

NOVINKY K INFEKČNÍ PERITONITIDĚ KOČEK (FIP)



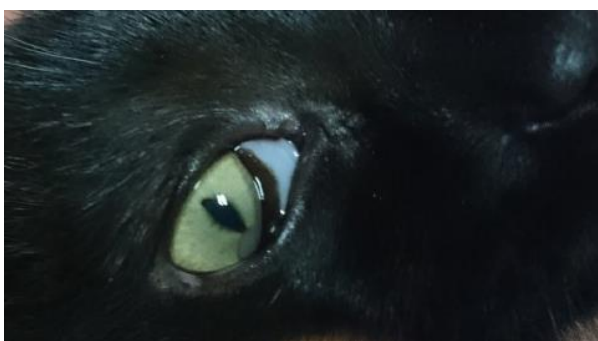
Infekční peritonitida koček (FIP) byla do nedávna smrtelným onemocněním prokazatelným pouze na základě patologického vyšetření. Momentálně se objevuje stále více možností laboratorní diagnostiky a terapie.

Několikrát v roce Vás zveme k zajímavé diskusi mezi experty, ve které jsou fundovanými vědci diskutována jednotlivá témata a zodpovězeny napínavé dotazy. Vybrali jsme pro vás nejdůležitější otázky k tématu FIP.

Účastníci vědecké diskuze k tématu FIP

Profesorka Katrin Hartmann z LMU v Mnichově, její četné studie k FIP a především publikace o orální terapii substancí GS-441524 obsaženou v Xraphconn® (fi. Mutian) vzbudila pozornost. Důležité podklady dodala expertka na poli laboratorní diagnostiky, profesorka Regina Hofmann-Lehmann z univerzity v Curychu. Zabývala se tématem PCR v rámci diagnostiky FIP. Profesor Wolfgang Bäumer z farmaceutické univerzity v Berlíně osvětlil téma terapie FIP z pohledu práva v oblasti

farmakologie. Vanessa Steppuhn je členkou dobročinné organizace #gemeinsamgegenfip (společneprotifip). Tato organizace se postarala během terapie GS-441524 o skupinu čítající přes 3000 koček s FIP.



Obrázek 1: infekční peritonitida (FIP) v oku kočky.
Zdroj obrázku: Dr. Jennifer Luckner.

Diagnostika

Často jsme dotazováni na protilátky proti koronaviru ve vztahu k onemocnění FIP- co můžeme vyčíst z titru protilátek? Jakou diagnostiku nám radíte?

Profesorka Hofmann-Lehmann zdůrazňuje, že protilátky proti koronaviru nejsou v diagnostice FIP nijak nápomocné. Titr protilátek nám neříká nic o tom, zda má kočka FIP nebo ne (obrázek 1). Negativním testem na protilátky navíc nelze vyloučit onemocnění FIP. Dobré výsledky oproti tomu nabízí PCR z krve, výpotku nebo tkání. Velmi užitečná je kvantifikace virových partikulí ve vzorku. PCR z trusu pacienta však není v diagnostice FIP nápomocné, má význam pouze ve větších chovech koček.

Na otázku, zda-li je nezbytně nutné v každém případě prokázat mutaci, odpovídá Katrin Hartman, že není. Toto je smysluplné pouze u klinicky nejasných případů s pouze minimální virovou zátěží. U koček s nálezy

typickými pro FIP (obrázek 2), u kterých byla prokázána vysoká virová zátěž v krvi, ve výpotku nebo v tkáních, je diagnóza jistá i bez sekvenování na přítomnost mutace. Navíc nelze pomocí stávajících metod prokázat mutaci ve všech případech.



Obrázek 2: pozitivní Rivaltova zkouška, doplňkový diagnostický test, nikoli průkaz onemocnění.

Co se týče postupu po diagnóze: pokud byla v domácnosti FIP pozitivní kočka, jak velké je riziko, že onemocní i další kočky?

Paní Steppuhn uvádí k tomuto dotazu vlastní zkušenosti: skutečně se stává, že v domácnostech s vyšším počtem koček, onemocní další kočky. Naopak se to stává vzácně v domácnosti s jednou kočkou, kterou nahradí jiná. Pozorování se však shodují s vědeckými názory, že se u těchto případů FIP jedná o individuální onemocnění.

Profesorka Hartmanová a profesorka Hofman-Lehmanová potvrzují, že vzplanutí infekce souvisí s vysokým infekčním tlakem, stresory nebo genetickými predispozicemi. Onemocnění FIP vzniká mutací v samotném jedinci, ne přenosem mutovaného kočičího koronaviru (FCoV). Testy, které s jistotou identifikují predisponované kočky neexistují. Momentálně vycházíme z faktu, že časté reinfekce FCoV zvyšují pravděpodobnost vzniku FIP. Proto je velmi důležitá hygiena stejně jako izolace koček, které vylučují trus s vysokou koncentrací koronaviru.

Terapie FIP a její právní aspekty

Úspěch s analogem nukleotidu GS-441524 je momentálně tématem číslo 1. Tým expertů se tímto tématem intenzivně zabýval.

První z otázek byla směřována na paní Steppuhn. Vztahovala se k vlastním zkušenostem ve skupině #gemeinsamgegenfip.

Paní Steppuhn hovoří o velmi dobrých výsledcích. Asi 90 % koček se uzdraví natrvalo. Bohužel je léčba podle dosavadního protokolu finančně velmi náročná. Vyžaduje každodenní podávání podkožních injekcí po dobu 84 dnů. Navíc je nezbytný veterinární dozor, protože pacienti jsou často ve velmi špatném zdravotním stavu. Vedle podávání léků tedy potřebují kočky intenzivní lékařskou pomoc. Nutné jsou i pravidelné krevní vyšetření. Čisté náklady za léky činí za celé období cca 35 tisíc euro.

Orální terapie bude v budoucnosti určitě velmi důležitá. Z vlastní zkušenosti se zacházením s orálním lékem Xraphconn® úspěšně

testovaným na LMU, potvrzuje profesorka Hartman, že veterinární péče (často intenzivní) je esenciální pro pacienty s FIP.

Remdesivir je tzv. prolék GS-441524 a v těle podléhá odpovídající metabolizaci. Nemocniční lékárny mohou tento lék od 1.6.2021 objednávat a jedná se o schválený lék. Nemělo by tedy být použití off-label ve skutečnosti možné?

Profesor Bäumer toto v podstatě potvrzuje. Ovšem neznamená to, že je dostupný i pro veterinární trh. Schválení se týká pouze zmiňovaných lékáren. Veterinární lékaři ho nesmí kupovat.

Následná otázka přirozeně vyplývá: je ze strany výrobce Gilead snaha schválit GS-441524?

Profesor Bäumer toto dopředu zjišťoval. Dle sdělení firmy Gilead se tak nestane. Profesor Bäumer zdůrazňuje, že pro veterinární trh neexistují žádné schválené dostupné speciality GS-441524 i přesto, že na internetu někteří prodejci toto zdání vzbuzují.

Profesorka Hartmanová zmínila, že lékárna BOVA v Anglii může legálně přeformulovat substanci GS-441524, dokud nebude dostupný schválený preparát na trhu. Momentálně se přezkoušuje možnost orálního preparátu. Je plánována velká a dlouhotrvající vědecká studie.

Profesor Bäumer však upozorňuje, že němečtí veterináři mají svázané ruce, pokud nebudou pacienti ošetřeni v rámci vědecké studie. Preparát totiž není v EU schválen pro

veterinární užití a proto nemůže být importován.

Jak to vypadá s importem látky na černý trh? Jaké hrozí postihy/pokuty?

Profesor Bäumer zdůrazňuje: import substance GS-441524 veterinárním lékařem je trestný čin. Veterinární lékař riskuje ztrátu licence. (*Pozn. překladatelů: legislativa ČR se v tomto může lišit*).

Jaké mají veterináři legální možnosti upozornit chovatele na tuto možnost terapie? Mohou je v léčbě podpořit?

Profesor Bäumer potvrzuje, že pro veterinárního lékaře není trestné, pokud doporučí léčbu GS-441524 a to ani v případě, že tato substance není v EU schválena. Veterinární lékař by však neměl podat zvířeti preparát, který mu sehnal chovatel.

Vypracovali jsme ještě pár důležitých otázek k diagnostice. Imunohistochemické vyšetření bioptátu na přítomnost FCov stále zůstává zlatým standardem v diagnostice onemocnění FIP. Kvantitativní vyšetření PCR však nabývá stále více na významu.

Je imunohistochemie v Německu dostupná?

Ano. Např. Laboklin nabízí toto vyšetření z tkáňových bioptátů. Výsledky studií však vyvolávají pochyby o specifitě a senzitivitě FCov barvení u cytologických preparátů (Felten et al., 2017; Hellemans et al., 2020;

Litster et al., 2013) a proto toto vyšetření Laboklin nenabízí.

Jak si stojí kvantitativní PCR v porovnání s imunohistochemií?

Pozitivní imunohistochemie bioptátů je velmi specifická a spolehlivá metoda. Pozitivní výsledek je potvrzením diagnózy. Negativní výsledek bohužel zcela nevylučuje onemocnění FIP, protože FCoV může být v tkáni nerovnoměrně rozptýlený. Pokud je výsledek histologického vyšetření nejasný, je vhodné provést další řezy. V takových případech je kontakt ošetřujícího doktora s patologem

esenciální (Stranieri et al., 2020; Tasker, 2018) .

Vyšetření tkání pomocí real-time PCR (RT-PCR) se podle typu vyšetřované tkáně velmi přibližuje imunohistochemickému vyšetření. Např. u plic a jater nebyl zjištěn žádný významný rozdíl mezi jednotlivými vyšetřeními. U ostatních orgánů byla specifita imunohistochemického vyšetření ve výrazné výhodě (méně falešně pozitivních výsledků). Studie, ze které byla tato data vyvozena neudává žádnou kvantifikaci (Stranieri et al., 2020).

U obou typů vyšetření je nutné dbát na odběr vizuálně změněné tkáně.

Pro praxi je však relevantní porovnání kvantitativní PCR z tekutiny (např. punktát z DB nebo DH) a imunohistochemie z orgánu. Jinými slovy, je PCR z punktátu dostačující ke stanovení diagnózy a není tedy potřeba dělat biopsii orgánu? Zde se již jedná o výrazně složitější otázku. U komorové tekutiny a liquoru jsou výsledky studií velmi variabilní

a je otázkou, jak spolehlivý je zde výsledek PCR vyšetření. U krve existují také různé výsledky. Vypovídací hodnota PCR pravděpodobně závisí na výběru pacienta a na kvalitě prováděného vyšetření. U RT-PCR z punktátů se senzitivita podle různých studií pohybuje mezi 72-100 %, s velmi nízkým počtem falešně pozitivních výsledků. Pokud je pomocí kvantitativní PCR detekována velká virová zátěž při současné existenci podezřelých symptomů, je onemocnění FIP velmi pravděpodobné. Potvrzení diagnózy pomocí imunohistochemického vyšetření pak není ve většině případů nezbytné. Pokud je však virová zátěž nízká a/nebo klinické obtíže spojené s FIP nejsou výrazné, je imunohistochemické vyšetření jistější metodou pro stanovení definitivní diagnózy (Barker et al., 2017; Doenges et al., 2016; Dunbar et al., 2019; Felten et al., 2017; Stranieri et al., 2018; Stranieri et al., 2020).

Provádí Laboklin kvantitativní PCR vyšetření na koronavirus a z jakého materiálu?

Ano, Laboklin nabízí kvantitativní PCR vyšetření na koronavirus (počet kopií FCoV ve vzorku). Toto vyšetření bylo dříve prováděno pouze ze stolice. Nyní provádí Laboklin vyšetření i z EDTA krve a z punktátů.

Interpretace ze vzorku odebraného tenkojehelnou aspirací je obtížná, protože při zaslání není jasný skutečný obsah buněk ve vzorku. Kvantitativní výsledek je vždy vztažen k nějaké veličině (mg trusu, ml krve/punktátu). Ct-hodnotu poskytujeme na vyžádání. Můžeme tak dedukovat množství viru ve vzorku.

Je váš test validován?

Laboklin je akreditovaná laboratoř, tzn. že pravidelně podstupuje kontroly ve všech sekcích laboratoře. PCR tedy také prochází odpovídající kontrolou.

Dr. Jennifer von Luckner

Literatura:

- Barker EN, Stranieri A, Helps CR, Porter EL, Davidson AD, Da MJ. Limitations of using feline coronavirus spike protein gene mutations to diagnose feline infectious peritonitis. *Vet Res.* 2017; 48: 60.
- Doenges SJ, Weber K, Dorsch R, Fux R, Fischer A, Matiasek LA. Detection of feline coronavirus in cerebrospinal fluid for diagnosis of feline infectious peritonitis in cats with and without neurological signs. *J Feline Med Surg.* 2016; 18: 104-109.
- Dunbar D, Kwok W, Graham E, Armitage A, Irvine R, Johnston P, McDonald M, Montgomery D, Nicolson L, Robertson E, Weir W, Ad-die DD. Diagnosis of non-effusive feline infectious peritonitis by reverse transcriptase quantitative PCR from mesenteric lymph node fine-needle aspirates. *J Feline Med Surg.* 2019; 21: 910-921.
- Felten S, Matiasek K, Gruendl S, Sangl L, Wess G, Hartmann K. Investigation into the utility of an immunocytochemical assay in body cavity effusions for diagnosis of feline infectious peritonitis. *J Feline Med Surg.* 2017; 19: 410-418.
- Hellems A, Acar DD, Stroobants VJE, Theuns S, Desmarets LMB, Nauwynck HJ. A comparative study of techniques used for the diagnosis of effusive feline infectious peritonitis. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift.* 2020; 89: 100-110.
- Litster AL, Pogranichniy R, Lin T-L. Diagnostic utility of a direct immunofluorescence test to detect feline coronavirus antigen in macrophages in effusive feline infectious peritonitis. *Vet J.* 2013; 198: 362-366.
- Stranieri A, Giordano A, Paltrinieri S, Giudice C, Cannito V, Lauzi S. Comparison of the performance of laboratory tests in the diagnosis of feline infectious peritonitis. *J Vet Diagn Invest.* 2018; 30 (3): 459-463.
- Tasker S. Diagnosis of feline infectious peritonitis: Update on evidence supporting available tests. *J Feline Med Surg.* 2018; 20(3):228-243.
- Stranieri A, Scavone D, Paltrinieri S, Giordano A, Bonsembiante F, Ferr S, Glain ME, Meazzi S, Lauzi S. Concordance between Histology, Immunohistochemistry, and RT-PCR in the Diagnosis of Feline Infectious Peritonitis. *Pathogens.* 2020; 9(10) :852.