

## Podcast series: Diagnosis of Feline Infectious Peritonitis: A Review of the Current Literature

### Deel 5 – detectie van FCoV RNA via reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR)

#### Detectie van FCoV RNA via reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR)

Aanvankelijk werd gedacht dat enkel FIPV en dus niet FECV zich systemisch kon verspreiden en dat bijgevolg de detectie van FCoV RNA in weefsels buiten het maagdarmkanaal diagnostisch was voor FIP. Er zijn echter veel studies die dit weerleggen en die hebben aangetoond dat FCoV RNA ook gevonden kan worden buiten het maagdarmkanaal in katten die geen FIP hebben.

Desalniettemin is het wel zo dat katten met FIP vaak veel hogere `viral loads` hebben dan gezonde FECV-besmette katten. Om deze reden is het altijd belangrijk om een kwantitatieve RT-PCR uit te voeren, waarbij een positieve RT-PCR met een hoge `viral load` op zijn minst erg suggestief is voor FIP.

#### *Weefsel*

- In **katten met FIP** kunnen **grote hoeveelheden FCoV RNA** enkel gevonden worden **in de weefsels die inflammatoire veranderingen vertonen**, hierbij zijn vooral het omentum, de mesenteriale lymfeknopen en de milt weefsels die vaak grote hoeveelheden FCoV RNA bevatten, terwijl de nieren, lever, long, myocard en popliteus lymfeknopen vaak slechts weinig RNA materiaal bevatten.
- **FCoV RNA** kan echter **ook** gedetecteerd worden **in** weefsels van **katten die GEEN FIP hebben**, maar FIP katten hebben vaak een hogere `viral load` in deze weefsels
- Recente studies evalueerden een **kwantitatieve RT-PCR assay (RT-qPCR)** voor de detectie van FCoV RNA in **fijne naaldspiraten van mesenteriale lymfeknopen en andere weefsels** (genomen via echo begeleiding)
  - o 1 studie vond dat de RT-qPCR assay een vrij goede sensitiviteit en specificiteit heeft voor de diagnose van FIP in katten die geen effusies hebben. Echter, er was een klein aantal katten waarbij de test positief was en die geen FIP hadden, dus de test is niet 100% specifiek voor FIP en vals positieve resultaten zijn mogelijk.

- Twee andere studies vonden dat de RT-qPCR op weefsels als mesenteriale lymfeknopen, lever, milt, nieren, omentum) een hoge sensitiviteit had (dus weinig vals negatieve resultaten) voor de diagnose van FIP. Een lagere sensitiviteit werd bekomen wanneer de popliteus lymfeknopen gebruikt werden en in deze studies werd de specificiteit niet onderzocht (want er was geen controle groep).

### *Bloed*

- **Aangezien de RT-PCR in het bloed positief is in tot 80-90% van katten die besmet zijn met FECV, maar geen FIP hebben, is de RT-PCR test op het bloed geen betrouwbare test om FIP te bevestigen (want veel vals positieve resultaten)!**
- Bovendien hebben de meeste FIP katten slechts een lage `viral load` in het bloed (maar hoog in de aangetaste weefsels) waardoor de test op het bloed ook maar een lage sensitiviteit heeft (**veel vals negatieve resultaten**).
- Nieuwere RT-PCR technieken worden nog steeds ontwikkeld en verder onderzocht. Sommigen hiervan hebben meer betrouwbare resultaten, maar verder onderzoek wordt nog uitgevoerd.

### *Effusies*

- In katten met FIP die **effusies** hebben is de `viral load` **een stuk hoger** in de effusies **dan in het bloed**.
- Er zijn veel studies die onderzocht hebben wat de betrouwbaarheid is van de RT-PCR assays op effusies voor de diagnose van FIP. De sensitiviteit is in het merendeel van de studies behoorlijk hoog (85-100%), waardoor **een negatief testresultaat een diagnose van FIP iets minder waarschijnlijk** maakt. De specificiteit van deze test is ook erg hoog (85-100%), waardoor er een **klein risico is op vals positieve resultaten**. Dat gezegd zijnde, kunnen vals positieve resultaten wel nog steeds voorkomen en is het belangrijk om de resultaten **steeds te bekijken samen met de resultaten van andere diagnostische testen**.

### *Cerebrospinaal vocht*

- Alle studies die het gebruik van **RT-PCR evalueren op cerebrospinaal vocht** tonen een specificiteit van 100%, dit wil zeggen dat wanneer de RT-PCR test **positief** is op dit vocht het **zeer waarschijnlijk** is dat de kat **FIP** heeft. De sensitiviteit is echter een stuk lager (21-86%) en een **negatieve test sluit FIP dus niet uit**.

### *Glasvocht*

- Slechts weinig beschikbare studies die RT-PCR op glasvocht in FIP verdachte katten evalueren.

### Detectie van FCoV mutaties

Het wordt verondersteld dat **specifieke mutaties of een combinatie van mutaties in het viraal RNA er toe leidt dat het FIP virus ontstaat**. Verschillende FCoV genen werden geanalyseerd. Hierbij werd vooral veel aandacht besteed aan het S gen en werd gevonden dat een specifieke mutatie binnen het S gen aanwezig was in FIPV en niet in FECV.

Er werden **veel studies** uitgevoerd om na te gaan of het gebruik van een **RT-qPCR test met specifieke detectie van mutaties in het S gen** een betrouwbare test is voor de diagnose van FIP. Helaas zijn de **resultaten** van deze studies **zeer uiteenlopend**, vooral wat de specificiteit van deze test betreft. In sommige van deze studies werd gevonden dat deze specifieke PCR assay de specificiteit iets kon verhogen (dus minder vals positieve resultaten), maar dat het wel de sensitiviteit verlaagde (dus meer vals negatieve resultaten).

### *Bloed*

- De sensitiviteit van de RT-qPCR met specifieke detectie van mutaties in het S gen is bijzonder laag (aangezien de `viral load` in het bloed laag is) en is dus **geen betrouwbare test** voor de diagnose van FIP.

### *Effusies*

- De **sensitiviteit** van de **RT-qPCR test met specifieke detectie van mutaties in het S gen op effusies** bedraagt (gebaseerd op verschillende studies) **40-83%**, met het merendeel van de studies rond 60% (dit is een stuk **lager dan voor de gewone RT-PCR test**). De specificiteit kon in veel van deze studies niet bepaald worden. In de studies waar de **specificiteit** bepaald kon worden, bedroeg deze **83-98%** (mogelijk **iets hoger dan de gewone RT-PCR test**).

- Om de sensitiviteit van de RT-PCR met detectie van mutatie in S-gen te verhogen, is het aangeraden om naast het effusie vocht de test ook te laten uitvoeren op fijne naaldaspiraten van de mesenteriale lymfeknopen, milt, lever en bloed.

#### *Cerebrospinaal vocht*

- De **sensitiviteit** van de **RT-qPCR test met specifieke detectie van mutaties in het S gen op cerebrospinaal vocht** (gebaseerd op 3 studies) bedraagt 10-44% (een negatieve test sluit FIP dus niet uit). De specificiteit kon niet berekend worden.

#### *Glasvocht*

- De **sensitiviteit** van de **RT-qPCR test met specifieke detectie van mutaties in het S gen op glasvocht** (gebaseerd op 2 studies) bedraagt slechts 10-17%.

#### Referentie

Felten S and Hartmann K. Diagnosis of Feline Infectious Peritonitis: A Review of the Current Literature. Viruses 2019;11(11):1068

NOTA: De **IDEXX FIP Virus RealPCR™** kan gebruikt worden op bloed, weefsel, effusie, cerebrospinaal vocht, .. De test meet eerst via een conventionele RT-PCR of er coronavirus RNA aanwezig is in het staal. Wanneer er viraal RNA aanwezig is, wordt vervolgens de meer specifieke RT-PCR die mutaties in het S-gen detecteert, gebruikt. Er kunnen bijgevolg **5 resultaten** bekomen worden:

- 1) FIPV: het virus is gemuteerd in het FIP virus en FIP is waarschijnlijk
- 2) FECV: het virus is niet gemuteerd en FIP is weinig waarschijnlijk
- 3) mixed biotype: er werd zowel niet gemuteerd als gemuteerd viraal RNA gevonden en de kat loopt een risico om FIP te ontwikkelen - indien klinische klachten van FIP aanwezig zijn, is het aangeraden om te hertesten na 2 weken
- 4) onbepaald: er werd een grote hoeveelheid viraal RNA (hoge `virus load`) gevonden, wat, in het geval het niet om een feces staal ging, sterk suggestief is voor FIP, echter er werd geen gemuteerd viraal RNA gevonden, waardoor FIP niet bevestigd kan worden
- 5) Lager dan detectie limiet: er waren onvoldoende hoeveelheden viraal RNA aanwezig, waardoor geen typering kon gebeuren. Een lage `viral load` wordt standaard verwacht in bloedstalen (zelfs van katten met FIP), maar kan ook aanwezig zijn in weefsels van katten met FIP. Indien sterk klinisch vermoeden van FIP is het aangeraden de test te herhalen op andere weefsels.