



## Feline İnfeksiyöz Peritonitise Genel Bakış ve Antiviral Yaklaşımlar

Hanne Nur KURUÇAY\*, Semra Okur GÜMÜŞOVA

Viroloji Anabilim Dalı, Veteriner Fakültesi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, 55139 Atakum, Samsun, Türkiye

 Kuruçay HN 0000-0001-5157-2090  Gümüşova Okur S 0000-0001-8574-521X

\*Corresponding Author's E-Mail: : kurucayhannur@gmail.com

### Özet

Feline Enfeksiyöz peritonitis (FIP) kedilerde coronavirusların sebep olduğu bir enfeksiyondur. Virusun iki serotipi iki biyotipi tanımlanmıştır. Dünya çapında baskın olan serotipi FCoV-1 dir. FIP tüm dünyadaki kedilerde görülen enterik coronavirusdaki spesifik mutasyonlarla ortaya çıkar. Kalabalık ortamlarda barındırılan hayvanlarda hastalığın görülme riski artar. Efüziv formun tanısı non efüziv forma göre daha kolaydır ancak yine de hastalığın kesin teşhisi zordur. Etkili antiviral çalışmaları hala devam etmektedir.

Received 06 January 2021  
Accepted 06 January 2021  
Published 3 September 2021

**Anahtar Kelimeler:**  
*Feline enfeksiyöz peritonit, tanı, antiviral yaklaşım.*

**Cite this article:** Kuruçay HN, Gümüşova Okur S (2021) Feline İnfeksiyöz Peritonitise Genel Bakış ve Antiviral Yaklaşımlar. Turk Vet J, 3(1):4-12.

### Overview and Antiviral Approaches of Feline Infectious Peritonitis

#### Abstract

*Feline Infectious peritonitis (FIP) is an infectious disease of cats caused by one of the coronaviruses. There are two serotypes of this virus as well as two biotypes have been identified until now, however, the dominant worldwide serotype is FCoV-1. The emergence of this FIP virus occurred as result of a specific mutation in the enteric coronavirus that was seen in cats around the globe. The risk of this disease increases in animals housed in crowded environments. Even though the FIP effusive form is easier to diagnose than the non-effusive form, but the exact diagnosis of the disease is still difficult. Effective antiviral studies are still ongoing for this disease.*

**Key Words:** *Feline infectious peritonitis, diagnosis, antiviral Approach*

#### Giriş

Kedilerin enfeksiyöz peritonitisi ilk olarak 1960'larda kedilerin sistemik ölümcül bir hastalığı olarak tanımlanmıştır. Coronaviridae ailesinde Alphacoronavirus genusu içinde sınıflandırılan virus için iki farklı serotip tanımlanmıştır. Serotip I yaygın olarak görülürken serotip II daha nadir görülür ( MacLachlan ve Dubovi, 2017).

Bu sınıflandırmadan ayrı olarak, Feline Coronavirus (FCoV) iki biyotipe ayrılır. Bunlar; düşük patojenik kedi enterik coronavirusu (FECV: düşük virülensli FCoV) ve yüksek patojenik FIP (Feline İnfeksiyöz Peritonitis) virusudur (FIPV: yüksek virülensli FCoV) (Pedersen, 2014) Tüm dünyadaki kedilerde, önemli bir patojen olan kedi enterik coronavirusundaki (FECV) spesifik mutasyonlar ile ortaya çıkan FIPV, 9 haftalıktan 16 aylağa kadar olan kalabalık kedi popülasyonları arasında (barınaklarda yaşayan ya da serbest dolaşan) yaygın olarak bildirilmiştir (Pedersen, 2004; 2008; 2009). FECV'ye ilk maruz kalma ile hastalığın klinik belirtileri arasındaki süre 2-3 haftadan, birkaç aya kadar uzayabilir. Bu periyotta hastalık subklinikten

linik duruma ilerler. Subklinik enfeksiyonlar genellikle mezenterik lenf düğümleri ile sınırlıdır. (Pedersen ve Black, 1983; Legendre ve Bartges, 2009; Pedersen, 2009). Ancak FIPV'de kedilerin belirgin iyileşme gösterdiği nadir durumlar olsa da klinik belirtiler aylar, hatta yıllar sonra da devam edebilir. Klinik belirtiler ile ölüm arasındaki hastalık seyri değişkendir ancak genellikle genç kedilerde bu süre daha kısadır.

Bu derleme, FIPV enfeksiyonları ve kullanılan antiviraller hakkındaki bilgilerin güncellenmesi derlenmesi amacı ile hazırlanmıştır. FIPV' nin nasıl bulaştığı konusu hala tam olarak bilinmemektedir. Birçok kedide FCoV hastalık oluşturmadan enterositlerde bulunur. Bu kediler dışkı ile virüsü yayarak diğer kedileri enfekte ederler. Virus, kediler arasında dışkı ve salyanın oral veya nazal yolla alınması ile bulaşır. Enfekte kedilerde virus yayılımı 2 ay kadar devam eder. Hemcinsleriyle kalabalık ve aynı ortamda bulunan neredeyse tüm kediler FCoV ile enfekte olurlar. FCoV partikülleri ağızdan alındıktan 24 saat sonra tonsiller ve ince bağırsağa ulaşmaktadır. Bu kediler yaklaşık 1 hafta içinde

seropozitif tespit edilirler. Enfekte kediler 2 gün de dışkı ile etkeni yaymaya başlarlar (Aytuğ, 2008). Hastalık karakteristik olarak efüziv (ıslak) ve non efüziv (kuru) olmak üzere iki formda görülür. İlk klinik bulgular anoreksi, kronik ateş, halsizlik ve kilo kaybı ile kendini gösterir. Efüziv formda bu belirtilere ek olarak karın boşluğunda visköz bir sıvı birikimi görülür. Efüziv olmayan form da ise oküler, nörolojik belirtiler ve bazı organlarda piyogranümatöz inflamasyon odakları görülür (MacLachlan ve Dubovi, 2017).

### Laboratuvar Tanı

FIPV tanısı öncelikle kedilerin yaşı, orijini, klinik bulguları ve fiziksel muayenesi göz önüne alınarak yapılır. Kalıcı fakat dalgalı bir ateş gösteren, kalabalık ortamlardan alınan 4-36 aylık kediler FIPV için şüphelidir. Abdominal efüzyon, pleural efüzyonlu dispne, sarılık, hiperbilirubinüri, böbreklerde ve/veya mezenterik lenf yumrularında belirgin kitleler, üveitis beyin veya omurilikte nörolojik bulguların tümü FIPV' nin efüziv veya efüziv olmayan formları ile ilişkilidir (Pedersen, 2014). Periton boşluğunda karakteristik altın renkli sıvının varlığı FIPV' nin ıslak formunun belirgin tanısal özelliklerinden biridir. FIPV efüzyonları orta derecede bulanık, viskoz (yumurta akı kıvamında) yüksek proteinli ve berraktır. Genellikle bir serum tüpüne yerleştirildiğinde kısmi pıhtı oluştururlar (Zoia ve ark., 2009). FIPV efüzyonlarının içeriği; makrofajlar, nötrofiller ve düşük lenfosit proliferasyonu da dahil olmak üzere çok sayıda hücre içerir (500-5000/ $\mu$ L) (Pedersen, 2014).

Tanımda kullanılan klasik testler: Bu testler tam kan sayımı (CBC), total serum proteini, albümin ve globülin seviyeleri, A/G oranlarını içerir. Tam kan sayımında genellikle lökositozis ve lenfositopeni görülmektedir. Artan serum proteini ile düşük A/G oranları yaygın olarak görülmektedir (Addie ve ark., 2009; Pedersen, 2009; Drechsler ve ark., 2011).

Taylor ve ark., (2010), Bristol Üniversitesinde yaptıkları bir çalışmada, kedilerden alınan tüm serum protein elektroforez (SPE) sonuçlarını retrospektif olarak değerlendirmişler ve 155 olgunun 136'sında (%87.7) anormal serum protein elektroforezi profilleri gördüklerini ve en fazla artışın gama globülin değerlerinde olduğunu bildirmişlerdir.

Rivalta Testi FIPV 'nin teşhisinde uzun süredir kullanılmaktadır. Test, zayıf asetik asit solüsyonu içeren bir tüpe birkaç damla torasik efüzyon sıvısının konulmasını içerir. Rivalta testi %91

duyarlılığa, %58'lik pozitif öngörü değerine sahiptir (Fischer ve ark., 2012).

Oküler FIPV genellikle üveitis ile kendini gösterir. İdiopatik üveitisli kedilerde kan/serumda mikrobiyal nükleik asitler, antijenler veya herhangi bir etkene karşı antikor nadiren bildirilirken, enfekte kedilerde serumdaki feline coronavirus  $\geq 1:6400$  titresi yalnızca FIPV' li kedilerde tespit edilmiştir. FIPV' li kedilerde, humor akuozusun, baskın olarak nötrofil, lenfosit ve plazma hücreleri içerdiği bildirilmiştir (Pedersen, 2014).

Feline Coronavirus antikor titreleri ile ilişkili temel problem, birbiriyle hemen hemen aynı olan FECV ve FIPV' lerin indirekt immunofloresan testinde aynı antikor tepkileri uyandırmasıdır. Sağlıklı kedilerde 1:600 antikor titresi varken titre  $\geq 1:3200$  olduğunda FIPV' yi düşündürür (Hartmann ve ark., 2003).  $< 1: 100$  titrelerine sahip sağlıklı kediler nadiren dışkılarına FECV saçarken, 1:400 titrelerine sahip kedilerin dışkıları kedi coronavirusu için genellikle pozitifdir (Pedersen ve ark., 2008).

Tanımda kullanılabilir bir diğer parametre  $\alpha$ -1 Asit glikoprotein (AGP)' dir. AGP enfeksiyonlarda ve yarısal durumlarda ortaya çıkan akut faz proteindir ve FIPV' ye spesifik bir parametre değildir. Özellikle Avrupa'da FIPV teşhisinde sıklıkla kullanılmaktadır. Duthie ve ark., (1997) serumdaki normal AGP düzeylerinin  $> 1.5$  g/L olduğunu bildirmişlerdir. FIPV' li kedilerde plazmadaki AGP düzeyleri 1500  $\mu$ g/ml olarak tespit edilmiştir (Aytuğ, 2008).

FIPV' nin postmortem ve histopatolojik bulguları ile klinik ve histolojik bulguları genellikle benzerdir. Hastalıklı dokuların yeterli histopatolojik incelemesini içeren kapsamlı bir nekropsi, tanıyı doğrulamak için doğru bir yol olabilir. Ancak bu yöntemlerle her zaman kesin tanıya varılamamaktadır (Pedersen., 2014).

FIPV' in kesin tanısının konulabilmesi için klinik bulguların ve enfekte dokulardaki viral RNA'nın immunohistokimya yada Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile tespitinin birlikte yapılması gerekmektedir.

PCR Tabanlı Testler: Viral nükleik asidin tespitine dayanan testler neredeyse 20 yıldır FIPV' nin teşhis edilmesine yardımcı olmak için kullanılmıştır (Li ve Scott, 1994). PCR, kedi coronavirusları için dışkıda veya dokularda viral RNA'nın saflaştırılması ile başlar ve RNA tamamlayıcı DNA'ya (cDNA) kopyalanır. Sonrasında ise feline coronavirusun spesifik sekansını kodlayan küçük bir DNA bölgesi binlerce kez çoğaltılır ve ürün jel elektroforezinde tek bir bant olarak tanımlanır.

Araştırmacılar PCR' nin duyarlılığını artırmak için çeşitli iyileştirmeler üzerinde çalışmışlar Nested PCR gibi daha hassas bir nükleik asit tespit yöntemiyle az miktarda kedi coronavirus RNA'sını tespit edebilmişlerdir. Nested PCR birinci aşamada viral cDNA'nın daha büyük bir parçasının çoğaltılarak bu PCR ürününün saflaştırıldığı, daha sonra ikinci bir reaksiyon ile bu büyük amplifiye DNA'dan daha küçük bir parçanın büyütüldüğü >%90 duyarlılığa sahip bir yöntemdir (Gamble ve ark., 1997).

Nested PCR çok hassas olmasına rağmen DNA' nın PCR ürünleri ile kontamine olabilmesi nedeniyle yanlış pozitif reaksiyonlar oluşabilmektedir. Kontaminasyon probleminden kurtulmak için ise Gerçek Zamanlı PCR (Real Time) tercih edilmeye başlanmıştır. Birçok araştırma ile bu yöntemin hem deneysel hem de doğal enfekte kedilerde FCoV tespitinde kullanılabilir olduğu duyarlı, yarı kantitatif ve spesifik bir yöntem olduğu bildirilmiştir (Pedersen ve ark., 2008; Pedersen ve ark., 2009; Pedersen ve ark., 2012; Kipar ve ark., 2010; Vogel ve ark., 2010; An ve ark., 2011; Addie ve ark., 2012; Amer ve ark., 2012; Wang ve ark., 2013).

Gerçek zamanlı PCR dışkıda ve hastalıklı dokularda/efüzyonlarda coronavirus RNA'sını saptamanın hassas bir yoludur. Bununla birlikte, nükleik asit varlığının belirlendiği testlerin hastalıklı dokularda FIPV varlığını doğrulamakta sadece %80-90 oranında başarılı olduğu saptanmıştır (Sharif ve ark., 2010).

FECV RNA' sının FIPV RNA'sından ayırt edilmesi gerektiği oldukça erken fark edilmiştir (Herrewegh ve ark., 1995). FECV' lerin sadece bağırsakta bulunan ve dokularda çoğalmayan bir formda bulunduğu teorisine dayanarak sadece dokularda çoğalan FCoV' lerin tespiti için bir test geliştirilmiştir. Bu testin daha önce FIPV pozitif olduğu kanıtlanmış kedilerin %93'ünü doğru bir şekilde teşhis ettiği iddia edilmiştir (Simons ve ark., 2005). Ancak aynı prosedürü kullanan ikinci bir çalışmada özellikle sağlıklı 6-12 yaş aralığındaki kedilerin %54' ü pozitif olarak tespit edilmiştir (Can-Sahna ve ark., 2007).

FECV ve FIPV enfeksiyonlarının ayrımı, FIPV' ye özgü mutasyonları tanımlayan testler tasarlanarak yapılabilir. FIPV' ye özgü mutasyonların spike veya yüzey proteininin füzyon proteini bölgesi içindeki iki nükleotid değişkeni ile oluştuğu saptanmıştır (Change ve ark., 2010). Bu mutasyonlardan herhangi birinin hastalıklı dokularda tespit edilen FIPV' lerin >% 98' inde meydana geldiği ancak mutasyonların kanda saptanabilir seviyelerde bulunup bulunmadığına dair herhangi veri olmadığı,

ayrıca mutasyonların abortif veya subklinik enfeksiyonları olan kedilerde de bulunabileceği ifade edilmiştir (Porter ve ark., 2014).

**İmmunohistokimyasal Boyama Yöntemi:** Hastalıklı dokuların immunohistokimya veya sıvıların immunofloresan yada immunoperoksidaz yöntemleriyle incelenmesinin Gerçek Zamanlı PCR kadar güvenilir olabileceği ancak bu testlerin doğruluğunun, kullanılan reaktiflerin kalitesi, örneklenen dokular ve incelemeyi yapan uzmanın uzmanlığı ile sınırlı olduğu ayrıca FIPV şüpheli kedilerin efüzyonlarının genellikle preperatlara yapışan çok sayıda virus pozitif makrofaj içerdiği, ancak tespitite spesifik olmayan pozitif boyamaların olabileceği ortaya konulmuştur (Pedersen, 2014).

Listler ve ark. (2013), postmortem ve antemortem feline coronavirus enfeksiyonlarında direkt immunofloresandan elde edilen sonuçları abdominal veya torasik efüzyonlu 17 kedi ile karşılaştırmış, yapılan histopatolojik incelemede 10/17 vaka da FIPV' yi doğrulamıştır. FIPV' li 7/17 vakanın 5' inde direkt immunofloresan testi negatif, 2' sinde ise pozitif olduğunu belirleyerek immunohistokimya testinin duyarlılığını %100, özgüllüğünü ise %71.4 olarak hesaplamışlardır.

### **Güncel antiviral ilaç yaklaşımları**

FIPV' li kedileri tedavi etmek için diğer viral enfeksiyonlarda da (İnsan immun yetmezlik virusu tip 1, hepatit B ve C) kullanılan viral replikasyonu inhibe eden ilaçlar kullanılmaktadır. İkinci bir tedavi seçeneği, interferon gibi maddelerle inflamatuvar yanıtı engellemektir. İnterferon nadiren bağımsız olarak çalışırken genellikle spesifik antiviral ilaçlar ile birleştirildiğinde (ribavirin, tenofovir, entecavir) başarılı olmuştur. Üçüncü bir tedavi yaklaşımı ise enfeksiyonun üstesinden gelebileceği ümidiyle spesifik olarak bağışıklık sistemini uyarmaktır. Bazen bu tedavi seçeneklerinin biri veya birkaçı birleştirilerek kullanılır (Hartmann ve Ritz, 2008).

Antiviral ilaçlar iki tiptedir. Birinci tip antiviral ilaçlar, virusların replikasyonda kullandığı hücre mekanizmasını hedeflerken, diğeri viral enfeksiyon ve replikasyon mekanizmasına özgü bazı aktiviteleri hedefler. En başarılı antiviral tedaviler enfeksiyon ve replikasyonda önemli süreçleri düzenleyen, viral genomun belirli bölgelerini hedef alan ilaçlar ile yapılmaktadır (Pedersen,2014).

Sıtma tedavisinde kullanılan klorokin' in, in vitro şartlarda FIPV replikasyonunu inhibe ettiği ve antienflamatuvar özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir. Yapılan deneysel enfeksiyonlarda

klorokin ile tedavi edilen gruplarda, tedavi edilmeyen gruplara göre klinik belirtiler azalmış olmasına rağmen bu gruptaki kedilerde alanin aminotransferaz seviyeleri artmıştır, bu da istenmeyen bir toksik etki olduğunu göstermiştir (Takona ve ark., 2013). Siklosporin A'nın anticoronavirus aktivitesine sahip olduğu gösterilmiştir. Siklosporin A'nın hücre kültüründe kedi coronavirus replikasyonunu inhibe etme kabiliyeti doğrulanmış ancak in vivo olarak test edilmemiştir (Tanaka ve ark., 2013).

Pfefferle ve ark. (2011), bir dizi immunofilinlerin coronavirus yapısal olmayan protein 1 (NS1) ile güçlü bir şekilde etkileşime girdiğini ve siklosporin A gibi siklofilin inhibitörlerinin insan, kedi ve kanatlı dahil olmak üzere tüm coronavirusların replikasyonunu bloke ettiğini göstermiştir. Klorokin ve siklosporin gibi antiviral ajanlarla ilgili problem ise, hücrel ve viral aktivitelerin ortak yollarından geçmeleridir. Coronaviruslar kendi replikasyonlarını kolaylaştırmak için normal hücrel yolları kullanmaktadırlar. Klorokin ve siklosporin gibi bileşikler antiviral etkilerini gösterirken, konakçıya ve virusa ait mekanizmaları ayırmazlar. Örneğin; in vivo klorokin antiviral aktivitesi in vitro aktiviteden daha düşüktür ve konakçıda toksik etkiler oluşturmuştur (Takona ve ark., 2013).

**Galanthus Nivalis Agglutinin ve Nelfinavir'in Sinerjistik Antiviral Etkisi:** Hseih ve ark. (2010) Felis catus tam fetüs-4 (fcwf-4) hücre kültüründe lokal bir kedi coronavirus suşuna karşı 16 bileşiğin antiviral etkinliklerini inceledikleri çalışmalarında GNA(Galanthus nivalis agglutinin) ve nelfinavir ile tedavi edilen grupların tedavi edilmemiş gruplarla karşılaştırmasını yapmışlar ve bu bileşiklerin FCoV enfeksiyonunun neden olduğu sitopatik efekt (CPE) odaklarının oluşumunu önemli ölçüde inhibe ettiğini, hatta GNA'nın, etkisinin nelfinavirden daha fazla olduğunu ortaya koymuşlardır.

Bir başka çalışmada ise GNA ve nelfinavirin antiviral etkilerinin konsantrasyona bağlı olup olmadığını belirlemek için dört farklı konsantrasyonda (0.48, 0.24, 0.12, 0.06 µM ve 9.41, 4.70, 2.35 ve 1.17 µM) nelfinavir ve GNA test edilmiş ve 9.41µM nelfinavirin CPE oluşumunu önemli ölçüde engellediği, buna karşılık GNA'nın dört konsantrasyonunun da güçlü inhibitör aktiviteler gösterdiği ortaya konulmuştur (Hseih ve ark., 2010). Ayrıca nelfinavir ve GNA'nın düşük konsantrasyonları, FCoV ile enfekte edilmiş hücreler üzerinde test edilmiş ve viral replikasyonun inhibe edilmesinde etkili oldukları kanıtlanmıştır. Nelfinavir, güçlü in vivo aktiviteye sahip HIV-1 proteaz inhibitörüdür, ilaç güvenlidir ve HIV (İnsan

Bağışıklık Yetmezliği Virus) ile enfekte hastalarda yaygın şekilde kullanılır (Lewis ve ark., 1997). Nelfinavir için bilinen yan etki daha önce HIV hastalarında gözlemlendiği gibi hafif ishaldir, ancak GNA için yan etki bildirilmemiştir (Kaldor ve ark., 1997). İn vitro yapılan bir başka çalışma GNA'nın FCoV I ve II serotiplerini güçlü bir şekilde inhibe ettiğini göstermiştir (Van der Meer ve ark., 2007a). Bununla birlikte her iki madde aynı anda enfekte hücreye eklendiğinde sinerjik bir antiviral etki gözlenmiştir (Hsieh ve ark., 2010). Hücre canlılığı testleri GNA'nın, fcwf-4 hücreleri ile nelfinavirden daha geniş bir konsantrasyon aralığında güvenli bir şekilde kullanılabileceğini göstermiştir. Nelfinavirin daha yüksek konsantrasyonlarda antiviral aktivitesi, bileşiğin sitotoksitesisi nedeniyle daha fazla test edilememiştir. (Hseih ve ark., 2010). Sonuçlar bu iki ajanın kombine kullanımının erken tamda FIPV'li kedilerin tedavisi için potansiyel bir terapi olduğunu göstermektedir. (Hseih ve ark., 2010).

**Kolesterol Transport İnhibitörü U18666A'nın Antiviral Etkisi:** FCoV'un viral replikasyon periyodu kolesterol ile yakından ilişkilidir. Ayrıca plazma membran kolesterolündeki artışın tip I FCoV enfeksiyonunu arttırdığı doğrulanmıştır (Takano ve ark., 2016). Bu bulgular, hücre membran kolesterolünün tip I FCoV enfeksiyonunda önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Son çalışmalar, hücre içi kolesterol sentezi ve transport inhibitörlerinin virus replikasyonunu azaltma potansiyelinde olduğunu göstermiştir.

U18666A, kolesterol biyosentezini ve hücre içi transportunu bozan bir katyonik amfifilik (hem hidrofilik hem de hidrofobik özellik taşıyan) (CAD) ilaçtır (Cenedella,2009). Kolesterol taşıyıcısı Niemann-Pick tip C' in (NPC1) bir inhibitörüdür. U18666A, NPC' i bağlar ve işlevini engeller, Oksidoskualen siklazı baskılayarak hücre içi kolesterol biyosentezini inhibe eder (Cenedella ve ark., 2004). U18666A ayrıca Niemann-Pick tip C1 fonksiyonunu bozarak lizozomlardan kolesterol salınımını inhibe eder (Ko ve ark., 2001).

U18666A ile tedavi tip I FCoV enfeksiyonunu önemli ölçüde inhibe etmiştir ancak tip II FCoV enfeksiyonu üzerinde önemli bir etki gösterememiştir. FCoV enfeksiyonu üzerinde U18666A'nın etkilerini daha fazla belirleyebilmek için FCoV viral proteinlerinin ekspresyonu araştırılmıştır. U18666A ile muamele edilen fcwf-4 hücrelerinde tip I FCoV'nin N protein seviyeleri spesifik olarak azalmıştır. Tip I FCoV'nin aksine U18666A ile muamele edilen fcwf-4 hücrelerinde tip II FCoV'nin N protein seviyeleri değişmemiştir

(Takano ve ark., 2017). 2mM veya daha yüksek U18666A ile önceden işlem görmüş hücrelerin kültür süpernatantında FCoV virus titresinin önemli ölçüde azaldığı ancak tip II FCoV titresinin etkilenmediği bildirilmiştir. Bir Histon deasetilaz inhibitörü (HDAC) olan Vorinostat U18666A ile muamele edilmiş fcwf-4 hücrelerine eklendiğinde kolesterol birikimi azalmıştır. Vorinostat tip I FCoV replikasyonunu önemli ölçüde azaltmıştır (Takano ve ark., 2017).

U18666A, hücre içinde kolesterol birikimini indüklemiş ve tip I FCoV replikasyonunu inhibe etmiştir. Tip I FCoV' nin aksine U18666A'nın tip II FCoV replikasyonuna karşı hiçbir inhibitör aktivitesi kaydedilmemiştir. Tip I FCoV replikasyonu plazma membran kolesterolüne bağlıdır ancak tip II FCoV replikasyonu bağlı değildir (Takano ve ark., 2016).

**İtrakonazolün Tip I Kedi Coronavirus Enfeksiyonuna Karşı Antiviral Etkisi:** Bir azol antifungal olarak sınıflandırılan itrakonazolün (ICZ) (Saag ve ark., 1988), düşük toksisiteye sahip olduğu ve immun sistemi baskılanmış hastalarda mantar enfeksiyonlarını tedavi etmek için kullanıldığı bildirilmiştir (McKinsey ve ark., 1999).

ICZ'nin fcwf-4 hücrelerinde FCoV enfeksiyonuna karşı etkisi araştırılmıştır. Fcwf-4 hücreleri 24 saat boyunca 37 OC de belirtilen konsantrasyonlarda (MOI 0.01) ICZ içeren ortamlarda kültüre edilmiş ve kültür süpernatantları enfeksiyondan 48 saat sonra toplanıp virus titresi titrasyon tahlili ile belirlenmiştir. ICZ ile muamele edilen tip I FCoV enfeksiyonunda plak oluşumu doza bağlı bir şekilde azalmıştır (Takano ve ark., 2019).

ICZ' nin FCoV enfeksiyonu üzerindeki etkilerini daha iyi değerlendirmek için viral proteinlerin ekspresyonunda araştırılmıştır. ICZ ile muamele edilen fcwf-4 hücrelerinde tip I FCoV' nin N protein seviyeleri, spesifik olarak azalmıştır. Tip I FCoV' nin aksine, ICZ ile muamele edilen fcwf-4 hücrelerinde tip II FCoV N protein seviyelerinde bir değişiklik gözlenmemiştir (Takano ve ark., 2019).

ICZ tip I FCoV enfeksiyonunu inhibe etmiştir. Öte yandan ICZ tip II FCoV enfeksiyonunu etkilememiştir. Bu durum ICZ' nin antiviral etkilerinin FCoV serotipine bağlı olarak farklılık gösterdiğini ortaya koymuştur. FIPV' li kedilerin %70-90' ı tip I FCoV ile enfekte olduğundan ICZ kullanımının bir anti-FIPV ajanı olarak kullanılması makul olabilir. ICZ' nin erken dönemde yüksek dozda uygulanması FIPV' ye karşı antiviral etkiler gösterebilir (Addie ve ark.,2003). Son zamanlarda, ICZ' nin lizozomda NPC1' e etki ederek kolesterol birikimini indüklediği bildirilmiştir. Bu rapora

dayanarak, ICZ, U18666A ile aynı mekanizma yolu ile tip I FCoV replikasyonunu inhibe edebilir (Takano ve ark., 2019).

Kedi TNF-alfa Monoklonal Antikorumun Terapötik Etkisi: Tümör nekroz faktörü alfa (TNF- $\alpha$ ) hücre yüzeyi TNF reseptörlerine bağlanan ve çeşitli fizyolojik aktiviteleri indükleyen bir sitokindir (Vandenabeele., 1995; Reinhard., 1997). Makrofajlarda/monositlerdeki virus replikasyonu TNF- $\alpha$  üretimini indükler ve üretilen TNF- $\alpha$  FIPV patojenitesini artırır (Takano ve ark, 2007a; Takano ve ark., 2007b).

TNF- $\alpha$  monoklonal antikorumun (mAb) teröpatik etkisini araştırmak için yapılan bir çalışmada 6 adet SPF kedi kullanılarak 2 deney grubu oluşturulmuştur. FIP79-1146 suşu kedilere deri altından uygulanmış ve aşılama 2 hafta sonra gruplardan birine (grup A) plasebo PBS, diğerine (grup B) anti TNF- $\alpha$  mAb 2-4 intravenöz olarak uygulanmıştır (Doki ve ark., 2016).

FIPV gelişen kedilerde plazma  $\alpha$ -1 asit glikoprotein (AGP) ve vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) seviyelerinde artışlar şekillenmiştir (Duthie ve ark., 1997).

FIPV inokulasyonundan 14 gün sonra (mAb 2-4 uygulamasından 0 gün sonra) A ve B grupları arasında AGP ve VEGF seviyelerinde anlamlı bir fark görülmemiştir, bununla birlikte bu seviyeler FIPV inokulasyonundan 21 gün sonra (mAb 2-4 uygulamasından 7 gün sonra) B grubunda A grubundan anlamlı derecede düşük çıkmıştır. FIPV inokulasyonu ve mAb 2-4 uygulamasından sonra nötrofil sayısındaki değişiklikler araştırılmış; A grubunda FIPV aşılama 2 hafta sonra nötrofillerin oranı artmış ve yüksek seviyede kalmıştır. Buna karşılık B grubundaki 2 kedide nötrofil oranı, FIPV ile aşılama 2 hafta sonra artmış ve daha sonra mAb 2-4 uygulamasından 7 gün sonra stabil kalmıştır. FIPV inokulasyonu ve mAb 2-4 uygulamasından sonra periferik lenfosit sayısındaki değişiklikler araştırılmış ve periferik lenfositler virus inokulasyonundan 7 gün sonra bütün kedilerde belirgin şekilde azalmıştır. Ancak B grubundaki 2 kedide mAb 2-4 uygulamasından 21 gün sonra lenfositler artmaya başlamıştır. Buna karşılık FIPV gelişen A grubundaki kedilerde periferik lenfosit sayıları düşük kalmıştır. Yardımcı T lenfosit alt gruplarından CD4+ ve sitotoksik T lenfosit alt gruplarından CD8+ T lenfositleri FIPV gelişen A ve B gruplarındaki kedilerde virus inokulasyonundan 7 gün sonra belirgin şekilde azalmıştır. Bu sayılar A grubundaki tüm kedilerde sürekli azalmıştır. Ancak B grubundaki kedilerde mAb 2-4 uygulamasından

sonra virus öncesi aşılama seviyelerine geri dönmüştür (Doki ve ark., 2016).

FIPV inokulasyonundan sonra vücut ağırlıklarındaki değişikliklerde ölçülmüş; A grubu ve B grubundan bir kedide FIPV gelişiminden sonra vücut ağırlıkları belirgin şekilde azalmış buna karşın mAb 2-4 uygulanan kedilerin ikisinde vücut ağırlıklarında artış gözlenmiştir. Her iki grupta da FIPV inokulasyonundan 15 gün sonra klinik belirtiler (iştahsızlık halsizlik) gözlenmiş ancak mAb uygulamasından sonra B grubunda iyileşme sağlanmıştır.

MAb 2-4 ile tedavi edilen 3 kedinin 2'sinde FIPV için ilerleme önlenmiş plasebo kontrol grubundaki 3 kedide de FIPV gelişmiştir. MAb 2-4 ile muamele edilen kedilerde antikor ve lenfosit sayısı ve plazma VEGF seviyeleri düzelmiştir. MAb 2-4 FIPV' li kedilerin yaşam süresini ve yaşam kalitesini iyileştirmiştir. Bununla birlikte mAb 2-4 uygulanan kedilerden birinde FIP gelişmiştir. Bu nedenle FIPV'ye karşı terapötik bir ilaç olarak uygulanabilirliğini belirlemek için başka araştırmalar da gereklidir (Doki ve ark., 2016).

**3C Benzeri Proteaz İnhibitörlerinin FIPV Tedavisindeki Etkinliği:** Coronavirus 3C benzeri proteaz (3CL) kimotripsin benzeri bir sistein proteazı olarak sınıflandırılır. Coronavirus 3CL proteaz sırasıyla norovirus ve picornavirusların 3CL veya 3C proteazlarıyla yapısal ve fonksiyonel olarak ortak özellikler paylaşan sistein proteazıdır. Kimotripsin benzeri kıvrımlara ve korunmuş aktif bölgelere sahiptir.

Viral replikasyonda önemli rol oynar ve antiviral ilaçların gelişimi için iyi bir hedeftir (Kim ve ark., 2013). 3C benzeri proteazların antiviral etkinliğini araştırmak için Amerika'da yapılan bir çalışmada, 3C benzeri proteazları hedefleyen peptidil bileşikleri sentezlenmiş ve bunların kedi coronaviruslarına karşı etkinliği değerlendirilmiştir (Kim ve ark., 2012). Çalışmaya ABD'nin çeşitli bölgelerinden farklı yaşlarda 20 kedi dahil edilmiş, 3CL proteaz inhibitörü GC376, 15 mg/kg dozda deri altından uygulanmıştır. Denemedeki ilk 5 kedi 2 hafta boyunca tedavi edilmiştir. Tüm kedilerde hızlı bir iyileşme gözlenmiş ve tedavi durdurulmuştur. Olumlu yanıtı rağmen hastalık belirtileri 2 haftalık tedavi sona erdikten sonra tekrarlamıştır. Deneye giren yeni kediler daha sonra 3 veya 4 hafta süre ile tedavi edilmiştir. Kedilerden birinde nörolojik belirtiler görülürken bir tanesinde de abdominal lezyonlarda nüklere rastlanmıştır. Primer ve sekonder tedavilerden 12 hafta sonra klinik enfeksiyon belirtileri bulunmayan ve laboratuvar bulguları normal olan kedilerde tedavi

durdurulmuştur. Minimum tedavi süresinin 12 hafta olması gerektiği belirlenmiştir. Tedavinin ilk 1-4 haftasında 19/20 kedide çarpıcı ve ilerleyici bir iyileşme gözlenmiştir. FIPV' li genç kedilerde rastlanan bir bulgu olan sarılık, 2 hafta veya biraz daha uzun bir sürede yavaş yavaş azalmıştır. Tüm yavrular antiviral tedavi sırasında ve sonrasında sabit bir şekilde kilo almış ve viral RNA seviyeleri bir kedi hariç diğerlerinde tedavi öncesi değerlere kıyasla 2 hafta içinde 1.567.463 kat azalmıştır. Çalışmadaki 20 kedinin 13'ü hastalığın tekrarlanmasına yenik düşmüş, bu kedilerin 8'inde ciddi nörolojik bulgular, 5' inde abdominal hastalık nüksleri görülmüştür (Pedersen ve ark., 2018).

GC376 tedavi çalışmasında en az 12 hafta boyunca sürekli tedavi edilen 20 kedinin 7'sinde tedavinin kesilmesinden sonra 12 haftadan fazla bir sürede hastalık remisyonuna dayanarak potansiyel tedavi başarılı olarak kategorize edilmiştir. Uzun süreli hayatta kalan kedilerin 6'sında CBC, hematokrit ve total protein seviyelerinde tedavinin başlangıcında anormal değerler görülürken tedaviden sonra tamamen normal seviyelerine dönmüştür (Pedersen ve ark., 2018).

**Nükleozid Analogu GS-441524'ün FIPV Tedavisindeki Etkinliği:** GS-441524, bir adenin C-nükleozid riboz analoğu ve güçlü antiviral aktivitesi olan küçük bir moleküldür (Cho ve ark., 2012). Bu analoglar, alternatif bir substrat ve viral RNA'ya bağlı RNA polimerazın RNA zinciri sonlandırıcısı olarak görev yaparlar (Murphy ve ark., 2018).

GS-441524 gibi küçük moleküllü ilaçlar yaklaşık 1 nm boyutundadır, hücrelere kolayca girebilir ve ana hedef moleküller ile etkileşime girebilir, virus tarafından kodlanan çoğaltma işlemlerine doğrudan müdahale ederler (Murphy BG ve ark., 2018; Kim ve ark., 2016).

Pedersen ve ark. (2019) doğal olarak oluşan FIPV enfeksiyonunda GS-441524 tedavisi için 31 kedi üzerinde çalışma yapmıştır. GS-441524 için başlangıç dozaj rejimi, daha önceki doku kültürü deneyleri ve farmakokinetik çalışmalara dayanarak 2 mg/kg SC q24h olarak belirlenmiştir. Asgari tedavi süresi doğal olarak oluşan FIPV' ye karşı 3CL proteaz inhibitörü GC376 ile olan deneyimlere dayanarak 12 hafta olarak belirlenmiştir (Pedersen., 2018).

Çalışmanın ilerleyen aşamalarında, tedavinin uzatılması gereken durumlarda veya hastalık tekrarı olduğunda dozaj 2.0 ila 4.0 mg/kg arasında artmıştır. Tedaviye alınan hayvanlar her 12 saatte bir vücut ısısı, iştah, aktivite, idrara çıkma ve dışkılama açısından izlenmiştir. Ayrıca hematokrit, total protein, bilirubin, beyaz kan hücre sayısını

değerlendirmek için 1-3 gün aralıklarla kanları alınmıştır. 31 kedinin 26'sında efektif FIPV, 5'inde efektif olmayan FIPV tespit edilmiştir. Beş kedi ağır klinik bulgular nedeniyle tedavinin başlangıcından sonraki 2-5 gün içinde ötenazi edilmiştir. En az on iki hafta süre ile tedavi edilen 26 kedinin klinik bulgularında belirgin değişiklikler gözlenmiştir. Ateş 12-36 saat içinde düzelmiş, iştahta, aktivite seviyelerinde ve kilo alımında belirgin bir artışla beraber abdominal efüzyonlar tedaviden sonraki 10-14 gün içinde hızla kaybolmuştur (Pedersen ve ark., 2019). Rezidüel dispne ve torasik efüzyon tedaviye hızla yanıt vermiş ve 7 gün sonra kaybolmuştur. Sarılık 2-4 hafta içinde yavaş yavaş çözülmüştür. En az 12 hafta kesintisiz primer tedaviyi tamamlayan 26 kediden 18'inde daha fazla tedaviye gerek kalmamıştır. Bununla birlikte tedavilerine geçici olarak ara verilen diğer 8 kedide hastalık nüksleri görülmüştür. Bu kedilerde GS-441524 dozu 2.0 mg/kg'dan 4.0 mg/kg' a kadar çıkartılmıştır. 8 kedide yüksek dozaj rejimine iyi cevap vermiştir. 12 hafta boyunca tedavi edilen 26 kedinin serumundaki albümin seviyeleri tedavinin başlangıcında genellikle düşük gözlenmiştir. Daha sonraki süreçte albümin seviyeleri yavaş yavaş artmış ve 8 haftada normal seviyelere ulaşmıştır (Pedersen ve ark., 2019). GS-441524'ün toplam 12-30 hafta boyunca uygulanan tedavisi son derece güvenli sonuçlar vermiştir. Tedavi edilen kedilerin CBC değerlerinde uzun vadeli bir anormallik gözlenmemiştir. Karaciğer ve böbrek fonksiyonları, amilaz/lipaz seviyeleri tedavi sırasında ve sonrasında normal seviyelerde bulunmuştur (Pedersen ve ark., 2019).

GS-441524, GC376'dan sonra son iki-üç yıl içinde FIPV' li kedilerin tedavisi için değerlendirilecek olan ikinci antiviral ilaçtır (Pedersen ve ark., 2018; Murpy ve ark., 2018; Kim ve ark., 2016). Bu iki ilaç, viral RNA transkripsiyonunu sonlandırarak veya viral poliproteinlerin bölünmesini bloke ederek viral replikasyonu bloke eder (De Clercq ve ark., 2016). Her iki ilaçta oldukça güvenli görünmektedir ancak GC376 yavru kedilerde kalıcı dişlerin gelişimini engellemiştir (Pedersen ve ark., 2018).

Sonuç olarak GS-441524 ile tedavi edilen 31 kediden elde edilen sonuçlar beklentileri aşmıştır ve FIPV' nin nükleozid analogları kullanılarak tedavi edilebilir bir hastalık olduğunu göstermiştir (Pedersen ve ark., 2019).

## Sonuç

Feline Enfeksiyöz Peritonitis hakkında genel bilgiler, tanı yöntemleri ve antiviral yaklaşımlar hakkında bilgilendirme yapılmıştır. Kesin tanı için birden fazla klinik parametre ile birlikte laboratuvar

parametrelerinin birlikte değerlendirilmesi gerekmektedir. Hastalığın teşhisinde post mortem muayene ile histopatopatolojik bulgular birlikte değerlendirilmeli ve teşhis laboratuvar bulguları ile desteklenmelidir. FIP mortalitesi yüksek bir hastalıktır. Şu ana kadar yapılan antiviral çalışmalar umut vericidir. En umut veren tedavi çalışmaları arasında viral replikasyonu hedef alan antiviral ilaç denemeleri yer almaktadır.

## Kaynaklar

**Addie DD, Belák S, Boucraut-Baralon C, Egberink H, Frymus T, Gruffydd-Jones T, Hartmann K, Hosie MJ, Lloret A, Lutz H (2009)** Feline infectious peritonitis. ABCD guidelines on prevention and management. *J Feline Med Surg* 11:594-604.

**Addie DD, McDonald M, Audhuy S, Burr P, Hollins J, Kovacic R, Lutz H, Luxton Z, Mazar S, Meli ML (2012)** Quarantine protects Falkland Islands (Malvinas) cats from feline coronavirus infection. *J Feline Med Surg* 14:171-176.

**Addie DD, Schaap IAT, Nicolson L, Jarrett O (2003)** Persistence and transmission of natural type I feline coronavirus infection. *J Gen Virol* 84:2735-2744.

**Amer A, Siti Suri A, Abdul Rahman O, Mohd HB, Faruku B, Saeed S, TengkuAzmi TI (2012)** Isolation and molecular characterization of type I and type II feline coronavirus in Malaysia. *Virology J* 9, 278.

**An DJ, Jeoung HY, Jeong W, Park JY, Lee MH, Park BK (2011)** Prevalence of Korean cats with natural feline coronavirus infections. *Virology J* 8, 455.

**Aytuğ N (2008)** Kedi Enfeksiyonları 1: Zorlayan Tanı, Kedilerin Enfeksiyöz Peritonitisi Uludağ Univ J Fac Vet Med 27;1-2: 11-17.

**Can-Sahna K, Soydal Ataseven V, Pinar D, Oğuzoğlu TC (2007)** The detection of feline coronaviruses in blood samples from cats by mRNART-PCR. *J Feline Med Surg* 9, 369-372.

**Cenedella RJ, Jacob R, Borchman D, Tang D, Neely AR, Samadi A, Mason RP, Sexton P (2004)** Direct perturbation of lens membrane structure may contribute to cataracts caused by U18666A, an oxidosqualene cyclase inhibitor *J Lipid Res*; 45, 1232-1241.

**Cenedella RJ (2009)** Cholesterol synthesis inhibitor U18666A and the role of sterol metabolism and trafficking in numerous pathophysiological processes. *Lipids* ; 44, 477-487.

**Chang HW, Groot RJ, Egberink HF, Rottier PJ (2010)** Feline infectious peritonitis: Insights into feline coronavirus pathobiogenesis and epidemiology based on genetic analysis of the viral 3c gene. *J Gen Virol* 91, 415-420.

**Cho A, Saunders OL, Butler T, Zhang L, Xu J, Vela JE, Feng JY, Ray AS, Kim CU (2012)** Synthesis and antiviral activity of a series of 1'-substituted 4-aza-7,9

dideazaadenosine C-nucleosides. *Bioorg Med Chem Lett* ;22, 2705–2707.

**De Clercq E, Li G** (2016) Approved antiviral drugs over the past 50 years. *Clin Microbiol Rev* ; 29: 695–747.

**Doki T, Takano T, Kawagoe K, Kito A, Hohdatsu T** (2016) Therapeutic effect of anti-feline TNF-alpha monoclonal antibody for feline infectious peritonitis. *Res Vet Sci* 104; 17-23.

**Drechsler Y, Alcaraz A, Bossong FJ, Collisson EW, Diniz PP** (2011) Feline coronavirus in multicat environments. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice.* 41, 1133-1169.

**Duthie S, Eckersall PD, Addie DD, Lawrence CE, Jarrett O** (1997) Value of alpha 1-acid glycoprotein in the diagnosis of feline infectious peritonitis. *Vet Rec* 141, 299-303.

**Fischer Y, Sauter-Louis C, Hartmann K** (2012) Diagnostic accuracy of the Rivalta test for feline infectious peritonitis. *Vet Clin Path* 41, 558-567.

**Gamble DA, Lobbiani A, Gramegna M, Moore LE, Colucci G** (1997) Development of a nested PCR assay for detection of feline infectious peritonitis virus in clinical specimens. *J Clin Microbiol* 35, 673-675.

**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. *J Vet Intern Med* 17, 781-790.

**Hartmann K, Ritz S** (2008). Treatment of cats with feline infectious peritonitis. *Vet Immunol Immunop* 123, 172-175

**Herrewegh AA, de Groot RJ, Cepica A, Egberink HF, Horzinek MC, Rottier PJ** (1995) Detection of feline coronavirus RNA in feces, tissues, and bodyfluids of naturally infected cats by reverse transcriptase PCR. *J Clin Microbiol* 33, 684-689.

**Hsieh LE, Lin CN, Su BL, Jan TR, Chen CM, Wang CH, Lin DS, Lin CT, Chueh LL** (2010) Synergistic antiviral effect of Galanthus nivalis agglutinin and nelfinavir against feline coronavirus. *Antiviral Res* ;88, 25-30.

**Kaldor SW, Kalish VJ, Davie JF 2nd, Shetty BV, Fritz JE, Appelt K, Burgess JA, Campanale KM, Chirgadze NY, Clawson DK, Dressman BA, Hatch SD, Khalil DA, Kosa MB, Lubbehusen PP, Muesing MA, Patick AK, Reich SH, Su KS, Tatlock JH** (1997) Viracept (nelfinavir mesylate, AG1343): a potent, orally bioavailable inhibitor of HIV-1 protease. *J Med Chem*; 40, 3979-3985.

**Kim Y, Liu H, Galasiti Kankanamalage AC, Weerasekara S, Hua DH, Groutas WC, Chang KO, Pedersen NC** (2016) Reversal of the progression of fatal coronavirus infection in cats by a broad-spectrum coronavirus protease inhibitor. *PLoS Pathogens* ; 12.

**Kim Y, Lovell S, Tiew KC, Mandadapu SR, Alliston KR, Battaile KP, Groutas WC, Chang KO.** (2012) Broad-spectrum antivirals against 3C or 3C-like proteases of picornaviruses, noroviruses, and coronaviruses. *J Virol* 86: 11754-11762.

**Kim Y, Mandadapu SR, Groutas WC, Chang KO** (2013) Potent inhibition of feline coronaviruses with peptidyl compounds targeting coronavirus 3C-like protease. *Antiviral Res* 97: 161-168.

**Kipar A, Meli ML, Baptiste KE, Bowker LJ, Lutz H** (2010) Sites of feline coronavirus persistence in healthy cats. *J Gen Virol* 91, 1698-1707.

**Ko DC, Gordon MD, Jin JY, Scott MP** (2001) Dynamic movements of organelles containing Niemann-Pick C1 protein: NPC1 involvement in late endocytic events. *Mol Biol Cell*;12, 601-614.

**Legendre AM, Bartges JW** (2009) Effect of polyprenyl immunostimulant on the survival times of three cats with the dry form of feline infectious peritonitis. *J Feline Med Surg* 11, 624–626.

**Lewis JS 2nd, Terrif CM, Coulston DR, Garrison MW** (1997) Protease inhibitors: a therapeutic breakthrough for the treatment of patients with human immunodeficiency virus. *Clin Ther*; 19, 187-214.

**Li X, Scott FW** (1994) Detection of feline coronaviruses in cell cultures and in fresh and fixed feline tissues using polymerase chain reaction. *Vet Microbiol* 42, 65-77.

**Litster AL, Pogranichniy R, Lin TL** (2013) Diagnostic utility of a direct immunofluorescence test to detect feline coronavirus antigen in macrophages in effusive feline infectious peritonitis. *The Veterinary Journal* 198, 362- 366.

**MacLachlan J. and Dubovi JE** (2017) Coronaviridae. In: *Fenner's Veterinary Virology*, 5th edition. Elsevier, New York. pp. 435-461

**McKinsey DS, Wheat LJ, Cloud GA, Pierce M, Black JR, Bamberger DM, Goldman M, Thomas CJ, Gutsch HM, Moskovitz B, Dismukes WE, Kauffman CA** (1999) Itraconazole prophylaxis for fungal infections in patients with advanced human immunodeficiency virus infection: randomized, placebo-controlled, double-blind study. *Clin Infect Dis*; 28:1049-1056.

**Murphy BG, Perron M, Murakami E, Bauer K, Park Y, Eckstrand M, Pedersen NC** (2018) The nucleoside analog GS-441524 strongly inhibits feline infectious peritonitis (FIP) virus in tissue culture and experimental cat infection studies. *Vet Microbiol*; 219: 226-233.

**Pedersen NC, Allen CE, Lyons LA** (2008) Pathogenesis of feline enteric coronavirus infection. *J Feline Med Surg* 10, 529-541.

**Pedersen NC, Black JW** (1983) Attempted immunization of cats against feline infectious peritonitis, using avirulent live virus or sublethal amounts of virulent virus. *Am J Vet Res* 44, 229-234.

**Pedersen NC, Kim Y, Liu H, Galasiti Kankanamalage AC, Eckstrand C, Groutas WC, Bannasch M, Meadows JM, Chang K** (2018) Efficacy of a 3C-like protease inhibitor in treating various forms of acquired feline infectious peritonitis. *J Feline Med Surg* 20(4) 378-392.

**Pedersen NC, Liu H, Dodd KA, Pesavento PA.** (2009) Significance of coronavirus mutants in feces and diseased



tissues of cats suffering from feline infectious peritonitis. *Viruses* 1, 166-184.

**Pedersen NC**, Liu H, Scarlett J, Leutenegger CM, Golovko L, Kennedy H, Kamal FM. (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 Res* 165, 17-28.

**Pedersen NC**, 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. *J Feline Med Surg* 1-11.

**Pedersen NC**, Sato R, Foley JE, Poland AM. (2004) Common virus infections in cats, before and after being placed in shelters, with emphasis on feline enteric coronavirus. *J Feline Med Surg* 6, 83-88.

**Pedersen NC**. (2009) A review of feline infectious peritonitis virus infection. *J Feline Med Surg* 11, 225-258.

**Pedersen NC**. (2014) An update on feline infectious peritonitis: Virology and immunopathogenesis *Vet J* 201, 123-132.

**Pfefferle S**, Schöpf J, Kögl M, Friedel CC, Müller MA, Carbajo-Lozoya J, Stellberger T, von Dall'Armi E, Herzog P, Kallies S, Niemeyer D, Ditt V, Kuri T, Züst R, Pumpor K, Hilgenfeld R, Schwarz F, Zimmer R, Steffen I, Weber F, Thiel V, Herrler G, Thiel HJ, Schwegmann-Wessels C, Pöhlmann S, Haas J, Drosten C, von Brunn A. (2011) The SARS-coronavirus-host interactome: Identification of cyclophilins as target for pan-coronavirus inhibitors. *PLoS Pathogens*; 10-1002331.

**Porter E**, Tasker S, Day MJ, Harley R, Kipar A, Siddell SG, Helps CR. (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. *Vet Res* 45, 49.

**Reinhard C**, Shamon B, Shyamala V, Williams LT. (1997) Tumor necrosis factor alpha-induced activation of c-jun N-terminal kinase is mediated by TRAF2. *EMBO J* 16, 1080-1092.

**Saag MS**, Dismukes WE. (1988) Azole antifungal agents: emphasis on new triazoles. *J Antimicrob Chemother* 32:1-8.

**Sharif S**, Arshad SS, Hair-Bejo M, Omar AR, Zeenathul, NA, Alazawy A. (2010) Diagnostic methods for feline coronavirus: A review *Vet Med Int* <https://doi.org/10.4061/2010/809480>

**Simons FA**, Vennema H, Rofina JE, Po JM, Horzinek MC, Rottier PJ, Egberink HF. A (2005) mRNA PCR for the diagnosis of feline infectious peritonitis. *J Virol Methods* 124, 111-116.

**Takano T**, Akiyama M, Doki T, Hohdatsu T. (2019) Antiviral activity of itraconazole against type I feline coronavirus infection. *Antivir Res.* 50(1), 5.

**Takano T**, Endoh M, Fukatsu H, Sakurada H, Doki T, Hohdatsu T. (2017) The cholesterol transport inhibitor U18666A inhibits type I feline coronavirus infection *Antivir Res.* 145: 96-102.

**Takano T**, Hohdatsu T, Hashida Y, Kaneko Y, Tanabe M, Koyama H (2007a) .A“possible”involvement of TNF-alpha in apoptosis induction in peripheral blood lymphocytes of cats with feline infectious peritonitis. *Vet Microbiol* 119, 121-131.

**Takano T**, Hohdatsu T, Toda A, Tanabe M, Koyama H.(2007b) TNF-alpha, produced by feline infectious peritonitis virus (FIPV)-infected macrophages, upregulates expression of type II FIPV receptor feline aminopeptidase N in feline macrophages. *Virology* 364, 64-72.

**Takano T**, Katoh Y, Doki T, Hohdatsu T. (2013b) Effect of chloroquine on feline infectious peritonitis virus infection in vitro and in vivo. *Antivir Res.* 99, 100-107.

**Takano T**, Satomi Y, Oyama Y, Doki T, Hohdatsu T. (2016) Differential effect of cholesterol on type I and II feline coronavirus infection. *Arch Virol* 161, 125-133.

**Tanaka Y**, Sato Y, Sasaki T. (2013) Suppression of coronavirus replication by cyclophilin inhibitors. *Viruses* 5, 1250-1260.

**Taylor SS**, Tappin SW, Dodkin SJ, Papasouliotis K, Casamian-Sorrosal D, Tasker S. (2010) Serum protein electrophoresis in 155 cats. *J Feline Med Surg* 12, 643-653.

**Van der Meer FJ**, de Haan CA, Schuurman NM, Haijema BJ, Peumans WJ, Van Damme EJ, Delputte PL, Balzarini J, Egberink HF. (2007a) Antiviral activity of carbohydrate-binding agents against Nidovirales in cell culture. *Antivir Res* 76, 21-29.

**Vandenabeele P**, Declercq W, Beyaert R, Fiers W. (1995) Two tumour necrosis factor receptors, structure and function. *Trends Cell Biol* 5, 392-399.

**Vogel L**, Van der Lubben M, Te Lintelo EG, Bekker CPJ, Geerts T, Schuijff LS, Grinwis GCM, Egberink HF, Rottier PJM. (2010) Pathogenic characteristics of persistent feline enteric coronavirus infection in cats. *Vet Res* 41, 71.

**Wang YT**, Su BL, Hsieh LE, Chueh LL. (2013) An outbreak of feline infectious peritonitis in a Taiwanese shelter: Epidemiologic and molecular evidence for horizontal transmission of a novel type II feline coronavirus. *Vet Res* 44, 57.

**Zoia A**, Slater LA, Heller J, Connolly DJ, Church DB. (2009) A new approach to pleural effusion in cats: Markers for distinguishing transudates from exudates. *J Feline Med Surg* 11: 847-855.