

WERKZAAMHEID VAN HET
ANTIVIRAAL PRODUCT GS-441524
BIJ KATTEN MET FIP

Aantal woorden: 17.372

Anna Catharina Helena Gerdina Ijpelaar

Studentennummer: 02009241

Promotor: Prof. dr. Hans Nauwynck

Promotor: dr. Lore Peetroons

Onderdeel van de Masterproef voorgelegd voor het behalen van de graad master in de diergeneeskunde
Academiejaar: 2022 – 2023

VERTROUWELIJK – BELANGRIJK

Deze masterproef bevat vertrouwelijke informatie en/of vertrouwelijke onderzoeksresultaten die toebehoren aan de Universiteit Gent of aan derden. Deze masterproef of enig onderdeel ervan mag op geen enkele wijze publiek gemaakt worden zonder de uitdrukkelijke schriftelijke voorafgaande toestemming vanwege de Universiteit Gent. Zo mag de masterproef onder geen voorwaarde door derden worden ingekeken of aan derden worden meegedeeld. Het nemen van kopieën of het op eender welke wijze dupliceren van de masterproef is verboden. Het niet respecteren van de vertrouwelijke aard van de masterproef kan onherstelbare schade veroorzaken aan de Universiteit Gent.

Universiteit Gent, haar werknemers of studenten bieden geen enkele garantie met betrekking tot de juistheid of volledigheid van de gegevens vervat in deze masterproef, noch dat de inhoud van deze masterproef geen inbreuk uitmaakt op of aanleiding kan geven tot inbreuken op de rechten van derden.

Universiteit Gent, haar werknemers of studenten aanvaarden geen aansprakelijkheid of verantwoordelijkheid voor enig gebruik dat door iemand anders wordt gemaakt van de inhoud van de masterproef, noch voor enig vertrouwen dat wordt gesteld in een advies of informatie vervat in de masterproef.

Voorwoord

De inspiratiebron voor het onderwerp van deze masterthesis is Dr. Prof. Hans Nauwynck. Dankzij zijn enorm enthousiasme tijdens de lessen 'virale ziekten' in het 1^e masterjaar Diergeneeskunde is mijn interesse in virale pathogeneses gewekt. In het bijzonder trok de pathogenese van het ontstaan van FIP me erg aan om verschillende redenen. De complexiteit van deze pathogenese en de verschillende factoren die een invloed hebben op het ontstaan van FIP is er één van. Het afschuwelijke ziekteverloop gevolgd door een fatale afloop en het ontbreken van een legale behandelingsmethode liet me niet los. Ook de realiteit dat wanhopige baasjes op zoek moeten gaan naar een behandelingsmethode via de illegale markt en dat dierenartsen enkel machteloos kunnen toekijken vanaf de zijlijn bleef in mijn hoofd spoken. Dit gaf mij als toekomstige dierenarts genoeg redenen om me in te zetten voor het aantonen van de effectiviteit van dit geneesmiddel. Hopelijk kan met deze masterproef een stapje in de goede richting worden gemaakt wat betreft de beschikbaarheid van een legaal product in de diergeneeskunde.

Vanwege de huidige ontwikkelingen rondom het gebruik van dit nog niet legale geneesmiddel, heb ik ervoor gekozen om de personen die betrokken zijn bij het verkrijgen van de gegevens niet bij naam te vernoemen. Zij hebben echter wel de grootste rol gespeeld in het mogelijk maken van dit werk en daarom wil ik de kans om hen te bedanken niet voorbij laten gaan. Allereerst bedankt aan de zeer gemotiveerde en trotse eigenaars van de FIP-katjes die ik gedurende hun gehele behandeltraject heb mogen opvolgen. Ik hoop in de toekomst op nog meer goede berichtjes en foto's van deze strijders. Bedankt ook aan de uitstekende professionele zorg vanuit de kattenopvang waar mijn eerste FIP-katje verbleef, het werk wat hier wordt verricht is echt onbetaalbaar. Ook wil ik de dierenartsen bedanken die mij in alle vertrouwen hun patiëntgegevens hebben bezorgd, hierdoor heb ik zo goed mogelijk de werkzaamheid van het GS-441524 in kaart proberen te brengen.

In mijn privéleven is er één persoon waaraan ik mijn grootste dank verschuldigd ben. Mijn lieve Bert, de afgelopen 6 jaar was een heus parcours en een echte uitdaging voor ons beide, ze stond voornamelijk in het teken van deze allesinnemende studie en mijn ultieme droom om dierenarts te worden. Tijdens het schrijven van deze dankbetuiging word ik er zelfs emotioneel van omdat het mij weer doet herinneren dat jij degene bent achter dit succes. Door jou heb ik het aangedurfd om mijn baan op te zeggen en dit avontuur aan te gaan. Zonder jouw vertrouwen en onvoorwaardelijke steun was het me nooit gelukt om dit met succes te voltooien. Met geen woorden is mijn dank te beschrijven, maar het is in ieder geval een begin, dankjewel! Het wordt nu tijd om deze periode af te sluiten en samen op weg te gaan naar de rest van onze toekomst. Ook mijn ouders wil ik graag bedanken voor al het vertrouwen wat jullie mij de afgelopen jaren hebben gegeven en het begrip dat jullie hebben gehad voor mijn afwezigheid bij de vele gebeurtenissen in de afgelopen jaren. Als laatste wil ik iedereen die mij de afgelopen 6 jaar op eender welke manier heeft gesteund willen bedanken. Jullie interesse, luisterende oren en motiverende woorden hebben mij in al deze jaren onbeschrijfelijk veel moed gegeven.

Inhoudsopgave

Samenvatting	7
1. Literatuurstudie	8
1.1. <i>Wat is FIP?</i>	8
1.2. <i>Viruskarakteristieken</i>	8
1.2.1. <i>Feline coronavirussen</i>	8
1.2.2. <i>Morfologie</i>	9
1.2.3. <i>Replicatiecyclus</i>	9
1.3. <i>De pathogenese</i>	10
1.3.1. <i>De pathogenese van FeCV</i>	10
1.3.2. <i>De pathogenese van FIP</i>	10
1.3.3. <i>De rol van de immuniteit in de ontwikkeling van FIP</i>	11
1.4. <i>Epidemiologie</i>	12
1.5. <i>Risicofactoren</i>	14
1.5.1. <i>Infectiedruk</i>	14
1.5.2. <i>Replicatiesnelheid</i>	14
1.5.3. <i>Immuunsysteem</i>	14
1.6. <i>Diagnose</i>	15
1.6.1. <i>Signalement en anamnese</i>	15
1.6.2. <i>Symptomen en klinisch onderzoek</i>	15
1.6.3. <i>Medische beeldvorming</i>	15
1.6.4. <i>Bloedonderzoek</i>	16
1.6.5. <i>Algemene analyse effusievocht</i>	17
1.6.6. <i>Specifiekere diagnostische tests</i>	17
1.6.7. <i>Differentiaaldiagnoses</i>	21
1.7. <i>Therapie</i>	24
1.8. <i>Preventie</i>	25
1.8.1. <i>Reinigen en desinfecteren</i>	25
1.8.2. <i>Kattenbakvulling</i>	26
1.8.3. <i>Detecteren van uitscheiders</i>	26
1.8.4. <i>Mutian X®</i>	26
1.8.5. <i>Vaccineren</i>	27
2. Probleemstelling en doelstelling	28
3. Materiaal en methoden	28
3.1. <i>Kat 1</i>	28
3.2. <i>Kat 2</i>	28
3.3. <i>Kat 3</i>	28
3.4. <i>Kat 4</i>	29
3.5. <i>Kat 5</i>	29
3.6. <i>Kat 6</i>	29
3.7. <i>Kat 7</i>	30
4. Resultaten	30
4.1.1. <i>Klinische opvolging</i>	30
4.1.2. <i>Opvolging bloedparameters</i>	32
5. Discussie	35
5.1. <i>Signalement</i>	35
5.2. <i>Symptomen</i>	35
5.3. <i>Diagnose</i>	35
5.4. <i>Opvolging</i>	36
5.5. <i>Variabelen in de studie</i>	37
5.6. <i>Toekomstmuziek</i>	37
5.6.1. <i>Legalisering</i>	37
5.6.2. <i>Alternatief voor pijnlijke injecties</i>	38
5.6.3. <i>Combinatiepreparaten</i>	38
5.6.4. <i>Preventie</i>	38
5.7. <i>Deze studie</i>	39
6. Conclusie	39
7. Referentielijst	40

Lijst met afkortingen

ADCC	Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity
ADCML	Antibody-dependent complement mediated lysis
ADEI	Antibody-dependent enhancement of infectivity
A/G ratio	Albumine/globuline ratio
AGP	Alpha 1-acid glycoprotein
AID	Anemia of inflammatory disease
AST	Alanine-amino-transferase
ATP	Adenosinetriofosfaat
BCS	Body condition score
BID	Bis in die
CoV	Coronavirus
COVID-19	Coronavirus disease 2019
CSF	Cerebrospinaal vocht
CVT	Capillaire vullingstijd
DIC	Disseminated intravascular coagulation
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EMA	Europese geneesmiddelenbureau
FAGG	Federaal Agentschap voor Geneesmiddelen en Gezondheidsproducten
FCoV	Feliene coronavirus
FDA	Food and drug administration
FDP	Fibrinogeen degradatie product
FeCV	Feliene enterisch coronavirus
FeLV	Feliene leukose virus
FeIFN ω	Feliene interferon omega
FIP	Feliene infectieuze peritonitis
FIPV	Feliene infectieuze peritonitisvirus
FIV	Feliene immunodeficiëntie virus
FNA	Fijne naald aspiraats
HCT	Hematocriet
Hp	Haptoglobine
ICAM-1	Intercellulaire adhesiemolecule-1
IF	Immunofluorescentie
IFN- γ	Interferon-gamma

IHC	Immunohistochemie
IMHA	Immuunhemolytische anemie
MCS	Muscle condition score
MCV	Mean cell volume
MCHC	Mean cell hemoglobin concentration
MHC	Major histocompatibility complex
mRNA	Messenger ribonucleïnezuur
NTP	Nucleotidetrifosfaat
PCR	Polymerase chain reaction
Pu/Pd	Polyurie/polydipsie
PRBC	Packed red blood cells
RDW	Red cell distribution width
RNA	Ribonucleïnezuur
RIM	Rapid immunomigratie
RT-PCR	Reversed transcriptase polymerase chain reaction
RT-qPCR	Kwantitatieve reversed transcriptase polymerase chain reaction
SAA	Serum amyloid A
SPF	Superpathogen free
SARS-CoV-2	severe acute respiratory syndrome coronavirus 2
SSRNA	Single strand ribonucleïnezuur
TCB	Tru-cut biopsie
TID	Ter in die
VCAM-1	Vasculaire celadhesiemolecule 1
VEGF	Vascular endothelial growth factor

Samenvatting

Feliene infectieuze peritonitis (FIP) is een fatale ziekte die voornamelijk voorkomt bij jonge katten. FIP wordt veroorzaakt door het FIP-virus dat ontstaat door een mutatie van het feliene enterisch coronavirus (FeCV). Deze mutatie vindt per toeval plaats op het moment dat een kat een systemische infectie ondergaat met het FeCV. De precieze mutatie is echter nog niet bekend. Als op het moment van de mutatie de immuniteit van de kat gecompromitteerd is dan kan FIP zich ontwikkelen. Bij FIP ontstaan er pyogranulomateuze ontstekingshaarden op het verloop van de bloedvaten ter hoogte van de serosa van de organen. De symptomen waarmee de eigenaars hun kat aanbieden zijn vaak lethargie, anorexie en vermageren. Ook kunnen abdominale distensie, oculaire afwijkingen en neurologische symptomen worden opgemerkt. Vaak wordt op klinisch onderzoek koorts vastgesteld die niet reageert op antibiotica of anti-inflammatoire producten. De diagnose van FIP is moeilijk te stellen en is meestal gebaseerd op een waarschijnlijkheidsdiagnose. FIP kan bevestigd worden door het aantonen van FCoV-antigenen in geïnfecteerde cellen in exsudaat of aangetast weefsel. FIP kan echter nooit worden uitgesloten bij een negatieve test. Naast het feit dat de diagnose een enorme uitdaging kan zijn is de therapie dat nog meer. Op dit moment is er geen legale behandelmethode beschikbaar, terwijl er op de zwarte markt wel een product in omloop is dat wel effectief FIP lijkt te genezen. In deze studie werd de werkzaamheid van dit product, GS-441524, in kaart gebracht. Er werden zeven katten behandeld waarvan er zes behandeld zijn met het GS-441524. Binnen 7 dagen werd een klinische verbetering gezien en de afwijkende bloedparameters normaliseerden gedurende het verloop van de behandeling. Hieruit blijkt dus dat GS-441524 werkzaam is bij katten met FIP. Er is echter nog geen zicht op de lange termijn gevolgen van deze behandeling.

1. Literatuurstudie

1.1. Wat is FIP?

Feliene infectieuze peritonitis (FIP) is een fatale ziekte bij katten die voor het eerst werd beschreven in 1963 door Holzworth et al. (1963). Deze ziekte wordt gekenmerkt door een diffuse fibrineuze peritonitis met granuloomvorming op de serosa van inwendige organen (Kipar et al., 1998; Rorhbach et al., 2001). Er wordt gesproken van twee verschillende klinische vormen van FIP, de effusieve en de niet-effusieve vorm. In de volksmond wordt dit ook wel respectievelijk natte en droge FIP genoemd. Het verschil tussen deze beide vormen wordt gemaakt op basis van de klinische symptomen. Het is dus geen reflectie van de pathologische afwijkingen want in beide gevallen worden zowel serosale als parenchymale pyogranuloma's gevormd (Kipar et al., 2014). De aangetaste organen kunnen niet meer functioneren door het directe effect van de vorming van pyogranuloma's op het parenchym en het indirecte effect van de drukatrofie die wordt veroorzaakt door de ophoping van vocht. Bij 60-84% van de katten met FIP wordt de effusieve vorm gezien wat zich kan uiten in ascites, pleurale effusie en/of pericardiale effusie (Hartmann et al., 2003; Lutz et al., 1986; Walter et al., 1989). De meest voorkomende effusieve vorm van natte FIP is ascites, welke in 65% van de gevallen voorkomt (Addie et al., 2009). Ook lijden niet alle katten met ascites aan FIP, bij 49% van de katten met ascites wordt dit door een andere aandoening veroorzaakt (Hartmann et al., 2003).

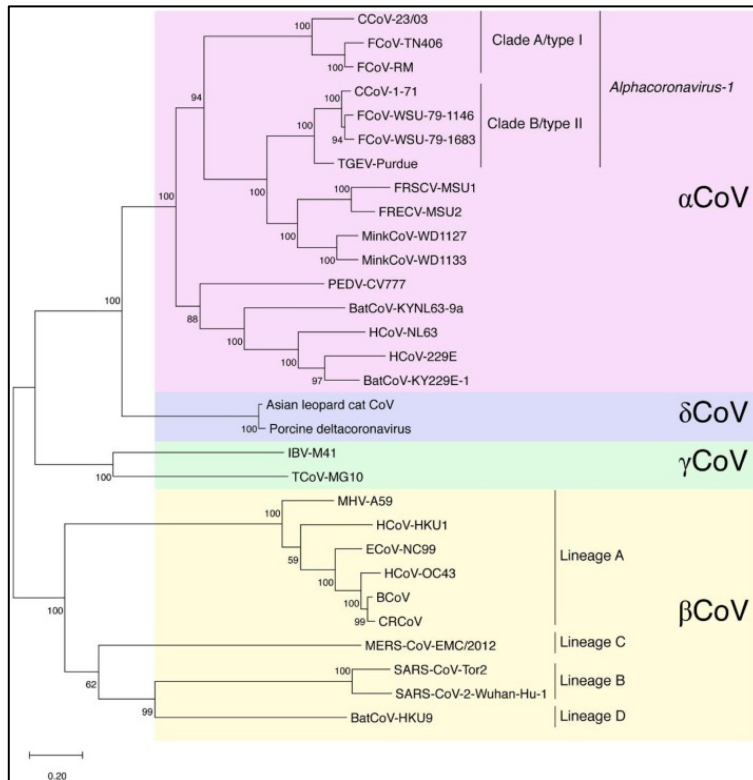
De symptomen die kunnen worden gezien zijn zeer uiteenlopend en ook is er geen duidelijk pathognomonisch beeld. De meest voorkomende symptomen waar eigenaars hun kat mee aanbieden bij de dierenarts zijn lethargie en anorexie. Op klinisch onderzoek worden vaak gewichtsverlies, ascites, koorts en bleke of icterische slijmvliezen opgemerkt door de dierenarts. De koorts zal op geen enkele vorm van therapie reageren en het bloedonderzoek toont meestal een vorm van anemie. Daarnaast kunnen katten ook worden aangeboden met symptomen van dyspnee, polyurie en polydipsie (PU/PD), neurologische symptomen of oculaire symptomen (Hosie et al., 2009). Deze laatste twee worden beschouwd als de niet-effusieve vorm van FIP, ook wel onder te verdelen in neurologische FIP en oculaire FIP.

1.2. Viruskarakteristieken

FIP wordt veroorzaakt door het feliene infectieuze peritonitis virus (FIPV) en is verwant aan het feliene enterisch coronavirus (FeCV). Beiden behoren tot de feliene coronavirussen (FCoVs) en zijn onder te brengen onder de orde van de *Nidovirales*, de familie van de *Coronaviridae* en de subfamilie van de *Coronavirinae*. Zoals te zien is in Figuur 1 worden de *Coronavirinae* onderverdeeld in 4 genera: Alfa (α -), Bèta (β -), Gamma (γ -), Delta (δ -) coronavirussen. FCoVs behoren tot het genus van de α -coronavirussen, terwijl het humane SARS-CoV-2 dat COVID-19 veroorzaakt, tot het genus van de β -coronavirussen behoort (Paltrinieri et al., 2021; Stout et al., 2020).

1.2.1. Feliene coronavirussen (FCoVen)

FCoVen komen voor in twee serotypes, type I en II, met elk verschillende stammen (Pedersen et al., 2008; 2012). De serotypes verschillen op basis van hun spike-proteïne en het lichaam reageert op deze spike met de productie van neutraliserende antistoffen. De antistoffen die worden geproduceerd tegen type I en II verschillen van elkaar en dit maakt het onderscheid tussen serotype type I en II mogelijk. Type II komt het minst vaak voor en is ontstaan door recombinatie van type I FeCV en het caniene coronavirus. Type II is het makkelijkst op te kweken onder laboratoriumomstandigheden (Herrewegh et al., 1998; Kummrow et al., 2005). Naast deze twee serotypes kunnen de FCoVs ook worden onderverdeeld in twee verschillende biotypes of pathotypes. Deze onderverdeling wordt gemaakt op basis van het verschil in virulentie. Het FeCV is ongemuteerd, avirulent, heeft een tropisme voor enterocyten en komt zeer frequent voor in huishoudens met meerdere katten. Het feliene infectieuze peritonitisvirus (FIPV) is de gemuteerde variant van het FeCV en is het virulente biotype of pathotype dat FIP veroorzaakt en heeft een tropisme voor monocyten/macrofagen. De infectie start altijd met het ongemuteerde FeCV, waarna in een kleine deel van de kattenpopulatie een spontane mutatie plaatsvindt van het FeCV naar het FIPV (Pedersen et al., 2008, 2009, 2012; Thylor et al., 2022; Vennema et al., 1998).



Figuur 1: Phylogenetische stamboom van de Coronavirinae (Stout et al., 2020).

1.2.2. Morfologie

Het genoom van een FCoV bestaat uit een positief enkelstrengig RNA (+SSRNA) dat wordt omgeven door een helicale nucleokapsied en een enveloppe (Masters et al., 2013). De enveloppe bestaat uit een dubbele fosfolipidenmembraan en bevat drie structurele proteïnen: de Spike-proteïne (S), de membraan-proteïne (M) en de enveloppe-proteïne (E). De S-proteïnen zorgen voor de binding tussen het virus en de gastheercel waarna er een fusie plaatsvindt tussen de virale-enveloppe en de plasmamembraan van de gastheercel. De S-proteïne is dus verantwoordelijk voor het tropisme van de coronavirussen en de pathogeniciteit (Lai, et al. 1997; Sanchez, et al. 1999, Vennema et al., 1996). De M-proteïne zorgt voor de rigiditeit van de enveloppe en is betrokken bij de virus assembly samen met het E- proteïne (Neuman et al., 2011). Het E-proteïne is een kleine membraan proteïne die na de virus assembly zorgt voor het vrijkomen van de virussen uit de geïnfecteerde cel via budding (Venkatagopalan et al., 2015). Naast deze 3 structurele proteïnen bevatten coronavirussen ook nog een nucleokapsied proteïne. Dit eiwit is verantwoordelijk voor de structuur van het RNA-genoom in de helicale nucleokapsied en zorgt voor synthese van het virale RNA en enkele andere cellulaire processen (Baric et al., 1988; Lai et al., 1997). Zowel de S- als de N-proteïnen activeren de celgedeelte immuuniteit van de gastheer en het S-proteïne zal de humorale immuuniteit activeren (Channappanavar et al., 2014; Zhao et al., 2005).

1.2.3. Replicatiecyclus

Ieder virus heeft een gastheercel nodig om te repliceren. De replicatiecyclus van virussen bestaat uit de binding, intrede, ontmanteling, transcriptie, translatie, genoom replicatie, assembly en uiteindelijk de release van nieuwe virionen. Na de binding en fusie van de FCoV-enveloppe met de membraan van de gastheercel komt het genoom vrij in het cytoplasma. Het +ssRNA-genoom fungeert als mRNA waardoor transcriptie en translatie meteen kunnen plaatsvinden. Na de replicatie van de eiwitten en het genoom zullen ribonucleoproteïnen assembleren in het cytoplasma waarna de S-, M- en E-proteïnen in het Golgi-apparaat worden ingebouwd. De M- en N-proteïnen spelen een centrale rol in de assemblage van nieuwe virionen. De virionen komen vrij via budding die door de E-proteïnen wordt georkestreerd. Hierdoor zal er een enveloppe worden gevormd rondom de nucleocapsid en ontstaan er nieuwe virussen die andere gastheercellen kunnen infecteren (Vennema et al., 1996).

Siaalzuur speelt een belangrijke rol op de infectiviteit van het FeCV, maar die rol is nog niet helemaal duidelijk (Desmarets et al., 2014). Het is gebleken dat het verwijderen van siaalzuur van de enterocyten of van het FeCV, door middel van neuraminidase, de infectiviteit van het FeCV verhoogt in enterocyten. Wanneer het siaalzuur verwijderd werd van zowel de enterocyten als van het FeCV bleek de infectiviteit echter verminderd. Dit betekent dat het FeCV de capaciteit heeft om te binden aan siaalzuur en hiermee de infectie kan initiëren.

1.3. De pathogenese

1.3.1. De pathogenese van FeCV

De transmissie van het FeCV gebeurt via feco-orale route waarbij enterocyten, mesenteriale lymfeknopen, tonsillen, thymuscellen en de longen kunnen worden geïnfecteerd. Het grootste deel van de katten zal een milde transiënte enteritis ontwikkelen 2 à 3 dagen na infectie door de replicatie van het FeCV in de enterocyten. De uitscheiding van het FeCV via de feces kan duren van enkele dagen tot weken, maanden of zelfs jaren (Desmarets et al., 2016; Pedersen et al., 1984; Vennema et al., 1998). Na de infectie zullen de meeste katten vrij zijn van het virus, maar enkele katten zullen intermitterend of persisterend uitscheider blijven van het FeCV (Pedersen et al., 2008). Van de met FeCV geïnfecteerde katten zal 13% persisterend uitscheider blijven waardoor deze een continue infectiebron vormen voor vatbare katten (Addie & Jarret, 2001). Tijdens een FeCV besmetting kunnen naast een transiënte enteritis ook andere milde symptomen zoals braken en hyporexie worden gezien. Een groot deel van de FeCV-geïnfecteerde katten zullen helemaal geen symptomen vertonen (Pedersen et al., 2009). In Figuur 2 is de epidemiologie van het FeCV weergegeven waarin ook de transmissieroutes zijn opgenomen.

Ondanks dat de FeCV-infectie weinig tot geen symptomen hoeft te geven, kan het virale genoom wel gedurende een lange tijd worden gedetecteerd in de feces van geïnfecteerde katten (Desmarets et al., 2016). Waarschijnlijk is dit ten gevolge van de infectie van monocyt/macrofagen die naast enterocyten ook door het FeCV geïnfecteerd kunnen worden. De geïnfecteerde monocyt/macrofagen kunnen via de bloedbaan systemisch worden verspreid waardoor er een celgemedieerde viremie ontstaat (Meli et al., 2004). De systemische verspreiding naar andere weefsels gebeurt dus via de geïnfecteerde monocyt/macrofagen, maar hierin kan het FeCV zich niet productief repliceren (Dewerchin et al., 2005). Volgens Pedersen et al. (2012) is het wel mogelijk dat het FeCV vanuit monocyt/macrofagen in de bloedbaan weer terug enterocyten kunnen infecteren. Dit blijkt uit hun onderzoek waarbij katten intra-peritoneaal geïnfecteerd werden met FeCV waarna zij vergelijkbare hoeveelheden virussen uitscheidde via de feces als de per oraal geïnfecteerde katten. Ook is hier aangetoond dat de tijd tussen infectie en uitscheiding gelijk is tussen de intra-peritoneaal geïnfecteerde katten en de per oraal geïnfecteerde katten. Dit onderzoek verklaart de aanwezigheid van intermitterende en persisterende uitscheiders.

In het onderzoek van Desmarets et al. (2016) zijn 3 specifiek pathogeen vrije (SPF) katten peroraal geïnoculeerd met FeCV. Zij konden in 2 katten die een enteritis doormaakten, het virus aantonen vanaf dag 2 tot en met dag 28 na inoculatie. Het genoom kon zelfs tot 56 dagen post-inoculatie worden aangetoond. Het virus dat uit deze feces werd geïsoleerd was echter wel minder infectieus in een enterocytencultuur en bevatte ook enkele mutaties. De andere kat ontwikkelde geen symptomen en er werd geen acute virusuitscheiding aangetoond. Na 14 dagen was er echter wel uitscheiding van het virale genoom, maar dit virus had geen tropisme voor de in-vitro enterocyten. Dit bevestigt nogmaals dat niet iedere kat een enteritis doormaakt. Wel werd er in alle gevallen een celgemedieerde viremie aangetoond wat nog eens bewijst dat het FeCV immuuncellen kan infecteren zelfs zonder dat ze een tropisme hebben voor enterocyten.

1.3.2. De pathogenese van FIP

FIP wordt veroorzaakt door het FIPV dat ontstaat door een mutatie van het FeCV. Het start dus allemaal met een infectie van het FeCV via feco-orale route waarna enterocyten kunnen worden geïnfecteerd en een systemische verspreiding plaatsvindt door de monocyt-geassocieerde viremie (Meli et al., 2004). De manier waarop de monocyt/macrofagen worden geïnfecteerd is nog niet duidelijk. Het kan zijn dat macrofagen onder het intestinaal epitheel of in de tonsillen de FCoV's opnemen of dat de FCoV's zich verspreiden via de lymfebanen en daar worden opgenomen door monocyt/macrofagen en zo een cel geassocieerde viremie veroorzaken in iedere FCoV-geïnfecteerde kat (Kipar et al., 2005; Pedersen et al., 2014).

Er vindt dus een systemische verspreiding van zowel het FeCV als van het FIPV plaats, maar een onderscheid tussen deze twee is nog niet te maken. Echter wordt er meer FCoV-RNA teruggevonden in verschillende weefsels van katten die FIP hebben ontwikkeld dan van katten die (nog) geen FIP hebben ontwikkeld. Bovendien wordt er bij katten met FIP meer FCoV-antigeen aangetoond in de weefsels dan bij katten zonder FIP, met uitzondering van de mesenteriale lymfeknopen en pulmonaire macrofagen van de persisterende FeCV-uitscheiders. Dit is een indicatie dat het FIPV in tegenstelling tot het FeCV zich wel kan repliceren in perifere organen en dat deze replicatie het verschil maakt tussen de beide pathotypes (Kipar et al., 2010; Pedersen et al., 2014). Het onderzoek van Dewerchin et al. (2005) draagt bij aan deze theorie. Zij hebben door middel van een in vitro-experiment de replicatie kunnen aantonen van het FIPV in monocyten. Daarbij hebben zij ook aangetoond dat de monocyten na infectie werden geactiveerd. Een deletiemutatie in een accessoir eiwit genaamd ORF7 zou een cruciale rol spelen voor de replicatie van het FIPV in deze monocyten/macrofagen (Dedeurwaerder et al., 2013). Het is duidelijk dat er dus een mutatie plaatsvindt van het FeCV naar het FIPV waardoor het FIPV zich kan repliceren in de monocyten/macrofagen en waardoor de verandering van het pathotype plaatsvindt. Helaas blijft de exacte mutatie tot op heden onbekend.

De replicatie van het FIPV in monocyten/macrofagen activeert de geïnfecteerde cellen (Dewerchin et al., 2005). Deze activatie leidt tot een granulomateuze vasculitis, doordat de FIPV-geïnfecteerde monocyten/macrofagen de extravasatie van nieuwe toegekomen monocyten promoten. Daarnaast worden de toegekomen monocyten meer ontvankelijk voor een FIPV-infectie. De FIPV-geïnfecteerde monocyten zetten zich vast op de endotheelcellen van capillairen waarna de lamina basales wordt gepasseerd. Zowel de monocyten als de perivasculaire macrofagen worden in de bloedbaan geactiveerd door de expressie van cytokines en metalloproteïnases en zijn allemaal CD18 positief. Ook worden de endotheelcellen geactiveerd waardoor het MHCII wordt opgeregeerd (Kipar et al., 2005; Regan et al., 2009). Hierdoor ontstaat er een vicieuze cirkel waardoor steeds meer monocyten worden aangetrokken en worden geïnfecteerd en hierdoor betrokken raken in het infiltratieproces. Niet-geïnfecteerde monocyten en neutrofielen worden aangetrokken door chemotaxis afkomstig van de ontstane weefselschade. De monocyten/macrofagen zullen gaan prolifereren en raken ook geïnfecteerd met het FIPV. Op deze manier ontstaan er diffuse granulomen op de serosa van inwendige organen (Kipar et al., 2005). Door de vrijstelling van het vasculair endotheliale growth factor (VEGF) door de geïnfecteerde cellen wordt de vasculaire permeabiliteit verhoogd wat de oorzaak is van het ontstaan van pleurale-, pericardiale- en/of peritoneale effusie (Takano et al., 2011).

De overdreven extravasatie van leukocyten op de plaats waar de granulomateuze vasculaire lesies zijn ontstaan is het resultaat van een algemene systemische opregulatie van de leukocyt-geassocieerde adhesiemoleculen in combinatie met de restrictie van de opregulatie van de endotheliale counterliganden (P-selectine, E-selectine, intercellulaire adhesiemolecule-1 (ICAM-1) en vasculaire celadhesiemoleculen (VCAM-1)). De beperkte opregulatie wordt veroorzaakt door specifieke mediators die afkomstig zijn van de FIPV-geïnfecteerde monocyten. Dit verklaart waarom de extravasatie van leukocyten beperkt is tot deze specifieke plaatsen ondanks de systemische activatie (Olyslaegers, 2014; Olyslaegers et al., 2013). Een overzicht van de pathogenese van FIP die voorkomt uit een infectie met het FeCV is schematisch weergegeven in Figuur 2.

1.3.3. De rol van de immuniteit in de ontwikkeling van FIP

De immuniteit speelt een belangrijke rol in het al dan niet ontstaan van FIP. Er is steeds een hoog antistoffenrespons aangetoond bij katten die FIP hebben ontwikkeld (Kipar et al., 1998; Pederson et al., 1984). Onderzoek heeft aangetoond dat het toedienen van antistoffen aan katten, die daarna worden geïnoculeerd met het FIPV, ziektesymptomen hebben ontwikkeld (Weiss et al., 1981). Hierdoor werd verondersteld dat antibody-dependent enhancement of infectivity (ADEI) een rol zou spelen in de ontwikkeling van FIP (Corapi et al., 1995; Hohdatsu et al., 1998).

Een in-vitro studie heeft aangetoond dat niet alle FIPV-geïnfecteerde monocyten virale antigenen tot expressie brengen op het oppervlak. Ook is door onderzoek aangetoond dat de aanwezigheid van specifieke anti-FCoV antilichamen de virale S-proteïne, die tot expressie wordt gebracht aan het oppervlak van de geïnfecteerde cel, zeer snel worden geïnternaliseerd. Hierdoor wordt het S-proteïne niet meer gepresenteerd aan het oppervlak van de cel en is de FIPV-geïnfecteerde cel niet langer herkenbaar voor het immuunsysteem waardoor het is beschermd tegen antibody-dependent cellular cytotoxicity (ADCC) en het antibody-dependent complement-

mediated lysis (ADCML). ADEI is een verklaring waarom het FIPV niet uit het lichaam kan worden verwijderd ondanks een hoge antistof concentratie (Cornelissen et al., 2007; Dewerchin et al., 2006, 2008).

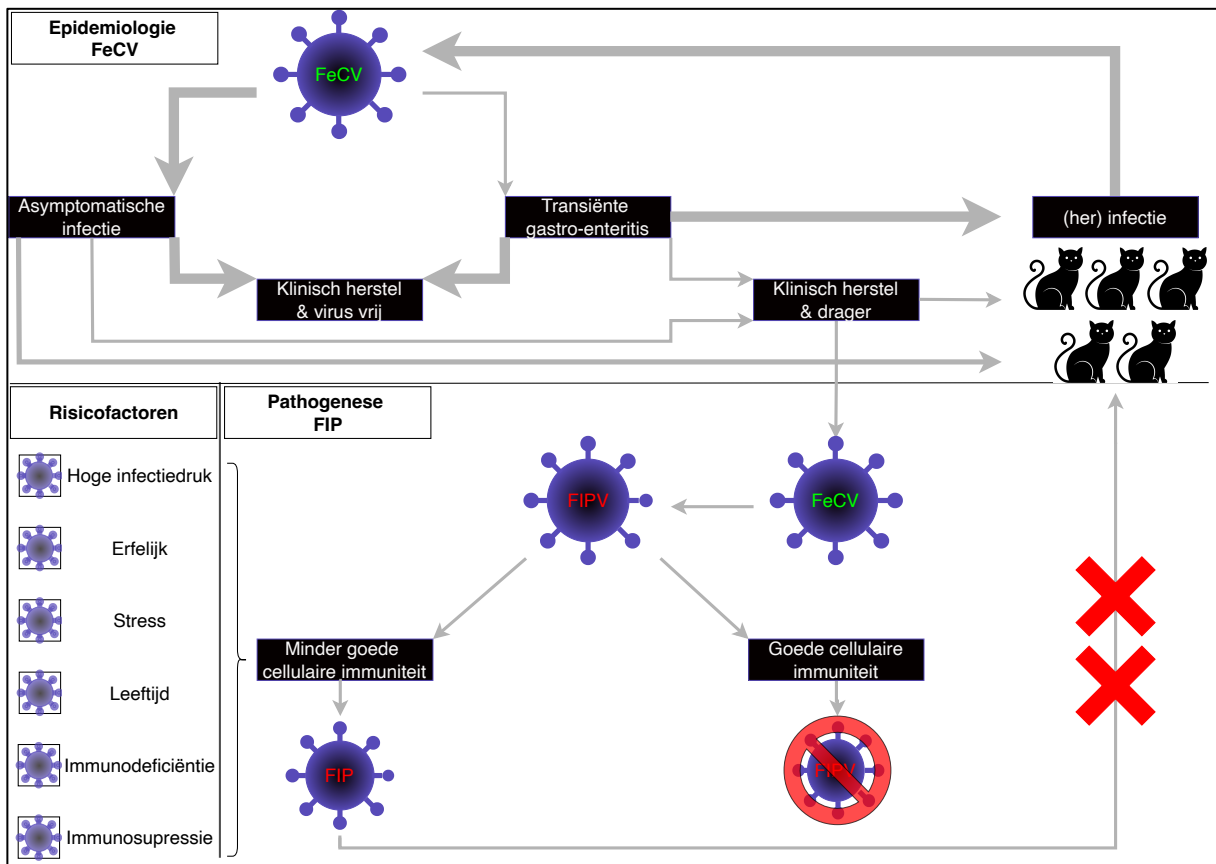
In tegenstelling tot de activatie van de humorale immuniteit zou een goede celgemedieerde immuniteit juist beschermen tegen de ontwikkeling van FIP (Pedersen et al., 1983). Uit onderzoek blijkt dat een acute virus-geïnduceerde T-cel lymfopenie kon worden vastgesteld bij katten die geïnoculeerd werden met een hoog virulente FIPV-stam en die zowel virusrepliatie als een viremie doormaakten inclusief symptomen van koorts en gewichtsverlies. Door deze antivirale T-cel immuniteit zouden de periodes van ziekte en herstel zich afwisselen bij de aangedane katten. De progressie van de ziekte en de afloop ervan zou afhankelijk zijn van de efficiëntie van de T-cel respons. Sommige katten ontwikkelen een T-cel lymfopenie die leidt tot een snelle progressie en sterfte. In geval van een eindstage van FIP konden grote hoeveelheden viraal-RNA in het bloed worden gedetecteerd wat een gevolg is van het verlies van deze T-celgemedieerde immuniteit. Bij katten die de FIPV-infectie onder controle konden houden werd een goede T-celgemedieerde respons gezien die gericht was tegen de S-proteïne van het virus. Deze T-celgemedieerde respons resulteerde dan ook in overleving van de FIPV-geïnfecteerde katten (de Groot-mijnes et al., 2005). De ontwikkeling van FIP wordt geassocieerd met een proliferatie en activatie van de geïnfecteerde monocyt/macrofagen en met een suppressie van de beschermende aangeboren en adaptieve celgemedieerde immuniteit zoals de CD 4+ en CD 8+ T-cellen en regulatoire T-cellen (de Groot-mijnes et al., 2005; Kipar et al., 2005, 2014). Zoals in paragraaf 1.2.2 is vermeld wordt de celgemedieerde immuniteit van de gastheer geïnduceerd door zowel de S-proteïne als de N-proteïne van het virus en zal het S-proteïne ook de humorale immuniteit induceren die tegelijkertijd een negatieve invloed heeft op de overleving van de FIPV-geïnfecteerde kat (Channappanavar et al., 2014; Herrewegh et al., 1998; Kummrow et al., 2005; Zhao et al., 2005). Een kat die door een goede T-celgemedieerde immuniteit FIP heeft overleefd is daarom echter niet vrij van het virus. In onderzoek van Pedersen et al. (2009) werd de aanvang van FIP namelijk terug uitgelokt door het induceren van immunosuppressie bij katten die een vroegere FIPV-infectie hadden overleefd.

1.4. Epidemiologie

Een prevalentiestudie uit 1976 van verschillende catteries uit Davis, Californië, toonde een seroprevalentie aan van 87% voor het FeCV bij volwassen katten (Pedersen et al., 1976). Uit een Britse studie blijkt dat een volwassen kat in een huishouden met meerdere katten 2,3 maal zoveel kans maakt om seropositief te zijn voor het FeCV (Cave et al., 2004). Dit geeft aan dat de het FeCV wijdverspreid is in de kattenpopulatie. Echter zullen kittens geen FeCV uitscheiden voor een leeftijd van 5-10 weken door de aanwezigheid van maternale lactogene immuniteit (Harpold et al., 1999). De IgA antistoffen in de melk zullen de kittens tot speenleeftijd beschermen tegen een FeCV-infectie. Na het spenen lopen de kittens dus het grootste risico op een primo-infectie met het FeCV. Met name de kittens, rond de leeftijd van 8 weken, die worden binnengebracht in een asiel lopen het grootste risico op een infectie met het FeCV (Pedersen, et al, 2004).

De virusuitscheiding is het hoogst bij katten jonger dan 2 jaar, bij intacte katers, immuungecompromiteerde katten en katten ouder dan 8 jaar (Pedersen et al. 2008; Poland et al. 1996). De infectiedruk in een groep katten wordt dus onderhouden of verhoogd door deze groep katten en door de intermitterende en persisterende uitscheiders waarover eerder is gesproken (Pedersen et al., 2009). Ook hebben slechte hygiënische maatregelen een negatieve invloed op de infectiedruk. Meerdere katten in hetzelfde huishouden hebben dan ook een grotere kans op een herinfectie met het FeCV op het moment dat de lokale immuniteit ter hoogte van de enterocyten is afgenomen. Deze lokale immuniteit neemt snel af waarna deze katten dus opnieuw geïnfecteerd kunnen worden. Na de herinfectie zullen ook deze katten opnieuw virus kunnen gaan uitscheiden. Het is dan ook niet verwonderlijk dat in de feces van katten uit een huishouden met meerdere katten steeds FeCV wordt aangetoond (Klein-Richers et al., 2020; Pedersen, et al., 2004). Echter is er in de kattenpopulatie ook een zeer klein aantal katten dat resistent blijkt te zijn voor een FeCV-infectie (Kipar et al., 2010; Pedersen et al., 1981, 2009).

De prevalentie van FIP is het hoogst bij katten jonger dan 2 jaar met een gemiddelde leeftijd van 4 tot 16 maanden. Het kan echter ook op een latere leeftijd voorkomen. Er zijn studies die aantonen dat katers meer kans maken op de ontwikkeling van FIP dan kattinnen waarbij FIP vaker voorkomt bij intacte katers dan bij gecastreerde katers (Pesteanu-Somogyi et al., 2006; Rorhbach et al., 2001). Van het totaal aantal overleden katten in dierenartsenpraktijken, -centra en -klinieken werd 0.3%-1.4% van de overlijdens veroorzaakt door FIP. (Pesteanu-Somogyi et al., 2006; Rorhbach et al., 2001). Ondanks dat FeCV via feco-orale transmissie wordt doorgegeven is er geen horizontale transmissie mogelijk van het FIPV (Barker et al., 2013; Pedersen et al., 2012). De epidemiologie van FeCV is te zien in Figuur 2 die aangevuld is met de pathogenese van FIP.



Figuur 2: Deze figuur geeft de epidemiologie weer van het FeCV. Het start met de oro-fecale transmissie van het FeCV waarna een asymptomatische of een transiënte infectie ontstaat. De geïnfecteerde katten zullen gevoelige katten infecteren. De katten zullen klinisch herstellen en vrij zijn van het virus of drager blijven van het FeCV. Op het moment dat FeCV in de kat muteert naar het FIPV kan een goede immuniteit het FIPV overwinnen in tegenstelling tot een minder goede cellulaire immuniteit waardoor FIP kan ontwikkelen. De immuniteit wordt beïnvloed door verschillende factoren. Katten die FIP hebben ontwikkeld zullen andere katten niet kunnen infecteren.

1.5. Risicofactoren

Er zijn meerdere risicofactoren die een rol spelen in het al dan niet ontstaan van het FIPV uit het FeCV en er zijn meerdere factoren die een rol spelen bij het al dan niet ontwikkelen van het FIP. Een overzicht van deze risicofactoren en het effect op de pathogenese is ook weergegeven in Figuur 2.

1.5.1. Infectiedruk

Zoals in hoofdstuk 1.4 al is aangekaart, is de prevalentie van FeCV het hoogst op plaatsen waar meerdere katten samenleven zoals in catteries, asielen en opvanggezinnen (Klein-Richers et al., 2020). Dit maakt dat deze katten vaker worden blootgesteld aan een (her)infectie met het FeCV en hierdoor dus ook een grotere kans maken op een mutatie van het FeCV naar het FIPV waarna FIP zou kunnen ontwikkelen. Een herinfectie versnelt de ontwikkeling van FIP niet, maar de kans dat het FIPV ontstaat door mutaties van het FeCV is wel groter (Addie et al., 2003).

1.5.2. Replicatiesnelheid

Het is gekend dat de virusuitscheiding bij jonge katten, immuungecompromiteerde katten en katten ouder dan 8 jaar het hoogst is. De hoge virusuitscheiding is het resultaat van een hoge replicatiesnelheid van het virus wat de kans op het ontstaan van een de mutatie van het FeCV naar het FIPV vergroot (Pedersen et al., 2008; Poland et al., 1996).

1.5.3. Immuunsysteem

In hoofdstuk 1.3.3 werd de rol van het immuunsysteem in de ontwikkeling van FIP uitgebreid besproken. Er zijn een aantal factoren die het immuunsysteem kunnen beïnvloeden waardoor de kans op het ontstaan van FIP wordt vergroot.

Leeftijd

De leeftijd van de kat waarop een FeCV-infectie plaatsvindt kan invloed hebben op het ontstaan van het FIPV. Katten jonger dan 1 jaar hebben 2,5 maal meer kans om het FeCV uit te scheiden dan volwassen katten (Klein-Richers et al., 2020). De hoge virale uitscheiding die gezien wordt bij deze jonge katten kan verklaard worden door een immatuur immuunsysteem. Hierdoor kan het virus zich zeer efficiënt repliceren wat de kans op een mutatie van het FeCV naar het FIPV groter maakt (Pedersen et al., 2009). Daarnaast zijn kittens op speenleeftijd vatbaarder voor een infectie met het FeCV door het wegvallen van de lokale lactogene immuniteit (Harpold et al., 1999).

Retrovirus infectie

Een infectie van het feliene immunodeficiëntie virus (FIV) en het feliene leukose virus (FeLV) verlagen de immuniteit van de kat. Er is een studie die aantoont dat het risico op de ontwikkeling van FIP verhoogt in geval van een FIV-infectie (Poland et al., 1996). Daarnaast toont een prevalentiestudie in de jaren 1970/1980 dat 30%-50% van de katten met FIP ook waren geïnficeerd met het FeLV (Pedersen, 2009).

Stress

Doordat stress een verhoogde secretie van glucocorticoïden induceert zal er een daling zijn van de IFN- γ productie en een daling van de functionaliteit van de celgemedieerde immuniteit (Dhabhar, 2009; Han et al., 2001). Omdat duidelijk is geworden dat het FIPV geëlimineerd kan worden met een goede T-cel gemedieerde immuniteit is het dus van belang om de stress te reduceren om op deze manier de celgemedieerde immuniteit optimaal te houden (Drechsler et al., 2011).

Genetisch

Om FIP te ontwikkelen zijn zowel de genetische achtergrond van het virus als van de kat van belang. De diversiteit van het major histocompatibiliteits complex (MHC), de productie van cytokinen en de apoptose van lymfocyten worden bepaald door de genetische achtergrond van het dier en beïnvloeden dus het immuunsysteem (Addie et al., 2004; Kennedy et al., 2020). Er zijn namelijk katten die in dezelfde omgeving leven en worden blootgesteld aan veelal dezelfde FeCV-stammen en niet bij iedere kat zal deze FeCV-infectie leiden tot het ontstaan van het FIPV en de ontwikkeling van FIP. Daarnaast zijn er bepaalde rassen en bepaalde lijnen van rassen die een hogere incidentie kennen van de ontwikkeling van FIP en dus gevoeliger zijn voor de ontwikkeling ervan (Pedersen et al., 2009).

1.6. Diagnose

De ante-mortem diagnose van FIP is zeer uitdagend en kan heel frustrerend zijn. Er is geen pathognomonisch klinisch beeld voor FIP en er is ook geen laboratoriumtest beschikbaar die met zekerheid FIP kan uitsluiten in een ante-mortem situatie. De beschikbare diagnostische technieken die wel FIP kunnen bevestigen kosten veel tijd waardoor de diagnose van FIP lang op zich kan laten wachten. Het kan voorkomen dat FIP niet met 100% zekerheid wordt bevestigd en er wordt dan gesproken van een waarschijnlijkheidsdiagnose.

Een typisch signalement in combinatie met een typisch abdominale effusie vergemakkelijkt de waarschijnlijkheidsdiagnose. De diagnose is makkelijker te stellen in geval van effusieve FIP omdat de diagnostische technieken toegepast kunnen worden op het aanwezige exsudaat. In geval van niet-effusieve FIP worden de diagnostische methoden toegepast op het bloed, wat een stuk moeilijker is om FIP te bevestigen (Felten et al., 2019; Hartman et al., 2003; Stranieri et al., 2009; Thayer et al., 2022). Ook de brede range aan symptomen kunnen de diagnose bemoeilijken. FIP kan vage klachten geven zoals lethargie, anorexie, met of zonder koorts, zenuwsymptomen, oculaire afwijkingen en andere symptomen gerelateerd aan het betrokken orgaan (Addie et al., 2012). Daarnaast vertoont niet elke kat de typische afwijkingen op het bloedonderzoek wat nog een reden is voor de moeilijke diagnose (Hartmann et al., 2003). Bij katten die naast FIP ook lijden aan een andere ziekte kan de diagnose gemakkelijk gemist worden. Om de waarschijnlijkheidsdiagnose ante-mortem te stellen moeten verschillende puzzelstukjes bij elkaar worden gelegd waarbij rekening gehouden moet worden met het signalement en anamnese, symptomen en klinisch onderzoek, medische beeldvorming, bloedonderzoek en de specifiekere testen (Thyler et al., 2022). Hoe meer van deze puzzelstukken bij elkaar kunnen worden gelegd hoe waarschijnlijker de diagnose van FIP wordt.

1.6.1. Signalement en anamnese

In de voorgaande hoofdstukken is duidelijk geworden dat er een aantal gegevens over de epidemiologie en de risicofactoren kunnen worden gebruikt om in te schatten of de waarschijnlijkheid van FIP is toegenomen of juist niet.

Uit het signalement kunnen de leeftijd, geslacht en het ras een aanwijzing geven. De leeftijd is belangrijk om te weten omdat FIP vaker voorkomt bij jonge katten onder de 2 jaar of juist bij oudere katten boven de 8 jaar. Dit wil echter niet zeggen dat een kat met een leeftijd tussen de 2 en 8 jaar uitgesloten is voor de diagnose van FIP. Daarnaast komt FIP eerder voor bij intacte katers dan gecastreerde katers en kattinnen en ook zijn sommige rassen of bepaalde lijnen vaker aangetast (Kennedy, 2020; Pesteanu-Somogyi et al., 2006; Rohrbach et al., 2001).

Uit de anamnese kunnen de afkomst, bepaalde stresssituaties of bijkomende (infectie)ziekten worden achterhaald. Een huishouden met meerdere katten, een chirurgische ingreep of verhuizing kunnen het risico op FIP vergroten, net als een bijkomende infectie met een retrovirus. Ook is het tijdens de anamnese belangrijk om te achterhalen of er een persisterende koorts aanwezig is die niet reageert op therapie (Pedersen, 2009; Pesteanu-Somogyi et al., 2006; Rohrbach et al., 2001).

1.6.2. Symptomen en klinisch onderzoek

De vage symptomen zoals anorexie, lethargie, vermageren, (intermitterende) koorts en afwijkingen op klinisch onderzoek zoals abdominale distensie met ascites, dyspnee met pleurale effusie en gedempte harttonen, pericardiale effusie, scrotale effusie, lymfadenopathie, icterus, hyperbilirubinemie, zichtbare massa's op de nieren of mesenteriale lymfeknopen, uveïtis, neurologische symptomen en in zeldzame gevallen dermatologische afwijkingen kunnen al dan niet gezien worden (Addie et al., 2021; Kipar et al., 2014; Pedersen, 2009). Andere klinische symptomen zijn afhankelijk van de organen die zijn aangetast vb. nieren, lever, darmen, hersenen en ogen (Kipar et al., 2014). Het is dus van groot belang dat de dierenarts altijd een volledig klinisch onderzoek uitvoert, inclusief abdominale palpatie en oftalmologisch onderzoek om geen afwijkingen te missen.

1.6.3. Medische beeldvorming

De aanwezigheid van ascites of pleurale effusie kan bevestigd worden met behulp van radiografie en echografie. Ook kunnen een afwijkende grootte of deformatie van de nieren, lever, milt, darmen en/of mesenteriale lymfeknopen worden aangetoond (Addie et al., 2009; Lewis en O'Brien, 2010). Het effusievocht kan door middel van een echogelegeide centese worden afgenomen voor verder onderzoek (Pedersen et al., 2014). In geval van

dyspnee of erge distensie kan er gekozen worden om wat extra vocht af te laten om het dier meer comfort te bieden, echter is het niet aan te raden om alle vocht te verwijderen omdat dit kan resulteren in een levensbedreigende daling van de bloeddruk.

1.6.4. Bloedonderzoek

Op basis van het algemeen bloedonderzoek kunnen de volgende typische afwijkingen worden vastgesteld: een (niet-)regeneratieve anemie, lymfopenie, leukocytose met linksverschuiving, trombocytopenie, hyperbilirubinemie, hyperglobulinemie, en een albumine/globuline ratio (A/G ratio) <0.4. Op een uitgebreid bloedonderzoek kunnen verhoogde acute fase proteïnes zoals haptoglobine (Hp), serum amyloïd A (SAA) en alpha-1-acid glycoproteïne (AGP) worden gezien (Giordano et al., 2004). Daarnaast kan een eiwitelektroforese een toename tonen van de gammaglobulines laten zien. Ook kan er getest worden op de aanwezigheid van een retrovirusinfectie (Cecilian et al., 2004; Pedersen, 2009; Riemer et al., 2016; Taylor et al., 2010).

De afwijkingen op de hematologie zijn te wijten aan de chronische infectie. De regeneratieve anemie kan veroorzaakt worden door hemolyse of door bloedingen. De hemolyse kan ontstaan ten gevolge van een immuun hemolytische anemie (IMHA) of door de aanwezigheid van Heinz bodies in erythrocyten. IMHA wordt veroorzaakt door het ontstaan van auto-antistoffen tegen de erythrocyten waardoor de erythrocyten worden afgebroken. Dit kan aangetoond worden door middel van een positieve Coombs-test. Door chronische intestinale klachten die kunnen voorkomen bij FIP is er een verlaagde absorptie van Vit B12 waardoor Heinz bodies kunnen ontstaan in de erythrocyten waardoor de hemolyse kan optreden (Hartmann et al., 2005). De aanwezigheid van microbloedingen ten gevolge van de verhoogde permeabiliteit van de bloedvaten is ook een reden voor het ontstaan van een regeneratieve anemie (Pedersen et al., 2014). Een niet-regeneratieve anemie is het gevolg van de chronische inflammatie (anemia of inflammatory disease of AID) of de reactieve veranderingen in het beenmerg die bij FIP kunnen worden veroorzaakt. De lymfopenie en de leukocytose worden toegeschreven aan een stressleukogram die vaker gezien wordt bij katten met een systemische ziekte. FIP kan ook gepaard gaan met een gedissemineerde intravasale stolling (DIC) waarbij dan een verhoogde fibrinogeen degradatie producten (FDP's) en D-dimeren aangetoond worden. De DIC is verantwoordelijk voor de trombocytopenie die gezien kan worden bij katten met FIP (Hartmann et al., 2005).

De biochemische afwijkingen in het bloed laten een hyperproteïnemie zien ten gevolge van een hyperglobulinemie. Het albuminegehalte zal binnen de normaalwaardes blijven waardoor de A/G ratio zal dalen. De A/G ratio is van hoge diagnostische waarde waarbij een A/G ratio >0.8 de diagnose van FIP onwaarschijnlijk maakt (Addie et al., 2009; Hartmann et al., 2003; Pedersen et al. 2014). Een lage A/G ratio is enkel van diagnostische waarde bij katten die duidelijke symptomen vertonen van FIP. Een kat met FIP heeft een typisch A/G ratio <0.4. Het is dus niet diagnostisch voor FIP bij katten met vage symptomen en kan daarom niet alleenstaand gebruikt worden voor het stellen van de diagnose (Jeffrey et al, 2012). Om te weten welk type van de globulines verhoogd zijn wordt er een eiwitelektroforese worden aangevraagd. Katten met FIP vertonen een afwijkend elektroforese profiel met een verhoging van de gammaglobulines (Taylor et al 2010). De verhoging van de gammaglobulines zijn dus de oorzaak van de hyperglobulinemie en de hyperproteïnemie op het biochemisch bloedonderzoek.

De hyperbilirubinemie is vaak niet geassocieerd met verhoogde leverenzymen en is dus eerder van prehepatische oorsprong (Addie et al., 2009). De hyperbilirubinemie is dus het gevolg van de verhoogde afbraak van erythrocyten door macrofagen. De hyperbilirubinemie kan een bilirubinurie veroorzaken die aangetoond kan worden met een algemeen urineonderzoek. De urine is macroscopisch te geel en met een urine dipstick kan de aanwezige bilirubine worden aangetoond. Als er wel verhoogde lever- of nierwaardes gezien worden op het bloedonderzoek zoals AST, ureum en creatinine dan kan dit te wijten zijn aan orgaanschade. Deze schade kan ontstaan door de aanwezige pyogranulomateuse ontstekingen op de serosa aan het oppervlak van de organen of door de mechanische druk op de organen in geval van de aanwezigheid van exsudaat (Pedersen et al., 2014).

1.6.5. Algemene analyse effusievocht

In geval van aanwezig exsudaat kan met behulp van centese vocht verkregen worden voor verder onderzoek. Het macroscopisch uitzicht van een typisch geelkleurig dradentrekend vocht is zeer indicatief voor effusieve FIP. De hoge viscositeit is het resultaat van de grote hoeveelheid fibrine in het effusievocht. De gelige tot groenige kleur van de effusie is te wijten aan respectievelijk de aanwezigheid van bilirubine of biliverdine die afkomstig zijn van de afbraak van erythrocyten. Daarnaast kan het vocht helder tot troebel zijn en erg visceus al dan niet met de aanwezigheid van fibrinevlokken (Pedersen, 2009; Pedersen et al., 2014).

Na de macroscopische beoordeling van het effusievocht wordt er verder onderzoek gedaan op het verkregen vocht. Het effusievocht bij FIP is typisch celarm (<5000 cellen/ml), zeer eiwitrijk >35g/L en heeft een A/G Ratio <0.4. Daarom wordt dit vocht getypeerd als exsudaat of gemodificeerd transsudaat. (Pedersen et al., 2014). Om een onderscheid te kunnen maken tussen exsudaat en transsudaat kan er gebruik worden gemaakt van de Rivalta's test. Bij deze test wordt er een druppel effusievocht in een tube met licht zure oplossing gedaan. In geval van FIP bevat het effusievocht veel fibrine en zal precipiteren in de oplossing. Een positieve test kan volgens Hartman et al. (2003) en Fischer et al. (2012, 2013) gebruikt worden om FIP aan te tonen, zeker als katten met lymfoom, bacteriële infecties en ouder dan 2 jaar zijn uitgesloten.

De cytologie en bacteriële cultuur van het effusievocht zullen worden uitgevoerd om andere oorzaken van effusie uit te sluiten, zoals bijvoorbeeld een neoplasie of een bacteriële infectie. De cytologie van effusieve FIP bestaat uit een pyogranulomateuze inflammatie met macrofagen, niet-degeneratieve neutrofielen en enkele lymfocyten (Felten et al., 2019).

1.6.6. Specifieke diagnostische tests

Om de waarschijnlijkheidsdiagnose van FIP verder te ondersteunen kan gebruik worden gemaakt van specifiekere tests om anti-FCoV antistoffen, FCoV-antigenen, FCoV-RNA of antistof-antigeen-complexen te kunnen aantonen in exsudaat, cerebrospinaal vocht (CSF), bloed, serum of weefsel. Tabel 1 geeft hiervan een overzicht en geeft ook weer welke diagnostische techniek kan worden toegepast. Omdat er op diagnostisch vlak geen onderscheid gemaakt kan worden tussen FeCV en FIPV wordt hier enkel gesproken over de overkoepelende FCoVs.

Anti-FCoV Antistoffen

Anti-FCoV antistoffen kunnen worden aangetoond met een Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), immunofluorescentie (IF) of een Rapid immunomigratie test (RIM) op serum of effusievocht (Addie et al., 2015).

- Serum - Het aantonen van anti-FCoV antistoffen in serum is nog geen reden om de diagnose FIP te stellen omdat uit onderzoek blijkt dat anti-FCoV antistoffen ook kunnen worden aangetoond bij gezonde katten (Hartmann et al., 2003). Het aantonen van de antistoffen in serum of plasma wijzen enkel op een eerdere infectie met een FCoV. Zoals eerder is vermeld kan er dus geen onderscheid gemaakt worden tussen antistoffen tegen FeCV of FIPV. Bij het aantonen van anti-FCoV antistoffen hoeft dus nog geen sprake te zijn van de aanwezigheid van het FIPV of van de ontwikkeling van FIP. Zelfs een recente FeCV (her)infectie geeft al aanleiding tot een verhoging van de antistoftiter (Meli et al. 2004). Het bepalen van de antistoftiter kan echter wel bijdragen aan een waarschijnlijkheidsdiagnose onder bepaalde voorwaarden. In het onderzoek van Hartmann et al. (2003) is gebleken dat een zeer hoge antistoftiter van >1:1600 indicatief is voor FIP. Een negatieve antistoftiter kan FIP echter niet uitsluiten. Door de eventuele vorming van antistof-antigeen complexen zouden de antistoffen niet meer te detecteren zijn waardoor een vals negatief resultaat verkregen kan worden (Hartmann et al., 2003; Meli et al., 2012; Pedersen, 1995).

- Exsudaat - De anti-FCoV antistoffen in exsudaat kunnen worden aangetoond door middel van immunofluorescentie. Uit een onderzoek van Kennedy et al. (1998) blijkt dat een matige hoeveelheid antistoftiters in exsudaat kan worden aangetoond in zowel katten met als zonder FIP. Echter in de studie van Hartmann et al. (2003) is aangetoond dat de kans op FIP vergroot bij het aantonen van FCoV-antistoffen in exsudaat. Het niet aantonen van FCoV-antistoffen kon FIP uitsluiten volgens deze studie.

Een ELISA ontwikkelt door Takano et al. (2013a) kan ook gebruikt worden om antistoffen te detecteren in zowel effusievocht, plasma, serum en bloed. Ondanks dat antistoffen kunnen lekken vanuit het bloed naar het CSF of ascitesvocht is dit volgens hen geen goede parameter om tot een diagnose te komen. De reden die zij geven is

de aanwezigheid van antistof-antigeen complexen waardoor een vals negatief resultaat verkregen kan worden. Volgens Felten et al. (2019) is het detecteren van de antistoffen in effusie, serum of ander vocht ook geen goede diagnostische methode voor FIP omdat de studie van Meli et al. (2013) vals negatieve resultaten liet zien in katten bij een hoge virale lading.

Het aantonen van antistoffen in exsudaat verklaart enkel dat het dier ooit in contact is geweest met FCoV-antigenen. Het wil nog niet zeggen dat de kat FIP heeft ontwikkeld en dit kan dus FIP noch uitsluiten noch bevestigen (Felten et al., 2019; Hartman et al., 2003; 2005; Meli et al., 2013; Pedersen et al., 2014).

FCoV-antigenen

FCoV-antigenen kunnen worden aangetoond in macrofagen van effusievocht of weefsel. Door gebruik te maken van gelabelde FCoV-antistoffen kunnen FCoV-antigenen gevisualiseerd worden met behulp van immunofluorescentie of immunohistochemie (IHC) waarbij het label respectievelijk fluoresceert of van kleur verandert. Het aantonen van FCoV-antigenen, die zich in macrofagen bevinden, is met behulp van een immunokleuring heel specifiek en betrouwbaar en wordt daarom gezien als de gouden standaard voor de diagnose van FIP (Felten and Hartmann, 2019).

- *Exsudaat en CSF* - In geval van de aanwezigheid van exsudaat kan met behulp van centhese het vocht worden geaspireerd. Een immunokleuring op de afgedraaide cellen kan zoals gezegd ook worden uitgevoerd op effusievocht en op CSF. Volgens Hartmann et al. (2003) is het mogelijk om een definitieve diagnose te stellen bij een positief resultaat. Echter is er wel kans op vals positieven in geval van hartfalen, cholangiocarcinoma of andere neoplastische processen volgens de studies van Felten et al (2017) en Litster et al. (2013). Er is wel een grote kans op vals negatieven en een negatief resultaat is dus geen reden om FIP uit te sluiten. Een verklaring hiervoor kan een te lage aantal macrofagen zijn op het uitstrijkje of door de binding van antistoffen uit het effusievocht aan de FCoV-antigenen. Deze laatste zorgen ervoor dat de FCoV-antigenen niet meer gedetecteerd kunnen worden door de anti-FCoVs (Hartmann et al., 2003). De detectie van FCoV-antigenen kan het beste gebeuren in combinatie met het aantonen van de macrofagen (Howell et al., 2020). Ondanks dat de immunokleuring op CSF kan worden uitgevoerd blijkt het aantonen van FCoV-antigenen in CSF van katten met neurologische FIP, niet heel specifiek en niet heel sensitief is om FIP te bevestigen (Gruendel et al., 2017).

- *Weefsel* - Op postmortaal weefsel, dat verzameld wordt via necropsie op plaatsen van lesies, kan FIP op basis van immunofluorescentie of immunohistochemie met 100% zekerheid worden vastgesteld (Hartman et al., 2003; Tammer et al., 1995). De detectie van een hoge virale lading op deze bipten is te wijten aan de hoge replicatiesnelheid van het virus in macrofagen. Dit maakt de diagnose van FIP zeer waarschijnlijk (Kipar et al., 2014; Stranieri et al. 2020).

FCoV-RNA

Het FCoV-RNA kan worden aangetoond met een Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) in serum, bloed, exsudaat, weefsel en feces. Echter is het aantonen van FCoV-RNA niet heel specifiek voor de diagnose van FIP, de reden hiervoor is steeds dezelfde: er kan geen onderscheid gemaakt worden tussen FeCV en FIPV en beide kunnen zich systemisch verspreiden. Daarnaast hoeft een FIPV-infectie niet te leiden tot de ontwikkeling van FIP. Een RT-PCR is daarbij ook heel sensitief waardoor een kleine hoeveelheid RNA al kan worden opgepikt en er is zo dus geen onderscheid te maken tussen een hoge of een lage FCoV-RNA concentratie (Gunn-Moore et al., 1998; Herrewegh et al., 1995; Kipar et al., 2010). Het gebruik van een kwantitatieve RT-PCR (RT-qPCR) geeft wel een kwantitatieve bepaling van het FCoV-RNA, in tegenstelling tot de eerdergenoemde semi-kwantitatieve RT-PCR. Dit heeft als voordeel dat een positieve RT-qPCR met hoge virale lading de diagnose van FIP eerder waarschijnlijk maakt (Kipar et al., 2006). Uit de studie van Li en Scott (1994) blijkt dat vers weefsel of effusievocht het beste kunnen worden gebruikt om een RT-qPCR uit te voeren, maar gefixeerd weefsel kan ook volstaan. Het gebruik van PCR-technieken voor de bevestiging van de diagnose kan enkel geïnterpreteerd worden in combinatie met de klinische symptomen (Hartman et al., 2003; 2005; Pedersen et al., 2014).

- *Serum* - Uit de studie van Hartmann et al. (2003) blijkt dat er een grote kans bestaat op vals negatieven bij het gebruik van de RT-PCR op serum om FCoV-RNA aan te tonen. De reden voor de vals negatieven zou, volgens die studie, kunnen worden verklaard door het gebruik van serum in plaats van plasma, de aanwezigheid van ubiquitair RNase en/of de sequentievariatie van het FCoV-RNA. Dit laatste zou normaal gezien de reden niet

mogen zijn omdat de sequentie die wordt gebruikt voor het maken van de primers een conservatieve sequentie is die zelfs voorkomt in coronavirussen van andere diersoorten.

De resultaten van de RT-PCR op serum moeten in combinatie met de klinische symptomen worden geïnterpreteerd. Omdat in endemische huishoudens tot zelfs 80% van de katten viremisch zijn, onafhankelijk van de gezondheidsstatus en een viremie hoeft geen predispositie te zijn voor de ontwikkeling van FIP (Gunn-Moore et al., 1998).

- *Bloed* - Een RT-PCR kan FCoV-RNA aantonen in het bloed, maar ook hier kan er geen onderscheid gemaakt worden tussen FeCV en FIPV en kunnen zowel FeCV als FIPV een viremie veroorzaken. Een positief resultaat van de RT-PCR op bloed toont enkel een viremie aan en geen FIPV-infectie, noch kan het de ontwikkeling van FIP bevestigen (Kipar et al., 2010).
- *Exsudaat* - FCoV-RNA kan ook worden aangetoond in exsudaat met behulp van een RT-PCR. Een positieve test kan volgens Hartmann et al. (2003) de diagnose van FIP bevestigen als deze positief is. Ondanks dat het aantal onderzochte samples niet hoog genoeg bleek, zou dit wel een goede diagnostische mogelijkheid zijn volgens deze studie.
- *Weefsel* – Een RT-(q)PCR kan gebruikt worden om FCoV-RNA aan te tonen in weefsel. Er kan gebruik gemaakt worden van zowel vers weefsel als van ingevroren weefsel, waarbij hoge virale lading de diagnose van FIP zeer waarschijnlijk maakt (Kipar et al., 2006; Li X et al., 1994).
- *Feces* – FCoV-RNA kan ook worden aangetoond in de feces. FIP-katten kunnen het FeCV in lage concentraties of intermitterend uitscheiden wat de kans op een vals negatief resultaat vergroot. Ook gezonde katten kunnen het FeCV uitscheiden zoals in hoofdstuk 1.3 is vermeld. Op basis van de fecale uitscheiding van het FeCV kan er dus geen diagnose van FIP worden gesteld (Addie et al., 2012; Pedersen, 2009; Pedersen et al., 2008, 2012, 2014). Wel kan deze methode worden gebruikt als preventieve maatregel om uitscheiders te detecteren waarna deze geïsoleerd kunnen worden van de niet-uitscheiders.

Antigeen-antistof-complex

Met een ELISA kunnen antigeen-antistof complexen in serum worden aangetoond. Uit de studie van Hartmann et al. (2003) blijkt dat de deze resultaten vergelijkbaar zijn aan die van de RT-PCR op serum. Beide tests voorspellen dus minder goed of een kat positief is voor FIP.

Om na te gaan of de lage antistoftiters te wijten zijn aan de vorming van antigeen-antistof complexen is er een onderzoek uitgevoerd door Meli et al. (2013). Hierbij is met behulp van RT-PCR het FCoV-RNA aangetoond op serum/plasma en exsudaat van FIP-positieve katten met lage antistoftiters. Een hoge concentratie aan FCoV-antigeen correleerde met een lager signaal voor FCoV-antistoffen, maar enkele stalen toonde een negatief resultaat op de RT-PCR waardoor niet alle vals negatieve resultaten te wijten zijn aan de vorming antigeen-antistof-complexen (Meli et al. 2013).

Histopathologie

De histopathologie van lesies is zeer specifiek voor het aantonen van de weefselveranderingen die FIP veroorzaakt. Met histopathologie kan FIP worden bevestigd als deze gecombineerd wordt met IHC of IF. Echter is het verkrijgen van weefsel ante-mortem heel invasief of moet post-mortem gebeuren. Op histopathologie is een typische vasculitis te zien met perivasculaire necrose en pyogranuloma's op het oppervlak van de serosa op het verloop van de bloedvaten (Kipar et al., 2005; Felten et al., 2019; Stranieri et al., 2020). Als dan ook nog het FCoV-antigeen wordt aangetoond met een immunokleuring op de plaats van de lesies dan kan de diagnose definitief worden gesteld (Stranieri et al., 2020).

Het nemen van biopsies ante-mortem is zeer invasief omdat de katten die FIP hebben ontwikkeld al in een zeer slechte algemene toestand zijn waardoor de complicaties tijdens een anesthesie sterk zijn toegenomen. In sommige gevallen kan er gekozen worden om een fijne naald aspiraats (FNA) of Tru-cut biopsie (TCB) uit te voeren van de nier, lever of lymfeknoop om de diagnose te stellen. Het wordt dan wel aangeraden om meerdere biopsies te nemen om de sensitiviteit van de diagnostiek te verhogen (Felten et al., 2019).

Serum AGP als marker voor FIP

α_1 -acid glycoproteïne (AGP) is een acute fase eiwit die in het bloed kan worden aangetoond en die met name in Europa veel wordt gebruikt als indicator voor FIP. AGP zou enkel te vinden zijn in katten met FIP en niet in katten zonder FIP (Cecilian et al., 2004). Echter is gebleken dat AGP wel gekoppeld moet worden aan andere risicofactoren om de waarschijnlijkheidsdiagnose te stellen (Paltrinieri et al., 2007).

IDEXX FIP Virus RealPCR™

In 2012 is er door Chang et al. een diagnostische tool ontwikkeld (IDEXX FIP Virus RealPCR™) op basis van twee mutaties in de S-proteïne. Deze mutaties zouden te vinden zijn in 96% van alle met FIP aangetaste weefsels maar niet in de feces van gezonde katten. Echter de studie van Porter et al. (2014) heeft aangetoond dat de mutaties te vinden zijn in weefsels van zowel katten die lijden aan FIP als bij gezonde katten. Deze methode kan dus beter niet gebruikt worden voor de diagnose van FIP.

Samenvatting diagnostische technieken

Zolang er nog geen mutaties gekend zijn die een onderscheid kunnen maken tussen het FeCV en het FIPV blijft de diagnose van FIP een uitdaging. Vooral nog is er dus geen eenvoudige diagnostische techniek die met 100% zekerheid FIP kan uitsluiten in een ante-mortem situatie. Een negatief resultaat sluit in geen enkel geval FIP uit. Een combinatie van signalement, anamnese, klinische symptomen en de afwijkingen op het bloedonderzoek zullen in veel gevallen wijzen in de richting van FIP.

In het geval van effusieve FIP zal het onderzoek op het exsudaat naar een (waarschijnlijkheids)diagnose leiden. Het aantonen van een hoge FCoV-antistof titer of FCoV-RNA op het exsudaat versterkt de waarschijnlijkheidsdiagnose. Het beste zou zijn om FIP te bevestigen door het aantonen van FCoV-antigenen in macrofagen met IF of IHC op het exsudaat (Addie et al., 2009; Kipar et al., 2014).

Bij niet-effusieve FIP, zoals een oculaire of neurogene FIP, kunnen tests gedaan worden op bloed of serum, CSF of weefselbiopten. Ook hier kan een hoge FCoV-antistof titer of het aantonen van FCoV-RNA op weefsel naar de waarschijnlijkheidsdiagnose leiden. Ter bevestiging van FIP kunnen FCoV-antigenen in macrofagen aangetoond worden op het aangetaste weefsel. Het aantonen van antigeen-antistof-complexen wordt echter niet aangeraden (Addie et al., 2009; Kipar et al., 2006; Li X et al., 1994; Meli et al. 2013).

Tabel 1 geeft een overzicht van de te gebruiken diagnostische technieken. Ook staat erbij vermeld of de uitkomst van de test helpt bij de waarschijnlijkheidsdiagnose of dat het juist FIP bevestigt bij een positief resultaat. In Figuur 3 is een flowchart weergegeven om de opwerking van een FIP-verdachte kat te vergemakkelijken (Addie et al., 2021).

1.6.7. Differentiaal diagnoses

FIP kan veel verschillende en vage symptomen geven en de diagnose blijft in veel gevallen uitdagend en tijdrovend, daarnaast is de diagnose van FIP een zwaar verdict. Om deze redenen is het van groot belang om andere ziektes uit te sluiten. Het opstellen van een differentiaaldiagnose is van groot belang om het overzicht te bewaren zoals hieronder is weergegeven (Pedersen, 2009; Pedersen et al., 2014; Thylor et al., 2022). Deze opsomming is echter niet gelimiteerd.

Effusieve FIP

Abdominale effusie

- Hypoproteïnemie:
Leverinsufficiëntie, PLE, PLN
- Congestief hartfalen
- Peritonitis
- Trauma: hemo-, uroabdomen
- Cholangitis
- Pancreatitis
- Neoplasie

Thoracale effusie

- Congestief hartfalen
- Pleuritis
- Chylothorax
- Hemothorax
- Neoplasie
- Intoxicatie
- Hernia diafragmatica

Niet-effusieve FIP

Systemische infectie

- Toxoplasmose
- Mycosen
- FELV
- FIV
- Mycobacteriosis
- Actinomycosis

Neoplasie

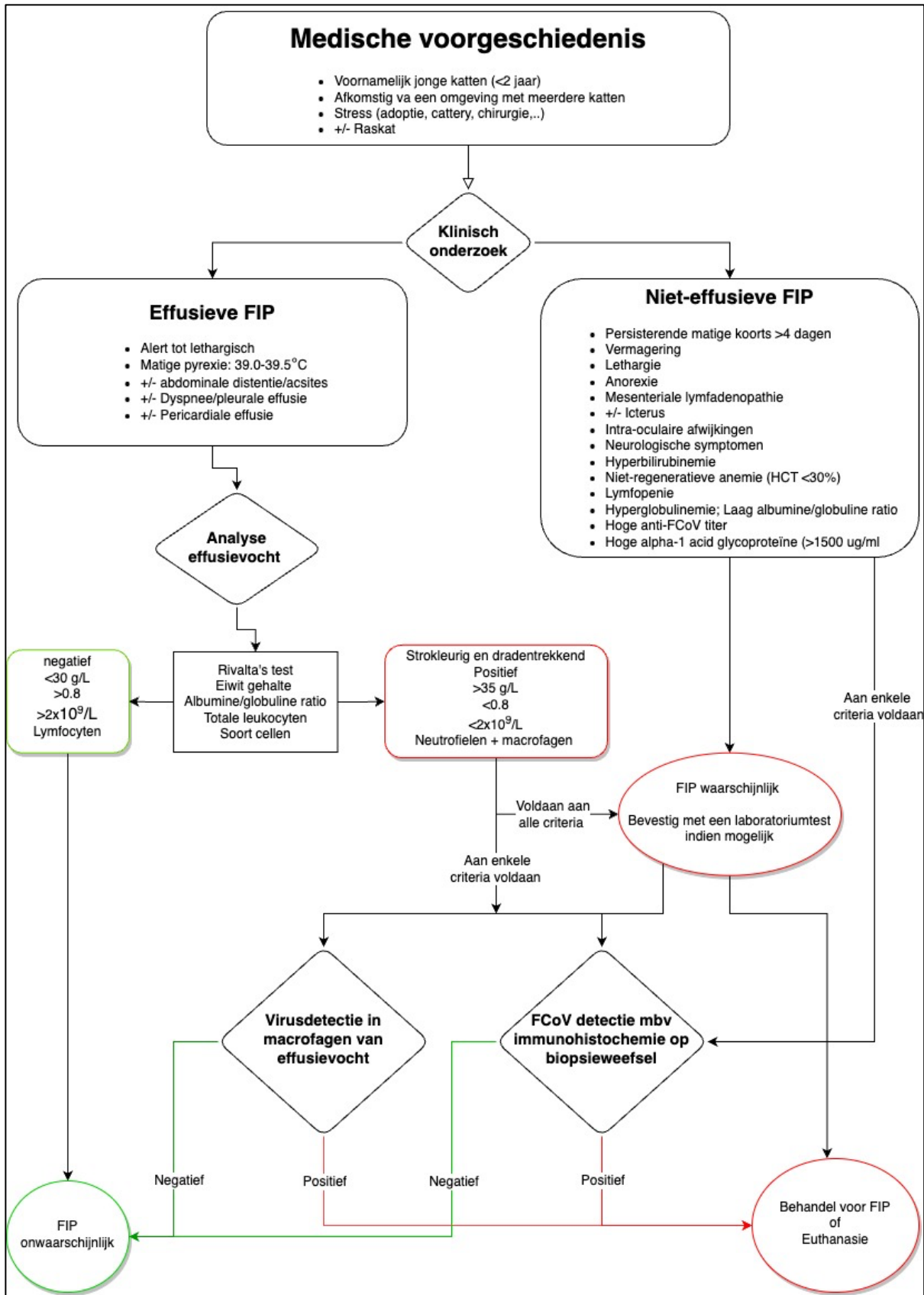
Andere ziektes

- Degeneratieve ziekte van het centraal zenuwstelsel
- Meningitis
- Trauma
- Stapelingsziekte
- Idiopathische Uveitis
- Hepatische/renale amyloïdose

Tabel 1: Waarde van verschillende technieken die gebruikt kunnen worden voor de FIP diagnose.

	Techniek	Exsudaat	Serum	Weefsel	Feces
FCoV-antistoffen	ELISA IF IHC	-	<i>Waarschijnlijkheidsdiagnose:</i> Ante Mortem Zeer hoge antistof titers	-	-
FCoV-antigenen	IF IHC	<u>Gouden standaard</u> Ante mortem Diagnostisch als positief	-	<u>Gouden standaard*</u> Post mortem Ante mortem Diagnostisch als positief	-
FCoV-RNA	RT-(q)PCR	<i>Waarschijnlijkheidsdiagnose</i>	-	<i>Waarschijnlijkheidsdiagnose</i>	Niet diagnostisch Detectie van uitscheiders voor Sanering, hergroepering, of screening
Histopathologie	Microscopie en IF of IHC	-	-	<u>Gouden standaard*</u> Post mortem Ante mortem Diagnostisch als positief	-

*Het aantonen van FCoV-antigenen in weefsel wordt uitgevoerd in combinatie met de histopathologie van het weefsel.



Figuur 3: Flowchart om te komen tot een FIP-dignose (Addie et al., 2021).

1.7. Therapie

Tot een aantal jaren geleden was er nog geen zicht op een curatieve therapie van FIP. De behandeling bestond uit symptoombestrijding waarbij ascitesvocht werd afgelaten en het eventuele aanwezige pleurale en of pericardiale vocht. Om voor een beter comfort te zorgen voor deze katten zich beter te laten voelen en de ontstekingsreactie te temperen konden glucocorticosteroïden voor een korte periode uitkomst bieden. Dit was in geen geval effectief en deze ziekte liep dan ook voor iedere kat fataal af.

Op dit moment wordt er echter veel onderzoek gedaan naar een mogelijke behandeling voor FIP door verschillende onderzoeksgroepen. Er wordt ingezet op de inhibitie van de intrede en transcriptie van het FCoV in de gastheercel. Ook worden er pogingen ondernomen om de eiwitsynthese en protease te inhiberen. Daarnaast is ook het effect van de inhibitie van cellulaire proteïnen en het gebruik van immunostimulators onderzocht. Uit een review van Delaplace et al. (2021) blijkt dat er inmiddels hoopvolle resultaten zijn verkregen van verschillende behandelmethoden. Er blijkt dat op dit moment een nucleosideanaloog GS-441524 effectief is voor de behandeling van FIP. Het onderzoek naar de werkzaamheid van GS-441524 staat het verst van alle mogelijke effectieve therapieën voor deze ziekte.

GS-441524 is een nucleosideanaloog en fungeert als een RNA-afhankelijke RNA-polymerase inhibitor (Gordon et al., 2020). GS-441524 is een precursor dat actief wordt door fosforylatie nadat het geïnternaliseerd is in de gastheercel. De actieve molecule is een nucleotidetrifosfaat (NTP) en gaat in competitie met adenosinetrifosfaat (ATP). Dit resulteert in een substitutie van ATP door NTP waardoor de RNA-synthese vroegtijdig wordt gestopt en de replicatie van het virus niet meer kan doorgaan. Daarnaast heeft GS-441524 de eigenschap om bestand te zijn tegen proofreading van coronavirussen (Covs) waardoor het product antiviraal actief blijft (Murphy et al., 2018; Morse et al., 2020). Op deze manier kan GS-441524 de replicatie van het FIPV stopzetten.

Uit onderzoek van Murphy et al. (2018) blijkt dat GS-441524 daadwerkelijk effectief de replicatie van het FIPV inhibeert in een celcultuur van macrofagen. Er is al inhibitie van het virus bij een lage concentratie van $3.0\mu\text{M}$ en bij een hogere concentratie van $10\mu\text{M}$ en $50\mu\text{M}$ is de inhibitie compleet. Daarnaast blijkt het product ook niet cytotoxisch bij een concentratie van $100\mu\text{M}$. Uit een ander onderzoek blijkt dat GS-441524 de replicatie van FIPV inhibeert in ascitescellen die zijn verkregen van natuurlijk geïnfecteerde katten. Om de werkzaamheid en veiligheid te bewijzen heeft Pedersen et al. (2019) 31 natuurlijk geïnfecteerde katten behandeld met GS-441524. Hieruit is gebleken dat een dosis van 4.0 mg/kg , één keer per dag subcutaan toegediend gedurende 12 weken, effectief is om de replicatie van het FIPV te stoppen en deze katten te genezen. Ook blijkt uit de studie van Dickinson et al. (2020) dat het virale RNA zeer snel daalt in de eerste week van de behandeling en dat de behandeling ook effectief is bij katten met neurologische FIP. Een nadeel van deze behandeling is de subcutane toedieningsvorm. In deze studies werd de parenterale toedieningsvorm gebruikt die erg pijnlijk zijn vanwege de basische eigenschappen van de oplossing. Hierdoor kan er een inflammatoire reactie ontstaan ter hoogte van de injectieplaats die later zouden kunnen ontwikkelen tot een feline injection site sarcoma (Pedersen, et al., 2019). Desalniettemin blijkt GS-441524 dus effectief FIP te kunnen genezen. Dit product is echter nog niet geregistreerd voor veterinair gebruik (Jones et al., 2021).

Het GS-441524 is momenteel gepatenteerd door het Amerikaanse farmaceutisch bedrijf Gilead Science en mag enkel gebruikt worden voor experimentele doeleinden en mag niet gebruikt worden voor klinische trials. Dit bedrijf had eerder al het antivirale nucleosideanaloog GS-5734 ontwikkeld, ook bekend onder de naam Remdesivir, ter behandeling van een Ebolavirus-infectie. Remdesivir bevat een extra fosfaatgroep ten opzichte van GS-441524 en is op deze manier een antivirale pro-drug. Remdesivir en zijn plasmametaboliet GS-441524 inhiberen beide de virusreplicatie van coronavirussen (Beigel et al., 2020; Lamb, 2020; Murphy et al., 2018; Pedersen et al., 2019). Het zijn beiden nucleosideanalogen en blijken ook de replicatie van andere RNA-virussen te inhiberen zoals de Flaviviridae (Siegel et al., 2017; Warren et al., 2016). Tijdens de opmars van de humane COVID-19 pandemie is uit onderzoek gebleken dat Remdesivir zorgt voor een sneller herstel van gehospitaliseerde humane patiënten (Beigel et al., 2020; Lamb, 2020). Inmiddels is Remdesivir goedgekeurd door de Amerikaanse Food and Drug Administration (FDA) sinds 22 Oktober 2020 en is verkrijgbaar onder de naam Veklury® voor humaan gebruik. Sinds Januari 2023 is dit product geautoriseerd door het European Medicine Agency (EMA) en mag het gebruikt worden in Europa in de humane geneeskunde.

Echter, uit onderzoek van Yan en Muller (2020) blijkt dat GS-441524 effectiever is dan zijn pro-drug Remdesivir in de behandeling van COVID-19 patiënten. Ook is Remdesivir in tegenstelling tot GS-441524 niet op zo'n grote schaal gebruikt in de behandeling van FIP bij katten en blijkt GS-441524, zoals hierboven vermeld is, zeer effectief in de behandeling van katten met FIP en daarbij blijkt de toxiciteit ook nihil te zijn. Deze argumenten pleiten voor het gebruik van GS-441524 over Remdesivir bij katten met FIP. Het is dan ook minder voor de hand liggend om de effectiviteit van Remdesivir verder te gaan uittesten voor de behandeling van FIP bij katten. Gilead science weigert echter om GS-441524 te laten registreren voor veterinair gebruik. Naast de zeer hoge kosten en de jarenlange procedure voor de registratie wilden zij ook geen risico lopen op vertraging van het gebruik van Remdesivir bij humane COVID-19 patiënten.

Het GS-441524 mag dus enkel voor onderzoeksdoeleinden gebruikt worden omdat het nog niet is vergund door het FDA, EMA of het Belgische Geneesmiddelenagentschap (FAGG). Omdat er nog geen legale manier is om GS-441524 aan te kopen wordt dit via verschillende illegale kanalen aangeboden door onder andere Chinese bedrijven. De aanschaf en het gebruik van niet-geregistreerde producten zoals GS-441524 is illegaal. Er is dan ook geen controle van de zuiverheid van het product, noch op het gebruik ervan. De veiligheid van het product en de werkzaamheid van het product kunnen dus niet gegarandeerd worden. Ook vergroot dit de kans op resistente virusstammen wanneer de oplossing een te lage concentratie van het GS-441524 bevat (Jones et al., 2021). Eigenaren van katten met FIP kunnen dus niet terecht bij hun dierenarts voor de behandeling van hun kat en zijn hiervoor dus op zichzelf aangewezen. Er zijn wel een aantal Facebook-groepen waar katteneigenaren om advies kunnen vragen en ondersteund kunnen worden door andere getroffen katteneigenaren, maar deze mogelijkheid wordt niet door alle dierenartsen aangekaart. Op deze manier kunnen eigenaren via lotgenoten aan een starterspakket komen in afwachting van hun eigen bestelling. Echter worden deze groepen nauwelijkt in de gaten gehouden door het FAGG om de invoer en verspreiding van illegale producten te bestrijden. Hierdoor zijn de beheerders van deze groep op 10 Oktober 2022 j.l. gearresteerd wegens het verdelen van deze starterspakketten. Naast het feit dat katteneigenaren zich storten op de illegale invoer van geneesmiddelen, stuiten zij ook op zeer hoge kosten die de behandeling met zich meebrengt. De goedkoopste prijs voor een 'betrouwbaar' product ligt op €59,- voor een flacon van 5,2ml. Deze oplossing zou 16mg/ml van het GS-441524 bevatten. De posologie die deze fabrikant adviseert is 0,3ml/kg SID bij de effusieve vorm van FIP, wat neerkomt op 5,3mg/kg SID gedurende 84 dagen. Voor een kat van 3kg betekent dit 1ml per dag wat neerkomt op minimaal 84ml voor het hele traject. Elke week moet de dosis worden verhoogd omdat deze moet worden aangepast aan het gewicht. Voor 84ml zijn al 17 flacons nodig waardoor de minimale kosten rond de €1000,- liggen voor de behandeling. Voor oculaire of neurogene FIP wordt echter een dubbele dosis aangeraden. De behandeling van FIP is dus naast het emotionele lange traject ook nog eens een financiële strop voor de meeste eigenaren.

1.8. Preventie

Om de ontwikkeling van FIP te voorkomen kunnen er verschillende maatregelen genomen worden. Een optimale immuniteit is uiterst belangrijk in de bestrijding van het FIPV. De reductie van stress en de optimalisatie van de gezondheid is daarbij erg belangrijk. Echter kunnen stresssituaties niet altijd worden vermeden dus is het van het grootste belang om de infectiedruk zo laag mogelijk te houden om en zo de infectie met het FeCV zoveel mogelijk te reduceren of te voorkomen.

1.8.1. Reinigen en desinfecteren

Om de infectiedruk te doen dalen is het reinigen van de omgeving essentieel. Omdat FIP start met de infectie van het FeCV zal de feco-orale transmissie van dit virus moeten worden voorkomen. FCoV's zijn zeer labiele virussen en zullen op kamertemperatuur binnen 24-48 uur na uitscheiding geïnactiveerd worden. Echter in een droge omgeving zou het virus tot wel 7 weken kunnen overleven in de omgeving en zelfs bij een temperatuur van -70°C kan het virus tot maanden overleven. Een indirecte transmissie via kleding, speelgoed en andere materialen is dus mogelijk. Het FeCV bevat een virale enveloppe waardoor dit virus al geïnactiveerd wordt door het gebruik van standaard reinigingsproducten. Dit betekent dat een dagelijkse reiniging van vloeren, eet- en drinkpotten de eerste voorzorgsmaatregel is om transmissie te voorkomen (Addie et al., 2009; Hartmann et al., 2005).

1.8.2. Kattenbakvulling

Een recent in-vitro onderzoek toonde aan dat het gebruik van speciale kattenbakvulling FCoV's kan inactiveren. Een kattenbakvulling op basis van mineralen vermindert de virale lading in de kattenbak. De klontvormende kattenbakvullingen bleken hierin het meest efficiënt te zijn. Echter voorkomt deze kattenbakvulling geen complete transmissie binnen een huishouden. Een aantal factoren zijn van belang om een succesvolle reductie te bekomen. Een succesvolle reductie hangt dan ook af van de virale lading die wordt uitgescheiden en de hygiënische maatregelen zoals de dagelijkse reiniging. Niet alle katten maken gebruik van een kattenbak of zullen hun feces bedekken met het kattengrit. Sommige kattenbakvullingen worden ook makkelijker mee uit de kattenbak gesleept wat de reductie van de transmissie ook kan belemmeren. Het is ook aan te raden om naast deze klontvormende kattenbakvulling het individuele gebruik van de kattenbak te promoten (Addie et al., 2020).

1.8.3. Detecteren van uitscheiders

Zoals inmiddels al een aantal keren is vermeld kunnen katten weken tot zelfs jaren intermitterend of persistent het FeCV uitscheiden. Hierdoor is er dus een continue bron van infectie van de omgeving waardoor andere katten steeds kunnen worden ge(her)infecteerd (Addie & Jarret, 2001; Addie et al., 2003; Pedersen, 2009; Pedersen et al., 2008). Ondanks dat herinfecties niet zullen resulteren in een snellere ontwikkeling van FIP (Addie et al., 2003) is het toch van belang om (her)infecties te voorkomen, want elke FeCV infectie kan leiden tot een FIPV-mutatie waardoor FIP kan ontwikkelen.

Ter preventie van infectie moet dus het contact tussen uitscheiders en FeCV-negatieve dieren worden vermeden. FeCV-uitscheiders kunnen worden aangetoond door de detectie van het FCoV-RNA in de feces met een RT-PCR. Er is geen correlatie tussen een positieve RT-PCR en een FCoV-antistoftiter in het bloed. Hierdoor is het bepalen van de antistoftiter niet betrouwbaar genoeg om uitscheiders van niet-uitscheiders te onderscheiden (Addie et al., 2003; Foley et al., 1997; Harpold et al., 1999; Pedersen et al., 2008). Serologie kan echter wel interessant zijn voor de screening en quarantainemaatregelen bij de import van katten in een nieuwe groep. Seronegatieve dieren kunnen dan geplaatst worden bij andere seronegatieve dieren (Drechsler et al., 2011). Om negatieve dieren vrij te houden zou er een continue monitoring moeten zijn van uitscheiders. Door het steeds hergroeperen van dieren worden uitscheiders geïsoleerd van de niet-uitscheiders. Verschillende studies tonen aan dat het driemaal uitvoeren van een RT-PCR test met een interval van 1 tot 4 weken zou volstaan om de persistente uitscheiders te detecteren (Addie et al., 2009; Drechsler et al., 2011; Klein-Richers et al., 2020; Pedersen 2014).

Omdat kittens het meest vatbaar zijn voor de ontwikkeling van FIP is het van belang om een FeCV-infectie bij kittens te voorkomen. De cruciale periode voor een FeCV-infectie bij kittens is dan ook de speenleeftijd. Door het wegvalLEN van lactogene maternale immuniteit zullen zij niet meer beschermd zijn ter hoogte van de darm. Echter zal een zeer hoge infectiedruk ook een FeCV-infectie veroorzaken bij de nog niet gespeende kittens en is de maternale lactogene immuniteit niet voldoende om de infectie te voorkomen (Lutz et al., 2002). Om negatieve FCoV-kittens te behouden zouden drachtige kattinnen 2 tot 3 weken prepartum moeten worden geïsoleerd van andere katten. De kittens worden dan liefst gespeend op de leeftijd van 4 tot 6 weken waarna ze geïsoleerd worden gehouden. Het succes van de methode hangt dus af van de isolatieprocedure en de uitscheidingstatus van de katin (Addie et al., 2004). Maar het vroeg spenen en isoleren van kittens wordt echter niet aangeraden omdat het een negatieve impact heeft op de socialisatie (Ahola et al., 2017).

1.8.4. Mutian X®

Een andere methode om de infectiedruk te reduceren is door de uitscheiding van FeCV via de feces van geïnfecteerde katten te stoppen met een antiviraal product. Addie et al. (2020) heeft een studie opgezet waarbij FCoV-geïnfecteerde katten gedurende 4 opeenvolgende dagen per oraal werden behandeld met Mutian® X aan een dosis van 4 mg/kg. Deze behandeling bleek effectief de virusuitscheiding stop te zetten.

Mutian X® (Nantong Mutian Biotechnology Co. Ltd. China) is een antiviraal product dat bestaat uit nicotinamide mononucleotide, Crocin I, S-Adenosylmethionine, Silymarin en Mutian X®. Mutian X® is een nieuw synthetisch nucleoside analoog met een breed spectrum aan antivirale activiteit tegen RNA virussen. Zoals bij GS-441524 het geval is functioneert het nucleoside analoog als vervanging van de adenoside waardoor de replicatie van RNA virussen niet meer kan doorgaan. Mutian X® kan oraal worden toegediend in tegenstelling tot de eerder genoemde GS-441524 (Addie et al., 2020). Er zijn wel een aantal discussiepunten over de inhibitie van de

uitscheiding. Sommige katten zouden spontaan gestopt kunnen zijn met de virusuitscheiding op het moment van de behandeling. Sommige katten werden voor de aanvang van de behandeling al behandeld met andere producten zoals probiotica en een feliene interferon omega (FelFN ω). Een combinatie van beide zou de FCoV-uitscheiding ook kunnen stopzetten, want FelFN ω is effectief gebleken in het reduceren van de FCoV-uitscheiding (Gil et al., 2013). Daarnaast worden probiotica routinematig gebruikt om kinderen te behandelen in geval van virale intestinale infecties (Szajewska et al., 2019). Er waren enkele katten die itraconazole toegediend hebben gekregen en hiervan is gebleken dat die ook een activiteit heeft tegen het FCoV-1 in een in-vitro opstelling.

Er zouden verdere observaties gedaan moeten worden om na te gaan of de met Mutian X[®] behandelde katten, waarvan de virusuitscheiding is gestopt, ook daadwerkelijk geen FIP zullen ontwikkelen. Het zou ook interessant zijn om de FCoV-antistoftiters van deze katten te blijven monitoren om te zien of het virus uit het systeem kan worden geklaard. Ook het monitoren van de feces blijft bij deze katten interessant. Deze behandeling zou in combinatie met eerdergenoemde maatregelen gebruikt kunnen worden om huishoudens FCoV-vrij te krijgen (Addie et al., 2019; 2020).

Omdat de nucleoside analogen ook gebruikt worden als therapeutische behandeling voor FIP worden er vragen gesteld bij de preventieve behandeling. Er zou hierdoor een kans op antivirale resistentie tegen de nucleoside analogen kunnen ontstaan waardoor FIP hiermee niet meer behandeld zou kunnen worden. Dit is zeker het geval als er voor de preventieve behandeling een te lage dosis of een te korte periode gebruikt wordt waardoor virusselectie kan plaatsvinden en resistentie tegen het nucleoside analoog kan ontstaan. Echter zal de langdurige therapeutische behandeling van de katten met FIP ook een bron kunnen zijn voor de vorming van resistentie (Addie et al., 2020; Pedersen et al., 2019).

1.8.5. Vaccineren

Er zijn een aantal pogingen ondernomen om een vaccin te maken tegen het FIPV, maar deze bleken niet succesvol. De meeste studies waren gefocust op het gebruik van levende of gemodificeerd levende virussen. Echter beschermden deze vaccins niet tegen een gecontroleerde infectie met het FIPV. Het vaccin stimuleerde de productie van antistoffen die daarmee de ADEI stimuleerde en waardoor FIP kon ontwikkelen (Pedersen et al., 1983; Vennema et al., 1990).

Een intranasaal vaccin, Primucell[®] FIP, werd ontwikkeld door Gerber et al. (1990) die katten beschermden tegen een FIPV-infectie en werd daarnaast veilig genoeg bevonden om te gebruiken bij gezonde katten, immunosuppressieve katten (FELV positieve en met dexamethason behandelde katten) en katten met FCoV-antistoffen. Echter werd dit vaccin niet goedgekeurd voor drachtige kattinnen en kittens onder de 16 weken. Omdat kittens vanaf het spenen worden geïnfecteerd, meestal tussen de leeftijd van 5 en 10 weken is een vaccinatie op de leeftijd van 16 weken te laat en heeft de primo-infectie al plaatsgevonden. Daarnaast is de intranasale vaccinatie niet effectief in seropositieve dieren. Dit betekent dat kittens tot een leeftijd van 16 weken geen primo-infectie mogen hebben ondergaan. Dit betekent dat een zeer goed management is vereist in huishoudens met meerdere katten om te zorgen voor seronegatieve kittens van 16 weken oud (Fehr et al, 1997). Dit is uiterst moeilijk in huishoudens met meerdere katten zonder dat de socialisatie van de kittens in het gedrang komt (Ahola et al., 2017).

Er zijn nog enkele pogingen gedaan om vaccins te ontwikkelen, maar ook deze bleken niet bestand te zijn tegen een gecontroleerde infectie met het FIPV wat uiteindelijk resulteerde in 100% sterfte van de katten (Balin et al., 2014).

2. Probleemstelling en doelstelling

Momenteel wordt het nog niet gelegaliseerde product GS-441524 gebruikt voor de behandeling van katten die FIP hebben ontwikkeld. Om dit product in handen te krijgen zoeken katteneigenaren zich een weg naar de zwarte markt. Met deze studie wordt getracht de werkzaamheid van het antivirale product GS-441524 in kaart te brengen bij katten die gediagnosticeerd zijn met FIP. Hierbij worden zowel de klinische parameters als verschillende bloedparameters geanalyseerd om te bewijzen dat GS-441524 daadwerkelijk FIP kan genezen in de hoop dat deze studie een bijdrage kan leveren aan de legalisering ervan.

3. Materiaal en methoden

In deze studie werden zeven katten ingesloten die werden gediagnosticeerd met FIP. Alle beschikbare gegevens, zoals het signalement, de anamnese, de klinische onderzoeken, de laboresultaten en de therapie van de patiënten werden gebruikt om de behandeling op te volgen en het herstel in kaart te brengen. De gegevens werden verzameld via verschillende dierenartsen waardoor iedere kat een ander diagnostisch parcours heeft doorlopen. Ook het behandeltraject was steeds verschillend en de behandeling werd steeds volbracht door de eigenaar zelf. Om deze redenen wordt iedere kat in dit hoofdstuk apart besproken. Van deze zeven katten zijn er twee katten gediagnosticeerd met effusieve FIP, drie katten met de niet-effusieve vorm van FIP waarvan één kat met neurologische FIP, één met oculaire FIP en één kat met enkel granulomen op de serosa. De overige twee katten hadden een combinatie van effusieve FIP met neurologisch symptomen. Van deze zeven katten werden er zes behandeld met GS-441524 en één kat met antibiotica en glucocorticoïden. Bij kat 1 t/m 5 werd een retrospectieve studie uitgevoerd en kat 6 en 7 werden vanaf het begin van de behandeling opgevolgd.

3.1. Kat 1

Kat 1 was een mannelijk gecastreerde felis vulgaris van 2 jaar oud die gediagnosticeerd werd met effusieve FIP op basis van hematologie, biochemie, eiwitelektroforese en FCoV-antistoftiter welke waren uitgevoerd door IDEXX Europe B.V. Deze kat werd behandeld met Clavubactin® 50mg aan een dosering van 10mg/kg BID gedurende 10 dagen. Daarnaast werd Prednicortone® 5mg aan een dosering van 2mg/kg SID per oraal toegediend en gedurende de rest van zijn leven gegeven.

3.2. Kat 2

Kat 2 was een vrouwelijk gecastreerde felis vulgaris van 5 jaar oud en was FIV positief. Ze werd gediagnosticeerd met effusieve FIP op basis van hematologie, biochemie, eiwitelektroforese en een hoge FCoV-antistoftiter, welke door MEDVET waren uitgevoerd. De hematologie was daarnaast ook nog door IDEXX Europe B.V. uitgevoerd. Deze kat werd na diagnose gedurende 84 dagen behandeld met SAK® via subcutane injecties aan een dosering van 6mg/kg SID. De controles werden uitgevoerd op dag 31 (D31), D58 en D79 van de behandeling waarbij steeds een volledig klinisch onderzoek werd uitgevoerd. Op D31 werden de hematologie en biochemie gecontroleerd door IDEXX Europe B.V.. Op D58 werd de hematologie en biochemie gecontroleerd door IDEXX Europe B.V. en de eiwitelektroforese werd geanalyseerd door MEDVET. Aan het eind van de behandeling op D79, werd enkel de eiwitelektroforese uitgevoerd door MEDVET. Vanwege de immunosuppressieve status van deze patiënt en een eenmalige episode van epistaxis, werd vanaf D50 van de SAK®-therapie een ondersteunende therapie opgestart met Clavubactin® 50mg aan een dosering van 10mg/per kg BID tot aan het einde van de SAK®-therapie. Ter ondersteuning werden de voedingssupplementen Vetoquinol® en Nutriplus® toegediend (dosis en frequentie niet gekend).

3.3. Kat 3

Kat 3 was een vrouwelijk gecastreerde Heilige Birmaan, waarvan de leeftijd onbekend was. Ze werd gediagnosticeerd met neurologische FIP op basis van de symptomen, biochemisch bloedonderzoek en een eiwitelektroforese. Deze kat werd gedurende 94 dagen behandeld met SAK® aan een dosering van 12 mg/kg SID door middel van subcutane injecties. Aan het eind van de behandeling is hetzelfde bloedonderzoek herhaald om

na te gaan of de afwijkingen in de het bloed genormaliseerd waren. De bloedonderzoeken werden steeds uitgevoerd door IDEXX Europe B.V. Er waren van deze kat geen klinische gegevens bekend.

3.4. Kat 4

Kat 4 was een mannelijk gecastreerde Ragdoll van 2,5 jaar oud en werd gediagnosticeerd met de droge vorm van FIP op basis van hematologie, biochemie, eiwitelektroforese en immunofluorescentie op bipten van de mesenteriale lymfeknopen en van de lever, die verkregen zijn via een exploratieve laparotomie. Door middel van immunofluorescentie werden FCoV-antigenen aangetoond in macrofagen van het gebiopteerde weefsel. Deze kat werd voor 84 dagen behandeld met SAK[®] aan een dosering van 12mg/kg SID door middel van subcutane injecties. Aan het eind werd het bloedonderzoek herhaald om te zien of de behandeling kon worden stopgezet. De bloedonderzoeken werden uitgevoerd door Zoolyx en door AML en de immunofluorescentie werd uitgevoerd door het Laboratorium voor Virologie van de Faculteit Diergeneeskunde aan de Universiteit van Gent (UGent).

3.5. Kat 5

Kat 5 was een vrouwelijk gecastreerde felis vulgaris van 2 jaar oud en werd gediagnosticeerd met effusieve FIP in combinatie met neurologische symptomen op basis van hematologie, biochemie, eiwitelektroforese, een Rivalta's test en immunofluorescentie op exsudaat waarbij FCoV-geïnfekteerde macrofagen werden aangetoond. Deze kat werd behandeld voor 95 dagen met SAK[®] aan een dosering van 12mg/kg SID door middel van subcutane injecties. Gedurende 2 dagen werd de dosis tweemaal daags gegeven omwille van een progressieve verslechtering van de neurologische klachten. In de eerste 12 dagen is zij ook ondersteund met Cerenia[®] aan een dosering van 1mg/kg SID en een intraveneus infuus van Hartmann[®] aan een snelheid van 3ml/kg/uur. De eerste 7 dagen werd de therapie aangevuld met Rapidexon[®] aan een dosering van 2mg/kg SID door een intraveneuze toediening. Daarna werd overgestapt naar een orale toediening van Prednicortone[®] aan een dosering van 1mg/kg BID gedurende 7 dagen. Op D1 van de behandeling werd er 200ml vocht afgelaten via abdominocentese om wat meer comfort te bieden. Gedurende de hospitalisatie werden regelmatig de elektrolyten gecontroleerd en werd de hypokaliemie gecorrigeerd door middel van kaliumsupplementatie via infuustherapie. In deze periode was ze tweemaal geconstipeerd geraakt dat werd verholpen met microlax[®]. Ook werd een naso-oesophagale sonde geplaatst gedurende 4 dagen omwille van de aanhoudende anorexie. Daarnaast werd in deze periode ook tweemaal een bloedtransfusie uitgevoerd met respectievelijk volbloed en packed red blood cells (PRBC). De hematologie werd rond deze periode ook meerdere malen gemeten om het effect van de transfusies op te volgen. Op D10 is er een bronchopneumonie vastgesteld door middel van radiografie. Deze werd behandeld met een intraveneuze behandeling met Augmentin[®] aan een dosering van 20mg/kg tid gedurende 2 dagen, waarna een perorale therapie werd verdergezet met Kesium[®] aan een dosering van 20mg/kg bid gedurende 12 dagen. Op D48 en D95 werden de hematologie, biochemie, elektrolyten en de eiwitelektroforese gecontroleerd. De bloedonderzoeken werden uitgevoerd door IDEXX Europe B.V. en AML. De Rivalta's test werd uitgevoerd op de Faculteit Diergeneeskunde te UGent en de immunofluorescentie werd uitgevoerd door het Laboratorium voor Virologie van de Faculteit Diergeneeskunde, UGent.

3.6. Kat 6

Kat 6 was een mannelijk gecastreerde Singapura van bijna 2 jaar oud en werd gediagnosticeerd met effusieve FIP op basis van hematologie, biochemie, eiwitelektroforese en immunofluorescentie op exsudaat om FCoV-antigenen in geïnfekteerde macrofagen aan te tonen. Deze kat werd 84 dagen behandeld met SAK[®] aan een dosering van 6mg/kg sid door middel van subcutane injecties. Er zijn bloedonderzoeken uitgevoerd om de diagnose te stellen en om aan het eind van de behandeling, op D84, na te gaan of de therapie gestopt kon worden. De bloedonderzoeken werden uitgevoerd door IDEXX Europe B.V. en de immunofluorescentie werd uitgevoerd door het Laboratorium voor Virologie van de Faculteit Diergeneeskunde, UGent. De klinische parameters werden longitudinaal opgevolgd waarbij de ademhalingsfrequentie, mucosa (kleur, capillaire vullingstijd (CVT), plakkerigheid), lymfeknopen, turgor, polskwaliteit, hartfrequentie, temperatuur, undulatieproef, lichaamsgewicht en buikomvang dagelijks werden opgevolgd. Daarnaast werden ook de activiteit en de eetlust iedere dag beoordeeld ten opzichte van de dag ervoor. De body condition score (BCS) en muscle condition score (MCS) werden aan het begin, op de helft en aan het eind van de behandeling beoordeeld.

3.7. Kat 7

Kat 7 was een mannelijk gecasteerde Britse korthaar van 1 jaar oud en werd gediagnosticeerd met oculaire FIP op basis van hematologie, biochemie, eiwitelektroforese en een PCR op exsudaat om FCoV-RNA aan te tonen. De PCR werd uitgevoerd door AML en de bloedonderzoeken door IDEXX Europe B.V. Deze kat werd gedurende 84 dagen behandeld met SAK[®] aan een dosering van 12mg/kg SID door middel van subcutane injecties. Vanwege aanhoudende anorexie is een naso-oesophagale sonde geplaatst die na 3 dagen is vervangen door een oesofagale sonde voor een periode van 6 dagen. De eerste 9 dagen is een ondersteunende therapie met Cerenia[®] opgestart aan een dosering van 1mg/kg SID en een intraveneus infuus van Hartmann[®] aan een snelheid van 3ml/kg/uur. Gedurende 84 dagen werd hij verder gesupplementeerd met ijzer via een orale oplossing van WeHemo[®] aan een dosering van 0,1mg/kg SID. De eerste 3 dagen werden beide ogen driemaal daags behandeld met Maxitriol[®]. Opticorn[®] is gedurende het gehele behandeltraject driemaal daags aangebracht op beide ogen. Op D5 werd de hematologie en de biochemie gecontroleerd en werd uitgevoerd door IDEXX Europe B.V. Op D42 en D84 werden de hematologie, biochemie en eiwitelektroforese uitgevoerd door Vetlab. Er is nog een extra eiwitelektroforese uitgevoerd door Vetlab op D65. Vanwege de oculaire FIP zijn er op regelmatige tijdstippen foto's genomen van de evolutie van de oculaire afwijkingen, deze zijn te zien in Figuur 6.

4. Resultaten

4.1.1. *Klinische opvolging*

De katten waarvan de klinische opvolging bekend is worden individueel besproken. Van kat 3 en 4 zijn er geen gegevens beschikbaar dus die worden hier niet vermeld. De gegevens vóór de start van de therapie worden aangeduid als D0, na de start van de therapie worden de opeenvolgende dagen weergegeven als D1, D2, enz.

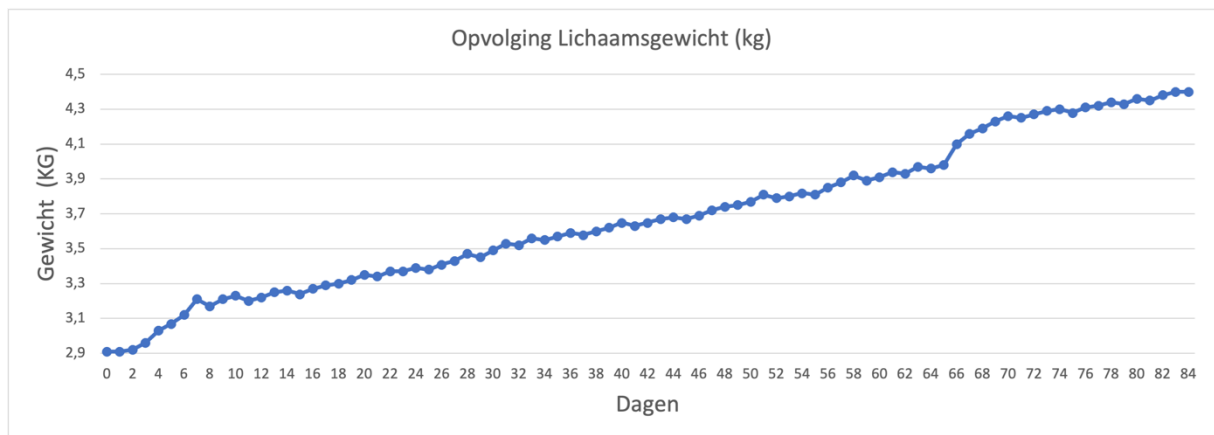
Kat 1 werd aangeboden vanwege lethargie, hyporexie, vermageren en neurologische klachten. Op klinisch onderzoek werd een verhoogde lichaamstemperatuur van 40,5°C vastgesteld. Wegens aanhoudende anorexie en lethargie en een progressieve verslechtering van de neurologische klachten, werd 3 dagen na de start van de therapie besloten tot euthanasie.

Kat 2 werd aangeboden met lethargie, hyporexie en een verhoogde lichaamstemperatuur van 39,7°C. In de eerste 48 uur na de start van de GS-441524-therapie werd al een vooruitgang gezien van eetlust en energieniveau. De complicaties tijdens de behandeling waren beperkt tot één spuitplek en een eenmalige episode van epistaxis. Tijdens de controles werden er geen afwijkingen vastgesteld op het klinisch onderzoek en de lichaamstemperatuur bleef steeds binnen de normaalwaardes (38,0-39,5°C).

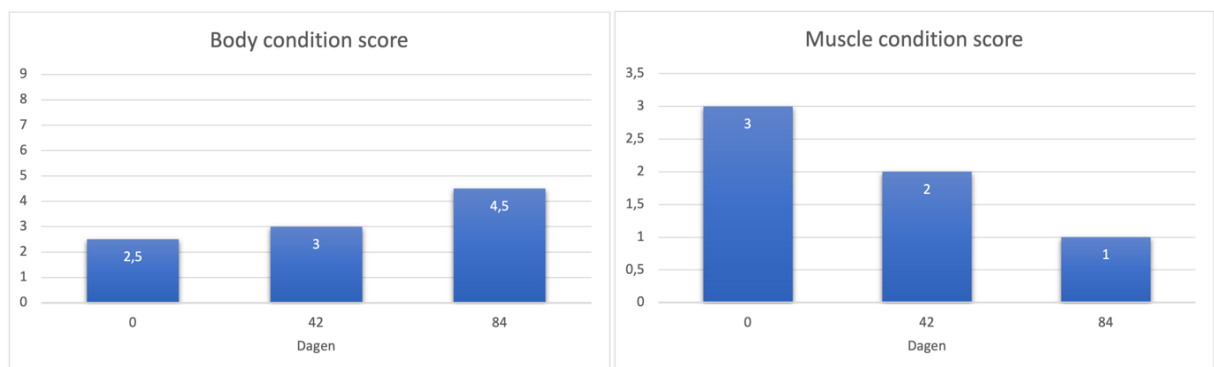
Kat 5 werd aangeboden wegens lethargie en anorexie en had een verhoogde lichaamstemperatuur van 39,8°C. Na 7 dagen werd er een verbetering gezien van eetlust en energieniveau. Ze was alert maar had nog steeds intermitterende koorts. Deze koorts bleek te wijten aan een aspiratiepneumonie waarschijnlijk vanwege de naso-oesophagale voedingssonde. De dag na de start van de antibiotica was de temperatuur genormaliseerd. Op D10 was de eetlust zeer goed en was ze erg actief. Tijdens de behandeling werden enkele complicaties vastgesteld zoals een IMHA, constipatie en de eerdergenoemde aspiratiepneumonie.

Kat 6 werd aangeboden wegens lethargie, hyporexie, vermageren en abdominale distensie. Op klinisch onderzoek werd een verlaagde lichaamstemperatuur van 37,8°C vastgesteld. Omdat kat 6 dagelijks kon worden opgevolgd, werden er meerdere klinische parameters verzameld. De lichaamstemperatuur was 24 uur na de eerste subcutane toediening van het GS-441524 genormaliseerd en bleef stabiel rond de 38,5°C gedurende de rest van de behandeling. De ademhalingsfrequentie en de hartfrequentie lagen altijd binnen de normaalwaardes van respectievelijk 20-40/min en 170-240/min. Voor de start van de therapie werd er een bleke mucosa vastgesteld die na 1 week al minder bleek was. Na 6 weken werd de mucosa omschreven als lichtroze en na 9 weken was de mucosa weer normaal van kleur. De dehydratatie werd beoordeeld aan de hand van de plakkerigheid van de mucosa en de huidturgor. Na 1 week was de mucosa minder plakkerig en de huidturgor was ook minder vertraagd. De turgor was na 3 weken genormaliseerd en de plakkerige mucosa was na 3 weken verdwenen. Een toename van de activiteit en de eetlust werd respectievelijk al na 3 en na 5 dagen gezien. De opvolging van de buikontrek laat na de eerste week een afname zien van 0,5cm om aan het einde van de

behandeling verder afgenomen te zijn tot 6cm. De undulatieproef was positief tot 3 weken na de start van de behandeling en nam daarna steeds verder af tot de 8^{ste} week van de behandeling. Hierna was de undulatie test steeds negatief. De dagelijkse opvolging van het lichaamsgewicht is weergegeven in Figuur 4. Bij de aanvang van de behandeling was het gewicht 2,91kg en nam iedere maand met 0,5kg toe tot een gewicht van 4,4kg aan het eind van de behandeling. De BCS wordt beïnvloed door het lichaamsgewicht en nam ook ieder meetmoment toe, dit is weergegeven in Figuur 5. Daarnaast was de MCS hersteld van sterk atrofisch naar normaal, waarbij een waarde van 3 wordt gezien als sterk atrofisch en een waarde van 0 als normaal. De MCS is weergegeven naast de BCS in Figuur 5.



Figuur 4: Gewichtsevolutie van kat 6 (stijging van ongeveer 0,5kg per maand)



Figuur 5: Body condition score (BCS) en muscle condition score (MCS) van kat 6 op verschillende momenten na de start van de behandeling.

Kat 7 werd aangeboden omwille van lethargie en bilaterale oculaire afwijkingen. Gedurende de eerste 8 dagen kon deze kat dagelijks worden opgevolgd waardoor ook hiervan meerdere klinische parameters werden verzameld. Op het eerste klinisch onderzoek werd een verhoogde lichaamstemperatuur van 40,2° C vastgesteld die 1 dag na de start van de behandeling was genormaliseerd. Na 7 dagen nam het energieniveau iedere dag toe en na 8 dagen werd er een geringe toename gezien van de eetlust. De dehydratatie werd ook bij deze kat bepaald aan de hand van de plakkerigheid van de mucosa en de turgor van de huid. Na 7 dagen werden de mucosa minder plakkerig en was de turgor ook minder vertraagd. De kleur van de mucosa is tijdens de behandeling niet veranderd. De ademhalingsfrequentie en de hartfrequentie zijn gedurende de behandeling binnen de normaalwaardes gebleven van respectievelijk 20-40/min en 170-240/min. De BCS en de MCS bleven in deze eerste 8 dagen stabiel, maar het gewicht is gedurende de behandeling van 84 dagen toegenomen van 4,46kg tot 5,8kg. De oculaire afwijkingen zijn op 6 verschillende momenten geëvalueerd gedurende de eerste 16 dagen,

deze evolutie is te zien in Figuur 6. Vóór de start van de behandeling werd een uitgebreid oftalmologisch onderzoek uitgevoerd. Hierop werden verschillende afwijkingen vastgesteld van het linker oog; onvolledige ooglidreflex, gestuwde bulbaire en palpebrale conjunctiva, geringe hoeveelheid muceuze ooguitvloeï, mild diffuus oedeem met een oppervlakkige ulceratie van de cornea, hyphema, hyperemie en zwelling en dyscorie van de iris met posterior synechia, afwijkende pupilvorm en een vertraagde pupilreflex, milde vertroebeling van het corpus vitreum, hyporeflexie en perivasculaire effusie van de fundus. Op het rechteroog werden de volgende afwijkingen vastgesteld; onvolledige ooglidreflex, gestuwde bulbaire en palpebrale conjunctiva, matige hoeveelheid muceuze ooguitvloeï, mild diffuus oedeem met een oppervlakkige ulceratie van de cornea, fibrinestrengen in de voorste oogkamer (VOK), hyperemie en zwelling en dyscorie van de iris, afwijkende pupilvorm en een afwijkende pupilreflex, een wazig corpus vitreum, hyporeflexie en perivasculaire effusie van de fundus. Gedurende de opvolging verminderde het corneaoedeem van beide ogen tot deze geheel was verdwenen op D16. Ook valt op dat op D4 de bloedresten in de linker VOK zijn verminderd en op D8 compleet verdwenen zijn in het linker oog, echter zijn er dan bloedresten in de rechter VOK waar te nemen. De afwijkende pupilvorm is op D16 nog minimaal zichtbaar.



Figuur 6: De opvolging van de oculaire afwijkingen van kat 7 op verschillende momenten na de start van de behandeling.

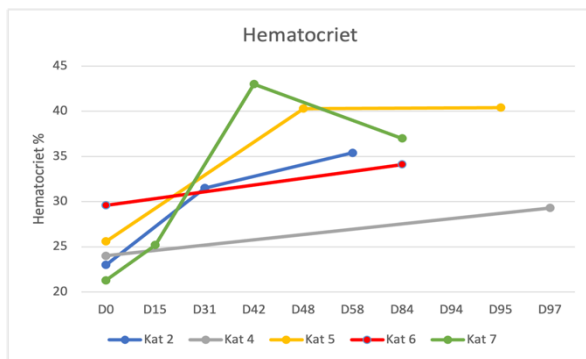
4.1.2. Opvolging bloedparameters

Omdat kat 1 werd geëuthanaseerd 3 dagen na de start van de behandeling zijn enkel de resultaten van het eerste bloedonderzoek beschikbaar. Er zijn van kat 1 geen resultaten aanwezig van de opvolging waardoor deze kat niet is opgenomen in dit deel van de resultaatbespreking.

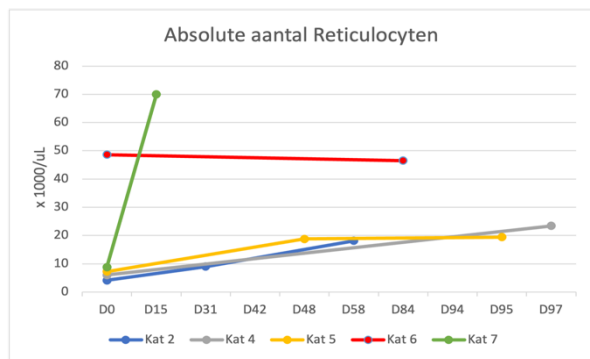
Figuur 7 laat de toename zien van het HCT tijdens de behandeling bij de katten waarvan er een hematologisch onderzoek werd uitgevoerd. In deze masterproef werd een referentie-interval van 26-45% aangehouden om te bepalen of er een anemie aanwezig was. Daarnaast is het absolute aantal reticulocyten gebruikt om in geval van een anemie na te gaan of deze regeneratief was of niet. Een waarde boven de 50.000 reticulocyten/ μ l werd als regeneratief beschouwd. Geen van de katten werd aangeboden met een regeneratieve anemie, maar met uitzondering van kat 6 werd er bij alle katten een toename van reticulocyten gezien gedurende de behandeling. Enkel kat 7 liet een echte regeneratie zien met een waarde van boven de 50.000 reticulocyten/ μ l. Omdat er van kat 3 geen hematologie werd uitgevoerd ontbreken hiervan de gegevens in de Figuren 6 en 7.

Van het biochemisch bloedonderzoek was vóór de start van de therapie enkel het ureumgehalte afwijkend bij de meeste katten. Er is gebruik gemaakt van een referentie-interval van 5,7-12,9 mmol/L om te beschrijven of het ureumgehalte te laag of te hoog was. Met uitzondering van kat 3 was het ureumgehalte op de dag van diagnose te laag bij alle katten. Alle katten, inclusief kat 3, vertoonden een stijging van het ureumgehalte in het bloed gedurende de behandeling, zie Figuur 9. Bij kat 5 werd er echter een daling van het ureumgehalte waargenomen op de laatste dag van de behandeling ten opzichte van de controle op dag 48. De verandering van het A/G ratio van alle katten werd weergegeven in Figuur 10. Het A/G ratio zat voor de start van de therapie in alle gevallen onder 0.60 en nam tijdens de behandeling bij iedere kat toe tot boven de 0.60.

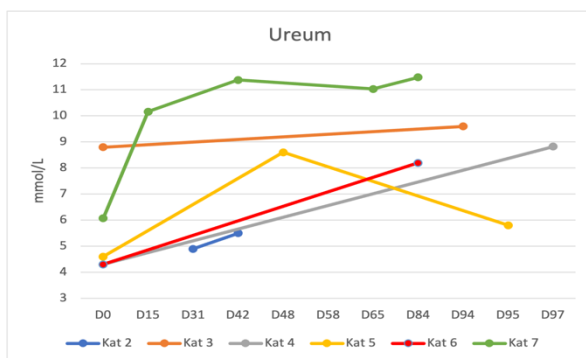
De eiwitanalyses zijn weergegeven in Figuur 11. Van kat 2, 4, 6 en 7 zijn er eiwitelektroforeses uitgevoerd tijdens de opvolging van de behandeling. Van kat 3 en kat 5 zijn enkel de biochemische bloedonderzoeken beschikbaar waardoor van deze katten de globulines niet verder zijn onderverdeeld. Met uitzondering van kat 6 was het totaal eiwit verhoogd op D0. Er is hier een referentie-interval gebruikt van 55-89 g/L. De verhoging van het totaal eiwit werd veroorzaakt door een toename van de gammaglobulines. Tijdens de behandeling daalde bij iedere kat het aantal (gamma-)globulines en bleef het albuminegehalte gelijk of steeg het licht waardoor het totaal eiwit gedurende de behandeling afnam. Ook bij kat 6 was het aantal gammaglobulines gedaald waardoor het totaal eiwit is afgenomen aan het eind van de behandeling.



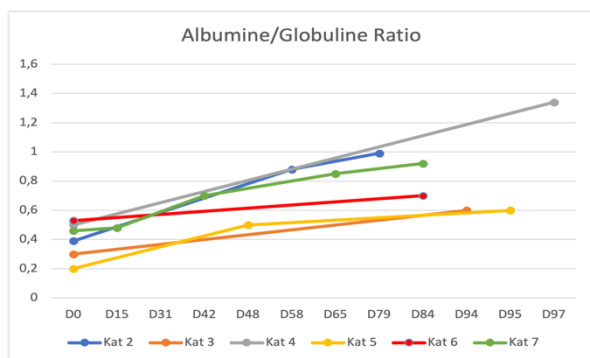
Figuur 7: Evolutie van de hematocrietwaarden bij FIP-katten tijdens hun behandeling.



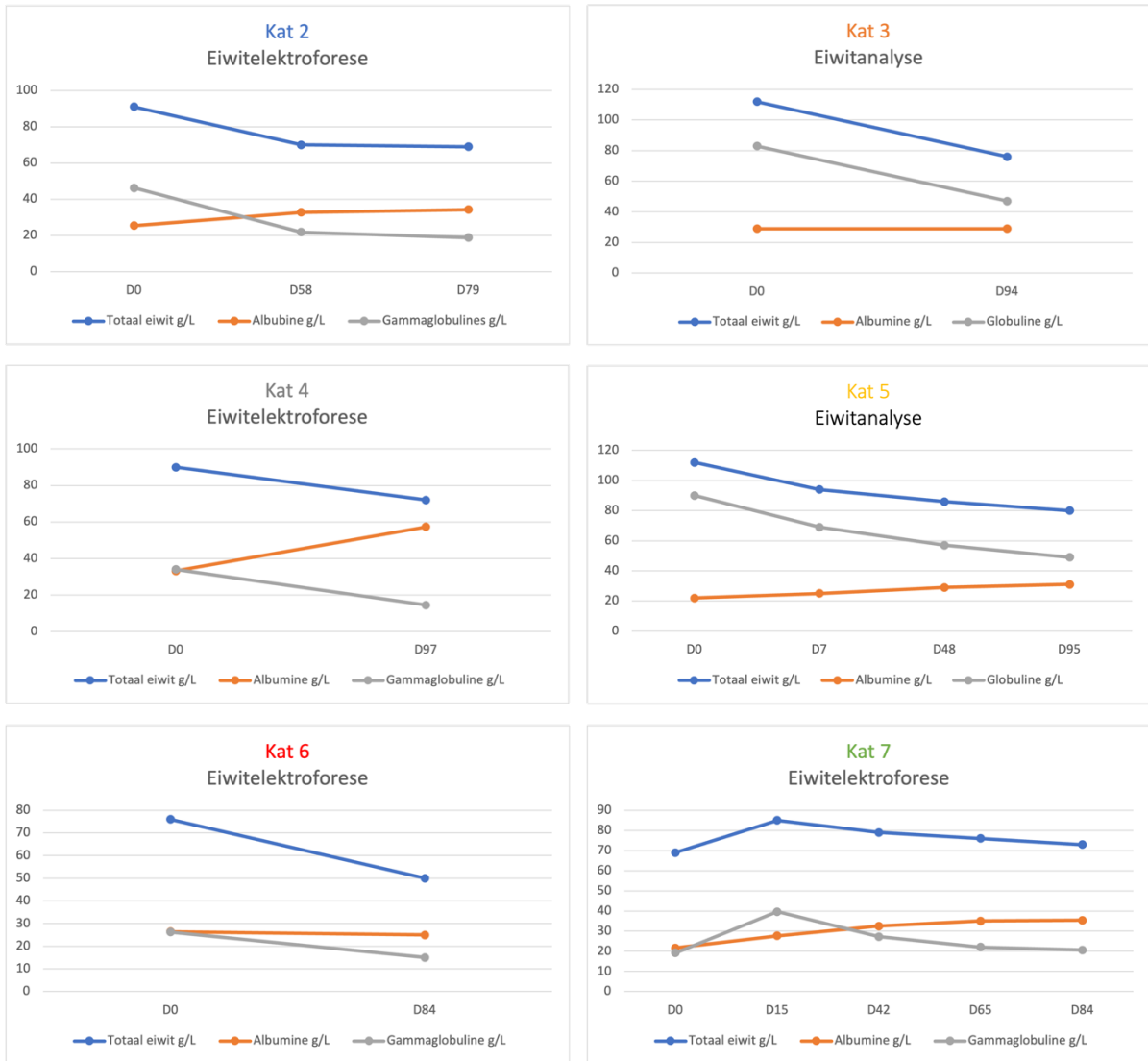
Figuur 8: Evolutie van het absolute aantal reticulocyten bij FIP-katten tijdens hun behandeling.



Figuur 9: Evolutie van het ureumgehalte bij FIP-katten tijdens hun behandeling.



Figuur 10: Evolutie van de A/G ratio bij FIP-katten tijdens hun behandeling.



Figuur 11: Evolutie van totaal eiwit (g/L), albumine (g/L) en gammaglobulines (g/L) bij FIP-katten tijdens hun behandeling.

5. Discussie

5.1. Signalement

De leeftijd waarop de katten in deze studie waren gediagnosticeerd met FIP lag rond de leeftijd van 2 jaar met uitzondering van één kat van 5 jaar oud. Dit komt overeen met de opgegeven leeftijd in de literatuur.

Zowel niet-rassen als raskatten waren aanwezig. Raskatten komen meestal uit een cattery en niet-raskatten worden vaak geadopteerd uit een asiel. In beide gevallen is de infectiedruk in de omgeving waarin de katten opgroeiden zeer hoog en kunnen de katten meer zijn blootgesteld aan stress. Daarnaast waren alle katten in deze studie gecastreerd waardoor iedere kat in het verleden een periode van stress heeft doorgemaakt. Echter zullen meerdere factoren een rol hebben gespeeld in de ontwikkeling van FIP. Het blijft van belang om de risicofactoren zoals een hoge infectiedruk, stress, en immunosuppressie zo veel mogelijk te vermijden. Daarnaast is het niet aan te raden om te fokken met FIP-herstelde dieren of met katten die FIP-kittens hebben voortgebracht. Op deze manier wordt de erfelijke component, die instaat voor een verlaagde immuniteit, beperkt.

5.2. Symptomen

Iedere kat, waarvan de anamnese bekend was, werd aangeboden met lethargie, hyporexie of anorexie en vermageren. Deze specifieke klachten kunnen al dan niet samen voorkomen met koorts. Dit maakt dat FIP bij de eerste consultatie niet meteen als belangrijkste differentiaaldiagnose werd gezien. Uit de gegevens van de betrokken katten blijkt dat voor de definitieve diagnose een verscheidenheid aan andere ziekten werd uitgesloten zoals hemobartonella, triaditis, hepatitis, cholangitis en lymfoom. Dit is de reden dat de diagnose niet bij de eerste consultatie werd vastgesteld, zelfs niet door zeer ervaren dierenartsen. Ook een concomitante ziekte zoals een FIV-infectie zorgde ervoor dat de diagnose FIP pas laat werd gesteld. De katten in deze studie werden gediagnosticeerd tussen de tweede en vijfde consultatie, wat een zeer frustrerende periode is geweest voor de eigenaren. Daarnaast is er veel kostbare tijd verloren gegaan omdat de diagnose pas één week tot zelfs twee maanden na het eerste consult werd vastgesteld.

Bij drie van de zes katten ontwikkelden zich op een bepaald moment van het ziekteverloop constipatieklachten. Dit zou een gevolg kunnen zijn van de dehydratie door het vochtverlies. De constipatie werd dan ook enkel vastgesteld bij de katten die een vorm van effusieve FIP hadden ontwikkeld. Daarnaast werden er tijdens het klinisch onderzoek verschillende andere afwijkingen vastgesteld door de dierenartsen zoals icterus, een abdominale massa, abdominale distensie of neurologische symptomen. Dit bewijst dat FIP zeer uiteenlopende symptomen kan veroorzaken en dat dierenartsen dus zeer aandachtig moeten blijven op deze ziekte.

5.3. Diagnose

Tussen de verschillende cases werden verschillende manieren gebruikt om tot een diagnose te komen. In drie gevallen werd FIP bevestigd door middel van een positieve immunofluorescentietechniek op exsudaat of bioptweefsel om het FCoV-antigen aan te tonen in macrofagen. Van deze katten kan dus met zekerheid worden gezegd dat ze FIP-positief waren. Bij één kat werd het FCoV-RNA aangetoond in exsudaat wat een goed alternatief blijkt voor het gebruik van immunofluorescentie om FCoV-antigenen aan te tonen in exsudaat, in het geval er heel weinig exsudaat aanwezig is (Kennedy et al., 2020). Bij twee katten werd een waarschijnlijkheidsdiagnose gesteld op basis van een verhoogde anti-FCoV antistoffentiter, in combinatie met hematologie, biochemie en een eiwitelektroforese. De kans dat deze katten positief waren voor FIP was zeer groot, zeker omdat de symptomen verklaard konden worden door FIP en doordat andere aandoeningen ook waren uitgesloten. Echter is bij één kat de diagnose gesteld op basis van de symptomen gecombineerd met enkel een biochemisch bloedonderzoek en een eiwitelektroforese. Er blijft in dit geval dus een kans bestaan dat deze negatief was voor FIP en dat deze dus onnodig is behandeld met het GS-441524. Als dit vaker gebeurt in de kattenpopulatie kan het in de toekomst eventueel een probleem geven met het ontstaan van resistentie tegen het GS-441524. Aan de andere kant blijft een positieve respons bij het gebruik van GS-441524 wel zeer suggestief voor de ziekte. De kans op overleving van deze kat werd echter wel vergroot doordat er zeer snel gestart werd met de therapie. Toch zou er altijd geopteerd moeten worden om FIP te bevestigen via de specifieke

diagnostische technieken zoals eerder is besproken. Deze technieken in combinatie met de klinische verbetering maken de behandeling rechtvaardig. Als er geen klinische verbetering optreedt en FIP kan niet bevestigd worden dan is het wellicht beter om de behandeling niet verder te zetten om de ontwikkeling van resistentie te beperken en om onnodig lijden door de pijnlijke injecties te vermijden.

5.4. Opvolging

De eerste tekenen van het effect van de therapie werden in de eerste week voornamelijk gezien door een toename van de eetlust en het energieniveau. Deze vooruitgang kan gezien worden als een bevestiging van de diagnose. Daarnaast tonen de intensieve klinische opvolging van kat 6 en 7 ook een snel herstel van de andere klinische parameters.

In totaal is de HCT bepaald van vijf katten op de dag van diagnose. Hiervan toonden vier katten een milde niet-regeneratieve anemie. De afwezigheid van een anemie sluit FIP dus niet uit. Kat 7 vertoonde op D15 van de behandeling een duidelijke regeneratie in tegenstelling tot de katten 2, 4 en 5. Deze laatstgenoemden lieten echter wel een zeer milde toename van het aantal reticulocyten zien. De afwezigheid van een duidelijke regeneratie zou te wijten kunnen zijn aan het onvermogen van het beenmerg om nieuwe reticulocyten aan te maken of kan wijzen op de adaptatie van het lichaam op een chronisch lagere HCT.

De toename van het ureumgehalte gedurende de behandeling is een bewijs van de toename van de eetlust. Door de toename van de voedsel opname is er een verhoogde aanvoer van eiwitten waardoor de ureumcyclus weer opgang is gekomen. De daling van het ureumgehalte bij kat 5 op D95 ten opzichte van D48 kan een teken zijn van terugval. Er is een daling van de aanvoer van eiwitten door een gebrek aan voederopname. Dit kan wijzen op een terugval van de ziekte. Het is dus van groot belang dat deze kat verder nauwkeurig wordt opgevolgd. Echter werden er op D97 geen andere afwijkingen op het bloedonderzoek gevonden. De monitoring van het ureumgehalte tijdens de behandeling is dus een goede methode om de vooruitgang te evalueren en een terugval snel te kunnen opmerken. De opvolging van het ureumgehalte in de observatieperiode is een eenvoudige en goedkope manier om deze katten op regelmatige basis te controleren en een terugval zo snel mogelijk op te sporen.

In de literatuur wordt een A/G ratio >0.80 bij FIP als onwaarschijnlijk beschouwd (Addie et al., 2009; Hartmann et al., 2003; Pedersen et al. 2014), terwijl de verschillende laboratoria die betrokken zijn bij deze masterproef, lagere waardes gebruikten. In deze thesis zijn drie katten die op de laatste dag van behandeling een A/G ratio van <0.80 hadden als FIP-vrij beschouwd. Er moet bij de evaluatie van de bloeuitslagen dan ook rekening gehouden worden met de andere bloedparameters en de klinische toestand van de kat. Daarbij is er bij elke kat wel een duidelijke toename van het A/G ratio te zien door een duidelijke daling van de gammaglobulines. Hierdoor kan worden aangenomen dat de humorale immuniteit minder werd gestimuleerd door het FIPV, wat zorgt voor een daling van de antistoffen in het bloed en dus een daling van het FIPV impliceert.

Tijdens de opvolging zijn er enkele complicaties gemeld die een gevolg zijn van FIP of van de behandeling met het antiviraal product GS-441524. Bij één van de katten werd er een IMHA vastgesteld. Deze zou kunnen worden verklaard doordat de anti-FCoV antistoffen niet enkel binden op de Fc-receptor van de geïnfecteerde monocyt/macrofaag maar ook op de erythrocyten die hierna een hemolyse ondergaan. Daarnaast is er bij één kat een necrotiserende wond ontstaan ter hoogte van de injectieplaats. Dit is het gevolg van de basische eigenschappen van het GS-441524. De basische eigenschap van het product maakt de injecties zeer pijnlijk en is de reden dat katteneigenaren grote problemen ondervonden tijdens het injecteren van de vloeistof. Daarbij heeft de vloeistof een hoge consistentie waardoor er een dikke naald moet worden gebruikt. In paragraaf 5.6 worden enkele mogelijke oplossingen besproken om deze moeilijkheden in de toekomst te ondervangen.

5.5. Variabelen in de studie

In deze studie zijn er veel variabelen die van invloed kunnen zijn geweest op de interpretatie van de resultaten. Omdat het enerzijds gaat om een retrospectieve studie van vijf katten en anderzijds over twee casestudies, konden niet alle variabelen gestandaardiseerd worden.

De eerste variabele in deze studie betreft de manier van het stellen van de diagnose. De interpretatie van de bloedresultaten is door de verschillende dierenartsen op een andere manier gedaan. Daarbij is de interpretatie van een bloedonderzoek niet altijd zwart-wit waardoor er een variatie zit in de manier van diagnosticeren. Met name bij kat 3 is er een minimale diagnostiek uitgevoerd en is FIP niet bevestigd door middel van één van de verschillende eerdergenoemde laboratoriumtechnieken. De positieve reactie op de behandeling maakt uiteindelijk de diagnose van FIP zeer waarschijnlijk. De ervaring van de dierenarts speelt ook een rol bij het stellen van de juiste diagnose van FIP, maar zelfs zeer ervaren dierenartsen kunnen FIP al eens over het hoofd zien, zoals het geval was bij kat 1. Daarnaast bemoeilijkt de aanwezigheid van een andere immunosuppressieve aandoening de diagnose van FIP, zoals bij kat 2 het geval was. Al met al blijft het stellen van de diagnose van FIP moeilijk en zullen verschillende parameters en laboratorium tests samen moeten worden geïnterpreteerd, zoals wordt weergegeven in Figuur 3.

De tweede variabele is de toegepaste behandeling. Deze werd door de eigenaren zelf uitgevoerd, waardoor er geen controle is geweest op de toedieningswijze, noch op de gebruikte dosis en het tijdstip van de toediening.

Ten derde zijn de resultaten tussen patiënten soms ook moeilijk met elkaar te vergelijken omdat ieder laboratorium verschillende referentiewaarden gebruikt. Er is altijd een verschil in uitvoering, apparatuur, materiaal en in personeel. Dit maakt dat de resultaten van de laboratoriumonderzoeken onderling iets kunnen afwijken. Dit was dan ook het geval bij kat 2 waarbij het aantal absolute leukocyten bij het ene laboratorium perfect in het midden van het referentie-interval lag en bij het andere laboratorium ver boven het referentie-interval bleek te liggen. Ook heeft ieder laboratorium zijn eigen referentie-intervallen, wat maakt dat een parameter bij het ene laboratorium wel als afwijkend wordt beschouwd en bij het andere laboratorium (nog) niet. Om deze variabele zoveel mogelijk te ondervangen werd er in deze masterproef steeds gebruik gemaakt van dezelfde referentie-intervallen.

5.6. Toekomstmuziek

5.6.1. Legalisering

Om verschillende redenen zou GS-441524 zo snel mogelijk gelegaliseerd moeten worden. Katteneigenaren zouden sneller via hun dierenarts aan medicatie moeten kunnen komen om hierdoor sneller te kunnen starten met de behandeling. Deze snelle start is cruciaal voor de overleving van de aangetaste katten, want op dit moment komt de medicatie soms te laat bij de eigenaar waardoor de kans op herstel drastisch afneemt. De eigenaren staan op dit moment voor een onmogelijke keuze, een peerdure illegale behandeling met een zeer reële kans op herstel of een goedkope legale behandeling waarbij de kat FIP nooit zal overleven.

Ook de dierenartsen bevinden zich met de rug tegen de muur. Zij hebben jarenlang gestudeerd om dieren te kunnen genezen en om het dierenleed zoveel mogelijk te beperken. Op dit moment blijkt er een effectieve behandeling te bestaan, maar die mogen zij niet gebruiken. De dierenarts wordt op deze manier buitenspel gezet en de eigenaren worden aan hun lot overgelaten, om maar te zwijgen over het dierenleed wat de katten op deze manier wordt aangedaan. Dierenartsen zouden de behandeling en de opvolging van de patiënten aan moeten kunnen bieden zonder in de problemen te komen. De opvolging van de katten tijdens de behandeling wordt nog niet door alle dierenartsen aangeboden uit angst voor sancties, maar zou voor vele katteneigenaren een zeer grote steun betekenen. Ook het dierenwelzijn kan in twijfel getrokken worden, want FIP is een vreselijke lijdensweg als deze enkel wordt behandeld met gelegaliseerde geneesmiddelen. Er is op dit moment dus een conflict tussen de dierenwelzijnswet, de eed die de dierenartsen hebben afgelegd en de geneesmiddelenwetgeving. Het is meer dan duidelijk dat hier zo snel mogelijk een eind aan moet komen.

Het legaliseren van het product kan gebeuren op het moment dat Gilead Science meewerkt met de registratie van GS-441524 voor veterinair gebruik of het product vrijgeeft voor productie door andere bedrijven. Ook zou een gedogen beleid door de Belgische en Nederlandse overheid uitkomst kunnen bieden. Het niet legaliseren

van GS-441524 houdt op dit moment de zwarte markt in stand, want veel katteneigenaren en dierenartsen krijgen weet van de werkzaamheid van GS-441524. Daarnaast blijven de producerende bedrijven veel geld verdienen ten koste van de eigenaren zonder dat het product wordt gecontroleerd op zuiverheid en op veiligheid.

5.6.2. Alternatief voor pijnlijke injecties

Omdat GS-441524 in een basische oplossing verkrijgbaar is, zijn de subcutane injecties zeer pijnlijk. Er blijken ook orale producten verkrijgbaar te zijn met GS-441524. Er is een studie waaruit blijkt dat een orale behandeling ook effectief is. Deze studie heeft gebruik gemaakt van Xraphonn[®] die via Mutian Life Sciences Limites is verkregen en bekend is onder de naam Mutian X[®]. De actieve component hierin is MT-0901 en is beschikbaar in tabletten van 2,5mg of 10 mg. De werkzaamheid van Mutian X[®] werd eerst geëvalueerd in een in-vitro studie, waarna een in-vivo studie is opgesteld. Voor deze studie werden katten onder de 2kg lichaamsgewicht, die FIV of FeLV positief waren of leden aan een andere ziekte geëxcludeerd. Ook katten die werden gepresenteerd in comateuze of zeer morbide toestand werden niet geïnccludeerd. De 18 katten werden gedurende 84 dagen eenmaal per dag oraal behandeld met Mutian X[®] aan een dosis van 5mg/kg op een nuchtere maag. In geval van niet-effusieve FIP werd een dosis van 10mg/kg gebruikt. Alle katten van de studie zijn klinisch hersteld van FIP en hebben ook de observatieperiode overleefd (Deleplace et al., 2021; Krentz, et al. 2021).

Naast een orale behandelingsmethode zou een implantaat met depot-werking een uitkomst kunnen bieden. Op deze manier zouden de eigenaren niet zelf in hoefden staan voor de dagelijkse behandeling gedurende 84 dagen. Sommige eigenaren vinden het al heel moeilijk om een subcutane injectie te geven, laat staan het injecteren van hun eigen kat. Daarnaast zijn de injecties pijnlijk en worden steeds lastiger om toe te dienen, omdat de kat zich ook steeds beter gaat voelen. Ook het dagelijks toedienen van orale medicatie is vaak moeilijk omdat de tabletten niet smakelijk zijn. Daarnaast hebben katten in het begin geen eetlust en zijn de eigenaren zeker in het begin aangewezen op de pijnlijke subcutane injecties. Bij beide methodes is het moeilijk te controleren of iedere dag de juiste dosering wordt toegediend. Een implantaat zou deze moeilijkheden kunnen ondervangen waardoor de eigenaren geen moeilijkheden meer ondervinden met de toediening van het product.

5.6.3. Combinatiepreparaten

In de literatuur zijn er gevallen bekend waarbij katten zijn hervallen. Dit werd dan door de eigenaar opgemerkt door een afname in eetlust en een toename van lethargie en anorexie. Deze katten werden dan opnieuw behandeld voor 84 dagen met GS-441524 met een dubbele dosis als waar ze de initiële behandeling mee zijn gestart (Pedersen et al., 2019).

Om een terugval te voorkomen zou een combinatiepreparaat ontwikkeld kunnen worden met verschillende werkingsmechanismen. Idealiter zou dit preparaat bestaan uit een nucleosideanaloog zoals GS-441524 in combinatie met andere moleculen die de virale replicatie op andere momenten inhiberen. Combinatiepreparaten zijn ook effectief gebleken bij mensen die geïnfecteerd zijn met het humane immunodeficiëntievirus. In de review van Delaplace et al. (2021) zijn verschillende moleculen beschreven die gebruikt zouden kunnen worden in een combinatiepreparaat. Hierbij kan gedacht worden aan andere nucleosideanalogen zoals Mefloquine en Ribavirin, siRNA of protease inhibitoren zoals GC376 en GC373. Door gebruik te maken van verschillende moleculen kan de dosis ervan verlaagd worden, waardoor de toxiciteit zal afnemen en de kans op het ontstaan van een mutant zal worden verkleind.

5.6.4. Preventie

In de hoofdstukken 1.5 en 1.8 is al uitgebreid gesproken over de risicofactoren en de preventieve maatregelen die genomen kunnen worden om FIP zo veel mogelijk te beperken. Het is dus van groot belang dat de infectiedruk zo laag mogelijk wordt gehouden om transmissie van FeCV te voorkomen. Dit kan door middel van hygiënische maatregelen te treffen, persisterende uitscheiders te isoleren en klontervormende kattenbakkorrels te gebruiken. Eventueel kan ook preventief gebruik worden gemaakt van Mutian X[®] bij huishoudens met meerdere katten om zo de transmissie van het FeCV te verhinderen (Delaplace et al., 2021). Naast het verlagen van de infectiedruk is het raadzaam om stress zoveel mogelijk te beperken en niet te fokken met dieren die zelf hersteld zijn van FIP of waarvan één van de nakomelingen FIP heeft ontwikkeld.

Zoals ook vermeld is in hoofdstuk 1.8 is er in het verleden al geprobeerd om vaccins te ontwikkelen ter preventie van FIP maar dit was zonder succes. Wellicht kunnen er in de toekomst vaccins worden ontwikkeld die de Th1-respons en IFN- γ stimuleren in plaats van de stimulatie van de humorale immuniteit.

5.7. Deze studie

In deze studie werden data retrospectief verzameld van katten die al succesvol waren behandeld met GS-441524. Het is dan ook logisch dat de bloedparameters een herstel lieten zien van de afwijkende waarden gedurende de behandeling. Het zou natuurlijk beter zijn om katten op te volgen vanaf het moment van de start van de behandeling. Op deze manier kunnen patiënten die deelnemen niet worden geselecteerd op basis van de succesvolle behandeling zoals bij deze retrospectieve studie. Met behulp van uitgebreide casestudies zoals bij kat 6 en 7 kan wel een overzicht gemaakt worden van het slagingspercentage van de behandeling met GS-441524, waardoor de prognose van de behandeling beter in kaart kan worden gebracht. Ook kunnen casestudies achteraf een beter inzicht geven of een behandeling zal gaan aanslaan of niet omdat er meer bekend is over de evolutie van de verschillende parameters. Dit geeft dierenartsen in de toekomst een houvast tijdens de opvolging van de behandeling. Het overzicht kan gegevens bevatten over de te verwachten verbetering van het energieniveau, de eetlust, de gewichtstoename, de afname van de abdominale distensie, de hydratatiestatus en het herstel van de kleur van de mucosa en andere veel voorkomende afwijkingen.

Ook is het aan te raden om nog meer data te verzamelen van katten die na de diagnose zijn behandeld met antibiotica en glucocorticoïden omdat er in deze studie maar één kat is ingesloten. Een retrospectieve studie is in dit geval wel een goede optie omdat de uitkomst van deze behandeling altijd neerkomt op euthanasie. Een overzicht van deze data zal meer inzicht geven in de overlevingstijd van deze katten met deze behandelmethode en maakt effectief duidelijk dat dit nooit een curatieve behandelmethode is.

6. Conclusie

Deze studie heeft aangetoond dat een behandeling met het antiviraal product GS-441524 succesvol is geweest in de zes katten die gediagnosticeerd werden met FIP en behandeld zijn met dit antivirale product. De behandeling van FIP met antibiotica en glucocorticoïden heeft echter niet geleid tot genezing. Na de start van de behandeling met GS-441524 zijn de klinische symptomen zeer snel verbeterd bij iedere vorm van FIP. Van vijf van de behandelde katten is bekend dat zij ook de observatieperiode zijn doorgelopen en één kat zit momenteel nog in de observatieperiode. Ondanks dat de werkzaamheid van het GS-441524 werd bewezen zijn de lange termijn-effecten van het gebruik ervan nog onbekend, maar deze zullen in de toekomst duidelijk worden.

7. Referentielijst

- Addie, D.D., Curran, S., Bellini, F., Crowe, B., Sheehan, E., Ukrainchuk, L., Decaro, N., 2020. Oral Mutian®X stopped faecal feline coronavirus shedding by naturally infected cats. *Research in Veterinary Science* 130, 222-229.
- Addie, D.D., Houe, L., Maitland, K., Passantino, G., Decaro, N., 2020. Effect of cat litters on feline coronavirus infection of cell culture and cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 22(4), 350-357.
- Addie, D.D., le Poder, S., Burr, P., Decaro, N., Graham, E., Hofmann-Lehmann, R., Jarrett, O., McDonald, M., Meli, M.L., 2015. Utility of feline coronavirus antibody tests. *Journal of Feline Medicine and Surgery* (2), 152-62.
- Addie, D.D., Paltrinieri, S., Pedersen, N.C., 2004. Second international feline coronavirus/feline infectious peritonitis symposium. Recommendations from workshops of the second international feline coronavirus/feline infectious peritonitis symposium. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 6(2), 125-30.
- Addie, D.D., Belák, S., Boucraut-Baralon, C., Egberink, H., Frymus, T., Gruffydd-Jones, T., Hartmann, K., Hosie, M.J., Lloret, A., Lutz, H., et al., 2021. Feline infectious peritonitis. ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 11(7),594-604.
- Addie, D.D., Jarrett, O., 2001. Use of a reverse-transcriptase polymerase chain reaction for monitoring the shedding of feline coronavirus by healthy cats. *Veterinary Record* 148(21), 649-53.
- Addie, D.D., Schaap, I.A.T., Nicolson, L., Jarrett, O., 2003. Persistence and transmission of natural type I feline coronavirus infection. *Journal of General Virology* 84, 2735-2744.
- Ahola, M.K., Vapalahti, K., Lohi, H., 2017. Early weaning increases aggression and stereotypic behaviour in cats. *Scientific Reports* September 4,7(1), 10412.
- Amirian, E.S., Levy, J.K., 2020. Current knowledge about the antivirals remdesivir (GS-5734) and GS-441524 as therapeutic option for coronaviruses. *One Health* 9, 100128.
- Baric, R.S., Nelson, G.W., Fleming, J.O., Deans, R.J., Keck, J.G., Casteel, N., Stohlman, S.A., 1988. Interactions between coronavirus nucleocapsid protein and viral RNAs: implications for viral transcription. *Journal of Virology* 62(11),4280-7.
- Barker, E.N., Tasker, S., Gruffydd-Jones, T.J., Tuplin, C.K., Burton, K., Porter, E., Day, M.J., Harley, R., Fews, D., Helps, C.R., et al., 2013. Phylogenetic analysis of feline coronavirus strains in an epizootic outbreak of feline infectious peritonitis. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 27(3), 445-50.
- Beigel, J.H., Tomashek, K.M., Dodd, L.E., Mehta, A.K., Zingman, B.S., Kalil, A.C., Hohmann, E., Chu, H.Y., Luetkemeyer, A., Kline, S., et al., 2020. Remdesivir for the Treatment of Covid-19 - Final Report. *The new England Journal of Medicine* 383(19), 1813-1826.
- Capozza, P., Pratelli, A., Camero, M., Lanave, G., Greco, G., Pellegrini, F., Tempesta, M., 2021. Feline Coronavirus and Alpha-Herpesvirus Infections: Innate Immune Response and Immune Escape Mechanisms. *Animals* 11, 3548.
- Cave, T.A., Golder, M.C., Simpson, J., Addie, D.D., 2004. Risk factors for feline coronavirus seropositivity in cats relinquished to a UK rescue charity. *Journal of Feline Medical Surgery* 6(2), 53-58.
- Ceciliani, F., Grossi, C., Giordano, A., Pocacqua, V., Paltrinieri, S., 2004. Decreased sialylation of the acute phase protein α 1-acid glycoprotein in feline infectious peritonitis (FIP). *Veterinary Immunology and Immunopathology* 99, 229-236.
- Corapi, W.V., Dartail, R.J., Audonnet, J.C., Chappuis, G.E., 1995. Localization of antigenic sites of the S glycoprotein of feline infectious peritonitis virus involved in neutralization and antibody-dependent enhancement. *Journal of Virology* 69, 2858-2862.
- Cornelissen, E., Dewerchin, H.L., Van Hamme, E., Nauwynck, H.J., 2007. Absence of surface expression of feline infectious peritonitis virus (FIPV) antigens on infected cells isolated from cats with FIP. *Veterinary Microbiology* 121(1-2), 131-7.

- Chang, H.W., Egberink, H.F., Halpin, R., Spiro, D.J., Rottier, P.J., 2012. Spike protein fusion peptide and feline coronavirus virulence. *Emerging Infectious Diseases* 7, 1089-95.
- Channappanavar, R., Zhao, J., Perlman, S., 2014. T cell-mediated immune response to respiratory coronaviruses. *Immunologic Research* 59(1-3), 118-28.
- de Groot-Mijnes, J.D., van Dun, J.M., van der Most, R.G., de Groot, R.J., 2005. Natural history of a recurrent feline coronavirus infection and the role of cellular immunity in survival and disease. *Journal of Virology* 79(2), 1036-44.
- Dhabhar, F.S., 2009. Enhancing versus suppressive effects of stress on immune function: implications for immunoprotection and immunopathology. *Neuroimmunomodulation* 16(5), 300-17.
- Dedeurwaerder, A., Desmarests, L.M., Olyslaegers, D.A.J., Vermeulen, B.L., Dewerchin, H.L., Nauwynck, H.J. 2013. The role of accessory proteins in the replication of feline infectious peritonitis virus in peripheral blood monocytes. *Veterinary Microbiology* 162(2-4), 447-455.
- Delaplace, M., Huet, H., Gambino, A., Le Poder, S., 2021. Feline Coronavirus Antivirals: A Review. *Pathogens* 10(9), 1150.
- Desmarests, L.M., Vermeulen, B.L., Theuns, S., Conceição-Neto, N., Zeller, M., Roukaerts, I.D., Acar, D.D., Olyslaegers, D.A., Van Ranst, M., Matthijssens, J., Nauwynck, H.J., 2016. Experimental feline enteric coronavirus infection reveals an aberrant infection pattern and shedding of mutants with impaired infectivity in enterocyte cultures. *Scientific reports* 6; 20022.
- Desmarests, L.M.B., Theuns, S., Roukaerts, I.D.M., Acar, D.D., Nauwynck, H.J., 2014. Role of sialic acids in feline enteric coronavirus infections. *Journal of General Virology* 95(9), 1911-1918.
- Dewerchin, H.L., Cornelissen, E., Nauwynck, H.J., 2005. Replication of feline coronaviruses in peripheral blood monocytes. *Archives of Virology* 150, 2483-2500.
- Dewerchin, H.L., Cornelissen, E., Nauwynck, H.J., 2006. Feline infectious peritonitis virus-infected monocytes internalize viral membrane-bound proteins upon antibody addition. *Journal of General Virology* 87, 1685–1690.
- Dewerchin, H.L., Cornelissen, E., van Hamme, E., 2008. Surface-expressed viral proteins in feline infectious peritonitis virus-infected monocytes are internalized through a clathrin- and caveolae-independent pathway. *Journal of General Virology* 89, 2731–2740.
- Drechsler, Y., Alcaraz, A., Bossong, F.J., Collisson, E.W., Diniz, P.P.V.P. 2011. Feline coronavirus in multicat environments. *Veterinary clinics of north America: small Animal Practice* 41(6), 1133–1169.
- Dickinson, P.J., Bannasch, M., Thomasy, S.M., Murthy, V.D., Vernau, K.M., Liepnieks, M., Montgomery, E., Knickelbein, K.E., Murphy, B., Pedersen, N.C., 2020. Antiviral treatment using the adenosine nucleoside analogue GS-441524 in cats with clinically diagnosed neurological feline infectious peritonitis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 34(4), 587-1593.
- Fehr, D., Holznagel, E., Bolla, S., Hauser, B., Herrewegh, A.A., Horzinek, M.C., Lutz, H., 1997. Placebo-controlled evaluation of a modified live virus vaccine against feline infectious peritonitis: safety and efficacy under field conditions. *Vaccine* 10,1101-9.
- Felten, S., Hartmann, K., 2019. Diagnosis of Feline Infectious Peritonitis: A Review of the Current Literature. *Viruses* 11(11), 1068.
- Felten, S., Hartmann, K., Doerfelt, S., Sangl, L., Hirschberger, J., Matiasek, K., 2019. Immunocytochemistry of mesenteric lymph node fine-needle aspirates in the diagnosis of feline infectious peritonitis. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 31(2), 210-216.
- Felten, S., Matiasek, K., Gruendl, S., Sangl, L., Wess, G., Hartmann, K., 2017. Investigation into the utility of an immunocytochemical assay in body cavity effusions for diagnosis of feline infectious peritonitis. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 19(4), 410-418.

- Fischer, Y., Sauter-Louis, C., Hartmann, K., 2012. Diagnostic accuracy of the Rivalta test for feline infectious peritonitis. *Veterinary Clinical Pathology* 41, 558–567.
- Fischer, Y., Weber, K., Sauter-Louis, C., Hartmann, K., 2013. The Rivalta's test as a diagnostic variable in feline effusions – evaluation of optimum reaction and storage conditions. *Tierärztliche Praxis* 41, 297–303.
- Gerber, J.D., Ingersoll, J.D., Gast, A.M., Christianson, K.K., Selzer, N.L., Landon, R.M., Pfeiffer, N.E., Sharpee, R.L., Beckenhauer, W.H., 1990. Protection against feline infectious peritonitis by intranasal inoculation of a temperature-sensitive FIPV-vaccine. *Vaccine* 8(6), 536-42.
- Gil, S., Leal, R.O., Duarte, A., McGahie, D., Sepúlveda, N., Siborro, I., Cravo, J., Cartaxeiro, C., Tavares, L.M., 2013. Relevance of feline interferon omega for clinical improvement and reduction of concurrent viral excretion in retrovirus infected cats from a rescue shelter. *Research in Veterinary Science* 94(3), 753-63.
- Gordon, C.J., Tchesnokov, E.P., Feng, J.Y., Porter, D.P., Gotte, M., 2020. The antiviral compound remdesivir potently inhibits RNA-dependent RNA polymerase from Middle East respiratory syndrome coronavirus. *Journal of Biological Chemistry* 295(15), 4773-4779.
- Gruendl, S., Matiasek, K., Matiasek, L., Fischer, A., Felten, S., Jurina, K., Hartmann, K., 2017. Diagnostic utility of cerebrospinal fluid immunocytochemistry for diagnosis of feline infectious peritonitis manifesting in the central nervous system. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 19(6), 576-585.
- Gunn-Moore, D.A., Gruffydd-Jones, T.J., Harbour, D.A., 1998. Detection of feline coronaviruses by culture and reverse transcriptase-polymerase chain reaction of blood samples from healthy cats and cats with clinical feline infectious peritonitis. *Veterinary Microbiology* 62, 193–205.
- Han, S., Choi, H., Ko, M.G., 2001. Peripheral T cells become sensitive to glucocorticoid- and stress-induced apoptosis in transgenic mice overexpressing SRG3. *Journal of Immunology* 167(2), 805–810.
- Hartmann, K., Binder, C., Hirschberger, J., Cole, D., Reinacher, M., Schroo, S., Frost, J., Egberink, H., Lutz, H., Hermanns, W., 2003. Comparison of different tests to diagnose feline infectious peritonitis. *Journal of veterinary internal medicine* 17(6), 781-90.
- Hartmann, K., 2005. Feline infectious peritonitis. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 35(1), 39–79.
- Harpold, L.M., Legendre, A.M., Kennedy, M.A., Plummer, P.J., Millsaps, K., Rohrbach, B., 1999. Fecal shedding of feline coronavirus in adult cats and kittens in an Abyssinian cattery. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 215(7), 948-51.
- Herrewegh, A.A., DeGroot, R.J., Cepica, A., 1995. Detection of feline coronavirus RNA in feces, tissues, and body fluids of naturally infected cats by reverse transcriptase PCR. *Journal of Clinical Microbiology* 33(3), 684–689.
- Herrewegh, A.A., Smeenk, I., Horzinek, M.C., Rottier, P.J., de Groot, R.J., 1998. Feline coronavirus type II strains 79-1683 and 79-1146 originate from a double recombination between feline coronavirus type I and canine coronavirus. *Journal of Virology* 72(5), 4508-14.
- Holzworth, J., 1963. Some important disorders of cats. *The cornell veterinarian* 53, 157-160.
- Hohdatsu, T., Yamada, M., Tominaga, R., Makino, K., Kida, K., Koyama, H., 1998. Antibody-dependent enhancement of feline infectious peritonitis virus infection in feline alveolar macrophages and human monocyte cell line U937 by serum of cats experimentally or naturally infected with feline coronavirus. *Journal of Veterinary Medical Science* 60, 49–55.
- Hosie, M.J., Addie, D., Belák, S., Boucraut-Baralon, C., Egberink, H., Frymus, T., Gruffydd-Jones, T., Hartmann, K., Lloret, A., Lutz, H., et al., 2009. Feline immunodeficiency. ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 11(7), 575-84.
- Howell, M., Evans, S.J.M., Cornwall, M., Santangelo, K.S., 2020. Multiplex fluorescent immunocytochemistry for the diagnosis of feline infectious peritonitis: Determining optimal storage conditions. *Veterinary Clinical Pathology* 49(4), 640-645.

- Jeffery, U., Deitz, K., Hostetter, S., 2012. Positive predictive value of albumin:globulin ratio for feline infectious peritonitis in a mid-western referral hospital population. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 14,903–905.
- Jones, S., Novicoff, W., Nadeau, J., Evans, S., 2021. Unlicensed GS-441524-Like antiviral therapy can be effective for at-home treatment of feline infectious peritonitis. *Animals* 11, 2257.
- Kennedy, M.A., Brenneman, K., Millsaps, R.K., 1998. Correlation of genomic detection of feline coronavirus with various diagnostic assays for feline infectious peritonitis. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 10, 93-97.
- Kennedy, M.A., 2020. Feline infectious peritonitis update on pathogenesis, diagnostics, and treatment. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 50(5), 1001–1011.
- Klein-Richers, U., Hartmann, K., Hofmann-Lehmann, R., Unterer, S., Bergmann, M., Rieger, A., Leutenegger, C., Pantchev, N., Balzer, J., Felten, S., 2020. Prevalence of Feline Coronavirus Shedding in German Catteries and Associated Risk Factors. *Viruses* 12(9),1000.
- Kipar, A., May, H., Menger, S., Weber, M., Leukert, W., Reinacher, M., 2005. Morphologic features and development of granulomatous vasculitis in feline infectious peritonitis. *Veterinary Pathology* 42, 321-330.
- Kipar, A., Baptiste, K., Barth, A., Reinacher, M., 2006. Natural FCoV infection: cats with FIP exhibit significantly higher viral loads than healthy infected cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 8(1), 69-72.
- Kipar, A., Meli, M.L., Baptiste, K.E., Bowker, L.J., Lutz, H., 2010. Sites of feline coronavirus persistence in healthy cats. *Journal of General Virology* 91, 1698-1707.
- Kipar, A., Meli, M.L., 2014. Feline infectious peritonitis: still an enigma? *Veterinary Pathology* 51(2), 505-526.
- Kummrow, M., Meli, M.L., Haessig, M., Goenczi, E., Poland, A., Pedersen, N, C., Hofmann-Lehmann, R., Lutz, H., 2005. Feline coronavirus serotypes 1 and 2: seroprevalence and association with disease in Switzerland. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 12(10), 1209-15.
- Krentz, D., Zenger, K., Alberer, M., Felten, S., Bergmann, M., Dorsch, R., Matiasek, K., Kolberg, L., Hofmann-Lehmann, R., et al., 2021. Curing Cats with Feline Infectious Peritonitis with an Oral Multi-Component Drug Containing GS-441524. *Viruses* 13(11),2228
- Lai, M.M., Cavanagh, D., 1997. The molecular biology of coronaviruses. *Advances in Virus Research* 48, 1-100.
- Lamb YN., 2020. Remdesivir: First Approval. *Drugs* 80(13), 1355-1363.
- Lewis, K.M., O'Brien, R.T., 2010. Abdominal ultrasonographic findings associated with feline infectious peritonitis: a retrospective review of 16 cases. *Journal of the American Animal Hospital Association* 46(3), 152-60.
- Li, X., Scott, FW., 1994. Detection of feline coronaviruses in cell cultures and in fresh and fixed feline tissues using polymerase chain reaction. *Veterinary Microbiology* 42(1), 65-77.
- Litster, A.L., Pogranichniy, R., Lin, T.L., 2013. Diagnostic utility of a direct immunofluorescence test to detect feline coronavirus antigen in macrophages in effusive feline infectious peritonitis. *Veterinary Journal* 198(2), 362-6.
- Lutz, H., Hauser, B., Horzinek, MC., 1986. Feline infectious peritonitis (FIP): The present state of knowledge. *Journal of small animal practice* 27,108–116.
- Masters, P., Perlman, S., 2013. Coronaviridae. In: Knipe D, Howley P (eds). *Fields virology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 825–858.
- Meli, M.L., Burr, O., Decaro, N., 2012. Samples with high virus load cause a trend towards lower signal in feline coronavirus antibody tests. *Journal of Feline Medical Surgery* 15(4), 295–299.
- Montali, R.J., Strandberg, J.D., 1972. Extraperitoneal Lesions in Feline Infectious Peritonitis. *Veterinary Pathology* 9(2), 109-121.

Morse, J.S., Lalonde, T., Xu, S., Liu, W.R., 2020. Learning from the past: possible urgent prevention and treatment options for severe acute respiratory infections caused by 2019-nCoV. *Chembiochem* 21(5), 730-738.

Murphy, B.G., Perron, M., Murakami, E., Bauer, K., Park, Y., Eckstrand, C., Liepnieks, M., Pedersen, N.C., 2018. The nucleoside analog GS-441524 strongly inhibits feline infectious peritonitis (FIP) virus in tissue culture and experimental cat infection studies. *Veterinary Microbiology* 219, 226-233.

Neuman, B.W., Kiss, G., Kunding, A.H., Bhella, D., Baksh, M.F., Connelly, S., Droese, B., Klaus, J.P., Makino, S., Sawicki, S.G., et al., 2011. A structural analysis of M protein in coronavirus assembly and morphology. *Journal of Structural Biology* 174(1),11-22.

Oley, J.E., Pedersen, N.C., 1996. The inheritance of susceptibility to feline infectious peritonitis in purebred catteries. *Veterinary Practice* 24(1), 14–22.

Olyslaegers, D., 2014. The role of leukocyte extravasation in the pathogenesis of feline infectious peritonitis. Ghent University. Faculty of Veterinary Medicine, Merelbeke, Belgium.

Olyslaegers, D.A., Dedeurwaerder, A., Desmarests, L.M., Vermeulen, B.L., Dewerchin, H.L., Nauwynck, H.J., 2013. Altered expression of adhesion molecules on peripheral blood leukocytes in feline infectious peritonitis. *Veterinary Microbiology* 166(3-4), 438-49.

Paltrinieri, S., Giordano, A., Stranieri, A., Lauzi, S., 2021. Feline infectious peritonitis (FIP) and coronavirus disease 19 (COVID-19): Are they similar? *Transboundary and Emerging Diseases* 68(4), 1786-1799.

Paltrinieri, S., Giordano, A., Tranquillo, V., Guazzetti, S., 2007. Critical assessment of the diagnostic value of feline α 1-acid glycoprotein for feline infectious peritonitis using the likelihood ratios approach. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 19, 266–272.

Pedersen, N.C., 1976. Serologic studies of naturally occurring feline infectious peritonitis. *American Journal of Veterinary Research* 37(12), 1449–1453.

Pedersen, N.C., 1987. Virologic and immunologic aspects of feline infectious peritonitis virus infection. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 218, 529-50.

Pedersen N.C., 1995. The history and interpretation of feline corona- virus serology. *Feline Practice* 23:46–51.

Pederson, N.C., 2009. A review of feline infectious peritonitis virus infection. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 11(4), 1963-2008.

Pedersen, N.C., 2014. An update on feline infectious peritonitis: diagnostics and therapeutics. *Veterinary Journal* 201(2), 133-41.

Pedersen, N.C., Black, J.W., 1983. Attempted immunization of cats against feline infectious peritonitis using either avirulent live virus or sublethal amounts of virulent virus. *American Journal of Veterinary Research* 44, 229–234.

Pederson, N.C., Allen, C.E., Lyons, L.A. 2008. Pathogenesis of feline enteric coronavirus infection. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 10(6), 529-541.

Pedersen, N.C., Liu, H., Scarlett, J., 2012. Feline infectious peritonitis: role of the feline coronavirus 3c gene in intestinal tropism and pathogenicity based upon isolates from resident and adopted shelter cats. *Virus Research* 165(1), 17–28.

Pedersen, N.C., Perron, M., Bannasch, M., Montgomery, E., Murakami, E., Liepnieks, M., Liu, H., 2019. Efficacy and safety of the nucleoside analog GS-441524 for treatment of cats with naturally occurring feline infectious peritonitis. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 21(4), 271-281.

Pesteanu-Somogyi, L.D., Radzai, C., Pressler, B.M., 2006. Prevalence of feline infectious peritonitis in specific cat breeds. *Journal of feline Medical Surgery* 8(1), 1–5.

- Poland, A.M., Vennema, H., Foley, J.E., Pedersen, N.C., 1996. Two related strains of feline infectious peritonitis virus isolated from immunocompromised cats infected with a feline enteric coronavirus. *Journal of Clinical Microbiology* 34(12), 3180–3184.
- Porter, E., Tasker, S., Day, M.J., Harley, R., Kipar, A., Siddell, S.G., Helps, C.R. 2014. Amino acid changes in the spike protein of feline coronavirus correlate with systemic spread of virus from the intestine and not with feline infectious peritonitis. *Veterinary research* 45, 49.
- Regan, A.D., Cohen, R.D., Whittaker, G.R., 2008. Activation of p38 MAPK by feline infectious peritonitis virus regulates pro-inflammatory cytokine production in primary blood-derived feline mononuclear cells. *Virology* 384, 135-143.
- Riemer, F., Kuehner, K.A., Ritz, S., Sauter-Louis, C., Hartmann, K., 2016. Clinical and laboratory features of cats with feline infectious peritonitis--a retrospective study of 231 confirmed cases (2000-2010). *Journal of Feline Medicine and Surgery* 18(4), 348-56.
- Rohrbach, B.W., Legendre, A.M., Baldwin, C.A., Lein, C.A., Reed, D.H., Wilson, R.B., 2001. Epidemiology of feline infectious peritonitis among cats examined at veterinary medical teaching hospitals. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 218(7), 1111–1115.
- Sánchez, C.M., Izeta, A., Sánchez-Morgado, J.M., Alonso, S., Sola, I., Balasch, M., Plana-Durán, J., Enjuanes, L., 1999. Targeted recombination demonstrates that the spike gene of transmissible gastroenteritis coronavirus is a determinant of its enteric tropism and virulence. *Journal of Virology* 73(9), 7607-18.
- Siegel, D., Hui, H.C., Doerffler, E., Clarke, M.O., Chun, K., Zhang, L., Neville, S., Carra, E., Lew, W., Ross, B., et al., 2017. Discovery and Synthesis of a Phosphoramidate Prodrug of a Pyrrolo[2,1-f] [triazin-4-amino] Adenine C-Nucleoside (GS-5734) for the Treatment of Ebola and Emerging Viruses. *Journal of Medicinal Chemistry* 60(5), 1648-1661.
- Stout, A.E., André, N.M., Jaimes, J.A., Millet, J.K., Whittaker, G.R., 2020. Coronaviruses in cats and other companion animals: Where does SARS-CoV-2/COVID-19 fit? *Veterinary Microbiol* 247, 108777.
- Stranieri, A., Giordano, A., Paltrinieri, S., Giudice, C., Cannito, V., Lauzi, S., 2018 Comparison of the performance of laboratory tests in the diagnosis of feline infectious peritonitis. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigations* 30(3), 459-463.
- Stranieri, A., Scavone, D., Paltrinieri, S., Giordano, A., Bonsembiante, F., Ferro, S., Gelain, M.E., Meazzi, S., Lauzi, S., 2020. Concordance between Histology, Immunohistochemistry, and RT-PCR in the Diagnosis of Feline Infectious Peritonitis. *Pathogens* 9(10), 852.
- Szajewska, H., Kołodziej, M., Gieruszczak-Białek, D., Skórka, A., Ruszczyński, M., Shamir, R., 2019. Systematic review with meta-analysis: *Lactobacillus rhamnosus* GG for treating acute gastroenteritis in children - a 2019 update. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 49(11),1376-1384.
- Tammer, R., Evensen, O., Lutz, H., Reinacher, M., 1995. Immunohisto- logical demonstration of feline infectious peritonitis virus antigen in paraffin-embedded tissues using feline ascites or murine monoclonal antibodies. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 49, 177–182.
- Takano, T., Ishihara, Y., Matsuoka, M., Yokota, S., Matsuoka-Kobayashi, Y., Doki, T., Hohdatsu, T., 2013. Use of recombinant nucleocapsid proteins for serological diagnosis of feline coronavirus infection by three immunochromatographic tests. *Journal of Virological Methods* 196, 1–6.
- Takano, T., Morioka, H., Gomi, K., Tomizawa, K., Doki, T., Hohdatsu, T., 2014. Screening and identification of T helper 1 and linear immunodominant antibody-binding epitopes in spike 1 domain and membrane protein of feline infectious peritonitis virus. *Vaccine* 32(16), 1834-40.
- Takano, T., Ohyama, T., Kokumoto, A., Satoh, R., Hohdatsu, T., 2011. Vascular endothelial growth factor (VEGF), produced by feline infectious peritonitis (FIP) virus-infected monocytes and macrophages, induces vascular permeability and effusion in cats with FIP. *Virus Research* 158(1-2), 161-8.

- Thayer, V., Gogolski, S., Felten, S., Hartmann, K., Kennedy, M., Olah, G.A., 2022 AAFP/EveryCat Feline Infectious Peritonitis Diagnosis Guidelines. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 24(9), 905-933.
- Taylor, S.S., Tappin, S.W., Dodkin, S.J., Pappasoulotis, K., Casamian-Sorrosal, D., Tasker, S., 2010. Serum protein electrophoresis in 155 cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 12, 643–653.
- Venkatagopalan, P., Daskalova, S.M., Lopez, L.A., Dolezal, K.A., Hogue, B.G., 2015. Coronavirus envelope (E) protein remains at the site of assembly. *Virology* 478,75-85.
- Vennema, H., Poland, A., Foley, J., Pedersen, N.C., 1998. Feline infectious peritonitis viruses arise by mutation from endemic feline enteric coronaviruses. *Virology* 243, 150-157.
- Walter, J.H., Rudolph, R., 1989. Untersuchungen zur Häufigkeit und zur Pathogenese der Felinen Infektiösen Peritonitis (FIP) [The frequency and pathogenesis of feline infectious peritonitis (FIP)]. *Dtsch Tierarztl Wochenschr* 96(4),194-6, 201.
- Warren, T.K., Jordan, R., Lo, M.K., Ray, A.S., Mackman, R.L., Soloveva, V., Siegel, D., Perron, M., Bannister, R., Hui, H.C., et al., 2016. Therapeutic efficacy of the small molecule GS-5734 against Ebola virus in rhesus monkeys. *Nature* 531(7594), 381-5.
- Weiss, R.C., Scott, F.W., 1981. Antibody-mediated enhancement of disease in feline infectious peritonitis: Comparisons with dengue hemorrhagic fever. *Comparative Immunology, Microbiology, and Infectious Disease* 4, 175–189.
- Yan, V.C., Muller, F.L., 2020. Advantages of the Parent Nucleoside GS-441524 over Remdesivir for Covid-19 Treatment. *ACS Medicinal Chemistry Letters* 11(7), 1361-1366.
- Zhao, P., Cao, J., Zhao, L.J., Qin, Z.L., Ke, J.S., Pan, W., Ren, H., Yu, J.G., Qi, Z.T., 2005. Immune responses against SARS-coronavirus nucleocapsid protein induced by DNA vaccine. *Virology* 331(1), 128-35.