

## Infekčná peritonitída mačiek (FIP) - UPDATE



Zdroj obrázka: Jennifer von Luckner

**Infekčná peritonitída mačiek bolo donedávna smrteľné ochorenie diagnostikovateľné len patologicky. V súčasnosti však čoraz viac nachádzajú uplatnenie rôzne možnosti (laboratórnej) diagnostiky a terapie.**

Viackrát do roka sa organizuje napínavá diskusia odborníkov. Stretnutie, počas ktorého sa diskutuje o konkrétnych témach vedecky podloženým spôsobom a zodpovedajú sa zaujímavé otázky. Nižšie sme pre vás zhrnuli najdôležitejšie aktualizácie o FIP.

Účastníci odborného stretnutia o FIP: Prof. Katrin Hartmann z LMU Mníchov; jej početné štúdie o FIP a najmä publikácia o perorálnej liečbe liekom Xraphconn® (Mutian) s obsahom GS-441524 pritiahli pozornosť. Ako odborníčka na laboratórnu diagnostiku poskytla cenné informácie profesorka Regina Hofmann-Lehmann z univerzity v Zürichu. Podrobne sa venovala PCR v rámci diagnostiky FIP. Prof. Wolfgang Bäumer, farmakológ na FU Berlín, zdôraznil tému liečby so zameraním na farmaceutickú legislatívu. Vanessa Steppuhn je

dobrovoľníčka v #gemeinsamgegenfip. Táto skupina sa starala už o viac ako 3 000 mačiek s FIP počas liečby GS-441524.

### Diagnostika

**Často sa stretávame s požiadavkami na titre protilátok proti koronavírusu, ktoré sa potom prirovnávajú k FIP – čo môžeme s týmito titrami robiť? Akú diagnostiku odporúčate?**

Profesorka Hofmann-Lehmann zdôrazňuje, že protilátky proti koronavírusu, žiaľ, nepomáhajú pri diagnostike FIP. Hladiny titrov neindikujú, či mačka má alebo nemá FIP (obr. 1), ani nie je možné vylúčiť FIP na základe negatívneho testu na protilátky. Avšak testovanie krvi, efúzií alebo tkanív pomocou PCR často poskytuje dobré



**Obr. 1:** Uveitída u mačky s FIP

*Zdroj: Dr Jennifer von Luckner*

výsledky. Kvantifikácia vírusov, ktoré sú prítomné vo vzorke, je pri hodnotení veľmi užitočná. PCR z trusu nepomáha pri diagnostike FIP u jednotlivého pacienta. Zohráva úlohu pri manažovaní skupiny zvierat. Keď sa Katrin Hartmann opýtali, či je vždy potrebné určiť, či došlo k mutácii, povedala, že nie. Je užitočná v klinicky nepresvedčivých prípadoch s nízkou vírusovou záťažou. U mačiek s typickými nálezmi FIP (obr. 2), u ktorých bola zistená vysoká vírusová záťaž v krvi, efúziách alebo tkanive, je možné stanoviť diagnózu bez sekvenovania na prítomnosť mutácie. Navyše s doteraz dostupnými metódami nemožno vo všetkých prípadoch FIP dokázať mutáciu.



**Obr. 2:** Pozitívna Rivaltova skúška. Doplnok v diagnostike, ale nie rozhodujúci.

*Zdroj: Dr Jennifer von Luckner*

## **Ak bola v domácnosti mačka s FIP, aké je riziko, že ochorejú aj iné mačky?**

Pani Steppuhn sa podelila o svoje skúsenosti v tejto oblasti. Domnievame sa, že u mačiek neexistuje žiadne zvýšené riziko rozvinutia FIP, ak sa presťahujú do domácnosti s jednou mačkou, kde predchádzajúca mačka zomrela na FIP. Tieto pozorovania sa zhodujú s vedeckým názorom, že FIP sa neprenáša medzi mačkami, ale je spôsobená mutáciou FCoV u jednotlivjej mačky.

Prof. Hartmann a Prof. Hofmann-Lehmann potvrdzujú, že prepuknutie je spôsobené vysokým infekčným tlakom v kombinácii so stresovými faktormi alebo genetickými predispozíciami. FIP nie je spôsobená prenosom mutovaného mačacieho koronavírusu (FCoV), ale mutáciou u samotného jedinca. Nie sú k dispozícii žiadne testy, ktoré by dokázali spoľahlivo identifikovať predisponovanú mačku. V súčasnosti sa predpokladá, že častá reinfekcia FCoV zvyšuje pravdepodobnosť vzniku FIP. Preto má veľký význam hygiena a izolácia zvierat, ktoré vylučujú koronavírus vo veľkom množstve.

## **Liečba FIP a jej právne aspekty**

Úspech s analógom nukleotidu GS-441524 je momentálne témou č.1. Tím expertov sa tejto téme podrobne venoval.

## **Jedna z prvých otázok bola adresovaná pani Steppuhnovej. Odvolávala sa na osobné skúsenosti s GS-441524 v skupine.**

Pani Steppuhn uviedla, že výsledky boli veľmi dobré. Asi 90 % mačiek je trvalo vyliečených. Liečba podľa súčasného protokolu je však zložitá. Vyžaduje si denné subkutánne injekcie počas 84 dní. Okrem toho je nevyhnutná veterinárna starostlivosť, pretože pacienti sú často vo veľmi zlom stave. Okrem samotného podávania lieku potrebuje väčšina mačiek intenzívnu lekársku starostlivosť. Nevyhnutné sú aj pravidelné krvné testy. Za celé obdobie len lieky stoja asi 3 500 eur. Perorálna liečba však bude mať v budúcnosti určite veľký význam.

Profesorka Hartmann z vlastnej skúsenosti s používaním perorálneho lieku Xraphconn®, ktorý bol úspešne testovaný na LMU, môže potvrdiť, že (často intenzívna) veterinárna starostlivosť je pre pacientov s FIP nevyhnutná.

**Remdezivir je takzvané proliečivo GS-441524 a metabolizuje sa v tele. Od 1. júna 2021 si ho môžu objednať nemocničné lekárne a je schválený. Jeho off-label použitie by malo byť teda možné?**

Profesor Bäumer to v podstate potvrdzuje. Neznamená to však, že je dostupný aj pre veterinárov. Schválenie sa totiž týka len nemocničných lekární. Veterinári ho nesmú nakupovať.

**Prirodzene vyvstáva ďalšia otázka: Existuje nejaké úsilie výrobcu Gilead o schválenie GS-441524?**

Profesor Bäumer sa na to už vopred informoval. Podľa správy z firmy Gilead to tak nie je. Zdôrazňuje, že na trhu nie sú žiadne schválené formuly GS-441524, ktoré by mohli veterinári legálne získať, aj keď to naznačujú internetové záznamy niektorých dodávateľov.

Profesorka Hartmann dodáva, že lekárne BOVA v Anglicku môže legálne preformulovať látku GS-441524, pokiaľ nie je dostupná na trhu ako schválený liek. V súčasnosti sa skúma vývoj perorálnej formy liečiva. Plánuje sa rozsiahla, dlhodobá vedecká štúdia.

Profesor Bäumer však upozorňuje, že okrem vedeckých štúdií majú nemeckí veterinári stále zviazané ruky. Produkt nie je schválený na veterinárne použitie v EÚ, a preto sa nesmie dovážať.

**Ako je to s dovozom na čiernom trhu? Aké sú tresty?**

Profesor Bäumer zdôrazňuje: Dovozy látky GS-441524 veterinárnym lekárom je trestným činom. Veterinári riskujú stratu licencie na vykonávanie praxe. (Pozn.: legislatíva v SR môže byť v tomto odlišná).

**Aké legálne možnosti majú veterinári, aby majiteľov informovali o možnosti tejto liečby a podporili ich počas liečby?**

Profesor Bäumer potvrdzuje, že veterinári sa nedopúšťajú trestného činu, ak odporúčajú liečbu GS-441524, aj keď tento liek nemá schválenie.

Veterinári by však nemali používať látku, ktorú im dal majiteľ zvierat'a.

Pre veľký počet účastníkov zostali niektoré otázky nezodpovedané. Preto sme nižšie zostavili niekoľko dôležitých otázok o diagnostike.

Imunohistochemické vyšetrenie bioptickej vzorky na prítomnosť FCoV sa stále považuje za zlatý štandard v diagnostike FIP.

Kvantitatívna PCR sa však stáva čoraz dôležitejšou.

**Je možné v Európe urobiť imunohistochémiu?**

Áno, ponúka ju napríklad Laboklin a robí sa na bioptických vzorkách.

Imunocytológiu naopak Laboklin neposkytuje, pretože výsledky štúdie spochybňujú citlivosť a špecifickosť farbenia FCoV cytologických vzoriek (Felten a kol., 2017; Hellemans a kol., 2020; Litster a kol., 2013).

**Ako je na tom kvantitatívna PCR v porovnaní s imunohistochémiou?**

Pozitívne imunofarbenie bioptického materiálu (= imunohistochemia) je veľmi špecifické a spoľahlivé. Pozitívny výsledok sa považuje za nepochybný. Negatívny výsledok však FIP úplne nevyklucuje, pretože FCoV sa môže v tkanive šíriť rôzne. V závislosti od histologického nálezu je potrebné v prípade pochybností urobiť ďalšie rezy. V takýchto prípadoch môže byť kontakt s patológom veľmi užitočný (Stranieri et al., 2020; Tasker, 2018).

V závislosti od vyšetrovanej vzorky sa realtime PCR (RT-PCR) v tkanive pravdepodobne blížila imunohistochemii (IHC). Napríklad sa nezistil žiadny významný rozdiel pri pľúcach a pečeni.

V ostatných orgánoch mala IHC jasnú výhodu, najmä pokiaľ ide o špecificitu (menej falošne pozitívnych výsledkov). Táto štúdia uvedená vyššie neuvádza podrobnosti o kvantifikácii (Stranieri et al., 2020). Pri oboch metódach je dôležité odobrať vzorky z tkaniva, ktoré sa javí ako zmenené.

Pre prax je však relevantnejšie porovnanie kvantitatívnej PCR v tekutine (napr. abdominálna/hrudná punkcia) s IHC v orgáne. Inými slovami, otázka, či PCR v tekutine punktátu môže byť dostatočná na stanovenie diagnózy, a preto nie je potrebné odoberať bioptickú vzorku. Vysloviť sa k tomuto je jednoznačne oveľa ťažšie. Pokiaľ ide o komorovú vodu a cerebrospinálny mok, výsledky štúdií sú veľmi variabilné a spoľahlivosť výsledkov PCR je otázna. Aj pre krv sú výsledky rozličné. Spoľahlivosť PCR pravdepodobne závisí od toho, aký pacient je vybraný a od kvality použitej metódy. V štúdiách bola hlásená citlivosť 72 – 100 % pre RT-PCR v tekutinách z punkcie, len s niekoľkými falošne pozitívnymi výsledkami. Ak je kvantitatívna PCR zistená vysoká vírusová nálož a súčasne sú prítomné podozrivé symptómy, FIP je veľmi pravdepodobná. Potom vo väčšine prípadov nie je potrebné potvrdenie pomocou IHC.

### **Ponúka Laboklin kvantitatívne PCR testovanie na koronavírus a ak áno, aký materiál sa naň používa?**

Áno, Laboklin ponúka kvantifikáciu (= stanovenie počtu kópií FCoV vo vzorke). Predtým sa robila len z trusu, ale teraz je to možné aj v EDTA krvi a punktátoch.

Ak sa tkanivo získava tenkoihlovou aspiráciou, interpretácia nálezov je ťažká, pretože skutočný obsah buniek vo vzorke nie je pri odoslaní zrejmý. Kvantitatívne údaje by sa mali vždy vzťahovať na mernú jednotku (mg trusu, ml krvi/tekutiny). Na vyžiadanie je možné dostať hodnotu ct. Z toho možno odvodiť údaj o počte vírusov obsiahnutých vo vzorke.

### **Je váš test validovaný v kruhových skúškach?**

LABOKLIN GmbH & Co. KG je akreditované laboratórium. To znamená, že vo všetkých oblastiach sa pravidelne vykonávajú kruhové testy. PCR testy teda tiež podliehajú zodpovedajúcej kontrole.

#### **Literatúra:**

Barker EN, Stranieri A, Helps CR, Porter EL, Davidson AD, Da MJ. Limitations of using feline coronavirus spike protein gene mutations to diagnose feline infectious peritonitis. *Vet Res.* 2017; 48: 60.

Doenges SJ, Weber K, Dorsch R, Fux R, Fischer A, Matiasek LA. Detection of feline coronavirus in cerebrospinal fluid for diagnosis of feline infectious peritonitis in cats with and without neurological signs. *J Feline Med Surg.* 2016; 18: 104-109.

Dunbar D, Kwok W, Graham E, Armitage A, Irvine R, Johnston P, McDonald M, Montgomery D, Nicolson L, Robertson E, Weir W, Addie DD. Diagnosis of non-effusive feline infectious peritonitis by reverse transcriptase quantitative PCR from mesenteric lymph node fine-needle aspirates. *J Feline Med Surg.* 2019; 21: 910-921.

Felten S, Matiasek K, Gruendl S, Sangl L, Wess G, Hartmann K. Investigation into the utility of an immunocytochemical assay in body cavity effusions for diagnosis of feline infectious peritonitis. *J Feline Med Surg.* 2017; 19: 410-418.

Hellemans A, Acar DD, Stroobants VJE, Theuns S, Desmarests LMB, Nauwynck HJ. A comparative study of techniques used for the diagnosis of effusive feline infectious peritonitis. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift.* 2020; 89: 100-110.

Litster AL, Pogranichny R, Lin T-L. Diagnostic utility of a direct immunofluorescence test to detect feline coronavirus antigen in macrophages in effusive feline infectious peritonitis. *Vet J.* 2013; 198: 362-366.

Stranieri A, Giordano A, Paltrinieri S, Giudice C, Cannito V, Lauzi S. Comparison of the performance of laboratory tests in the diagnosis of feline infectious peritonitis. *J Vet Diagn Invest.* 2018; 30 (3): 459-463.

Tasker S. Diagnosis of feline infectious peritonitis: Update on evidence supporting available tests. *J Feline Med Surg.* 2018; 20(3):228-243.

Stranieri A, Scavone D, Paltrinieri S, Giordano A, Bonsembiante F, Ferr S, Glain ME, Meazzi S, Lauzi S. Concordance between Histology, Immunohistochemistry, and RT-PCR in the Diagnosis of Feline Infectious Peritonitis. *Pathogens.* 2020; 9(10):852.