanakkor a dalmaták (15,6-ről 1), az orosz fekete terrier (2,1-ről 0,4), az uszkár (1,8-ről 0,4) és a basset hound (1,2-ről 0,4) kutyák aránya kifejezetten csökkent. A fajták reprezentáltságának változása többnyire azonos irányú volt a teljes (egészséges) populációban is. Ellentétes irányú változást észleltünk a basset hound, a chihuahua, a törpe schnauzer, a pekingi és a puli fajták esetében.

3.4. Megbeszélés:

3.4.1. A különböző típusú kövességek előfordulása

Bár számos tanulmány készült már a kutyák kövességének előfordulásáról az USA-ban, Kanadában és Európában is, felmérésünk elsőként szolgáltat adatokat a magyarországi epidemiológiai jellemzőkről. A különböző felmérések adatait és a saját vizsgálataink eredményeit összehasonlítva (**3. táblázat**) (Lásd 44. oldal) kimutatható, hogy kutyapopulációnkban a struvit- és a purinkövesség aránya nagyobb, az oxalátkövességé pedig kisebb mint amennyit a legtöbb egyéb felmérésben megállapítottak (lásd még a 3.4.8 bekezdésben).

3.4.2. A fajták érintettsége

Valamelyik kőtípus tekintetében egy adott fajta többihez viszonyított jelenlétének nagyobb vagy éppen kisebb arányát befolyásolhatják hajlamosító vagy védő faktorok (leginkább genetikailag meghatározott eltérések), vagy meghatározhatja az adott fajta egyedeinek populáción belüli (viszonylagos nagy vagy kis) egyedszáma. Annak érdekében, hogy az egyes érintett fajtákban esetleg jelenlevő hajlamosító vagy védő tényezőket észlelhessük, megfelelő módszerek tűnik az adott fajták arányának és a keverék kutyák arányának összehasonlítása a különböző kövességek tekintetében.

A fajták érintettségére (fokozott kockázat) vonatkozó megállapítások nem feltétlenül igazak minidig és mindenhol. Különböző földrajzi területeken végzett epidemiológiai vizsgálatok eredményeinek összehasonlításával egymásnak ellentmondó következtetéseket is találhatunk arra vonatkozóan, hogy egy adott fajta a kövesség tekintetében predisponált vagy éppen az átlagosnál kevésbé érintett. Például egy 2012-ben az Egyesült Királyságban készült felmérés (Roe et al., 2012) szerint a border collie fajta egyedeiben a kövesség kialakulásának kockázata nagy volt, míg ugyanezen fajta kifejezetten alacsony kockázati jellemzőkkel bír egy 2010-ben az USA-ban publikált felmérés szerint (Low et al., 2010). Éppen ezért saját felmérésünk megállapításait is úgy kell körültekintően értékelni, hogy ezek csak a felmérés idejére és az érintett populációra vonatkoztathatók.

3.4.3. Struvitkövesség

A struvitkövesség kutyák esetében legtöbbször a húgyutakat érintő bakteriális fertőzés következtében alakul ki (Hesse és Neiger, 2009). Ha a betegség kialakulásának hátterében nem volna más hajlamosító tényező, a fajták előfordulása a struvitkövességgel érintett betegek között a fajták populáción belüli előfordulását tükrözné. Ugyanakkor egyes fajták nagyobb arányban fordulnak elő a struvitkövességgel érintett betegek között, mint ahogy azt az adott fajta populáción belüli reprezentáltsága alapján várni lehetne (lásd alább). Bár a jelenség hátterében a húgyúti fertőzések iránti fokozott érzékenység feltételezhető, a jelenség konkrét oka eddig nem ismert. Vizsgálatunkban több más felméréshez hasonlóan (Rogers et al., 2011; Vrabelova et al., 2011; Roe et al., 2012; Blavier et al., 2012; Picavet et al., 2007) a shi-tzu és az angol cocker spániel fajták tekintetében állapítottunk meg a keverékekhez képest szignifikánsan nagyobb arányban struvitkövességet. Ugyanakkor egyes más fajták tekintetében eredményeink ellentmondásosak. Míg a törpe schnauzer (Vrabelova et al., 2011; Roe et al., 2012) és tacskó (Sosnar et al., 2005) fajtákat a struvitkövesség szempontjából fokozott kockázatot jelentő fajtának találták, vizsgálati eredményeink szignifikánsan alacsony OR értéket mutattak ezeknél a fajtáknál, ami a struvit kialakulással szembeni "ellenállóságot" vagy bizonyos védettséget jelenthet. A német juhászkutya és a berni pásztor fajtákban a struvitkövesség fokozott előfordulását egy publikációban már jelezték (Hesse és Neiger, 2009). Felmérésünk eredményei ezeknél a fajtáknál a fokozott kockázatot statisztikailag is igazolták, ami kifejezett diszpozícióra utal (**2. táblázat**). A berni pászorkutyák tekintetében a struvitkövesség szokatlan jellegű előfordulását állapítottuk meg. Szemben a struvitkövesség általános jellemzőjével, miszerint a nőstények gyakrabban érintettek (véltetően a húgyúti fertőzésre való fogékonyság miatt) a berni pászorkutyáknál adataink szerint a hímek négyszer nagyobb arányban érintettek és főként fiatal egyedekben (az érintett egyedek átlagos életkora 33 hónap, medián 12 hónap) jelentkezett a betegség. Egy európai felmérésben a berni pásztorok esetében a hímek nagyobb arányú érintettségét megállapították (Hesse és Neiger, 2009), de a betegség szokatlan, főleg fiatal egyedekben megfigyelt előfordulását ebben a tanulmányban nem tárgyalták. Fajtára tekintet nélkül a fiatal egyedekben gyakrabban megjelenő struvitkövességet más szerzők már megfigyeltek (Roe et al., 2012; Low et al., 2010). A jelenség oka egyelőre nem tisztázott és további vizsgálatokat igényelhet.

3.4.4. Oxalátkövesség

Vizsgálati sorozatunkban az irodalmi adatokhoz hasonlóan (Lekcharoensuk et al., 2000b; Wisener et al., 2010a) az köves kutyák között az oxalátkövességgel érintett egyedek átlagos életkora volt a legmagasabb. Hajlamosító tényezőként a kor előrehaladtával fokozódó

kalciumkiválasztás feltételezhető a jelenség hátterében (Lulich et al., 2013). Felmérésünkben fokozott kockázattal jellemzett fajták – a törpe pinscher (Blavier et al., 2012), törpe schnauzer (Roe et al., 2012; Blavier et al., 2012; Lulich et al., 2013), yorkshire terrier (Lulich et al., 2013; Picavet et al., 2007; Roe et al., 2012) és a törpe uszár (Sosnar et al., 2005; Picavet et al., 2007) – többnyire megegyeznek más epidemiológiai vizsgálatokban megfigyelttel.

A shi-tzu fajtát számos felmérés (Roe et al., 2012; Vrabelova et al., 2011; Low et al., 2010) mind struvit-, mind oxalátkövesség tekintetében fokozott kockázatnak kitett fajtaként jellemzi, kivéve egy tanulmányt, amely a fajtát struvitkövesség tekintetében találta érintettnek (Picavet et al., 2007). Eredményeink ez utóbbi felméréshez hasonlóan a shi-tzu kutyák tekintetében csak a struvitkövesség fokozott előfordulását mutatták. Egyes más fajták, mint a chihuahua (Roe et al., 2012), a pekingi palotakutya és az angol cocker spániel (Vrabelova et al., 2011) esetében, amelyeknél a különböző szerzők epidemiológiai vizsgálatai prediszpozíciót mutattak ki, saját eredményeink ezekkel ellentétesek lettek, és kifejezetten alacsony OR-értékeket állapítottunk meg.

3.4.5. Purinkövesség

A dalmatáknál a purinkövesség fokozott prevalenciája jól ismert jelenség. A betegség hátterében a purinmetabolizmust érintő genetikai defektus a hyperuricosuria (HUU) áll (Low et al., 2010; Roe et al., 2012). Vizsgálatunkban a dalmatán kívül az orosz fekete terrier (OFT), angol bulldog, tibeti spániel, bichon frisé, bolognese és yorkshire terrier fajtákat találtuk a purinkövesség szempontjából a keverék kutyákhoz képest szignifikánsan nagyobb arányban érintettnek. Az OFT fajtaegyedeinek érintettségét korábban már publikáltuk (Bende és Németh, 2004) és a betegség hátterében egyértelmű prediszpozíciót jelentő genetikai eredetű anyagcserezavart tételeztünk fel, amelyet később a HUU-ként azonosítottak (Karmi et al., 2010b). A yorkshire terrierek és angol bulldogok fokozott érintettségét szintén leírták más szerzők is (Roe et al., 2012; Vrabelova et al., 2011). A yorkshire terrierekben a PSS gyakori előfordulását állapították meg. A jelenség genetikai háttere nem ismert, de a halmozott előfordulás a purinkövek képződésének fokozott frekvenciájával járhat a fajtán belül (Tobias és Rohrbach, 2003). Ezzel szemben az angol bulldogoknál a HUU gyakoribb előfordulása lehet a prediszponáló tényező (Bannasch és Henthorn, 2009). A tibeti spániel és a bolognese fajták tekintetében purinkövességgel vagy annak lehetséges háttérbetegségeivel kapcsolatban egy publikáció megemlíti a bolognese fajtákban a PSS előfordulását (Van den Bossche et al., 2012). A tibeti spánielekről ilyen adat az irodalomban – tudomásunk szerint - nem található.

3.4.6. Cisztinkövesség

Vizsgálataink alapján a cisztinkövesség tekintetében prediszponált fajták érintettségét - basset hound, törpe pinscher, angol bulldog, tacsó – már más szerzők is leírták (Sosnar et al., 2005; Jones et al., 2001; Blavier et al., 2012). Egy vizsgálat eredményei szerint az ír terrier szintén kifejezetten érintettek cisztinkövességgel (Brons et al., 2013). Vizsgálati sorozatunkban összesen 3 minta érkezett ír terrier kutyából, és mind a 3 cisztinnek bizonyult. A statisztikai értékeléssel kapott esélyhányados bár magas lett, de nem szignifikáns (véltetően a csekély esetszám miatt). Az érintett egyedek átlagos életkora a basset houndok és az ír terrier esetében 55 és 66 hónap volt, szemben az angol bulldog kutyákkal, amelyekben a cisztinkövesség viszonylag fiatalabb korban fordult elő. Az átlagos életkor 40 hónap, és a legfiatalabb egyed 16 hónapos volt. A cisztinkövesség gyakoribb előfordulását francia bulldog és a rottweiler fajtájú kutyákban korábbi közlésekben már említik (Harnevik et al., 2006; Hoppe és Denneberg 2001), de a halmozott előfordulást statisztikai módszerekkel nem értékelték a szerzők. Felmérésünkben ezen fajták érintettségét statisztikailag is igazoltuk. Érdekes módon a szakirodalom alapján a cisztinkövesség tekintetében leginkább érintett fajták – az újfundlandi és a labrador retriever (Henthorn et al., 2000; Bannasch and Henthorn, 2009) – egyedeiben, egy labradorból származó mintától eltekintve, nem találtunk a felmérés 12 éve alatt cisztinkövet. Ennek oka az lehet, hogy a hazai állományban elenyészően kevés lehet a cystinuriát hordozó tenyészállatok száma. A beérkezett minták kísérőiratai szerint a vizsgált és cisztinnek bizonyult kövek kizárólag kan kutyából származtak. Ennek alapján feltételezhetjük, hogy az aktuális osztályozási rendszer szerint (Brons et al., 2013) az úgynevezett III-as típusú androgén dependens cystinuria lehet a leggyakoribb cisztinkövességet okozó háttérbetegség kutyapopulációnkban.

3.4.7. A kövesség incidenciája

A kövesség incidenciáját 2010 és 2012 között a laboratóriumba évente érkezett minták számának és az adott évben a teljes magyarországi populációban regisztrált kutyák számának hányadosával becsültük meg. A regisztrált kutyák számának meghatározásakor a Magyarországon tartott kutyák évente kötelezően elvégzendő, veszettség elleni oltásainak mennyiségére utaló adatot – mint az elérhető legpontosabb közelítő számot – vettük alapul. Az éves kötelező veszettség elleni oltás elvégzését minden, az oltás beadásra jogosult állatorvos a szabály szerinti egyedi sorszámmal ellátott oltási könyvben egy hologramos

matrica beragasztásával hitelesíti. A felhasznált matricák száma így közelítőleg azonos a kutyák számával. Az ebből a célból felhasznált matricák mennyiségét országosan a NÉBIH tartja nyilván.

Mivel a vizsgált években Magyarországon más, speciálisan kőösszetétel-vizsgálattal foglalkozó laboratórium nem működött, és a vizsgálatok ez idő alatt díjmentesek voltak, feltételezhetjük, hogy a magyarországi kutyákból származó és vizsgálatra küldött kövek szinte teljes mennyiségével kalkulálunk, amikor a laboratóriumunkba évente érkezett minták számát vesszük alapul az incidencia értékének megállapításánál.

Ismereteink szerint eddig csak 1 publikációban próbálták megbecsülni a kutyák kövességének prevalenciáját (Wallerström és Wågberg, 1992). A cikkben 26 év alatt összegyűjtött svédországi és norvég adatok alapján a szerzők retrospektív felmérésük ideje alatt 10 000 kutyánként 23 és 24 esetet számítottak. Átszámolva éves átlagos incidenciára ez 0,88 és 0,92 eset/10 000 kutya/ évet jelent. Saját számításaink alapján a magyarországi kutyapopulációban ehhez képest közel kétszer nagyobb értéket állapítottunk meg, ami azt jelenti, hogy évente legalább 1 köves betegre lehet számítani minden 5 600 kutya között fajtára, korra és nemre való tekintet nélkül.

3.4.8. A kőtípusok arányának változása 2001 és 2012 között

Annak ellenére, hogy hosszú távú tanulmányok (Ling et al., 2003) és globális jellegű felmérések (Lulich et al., 2013) – ez utóbbit tekintve Ausztrália és Óceániát kivéve – a struvitkövesség arányának fokozatos csökkenését tapasztalták, a magyarországi adatok a struvitkövesség növekvő arányát jelzik. Az oxalátkövesség aránya a vizsgált időszakban nem változott, míg a purinkövek aránya csökkent. A cisztinkövesség aránya, vélhetően a viszonylag csekély esetszám miatt, tendencia nélküli változásokat mutatott (**4. táblázat**) a felmérés ideje alatt (Lásd 45. oldal).

Egy populáción belül a kövesség előfordulását, a terápiás vagy prevenciós beavatkozások (diétás ajánlások, tápösszetétel-változtatás stb.) és a tenyésztési, illetve állattartási szokások hatására kialakuló változásokat, tendenciákat a leggyakoribb kőtípusok (struvit és oxalát) előfordulásának egymáshoz viszonyított arányával jellemezzük. Míg a külföldi epidemiológiai vizsgálatok az oxalát emelkedő arányáról számolnak be, nem világos, hogy felmérésünkben miért jelentkezik éppen ezzel ellentétesen a struvitkövesség növekvő aránya. Az arány eltolódását bármely irányba számos tényező befolyásolhatja (Wisener et al., 2010b). A korábbi, az oxalátkövesség arányának növekedéséről szóló tanulmányok nem tisztázták, hogy valójában az adott típusú kövesség prevalenciája vagy csak a laboratóriumi vizsgálatra küldött minták száma, és így egymáshoz viszonyított aránya változott. Mivel a struvitkövek

fizikai megjelenése sok esetben karakterisztikus, előfordulhat, hogy a kezelő állatorvosok ezek vizsgálatát nem igénylik, nem küldik vizsgálatra. A külső megjelenés alapján nagy valószínűséggel azonosítható, elsősorban struvitkövek laboratóriumba küldésének elmaradása a struvitköveség látszólagos arányának csökkenését okozhatja. Ugyanakkor a struvitköveség prevalenciája összefüggésben lehet egyes társadalmi és gazdasági körülményekkel is, melyek fokozottabban lehetnek jelen a közép-kelet-európai régióban. A húgyúti fertőzések hatékony korai kezelésének elmaradása sok esetben okozhatja a struvitköveség kialakulását. Saját klinikai tapasztalataink szerint is gyakran előfordul, hogy a húgyúti fertőzés korai tünetei kezelés nélkül maradnak az állattulajdonos számára megterhelő vizsgálati és kezelési költségek miatt. A beteg ebben az esetben csak akkor kerül majd kezelésre, ha már a következményesen kialakult struvitköveség súlyos és kezelést feltétlenül igénylő tünetei (vérzéses húgyhólyaggyulladás, vizeelési képtelenség) jelentkeznek.

3.4.9. A fajták előfordulásának populáción belüli változása és ezek hatásának értékelése

A felmérés 12 éve alatt a kövességgel leginkább érintett egyes fajták (yorkshire terrier, west highland white terrier, havanese, bichon frisé, beagle, chihuahua, angol bulldog és mopsz) aránya a teljes populációban közel ötszörösre emelkedett. A yorkshire terrierek és az angol bulldogok jellemzően érintettek oxalát-, purin- és cisztinkövességgel, így a jelzett fajták arányának populáción belüli jelentős emelkedése az említett kövességek várhatóan fokozódó arányát jelezhetik. Ugyanakkor a dalmata, német juhászkutya és tacskó fajták arányának csökkenése (amelyek purin-, struvit- és cisztinkövességgel terhelt fajták) állapítható meg a populáción belül.

A köves betegek adatait figyelembe véve az érintett kutyák között a fajták arányának változása többnyire a populáción belüli arányok változását követi. A kockázatnak kitett fajták tekintetében például a köves yorkshire terrierek aránya nőtt, míg a dalmaták és az OFT aránya jelentősen csökkent, hasonlóan a populációban megfigyelt változásokhoz.

Havanese fajtájú kutyából származó minta a felmérés első két évében nem volt, de az utolsó két évben 22 minta is érkezett a laboratóriumba, ami jelentős emelkedést jelent (a fajta arányát tekintve nulláról 4,4 százalékra). Az emelkedés itt is összhangban van a populációban megfigyelt változással. Ezen kívül a chihuahua, bichon frisé és mopsz fajták aránya is emelkedett, ami abból a szempontból fontos, hogy az említett kistestű fajták fokozottan kitétek olyan környezeti hatásoknak amelyek oxalátkövesség kialakulására hajlamosíthatnak (Lekcharoensuk et al., 2000b).

Ezek a változások összességben előrevetíthetik az oxalátkövesség jövőbeli fokozódó arányát, és a struvit-, purin- és cisztinkövesség arányának várható csökkenését. A purinkövesség csökkenő tendenciája már látható volt a felmérés ideje alatt is.

Pekingi palotakutya, törpe schnauzer és puli fajták aránya a populációban a felmérés ideje alatt csökkent, ugyanakkor a köves betegek között nőtt. A kövesség kialakulása pekingi palotakutyákban és a törpe schnauzerekben összefüggésbe hozható hajlamosító tényezőkkel (Lekcharoensuk et al., 2000b). Ezeknek a hajlamosító faktoroknak a fokozódó jelenléte lehet az elképzelhető oka a jelenségnek, de nem világos, hogy ez inkább genetikai (örökletes) hátterű, vagy inkább környezeti hatásnak tulajdonítható. Erre az eltérő irányú változásra a pulik esetében magyarázatot az eddigi ismeretek alapján nem tudunk adni.

Ellentétes irányú változás volt megfigyelhető a basset hound és a chihuahua fajták esetében. A basset hound fajta kifejezetten érintett a genetikai eredetű anyagcserezavar okozta cystinuriával. A fajta arányának populáción belül növekedése ellenére csökkenő arányú megállapított kövesség oka lehet a magyarországi basset hound populáció genetikai állományának „javulása”, a betegséget hordozó allélek frekvenciájának a populáción belüli csökkenése. A chihuahua kutyák esetében megfigyelt változás háttere egyelőre ismeretlen.

3.5. Limitációk:

3.5.1. Az adatok teljességének kérdése

Annak ellenére, hogy nem tudhatjuk, hogy minden kutyából származó kő laboratóriumi vizsgálat céljából elküldésre került, az eredmények értékelésekor feltételeztük, hogy Magyarországon a vizsgálatra küldött kövek túlnyomó része a BUC laboratóriumában került analízisre a felmérés ideje alatt. A kutyák teljes populáción belüli éves egyedszámát 2010, 2011 és 2012-ben a NÉBIH által regisztrált, veszettség elleni immunizálások igazolása céljából felhasznált hologramos matricák száma alapján számítottuk. Nincs bizonyítékunk arra vonatkozóan, hogy Magyarországon, a vizsgált periódusban minden kutyát beoltottak volna veszettség ellen, és ehhez azonos számú matrica felhasználását regisztrálták volna a NÉBIH szakemberei, továbbá nem biztos az sem, hogy minden kutyában kialakult kövességet diagnosztizáltak. Ennek ellenére adatainkat az eredmények tekintetében a legjobb megközelítésnek gondoljuk, mivel megfelelően nagy egyedszámú, jól körülhatárolt populációból származnak, amit feltehetően teljes egészében lefedett az adott laboratórium által nyújtott szolgáltatás.

3.5.2. A kőanalízis módszerének kérdése

A BUC laboratóriumában a kőösszetétel megállapítására használt módszerrel némely esetben nem tudtunk különbséget tenni a kalcium-oxalát mono- és -dihidrát között. Emiatt az eredmények összehasonlíthatósága érdekében a 2 kristályformát együttesen tárgyaltuk. Xantin-, DHA- és szilikáttartalmú követ kutyák esetében nem azonosítottunk. Egy földrajzilag közel eső területen (Cseh Köztársaság) végzett felmérés során sem találtak ilyen típusú köveket (Sosnar et al., 2005). Ezek hiányát magyarázhatjuk a rendkívül ritka előfordulással vagy módszerünk esetleges hiányosságával. Négy minta összetételét a rendelkezésre álló módszerekkel nem tudtuk megállapítani (ezekben az esetekben feltételezhető, hogy gyógyszermaradvány okozta a kőképződést).

3.5.3. A fajták meghatározásának kérdése

Egy adott egyed fajtájának meghatározása és regisztrálása a kezelő állatorvos feladata volt. A fajta azonosítása általában a származási lap vagy az oltási könyv adatai, küllem és/vagy a tulajdonos nyilatkozata alapján történik. A regisztrált és közölt adatok tényszerűségét nem tudtuk ellenőrizni. Emiatt felmérésünkben az egyes fajtákhoz sorolt egyedek száma a valóstól eltérő lehet (a származási lappal rendelkező kutyák száma a regisztrálnál lényegesen kisebb). Elsődlegesen a gyakori, nagy egyedszámú fajtáknál számíthatunk bizonyos adatorzulásokra (pl. német juhászkutya jellegű keverék vagy tacsó jellegű keverék fajtatisztaként történő regisztrálása), de ennek az eltérésnek a torzító hatása éppen a viszonylag nagy egyedszám miatt vélhetően nem jelentős.

3.5.4. Populációs adatbázisok összehasonlításának kérdése

A felmérés kezdete és vége között a fajták populáción belüli arányának meghatározásához és azok változásának kimutatásához két, egymástól független regisztrációs rendszer adatait hasonlítottuk össze. A vizsgálati periódus kezdetének populációs adatait egy nem szelektív és teljes adatbázis, a 2001-ben Budapesten élt összes kutya adatának elemzésével kaptuk (ekkor még mikrochipadatbázis nem létezett). A felmérés végére jellemző populációs adatokat a felmérés utolsó évében elérhető összesített országos mikrochipadatbázis kiértékelésével hoztuk létre. Mivel a felmérés ideje alatt a mikrochipes jelölés és regisztráció nem volt kötelező, nem minden kutya szerepel a regiszterben. A hiányzó adatok okozhatnak

torzulást a kapott eredményekben, elsődlegesen a fajták egymáshoz viszonyított arányában. Ugyanakkor az értékelt adatbázis nagysága (több mint 500 000 adat) vélhetően ellensúlyozza ezt a hatást.

3.5.5. Statisztikai elemzés elvi alapjainak kérdése

Annak érdekében, hogy a kövesség kialakulásának kockázatát egy adott fajta tekintetében megbecsüljük, vagy a fajtát, mint kockázati tényezőt értékeljük, adott típusú kövesség esetén a fajta előfordulását össze kell hasonlítanunk olyan referenciacsoport előfordulásával, amely ugyanabból a populációból származik, és feltehetően nem érintett az adott kövesség szempontjából számításba vehető kockázati tényezővel vagy hajlamosító faktórral. Emiatt az adatok értékelése során a kövességgel érintett keverék kutyákat tekintettük referenciacsoportnak. A referencia csoportnak mentesnek vagy egyenletesen (átlagosan) kell terheltnek lennie az ismert és a még nem ismert kockázati tényezőkkel. Ez esetünkben akkor lehet igaz, ha az összes ismert és nem ismert genetikai vagy környezeti tényező homogén eloszlást mutat, vagy kiegyensúlyozottan hat a referenciacsoportként kiválasztott keverék kutyákra. Mivel ez a feltétel nem bizonyítható, az esetleges eltolódásnak és egyenetlenségnek lehet valamilyen nem kiszámítható hatása a kalkulált OR-értékekre.

1. táblázat

Epidemiológiai adatok összefoglalása (urolith típus, ivar és kor szerinti adatok, N=2543).

urolith típus*	n	hím (ivaros/sterilizált)	nőstény (ivaros/sterilizált)	I?	H/N	F	F?	kor átlag ± sd (hónap)	KM	K?
struvit	1628	551 (479/72)	927 (736/191)	150	0,6	88	92	76,2 ± 38,9	72	152
kalcium-oxalát**	394	313 (273/40)	44 (34/10)	37	7,1	46	11	106,8 ± 34,8	108	33
purin***	334	280 (252/28)	21 (17/4)	33	13,3	35	5	65,4 ± 41,3	60	26
cisztin	108	96 (93/3)	0	12	****	28	3	58,0 ± 31,3	48	17
foszfátok*****	38	22 (19/3)	14 (11/3)	2	1,5	18	2	89,1 ± 40,1	96	1
egyéb *****	41	24 (19/5)	12 (12/0)	5		17	2	90,0 ± 50,7	84	8

n= minták száma, I?= az ivart nem közölte a beküldő állatorvos, H/N= hímek/nőstények aránya, F= fajták száma (keverékkel együtt), F?=fajta adat ismeretlen (nem közölt), KM= kor medián (hónap), K?= kor megjelölés nélküli minták száma

* a húgykő típusba sorolása a domináns (70 százalék feletti) ásványi összetevő alapján történt

** a kalcium-oxalát-mono- és dihidrát köveket együtt kalcium-oxalátként tüntettük fel

*** purin = húgysav, nátrium-urát-monohidrát és ammónium-urát tartalmú kövek összesen (xantin és dihidroxi-adenin követ nem azonosítottunk a vizsgálati sorozatban)

**** cisztin tartalmú kő csak kan kutyából érkezett (12 esetben az ivar adatát nem közölték).

***** részletesen: 15 brushit (11 hím, 3 nőstény, 1 ivar nem ismert), 17 hidroxipapatit (11 hím és 6 nőstény), és 6 karbonát-apatit minta (5 nőstény és 1 nem közölt ivarú egyedből származó minta)

***** Kílcscsont minták összetételének bizonyult (5 minta kalcium-oxalát magja körül struvit köpeny volt, 1 minta ammónium-urát maggal és struvit köpennyel, egy másik szintén ammónium-urát maggal és kalcium-oxalát köpennyel, és egy kő cisztin magja körül apatit köpennyel rendelkezett). Négy minta összetételét a rendelkezésre álló módszerekkel nem tudtuk azonosítani, és 28 húgykő domináns ásványi összetevő nélküli keveréknek bizonyult (egyik ásványi összetevő aránya sem érte el a vizsgált minta 70 százalékát).

2. táblázat

Egy adott húgykötítípus előfordulása tekintetében érintettnek bizonyult fajták:

	fajta név	n / N	OR	95% CI	P
struvit	berni pásztor	31 / 32	11,1	1,5 - 82,7	0,018
	német juhászkutya	49 / 51	8,8	2,1 - 36,9	0,002
	shih-tzu	77 / 88	2,5	1,2 - 4,9	0,007
	angol cocker spániel	89 / 105	2,0	1,1 - 3,5	0,019
kalcium-oxalát	keverék	259 / 352	ref. csop.	ref. csop.	ref. csop.
	törpe pinscher	10 / 20	5,4	2,1 - 13,5	< 0,001
	yorkshire terrier	84 / 212	3,5	2,3 - 5,2	< 0,001
	törpe uszár	9 / 24	3,2	1,3 - 7,7	0,008
	törpe schnauzer	26 / 89	2,2	1,3 - 3,8	0,003
	keverék	55 / 352	ref. csop.	ref. csop.	ref. csop.
	dalmata	151 / 160	352,3	152,3 - 815,3	< 0,001
	orosz fekete terrier	27 / 29	283,5	61,9 - 1298,0	< 0,001
	angol bulldog	26 / 58	17,1	8,3 - 35,1	< 0,001
	tibeti spániel	3 / 8	12,6	2,8 - 57,4	0,001
purin	óriás schnauzer	2 / 8	7,0	1,3 - 37,4	0,022
	bolognese	6 / 25	6,6	2,3 - 18,9	< 0,001
	amerikai staffordshire terrier	4 / 29	3,4	1,0 - 10,8	0,042
	yorkshire terrier	27 / 212	3,1	1,6 - 5,8	< 0,001
	keverék	16 / 352	ref. csop.	ref. csop.	ref. csop.
	basset hound	19 / 37	40,2	16,0 - 101,3	< 0,001
	angol bulldog	19 / 58	18,6	7,9 - 43,9	< 0,001
	rottweiler	8 / 30	13,9	4,9 - 39,4	< 0,001
	törpe pinscher	5 / 20	12,7	3,8 - 42,6	< 0,001
	francia bulldog	3 / 14	10,4	2,5 - 43,8	0,001
cisztin	drótszörű tacskó	2 / 12	7,6	1,5 - 39,9	0,016
	tacskó	13 / 89	6,5	2,7 - 15,8	< 0,001
	chihuahua	3 / 27	4,8	1,2 - 18,8	0,025
	keverék	9 / 352	ref. csop.	ref. csop.	ref. csop.

n = az adott típusú húgykövességgel érintett egyedek száma, N = a húgykötítípusra tekintet nélkül érintett összes, a fajtához tartozó egyed száma, OR= esélyhányados, 95% CI = a 95%-os konfidencia intervallum alsó és felső értékei, p= a számított p érték. A több típusú urolithiasis tekintetében is prediszponált fajták neveit *dólt* betűvel jeleztük.

3. táblázat

Húgykőtipusok megoszlása (százalékban kifejezve) a különböző tanulmányokban, földrajzi régiók szerint.

ország (földrajzi régió)	felmérés ideje	eset szám	struvit	oxalát*	purin	cisztin	egyéb
Mexikó (Del Angel-Caraza et al., 2010)	2009	105	38,1	26,7	7,6	1,0	26,7
Új-Zéland (Jones et al., 1998)	1993 - 1996	316	64,6	19,0	2,8	7,6	6,0
Cseh Köztársaság (Sosnar et al., 2005)	1997 - 2002	1366	38,7	35,9	11,2	5,6	8,6
Kanada (Houston and Moore, 2009)	1998 - 2008	37 193	42,8	49,7	4,1	0,3	3,1
Írország (Jones et al., 2001)	1998 - 2001	156	52,0	25,0	6,4	8,3	8,3
USA (Osborne et al., 2009)	1981 - 2007	350 803	42,5	38,0	6,4	1,0	12,1
Egyesült Királyság (Roe et al., 2012)	1997 - 2006	14 008	49,5	30,7	9,3	3,0	7,6
Franciaország (Blavier et al., 2012)	2007 - 2010	1131	42,6	44,3	6,0	3,7	3,4
Svájc (Schenk et al., 2010)	2002 - 2009	468	33,5	44,4	4,9	3,6	13,5
Európa (Hesse and Neiger, 2009)	1980 - 2000	7697	58,3	15,3	7,4	13,4	5,6
Portugália és Spanyolo. (Vrabelova et al., 2011)	2004 - 2006	2712	33,1	38,5	6,7	3,2	18,5
Magyarország (saját adatok)	2001 - 2012	2543	64,0	15,5	13,1	4,2	3,1

* Az "oxalát" kifejezés alatt együtt tüntetjük fel a kalcium-oxalát-mono- és di-hidrát kövek adatait.

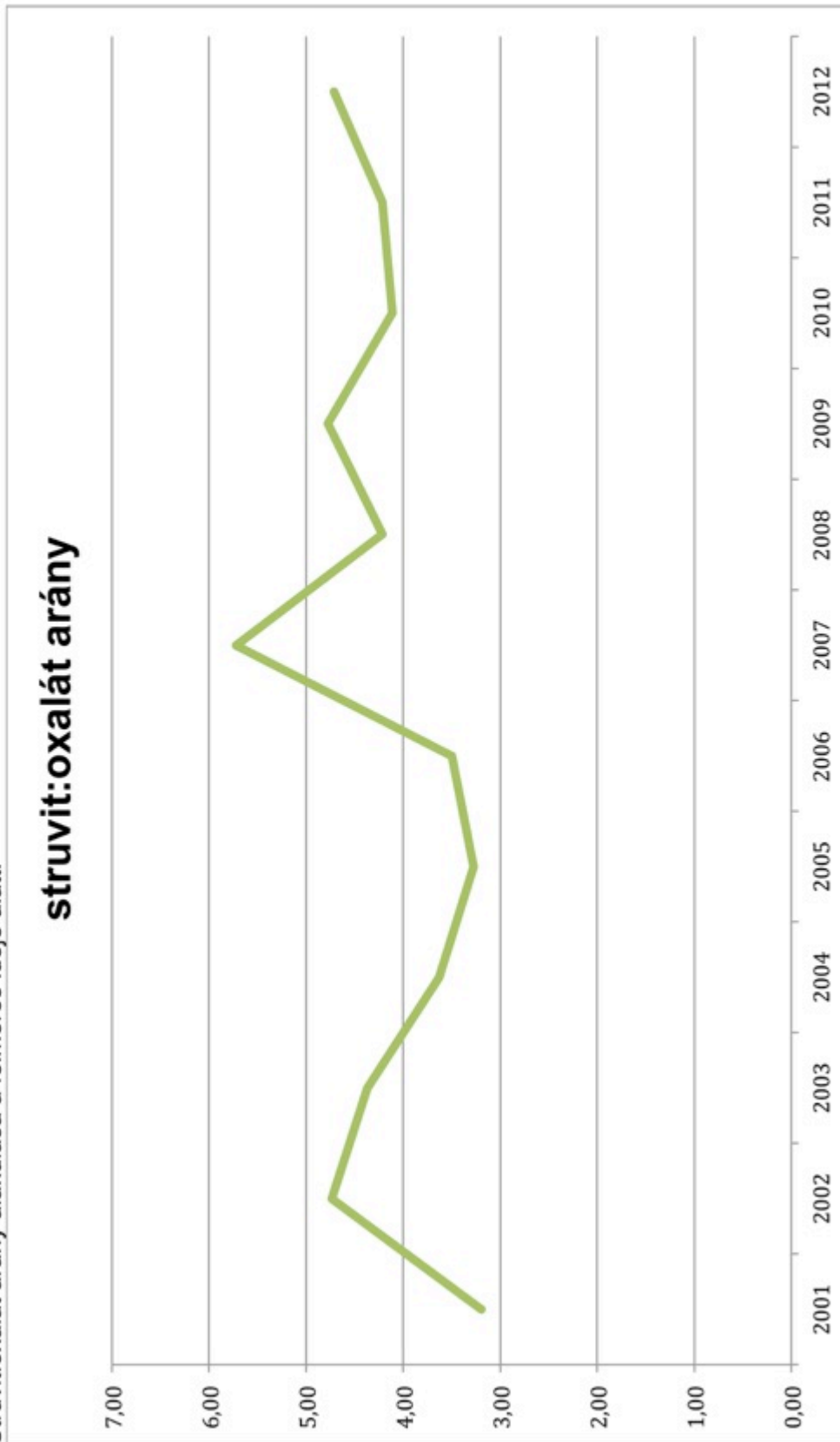
4. táblázat

A kötítések előfordulásának aránya és annak változása a felmérés 12 éve alatt.

	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012
struvit	54,4%	57,0%	60,6%	62,6%	60,6%	68,9%	67,8%	66,8%	67,3%	63,3%	66,1%	68,8%
purin	22,0%	21,5%	14,4%	13,8%	12,5%	9,3%	14,7%	13,5%	11,8%	13,3%	7,6%	8,1%
oxalát	17,0%	12,0%	13,9%	17,2%	18,5%	19,7%	11,8%	15,9%	14,1%	15,4%	15,7%	14,6%
ciszтин	3,8%	3,8%	5,6%	3,0%	4,2%	1,0%	4,7%	1,9%	4,5%	5,8%	6,8%	4,6%
foszfátok	1,1%	1,9%	3,7%	1,5%	3,2%	0,5%	0,9%	0,5%	0,9%	0,8%	2,1%	0,8%
egyéb	1,6%	3,8%	1,9%	2,0%	0,9%	0,5%	0,0%	1,4%	1,4%	1,3%	1,7%	3,1%

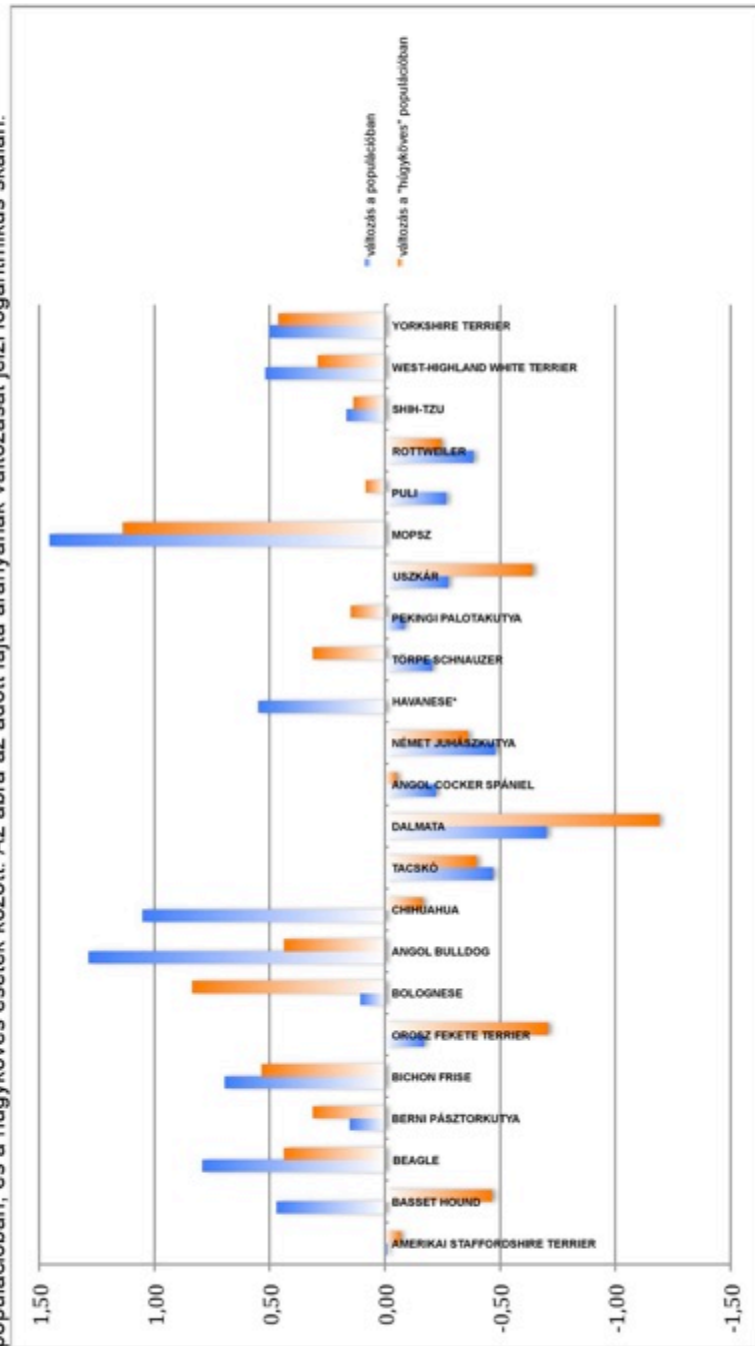
20. ábra

Struvit:oxalát arány alakulása a felmérés ideje alatt.



21. ábra

Az összes húgyköves esetek több mint 80 százalékát kitevő, leggyakoribb 23 fajta arányainak alakulása a felmérés kezdete és vége között a populációban, és a húgyköves esetek között. Az ábra az adott fajta arányának változását jelzi logaritmikusk skálán.



*Havanese fajtájú kutyából húgykő nem érkezett a felmérés kezdetén, ugyanakkor 22 mintát regisztráltunk a vizsgálatok utolsó 2 évében. Bár a fajta reprezentáltsága nőtt (nulláról 4.4 százalékra), ez mégsem ábrázolható hányadosként.

4. A purin húgykövességet okozó öröklődő betegség, a hyperuricosuria prevalenciájának vizsgálata a purinkövességgel érintett kutyákban

4.1. Bevezetés:

A különböző típusú, eltérő okokból létrejövő kövesség viszonylag gyakori betegség kutyákban (Ling et al., 1998). Ezen belül a purinkövesség (a purinanyagcsere metabolitjaiból álló urolithok) aránya a legutóbbi epidemiológiai felmérések alapján 6 százalék (Blavier et al., 2012) és 9,3 százalék (Roe et al., 2012) között van. Magyarországon ennél nagyobb átlagos előfordulást állapítottunk meg (13 százalék, lásd 3.4.1. bekezdés). A dalmata fajta egyedeinek érintettsége régóta ismert tény. A jelenség hátterében elsősorban a vesében és a májban jelentkező húgysavtranszport zavart állapítottak meg (Giesecke és Tiemeyer 1984) (Sorenson és Ling 1993), melyért egy génben – SLC2A9 – jelentkező mutáció a felelős (OMIA 001033-9615), amely autoszomális recesszív öröklésmentet mutat (Bannasch et al., 2008).

Epidemiológiai vizsgálatok a dalmatákon kívül más fajtákban is kimutatták a purinkövesség nagyobb arányú előfordulását. Publikációban 2004-ben számoltunk be az OFT kutyákban előforduló hasonló jelenségről (Bende és Németh 2004), illetve más szerzők megállapították az angol bulldog (Bartges et al 1994) és a yorkshire terrier (Tobias és Rohrbach, 2003) fajták érintettségét is.

Egy publikációban vizsgálták és kimutatták a fokozott húgysavürítés fenotípusos megjelenése (HUU), és az uráttranszporter SLC2A9 génben a Cys181Phe mutáció jelenléte közötti kapcsolatot (Karmi et al., 2010b) angol bulldog és OFT kutyákban. Ugyanakkor köves betegek csak az OFT fajtában jelentkeztek az akkor vizsgált populáción belül. Saját vizsgálatainkkal arra kerestük a választ, hogy milyen arányban és mely fajtáknál lehet számítani a kialakult purinkövesség hátterében a HUU-ért felelős genetikai mutáció jelenlétére.

4.2. Anyag és módszer:

4.2.1. Kőanalízis, betegek kiválasztása

A vizsgálatba azokat a kutyákat vontuk be, amelyekből a BUC-ba 2008 májusa és 2010 májusa között, összetételében 70 százalékot meghaladó purintartalmú (húgsav, ammónium-urát, nátrium-urát) követ küldtek vizsgálatra. A dalmata fajtához tartozó egyedeket (11 eset) kizártuk a vizsgálatból. Egyéb szelekciót a betegek között nem végeztünk

A kőanalízist fénymikroszkópos és utramikro-kémiai (Harzalith, Reanal) (Berényi & Fang 1989) (Berényi és Pánovics 1980), valamint infravörös spektroszkópiás módszerrel (Perkin Elmer 1600 FTIR, Perkin Elmer Spektrum 400, KBr pellet technika) végeztük. Infravörös spektroszkópiás kontrollvizsgálatok Spanyolországban, a leoni egyetemen (Departamento de Medicina, Cirugía y Anatomía Veterinaria, Universidad de León, Campus de Vegazana s/n C.P.24071, León) készültek.

Mindegyik, a vizsgálatba bevont, purinköves beteget kezelő állatorvosnak felhívást és kérdőívet küldtünk. A felhívásban leírtuk a vizsgálatok célját, a kérdőívben pedig az állat testtömegére, rendszeresen fogyasztott táplálékára, esetleges egyéb betegségeire vagy rendszeresen alkalmazott gyógyszeres kezelésére és táplálására vonatkozó klinikai adatok közlését kértük.

4.2.2. DNS-vizsgálat

A purinköves betegek genetikai vizsgálatához minden betegből 2 x 3ml, alvadásban gátolt (EDTA-s csőbe vett) vérmintát kértünk. A minták többségét a kezelő állatorvosok vették le és küldték a laboratóriumba. A beérkezett vérmintákat legkésőbb 24 órán belül feldolgoztuk. A feldolgozás megkezdéséig a mintákat +4 és +8 fok között, hűtőszekrényben tároltuk. A DNS-precipitációhoz a Qiagen Gentra Puregene Blood Kit (Qiagen, Németország) rendszert használtuk, a forgalmazó által jóváhagyott módon módosított kiindulási mennyiségekkel (részletesen lásd a **Függelékben**). A budapesti laboratóriumban a DNS-extrakciós folyamat első 6 lépését végeztük el, majd az így stabilizált preparátum további feldolgozását és DNS szekvenálását a California-i egyetem genetikai laboratóriumában (University of California, Veterinary Genetics Laboratory, One Shields Ave, Davis, CA 95616-8744, USA) végezték a

laboratórium publikált módszere szerint (Karmi et al., 2010b). Minden esetben a stabilizált mintákból egy kontroll mintát megőriztünk a budapesti laboratóriumban.

4.3. Eredmények:

A vizsgálat ideje alatt 50 olyan nem dalmata fajtájú kutya jelent meg a beküldő klinikákon, amelyekből az eltávolított kövek összetétele 70 százalék feletti részben purintartalmúnak bizonyult. Az 50 betegből 24 esetben került sor vérvételre.

Azon betegek közül, amelyeknél nem történt vérvétel, 9 kutya a kövesség megállapítása és a vérvételre történő behívás között eltelt időben elhullott vagy elaltatásra került.

2 beteg tulajdonosa nem járult hozzá a vérvételhez (egy puli és egy tibeti spániel), és 15 beteg tulajdonosa vagy kezelő állatorvosa nem válaszolt a felhívásra.

A 24 vizsgált egyedből 11 bizonyult HUU szempontjából érintettnek (10 homozigóta és 1 heterozigóta). A többi 13 esetben a genetikai teszt eredménye negatív volt, a mutációt hordozó allélt nem lehetett kimutatni (**5.táblázat**).

4.4. Megbeszélés:

50 betegből 9-ből azért nem tudtunk mintát venni, mert a kövesség diagnosztizálása és a vizsgálati lehetőség megteremtése között eltelt közel egy év alatt elhullottak. Ezen betegek átlagéletkora a kövesség megjelenése idején 49 hónap (medián 40 hónap) volt. A 18 százalékos, egy éven belüli mortalitás alapján a purinkövességet (az elsődleges kórokra tekintet nélkül) kétes prognózisú állapotnak tekinthetjük. Az elhullott betegek között nem volt HUU-val ismertén érintett fajtához tartozó egyed. Bár az elhullások okát, illetve a háttérbetegségeket ezeknél az egyedeknél nem ismerjük, feltételezhetjük, hogy a purinkövesség háttérének vizsgálata során a HUU megállapítása jobb prognosztikai értéket jelenthet.

Purinkövességgel diagnosztizált, HUU-t okozó genetikai mutációval ismertén terhelt fajták (angol bulldog, OFT) minden egyedében kimutattuk a genetikai defektust hordozó allélt.

15 egyéb fajtához tartozó állatból 2 bizonyult homozigóta-pozitívnak. Nagyobb esetszámot mutató fajták tekintetében a yorkshire terrier veleszületett PSS-sel érintett (Tobias és Rohrbach 2003), ami purinkövesség kialakulásához vezethet. A pekingi fajtában szintén leírták a purinkövesség halmozott előfordulását (Low et al., 2010), de a háttér ok vagy

hajlamosító tényező nem ismert, és jelen vizsgálat alapján valószínűsíthetően nem a HUU-ról van szó. Az ismert háttértényezőkkel nem terhelt fajták egyedeinek eredményeit vizsgálva 9 kutyából 2 bizonyult homozigóta-pozitívnak, egy jagd terrier és egy keverék kutya. Felmerülhet, hogy az SLC2A9 gént érintő mutáció jóval gyakrabban fordul elő a kutyákban, mintsem azt a kövességgel jelentkező betegek alapján gyanítani lehet (Karmi et al., 2010a) illetve számításba kell venni, hogy a genetikai mutáció jelenléte és a kialakuló purinkövesség között bár szoros lehet a korreláció, egyéb – még nem ismert – faktorok is szerepet játszhatnak a kövesség kialakulásában. Erre utalhat az a tény is, hogy az egyik OFT egyed, melyben purinkövességet állapítottunk meg, a HUU-ért felelős genetikai elváltozás tekintetében heterozigóta volt. Korábbi adatok alapján a heterozigóták húgysav ürítése (vizelethúgysav/kreatinin) a nem érintett egyedekéhez hasonló (Karmi et al., 2010b). Ez a 4 éves kan kutya ugyanakkor más háttérbetegség tünetét nem mutatta, klinikai vizsgálatai negatív eredménnyel zárultak és ismételt genetikai tesztje szerint is heterozigóta volt. Ennek alapján felmerülhet, hogy a korábbi feltevésekkel ellentétben a heterozigóták is veszélyeztetettek vagy más, a mutációhoz kapcsolt és még nem feltárt faktor is szerepet játszik a kövesség kialakulásában. Ennek a kérdésnek a vizsgálata további kutatásokat igényel.

A betegek adatai alapján a purinkövességgel összefüggésbe hozható egyéb háttértényezőt (PSS, májműködési zavar) (Bartges et al., 1999) a beküldő állatorvosok nem jelölték.

Az adatok feldolgozása során 2 esetben találtunk fehérje túletetésre, mint a purinkövességre hajlamosító tényezőre utaló adatot. Egy yorkshire terriert és egy pekingi palotakutyát rendszeresen macskatáppal etettek.

5. táblázat:

Az 50 purinköves beteg adatai és összesített teszt eredményei fajtánként csoportosítva:

fajta	beteg száma (n)	tesztelt beteg száma	pozitív HUU teszt	Elhullott egyedek száma	Tesztelt aránya (%)	Tesztelt pozitív egyedek aránya (%)
yorkshire terrier	9	4	0	2	44	0
angol bulldog	8	7	7	0	88	100
orosz fekete terrier	5	2	2	0	40	100
keverék	5	3	1	1	60	33
pekingi	4	2	0	1	50	0
shi-tzu	3	0	0	1		
bolognese	2	2	0	0	100	0
mopsz	2	1	0	0	50	0
törpe schnauzer	2	0	0	0		
west-highland white terrier	2	0	0	2		
amerikai sraffordshie terrier	1	0	0	0		
angol cocker spániel	1	0	0	1		
chihuahua	1	1	0	0	100	0
ismeretlen	1	0	0	1		
jagd terrier	1	1	1	0	100	100
puli	1	0	0	0		
tacskó	1	1	0	0	100	0
tibeti spániel	1	0	0	0		

5. A macskák húgykövességének epidemiológiai vizsgálata

5.1. Bevezetés:

A kövesség előfordulásának gyakoriságáról macskák tekintetében még csak megközelítő információval sem rendelkezünk. A megállapított köves esetek túlnyomó részében a kövek az alsó húgyutakban fordulnak elő és kerülnek diagnosztizálásra. Irodalmi adatok szerint a kövek lokalizációja 92 százalékban a hólyagban (Leckharoensuk et al., 2000a) illetve 89,7 százalékban a hólyagban és 11,2 százalékban a húgycsőben is (Schenk et al., 2010b) jelentkezik, ezzel elsősorban alsó húgyúti tüneteket (FLUTD) okozva.

Az FLUTD panaszokkal (tenesmus, dysuria, haematuria, pollakisuria, periuria) jelentkező macskák viszonylag gyakori páciensek az állatorvosi praxisokban. Egyes klinikai felmérések szerint arányuk az összes beteg tekintetében elérheti akár az 1,5–10 százalékot is (Lemberger et al., 2011) (Segev et al., 2011) és tüneteik hátterében a különböző felmérések alapján 7–21 százalék között változó arányban, az egyéb kóroki tényezők mellett a harmadik leggyakoribb okként kövesség állapítható meg (Dorsch et al., 2014) (Cannon et al., 2007). Ennek alapján – pusztán statisztikai értelemben – átlagosan akár minden 50. beteg macskapáciens is lehetne köves.

A macskák esetében a két leggyakoribb ásványi kövességetevő, a struvit és a kalcium-oxalát. Kisebb arányban purin, cisztin és egyéb, ritkább összetételű kövek is előfordulnak. Az egyes összetevők bár ugyanazok, mint a kutyáknál vagy az embereknél diagnosztizált esetekben, ugyanakkor a képződés hátterében álló okok, hajlamosító tényezők – elsősorban a macskák jellegzetes vízháztartása, vizeletürítési és táplálkozási jellemzői miatt – eltérőek lehetnek, illetve többnyire nem tisztáztak. A kövesség epidemiológiai vizsgálata, a fajták és kőtípusok esetleges kapcsolata, illetve az epidemiológiai adatok időbeli alakulásai, irányzatai további információval szolgálhatnak a háttér folyamatok megértéséhez, illetve a szükséges terápiás stratégiák kialakításához, hatásuk értékeléséhez.

5.2. Anyag és módszer

A Budapesti Urolith Centrumba 2006. január 1. és 2014. december 31. között 480 macskából származó követ küldtek vizsgálatra Magyarország egész területéről a betegeket kezelő állatorvosok. A minták mellé a legtöbb esetben a beküldő állatorvos mellékelte a szükséges kísérőiratot, amelyen feltüntetésre került az állat fajtája, ivara, kora és a kő eredeti lokalizációja is.

A kövek összetételét száraz és megtisztított állapotban, makro- és mikroszkópos vizsgálatot követően rétegenként vizsgálatuk ultramikro-kémiai (Harzolith, Reanal Rt.) és részben infravörös spektroszkópiai (Perkin Elmer 1600 FTIR) módszerrel. A köveket a kövek összetételében 70 százalékot elérő vagy meghaladó domináns ásványi összetevő alapján osztályoztuk. Ha a vizsgált kő eltérő rétegeiben eltérő domináns ásványi összetevő jelentkezett, az adott követ "összetett"-ként regisztráltuk.

Oxalátkövességeként egy kategóriába soroltuk a kalcium-oxalát-mono- (whewellit) és -dihidrát (weddellit) tartalmúakat. Purinnak neveztük összefoglalóan a purinanyagcseréből származó metabolitokból álló köveket (húgysav, ammónium-urát, nátrium-urát). A foszfátok közé az apatit (kalcium-foszfát) és a karbonát-apatit (kalcium-karbonát, -foszfát) tartalmú mintákat soroltuk.

5.3. Eredmények

5.3.1. Kőtípusok megoszlása

A vizsgált minták 77,3 százaléka (371) struvit, 17,8 százaléka (85) oxalát, 1,5 százaléka cisztin (7), 1 százaléka purinnak (5) bizonyult. A fennmaradó 12 mintából 5 kalcium-foszfát, 4 összetett, 1 szilikáttartalmú volt, és 2 minta kiszáradt, feltehetően vér vagy véralvadék eredetű szerves jellegű képződmény volt. (**22. ábra**) (Lásd 59. oldal)

5.3.2. A fajta, a kor és az ivar megoszlása kőtípusonként

A struvitnak bizonyult kövek közül kandúrból 52, kasztrált macskából 189, nőtény macskából 40 és miskárolt egyedből 67 minta érkezett a laboratóriumba. 23 struvitnak bizonyult minta esetében az ivar adatát nem közölte a beküldő állatorvos. A betegek átlagos életkora a kő eltávolítás idején 71,2 hónap volt, 33 beteg korának adata nem ismert.

Az oxalátkövek 9 esetben kandúr és 38 esetben kasztrált, valamint 12 esetben nőtény és 21 esetben miskárolt macskából származtak. Oxalátkövességgel diagnosztizált 5 beteg ivarát nem jelezték. Az érintett macskák átlagos életkora 90,1 hónap volt. A korra vonatkozó adat 4 esetben hiányzott a kísérő iratból.

A struvit- és az oxalátköves betegek fajták szerinti megoszlását az **6. táblázatban** és a **23. ábrán** tüntettük fel (Lásd 60. oldal), az ivar szerinti megoszlást és a típusonként jellemző ivararányt a **7. táblázatban** (Lásd 61. oldal) foglaltuk össze.

Az összes oxalát tartalmú minták a struvit minták 23 százalékát teszik ki. A beérkezett kövek típusainak arányát éves lebontásban vizsgálva megállapítható, hogy az oxalátkövesség aránya folyamatosan nőtt míg a struvitkövesség csökkent (**24. ábra**) (Lásd 63. oldal).

A purin-, cisztin- és egyéb tartalmú minták adatait a **8. táblázatban** foglaltuk össze (Lásd 62. oldal).

5.4. Megbeszélés:

Alsó húgyúti tünetet mutató macskák jelentős részében a húgyhólyagban és/vagy a húgycsőben deponálódott, szilárd jellegű képlet okozza az enyhébb vagy súlyosabb panaszokat. Az ilyen képletek megjelenésük alapján 2 csoportra oszthatók. Az elsősorban a húgycsőben részleges vagy teljes elzáródást okozó, agyag szerű fizikai állapotú, többnyire morzsalékony konkrementumot „dugónak” (plug) nevezzük.

A plug nagy mennyiségű szerves eredetű mátrix (sejt és sejttörmelék, fehérjék, baktériumok stb.) mellett változó mértékben kristályos összetevőt is tartalmaz, amely a legtöbb esetben struvit (Osborne et al., 2009). Ezek megkülönböztetése a klasszikus értelemben vett kőtől nem mindig egyértelmű. A BUC-ba érkezett, FLUTD tünetet mutató macskákból származó, makroszkópos megjelenésében homokszerű minták vizsgálati eredményei nem kerültek bele a felmérésbe. Ezek a minták mind mikroszkópos morfológiai, mind ultramikro-kémiai módszerrel vizsgálva kivétel nélkül kristályos megjelenésű struvitnak bizonyultak.

A másik csoportba a húgyutakban (vese, ureter, húgyhólyag, urethra) képződő szilárd, kőszerű konkrementumokat soroljuk, mint „klasszikus” kövek. Ezek szerves összetevőt lényegesen kevesebbet tartalmaznak, mint a plug, főleg az ásványi összetevőjük dominál.

5.4.1. A megfigyelt tendenciák összehasonlítása

A magyarországi adatokat nemzetközi publikációkban megjelent felmérések adataival (Leckharoensuk et al., 2000a) (Osborne et al., 2009) (Hesse et al., 2012) (Schenk et al., 2010b) (Houston és Moore 2009) összevetve (**25. ábra**) (Lásd 64. oldal) megállapítható, hogy populációnkban a struvitkövességben szenvedő macskák aránya nagyobb és az oxalátkövesség aránya kisebb mint az egyéb – USA, Kanada, Svájc és Nyugat-Európa –

felmérésekben. Az oxalátkövesség aránya a hivatkozott epidemiológiai felmérések adatai szerint folyamatos, tendenciózus változást mutat.

Az USA-ban epidemiológiai adatok alapján 1981 és 1997 között az oxalátkövesség aránya 1-ről 53 százalékra nőtt, míg a struvitkövesség aránya 78-ról 39 százalékra csökkent (Leckharoensuk et al., 2000a).

Egy másik, USA-ból származó felmérésben 1985 és 2000 között szintén megállapították ennek az arálynak a hasonló jellegű szignifikáns változását (Cannon et al., 2007).

Franciaországban 1994 és 2003 közötti időszakban a struvitkövesség aránya macskákban 77-ről 32 százalékra, míg az oxalátkövesség aránya 12-ről 61 százalékra változott (Picavet et al., 2007).

Több európai országból származó minták együttes vizsgálati adatai szerint 1981 és 2008 között az oxalátkövesség aránya szignifikánsan nőtt (48,6 százalékig), és 2008-ra meg is haladta a struvitkövesség arányát (Hesse et al., 2012).

Kanadában ugyanakkor 1998 és 2008 között nem volt szignifikáns változás az oxalátkövesség prevalenciájában, de a struvitkövesség aránya csökkent a purinéhoz képest (Houston és Moore 2009), így végső soron az oxalátkövesség aránya itt is nőtt a struvithoz viszonyítva.

Felmérésünk teljes 9 éve alatt érkezett mintákon belül az összes oxalátnak bizonyult kövek száma a struvitminták mindösszesen 23 százalékát jelentették, ugyanakkor évente vizsgálva a beérkezett minták arányát megállapítható, hogy – hasonlóan a legtöbb korábbi külföldi megfigyeléshez – az oxalátkövesség aránya folyamatosan nőtt, míg a struvit aránya ezzel párhuzamosan csökkent. 2006-ban az oxalát és struvitminták számának egymáshoz viszonyított aránya 0,13 volt, 2014-ben ugyanez az arány már 0,8 volt (**24. ábra**).

A kőtípusok előfordulása egymáshoz viszonyított arányának időbeli változása az utóbbi évtizedben került az epidemiológiai vizsgálatok fókuszába. Az okok tekintetében a macskatápokban alkalmazott, főleg a struvit képződés ellen ható összetétel-változásokat gyanítják egyes szerzők. Egy klinikai vizsgálat megállapította, hogy csökkentett Mg-tartalmú illetve alacsony Na-, K-tartalmú és vizeletsavanyító hatású diéta ugyan csökkenti a struvit-, de fokozza az oxalátkristályok kialakulásának kockázatát. Hasonlóan, csökkentett zsír -és szénhidrát-tartalmú diéta is növeli az oxalátkövesség kialakulásának kockázatát (Leckharoensuk et al., 2001).

A folyamat ismételt megfordulását (a struvitminták arányának növekedését) észlelték 2000-tól illetve 2003-tól az USA-ban két független felmérésben is (Cannon et al., 2007) (Osborne et al., 2009), és a háttéroként a macskatápok összetételének újabb változtatását tétélezték fel (Osborne et al., 2009).

5.4.2. A kőtípus és a kor kapcsolata

Más megfigyelésekhez hasonlóan (Leckharoensuk et al., 2000a) felmérésünkben is azt találtuk, hogy az oxalátkövek átlagosan idősebb egyedekből származtak, mint a struvitminták.

5.4.3. A kövesség és az ivar kapcsolata

A kövesség kialakulása és az ivar közötti összefüggés vizsgálata felmérésenként jelentősen eltérő eredményeket mutat. A különböző publikációkban a hímek (kandúrok és kasztrált egyedek) aránya 71,4 és 48 százalék, míg a nőstények (intakt és miskárosult egyedek) aránya 28,6 és 46 százalék között volt (Sævik et al., 2011; Schenk et al., 2010b). Felmérésünkben a hím egyedek aránya 62,7 míg a nőstényeké 30,8 százalék volt. Összesen 31 beteg ivarának adatát nem közölték a beküldő állatorvosok.

5.4.4. A kőtípus és az ivar kapcsolata

Egy amerikai felmérés szerint (Leckharoensuk et al., 2000a) oxalátkövességet gyakrabban állapítottak meg hím egyedekben (59 százalék), míg a struvitkövesség prevalenciáját nőstényekben találták nagyobbak (58 százalék). Ezzel teljesen ellentétes megállapítást is publikáltak brit szerzők (Rogers et al., 2011). Felmérésünkben, hasonlóan egy európai felmérés adataihoz (Hesse et al., 2012), mind a struvit- (2,25-ször) mind az oxalátkövesség (1,42-szer) nagyobb arányban fordult elő hímekben mint nőstényekben.

Cisztinkövesség ugyanakkor több nőstényben (4/7) fordult elő mint hímekben (3/7). Ez a megfigyelés azért is érdekes, mert kutyákban kizárólag hímekben állapítottunk meg, a macskáknál jóval nagyobb számban és arányban cisztinkövességet, annak ellenére, hogy a betegség kialakulásával kapcsolatban ugyanazokat a háttérbetegségeket feltételezzük mind a két faj esetében. Hasonló jelenséget figyeltek meg korábban más felmérésben is (Hesse és Neiger 2009)

5.4.5. A kőtípus és a fajta kapcsolata

Egyes fajtákban halmozottan előforduló, azonos típusú kövesség kialakulásának hátterében általában valamilyen veleszületett hajlam vagy öröklődő betegség tételezhető fel. Ezek vizsgálata elvezethet olyan genetikai markerek azonosításához, melyek bizonyos

veleszületetten determinált betegségek diagnózisát, illetve azok szűrését tehetik lehetővé. Kutyaokban több ilyen is létezik, de macskákban eddig még nem jutottak el a vizsgálatok klinikailag is alkalmazható ismeretekig. Ennek egyik oka lehet, hogy a halmozott előfordulás megfelelő igazolásához ismerni kellene az egészséges populáció fajtaösszetételét és ilyen adatokkal többnyire nem rendelkezünk. A másik ok, hogy bár a szakirodalomban fellelhető adatok alapján kimutathatók olyan fajták, amelyekben egyes kőtípusok prevalenciája nagyobb, az ilyen megállapítások ellentmondásosak, és így nem tekinthetők általános érvényűeknek.

Perzsa és himalája fajták egyedeiben az oxalátkövesség (Cannon et al., 2007) 5,8-szor nagyobb gyakorisággal (Leckharoensuk et al., 2000a) jelentkezett. Ugyanezekben a fajtákban valamint házimacskák és a sziámi fajta egyedeiben is mind struvit, mind oxalát tekintetében nagyobb volt a prevalencia más macskafajtákhoz viszonyítva egy kanadai felmérés eredményei szerint (Houston és Moore 2009). Egy későbbi amerikai publikációban ezzel ellentétes megállapításra jutottak (Albasan et al., 2012).

Fajta és típus között nem találtak semmilyen összefüggés egy korábbi európai felmérésben (Picavet et al., 2007).

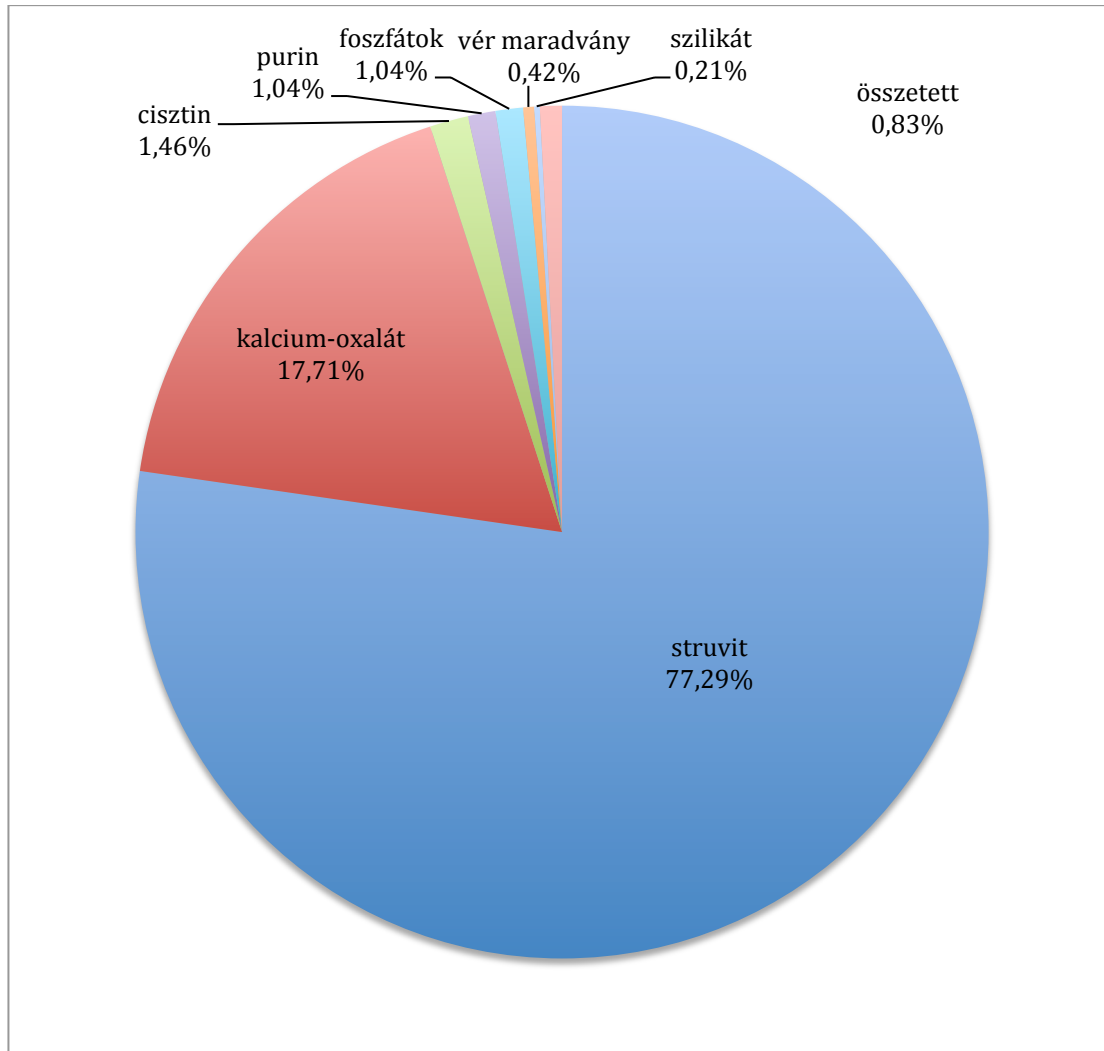
Purinkövesség gyakoribb előfordulását publikálták egyiptomi mau (Houston és Moore 2009) (Appel et al, 2010) valamint burmai és sziámi fajtákban, mely főként fiatal hímeket érintett. A jelenség hátterében a szerzők genetikai okokat tételeztek fel (Appel et al, 2010).

A purinkövesség hátterében ritkán (10 százalék alatt) portális keringési zavar (Cannon et al., 2007) vagy még ritkábban krónikus májfunkció-elégtelenség is (Dear et al., 2011) állhat. A kutyákhoz hasonló, örökletes HUU macskákban nem ismert. A purinanyagcserét befolyásoló és elsősorban xantinkövességet okozó, feltehetően örökletes enzimatis defektust és klinikai kövességet néhány esetben állapítottak meg házi jellegű rövidszőrű macskákban (Schweighauser et al., 2009) (White et al., 1997). Egy esetben leírtak kétoldali ureterelzáródást is okozó xantinkövességet egy 10 hónapos macskában (Mestrinho et al., 2013). Felmérésünkben ilyen típusú kövességgel nem találkoztunk.

Saját vizsgálati eredményeinket értékelve arra a megállapításra jutottunk, hogy a struvitkövesség prevalenciája vélhetően követi a fajták populáción belüli feltételezhető gyakoriságát. Ugyanakkor az oxalátkövesség előfordulása – a struvitkövességhez képest – perzsa macskában közel kétszer, brit rövidszőrűekben több mint ötször nagyobb (**23. ábra**). Egyértelmű fajtadiszpozícióra utaló eredményt a cisztinkövesség sziámi macskákban megállapított halmozott előfordulása (6/7) jelenthet, hasonlóan korábbi megfigyelésekhez (Hesse és Neiger 2009). A betegek között ugyanakkor rokoni kapcsolatot kimutatni, származási lapok és dokumentációk hiányában nem lehetett. A cisztinkövesség hátterében ismert a cisztint, és egyes esetekben más aminosavakat is érintő tubuláris

transzportzavart állapítottak meg emberben és kutyában. Az aminosavak membrántranszportjáért felelős fehérjéket – jelenlegi ismeretünk szerint – több gén (SLC3A1 és SLC7A9) is kódolja. Macskában a genetikai háttér nem teljesen tisztázott. Egy cisztinuriás macskában az egyik érintett gén (SLC3A1) mutációját állapították meg (Mizukami et al., 2015). Vizsgálatunkban azonosított cisztinköves esetek genetikai háttere nem ismert.

22. ábra. Kőtípusok megoszlása (n=480)



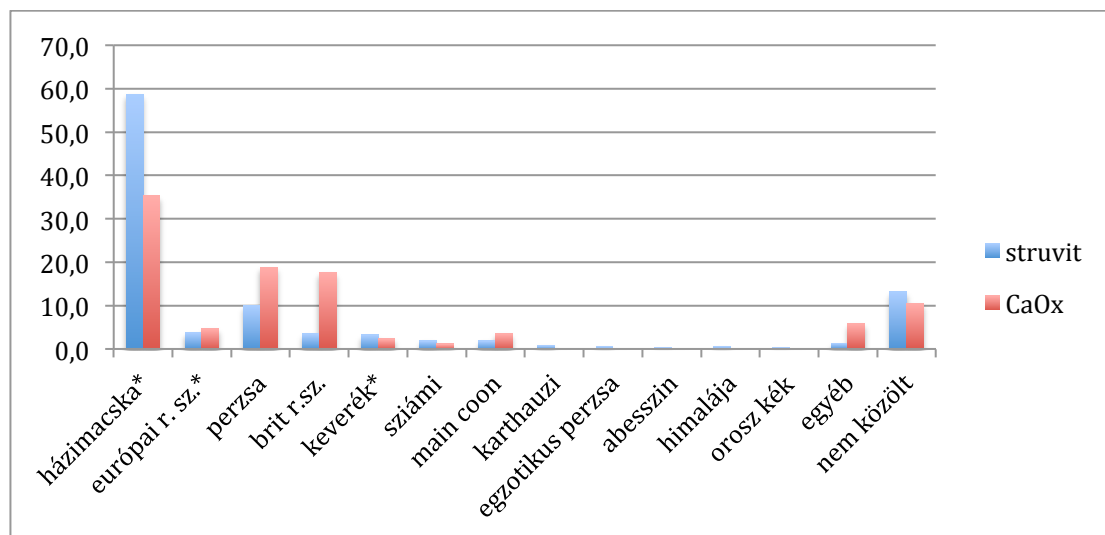
6. táblázat

Struvit- és oxalátminták száma fajtánként:

	struvit mintaszám	CaOx mintaszám
házimacska*	218	30
európai r. sz.*	14	4
perzsa	37	16
brit r.sz.	13	15
keverék*	12	2
sziámi	7	1
main coon	7	3
karthauzi	3	0
egzotikus perzsa	2	0
abesszin	1	0
himalája	2	0
orosz kék	1	0
egyéb	5	5
nem közölt	49	9
összesen	371	85

23. ábra.

Struvit- és oxalátminták arányai fajtánként:



* A házimacska, európai rövidszőrű és keverék elnevezések nagy valószínűséggel hasonló, fajtát tekintve nem egyértelműen besorolható egyedeket is tartalmaznak. Ezeknek az elnevezéseknek a használata az állatorvosi gyakorlatban tapasztalatunk szerint nem tekinthető egységesnek.

7. táblázat

Hím és nőstény egyedek száma és aránya a struvit- és a oxalátkövességgel érintett betegek között.

	struvit	CaOx
hím	241	47
nőstény	107	33
N.A:	23	5
hím/nőstény	2,25	1,42

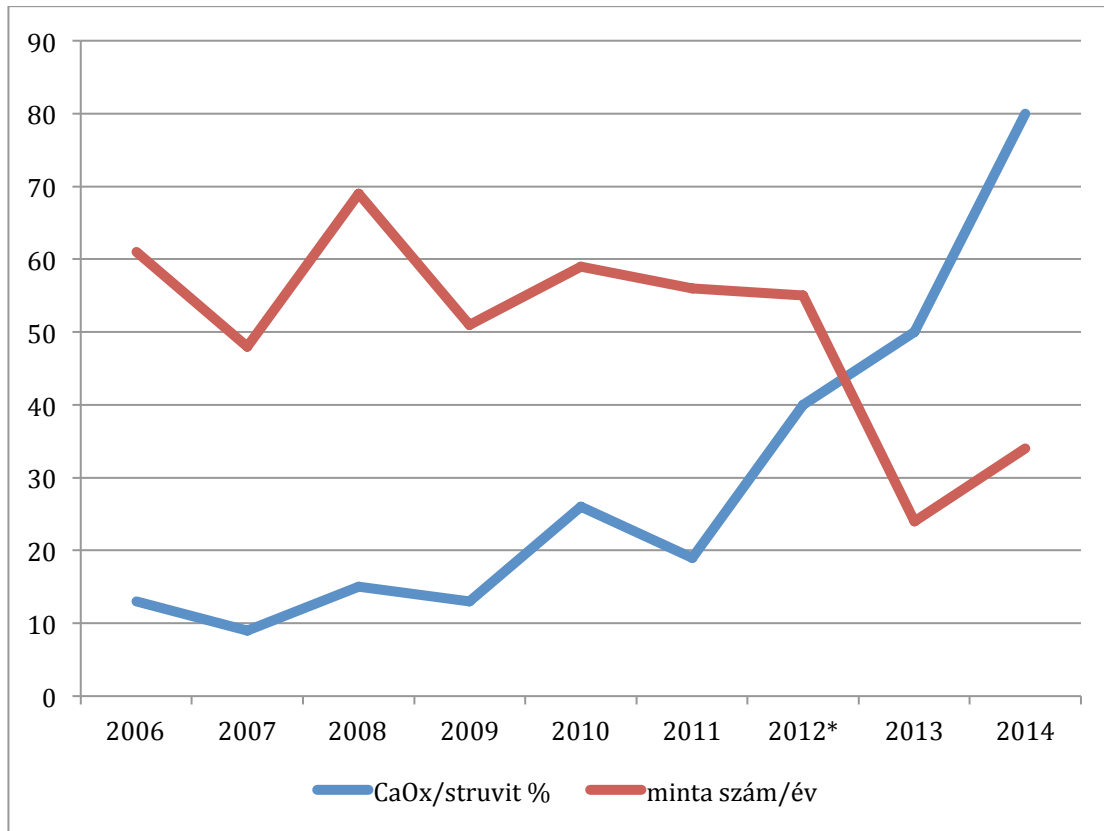
8. táblázat

Cisztin, purin, foszfát, szilikát, összetett és szerves eredetű minták adatai.

fajta (típusonként)	ivar	kor (hónap)	összetétel
cisztin			
sziámi	nőstény	84	100% cisztin
sziámi	miskárolt	18	100% cisztin
sziámi	nőstény	12	100% cisztin
sziámi	miskárolt	42	100% cisztin
sziámi	kandúr	nem közölt	70% felett cisztin + struvit
sziámi	kasztrált	168	70% felett cisztin + struvit
európai rövidszőrű	kandúr	6	100% cisztin
purin			
nem közölt	kasztrált	120	húgysav
házi	kasztrált	96	ammónium-urát
házi	kasztrált	24	ammónium és nátrium-urát
brit rövidszőrű	kasztrált	12	ammónium és nátrium-urát
házi	miskárolt	115	ammónium-urát
foszfát			
nem közölt	kandúr	48	karbonát-apatit
nem közölt	nem közölt	nem közölt	kalcium-karbonát
házi	nem közölt	96	kalcium-karbonát
házi	miskárolt	72	apatit
sziámi	nőstény	nem közölt	karbonát-apatit
szilikát			
csincsilla	kandúr	156	100% szilikát
szerves (vér maradvány?)			
házi	kasztrált	78	véralvadék?
perzsa	kasztrált	108	véralvadék?
összetett			
nem közölt	nem közölt	48	CaOx + struvit
házi	miskárolt	84	CaOx + struvit
perzsa	kandúr	108	CaOx + struvit
perzsa	kasztrált	nem közölt	CaOx + struvit

24. ábra.

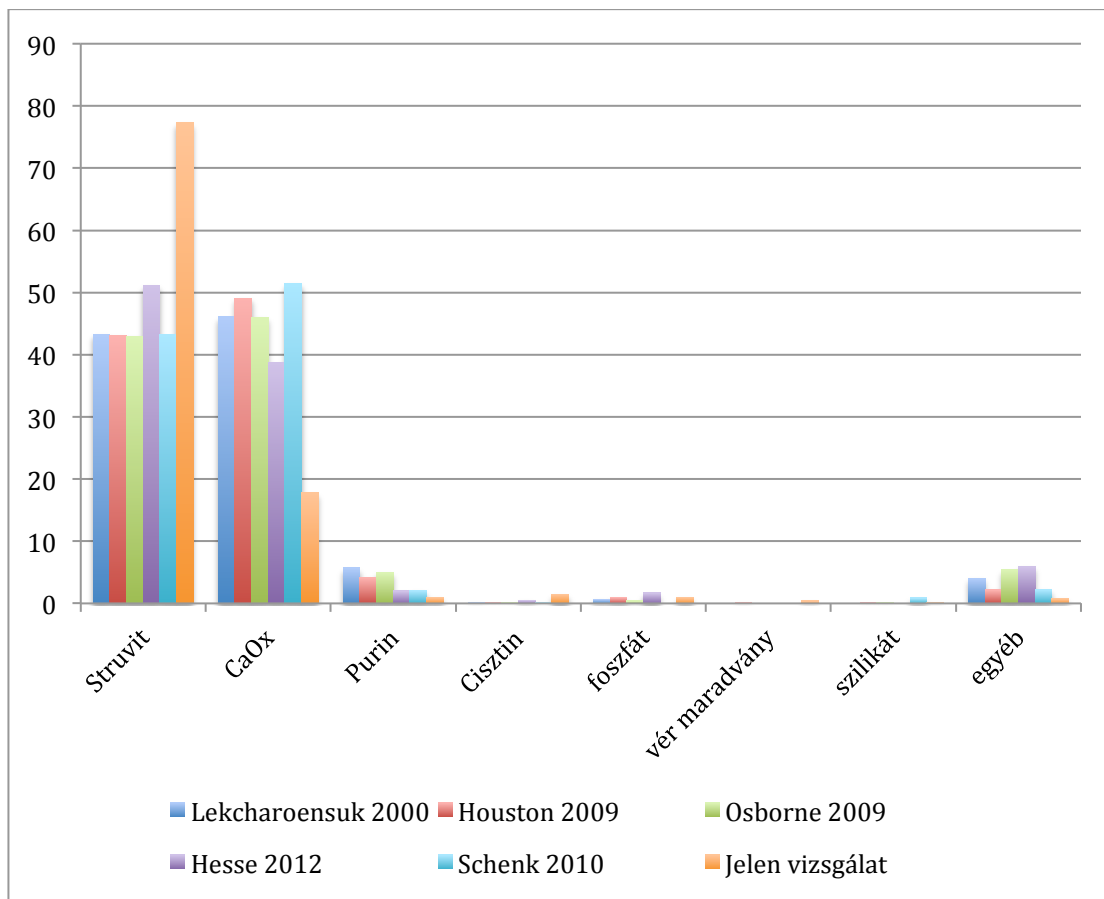
Oxaláttartalmú minták és a struvitminták egymáshoz viszonyított arányának változása.



* 2012 szeptemberéig a kőanalízis díjmentes volt. A szolgáltatás díjkötelessé válása közel 30 százalékos mintaszámcsökkenést jelentett a korábbi időszakokhoz képest.

25. ábra.

Epidemiológiai adatok összehasonlítása.



6. Új tudományos eredmények

1. Elsőként írtuk le a magyarországi kutyák húgykövességének epidemiológiai jellemzőit 12 év alatt elvégzett vizsgálatok alapján.
2. Megállapítottuk a kutyák kövességének incidenciáját.
3. Több fajta tekintetében igazoltuk, hogy a hazai kutyapopulációban is előfordulnak a nemzetközi adatok alapján ismert prediszponáló tényezők.
4. Prediszpozíciót állapítottunk meg néhány, a kövesség szempontjából eddig nem ismert érintettségű fajtánál:
 - a. orosz fekete terrier – purinkövesség
 - b. tibeti spániel, bolognese – purinkövesség
5. Statisztikailag igazoltuk egyes korábban már megfigyelt terhelt fajtákban a kövesség prediszpozícióját:
 - a. német juhászkutya – struvitkövesség
 - b. berni pásztor – struvitkövesség, amely főleg fiatal hím egyedeket érint
 - c. francia bulldog, rottweiler - cisztinkövesség
6. Leírtuk a vizsgálat 12 éve alatt megfigyelhető, a populáció fajta összetételének és a kövességgel kezelt összes kutya fajtaösszetételének változása közötti összefüggéseket.
7. Igazoltuk, hogy a purinkövesség hátterében a magyarországi orosz fekete terrier és angol bulldog kutyák esetében a HUU, a többi érintett fajta esetében pedig többnyire más háttértényező (PSS vagy egyéb nem ismert kórok) áll.
8. Elsőként írtuk le a magyarországi macskák kövességének epidemiológiai jellemzőit 9 év alatt összegyűjtött vizsgálati eredmények retrospektív feldolgozásával.

7. Irodalom

- 1 Albasan, H., Osborne, C. A., Lulich, J. P., Lekcharoensuk, C.: **Risk factors for urate uroliths in cats**, J. Am. Vet. Med. Assoc., 240. 842–847, 2012.
- 2 Appel, S. L., Houston, D. M., Moore, A. E., Weese, J. S.: **Feline urate urolithiasis**, Can. Vet. J., 51. 493–496, 2010.
- 3 Bannasch, D., Safra N., Young A., Karmi N., Schaible R. S., Ling G. V.: **Mutations in the SLC2A9 gene cause hyperuricosuria and hyperuricemia in the dog**, PLoS Genet 4: e1000246. doi:10.1371/journal.pgen.1000246, 2008
- 4 Bannasch, D. and Henthorn, P. S.: **Changing paradigms in diagnosis of inherited defects associated with urolithiasis**, Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract., 39. 111–125, 2009.
- 5 Bartges, J.W., Osborne, C.A., Lulich, J.P., Unger, L.K., Bird, K.A., Clinton, C.W., Davenport, M.P.: **Prevalence of cystine and urate uroliths in bulldogs and urate uroliths in dalmatians**, J. Am. Vet. Med. Assoc., 204. 1914-1918, 1994.
- 6 Bartges, J.W., Osborne, C.A., Lulich, J.P., Kruger, J.M., Sanderson, S.L., Koehler, L.A., Ulrich, L.K.: **Canine urate urolithiasis. Etiopathogenesis, diagnosis, and management**, Vet. Clin. North. Am. Small. Anim. Pract., 29. 161–191, 1999.
- 7 Bartges, J. W., Kirk, C., Lane, I. F.: **Update: Management of calcium oxalate uroliths in dogs and cats**, Vet. Clin. North. Am. Small. Anim. Pract., 34. 969-987, 2004.
- 8 Basiri, A., Taheri, M., Taheri, F.: **What is the state of the stone analysis techniques in urolithiasis?**, Urol. J., 9. 445–454, 2012.
- 9 Bende B., Németh T.: **High prevalence of urate urolithiasis in the Russian black terrier**, Vet. Rec., 155. 239-240, 2004.
- 10 Bende B., Szabó O., Reiczigel. J.: **Budapest kutyapopulációja az ezredfordulón.** (The dog population of Budapest at the millenium), Magyar Állatorvosok Lapja, 125. 340-345, 2003.
- 11 Berényi M.: **Vesekőanalízis ultramikro-kémiai módszerrel.** Orvosi Hetllap, 114. 2852-2853, 1973
- 12 Berényi M., Frang D.: **News in ultramicrochemical stone analysis:** in Proceedings of the 1st European symposium on urolithiasis Bonn (ed.: W. Vahlensieck, G. Gasser, A. Hesse, G. Schoeneich), 93-94, 1989.
- 13 Berényi M., Pánovics J.: **Eigenes mikroskopisch-ultramikrochemisches Analyseverfahren.** VI. Jenaer Harnsteinsymposium. Wissenschaftliche Beträge der Friedrich-Schiller-Universität Jena, 91-95, 1980.

- 14 Blavier, A., Sulter, A., Bogey, A., Novelli, K. and Billiemaz, B.: **Results of infrared spectrophotometry analysis of 1131 canine urinary stones, collected in France from 2007 to 2010** [in French], *Prat. Méd. Chir. Anim. Comp.*, 47. 7–16, 2012.
- 15 Brons, A.-K., Henthorn, P. S., Raj, K., Fitzgerald, C. A., Liu, J., Sewell, A. C., Giger, U.: **SLC3A1 and SLC7A9 mutations in autosomal recessive or dominant canine cystinuria: A new classification system**, *J. Vet. Intern. Med.*, 27. 1400-1408, 2013.
- 16 Bruckner, A., Moreth, M., Trendelenburg. C.: **Mikroskopisch-mikrochemische Harnsteinkomponentenanalyse: Vergleich mit Infrarotspektroskopie und Röntgendiffraktion**, *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*, 27. 730, 1989.
- 17 Cannon, A. B., Westropp, J. L., Ruby, A. L., Kass, P. H.: **Evaluation of trends in urolith composition in cats: 5,230 cases (1985-2004)**, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 231. 570–576, 2007.
- 18 Chevreau, G., Troccaz, J., Conort, P., Renard-Penna, R., Mallet, A., Daudon, M., Mozer, P.: **Estimation of urinary stone composition by automated processing of CT images**, *Urol. Res.*, 37. 241-245, 2009.
- 19 Chew, D. J., DiBartola, S. P., Schenck, P.A.: **Canine and Feline Nephrology and Urology 2nd edition**. St. Louis, Missouri, USA, Elsevier Saunders, 2011.
- 20 Daudon, M., Réveillaud, R. J.: **Whewellite and weddellite: toward a different etiopathogenesis. the significance of morphological typing of calculi**, *Néphrologie*, 5. 195-201, 1984.
- 21 Dear, J. D., Shiraki, R., Ruby, A. L., Westropp, J. L.: **Feline urate urolithiasis: a retrospective study of 159 cases**, *J. Fel. Med. Surg.*, 13. 725-732, 2011.
- 22 Del Angel-Caraza, J., Diez-Prieto, I., Pérez-García, C. C. C., García-Rodríguez, M. B. B.: **Composition of lower urinary tract stones in canines in Mexico City**, *Urol. Res.*, 38. 201-204, 2010.
- 23 Del Angel-Caraza, J., Pérez-García, C. C., Bende, B., Diez-Prieto, I., García-Rodríguez, B.: **Mouse barley awn (*Hordeum murinum*) migration induced cystolithiasis in 2 male dogs**, *Can. Vet. J.*, 52. 67–69, 2011.
- 24 Dijcker, J. C., Kummeling, A., Hagen-Plantinga, E. A., Hendriks, W. H.: **Urinary oxalate and calcium excretion by dogs and cats diagnosed with calcium oxalate urolithiasis**, *Vet. Rec.*, 171. 646, 2012.
- 25 Dorsch, R., Remer, C., Sauter-Louis, C., Hartmann, K.: **Feline lower urinary tract disease in a german cat population. A retrospective analysis of demographic data, causes and clinical signs**, *Tierärztl. Prax. Ausgabe K.*, 42. 231-239, 2014.
- 26 Frank, A., Norrestam, R., Sjödin, A.: **A new urolith in four cats and a dog: composition and crystal structure**, *J. Biol. Inorg. Chem.*, 7. 437-444, 2002.

- 27 Furrow, E., Pfeifer, R. J., Osborne, C. A., Lulich, J. P.: **An APRT mutation is strongly associated with and likely causative for 2,8-dihydroxyadenine urolithiasis in dogs**, *Mol. Genet. Metab.*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ymgme.2013.12.002>, 2013.
- 28 Giesecke D., Tiemeyer W.: **Defect of uric acid uptake in Dalmatian dog liver**, *Experientia*, 40. 1415-1416, 1984.
- 29 Gnanandarajah, J. S., Johnson, T. J., Kim, H. B., Abrahante, J. E., Lulich, J. P., Murtaugh, M. P.: **Comparative faecal microbiota of dogs with and without calcium oxalate stones**, *J. Appl. Microbiol.*, 113. 745-756, 2012.
- 30 Gulley-Stahl, H. J., Haas, J. A., Schmidt, K. A., Evan, A. P., Sommer, A. J.: **Attenuated total internal reflection fourier transform infrared spectroscopy: a quantitative approach for kidney stone analysis**, *Appl. Spectr.*, 63. 759-766, 2009.
- 31 Harnevik, L., Hoppe, A., Söderkvist, P.: **SLC7A9 cDNA cloning and mutational analysis of SLC3A1 and SLC7A9 in canine cystinuria**, *Mamm. Genome*, 17. 769-776, 2006.
- 32 Henthorn, P. S., Liu, J., Gidalevich, T., Fang, J., Casal, M. L., Patterson, D. F., Giger, U.: **Canine cystinuria: polymorphism in the canine SLC3A1 gene and identification of a nonsense mutation in cystinuric Newfoundland dogs**, *Hum. Gen.* 107. 295–303, 2000.
- 33 Hess, R. S., Kass, P. H., Ward, C. R.: **Association between hyperadrenocorticism and development of calcium-containing uroliths in dogs with urolithiasis**, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 212. 1889-1891, 1998.
- 34 Hesse, A. and Neiger, R.: **Urinary stones in small animal medicine**. London, UK, Manson Publishing, 2009.
- 35 Hesse, A., Orzekowsky, H., Frenk, M., Neiger, R.: **Epidemiological data of urinary stones in cats between 1981 and 2008**, *Tierärzt. Prax. Ausgabe K.*, 40. 95–101, 2012.
- 36 Hoppe, A., Denneberg, T.: **Cystinuria in the dog: Clinical studies during 14 years of medical Treatment**, *J. Vet. Intern. Med.*, 15. 361-367, 2001
- 37 Houston, D. M., Moore, A. E.: **Canine and feline urolithiasis: examination of over 50,000 urolith submissions to the canadian veterinary urolith centre from 1998 to 2008**, *Can. Vet. J.*, 50. 1263–1268, 2009.
- 38 Jacinto, A. M., Mellanby, R. J., Chandler, M., Bommer, N. X., Carruthers, H., Fairbanks, L. D., Gow, A. G.: **Urine concentrations of xanthine, hypoxanthine and uric acid in UK Cavalier King Charles Spaniels**, *J. Small Anim. Pract.*, 54. 395–398, 2013.
- 39 Jones, B. R., Kirkman, J. H., Hogan, J., Holmes, S.: **Analysis of uroliths from cats and dogs in New Zealand, 1993-96**, *New Zeal. Vet. J.*, 46. 233–236, 1998.

- 40 Jones, B. R., Omodo-Eluk, A. J., Larkin, H., Rogers, K. D., Sperrin, M.: **Canine uroliths: analysis of uroliths from dogs in Ireland**, *Ir. Vet. J.*, 54. 629–632, 2001.
- 41 Kaliński, K., Marycz, K., Czogańa, J., Serwa, E., Janeczek, W.: **An application of scanning electron microscopy combined with roentgen microanalysis (SEM-EDS) in canine urolithiasis**, *J. Elect. Microscop.*, 61. 47–55, 2012.
- 42 Karmi, N., Brown, E. A., Hughes, S. S., McLaughlin, B., Mellersh, C. S., Biourge, V., Bannasch, D. L.: **Estimated frequency of the canine hyperuricosuria mutation in different dog breeds**, *J. Vet. Intern. Med.*, 24. 1337–1342, 2010a.
- 43 Karmi, N., Safra, N., Young, A., Bannasch, D. L.: **Validation of a urine test and characterization of the putative genetic mutation for hyperuricosuria in Bulldogs and Black Russian Terriers**, *Am. J. Vet. Res.*, 71. 909–914, 2010b.
- 44 Krambeck, A. E., Khan, N. F., Jackson, M. E., Lingeman, J. E., McAteer, J. A., Williams, J. C.: **Inaccurate reporting of mineral composition by commercial stone analysis laboratories: implications for infection and metabolic stones**, *J. Urol.*, 184. 1543–1549, 2010.
- 45 Kruger, J. M., Osborne, C. A.: **Etiopathogenesis of uric acid and ammonium urate uroliths in non-Dalmatian dogs**, *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, 16. 87-126, 1986.
- 46 Lekcharoensuk, C., Lulich, J. P., Osborne, C. A., Koehler, L. A., Ulrich, L. K., Carpenter, K. A., Swanson, L. L.: **Association between patient-related factors and risk of calcium oxalate and magnesium ammonium phosphate urolithiasis in cats**, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 217. 520–525, 2000a.
- 47 Lekcharoensuk, C., Lulich, J. P., Osborne, C. A., Pusoonthornthum, R., Allen, T. A., Koehler, L. A., Ulrich, L. K., Carpenter, K. A., Swanson, L. L.: **Patient and environmental factors associated with calcium oxalate urolithiasis in dogs**, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 217. 515–519, 2000b.
- 48 Lekcharoensuk, C., Osborne, C. A., Lulich, J. P., Pusoonthornthum, R., Kirk, C. A., Ulrich, L. K., Koehler, L. A., Carpenter, K. A., Swanson, L. L.: **Associations between dry dietary factors and canine calcium oxalate uroliths**, *Am. J. Vet. Res.*, 63. 330–337, 2002.
- 49 Lekcharoensuk, C., Osborne, C. A., Lulich, J. P., Pusoonthornthum, R., Kirk, C. A., Ulrich, L. K., Koehler, L. A., Carpenter, K. A., Swanson, L. L.: **Nov. 2001. Association between dietary factors and calcium oxalate and magnesium ammonium phosphate urolithiasis in cats**, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 219. 1228–1237, 2001.
- 50 Lemberger, S. I., Deeg, C. A., Hauck, S. M., Amann, B., Hirmer, S., Hartmann, K., Dorsch, R.: **Comparison of urine protein profiles in cats without urinary tract**

- disease and cats with idiopathic cystitis, bacterial urinary tract infection, or urolithiasis**, *Am. J. Vet. Res.*, 72. 1407–1415, 2011.
- 51 Ling, G. V., Franti, C. E., Ruby, A. L., Johnson, D. L.: **Urolithiasis in dogs. II: Breed prevalence, and interrelations of breed, sex, age, and mineral composition**, *Am. J. Vet. Res.*, 59. 630–642, 1998.
- 52 Ling, G. V., Thurmond, M. C., Choi, Y. K., Franti, C. E., Ruby, A. L. and Johnson, D. L.: **Changes in proportion of canine urinary calculi composed of calcium oxalate or struvite in specimens analyzed from 1981 through 2001**, *J. Vet Intern. Med.*, 17. 817–823, 2003.
- 53 Low, W. W., Uhl, J. M., Kass, P. H., Ruby, A. L., Westropp, J. L.: **Evaluation of trends in urolith composition and characteristics of dogs with urolithiasis: 25,499 cases (1985-2006)**, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 236. 193–200, 2010.
- 54 Lulich, J. P., Osborne, C. A., Albasan, H., Koehler, L. A., Ulrich, L. M., Lekcharoensuk, C.: **Recent shifts in the global proportions of canine uroliths**, *Vet. Rec.*, 172. 363-369, 2013.
- 55 Marickar, F. M., Lekshmi, P. R., Varma, L., Koshy, P.: **Optical microscopy versus scanning electron microscopy in urolithiasis**, *Urol. Res.*, 37. 293-297, 2009.
- 56 Markwell, P. J., Buffington, C. T., Smith, B. H.: **The effect of diet on lower urinary tract diseases in cats**, *J. Nutr.*, 128. 2753S-2757S, 1998.
- 57 Mestrinho, L. A., Gonçalves, T., Parreira, P. B., Niza, M. M., Hamaide, A. J.: **Xanthine urolithiasis causing bilateral ureteral obstruction in a 10-month-old cat**, *J. Fel. Med. Surg.*, 15. 911–916, 2013.
- 58 Mizukami, K., Raj, K., Giger, U.: **Feline cystinuria caused by a missense mutation in the SLC3A1 gene**, *J. Vet Intern. Med.*, 29. 120-125, 2015.
- 59 Okafor, C. C., Pearl, D. L., Lefebvre, S. L., Wang, M., Yang, M., Blois, S. L., Lund, E. M., Dewey, C. E.: **Risk factors associated with struvite urolithiasis in dogs evaluated at general care veterinary hospitals in the united states**, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 243. 1737-1745, 2013.
- 60 Osborne, C. A., Lulich, J. P., Kruger, J. M., Ulrich, L. K., Koehler, L. A.: **Analysis of 451,891 canine uroliths, feline uroliths, and feline urethral plugs from 1981 to 2007: perspectives from the minnesota urolith center**, *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, 39. 183–197, 2009.
- 61 Palm, C. A., Westropp, J. L.: **Cats and calcium oxalate strategies for managing lower and upper tract stone disease**, *J. Fel. Med. Surg.*, 13. 651-660, 2011.
- 62 Picavet, P., Detilleux, J., Verschuren, S., Sparkes, A., Lulich, J., Osborne, C., Istasse, L., Diez, M.: **Analysis of 4495 canine and feline uroliths in the Benelux. A retrospective study: 1994-2004**, *J. Anim. Physiol. Nutr.*, 91. 247–251, 2007.

- 63 R Core Team: **A Language and Environment for statistical computing**, R Foundation for statistical computing, Vienna, Austria, <http://www.R-project.org>, 2013.
- 64 Rivara, C. M., Johnson, C. R., Lulich, J. P., Osborne, C. A., Murtaugh, M.: **The effect of disease on the urinary purine metabolite concentrations in dogs**, *Vet. Rec.*, 173. 2013. doi: 10.1136/vr.101237
- 65 Roe, K., Pratt, A., Lulich, J., Osborne, C., Syme, H. M.: **Analysis of 14,008 uroliths from dogs in the UK over a 10-year period**. *J. Small Anim. Prac.*, 53. 634-640, 2012.
- 66 Rogers, K. D., Jones, B., Roberts, L., Rich, M., Montalto, N., Beckett, S.: **Composition of uroliths in small domestic animals in the United Kingdom**, *Vet. J.*, 188. 228–230, 2011.
- 67 Sævik, B. K., Trangerud, C., Ottesen, N., Sørsum, H., Eggertsdóttir, A. V.: **Causes of lower urinary tract disease in Norwegian cats**, *J. Fel. Med. Surg.*, 13. 410–417, 2011.
- 68 Schenk, F., Rothenanger, E., Reusch, C., Gerber, B.: **Silica containing uroliths in dogs from Switzerland: A remarkable increase in frequency after 2006**, In: *Proceedings of the 20th ECVIM-CA Congress, Toulouse, France*, 303, 2010a.
- 69 Schenk, F., Rothenanger, E., Reusch, C., Gerber, B.: **Analysis of 855 feline and 468 canine uroliths in Switzerland between 2002 and 2009**, In: *Proceedings of the 20th ECVIM-CA Congress, Toulouse, France*, 304, 2010b
- 70 Schweighauser, A., Howard, J., Malik, Y., Francey, T.: **Xanthinuria in a domestic shorthair cat**, *Vet. Rec.*, 164. 91–92, 2009.
- 71 Segev, G., Livne, H., Ranen, E., Lavy, E.: **Urethral obstruction in cats: predisposing factors, clinical, clinicopathological characteristics and prognosis**, *J. Fel. Med. Surg.*, 13. 101–108, 2011.
- 72 Sorenson J. L., Ling G. V.: **Metabolic and genetic aspects of urate urolithiasis in Dalmatians**, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 203. 857-862, 1993.
- 73 Sosnar, M., Bulkova, T. and Ruzicka, M.: **Epidemiology of canine urolithiasis in the Czech Republic from 1997 to 2002**, *J. Small Anim. Prac.*, 46. 177–184, 2005.
- 74 Tobias, K. M. and Rohrbach, B. W.: **Association of breed with the diagnosis of congenital portosystemic shunts in dogs: 2,400 cases (1980-2002)**, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 223. 1636–1639, 2003.
- 75 Van den Bossche, L., van Steenbeek, F. G., Favier, R. P., Kummeling, A., Leegwater, P. A. J., Rothuizen, J.: **Distribution of extrahepatic congenital portosystemic shunt morphology in predisposed dog breeds**, *BMC Vet. Res.*, 8. 112, 2012.
- 76 Vrabelova, D., Silvestrini, P., Ciudad, J., Gimenez, J. C., Ballesteros, M., Puig, P., Ruiz de Gopegui, R.: **Analysis of 2,735 canine uroliths in Spain and Portugal. A retrospective study: 2004-2006**, *Res. Vet. Sci.*, 91. 208–211, 2011.

- 77 Wallerström, B. I. and Wågberg, T. I.: **Canine urolithiasis in Sweden and Norway: Retrospective survey of prevalence and epidemiology**, J. Small Anim. Prac., 33. 534–539, 1992.
- 78 White, R. N., Tick, N. T., White, H. L.: **Naturally occurring xanthine urolithiasis in a domestic shorthair cat**, J. Small Anim. Prac., 38. 299–301, 1997.
- 79 Wisener, L. V., Pearl, D. L., Houston, D. M., Reid-Smith, R. J., Moore, A. E.: **Risk factors for the incidence of calcium oxalate uroliths or magnesium ammonium phosphate uroliths for dogs in Ontario, Canada, from 1998 to 2006**, Am. J. Vet. Res., 71. 1045–1054, 2010a.
- 80 Wisener, L. V., Pearl, D. L., Houston, D. M., Reid-Smith, R. J. and Moore, A. E.: **Spatial and temporal clustering of calcium oxalate and magnesium ammonium phosphate uroliths in dogs living in Ontario, Canada between 1998 and 2006**, Prev. Vet. Med., 95. 144–151, 2010b.
- 81 Zarse, C. A., McAteer, J. A., Sommer, A. J., Kim, S. C., Hatt, E. K., Lingeman, J. E., Evan, A. P., Williams, J. C.: **Nondestructive analysis of urinary calculi using micro computed tomography**, BMC Urol., 4, doi:10.1186/1471-2490-4-15, 2004.

Internetes források:

1. OMIA katalógus számok: Online Mendelian Inheritance in Animals, Faculty of Veterinary Science, University of Sidney, Letöltés dátuma: 2015 április 29.
<http://omia.angis.org.au/>

8. A doktori kutatás eredményeinek közlései

A doktori kutatás témájához kapcsolódó, lektorált, impakt faktoral bíró folyóiratban megjelent illetve elfogadott publikációk:

1, **Bende, B.**, Dunay, M., Zsömböly, M. (2001): Cisztin urolithiasis kutyákban. Magyar Állatorvosok Lapja 123, 486-491. IF: 0,184

2, **Bende, B.**, Szabó, O., Reiczigel, J. (2003): Budapest kutyapopulációja az ezredfordulón. Magyar Állatorvosok Lapja 125, 340-345. IF: 0,089

3, **Bende, B.**, Németh, T. (2004): High prevalence of urate urolithiosis in the Russian black terrier. Veterinary Record 155, 239-240. IF: 1,147

4, Del Angel Caraza, J., Pérez-Garcia, C.C., **Bende, B.**, Diez-Prieto, I., Garcia-Rodriguez, B. (2011): Mouse barley awn (*Hordeum murinum*) migration induced cystolithiasis in 2 male dogs. Canadian Veterinary Journal 52, 67-69. IF: 1,063

5, **Bende, B.**, Németh, T. (2015): Macskák húgykövességének epidemiológiai vizsgálata Magyarországon 2006 és 2014 között (480 eset). Magyar Állatorvosok Lapja 137, 305-313 (IF nem állt rendelkezésre a kézirat lezárásakor)

6, **Bende, B.**, Kovács, K. B., Solymosi, N., Németh, T. (2015): Characteristics of urolithiasis in the dog population of Hungary from 2001 to 2012. Acta Veterinaria Hungarica 63, 323-363 (IF 2013:0,802)

A doktori kutatás témájához kapcsolódó konferenciaprezentációk:

Bende, B., Dunay, M., Zsömböly, M. (2002): Cisztin húgykövesség és vizsgálata. Magyar Tudományos Akadémia Állatorvos-tudományi Bizottsága, Akadémiai beszámoló, Klinikumok és Gyógyszertan. (A Márkus Alapítvány Első díjával kitüntetve.)

Bende, B., Németh., T. (2003): Húgysav és származékaiból álló húgykövesség halmozott előfordulása fekete terrierekben. Magyar Tudományos Akadémia Állatorvos-tudományi Bizottsága, Akadémiai beszámoló, Klinikumok és Gyógyszertan.

A doktori kutatás témájához nem kapcsolódó, lektorált, impakt faktoralal bíró folyóiratban megjelent publikációk:

1, **Bende, B.**, Jakab, Cs., Balka, Gy., Rónai, Zs., Jánosi, Sz., Vajdovich, P., Biksi, I. (2013): Szisztémás *Mycobacterium avium* subsp. *hominissuis* fertőzés törpe schnauzerben. Magyar Állatorvosok Lapja 135, 138-148

2, Liptovszky, M., Sós, E., **Bende, B.**, Perge, E., Molnár, V. (2014), Urolithiasis in a captive group of Tammar wallabies (*Macropus eugenii*). Zoo Biology 33, 455–458. IF 2013: 0,846

9. Köszönetnyilvánítás

Köszönetemet fejezem ki családtagjaimnak, kollégáimnak, barátaimnak, mindazon személyeknek és intézményeknek akik elindítottak és segítettek továbbhaladni ennek a szakterületnek a megismerésében, művelésében és akik nélkül sem ez a dolgozat sem a tudományos eredmények nem jöhettek volna létre. Így a teljesség igénye nélkül köszönöm:

- témavezetőmnek, Dr. Németh Tibor PhD, Dipl. ECVS, Cert. Sacs, tanszékvezető egyetemi tanárnak, hogy elindított, támogatott és bátorított a doktori munka rögös útjain,
- barátomnak, Dr.Sc. Med. Berényi Mihály professzornak, hogy a húgykővességgel kapcsolatos felmérhetetlen szakmai ismeretei mellett barátságával is megajándékozott,
- édesapámnak, Dr. Bende Zoltánnak, hogy a REANAL vegyszergyár igazgatójaként mindig segített, hogy ne maradjak a vizsgálatokhoz szükséges reagensek nélkül,
- Dr. Vándor Istvánnak, hogy a munka kezdetén lehetővé tette számomra a BUC, mint önálló laboratórium létrehozását a Budapesti Állatkórház területén,
- kiváló kollégámnak, Dr. Berkényi Tamásnak, hogy az Eukanuba képviselőjeként több mint 10 éven keresztül „harcolt”, hogy a BUC vizsgálatai díjmentesek lehessenek és így a lehető legnagyobb mintaszámmal dolgozhassak,
- Dr. Tétényi Péter PhD, egyetemi adjunktusnak (SOTE Szerves Vegytani Intézet) az FTIR vizsgálatok kivitelezésében nyújtott segítségét,
- Dr. Gergely Szilveszter PhD, egyetemi docensnek, az FTIR - ATR technika megismertetését és a sok szép vizsgálati eredményt,
- Dr. Javier Del-Angel Caraza PhD mexikói állatorvos kollégámnak (Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca) Spanyolországban, a Leon-i Egyetemen elvégzett kontroll FTIR vizsgálatokat,
- Dr. Danika L. Bannasch PhD és Dr. Nili Karmi (University of California, Veterinary Genetics Laboratory) segítségét a DNS szekvenálások elvégzésében,
- kórházi kollégáimnak (Dr. Tallódi György, Dr.Pálfi János, †Dr. Péczeli Lajos, Dr. Hargitay András, †Dr. Schmidt József, Dr. Szüts Péter, Dr. Ipolyi Tamás, Dr. Matskási Imola, Dr. Péterhegyi Csanád, Dr. Helmle Dóra, Dr. Gyuricza Ákos), hogy elláttak mintákkal és támogatták szakmai munkámat,

- TDK-s hallgatóimnak (Dr. Fergelt Adrienn, Dr. Kovács Krisztina Borbála és Dr. Sík Nikolett), hogy részvételükkel és értékes munkájukkal előrelendítették a kutatást,
- szerte az országban több száz kollégámnak, hogy szorgalmasan küldték a mintákat több mint egy évtizeden keresztül,
- a lelkes gazdiknak, akik mindig rendelkezésre álltak kis betegeikkel, amikor ismételt és további vizsgálatokra volt szükség,
- a Magyar Állatorvosi Kamara képviselőinek, Dr. Gönczi Gábornak és Dr. Horváth Lászlónak, valamint a NÉBIH elnökhelyettesének, Dr. Nemes Imrének a szükséges adatok elérésének és felhasználásának engedélyezését.

10. Függelék

DNS precipitáció protokolljának részletes leírása.

A precipitációt a Qiagen Gentra Puregene Blood Kit (Qiagen, Németország) használatával végeztük az alábbiak szerint:

- 1, Egy 5 ml űrtartalmú centrifuga csőbe 3ml „RBC Lysis” oldatot tettünk,
- 2, 1 ml teljes vér (EDTA-s, alvadásban gátolt) hozzáadása, utána összeforgatás 10-szer,
- 3, 5 perc inkubálás szobahőmérsékleten, időközben egyszer átfordítás,
- 4, 2 perc centrifugálás 2000/perc fordulattal. A cső alján fehér sedimentum látható.
- 5, 3800 µl felülúszót pipettával óvatosan leszívunk, hogy a szedimentum megmaradjon,
- 6, Vortex keverővel a maradványt felkevertük majd hozzáadtunk 1 ml „Cell Lysis” oldatot. Ismételt alapos keverés. A preparátum ebben az állapotban szobahőmérsékleten 2 évig stabil állapotban eltartható. **A mintát így küldtük további feldolgozásra a Californiai Egyetem Állatorvosi Genetikai Laboratóriumába (VGL).**

A genetikai laboratóriumban az alábbi módszerrel folytatták a DNS kinyerését:

Kiindulási anyag a 6. lépés során kapott preparátum teljes mennyisége.

- 7, 333 µl Protein Precipitation oldat hozzáadása, erőteljes vortex keverés 20 másodpercig nagy sebességgel
- 8, Centrifugálás 1 percig 16,000/perc fordulattal. A fehérje sötét barnás pellett formájában csapódik ki.
- 9, Egy 15 ml-es tiszta csőbe 1 ml isopropanolt mérni és utána az előző lépésből származó preparátum felülúszóját óvatosan hozzáadni,
- 10, Óvatosan összekeverni 50 forgatással amíg a DNS fonalak vagy csomó formában látható nem lesz,
- 11, Centrifugálás 2000/perc fordulattal 3 percig,
- 12, Óvatosan leönteni a felülúszót és egy száraz és tiszta nedvszívó papírra forgatva a csövet a folyadék teljes részét eltávolítani, úgy hogy a csapadék a csőben maradjon,
- 13, 1 ml 70% etanol hozzáadni és többször átforgatni a csövet, hogy a DNS felmosódjon. A cső kocogtatásával meggyőződni, hogy a pellet nem tapad a csőhöz,
- 14, 1 perc centrifugálás 2000/perc fordulattal
- 15, Felülúszót leönteni és a nedvszívó tiszta papíron a folyadékot kivezetni a csőből úgy, hogy a csapadék a csőben maradjon. A csapadékot ezután 1 percig levegőn szárítani,
- 16, 150 µl Tris EDTA buffer (pH 8) hozzáadása után vortex keverés 5 másodpercig közepes sebességgel,
- 17, 65 °C inkubálás 1 órán keresztül, hogy a DNS feloldódjon,
- 18, Szobahőmérsékleten inkubálás másnapig.