



T.C.

BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KEDİLERDE DOĞAL İNFEKSİYÖZ PERİTONİTİS
ENFEKSİYONUNDA AKCİĞER LEZYONLARI ÜZERİNE
PATOLOJİK İNCELEMELER**

Fatih YAĞCI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

VETERİNER PATOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Zafer ÖZYILDIZ

BURDUR-2023

**T.C.
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KEDİLERDE DOĞAL İNFEKSİYÖZ PERİTONİTİS ENFEKSİYONUNDA
AKCİĞER LEZYONLARI ÜZERİNE PATOLOJİK İNCELEMELER**

Fatih YAĞCI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

VETERİNER PATOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Zafer ÖZYILDIZ

BURDUR-2023

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim sürecinde beni yönlendiren ve bu çalışmanın planlanıp yürütülmesine öncülük eden danışman hocam Prof. Dr. Zafer ÖZYILDIZ başta olmak üzere, çalışmalarında yardımlarını, bilgilerini ve tecrübelerini esirgemeyen Prof. Dr. Özlem ÖZMEN'e, Dr. Öğr. Üyesi Volkan İPEK'e ve Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Fatih BOZKURT'a; laboratuvar çalışmalarında özveri ile yardımcı olan doktora öğrencisi Melike ALTINTAŞ'a ve diğer lisansüstü öğrenci arkadaşlarıma; son olarak bu süreçte olduğu gibi hayatımın her alanında bana yardımcı olan aileme ve arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.



İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY	iii
TEŞEKKÜR	iv
ETİK BEYAN	v
ŞEKİLLER	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
ÖZET	xi
ABSTRACT	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Etiyoloji	3
2.2. Epizootiyoloji	8
2.3. Patogenez	10
2.4. Bulgular	13
2.4.1. Klinik Bulgular	13
2.4.2. Makroskopik Bulgular	15
2.4.3. Histopatolojik Bulgular	16
2.4.4. İmmunohistokimyasal Bulgular	18
2.4.5. Laboratuvar Bulguları	18
2.5. Tanı	19
2.6. Tedavi ve Koruma	21
3. GEREÇ ve YÖNTEM	24
3.1. Hayvan ve Doku	24
3.2. Histopatolojik Yöntem	25
3.3. İmmunohistokimyasal Yöntem	25
3.4. Semi-kantitatif Analiz	26
3.5. İstatistiksel Analiz	26
4. BULGULAR	28
4.1. Histopatolojik Bulgular	28
4.2. İmmunohistokimyasal Bulgular	33
4.2.1. Anti-Coronavirus Boyanmalar	34
4.2.2. Anti TNF- α İmmun Reaktivite	37
4.2.3. Anti-CD3 İmmun Reaktivite	40
4.2.4. Anti-CD20 İmmun Reaktivite	43
4.2.5. IL-1 β İmmun Reaktivite	46

4.2.6. IL-6 İmmun Reaktivite	48
4.3. İstatistiksel Analiz Sonuçları	50
5. TARTIŞMA	52
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	57
KAYNAKLAR	57
ÖZGEÇMİŞ	73



ŞEKİLLER

Şekil 4.1.	Damar duvarında kalınlaşma (ok) ve damar çevresinde perivasküler ödem (yıldız) HE boyama, Bar= 100 µm.	28
Şekil 4.2.	Damarda tromboz odakları (t) ve damar çevresinde bronşiolit (yıldız) HE boyama, Bar= 200 µm.	29
Şekil 4.3.	Vaskülit (ince ok) ve peribronşiolitis (kalın oklar) HE boyama, Bar= 200 µm.	30
Şekil 4.4.	Alveol lümenlerinde ödem (yıldızlar) ve hücre infiltrasyonlarının (oklar) görünümü, HE boyama, Bar= 50 µm.	31
Şekil 4.5.	İnteralveolar septal dokularda kalınlaşma (oklar), HE boyama, Bar= 50 µm.	31
Şekil 4.6.	Plörada ödem (yıldız) ve fibrinli plöyritis (ok) HE boyama, Barlar (sırasıyla)=200 µm, 100 µm.	32
Şekil 4.7.	Supplöral bölgedeki koronavirüs immun pozitiflikler (oklar), Anti-coronavirüs, Bar= 20 µm.	34
Şekil 4.8.	İnteralveolar septal dokudaki makrofajlar (oklar), Anti-coronavirüs, Bar= 20 µm.	35
Şekil 4.9.	İnteralveolar septal dokudaki makrofajlar (oklar), anti-coronavirüs, Bar= 20 µm.	35
Şekil 4.10.	Damar duvarında makrofaj (ok), Anti-coronavirüs, Bar= 20 µm.	36
Şekil 4.11.	A: Akciğerdeki immun pozitif boyanmalar (oklar) B: Böbrekteki immun pozitif boyanmalar (oklar), Anti-coronavirüs, Barlar (sırasıyla)= 50 µm, 100 µm.	36
Şekil 4.12.	Damar duvarında TNFα pozitif immun reaktiviteler (ok), Anti-TNFα, Bar= 100 µm.	38
Şekil 4.13.	Bronşiyol (kalın ok) ve interalveolar septal dokuda (ince ok) TNFα pozitif immun reaktiviteler, Anti-TNFα, Bar= 200 µm.	38
Şekil 4.14.	TNFα negatif immun reaktivite (kontrol grubu) anti-TNFα, Bar= 200 µm.	39
Şekil 4.15.	Damar çevresinde anti-cd3 pozitif immun reaktiviteler (oklar), Anti-CD3, Bar= 100 µm.	41
Şekil 4.16.	Plörada anti-cd3 pozitif immun reaktiviteler (ok), Anti-CD3, Bar= 200 µm.	41
Şekil 4.17.	CD3 kontrol grubu, Anti-CD3, Bar= 100 µm.	42
Şekil 4.18.	Subplöra bölgesinde CD20 pozitif immun reaktiviteler (ok), Anti-CD20, Bar= 200 µm.	44
Şekil 4.19.	İnteralveolar septal dokuda CD20 immun pozitif reaktiviteler (oklar), Anti-CD20, Bar= 50 µm.	44
Şekil 4.20.	CD20 kontrol grubu, Anti-CD20, Bar= 100 µm.	45
Şekil 4.21.	Alveol lümeninde IL-1 pozitif immun reaktivite (oklar), IL-1β, Bar= 20 µm.	47
Şekil 4.22.	IL-1β negatif immun reaktivite (kontrol grubu), IL-1β, Bar= 100 µm.	47
Şekil 4.23.	Alveol lümeninde IL-6 pozitif immun reaktivite (makrofaj) (oklar), IL-6, Bar= 20 µm.	49
Şekil 4.24.	IL-6 negatif immun reaktivite (kontrol grubu), IL-6, Bar= 100 µm.	49

TABLÖLAR

Tablo 3.1.	Çalışmada kullanılan parafin bloklara ait kedilerin genel özellikleri	24
Tablo 4.1.	Olgulardaki lezyonların histopatolojik skorlanması	33
Tablo 4.2.	Anti-coronavirus immün reaktivite skorlama tablosu	37
Tablo 4.3.	Anti-TNF- α immün reaktivite skorlama tablosu	40
Tablo 4.4.	Anti-CD3 immün reaktivite skorlama tablosu	43
Tablo 4.5.	Anti-CD20 immün reaktivite skorlama tablosu	46
Tablo 4.6.	IL-1 β immün reaktivite skorlama tablosu	48
Tablo 4.7.	IL-6 immün reaktivite skorlama tablosu	50
Tablo 4.8.	Pearson korelasyon test sonuçları	51

SİMGELER VE KISALTMALAR

A/G	Albümin/Globülin
ADE	Antikora Bağlı Çoğalma
AGP	Alfa-1 glikoprotein
APN	Aminopeptidaz-N
BALT	Bronşioler Lenfoid Doku
CCoV	Köpek Koronavirüs
CoV	Koronavirüs
DAB	3,3'-diaminobenzidine tetrahidroklorid
ELISA	Enzim Aracılı İmmunosorbant Yöntem
ERGIC	Endoplazmik Retikulum-Golgi Aygıtı Aracılı Bölüm
fAPN	Kedi aminopeptidaz-N
FCoV	Kedi Koronavirüs
FECV	Kedi Enterik Koronavirüs
FIP	Kedi Enfeksiyöz Peritoniti
FIPV	Kedi Enfeksiyöz Peritonit Virüs
IFN-γ	İnterferon-gama
IgG	İmmüoglobülin G
LDH	Laktat dehidrogenaz
Kb	Kilobaz
kDa	Kilodalton
MRG	Manyetik Rezonans Görüntüleme
Nm	Nanometre
PBS	Fosfat Tamponlu Su
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PD-L1	Programlı Ölüm Ligandı 1
RNA	Ribo Nükleik Asit
RT-PCR	Ters Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SARS-CoV	Şiddetli Akut Respiratorik Sendrom-Koronavirüs
SARS-CoV2	Covid-19
TEGV	Bulaşıcı Gastroenterik Virüs
TNCC	Toplam Çekirdekli Hücre Sayısı
TNF- α	Tümör Nekroz Faktörü-alfa
UV	Ultraviyole
WBC	Beyaz Kan Hücresi

ÖZET

Kedilerde Doğal İnfeksiyöz Peritonitis Enfeksiyonunda Akciğer Lezyonları Üzerine Patolojik İncelemeler

Bu çalışmanın amacı kedilerin infeksiyöz peritonitis enfeksiyonunda akciğer lezyonlarının detaylı bir şekilde incelenerek yangı sırasında bölgedeki hücresel yanıt tipleri ve sitokin etkilerinin karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesidir. Bu çalışmanın materyali Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı arşivindeki FIP tanısı konulmuş 20'si çalışma ve 5'i kontrol grubu (Akciğerde herhangi bir patolojiye rastlanılmamış) olmak üzere 25 kedinin dokularına ait parafin bloklardan oluşturuldu. Parafin bloklar 4 µm kalınlığında kesilerek normal ve poly-l-lysinli lamalar üzerine alındı. Normal lamalar üzerine alınan kesitler Hematoksilen-Eozin ile boyandı ve hastalığın mikroskobik lezyonları belirlendi. Poly-l-lysinli lamlara alınan dokular ise ayrı bir şekilde Anti-Mause Anti-Feline Coronavirus Monoclonal Antibody, Anti-TNF α Antibody, Anti-IL-1- β Antibody, IL6 Antibody, Anti-CD3 Antibody ve Anti-CD20 Antibody streptavidin-biotin peroksidaz yöntemi ile standart ticari kit (Ultravision Detection System Anti-Polyvalent, HRP) kullanılarak immunohistokimyasal yöntem uygulandı. Boyanan kesitler ışık mikroskobunda incelenerek, lezyonlu bölgelerin mikrofotografı çekilip kaydedildi. Vakaların tek tek fotoğrafları incelenerek skorlama yapıldı ve tablo haline getirildi. Her bir sitokin için farklı tablo oluşturuldu ve karşılaştırmaları yapıldı. Sonuç olarak şiddetli vakalarda IL-1 IL-6 TNF α salınımlarının yüksek olduğu T lenfositlerin (CD3) sayıca azaldığı buna karşın B lenfositlerin (CD20) sayıca arttığı tespit edilmiştir. Buna göre virüsün T lenfositleri yıkımlayarak T lenfosit savunmasını inhibe ettiği ve makrofajlar içinde replike olan virüsün tekrarlanan ataklarla B lenfosit proliferasyonunu arttırdığı gözlemlenmiştir. Bununla birlikte oluşan hasarın virüsün direkt etkisinden ziyade B lenfosit aracılı immun yanıtı sonucu antijen-antikor komplekslerine karşı oluşan aşırı sitokin salınımları ile alakalı olduğu belirlendi. Bu özelliği yönüyle insanlarda görülen Covid-19 hastalığına benzerliklerin olması ve Covid-19 ile FIP'in oluşum mekanizması, teşhis ve tedavisinde rol model olabileceği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Akciğer, FIP, Histopatoloji, Kedi

ABSTRACT

Pathological Investigations On Lung Lesions In Natural Infectious Peritonitis Infection In Cats

The aim of this study is to examine the lung lesions in infectious peritonitis infection of cats in detail and to evaluate the cellular response types and cytokine effects in the region during inflammation comparatively. The material of this study was composed of paraffin blocks belonging to the tissues of 25 cats, 20 of which were diagnosed with FIP, and 5 of which were in the control group (no pathology was found in the lung) in the archive of Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Pathology. Paraffin blocks were cut at a thickness of 4 µm and placed on normal and poly-l-lysine slides. Sections taken on normal slides were stained with Hematoxylin-Eosin and microscopic lesions of the disease were determined. Tissues taken on slides with poly-l-lysine were separately Anti-Mouse Anti-Feline Coronavirus Monoclonal Antibody, Anti-TNFα Antibody, Anti-IL-1-β Antibody, IL6 Antibody, Anti-CD3 Antibody and Anti-CD20 Antibody streptavidin-Biotin peroxidase method and immunohistochemical method were applied using standard commercial kit (Ultravision Detection System Anti-Polyvalent, HRP). The stained sections were examined under a light microscope, and microphotographs of the lesioned areas were taken and recorded. Photographs of the cases were examined one by one, scoring was done and tabulated. A different table was created for each cytokine and comparisons were made. As a result, in severe cases, it was determined that T lymphocytes (CD3) with high IL-1 IL-6 TNFα oscillations decreased in number, whereas B lymphocytes (CD20) increased in number. Accordingly, it was observed that the virus inhibited T lymphocyte defense by destroying T lymphocytes, and the virus replicating in macrophages increased B lymphocyte proliferation with repeated attacks. However, it was determined that the damage was related to excessive cytokine releases against antigen-antibody complexes as a result of B lymphocyte-mediated immune response rather than the direct effect of the virus. With this feature, it is thought that there are similarities to the Covid-19 disease seen in humans and that it can be a role model in the formation mechanism, diagnosis and treatment of Covid-19 and FIP.

Keywords: Cat, FIP, Histopathology, Lung

1. GİRİŞ

Kedi enfeksiyöz peritonitisi (FIP); dünya çapında büyük bir yayılım gösteren, feline koronavirüsün (FCoV) sebep olduğu ölümcül bir hastalık olarak tanımlanmıştır (Hartmann, 2005; Myrrha ve ark., 2011).

Tüm dünyadaki kedi ölümlerinin hemen hemen %20'si bu hastalık sonucunda oluşmaktadır. FCoV'un virulent ve mutant bir form oluşturmamasından kaynaklı hastalık meydana gelir (Pedersen, 2009). FIP, kedilerde kronik, progresif ve genellikle ölümcül seyrederek (Olsen, 1993). FCoV, kedi enterik koronavirüs (FECV) ve kedi enfeksiyöz peritonitis virüs (FIPV) olmak üzere iki biyolojik tipte görülür (Vogel ve ark., 2010). Evcil ve vahşi kedilerde yaygın ve sindirim kanalında bulunan apatojen formu olarak bilinen (FECV), organizmayı diğer antijenlere karşı duyarlı hale getirmektedir. Hastalığın insidensinin artması ve yeni tanısal tekniklerin gelişmesine paralel olarak koronavirüslerin hızlı adaptasyon ve mutasyon kabiliyetleri doğrultusunda FECV'tan mutasyonla oluştuğu öne sürülen ölümcül bir enfeksiyona neden olan FIPV tanımlanmıştır (de Groot ve ark., 1987).

Enfeksiyon birçok organda lezyonlara sebep olur. Bunlar fibrinöz-granümatöz serozitis, granümatöz-nekrotik flebitis, periflebitis ve birçok organda oluşan granümatöz yangısal lezyonlar olarak tanımlanabilir. Karakteristik olarak fibrinli serozitis ve damarlarda vaskülitis görülür. FIPV ile enfekte olmuş kedilerin yaş, immunité, stres faktörlerine bağılı olarak; kuru ve yaş formları şekillenir (Hayashi ve ark., 1977).

Hastalığın etiyoloji, epidemiyoloji, patogenezi, teşhis ve tedavisinde uzun yıllardır farklı alanlarda değışik disiplinlerde çalışmalar yapılmasına rağmen günümüzde yeterli derecede başarıya ulaşamamıştır. Tedavide uygulanan yöntemlerin başarısızlığı çoğunlukla hastalığın patogenezinin tam olarak anlaşılmaması sonucu tedavide etkili bir yöntem geliştirilememesidir. Bu nedenle hastalığın lezyonları ile bu lezyonlar sırasında vücudun verdiği yanıtların detaylı olarak irdelenmesi hastalığın anlaşılması ve yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinde önemli katkılar sağlayacaktır. Özellikle hastalığın farklı formlarındaki hücresel yanıtın tipi, şiddeti ve lokalizasyonlarıyla yangıda bu hücreler

tarafından sagılanan sitokinlerin belirlenmesi, yoğunluğu ve birbirleri ile arasındaki ilişkilerin detaylı biçimde incelenmesi hastalığın patogenezi, tedavi ve prognozunda açıklanamayan birçok konuyu aydınlatacaktır.

Bu çalışmanın amacı FIP enfeksiyonunda akciğer lezyonlarının detaylı bir şekilde incelenerek yangı sırasında bölgedeki hücresel yanıt tipleri ve sitokin etkilerinin karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesidir. Bununla birlikte hastalığa sebep olan mutant koronavirüs enfeksiyonu hakkında elde edilen bilgilerin hali hazırda tüm dünyayı etkisi altına alan SARS CoV2 (Covid-19) hastalığına rol model olabileceğinden insan ve hayvan sağlığına faydalı olunabilecektir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Etiyoloji

Coronaviridae ailesindeki virüsler, genellikle gastrointestinal ve solunum sistemini etkiler (Ward, 1970). CoV familyasındaki virüsler birbirleri ile yakın ilişkili olmakla beraber benzer konakçılar arasında bulaşma eğilimindedirler (Christian ve Scotti, 1994; Masters, 2006). CoV familyasındaki virüsler genellikle genç hayvanları enfekte ederler (Pedersen ve ark., 1981). CoV'un hayvanlardan insanlara mutasyon yoluyla geçmesi ve insanlarda hastalık yapma potansiyelinin olması bu virüse bakış açısını etkilemiştir (Masters, 2006; Woo ve ark., 2009).

FIP, ilk kez 1963 yılında Holzworth tarafından tanımlanmıştır (Holzworth, 1963). Wolfe ve Griesemer FIP hastalığı etkeninin bir virüs olabileceğini ileri sürmüşlerdir (Wolfe ve Griesemer, 1966). Zook ve arkadaşları deneysel olarak enfekte olan ve klinik belirtileri taşıyan kedilerin dokularından virüs partiküllerini saptayabilmelerine rağmen virüsü tanımlayamamışlardır (Zook ve ark., 1968). Ward, FIP virüsünün coronaviridae ailesi ile benzerlik içinde olduğunu öne sürmüş ve FIPV olarak tanımlamıştır (Ward, 1970). Montali ve Strandberg, FIP enfeksiyonun granülomatöz (kuru) ve efüziv (yaş) olarak iki farklı formunun olduğunu ileri sürmüşlerdir (Montali ve Strandberg, 1972). FIPV'un, köpek ve domuzların koronavirüsleri ile genetik açıdan benzerlik olduğu öne sürülmüştür (Pedersen ve ark., 1978). Sahada yapılmış çalışmaları temel alarak yapılan bir araştırmada, FIP'in ortaya çıkmasının olası nedenleri belirtilmiştir (Pedersen, 1995). Araştırmada; domuz ve köpeklerde etkinliğini bilinen CoV'nin çeşitli mutasyonlar sonucu enterik FCoV'ye, bunun da mutasyon geçirerek virulent FIPV'ye dönüşme potansiyelinin olduğu vurgulanmıştır. Kedilerin günümüze kadar artarak devam eden pet hayvanı olarak bakımı ve barınaklarda bulundurulma oranı bu virüslerin çapraz mutasyonuna zemin hazırlamıştır. Ayrıca sağlıklı görünen kedilerin dışkıları ile virüsü saçması ve stres etkenlerinden kaynaklı çok sayıda enfekte kedinin varlığı düşünülmektedir (Hartmann, 2005; Pedersen, 1995; Pedersen, 2014).

Kedi koronavirüsleri (FCoV) Nidovirales takımının Coronaviridae ailesinde bulunmaktadır ve Alphacoronavirüs cinsinin Alphacoronavirüs-1 türüne aittirler

(Gonzales ve ark., 2003). Koronavirüsler, Nidovirales takımındaki en büyük virüs grubudur (Jaimes ve Whittaker, 2018). Koronavirüsler, en az 4-5 grupta sınıflandırılabilir (Anderson ve Tong, 2010).

FCoV'lerin yapısında nükleokapsid ve dış zarf bulunur. Bu iki yapı virüsün ribonükleik asit (RNA) genomunu stabilize eder ve korur (Licitra ve ark., 2014; Pedersen, 2009). Dış zarfın içinde 29 kilobaz (kb) uzunluğundaki RNA genomunu koruyan helikal simetrik nükleokapsid bulunur (Kipar ve Meli, 2014). FCoV ve Coronavirinae alt ailesindeki tüm virüsler ısı, formaldehit, lipit çözücüler, ultraviyole (UV) ışınları, non-iyojenik deterjanlara duyarlıdır. CoV'ler küresel görünümlü ve boyutları 80-120 nanometre (nm) arasındadır. Koronavirüs adının verilmesinin nedeni ise taç şekline benzemesine sebep olan 12-24 nm uzunluğundaki sivri yüzey çıkıntılarıdır. Nidovirales takımındaki tüm virüsler zarflı ve pozitif iplikçikli RNA virüsleridir (Barcena ve ark., 2009; Fehr ve Perlman, 2015; Thiel, 2007). FCoV, 4 adet yapısal proteinden; spike (S), zarf (E), membran (M), nükleokapsid (N) ve 7 adet yapısal olmayan proteinden; 1a, 1b, 3a, 3b, 3c, 7a ve 7b oluşmuştur (Dye ve Siddell, 2005; Pedersen, 2009).

CoV'lerin zarf yapısının temel unsuru olan S yapısal proteini, FCoV'un patogeneğinde önemli rol oynamasından dolayı ön plana çıkmaktadır (Belouzard ve ark., 2012; Bosch ve ark., 2003). Viral zarfta S peplomerleri 12-24 nm uzunluğundadır ve sivri uçlar şeklinde dizilim gösterir (Dye ve Siddell, 2005). S proteininin yüksek oranda glikozilasyonundan kaynaklı virüs nötralizasyonunda, enfeksiyon anında nötralizan antikorların temel indükleyecisi olması bakımından önemli bir protein olduğu düşünülmüştür (Spaan ve ark., 1988). Konak hücrenin membranına tutunan ve sınıf I viral füzyon protein özelliklerini barındıran bu protein, virüs-konak hücre etkileşimde ana viral regülatör olarak kabul edilmiştir (Belouzard ve ark., 2012; Bosch ve ark., 2003). S proteininde, reseptör bağlanmasından sorumlu N-terminal alanı denilen S1 ve füzyondan sorumlu C-terminal alanı denilen S2 bölgeleri mevcuttur (Dye ve Siddell, 2007). S1 zarf dışındaki taç yapıların küresel kısımlarında bulunur ve virüsün, hedef olan hücrenin spesifik reseptörüne bağlanmasını sağlar (Lai ve ark., 2007). CoV'lerin farklı üyeleri ve suşları arasında S1 proteininin uzunluğu ve nükleotit dizilimlerinde farklılıklar olduğu belirlenmiştir. Bunun sebebinin ise mutasyonlar, virüsler arasındaki rekombinasyonlar ve virüs-

konak etkileşimindeki güçlü seleksiyonlardan kaynaklı olduğu ileri sürülmüştür. S2 alt bölgelerinin S1'e oranla dizilim açısından daha stabil olduğu görülmüştür (Holmes ve Lai, 1996).

FCoV'un zarf yapısına katılan ve hastalığın patogenezinde önemli bir rol oynayan diğer unsurlar; E ve M proteinleri ile konakçı hücre endoplazmik retikulum-golgi aracılı bölgelerden oluşan çift katmanlı lipid tabakalarıdır (de Haan ve ark., 1998; Escors ve ark., 2001; Narayanan ve Makino, 2001).

M proteini, virüste en çok bulunan yapısal protein olmakla birlikte üç transmembran alanı bulunan 25-30 kilodalton (kDa) ağırlığı olan yapısal bir proteindir (Armstrong ve ark., 1984). M proteininde büyük bir C-terminal endodomaini ve küçük bir N-terminal ektodomaini bulunur. Ektodomain virüs içerisinde fazla olmasına rağmen M proteininin antijenik özelliklerini sınırlar (Neuman ve ark., 2011; Olsen, 1993). M proteini golgi aygıtında bulunur ve glikozilasyon burada gerçekleşir (de Haan ve ark., 1998; Niemann ve ark., 1984). Golgi cisimciğinde gerçekleşen glikozilasyon, proteine antijenik özellik kazandırır ve virionun hücreye bağlanmasında önemlidir. Bu nedenle M proteinler, virionların konak hücrelerde çoğalması ve yeni kuşakların oluşmasında önemli bir role sahiptir (de Haan ve ark., 2003; Wissink ve ark., 2004). N ve M proteinleri kendi aralarında sırayla ve belirli bir düzen içerisinde hareket ederler. Önce N protein konak genomik RNA'ya bağlanır ve bir kompleks oluşturur. N protein-genomik RNA kompleks oluşuktan sonra M proteini bu oluşumla birlikte, endoplazmik retikulum-golgi cisimciği aracılı bölümde (ERGIC) virüslerin oluşumunu başatırlar (Escors ve ark., 2001; Narayanan ve Makino, 2001).

E proteini, M ve S proteininden daha az miktarda ve daha küçük (8-12 kDa) tip III membran proteinidir. M proteinde olduğu gibi viral zarfın çeşitli bölümlerine yerleşmiştir (Masters ve Perlman, 2013). Bu proteinde N-terminal ektodomain ve C-terminal endodomain bölgeleri keşfedilmiştir. Bu bölgelerde ise iyon kanalı aktivitesi vardır. E proteini, virüsün toplanmasını ve salınmasını kolaylaştırmıştır. Aynı zamandan E protein bulundurmeyen virüsler her zaman öldürücü olmamıştır. SARS-CoV ile ilgili bir çalışmada E proteinin mutasyona uğraması veya parçalanması farelerde daha az klinik belirtiler oluşturduğunu göstermiştir. Bu çalışma üzerine E

proteininin patogeneizde önemli bir yeri olduğu görülmüştür (DeDiego ve ark., 2007; Kipar ve Meli, 2014). SARS-CoV ile ilgili yapılan farklı çalışmada ise viral membrandaki E iyon değişim kanalının viral patogeneizde ilişkili olduğu öne sürülmüştür (Nieto-Torres ve ark., 2014). Virionların gelişiminde ve birleşmesinde E proteininin önemli bir rol oynadığına vurgu yapılmıştır (Baudoux ve ark., 1998).

N proteinlerinin moleküler ağırlığı yaklaşık olarak 50 kDa'dur. Viral transkripsiyonda önemli bir rolü olduğu belirtilmiştir. Viral RNA ile esnek ve helikal nükleokapsidi oluştururlar (Hohdatsu ve ark., 2003; Olsen, 1993). N-terminal bölgesi ve C-terminal bölgesine sahip olan RNA'yı in vitro bağlayabilen bir proteindir (Molenkamp ve Spaan, 1997). N protein orta bölgesinden RNA'ya bağlıdır (Holmes ve Lai, 1996). N proteini RNA replikasyon komplekslerin oluşumunu ve virüs partiküllerinin birleştirilmesini kolaylaştırmada önemli rol oynamaktadır (Lai ve ark., 2007). Yapılan aşı çalışmalarından N proteininin hücre aracılı bağışıklıkta etkin rolü olduğu gözlemlenmiş ve olası çalışmalarda göz önünde bulundurulması gerektiği görülmüştür (Hohdatsu ve ark., 1998).

Virüsün geri kalan aksesuar proteinlerinde ise 3a, 3b, 3c, 7a ve 7b kodlamada; 1a ve 1b replike olmasında yardımcı olmaktadır (Brierley ve ark., 1989). Şimdiye kadar bu proteinlerin spesifik özellikleri tam olarak açıklanamamıştır. Fakat 3c proteininin viral replikasyon için gerekli olduğu birçok çalışmada görülmüştür. 3a ve 3b proteinlerinin ise alphacoronavirus-1 alt ailesinde iyi korunduğu görülmüştür. Bu proteinlerin yapısal olarak hidrofobik bölümleri olmadığı varsayıldığı için işlevlerini sitoplazmada yerine getirdikleri düşünülmektedir (Chang ve ark., 2010; Haijema ve ark., 2007; Oostra ve ark., 2006; Pedersen ve ark., 2009). Yapılan çalışmalarda enterik FCoV'un replikasyon olması için 3c proteininin hasar görmemiş olması gerekmektedir (Chang ve ark., 2010). Bir barınakta aynı zamanda diliminde hastalıktan etkilenen yavru kedilerde 3c proteinindeki mutasyonların farklılık gösterebileceği belirtilmiştir. Bundan dolayı 3c proteinindeki fonksiyon kaybı etkenin virülens kazanmasını önemli ölçüde etkilemektedir (Pedersen, 2009). 7a ve 7b proteinlerinin FCoV hastalığına karşı oluşan immun yanıtta rol oynadığına işaret edilmiştir (Dedeurwaerder ve ark., 2013). Ayrıca 7b proteininin doğal yollarla enfekte olmuş kedilerde antikor reaksiyonlarını indüklediği belirtilmiştir (Kennedy ve ark., 2008).

RNA replikasyonlarında, yüksek hata oranlarının olmasından kaynaklı genotip bakımından farklı gruplar ortaya çıkmaktadır (Denison ve ark., 2011). CoV'lerin hemen hemen her replikasyonunda RNA'da mutasyon olmaktadır. Bu genetik çeşitlilik, popülasyon içinde bulunan farklı varyant virüsler arasındaki etkileşimler sebebi ile hastalık patogeneze katkı sağladığı belirtilmiştir (Vignuzzi ve ark., 2006). Aynı grupta yer alan birbirleriyle yakından ilişkili CoV suşlarının beraberinde meydana getirdikleri hastalıklar sırasında homolog RNA birleşimleri, virüsler arası etkileşim ve türler arası aktarım ile hastalık patogenezi etkiler. In vitro çalışmalarda, kedi aminopeptidaz N'in alpha koronavirüs-1 alt türleri (FCoV, CCoV, TGEV) ve insan koronavirüs HCoV-229E gibi yakın ilişkili virüsler tarafından reseptör olarak kullanabileceği belirtilmiştir (Tresnan ve ark., 1996).

S proteininin virüs nötralize edici antikor tepkisi ve amino asit sekansları sonucunda FCoV'ler, serotip I ve serotip II olarak iki gruba ayrılmışlardır (Kipar ve Meli, 2014; Pedersen ve ark., 2012; Shiba ve ark., 2007). S proteinindeki antijenik farklar her serotipin genetik kökenine dayanır. Serotip I tamamen FCoV'den türemesiyle birlikte orijinal ve predominant bir tiptir. FCoV'un serotip I reseptörü bilinmemekle beraber bu serotipin suşları klinik olarak daha fazla hastalık tablosu oluşturur. Bu yüzden epidemiyolojik olarak büyük önem taşır (Benetka ve ark., 2004; Pedersen, 2009). Serotip II virüsleri serotip I virüslerine göre daha az yaygınlık gösterir. Serotip II virüsler genetik köken olarak hem hücre kültürlerinde hem in vivo hem de in vitro koşullarda en az iki farklı CoV arasındaki rekombinasyonlardan sonra oluşmuştur. Başka bir çalışmada ise FCoV serotip II'nin, FCoV serotip I ve CCoV'un rekombinasyonu sonucu ortaya çıktığı öne sürülmüştür (Herrewegh ve ark., 1998). FCoV serotip I ve FCoV serotip II, FIP'e sebep olabilir. Fakat yapılan çalışmalarda serotip I'in kedi popülasyonunda çok fazla olduğu ve yaygınlığının %98'e ulaştığını göstermektedir. Serotip I daha yüksek antikor titreleri ve klinik belirtileri olmasından kaynaklı FIP ile daha ilişkili olduğu söylenmiştir (Kummrow ve ark., 2005). Serotipler üzerinde yapılan sekans çalışmalarında; S proteini yönünden TGEV ve CCoV'un nükleotid sekanslarına serotip I'in %46 oranında, serotip II'nin ise %81-91 oranında benzerlik olduğu görülmüştür (Motokawa ve ark., 1995).

FCoV'ler, FECV ve FIPV olarak iki farklı patotipe (biyotip) ayrılırlar. Bu iki biyotip birbirinden farklı patogeneze gösterir. FECV, çok yaygın ve genellikle klinik

belirti göstermeden seyrederken yaban hayatındaki prevalans %90 oranına kadar ulaşmıştır. FIPV ve FECV serolojik veya morfolojik olarak birbirinden ayırt edilemez (Pedersen ve ark., 1984; Pedersen, 2009; Shiba ve ark., 2007). FECV'un geçmişte sadece intestinal epitelyumunda enfekte olduğu düşünülmüştür. FIPV'un ise monosit/makrofaj hedefli bulaşma ve çoğalmasından kaynaklı ayrılmışlardır. Fakat yapılan son çalışmalar FECV'un monositlerde replike olup enfekte edebildiğini bağırsaklardan da monosit aracılığıyla viremi yoluyla yayıldığını göstermiştir (Gunn-Moore ve ark., 1998; Kipar ve Meli 2014; Porter ve ark., 2014). FECV asemptomatik olarak seyrederken FIPV ölümcül olarak kabul edilen FIP hastalığına neden olmaktadır. FIPV'un FECV'e oranla daha ciddi bir virulent olmasının sebebi hakkındaki en önemli hipotez, FIPV'un monosit ve makrofajlara karşı güçlü tropizm göstermesidir (Licitra ve ark., 2013; Pedersen ve ark., 1984; Pedersen, 2009). FIPV'un FECV'una karşı yüksek virülensinin olmasının düşünülen ana sebebi; bir dokuda sınırlı olarak o bölgedeki hücreleri enfekte etmesinin yerine sistemik hareket ederek organizmanın tümüne dağılabilen monosit/makrofaj hücrelerinde enfekte olmasıdır (Kipar ve ark., 2001; Meli ve ark., 2004). Virüs ve konakçı etkileşimindeki oluşan viral tropizm değişiklikler; reseptörlere, biyokimyasal koşullara ve duyarlı hücreye erişim faktörlerine bağlıdır (Hartmann, 2010; Pedersen ve ark., 1981b).

2.2. Epizootiyoloji

FIP, hemen hemen tüm dünyadaki kedi popülasyonlarında daha çok genç ve bağışıklık sistemi baskılanmış hayvanalarda görülür. Prevalans, farklı kedi popülasyonları arasında büyük değişkenlik gösterir (Pedersen, 2009). FCoV'ler kedilerin yoğun olduğu ortamlarda %90 bireysel yaşayan kedilerde ise %50 oranında görülmektedir. Mutant olarak görülme oranı ise hemen hemen %5 civarlarındadır (Weiss, 1998). Geniş kedi ortamlarında veya barınaklarda virüs saçılımının fazla olmasından kaynaklı risk ortamını yaratır (Foley ve ark., 1997).

Hastalık; afrika aslanı, dağ aslanı, leopar, jaguar, vaşak gibi vahşi kedigillerde de ortaya çıkabilir (Fowler, 1978). Ayrıca Ragdoll, Birman, Bengal, Abyssinian, Himalayan, Rex gibi ırkların FIP hastalığına diğer kedilerden daha duyarlı oldukları görülmüşken; Burmese, Exotic Shorthair, Manx, Persian, Russian Blue ve Siyam ırklarında duyarlı ırklar kadar risk görülmemiştir (Foley ve Pedersen, 1996; Kiss ve

ark., 2000; Pesteanu-Somogyi ve ark., 2006). Enfeksiyon daha sık olarak genç (6 ay-2 yıl), saf ırk ve kısırlaştırılmamış erkek kedilerde görülmektedir (Foley ve Pedersen 1996; Rohrbach ve ark., 2001). FIP hastalığının oluşmasında hayvanın yaşı, genetik faktörler, başka bir hastalığın bulunması, FCoV antikorları, hücrel immün cevap, stres ve fiziksel kondisyonun önemli bir rolü olduğu belirtilmiştir (Can-Şahna ve ark., 2007).

FIP, panlökopeni ve üst solunum yollarını etkileyen viral enfeksiyonlarla birlikte kedi ölümlerinin en önemli nedenlerinden biridir (Pedersen, 2009). FIP hastalığında ölüm genellikle 3-16 aylık yaş aralığında görülmüştür. 5 yaşından sonra ölümler nadirdir (Foley ve ark., 1997; Pedersen, 1976). 2 yaşının altındaki kedi ölümlerinin en büyük sebebi FIP olarak gösterilmiştir (Marioni-Henry ve ark., 2004).

Kedilerin kalabalık ortamlarda zaman geçirmesi virüse maruz kalma riskini arttırır (Cave ve ark., 2004). Barınaklara kalabalık kedi ortamlarından getirilen kedilerin tekli getirilen kedilere göre seropozitivitesinin 2-3 kat fazla olduğu görülmüştür (Zhang ve ark., 2005). Kedilerin %90'dan fazlası seropozitifdir. Bazı kediler 10 yıldan fazla seropozitif kalırlar (Addie ve ark., 2000). FIP ülkemizde barınaklarda, sahihsiz sokak hayvanlarında ve kedi evlerinde yoğun olarak şekillenmesiyle birlikte kedi ölümlerinin büyük bir kısmını oluşturmaktadır (Baydar ve ark., 2014).

FCoV fekal-oral yolla bulaşır. Öncelikle enterositleri enfekte eder. Ağız yolu ile alınan virüs 24 saat içerisinde tonsiller ve ince bağırsaklara ulaşır. Sekum, kolon, mezenterik lenf nodülleri ve karaciğeri 14 gün içinde enfekte edebilir. Dışkı ile viral saçılım, virüse maruz kaldıktan bir hafta sonra görülür ve bu saçılım 2 günden 10 aya kadar devam edebilir (Pedersen, 1995; Pedersen ve ark., 2008; Weiss, 1998). Virüse yakalanan kedilerin %13'ünün yaşamları boyunca virüsü dışkıları ile saçtıkları düşünülmektedir (Addie ve Jarrett, 2001). Yani enfeksiyon kedilerde kalıcı olabilmekte ve bazı kedilerin klinik olarak sağlıklı görünmesine rağmen dışkıyla virüsü saçabilmektedir. Bu sağlıklı görünen taşıyıcı kediler, FIP hastalığı epidemiyolojisinde kilit rol oynarlar (Addie ve ark., 2003; Gunn-Moore ve ark., 1998).

FIP hastalığında transplasental bulaşmanın olabileceği öne sürülmüştür. FIPV enfeksiyonuna yakalanmış bir anne kedinin yavrularında pnömoni, plöritis ve hapatitis görülmüştür (Pedersen, 2009). 6-8 haftalık yavrularda maternal antikorların azalmasıyla birlikte anne ya da dışkıyla temas etmeleri sonucunda enfeksiyon geçirebilmektedirler (Hartmann, 2010).

2.3. Patogenez

FIP hastalığının patogenezi hakkındaki bilgiler net olmamakla birlikte her geçen gün yeni bilgiler eklenmektedir. FIPV'e yakalanan kedilerde klinik belirti olup olmayacağı veya ne şekilde olacağı arasında net bir bilgi bulunmamaktadır (Pedersen, 2009; Simons ve ark., 2005).

Kediler genelde virüsle kontamine olmuş kedi kumundan ağız yoluyla etkeni alırlar (Hoskins, 1993). Ağız yoluyla alınmasından sonra replike olmak için S proteini aracılığı ile enfekte edeceği hücreye bağlanır (Baş ve ark., 2020; Cham ve ark., 2017). Hücreye bağlandıktan sonra penetrasyon süreci başlar (Van Hamme ve ark., 2008). Penetrasyon gerçekleşikten sonra viral antijen-antikor kompleksi geç endozomlarda birikir ve 30-60 dk sonra buradan ayrılır (Pedersen, 2009). Hastalığın gelişmesi için etkenin monosit ve makrofaj hücreleri içinde replike olması gerekir (Francisco ve ark., 2016; Gunn-Moore ve ark., 1998). Mutasyona uğramış virulent FCoV'ler monosit veya makrofajlarda replikasyona uğrayarak 14 gün içerisinde sekum, kolon, intestinal lenf düğümleri, dalak, karaciğer ve merkezi sinir sistemine dağılarak sistemik enfeksiyona neden olurlar (Kipar ve Meli, 2014; Paltrinieri ve ark., 2007; Weiss ve Scott, 1981b). Aktive olmuş monositler FIP'in granümatöz flebitis ve periflebitise lezyonlarına sebep olur (Kipar ve ark., 2005; Simons ve ark., 2005). FIP hastalığının en önemli karakteristik histopatolojik bulguları flebitis, trombozis ve nekrotik pyogranülomlardır (Weiss ve Scott, 1981c). Hasta kedilerdeki ani monosit aktivasyonunu etkisi altına alan sistem hala çözülememiştir (Dewerchin ve ark., 2005). Kedilerde FIP enfeksiyonunda, hemolenfatik dokularda monosit ve makrofaj hücrelerinde artış olduğu gözlemlenmiştir. Aynı zamanda FIP enfeksiyonundaki çok sayıda enfekte monosit ve makrofaj hücrelerinden salınan sitokinler kan sitokin seviyelerini yükseltmiştir (Kipar ve ark., 2006).

FIPV öncelikle hedef makrofaj ve monosit hücrelerine bağlanır (Van Hamme, 2008). CoV'lerde bağlanma reseptörlerinde farklılıklar vardır. Ancak TGEV enfeksiyonunda ilk kez tespit edilen aminopeptidaz-N (APN-CD14)'i, Alphacoronavirus ailesinin hücresel reseptör olarak kullandığı gözlemlenmiştir. Sonraki çalışmalarda ise TGEV'unda reseptör olarak kabul gören APN kedi ve köpeklerin koronavirüsünde kabul görülmemiştir (Delmas ve ark., 1993). FCoV'ler hücreye giriş için kedi aminopeptidaz-N'i (fAPN) kullanılırlar. fAPN, FCoV serotip II'de kullanıldığı gözlemlenmesine rağmen FCoV serotip I'de gözlemlenmemiştir (Dye ve Siddell, 2007; Hohdatsu ve ark., 1998; Regan ve Whittaker, 2008; Van Hamme ve ark., 2011). Konakçı immun yanıtından yararlanarak FIPV'ünün makrofaj ve monosit hücrelerini enfekte etmesine yardımcı olan antikora bağlı çoğalma (ADE) adında bir sistem gözlemlenmiştir (Corapi ve ark., 1992). Bu sistem sayesinde fAPN'e gerek kalmadan in vivo olarak FIPV serotip I'e in vitro olarak da FIPV serotip II'ye giriş olabildiği görülmüştür (Takano ve ark., 2008a, 2008b).

S proteini ve diğer proteinlerin FECV'un FIPV'e dönüşmesinde etkili olduğu ve dönüşüm sonrası FIPV'te S proteininde farklı iki noktada mutasyon gözlemlenmesi bu mutasyonların hastalığın patogenezinde önemli bir yerde olduğunu göstermiştir (Felten ve ark., 2017a). Bu dönüşümdeki mutasyonlar monosit ve makrofaj hücrelerinde meydana gelen replikasyonlar sırasında meydana geldiği söylenmiştir (Poland ve ark., 1996). Virüsün monosit ve makrofaj hücrelerine karşı gösterdiği güçlü yönelimden kaynaklı enfeksiyon tek bir dokuda sınırlı kalmaz. Bu yüzden FIPV yüksek bir virülense sahiptir (Hartmann, 2010). Yayılan virüs retikuloendotelial sistemde ve birçok organın perivasküler bölgelerinde yayılım göstermiştir. Persiste enfekte kedilerin kan ve bağırsakları dışında karaciğerdeki Kupffer hücrelerinde de viral RNA gözlemlenmiştir (Kipar ve Meli, 2014; Tasker, 2018).

Birçok enfeksiyonda önceden oluşmuş olan antikorlar yeni oluşacak hastalığa karşı koruma sağlar. Fakat FIP enfeksiyonunda FIPV seropozitif kedilerin seronegatif olan kedilere göre hastalığın daha şiddetli olduğu görülmüştür (Pedersen ve Boyle, 1980). Ayrıca, seropozitif kedilerde nekrotik lezyonlar seronegatif olan kedilere göre daha hızlı bir şekilde gözlemlenmiştir ve ölüm seropozitif olan kedilerde daha erken olmuştur (Pedersen ve Boyle, 1980; Weiss ve Scott, 1981b). Antikor pozitif olan

kedilerin genellikle antikor negatif olan kedilere kıyasla hastalığın daha şiddetli olduğunu ve erken ölümle sonuçlandığı görülmüştür. Bu durumun oluşmasında ADE mekanizması sorumlu tutulmuştur (Scott ve ark., 1995). ADE mekanizması, antikorların FCoV'un makrofajlarına alınımını kolaylaştırır (Corapi ve ark., 1992; Corapi ve ark., 1995).

Kedinin hastalığa karşı olan immun yanıtı virüsün enfeksiyon oluşturmalarını ve klinik semptomların ortaya çıkmasında önemlidir. Bu nedenle humoral ve hücrel bağışıklık FIP hastalığının patogenezi de önemli bir yer tutar (Tasker, 2018). Makrofaj hücrelerinin virüse karşı verdiği tepki hastalığının patogenezinin gelişmesinde etkilidir (Holst ve ark., 2006). Ayrıca hastalığının patogenezinde sitokin yanıt da önemli olmuştur. Hastalığa karşı bağışıklığın düşük tümör nekroz faktörü- α (TNF- α) ve yüksek interferon γ (IFN- γ) yanıtı ile sağlanması gerekir. Yüksek TNF- α ve düşük IFN- γ hastalığının oluşmasında etkili olmuştur (Pedersen, 2009). FCoV enfeksiyonunu atlatmış kedilerde yüksek oranda IFN- γ tespit edilmiştir. Bu sebeple IFN- γ , enfeksiyonu baskı altında tutmada oldukça önemlidir (Giordino ve Paltrinieri, 2009). CD4+ (yardımcı T hücreleri) ve CD8+ (sitotoksik T hücrelerinin) apoptozisi ile FIPV serotip II'nin reseptörü olan APN ve makrofaj hücrelerinin indüklenmesi TNF- α salınımını artırır (Takano ve ark., 2007).

Tip III (İmmun komplekle gelişen) ve tip IV (hücrel) hipersensitivite reaksiyonları, FIPV enfeksiyonunun karakteristik perivasküler granümatöz lezyonları ile bağlantılıdır (Jacobse-Geels ve ark., 1982; Paltrinieri ve ark., 1998; Pedersen ve Boyle, 1980). Tip IV hipersensitivite granülom oluşumuna katılan T ve makrofaj hücrelerinin aşırı uyarımlarıyla oluşan geç aşırı uyarım reaksiyonudur (Benacerraf ve Levine, 1962). Tip III hipersensitivite reaksiyonunda antijenler antikorlara bağlanarak immun kompleks meydana getirir ve damar duvarlarında birikerek vaskülitise neden olur (Wills-Karp, 2008). Akut durumlarda damar nekrozu görülür. FIP vaskülitisinde virüs, enfekte monositler, nötrofiller ve T hücrelerinin bulunmasından kaynaklı immun aracılı vaskülitisten ayırım yapılabilir. Daha öncesinde yangısal reaksiyon şekillenen damarlarda tekrardan akut nekrotik lezyonların şekillenebildiği görülmüş ve hastalığın çok çeşitli yapıda olduğu ileri sürülmüştür. Bu sebeple akut vasküler lezyonların yapısal özelliklerinden kaynaklı tip III hipersensitivite'nin FIP patogenezinde önemli olduğu vurgulanmıştır (Boudreaux

ve ark., 1989; Hayashi ve ark., 1977; Kipar ve ark., 2005; Montali ve Strandberg, 1972; Weiss ve ark., 1980).

2.4. Bulgular

2.4.1. Klinik Bulgular

FIP hastalığındaki başlıca lezyonlar olan vaskülitis ile pyogranüloomların dokulardaki dağılım ve şiddetine göre hastalığın klinik bulguları değişkenlik göstermektedir (Addie ve ark., 2009). Klinik belirti olarak; genç kedilerde gelişme geriliği, giderek kötüleşen halsizlik durumu, ateş, iştahsızlık ve buna bağlı olarak kilo kaybıdır. Hastalığın hangi formda olduğu ya da hangi organlarda yaygın olduğuna bağlı olarak belirtiler değişkenlik gösterebilir (Pedersen, 2009).

FIP, ıslak (efüziv, parankimatöz olmayan) ve kuru (efüziv olmayan, parankimatöz) formda olmak üzere iki klinik tabloda seyreder. Yaş FIP sık görülür ve tanısını kuru forma göre daha kolaydır (Pedersen, 2009). Yaş formda, sıvı birikimine bağlı olarak abdominal gerginlik, %25 oranında plöral efüzyon ve bunun sonucu olarak dispne görülebilir (Wolfe ve Griesemer, 1966). Kuru formda ise; böbrekler, karaciğer, mezenterik lenf yumruları, bağırsak duvarı, merkezi sinir sistemi ve göz gibi paranşim organlarda granüloamatöz lezyonlara sebep olur. Bu formda effüzyon sıvısı olamadığından dolayı kuru form olarak adlandırılmıştır (Montali ve Strandberg, 1972; Pedersen, 2009; Pedersen, 1976). Bu iki formda farklı görülen klinik semptomlar dışında; kronik, dalgalı ve antibiyotiğe tepki vermeyen ateş, anoreksi, iştah kaybı gibi ortak belirtiler de görülebilmektedir (Tsai ve ark., 2011).

Yaş formda bazı kediler hareketli ve yeme alışkanlıkları devam ediyorken bazı kedilerde halsizlik ve iştahsızlık görülebilir (Hartmann, 2005). Yaş formda bariz şekilde yoğunluğu değişebilen torakal veya abdominal bölgede efüzyon sıvısı vardır (Pedersen, 2009). Bazı olgularda plöral boşluktaki sıvı birikimden dolayı boğuk kalp sesleri duyulmuştur (Goodson ve ark., 2009). FIP enfeksiyonunda efüzyon birikimi kardiovasküler hastalıklar, neoplaziler, hepatik ya da renal yetmezlik sonucu asitesin oluşmasından daha yüksek ihtimaldedir (Pedersen, 2009; Wright ve ark., 1999). Aşırı genişlemiş abdomen hamur kıvamındadır. Palpasayonda ağrı hissedilmezken

perküsyonunda sıvı dalgalanması hissedilebilir. Kısırlaştırılmamış erkek kedilerde ödeme bağı olarak skrotumda genişleme gözlemlenmiştir. Karın boşluğundaki sıvının sarımsı, proteinöz/musinöz, hafif bulanık olduğu görülmüştür (Andrew, 2000; Pedersen, 2009). Yaş formunda göz ve merkezi sinir sistemi semptomlarının gözlemlenmesi çok nadirdir. Bazı kedilerde generalize sinovitisten kaynaklı topallık görülebilir (Pedersen, 2009).

Kuru formunda ateş, kilo kaybı ve iştahsızlık gibi spesifik olmayan bulgular kendini gösterir (Norris ve ark., 2005). Bu formda lezyonlar böbrekler, gözler ve beyin ile sınırlı kalabilir (Drechsler ve ark., 2011). FIP hastalıklarının en az %10'unda sinirsel bulgulara rastlanılmıştır (Kline ve ark., 1994; Rohrer ve ark., 1993). Merkezi sinir sisteminde üst nöron parezisi, ataksi, nistagmus; buna bağı olarak davranış bozuklukları ve nöbetlere sebep olabilir (Olsen, 1993). Bazı olgularda kedilerde hiperestezi, hiper refleksi, çapraz ektensör refleksi ve ayaklarda parezis gibi bulgular görülmüştür (Vennema ve ark., 1998). Kafa sallama ya da döndürme gibi serebellar-vestibular semptomlar gösterebilir. Pleksus koroideus ve ependim hücre tabakasının tutulumundan kaynaklı hidrocefalus görülmektedir (Fankhauser ve Fatzer, 1977; Foley ve ark., 1998). Kediler sinirsel semptom göstermese bile mikroskopta merkezi sinir sisteminde tutulum görülebilmektedir (Pedersen, 2009). Yapılan çalışmalarda merkezi sinir sisteminde yangı olan kedilerin yarısından fazlasında FIP teşhis edilmiştir. Aynı zamanda FIP, lenfoma ve vertebral neoplaziler ile birlikte en sık görülen sinirsel hastalıktır (Marioni-Henry ve ark., 2004). Göz lezyonları sıklıkla kuru formda şekillenir (Baydar ve ark., 2014). Bu formda gözde karşılaşılan en önemli klinik belirtiler ise; üveitis, korioretinitis ve iritistir (Pedersen, 2009).

Ayrıca retina damarlarında vaskülit ve hemoraji ile panoftalmitis de görülebilir (Goodson ve ark., 2009; Olsen, 1993). FIP enfeksiyonunda ilk zamanlarda iriste renk değişikliği görülebilir. En karakteristik bulgu ise fibrin, makrofajlar ve diğer yangı hücrelerinin birleşmesiyle oluşan keratik presipitatlardır (Campbell ve Reed, 1975; Gillespie ve Scott, 1973; Slausen ve Finn, 1972).

2.4.2. Makroskobik Bulgular

Yaş formda enfeksiyon geçiren kedilerde en belirgin lezyon, organ veya dokulardaki granülom ve pyogranülomlarla karakterize vaskülitis tablosudur (Kipar ve ark., 2005). Kuru formda ise sıvı birikimi görülmediğinden kaynaklı renal kortekste pyogranülom veya kolon duvarında kalınlaşma gibi lezyonlar değişkenlik göstermiştir (Hajjema ve ark., 2007). Yaş formda pyogranülomlar özellikle abdomende yaygın olmasından kaynaklı bu bölgedeki organların serozaları kaplamıştır. Bu lezyonlar bazı durumlarda birleşip fibrinöz bir örtü oluşturabilirler (Kipar ve ark., 1998). Yaş formda efüzyon genellikle peritoneal, plöral, perikardiyal veya renal subkapsüler boşluklarda birikir (Olsen, 1993).

Bağırsakların ve dalağın serozal yüzeyi, efüzyonlu FIP'in klasik pyogranülomları olan noktasal, birleşen fibrinli plaklarla kaplıdır. Ayrıca dalakta kalın fibröz plak oluşabilir. Ön akciğer lobunun kenarı boyunca sadece pleural granülom gözlemlenmiştir. Böbreklerin kapsülünde çok sayıda granümatöz lezyonlar görülmüştür ve aşağıya parankime doğru uzanmıştır. Granümatöz adenit ile ilişkili olarak lenf düğümleri büyümüştür. Karaciğer kapsülünde, parankime doğru uzanan 0,5-1 cm çapında kabarık, beyazımsı odaklar görülmüştür. Bu tür lezyonlar, birçok kuru FIP vakasının kısa bir ıslak FIP nöbeti olarak başladığı fikrini desteklediğine işaret etmiştir. Sekum ve kolonda lenfadenopati ile ilişkili tipik bir ülseratif kolit belirtileri görülebilir. Ayrıca yumuşak, mukuslu veya kanlı dışkı kuru FIP hastalığında spesifiktir (Pedersen, 2009).

Omentum; ödem, yangı ve nekrozan kaynaklı abdomen bölgede büzüşerek bir kitle haline gelebilir veya abdominal yüzeylerde yapışmalara sebep olabilir (Pedersen, 2009). Abdominal ve torasik lenf yumrularında büyümeler görülebilir (Francisco ve ark., 2016). Her iki formda da abdominal veya torasik organlarda inflamatuvar odakları görülebilir (Kipar ve ark., 1999b). Akciğerler ödemli ve elastik kıvamda gözlemlenmiştir (Francisco ve ark., 2016).

Mezenteriumda kalınlaşma vardır ve opak görünümündedir. Kısırlaştırılmamış erkek kedilerde peritonitisin skrotuma kadar ilerlemesi ve ödemleşmesinden kaynaklı o bölgede büyüme gözlemlenmiştir (Pedersen, 2009). Gözlerde iritis, üveitis veya

korioretinitis; retinada kanama veya panoftalmi görülebilir (Olsen, 1993). Efüzyon sıvısı visköz, berrak ve sarımsı renktedir. Fakat fibrin iplikçiklerin artışından kaynaklı viskozitesi düşebilir. Ayrıca karaciğer, dalak veya böbrek üzerinde boz beyaz renkte plaklar görülebilir (Hagan ve ark., 1992). Kuru formda ödem, hiperemi, nekroz odakları, fibrin ve protein eksudasyonu çok sınırlıdır ya da hiç yoktur (Kipar ve ark., 1998).

Merkezi sinir sisteminde hidrosefalus ve siringomyeli görülebilir (Slausen ve Finn, 1972). Merkezi sinir sistemi lezyonları genellikle ependim ve meninkslerde yoğunlaşmıştır. Genel olarak lezyonlar beyin posterior-ventral bölgesinde yoğun olarak görülmüştür. Ayrıca göz ve merkezi sinir sistemindeki lezyonlara kuru form olgularında daha çok rastlanıldığı gözlemlenmiştir (Pedersen, 2009).

2.4.3. Histopatolojik Bulgular

FIP enfeksiyonunda leptomeninkslerin, renal korteksin, gözlerin, karaciğer ve akciğerlerin karakteristik mikroskopik lezyonları venüllerin generalize vaskülitisi ve panvaskülitisidir. En fazla kapillar damarlar etkilenir (Kipar ve ark., 2005). Yaş form için karakteristik olan enflamatuar hücrelerin çoğalmasıyla vasküler lezyonlar bulunabilir (Benetka ve ark., 2004). Etkilenen damarların çevresini nötrofil, lökosit, lenfosit ve plazma hücreleri sarar. Bundan dolayı damarların endotelleri kalındır ve bazı vakalarda medial vasküler nekroz görülür. Bazı durumlarda infiltrasyonlar küçük gruplar halinde adventisyal fibrozis geliştirebilir. Parankimal organların yüzeylerinde veya derin katlarında nodüler lezyonlar görülebilir (Francisco ve ark., 2016).

Omentum, mezenterium ve serozal dokulardaki mezotelyal hücrelerin proliferasyonunu, fibrin birikimi, fibroblast proliferasyonu, dağılmış nötrofil, lökosit ve mononükleer hücreler vakanın hafif seyirli olduğunu gösterirken; nekroz, mezotelyal hiperplazi ve serozal yüzeylerde yoğun fibrin birikimi vakanın şiddetli olduğunu gösterir. Bağırsakların serozal damarlarında oluşan vaskülitis ile birlikte lamina muskularis, miyenterik ganglionlar, mukoza ve submukoza da etkilenebilir (Francisco ve ark., 2016).

Böbreklerde şiddetli lenfoplazmasitik intersitisyel nefritis, akciğerlerde diffuz intersitisyel pnömoni, beyinde ise ventrikülit, periventrikülit, ependimitis veya leptomeningitis görülebilir (Francisco ve ark., 2016). Bağırsakların ve dalağın serozal yüzeyi noktalı, birleşen fibrinöz plaklar, yaş formun klasik pyogranülomları ile kaplıdır. Makrofajların belirgin odak birikimleri, böbrek kapsülünün hemen altında görülür. Bu odaklar, parankim içine doğru aşağı doğru uzanan yoğun lenfosit ve plazma hücreleri birikimleri ile çevrilidir (Pedersen, 2009).

FIP'te görülen akciğer lezyonları non-spesifik bulgulardır. Genellikle tek başına FIP tanısı koymak için yeterli değildir. Lezyonlar efüziv formda vaskülit, perivaskülit, tromboz, ödem, fibrin çıkışı ve infarktüslerle kendini belli eder. Virüsün makrofajlar tarafından fagosit edilmesi ve replikasyonunu burada tamamlaması nedeniyle mononükleer hücre sayısında artış gözlenebilir. Bu nedenle damar çevresi, bronşiyol lenfoid doku (BALT) ve interalveolar septal dokuda; histiyosit, makrofaj, plazma hücresi ve lenfosit proliferasyonuna sebep olur. Bu nedenle FIP'in akciğer lezyonları yaygın intersitisyel pnömoni olarak tanımlanır. Zaman zaman vaskülit nedeniyle oluşan trombozlar; şiddetli nekrotik-fibrinli, fibrinopurulent pnömoni ve plöyritise neden olabilir. Böyle durumlarda nekrotik alanlar ve damar çevrelerinde nötrofil lökosit infiltrasyonlarına rastlanır. Lezyonlardaki hücre infiltrasyonları bazen makrofaj, lenfosit ve plazma hücrelerinden oluşabilir. Histopatolojik bakıda bir diğer önemli lezyon ıslak formda gözükken yoğun ödem ve vaskülitistir. Damar duvarlarına çöken antijen-antikor kompleksleri Arthus reaksiyonuna neden olur ve yoğun sitokin salınımına bağlı olarak damarsal değişiklikler ve sıvı efüzyonu ileri dereceye taşınır. İmmün yanıtın düşük olduğu ve reaksiyonların yavaş şekillendiği durumlarda diğer dokularda olduğu gibi akciğerlerde de kısmen bağ dokular zayıf ya da fakir granülomatöz odakların oluşumuna neden olur. Bu odaklar çoğunlukla bronş-bronşiyol çevreleri ile plöra altında gözlenir. Diğer pnömoilerde de olduğu gibi CoV'un neden olduğu pnömonilerde interalveolar septal doku kalınlaşmasının yanında bronşiolitis lezyonlarına rastlanır. Ancak bu lezyonların sekonder enfeksiyonlar ya da bizzat CoV tarafından yapıldığı açıklığa kavuşturulamamıştır (Hazıroğlu ve ark., 2002).

2.4.4. İmmunohistokimyasal Bulgular

Dokuda FCoV antijeninin bulunması immunohistokimyasal yöntemlerle mümkündür (Hartmann, 2005). Fakat viral antijen dokulara ve histopatolojik lezyonlara göre farklılık gösterebilir (Paltrinieri ve ark., 2001; Pedersen ve ark., 2015; Ziolkowska ve ark., 2017). Viral antijenler kuru formda ıslak forma göre daha düşük seviyelerdedir (Pedersen ve ark., 2012). Karaciğer ve diğer parankimatöz organlarda oluşan lezyonlarda viral antijenler saptanmıştır fakat damar duvarlarında ve glomeruluslardaki immun komplekslerin oluşturduğu lezyonlarda viral antijene rastlanılmamıştır (Paltrinieri ve ark., 2001; Pedersen ve ark., 2015; Ziolkowska ve ark., 2017).

2.4.5. Laboratuvar Bulguları

Çoğu hastalıkta kan değerleri patognomik değildir (Pedersen, 2009). Hemogram/Lökogram (WBC) değerlerinin FIP'li kedilerde farklı olmasından kaynaklı teşhiste net bir sonuç veremez (Paltrinieri ve ark., 2001). FIP'in her iki formunda da nötrofil sayısı bariz bir şekilde yükselir. Lenfosit sayısı düşüktür. Lenfosit değerlerinde değişim olmayan kedilerde FIP olma olasılığı düşüktür. Enfeksiyonların birçoğunda kediler şiddetli anemiktir (Addie ve ark., 2009; Meli ve ark., 2004).

FIP'li kedilerin yaklaşık %60'ında total serum proteinlerinde artış görülmüştür (Norris ve ark., 2005). FIP enfeksiyonu olan kedilerin birçoğunda düşük serum albümin konsantrasyonu gözlemlenmiştir. Albümin/globülin eşik değeri 0,4'ten düşük olması FIP olma durumunu kesin olamamakla beraber gösterebilir. Bu değer 0,6-0,8 değerinden yüksekse FIP saf dışı edilebilir. Bu değerler diğer sonuçlarla birlikte yorumlandığında daha sağlıklı olmaktadır (Felten ve Hartmann, 2019). Ayrıca yüksek karaciğer enzim aktiviteleri ve anemi olmadan hiperbilirubineminin olması FIP şüphesini arttırmıştır (Norris ve ark., 2005). Kesin olmamakla birlikte bir başka bulgu ise; plazma ya da efüzyon sıvısındaki α -1 asit glikoprotein seviyelerinin (AGP) 1.5 g/L'den fazla olması FIP olma olasılığını yükseltir (Giori ve ark., 2011).

2.5. Tanı

FIP enfeksiyonu teşhisinde ELISA veya immunofloresan yöntemleri tanının doğruluğunun desteklenmesine yardımcı olur. Bu testler FCoV antikor titrelerini tespit edebilir fakat kesin FIP tanısı koymaya yetmez (Olsen, 1993). Hastalığın tanısının konulmasında birçok ELISA yöntemi uygulanmıştır. 7b proteini veya viral glikoproteinlerin varlığına bakılarak tanıya gidilmeye çalışılsa da başarılı olunamamıştır. Bunun sebebi ise 7b proteinin sadece FECV'da olduğu düşüncesidir (Vennema ve ark., 1998). Bundan kaynaklı bu testler FECV ve FIPV ayırımında da kullanılamamaktadır (Pedersen, 2009).

DNA virüsü ise polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), RNA virüsü ise ters transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) tanı için kullanılmıştır (Hartmann, 2005). Ters transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR), makrofaj içinde antijen saptayarak tanıya bizlere yardımcı olur (Hartmann, 2017). FIP enfeksiyonu olan kedilerin kan, efüzyon sıvısı, dışkı, serebrospinal sıvı, salya veya doku örneklerinden RT-PCR yöntemi ile virüs saptanabilinmiştir (Addie ve Jarrett, 2001; Gunn-Moore ve ark., 1998; Kipar ve Meli, 2014). RT-PCR yöntemi, FIPV ve FECV biyotiplerinin ayırımında kullanılamamıştır (Vennema ve ark., 1998). RT-PCR yöntemi devam eden enfeksiyonun doğrudan saptanmasına yardımcı olduğundan kaynaklı kalabalık kedi ortamlarında sürekli dışkı yoluyla enfeksiyon saçanların tespitinde önemli bir yere sahiptir (Fehr ve ark., 1996; Addie ve Jarrett, 2001; Dye ve ark., 2008). RT-PCR yönteminde FCoV negatif çıkan ama FIP olan kediler nadiren de olsa görülmüştür (Hartmann ve ark., 2003). FIP enfeksiyonunu kesin olarak tanımlayan bir PCR yöntemi henüz geliştirilmemiştir. (Hartmann, 2010). Sonuç olarak FIP tanısı için RT-PCR sonuçlarının diğer klinik bulgularla birlikte değerlendirilmesi gerekmektedir (Can-Şahna ve ark., 2007). Başka bir çalışmada ise kan hücreleri örneklerinden RT-PCR testi ile mRNA tespiti yapılarak FIP olan kediler yüksek oranda tespit edilebilinmiştir (Simons ve ark., 2005). Ayrıca serebrospinal sıvıdan gerçek zamanlı yapılan RT-PCR ile FCoV antijeninin saptanmasının FIP tanısında güvenilir bir yöntem olduğu görülmüştür (Doenges ve ark., 2017).

İmmün boyama yöntemlerinde, formaldehit ile sabitlenmiş dokularda immunohistokimya; efüzyon, beyin omurilik sıvısı veya aköz humor gibi sitolojik

numunelerde ise immunositoloji veya immunofloresan teknikleri ante-mortem ve post-mortem tanılarda sıklıkla kullanılır (Pedersen, 2009; Hartmann, 2017). İmmunohistokimya yöntemi FIP tanısında oldukça önemli bir yere sahiptir (Drechsler ve ark., 2011; Giori ve ark., 2011; Pedersen, 2009). Efüzyon sıvısında yapılan immunositoloji testleri yanıltıcı olabilir (Felten ve ark., 2017a).

Eğer hastada efüzyon sıvısı varsa bu sıvının testlere tabi tutulması kan testlerine göre tanıda, bizlere daha fazla yardımcı olur (Hartmann, 2017). Efüzyon sıvısı genelde açık sarı, visköz ve berrak renktedir. Fakat bilirubin ve biliverdin seviyelerindeki artışla sıvının rengi ve yoğunluğunda değişimler olabilir. Aynı zamanda yüksek protein içeriğinden kaynaklı çalkalandığında köpüklenebilir ve buzdolabında bekletilirse pıhtı oluşturabilir (Addie ve Jarret, 1990; Pedersen, 2009). Efüzyon kanlı, irinli ve kötü kokulu ise FIP olasılığı düşük olarak görülmüştür (Rohrer ve ark., 1993). Yüksek miktarlarda protein içerir (>35 g/L) ve hücresel yoğunluğu azdır (Hartmann, 2005).

Rivalta testi hastalığın teşhisinde kullanılan basit ve yaygın bir testtir. FIP hastalığındaki ve diğer hastalıklardaki efüzyonu ayırmada yardımcı olur. Yüksek protein konsantrasyonları bize sonuç verir. Fibrin ve yangısal mediatör konsantrasyonunun pozitifliğe etkisinin olduğu görülmüştür ve tanıda kesinliğinin olmadığı düşünülmüştür (Berti-Bock ve ark., 1979; Hartmann, 2010). Son yıllarda yapılan bir çalışmada, FIP'in ıslak formundaki efüzyon sıvısının laktat dehidrogenaz/toplam çekirdekli hücre sayısı (LDH/TNCC) oranının diğer efüzyon tiplerine göre daha yüksek olduğu görülmüştür (Romanelli ve ark., 2022).

FIP enfeksiyonunda nörolojik semptomlar gösteren kedilerin serebrospinal sıvılarında protein değerlerinde yükselme; nötrofil, lenfosit ve makrofaj hücrelerinde artış olduğu gözlemlenmiştir. Fakat bu yükselmenin kesin olarak CoV' e maruz kaldığını, FIP tanısında yeterli olmadığı görülmüştür (Foley ve ark., 2003; Hartmann, 2010). 1998'de yapılan bir çalışmada nörolojik FIP enfeksiyonu olan kedilerin serebrospinal sıvılarında pozitif immunglobulin G (IgG) ve anti-koronavirus antikörlere rastlanılmıştır. Aynı zamanda manyetik rezonans görüntüleme (MRG) çalışmalarında hidrosefalus, ventriküler dilatasyon ve periventriküler kontrastın

artması gibi bulgular gözlemlenmiştir. Bu bulgular nörolojik form geliştiren kedilerin tanısında önemli bir yer almıştır (Vennema ve ark., 1998).

2.6. Tedavi ve Koruma

FIP tedavisinde iki yaklaşım vardır. Birincisi kedi bağışıklığının modifikasyonu ikincisi FCoV'e yanıt ve FCoV replikasyonunun doğrudan inhibisyonu. FIP immun aracılı bir hastalık olduğundan, humoral yanıt dahil olmak üzere immun yanıtın olumsuz yönlerini bastırmak için kortikosteroid kullanımı uzun zamandır bu hastalığın tedavisinde tek seçenek olmuştur. Bu kortikosteroid uygulaması geçici bir rahatlama sağlayabilir ancak sonucu etkilemez. Kortikosteroidler, lezyonlar fokal olduğunda ve üveit gibi tek bir dokuyla sınırlı olduğunda yararlı olabilir. Hastalığın şiddetine ve konakçı faktörlere bağlı olarak FIP'li kediler haftalar veya aylarca hayatta kalabilir (Ritz ve ark., 2007).

Sitokinler, sınırlı başarı ile bağışıklık tepkisi modifikasyonu için kullanılmıştır. Hem kedi hem de insan rekombinantı olan interferon, FIP'li kediler üzerinde herhangi bir olumlu etki göstermemiştir (Ritz ve ark., 2007). Bu ilacın etki mekanizması belirsizliğini korumaktadır. FIP'ten etkilenen kedilerin hayatta kalma şansını arttırdığı ve kuru form olan kedilerde bazı başarıları belgelenmiştir. Ancak aynı başarı FIP'in ıslak formu olan kedilerde görülmemiştir (Anis ve ark., 2014). Bu bileşiğin kullanıldığı bir saha çalışmasında, hepsi kuru FIP formuna sahip 60 FIP'li kediten 8'i 200 günden fazla ve 4'ü 300 günden fazla hayatta kalmıştır (Legendre ve ark., 2017).

FCoV replikasyonunu hedefleyen tedaviler büyük umut taşımıştır. Antiviral ilaçlar ideal olarak, enfekte olmamış hücreleri etkilemeden özellikle patojeni hedefler. Replikasyon için gerekli viral enzimler, müdahale için iyi hedeflerdir. Özellikle, protein işlemeden sorumlu viral proteazlar genellikle virüsün olgunlaşması için gereklidir. Daha önce bahsedildiği gibi, koronavirüslerin, antiviral ilaçlar için uygun hedefler olan viral protein bölünmesi için gerekli proteazları kodladığı bilinmektedir. Bu tür bileşikler ciddi akut solunum sendromu ve FIP'in koronaviral ajanlarına karşı etkinlik açısından az da olsa başarı ile test edilmiştir (Kim ve ark., 2015).

FIP tarihsel olarak ölümcül bir hastalık olarak tanınmış olsa da yakın zamanda umut verici etkili tedaviler geliştirilmiştir (Addie ve ark., 2009). FIP enfeksiyonu olan kedilerde terapötik yaklaşımlar son birkaç yılda meydana gelmiştir. FIP'den doğal yollarla veya deneysel olarak etkilenen kedilerde peptidomimetik GC-376 ve nükleosit analog GS-441524'ün FCoV'un farklı şekillerdeki replikasyonunu inhibe edebildiği görülmüş ve kullanılabilir hale gelmiştir (Kim ve ark., 2016; Murphy ve ark., 2018). Bu iki ilaç, viral RNA transkripsiyonunu sonlandırarak veya viral poliprotein bölünmesini bloke ederek viral replikasyonu iki farklı şekilde inhibe etmiştir (De Clercq and Li, 2016). Daha spesifik olarak, GC-376 ile tedavi edilen enfekte kedilerin %35'inde hastalık belirtilerinin olmaması ve kedilerin belirli klinik belirtilere karşı daha dirençli olduğu görülmüştür (Pedersen ve ark., 2018). Yan etki olarak enjeksiyon bölgesinde ağrı, deri altı iltihabı, süt dişlerinin gecikmeli kaybı veya tutulması ve yetişkin dişlerin gelişiminin gecikmesi görülmüştür. İlaça karşı viral direnç gelişimi kaydedilmemiştir. Bu ilaç daha fazla araştırma gerektirmiş olup FIP tedavisinde umut vaat etmiştir. (Murphy ve ark., 2018). Diğer taraftan, GS-441524 enfekte kedilerin viral yükünü güçlü bir şekilde azalttığı ve tedavi kedilerin büyük bir çoğunluğunda (%96.1) klinik belirtileri ortadan kaldırdığı görülmüştür (Cao ve ark., 2020). 2022 yılında yapılan bir çalışmada 18 FIP tanısı konulan kedide GS-441524 ile oral tedavi yapılmıştır. Tedavi edilen hayvanların dışkı, kan ve efüzyondaki viral RNA yüklerinin etkili bir şekilde azaldığı görülmüştür (Meli ve ark., 2022). GS-441524, birçok ülkede kedilerde kullanımı tescilli olmamasına rağmen kedi sahipleri ve kedi yetiştiricileri internet üzerinden ilaç distribütörleri aracılığıyla satın alabiliyor ve yaygın bir şekilde tedavide kullanılıyor (Cao ve ark., 2020).

Ne yazık ki, FIP'i önlemek son derece zordur. FIP gelişimini önlemenin tek yolu FCoV ile enfeksiyonu önlemektir. Aşılama ne FIP ne de FCoV enfeksiyonunu etkili bir şekilde önler. Test etme ve kaldırma stratejileri etkisizdir. FIP yönetimi, popülasyon etkisini en aza indirmeye ve etkilenen kedileri doğru bir şekilde teşhis etmeye ve desteklemeye yönelik olmalıdır (Hartmann, 2005).

Etkili aşılar geliştirmek için birçok girişimde bulunulmuştur, ancak çoğu ADE nedeniyle başarısız olunmuştur (Glansbeek ve ark., 2002; Horsburg ve Brown, 1995; Scott ve ark., 1995; Vennema ve ark., 1990). Bunula birlikte FCoV'un sıcaklığa

dayanıklı bir mutantını içeren üst solunum yollarında çoğalabilen fakat daha yüksek vücut sıcaklığında çoğalamayan bir aşı (Primucell, Pfizer Animal Health) lisanslanmıştır (Christianson ve ark., 1989; Gerber, 1995). Burun içinden uygulanan bu aşı, FCoV'nin vücuda ilk girdiği yerde (orofarenks) IgA antikorları üreterek lokal bağışıklık sağlar ve ayrıca hücre aracılı bağışıklığı indükler (McArdle ve ark., 1995; Scott ve ark., 1995). Fakat çalışmalar neticesinde aşının güvenilir olmasına karşın etkisi çok azdır ve ADE'yi indüklemediği görülmüştür (Hartmann, 2005).



3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Hayvan ve Doku

Bu çalışmanın materyali Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı arşivindeki FIP tanısı konulmuş 20 adeti çalışma grubu ve 5 adeti kontrol grubu (akciğer enfeksiyonu tanısı konulmamış) olmak üzere 25 adet kedinin dokularına ait parafin bloklardan oluşturuldu. Çalışma grubu (olgu no 1-20 arası) ve kontrol grubu (olgu no 21-25 arası) kedilerin genel özellikleri aşağıdaki tabloda gösterildi (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan parafin bloklara ait kedilerin genel özellikleri

ON	PN	IRK	CİNSİYET	YAŞ
1	859-17	Sokak Kedisi	Erkek	8 Aylık
2	10-16	Sokak Kedisi	Dişi	6 Aylık
3	502-21	Sokak Kedisi	Erkek	2,5 Yaş
4	64-14	Siyam	Dişi	4 Aylık
5	333-15	Sokak Kedisi	Dişi	3 Aylık
6	309-20	Habeş	Erkek	3,5 Yaş
7	155-07	Sokak Kedisi	Erkek	4 Aylık
8	909-17	British Shorthair	Dişi	2 Aylık
9	50-14	Sokak Kedisi	Erkek	10 Aylık
10	337-18	Sokak Kedisi	Erkek	1 Yaş
11	860-17	Ankara Kedisi	Dişi	4 Aylık
12	223-21	Sokak Kedisi	Erkek	2 Aylık
13	29-15	Sokak Kedisi	Dişi	5 Aylık
14	207-16	Sokak Kedisi	Erkek	4 Aylık
15	104-17	Sokak Kedisi	Erkek	2 Yaş
16	808-17	Himalayan	Erkek	4 Aylık
17	28-15	Sokak Kedisi	Dişi	6 Aylık
18	243-12	British Shorthair	Dişi	3 Aylık
19	24-21	Sokak Kedisi	Erkek	4 Yaş
20	229-20	Sokak Kedisi	Erkek	1 Yaş
21	611-20	Sokak Kedisi	Dişi	9 Aylık
22	360-20	British Shorthair	Erkek	2 Yaş
23	404-22	Sokak Kedisi	Erkek	5 Aylık
24	60-20	Sokak Kedisi	Erkek	1,5 Yaş
25	511-22	Sokak Kedisi	Dişi	3 Aylık

ON: Olgu no PN: Protokol No

3.2. Histopatolojik Yöntem

Parafin bloklar parafin cihazının (Leica Histocore Arcadia H) soğuk bölümüne alındı. Tam otomatik rotary mikrotom cihazında (Leica 2155) 4 mikrometre kalınlığında kesilen kesitler normal ve poli-l-lizinli lamlara alındı. Lamlara alınan doku kesitleri parafinin erimesi ve dokunun lama yapışabilmesi için bir gece boyunca 60 °C sıcaklıktaki etüvde bekletildi. Parafin tabakasının tamamen uzaklaştırılması için otuzar dakika süre ile üç ayrı ksilol serisinden geçirildi. Sonra %100, %96, %90, %80, %70'lik alkollerden sırasıyla geçirilerek dokulardan suyun uzaklaştırılması sağlandı. Bu aşama sayesinde su bazlı bir boya olan hematoksilen boyasının dokulara daha iyi infiltre olması sağlandı. Kesitler Harris hematoksilen boyasında on beş dakika bekletildi. Daha sonra boya kalıntılarının temizlenmesi için 15 dk akan suda yıkandı. Eozin boyasında iki dakika bekletilerek boyanması sağlandı. Boyama sonrasında dokular sırayla %70, %80, %90, %96, %100'lük alkollerden geçirilerek dokuların suyunun geri alınması sağlandı. Son olarak ksilol ile parlatılan dokular Entellan® damlatıldıktan sonra lamel ile yapıştırıldı ve kurumaya bırakıldı. Ardından ışık mikroskopunda incelendi ve mikrofotografı çekildi.

3.3. İmmunohistokimyasal Yöntem

Dokulardan altı farklı seri şekilde poly-l-lysinli lamlara çekilen akciğer kesitlerine streptavidin-biotin peroksidaz yöntemi ile standart ticari kit (UltraVision Detection System Anti-Polyvalent, HRP, USA) kullanılarak immunohistokimyasal yöntem uygulandı. Kesitlerde Anti-Mouse Anti-Feline Coronavirus Monoclonal Antibody (MBS212561), Anti-TNF α , Anti-IL-1- β , IL6, Anti-CD3 ve Anti-CD20 reaksiyonlarının belirlenebilmesi için immunohistokimyasal boyama prosedürüne uyularak boyama işlemi gerçekleştirildi. İmmunohistokimyasal boyamayı yapabilmek için histopatolojik boyamada yaptığımız gibi etüv, ksilol ve dereceli alkollerden geçirme aşamaları aynı şekilde uygulandı. Lamlar son alkolden çıkarıldıktan sonra distile suya alındı ve distile su ile on dakika boyunca yıkandı. Yıkamanın ardından kesitler nemli kamaraya alındı ve kaynatma işlemi hariç bütün işlemler nemli kamarada gerçekleştirildi. Önce dokulardaki endojen peroksidaz aktivitesini ortadan kaldırmak için kesitler metanolde hazırlanmış %3'lük hidrojen

peroksit (H_2O_2) solüsyonunda yirmi dakika inkübe edildi. Ardından kesitler sitrat buffer solüsyonunun içine alınarak beşer dakika süreyle iki kere mikrodalga fırında kaynatıldı. Sonrasında iki defa fosfat tamponlu tuz çözeltisi (PBS) ile yıkandı. Dokularda oluşabilecek nonspesifik bağlanmaları engellemek için dokular üzerine normal keçi serumu damlatılarak kırk beş dakika inkübe edildi. İnkübasyonun ardından yıkama yapılmadan protein bloğun fazlası uzaklaştırıldı ve primer antikor lamaların üzerine damlatılarak +4 °C’de bir gece inkübe edildi. Sonrasında dokular PBS ile yıkandı ve streptavidin damlatılarak otuz dakika inkübasyona bırakıldı. Otuz dakika sonunda PBS ile iki defa yıkandı. Ardından biyotinli serum damlatılıp otuz dakika muamele edildikten sonra PBS ile iki kere yıkandı. Yıkama işlemini takiben dokulara 3,3’-diaminobenzidin tetrahidroklorid (DAB) kromojen damlatılarak reaksiyon görünür hale getirildi. Mayer hematoksilen boyası kullanılarak karşıt boyama yapılarak boyama işlemi sonlandırıldı. Ardından dokular lamel ile kapatılıp ışık mikroskopunda incelenerek mikrofotografları çekildi.

3.4. Semi-kantitatif Analiz

Alınan doku kesitleri; akciğerlerde ödem, fibrin, interalveolar septal dokuda kalınlaşma, granülom, bronşiolitis, plöyritis, vaskülitis-perivaskülitis lezyonlarının şiddetine göre skorlandı. Skorlamada ‘0’ negatif, ‘1’ hafif, ‘2’ orta, ‘3’ şiddetli olarak belirtildi. Lezyon skorları soldan sağa doğru toplandığında lezyonların skor değerlerinin aritmetik ortalaması alınarak en şiddetli, orta ve hafif seyirli vakalar tespit edilecektir. Skor tablosunda üstten alta doğru yapılan skor toplamalarında aritmetik ortalama alınarak en şiddetli, orta ve hafif değerleri belirlenerek organın hangi bölgesinin en çok etkilendiği gösterilecektir. İmmunohistokimyasal boyamalarda ise Anti-CD3, CD20, TNF α , IL1- β ve IL6 salınımları ‘0’ negatif, ‘1’ hafif, ‘2’ orta, ‘3’ şiddetli pozitif olarak belirlendi.

3.5. İstatistiksel Analiz

Çalışma sonunda Coronavirus, TNF- α , CD3, CD20, IL-1 β ve IL-6 markırları immun pozitif skor derecelerine göre karşılaştırmalı olarak istatistiksel analizler ile değerlendirildi. İstatistiksel analizler için Minitab® 16.1.1 programı kullanıldı. Elde

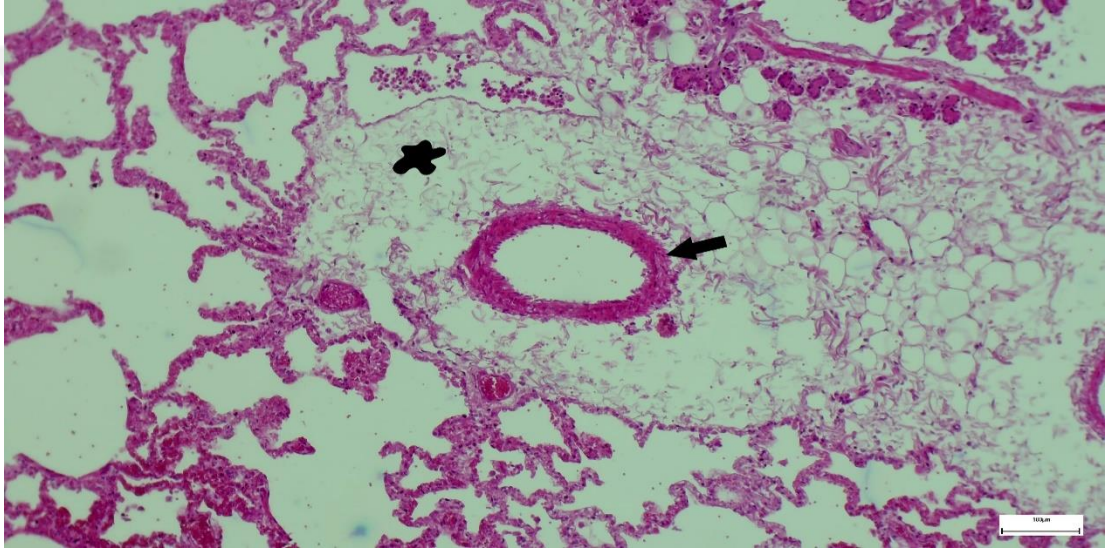
edilen skorların ilişkisini araştırmak amacıyla Pearson korelasyon testi uygulandı. Elde edilen sonuçlara göre korelasyon “r” değeri 0-0,3 arası önemsiz korelasyon, 0,3-0,5 arası düşük korelasyon, 0,5-0,7 arası orta dereceli korelasyon, 0,7-0,9 arası yüksek korelasyon ve 0,9-1 arası çok yüksek korelasyon olarak kabul edildi (Hinkle ve ark., 2003; Mulaka, 2012).



4. BULGULAR

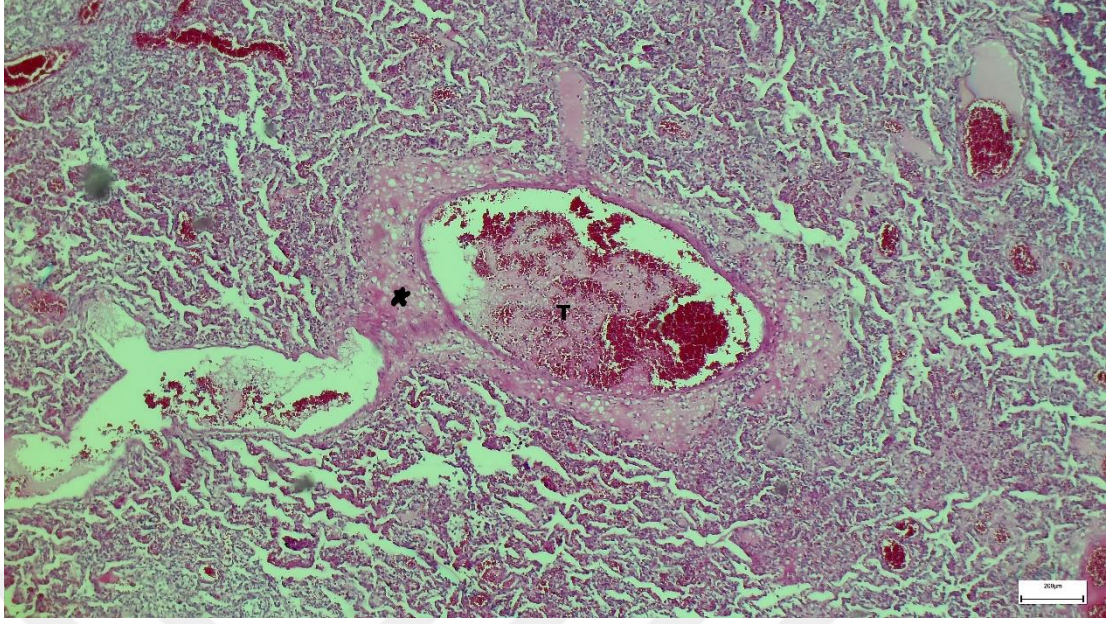
4.1. Histopatolojik Bulgular

İncelenen akciğer dokularında iki olgu hariç hemen hemen tüm vakalarda damarsal ve sıvısal değişikliklerin ön planda olduğu eksudatif bir yangının varlığı tespit edildi. İnterlobar, interlobüler ve interalveoler kapillar damarlar ve venler genişlemiş, içleri eritrositlerle dolu ve damar çevresinde perivasküler ödem görüldü (Şekil 4.1).



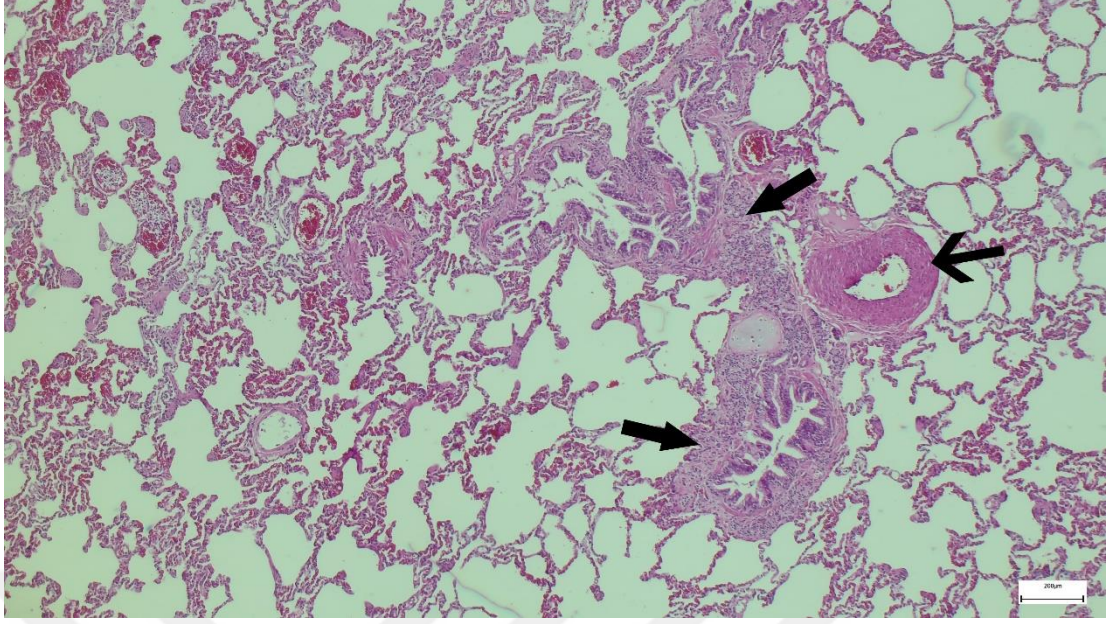
Şekil 4.1. Damar duvarında kalınlaşma (ok) ve damar çevresinde perivasküler ödem (yıldız) HE boyama, Bar= 100 µm.

Bazı alanlarda eritrositlerin damar duvarına yapışık vaziyette ve kümeleşmiş olarak bulunduğu yer yer eritrositlerin bütünlüğünün kaybettiği ve pembe homojen bir hal aldığı tromboz odaklarına rastlandı (Şekil 4.2).



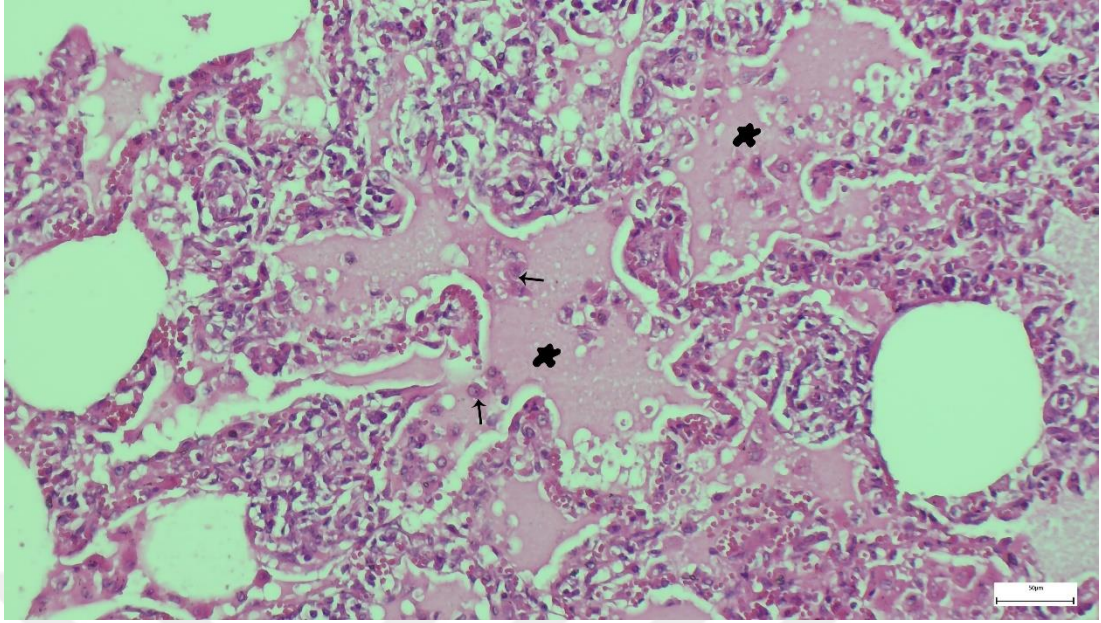
Şekil 4.2. Damarda tromboz odakları (T) ve damar çevresinde bronşiolit (yıldız) HE boyama, Bar= 200 μ m.

Bronş ve bronşiyoller bazı vakalarda lümenlerinde pembe homojen ödem sıvısı bulundurmakla beraber birkaç vakada dökülmüş epitel hücreleri ve yangısal infiltratla dolu durumdaydı. Bu olgularda aynı zamanda bronşiyol epitellerinde hiperplazik değişikliklere rastlandı. Bazı olgularda peribronşiyol bezlerde artışla beraber lenfosit, makrofaj ve plazma hücrelerinin de bulunduğu hücrel eksudasyonlara rastlandı (peribronşitis-peribronşiolitis) (Şekil 4.3).



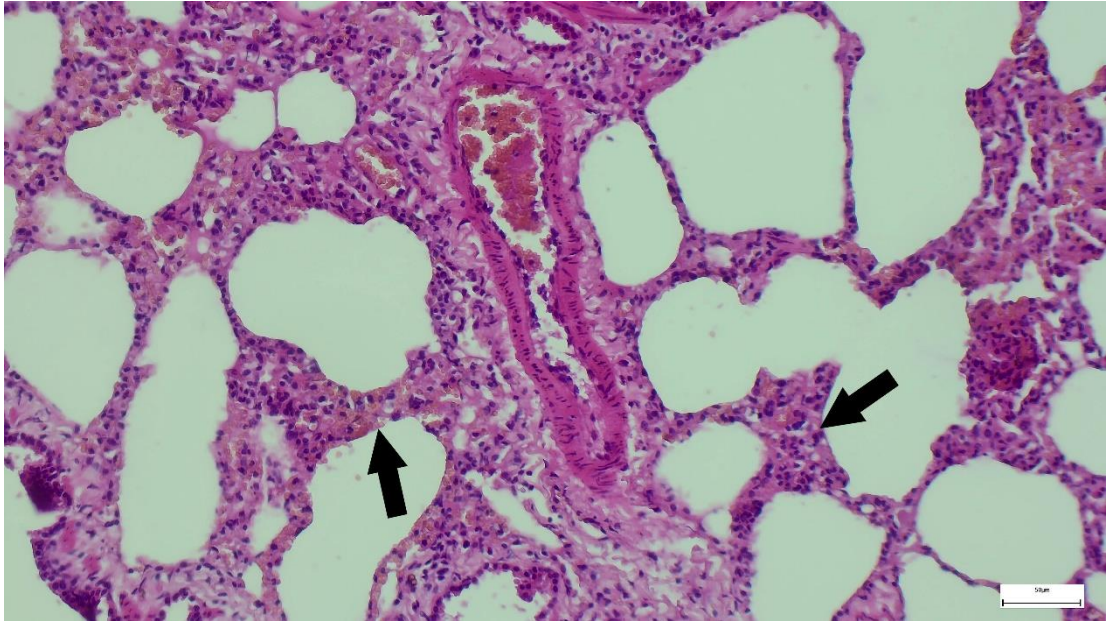
Şekil 4.3. Vaskülitis (ince ok) ve peribronşiolitis (kalın oklar) HE boyama, Bar= 200 µm.

İntersitisyel pnömoni tablosu gösteren bazı olgularda ise bronşiyoler lenfoid dokunun (BALT) bazı olgularda hiperplaziye uğrayarak bronşiyolleri çepeçevre kuşattığı belirlendi (peribronşiyal cuffing). Alveoler bölgede ise geniş alanlar halinde sıvı eksudasyonuna ilişkin değişiklikler hakimdi. Bu bölgelerde alveol lümenlerinde pembe homojen renkli ödem sıvısının alveol lümenlerini doldurduğu fark edildi. Mikroskobun diyaframı kısıldığında bu pembe homojen sıvı içerisinde ipliğimsi yapılar halinde fibrin çıkışlarına rastlandı. Alveol lümenlerinde deskuamasyon ya hiç yoktu ya da çok az görülmekteydi. Tip1 pnömositler çoğunlukla sağlamdı. Tip2 pnömositlerde ise bazı alanlarda hiperplaziler gözlemlenmekle birlikte belirginleştikleri fark edildi. Bazı olgularda alveol lümenlerinde ödem sıvısının yanında nötrofil, lökosit ve makrofajlardan oluşan hücresel infiltrasyonlara rastlandı (Şekil 4.4).



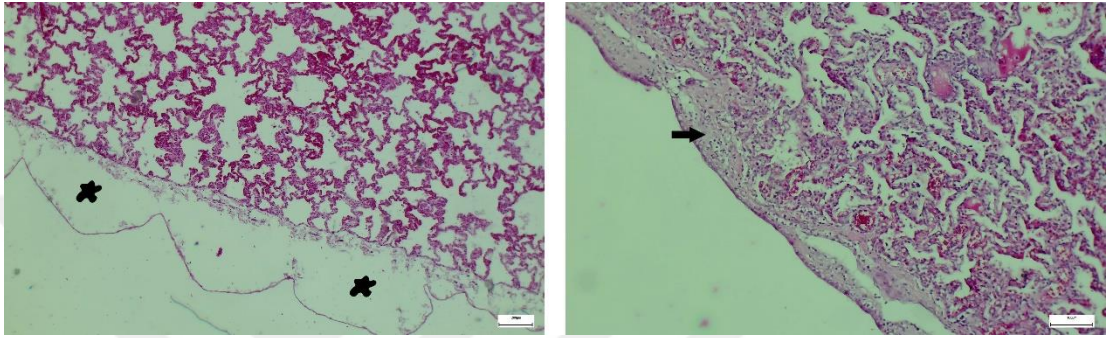
Şekil 4.4. Alveol lümenlerinde ödem (yıldızlar) ve hücre infiltrasyonlarının (oklar) görünümü, HE boyama, Bar= 50 µm.

Benzer hücreler bronş ve bronşiyol lümenlerinde mevcuttu. İnteralveoler septal dokular bazı olgularda ödem ve hücre infiltrasyonu nedeniyle kalınlaşmış durumdaydı ve alveol lümenlerinde pembe homojen ödem sıvısı mevcuttu (akut eksudatif intersitisyel pnömoni) (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. İnteralveolar septal dokularda kalınlaşma (oklar), HE boyama, Bar= 50 µm.

İki olguda interalveoler septal dokuda ödemin azaldığı, mononükleer seri hücrelerin arttığı ve arada ince uzun ağ-mekik şekilli fibroblast ve fibrositlerin bulunduğu gözlemlendi, alveol lümenleri boştu (kronik proliferatif intersitisyel pnömoni). Plöra birçok olguda etkilenmiş olup genellikle ödem ve az sayıda hücreyel infiltrasyon ile genişlemiş durumdaydı. Buradaki yangısal hücrelerin çoğunlukla mononükleer tarzda olduğu fark edildi (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. Plörada ödem (yıldız) ve fibrinli plöyritis (ok) HE boyama, Barlar (sırasıyla)=200 µm, 100 µm.

Olguların genel skorlamasında; vakaların %20'si şiddetli (Olgu no: 4, 5, 7, 9, 13, 16, 18), %44'ü orta (Olgu no: 1, 3, 6, 8, 10, 11, 14, 15, 17, 19, 20), %8'i hafif (Olgu no: 2, 12) olarak belirlendi. Ayrıca çalışma grubunda 20 vakanın 19'u akut, sadece 1'inin (Olgu no: 13) kronik olduğu görüldü. Kontrol grubunda (Olgu no: 21, 22, 23, 24, 25) ise herhangi bir patolojik lezyona rastlanılmadı (Tablo 4.1)

Tablo 4.1. Olgulardaki lezyonların histopatolojik skorlanması

ON	PN	Ö/F	İASDK	V/P	G	P	B	T	A/K	T
1	859-20	2	3	1	0	0	1	3	A	10
2	10-16	1	1	1	1	1	1	1	A	7
3	502-21	1	1	2	1	1	2	1	A	9
4	64-14	3	3	3	3	2	3	3	A	20
5	333-15	3	3	2	3	3	2	3	A	19
6	309-20	1	2	1	0	1	1	2	A	8
7	155-07	3	2	2	2	1	3	3	A	16
8	909-17	2	1	2	3	2	3	1	A	14
9	50-14	3	3	3	3	3	3	3	A	21
10	337-18	2	1	2	1	2	3	2	A	13
11	860-17	1	1	1	2	2	1	0	A	8
12	223-21	2	1	1	0	0	1	2	A	7
13	29-15	2	2	2	3	3	3	1	K	16
14	207-16	2	2	1	1	1	1	2	A	10
15	104-17	3	1	2	0	1	1	1	A	9
16	808-17	1	3	3	2	2	3	3	A	17
17	28-15	1	2	3	1	1	1	2	A	12
18	243-12	3	2	2	3	2	3	3	A	18
19	24-21	2	1	2	1	2	2	2	A	12
20	229-20	2	2	3	2	1	2	2	A	14
21	611-20	0	0	0	0	0	0	0	-	0
22	360-20	0	0	0	0	0	0	0	-	0
23	404-22	0	0	0	0	0	0	0	-	0
24	60-20	0	0	0	0	0	0	0	-	0
25	511-22	0	0	0	0	0	0	0	-	0
TOPLAM		40	37	39	32	31	40	40		

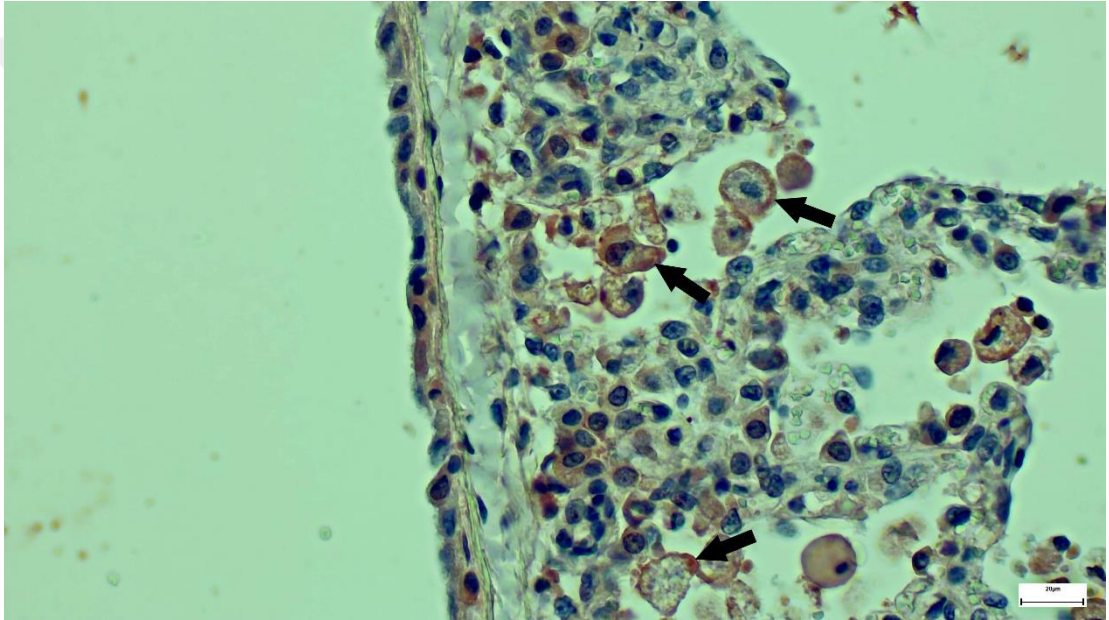
ON: Olgu no PN: Protokol no Ö/F: Ödem/Fibrin İASDK: İnteralveolar septal dokuda kalınlaşma V/P: Vaskülit/Perivaskülit G: Granülom P: Plöyrit B: Bronşiolit T: Tromboz A/K: Akut/Kronik

4.2. İmmunohistokimyasal Bulgular

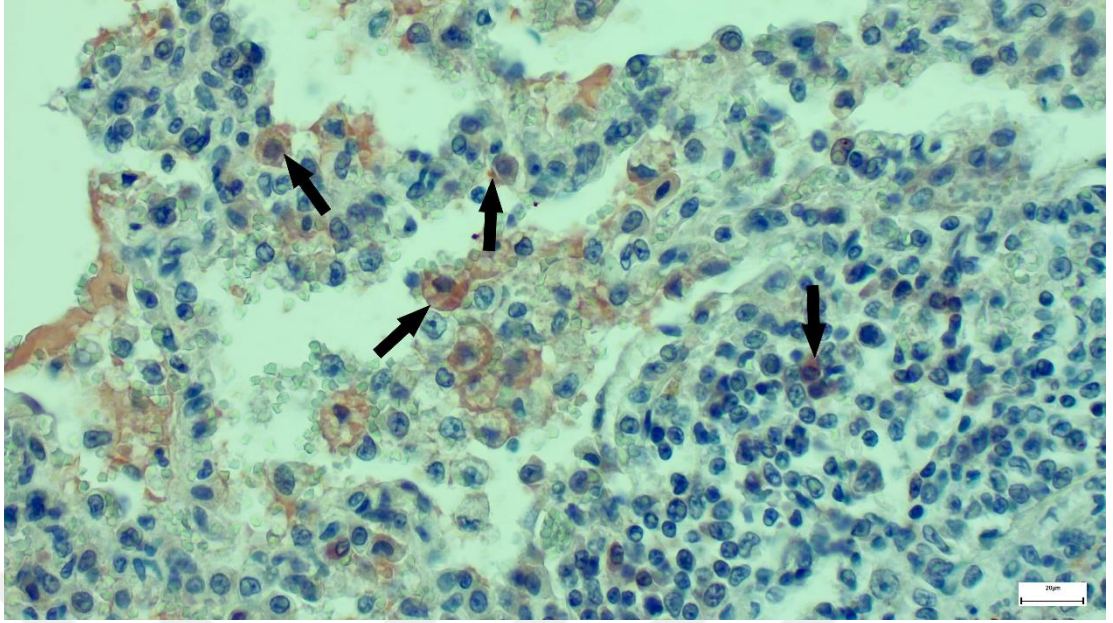
İmmunohistokimyasal yöntemde dokularda Anti-Coronavirus, Anti-TNF α , Anti-CD3, Anti-CD20, IL-1 β ve IL6 immün pozitiflikleri incelendi. Bu bağlamda hastalığın tipik lezyonlarının görüldüğü interalveolar, interlober ve interlobüler damarların lümeni ve çevreleri incelendi. Bunların dışında interalveolar septal doku, peribronşioler lenfoid dokudaki monositik hücreler incelendi. Ayrıca alveol duvarı lümeni ile bronş ve bronşiyol lümenleri de immunopozitivite yönünden detaylı olarak incelendi. Buna göre;

4.2.1. Anti-Coronavirus Boyanmalar

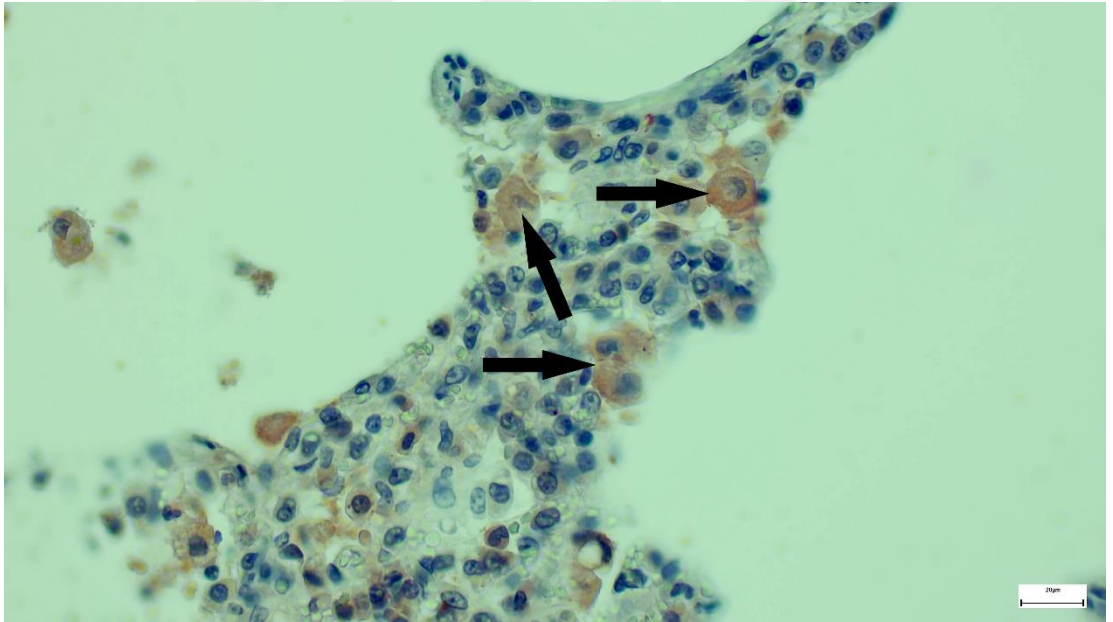
Anti-Coronavirus boyama yönteminde bronşiyoller lenfoid doku, plöra, interalveoler septal doku, damarlar, alveoler bölge ve bronşlardaki immun pozitifliklerine bakılarak skorlandı. Skorlama sonucunda Anti-Coronavirus interalveolar septal dokuda şiddetli, bronşiyoller lenfoid doku ve bronşlarda orta, plöra ve alveoler bölgede hafif olarak boyandı. İnteralveolar septal dokuda immun pozitifliğin yüksek olmasının sebebi etkenin makrofajlara yerleşmesi olduğu düşünüldü (Şekil 4.7-4.10).



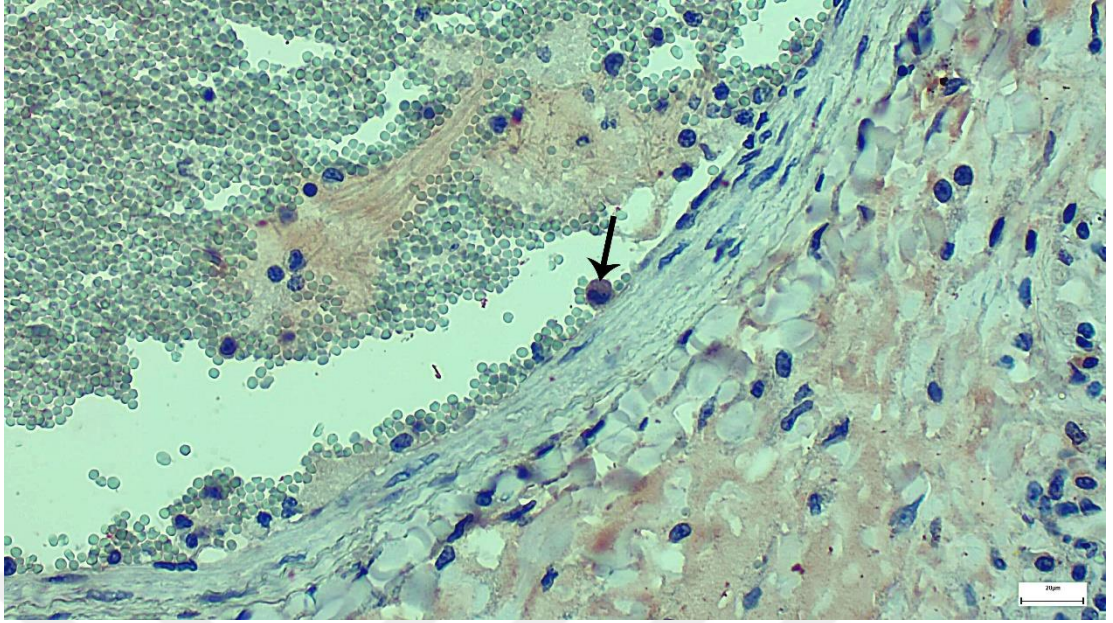
Şekil 4.7. Subplöral bölgedeki coronavirus immun pozitiflikler (oklar), Anti-coronavirüs, Bar= 20 µm.



Şekil 4.8. İnteralveolar septal dokudaki makrofajlar (oklar), Anti-coronavirüs, Bar= 20 μm.

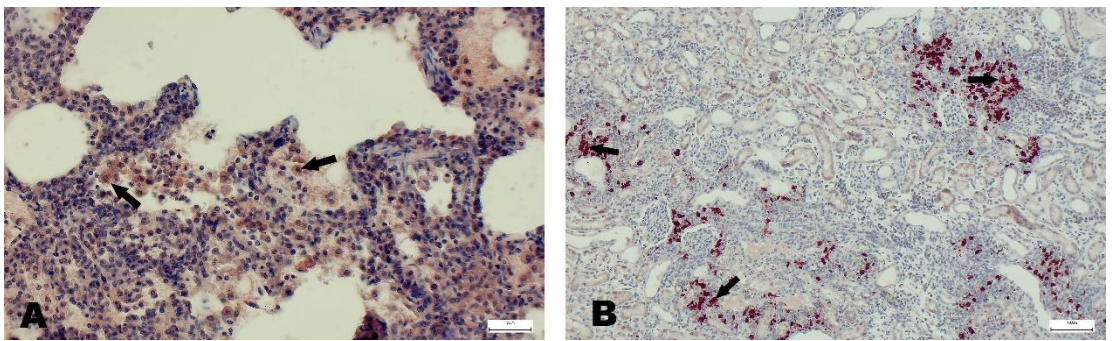


Şekil 4.9. İnteralveolar septal dokudaki makrofajlar (oklar), Anti-coronavirüs, Bar= 20 μm.



Şekil 4.10. Damar duvarında makrofaj (ok), Anti-coronavirüs, Bar= 20 µm.

Akciğerlerdeki coronavirus immun pozitivitelerin tespit ederken boyanmaların solgun olması ve tespitiyle ilgili zorluklarla karşılaşıldı. Bu nedenle mevcut immunopozitivitenin kontrolü için aynı hayvana ait böbrek dokusu da incelendi. Anti-coronavirus immun pozitif reaksiyonlarının şaşırtıcı bir şekilde böbrek dokusunda daha yoğun ve net bir şekilde olduğu tespit edildi ve akciğerdeki pozitif reaksiyonların doğruluğu teyit edildi (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. A: Akciğerdeki immun pozitif boyanmalar (oklar) B: Böbrekteki immun pozitif boyanmalar (oklar), Anti-coronavirüs, Barlar (sırasıyla)= 50 µm, 100 µm.

Olguların genel skorlamasına bakıldığında %24'ü şiddetli (Olgu no: 3, 4, 5, 9, 12, 13), %40'ı orta (Olgu no: 2, 7, 8, 10, 11, 14, 16, 18, 19, 20), %16'sı ise hafif (1,

6, 15, 17) olduğu belirlendi. Kontrol grubunda (Olgu no: 21, 22, 23, 24, 25) ise herhangi bir immün pozitifliğe rastlanılmadı (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Anti-Coronavirus immün reaktivite skorlama tablosu

ON	PN	BALT	P	V	İASD	AL	B	T
1	859-17	1	1	1	1	1	1	6
2	10-16	2	0	1	2	1	1	7
3	502-21	2	2	2	3	2	3	14
4	64-14	3	0	3	3	1	2	12
5	333-15	2	3	2	2	1	2	12
6	309-20	0	0	1	2	1	1	5
7	155-07	1	2	2	2	2	1	10
8	909-17	1	1	2	2	1	1	8
9	50-14	3	2	3	3	1	2	14
10	337-18	2	1	2	2	1	2	10
11	860-17	1	1	1	1	1	2	7
12	223-21	3	3	1	3	2	2	14
13	29-15	3	2	2	3	3	3	16
14	207-16	1	2	1	3	1	1	9
15	104-17	1	0	1	2	1	1	6
16	808-17	2	1	2	3	1	2	11
17	28-15	0	1	1	1	1	1	5
18	243-12	1	0	2	2	1	1	7
19	24-21	1	0	2	3	2	1	9
20	229-20	1	1	2	2	1	1	8
21	611-20	0	0	0	0	0	0	0
22	360-20	0	0	0	0	0	0	0
23	404-22	0	0	0	0	0	0	0
24	60-20	0	0	0	0	0	0	0
25	511-22	0	0	0	0	0	0	0
TOPLAM		31	23	34	45	26	31	

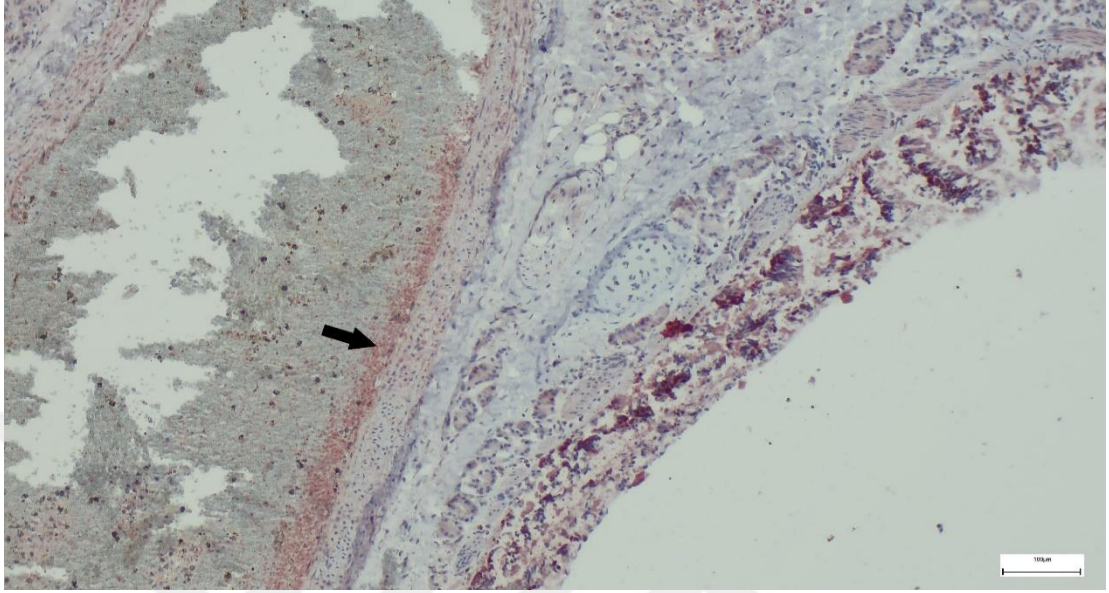
ON: Olgu no PN: Protokol no BALT: Bronşial Lenfoid Doku P: Plöra

V:Vaskulitis İASD: İnteralveolar septal doku AL: Alveol Lümeni B: Bronş/iol

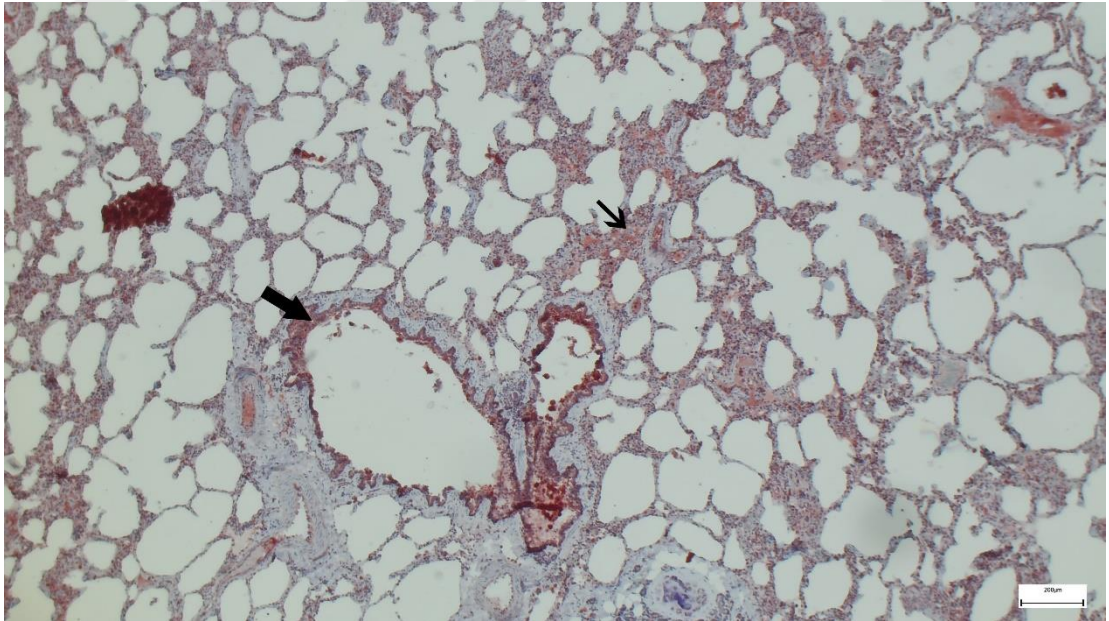
4.2.2. Anti TNF- α İmmün Reaktivite

Anti-TNF- α immün reaktiviteleri için akciğer dokusu incelendiğinde ilk göze çarpan bronş/bronşiyol epitelleri ve damar duvarları ile çevrelerinde şiddetli immün pozitif boyanmaların varlığı dikkat çekti. Bununla birlikte aynı pozitiflikler interalveolar septal dokudaki damarlarda da belirlendi. Bunların dışında bronş ve bronşiyel lenfoid doku ile peribronş/ial bölgelerde de immün pozitifliklere rastlandı.

Az miktarda alveol duvarları ve lümenindeki ödem sıvısı ile birlikte subplöral bölgelerde de immün pozitif boyamalar tespit edildi (Şekil 4.12-4.13).

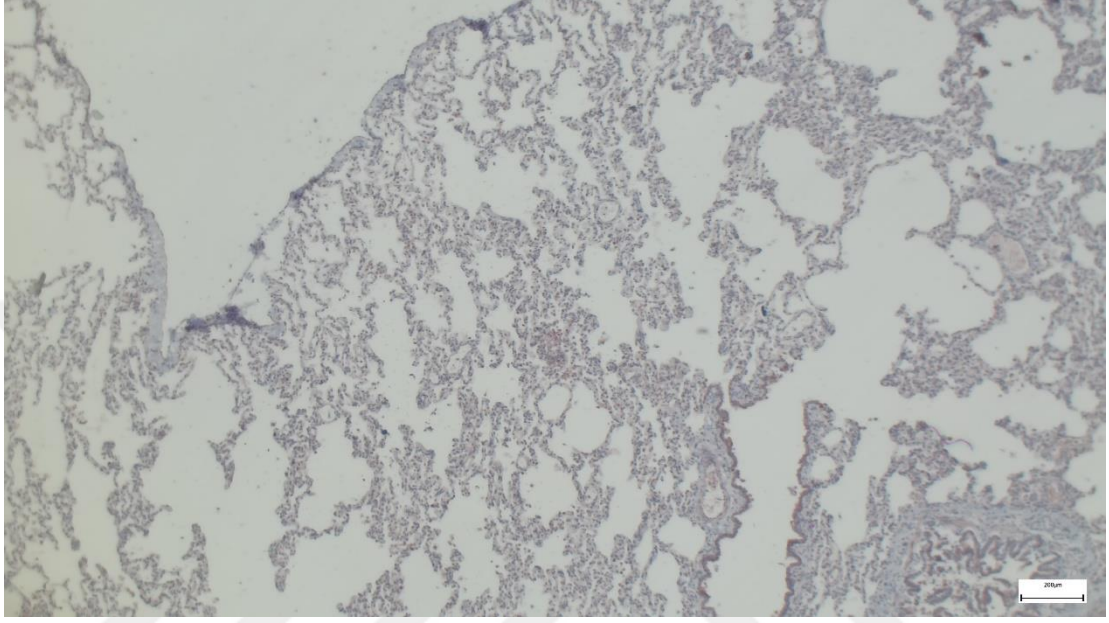


Şekil 4.12. Damar duvarında TNFα pozitif immün reaktiviteler (ok), Anti-TNFα, Bar= 100 µm.



Şekil 4.13. Bronşiyol (kalın ok) ve interalveolar septal dokuda (ince ok) TNFα pozitif immün reaktiviteler, Anti-TNFα, Bar= 200 µm.

Vakaların genel skorlanmasında ise; olguların %40'ı şiddetli (Olgu no: 1, 3, 4, 6, 8, 9, 11, 12, 13, 18), %32'si orta (Olgu no: 2, 5, 7, 10, 16, 17, 19, 20), %8'i hafif (Olgu no: 14, 15) olarak belirlendi (Tablo 4.3). Kontrol grubunda herhangi bir immün pozitifliğe rastlanılmadı (Şekil 4.14).



Şekil 4.14. TNF α negatif immün reaktivite (kontrol grubu) Anti-TNF α , Bar= 200 μ m.

Tablo 4.3. Anti-TNF- α immün reaktivite skorlama tablosu

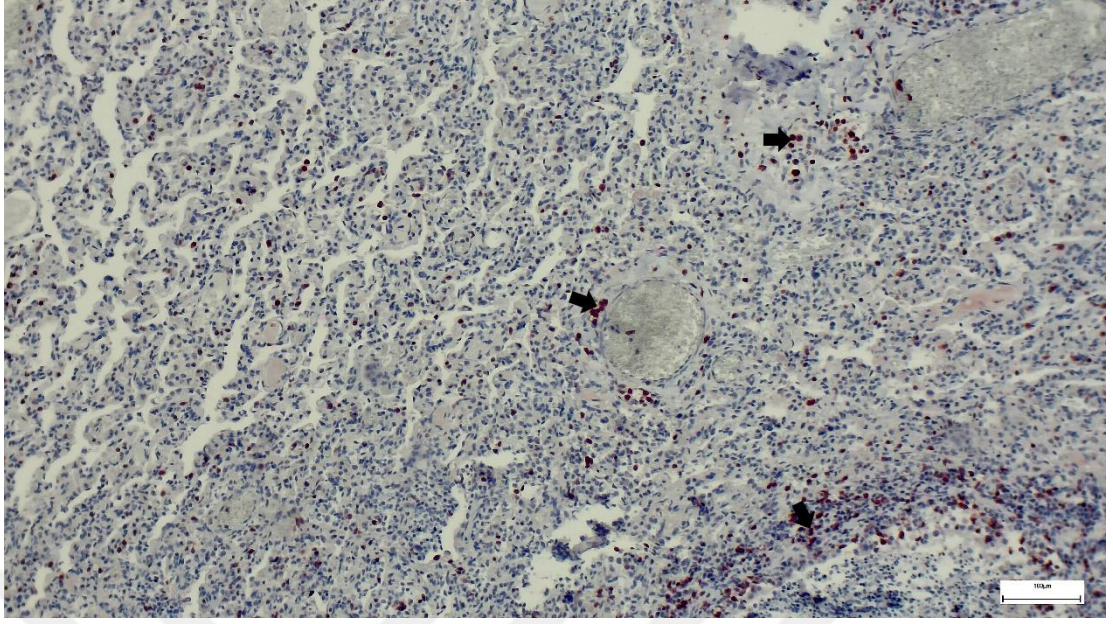
ON	PN	BALT	P	V	İASD	AL	B	T
1	859-17	1	3	2	2	1	3	12
2	10-16	1	2	1	1	0	1	6
3	502-21	2	2	2	2	0	3	11
4	64-14	3	2	1	2	1	3	12
5	333-15	1	2	2	2	1	2	10
6	309-20	1	1	3	3	0	3	11
7	155-07	1	2	2	2	0	2	9
8	909-17	1	2	2	3	0	3	11
9	50-14	2	3	3	3	2	2	15
10	337-18	1	0	1	2	1	2	7
11	860-17	2	2	2	2	1	3	12
12	223-21	3	3	3	2	2	3	16
13	29-15	2	2	2	3	2	3	14
14	207-16	1	1	1	1	0	1	5
15	104-17	1	0	1	1	0	1	4
16	808-17	1	1	2	2	0	1	7
17	28-15	1	2	2	1	1	2	9
18	243-12	2	3	2	3	1	3	14
19	24-21	1	2	1	2	0	3	9
20	229-20	1	2	1	1	1	1	7
21	611-20	0	0	0	0	0	0	0
22	360-20	0	0	0	0	0	0	0
23	404-22	0	0	0	0	0	0	0
24	60-20	0	0	0	0	0	0	0
25	511-22	0	0	0	0	0	0	0
TOPLAM		29	37	36	40	14	45	

ON: Olgu no PN: Protokol no BALT: Bronşial Lenfoid Doku P: Plöra

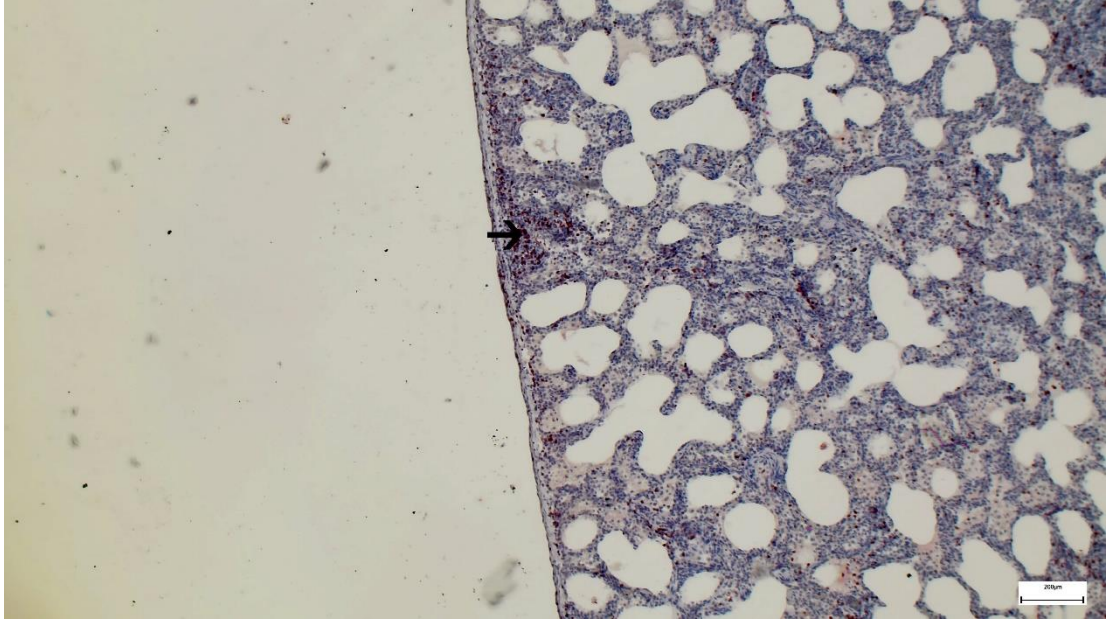
V:Vaskulitis İASD: İnteralveolar septal doku AL: Alveol Lümeni B: Bronş/iol

4.2.3. Anti-CD3 İmmün Reaktivite

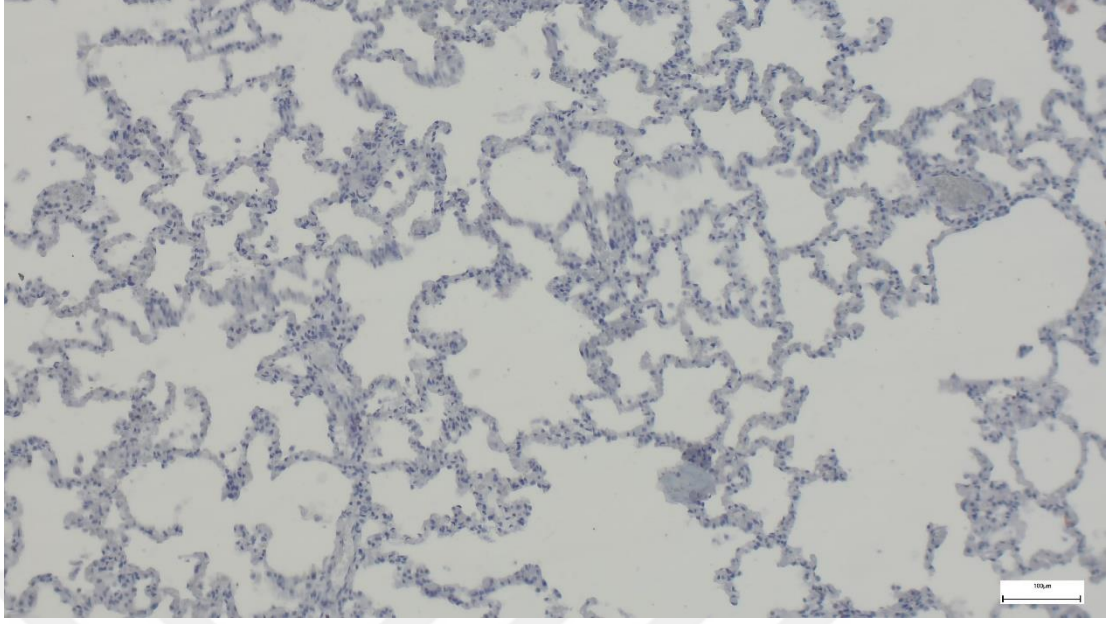
T lenfosit belirteci olan Anti-CD3 markırı ile yapılan immunopatolojik incelemede en çok immün pozitif reaktivitenin görüldüğü yerlerin BALT ve interalveolar septal dokudaki yangısal hücre infiltrasyonlarının içerisinde bulunduğu fark edildi. Bununla birlikte bazı bronş/bronşiyollerin çevresindeki monositik hücrelerde de Anti-CD3 immün pozitifliğin orta derecede olduğu görüldü. Az miktarda immunopozitiflik ise plöra ve damar çevrelerinde olduğu belirlendi. Kontrol grubu hayvanlara ait akciğer dokularında ise BALT bölgeleri haricinde immün pozitiflik görülmedi (Şekil 4.14-4.17).



Şekil 4.15. Damar çevresinde Anti-CD3 pozitif immun reaktiviteler (oklar), Anti-CD3, Bar= 100 µm.



Şekil 4.16. Plörada Anti-CD3 pozitif immun reaktiviteler (ok), Anti-CD3, Bar= 200 µm.



Şekil 4.17. CD3 kontrol grubu, Anti-CD3, Bar= 100 μ m.

Olguların genel skorlamasına bakıldığında ise; Anti-CD3 immün pozitivite vakaların %20'sinde şiddetli (Olgu no: 4, 9, 11, 13, 16), %40'ında orta (Olgu no: 2, 3, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 15, 18), %40'ında ise hafif (Olgu no: 1, 5, 17, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25) olarak belirlendi. (Tablo 4.4)

Tablo 4.4. Anti-CD3 immün reaktivite skorlama tablosu

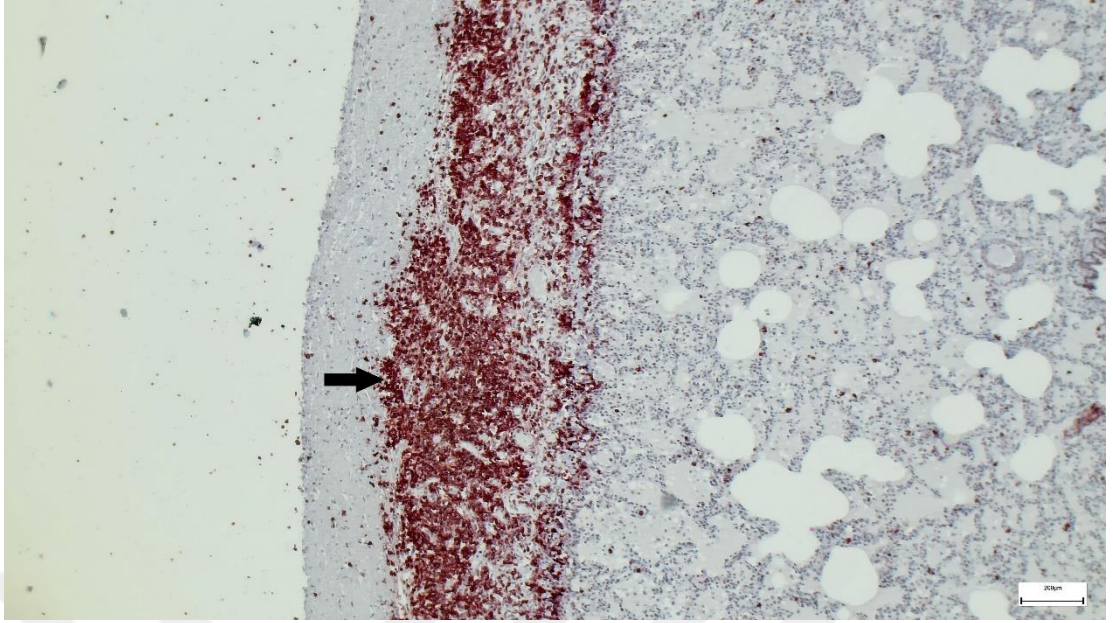
ON	PN	BALT	P	V	İASD	AL	B	T
1	859-17	1	0	0	1	0	1	3
2	10-16	2	2	0	3	0	1	8
3	502-21	1	1	1	2	0	1	6
4	64-14	3	2	2	2	0	3	12
5	333-15	1	0	1	2	0	0	4
6	309-20	2	0	1	2	0	1	6
7	155-07	2	1	2	2	0	1	8
8	909-17	3	0	1	1	0	1	6
9	50-14	2	0	2	2	0	3	9
10	337-18	2	0	1	1	0	2	6
11	860-17	3	1	2	2	0	3	11
12	223-21	1	2	1	2	0	2	8
13	29-15	3	2	2	3	0	3	13
14	207-16	1	1	1	1	0	1	5
15	104-17	2	0	1	1	0	1	5
16	808-17	3	2	2	2	0	2	11
17	28-15	1	0	0	1	0	0	2
18	243-12	2	0	1	2	0	1	6
19	24-21	1	0	0	1	0	1	3
20	229-20	1	0	1	1	0	1	4
21	611-20	1	0	0	0	0	0	1
22	360-20	1	0	0	0	0	0	1
23	404-22	1	0	0	0	0	0	1
24	60-20	1	0	0	0	0	0	1
25	511-22	1	0	0	0	0	0	1
TOPLAM		42	14	22	34	0	29	

ON: Olgu no PN: Protokol no BALT: Bronşial Lenfoid Doku P: Plöra

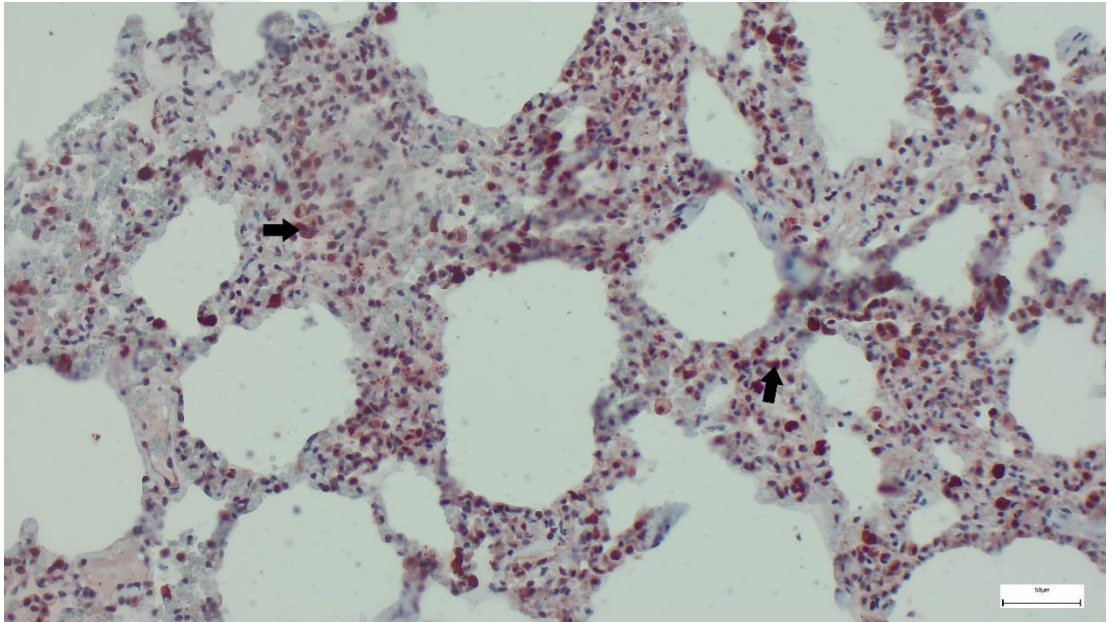
V:Vaskulitis İASD: İnteralveolar septal doku AL: Alveol Lümeni B: Bronş/iol

4.2.4. Anti-CD20 İmmün Reaktivite

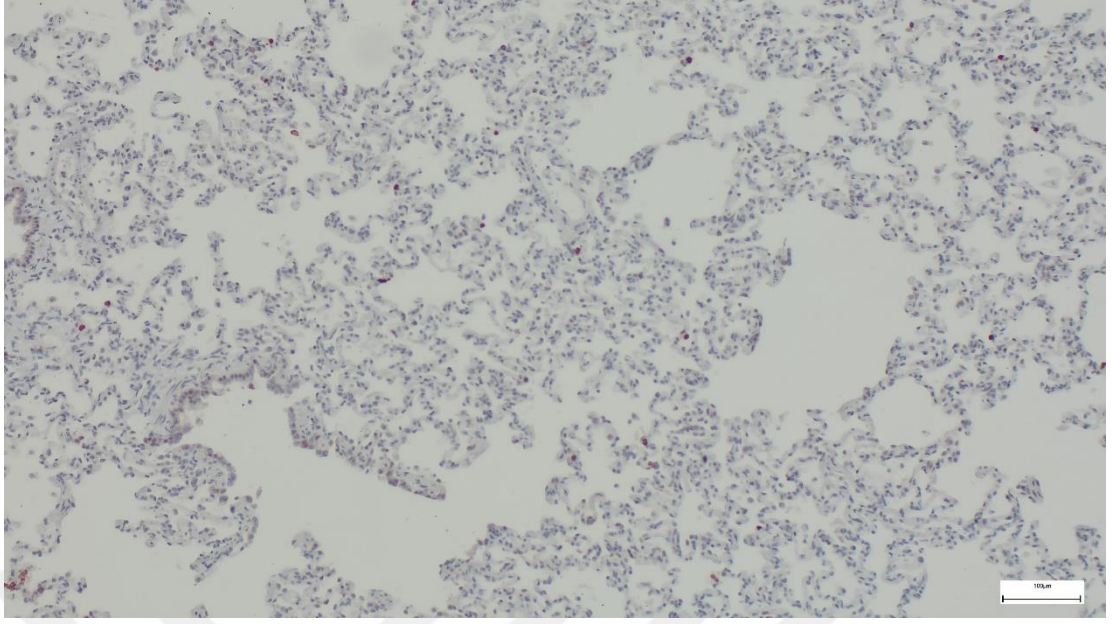
B lenfositleri gösteren Anti-CD20 markırı ile yapılan immunopatolojik incelemede immün pozitifliğin en şiddetli görüldüğü bölge BALT ve damar çevreleri olduğu belirlendi. Ancak bunların yoğunluğu Anti-CD3 immünpozitifliklerine göre daha düşüktü. Bunların dışında hafif ya da orta şiddetli immünpozitiflik interalveolar septal dokuda, bronş/bronşiyoller ve plörada gözlemlendi. Kontrol grubu hayvanlarda ise sadece BALT ve bazı damarların çevrelerinde hafif immün pozitiflikler belirlendi (Şekil 4.17-4.19).



Şekil 4.18. Subplöra bölgesinde CD20 pozitif immun reaktiviteler (ok), Anti-CD20, Bar= 200 µm.



Şekil 4.19. İnteralveolar septal dokuda CD20 immun pozitif reaktiviteler (oklar), Anti-CD20, Bar= 50 µm.



Şekil 4.20. CD20 kontrol grubu, Anti-CD20, Bar= 100 µm.

Olguların genel skorlamasında ise; vakaların %40'ı şiddetli (Olgu no: 2, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 13, 16, 17), %28'i orta (Olgu no: 1, 7, 11, 12, 15, 19, 20), %32'si (Olgu no: 3, 14, 18, 21, 22, 23, 24, 25) hafif olarak belirlendi (Tablo 4.5)

Tablo 4.5. Anti-CD20 immün reaktivite skorlama tablosu

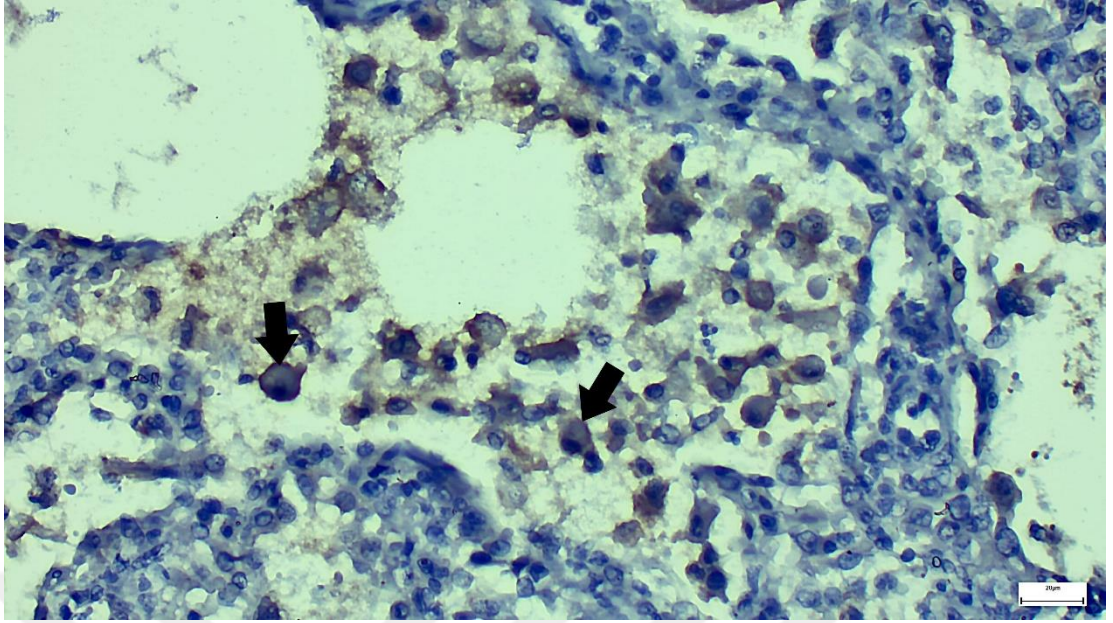
ON	PN	BALT	P	V	İASD	AL	B	T
1	859-17	1	0	3	2	0	1	7
2	10-16	3	3	3	2	0	3	14
3	502-21	1	0	1	1	0	1	4
4	64-14	3	1	3	2	0	3	12
5	333-15	3	3	3	2	0	1	11
6	309-20	3	0	2	3	0	2	10
7	155-07	1	1	1	2	0	2	7
8	909-17	3	2	3	3	0	3	14
9	50-14	3	1	2	2	0	2	10
10	337-18	3	1	3	3	0	2	12
11	860-17	2	0	3	2	0	2	9
12	223-21	1	0	2	1	0	1	5
13	29-15	3	2	3	2	0	3	13
14	207-16	1	0	1	1	0	1	4
15	104-17	1	0	1	1	0	2	5
16	808-17	2	2	3	2	0	2	11
17	28-15	3	1	3	2	0	3	12
18	243-12	1	0	1	1	0	1	4
19	24-21	3	1	1	2	0	1	8
20	229-20	1	0	3	1	0	1	6
21	611-20	1	0	1	0	0	0	2
22	360-20	1	0	1	0	0	0	2
23	404-22	1	0	1	0	0	0	2
24	60-20	1	0	1	0	0	0	2
25	511-22	1	0	1	0	0	0	2
TOPLAM		47	18	50	37	0	37	

ON: Olgu no PN: Protokol no BALT: Bronşial Lenfoid Doku P: Plöra V:Vaskulitis

İASD: İnteralveolar septal doku AL: Alveol Lümeni B: Bronş/iol

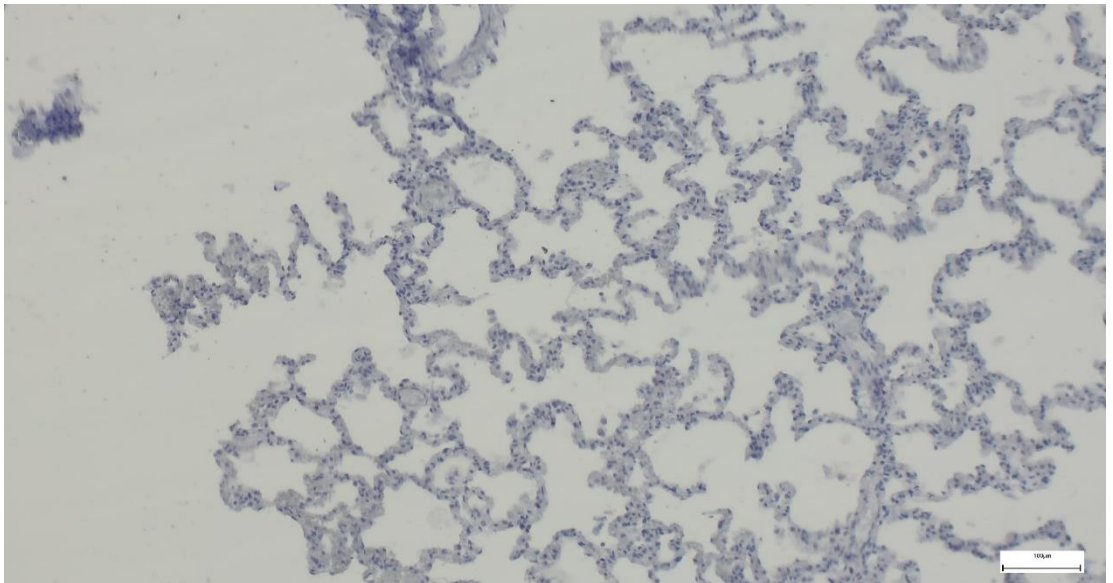
4.2.5. IL-1 β İmmün Reaktivite

Makrofajlardan salınan monokinlerden olan IL-1 β salınımının değerlendirilmesinde Anti-CD3 markırlarının boyanma yerleri ve şiddetine benzer şekilde dağıldığı gözlemlendi. Bununla birlikte yapılan immüнопatolojik incelemede en çok immün pozitif reaktivitenin görüldüğü yerlerin BALT, peribronş/iolititis ve interalveolar septal dokudaki yangısal hücre infiltrasyonlarının içerisinde bulunduğu fark edildi. Bununla birlikte bazı bronş/bronşiyollerin çevresindeki monositik hücrelerde de IL-1 β immün pozitifliğin orta derecede olduğu görüldü. Az miktarda immüнопozitiflik ise plöra ve damar çevrelerinde olduğu belirlendi (Şekil 4.20).



Şekil 4.21. Alveol lümeninde IL-1 pozitif immun reaktivite (oklar), IL-1 β , Bar= 20 μ m.

IL-1 β immun pozitiflik genel skorlamasına göre olguların %36'sı şiddetli (Olgu no: 2, 3, 4, 7, 8, 9, 11, 13, 16), %24'ü orta (Olgu no: 6, 10, 12, 18, 19, 20), %20'si ise hafif (Olgu no: 1, 5, 15, 15, 17) olarak belirlendi. Kontrol grubu kesitlerinde (Olgu no: 21, 22, 23, 24, 25) herhangi bir immun reaktivite gözlemlenmedi (Tablo 4.6) (Şekil 4.21).



Şekil 4.22. IL-1 β negatif immun reaktivite (kontrol grubu), IL-1 β , Bar= 100 μ m.

Tablo 4.6. IL-1 β immün reaktivite skorlama tablosu

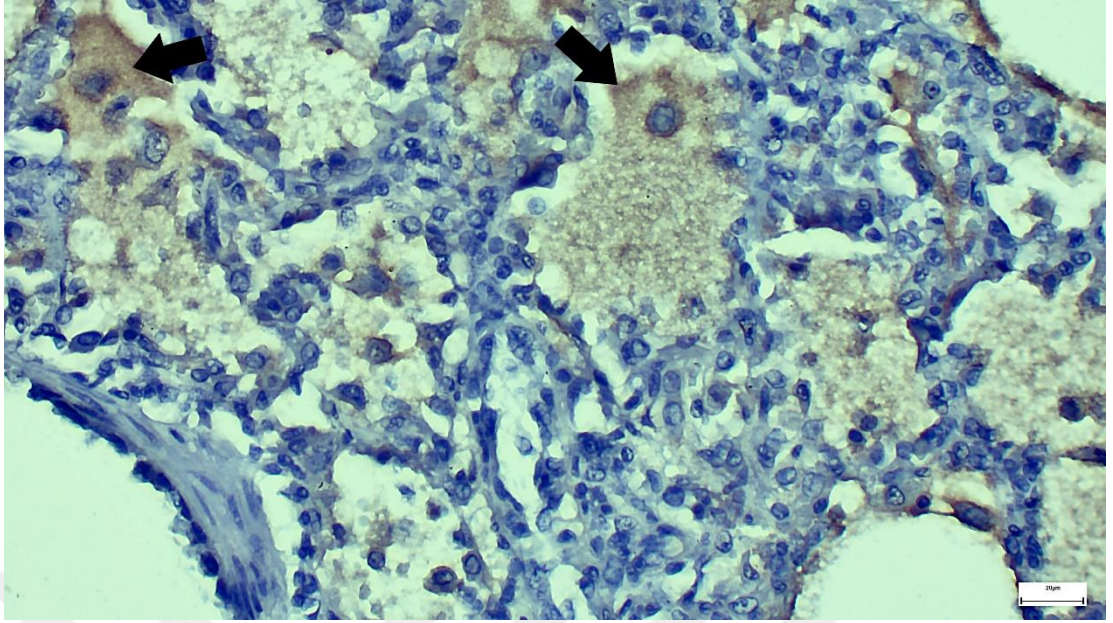
ON	PN	BALT	P	V	İASD	AL	B	T
1	859-17	1	0	1	1	1	1	5
2	10-16	3	2	1	3	0	3	12
3	502-21	2	2	1	2	1	2	10
4	64-14	3	2	2	2	1	3	13
5	333-15	1	0	1	2	0	1	5
6	309-20	2	0	1	2	0	1	6
7	155-07	2	1	2	2	1	2	10
8	909-17	3	0	1	3	1	2	10
9	50-14	2	1	2	2	1	3	11
10	337-18	2	0	1	2	0	2	7
11	860-17	3	1	2	3	1	3	13
12	223-21	1	1	1	2	1	2	8
13	29-15	3	2	2	3	0	3	13
14	207-16	1	1	1	1	0	1	5
15	104-17	2	0	1	1	0	1	5
16	808-17	3	2	2	2	1	2	12
17	28-15	1	0	1	1	0	1	4
18	243-12	2	1	1	2	1	2	9
19	24-21	2	1	1	1	0	2	7
20	229-20	2	0	2	2	0	1	6
21	611-20	0	0	0	0	0	0	0
22	360-20	0	0	0	0	0	0	0
23	404-22	0	0	0	0	0	0	0
24	60-20	0	0	0	0	0	0	0
25	511-22	0	0	0	0	0	0	0
TOPLAM		41	17	27	39	10	38	

ON: Olgı no PN: Protokol no BALT: Bronşial Lenfoid Doku P: Plöra V:Vaskulitis

İASD: İnteralveolar septal doku AL: Alveol Lümeni B: Bronş/iol

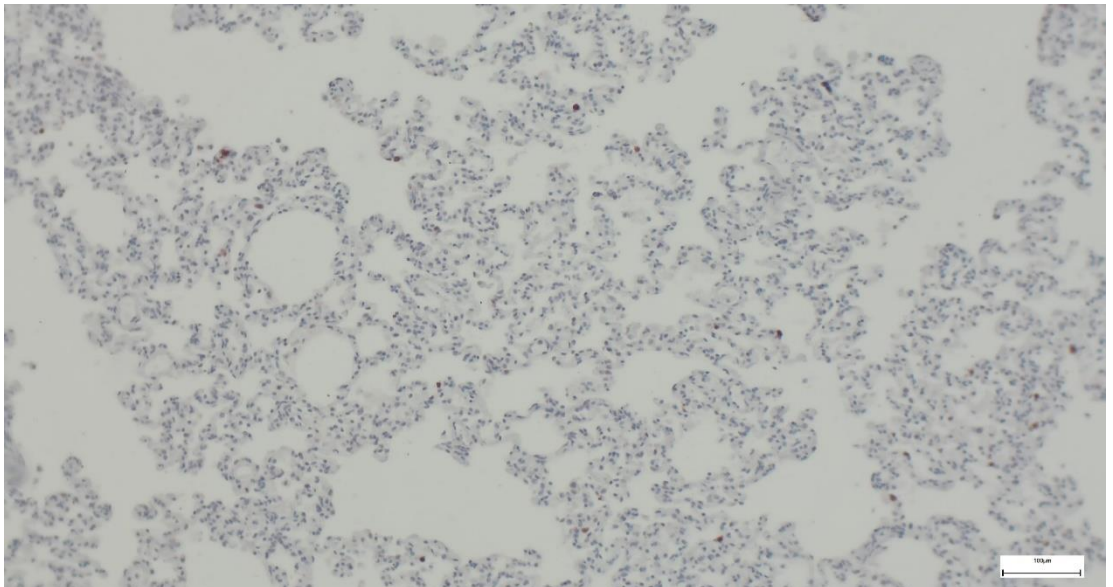
4.2.6. IL-6 İmmün Reaktivite

Makrofajlardan salınan monokinlerden bir diğeri olan IL-6 salınımının değerlendirilmesinde Anti-CD20 markırlarının boyanma yerleri ve şiddetine benzer şekilde dağıldığı gözlemlendi. Bununla birlikte yapılan immunopatolojik incelemede en çok immün pozitif reaktivitenin görüldüğü yerlerin BALT, peribronş/iolitis ve interalveolar septal dokudaki yangısal hücre infiltrasyonlarının içerisinde bulunduğu fark edildi. Bununla birlikte bazı bronş/bronşiyollerin çevresindeki monositik hücrelerde de IL-6 immün pozitifliğin orta derecede olduğu görüldü. Az miktarda immunopozitiflik ise plöra ve damar çevrelerinde olduğu belirlendi (Şekil 4.22)



Şekil 4.23. Alveol lümeninde IL-6 pozitif immun reaktivite (makrofaj) (oklar), IL-6, Bar= 20 µm.

IL-6 immun reaktivite genel skorlamasına göre olguların %32'si şiddetli (Olgu no: 2, 4, 5, 8, 10, 13, 16, 17), %32'si orta (Olgu no: 1, 6, 7, 9, 11, 15, 19, 20), %16'sı hafif (Olgu no: 3, 12, 14, 18) olarak belirlendi. Kontrol grubu kesitlerinde (Olgu no: 21, 22, 23, 24, 25) herhangi bir immun pozitifliğe rastlanılmadı (Tablo 4.7) (Şekil 4.23).



Şekil 4.24. IL-6 negatif immun reaktivite (kontrol grubu), IL-6, Bar= 100 µm.

Tablo 4.7. IL-6 immun reaktivite skorlama tablosu

ON	PN	BALT	P	V	İASD	AL	B	T
1	859-17	2	0	1	2	1	2	8
2	10-16	3	1	2	3	1	3	13
3	502-21	1	1	1	1	0	1	5
4	64-14	3	1	1	2	1	3	11
5	333-15	3	2	2	3	1	1	12
6	309-20	3	0	2	3	0	2	10
7	155-07	1	1	1	2	1	2	8
8	909-17	3	1	2	3	0	3	12
9	50-14	3	1	1	2	1	2	10
10	337-18	3	1	2	3	0	2	11
11	860-17	2	1	2	2	0	2	9
12	223-21	1	0	2	1	0	1	5
13	29-15	3	1	1	3	1	3	12
14	207-16	1	0	1	1	1	1	5
15	104-17	1	0	1	2	0	2	6
16	808-17	2	2	2	2	1	2	11
17	28-15	3	1	3	2	0	3	12
18	243-12	1	0	1	1	0	2	5
19	24-21	3	1	1	2	0	1	8
20	229-20	1	0	2	1	0	2	6
21	611-20	0	0	0	0	0	0	0
22	360-20	0	0	0	0	0	0	0
23	404-22	0	0	0	0	0	0	0
24	60-20	0	0	0	0	0	0	0
25	511-22	0	0	0	0	0	0	0
TOPLAM		43	15	31	41	9	40	

ON: Olgı no PN: Protokol no BALT: Bronşial Lenfoid Doku P: Plöra V:Vaskulitis

İASD: İnteralveolar septal doku AL: Alveol Lümeni B: Bronş/iol

4.3. İstatistiksel Analiz Sonuçları

Koronavirüs, TNF- α , CD3, CD20, IL-1 β ve IL-6 arasında Pearson korelasyon analizi gerçekleştirildi. Buna göre; koronavirüs ile CD3 arasında orta ($r=0,538$), TNF- α ve IL-1 β arasında düşük (sırasıyla $r=0,443$, $r=0,468$), CD20 ve IL-6 arasında önemsiz (sırasıyla $r=0,041$, $r=0,014$) korelasyon olduğu görüldü. TNF- α ile CD3 ve IL-1 β arasında düşük (sırasıyla $r=0,345$, $r=0,358$), CD20 ve IL6 ile arasında önemsiz (sırasıyla $r=0,014$, $r=0,016$) korelasyon olduğu tespit edildi. CD3 ile IL-1 β arasında yüksek ($r=0,893$), CD20 ile arasında düşük ($r=0,323$), IL-6 ile arasında önemsiz ($r=0,272$) korelasyon olduğu belirlendi. CD20 ile IL-6 arasında çok yüksek ($r=0,981$), IL-1 β ile arasında düşük ($r=0,366$) korelasyon gözlemlendi. IL-1 β ile IL-6

arasında düşük ($r=0,303$) korelasyon olduğu görüldü. Pearson korelasyon sonuçları tabloda verilmiştir (Tablo 4.8).

Tablo 4.8. Pearson korelasyon test sonuçları

		Coronavirus	TNF-α	CD3	CD20	IL-1β
TNF-α	Pearson correlation	0,443				
	Sig. (2-tailed)	0,050				
CD3	Pearson correlation	0,538	0,345			
	Sig. (2-tailed)	0,014	0,136			
CD20	Pearson correlation	0,041	0,014	0,323		
	Sig. (2-tailed)	0,862	0,953	0,165		
IL-1β	Pearson correlation	0,468	0,358	0,893	0,366	
	Sig. (2-tailed)	0,038	0,121	0,000	0,113	
IL-6	Pearson correlation	0,014	0,016	0,272	0,981	0,303
	Sig. (2-tailed)	0,953	0,945	0,245	0,000	0,195

*Correlation significant at the 0.05 level (2-tailed), **correlation significant at the 0.001 level (2-tailed)

5. TARTIŞMA

FIP, çoğunlukla genç ve bağışıklığı baskılanmış kedilerde meydana gelen tedavisi halihazırda mümkün olmadığı bilinen öldürücü bir hastalıktır (Pedersen, 2009). Her yaşta gözükebilmesine rağmen 0-2 yaş grubu kedilerde daha sık görüldüğü bilinmektedir (Foley ve Pedersen, 1996; Rohrbach ve ark., 2001). Bu çalışmada kullanılan bloklara ait CoV pozitif hayvanların %85'i genç hayvanlar olduğu belirlenmiştir. Bu bulgular literatür bilgileri ile paralellik seyretnmektedir.

Yapılan literatür taramalarında enfeksiyonun genellikle kısırlaştırılmamış erkek kedilerde görüldüğüne dair bilgiler mevcuttur (Foley ve Pedersen, 1996; Rohrbach ve ark., 2001). Bu çalışmada kullanılan pozitif kedilerin %60'ını erkeklerin oluşturduğu belirlenmiştir. Kısırlaştırma bilgilerinin olmaması literatür bilgilerini desteklemede yetersiz kalmış olsa da cinsiyet bulguları bu bilgilerle paralellik göstermektedir.

Hastalık; afrika aslanı, dağ aslanı, leopar, jaguar, vaşak gibi vahşi kedigillerde de ortaya çıkabilir (Fowler, 1978). Ragdoll, Birman, Bengal, Abyssinian, Himalayan, Rex gibi ırkların FIP hastalığına diğer kedilerden daha duyarlı oldukları görülmüşken; Burmese, Exotic Shorthair, Manx, Persian, Russian Blue ve Siyam ırklarında duyarlı ırklar kadar risk görülmemiştir (Foley ve Pedersen, 1996; Kiss ve ark., 2000; Pesteanu-Somogyi ve ark., 2006). Bu çalışmada kullanılan materyallerin ait olduğu hayvanların hem sayısının yetersiz olması hem de gelen kedilerin çoğunun ırkının bilinmemesi (saf ırk olmaması) ırk yatkınlığı ile ilgili herhangi bir veriye ulaşılammıştır.

Kedilerin kalabalık veya barınak ortamlarında zaman geçirmesi virüse karşı olan duyarlılığı arttırır (Cave ve ark., 2004). Kalabalık kedi ortamlarında bulunan kedilerin tekli yaşam alanlarında yaşayan kedilere göre seropozitivitesinin 2-3 kat fazla olduğu görülmüştür (Zhang ve ark., 2005). FIP ülkemizde barınaklarda, sahipsiz sokak hayvanlarında ve kedi evlerinde yoğun olarak şekillenmesiyle birlikte kedi ölümlerin büyük bir kısmını oluşturmaktadır (Baydar ve ark., 2014). Yapılan bu çalışmada da hastalığın çoğunun sokak kedilerinde görölüyor olması FIP hastalığında

bakım, besleme ve stres faktörlerinin ne kadar önemli olduğunu vurgulamıştır. Ayrıca barınak ya da sahihsiz kedilerin sahiplenildikten sonra kedilerin yoğun olarak ya da toplu halde yaşadıkları yerlere kontrolsüz şekilde getirilmesinin hastalığın yayılmasında artırıcı bir faktör olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmada kullanılan CoV pozitif olan kedilerin % 70'i sokak kedisi (çoklu veya barınak ortamında yaşayan) %30'u ise cins kedi (ev ortamında yaşayan) olması literatür bilgilerini destekler niteliktedir.

FIP enfeksiyonunda en önemli histopatolojik bulgu damarlarda yaygın vaskülitistir. Etkilenen damarların çevresinde nötrofil, lökosit, lenfosit ve plazma hücreleri bulunmasından kaynaklı damar endotellerinde kalınlaşma görülmüştür (Francisco ve ark., 2016; Kipar ve ark., 2005). Yapılan bu çalışmada kedi akciğer dokularının hemen hemen hepsinde damarsal ve sıvısal değişikliklerin ön planda olduğu görüldü.

Enfeksiyöz kedi peritonitisinde akciğerler lezyonlarına ait bilgiler yaygın intersitisyel pnömoni tanısı ile bilinir (Francisco ve ark., 2016). Ancak bulgular non-spesifik olup direkt olarak CoV ile ilişkilendirmek diğer organdaki lezyonlara bakmadan mümkün değildir. Çoğunlukla virolojik ya da moleküler yöntemlerle tanıya gidilme ihtiyacı duyulur. Klinik incelemede yapılan ELISA tabanlı pratik test kitlerinin pozitif reaksiyon vermesi, karın boşluğu başta olmak üzere vücut boşluklarındaki sıvı efüzyonları ve serozalardaki fibrin birikimleri tanıyı güçlendirir (Felten ve Hartmann, 2009; Olsen, 1993; Pedersen, 2009). İncelediğimiz dokularda hemen hemen her orguda interalveolar septal dokuda kalınlaşmanın gözlemlenmesi bronş/iolitit olguları ile şiddetli alveolar ödem akut diffuz intersitisyel pnömoni ile uyumluydu. Yapılan immunohistokimyasal uygulamalarda Anti-coronavirus immun reaktivitelerinin gözlemlenmesi intersitisyel pnömoninin coronavirus kaynaklı olduğunu doğruladı. Ancak eş zamanlı diğer virüs ve bakteri enfeksiyonlarının varlığı doğrulanamadı.

Etkilenen diğer bir akciğer bölümü de plöraydı. Yapılan histopatolojik incelemelerde plöranın iki olgu haricinde orta ya da şiddetli biçimde etkilendiği fark edildi. Ancak lezyonlar çoğunlukla ödem ve hafif yangısal hücre infiltrasyonlarıyla sınırlıydı. Granülomatöz değişikliklere rastlanmadı. Bu durum nekropsiyeye gelen

kedilerin çoğunluğunun ıslak formda olduğunu, granümatöz yangının yanıtı şekillenmeden hayvanların öldüğünü düşündürmektedir. Kipar ve Meli (2014) yaptıkları bir derlemede plörada şiddetli granümatöz odaklarla birklikte sıvı efüzyonunun görüldüğü olgulardan bahsetmiştir (Kipar ve Meli, 2014). Bizim çalışmamızda ise bir vaka dışında (Olgu no: 13) granümatöz yangıya rastlanmadı. Bu olguda da plörada sadece makrofaj ve plazma hücrelerinden oluşan bir yangısal reaksiyon olup az sayıda fibroblastik aktiviteye rastlandı. Yeni damar oluşumları belirgin değildi.

Viral kökenli pnömonilerde bronş/iolitis, peribronşial cuffing ve bronşiyol epitellerinde hiperplazi tanı kriterleri arasındadır. FIP enfeksiyonunda her ne kadar damarsal değişiklikler ön planda olsa da bu değişikliklerin sebebi ile oluşan hipoksi ve mukozal bariyerin hasarı sebebi ile bronş ve bronşiyoller etkilenmektedir (Milli ÜH ve Hazıroğlu R, 2000). Çalışma materyallerimize ait akciğer kesitlerinde de bronş/iolitis ve peribronş/iolitis belirgin bulgulardandır. Yapılan Anti-coronavirus immun reaktivite ile bu bölgelerde immun pozitifliğin var olması FIP enfeksiyonunda bronş ve bronşiyoller değişikliklerin meydana gelebileceğini doğrular niteliktedir. Ancak buradaki lezyonların artan makrofaj proliferasyonu ve salınan yüksek düzeydeki sitokinler sebebiyle olabileceği düşünülmektedir. Aynı zamanda FIP'te görülen aşırı immun yanıtın da mukozal bariyerlere hasar vermesi nedeniyle sekonder enfeksiyonların olaya karışması da göz ardı edilemeyeceği tespitine varılmıştır.

Alveol lümeni ve duvarında görülen değişiklikler sıvı eksudasyonu ya da tip-2 pnömosit proliferasyon bulgularıyla belirgindi. Tip-1 pnömositlerin çoğunlukla sağlam olduğu tespit edildi. Deskuamasyon, nötrofilik ya da makrofajik hücre eksudasyonuna üç olgu dışında rastlanmadı. Bu durum literatür bilgileri ile uyumluydu. Ancak sekonder bakteriyel enfeksiyonun neden bu kadar az görüldüğü anlaşılamadı. Ölen hayvanların çoğunun şiddetli ve hızlı sıvı eksudasyonu sonucu dolaşım türbülansına bağlı olarak öldüğü düşünüldü.

Kedilerin enfeksiyöz peritonitis hastalığı CoV'un mutasyona uğramış bir suşu tarafından olduğu bilinmektedir. Hastalığın semptomları ve patogenezi 2019 yılında mutasyona uğramış başka bir CoV olan Covid-19 suşu ile benzeşmektedir. Dolayısıyla tanı ve tedavi kısmındaki birçok parametre örtüşmektedir. Covid-19 ile

ilgili yapılan çalışmalarda ölümcül vakalarda IL-1, IL-6, TNF- α ve IFN- γ seviyelerinin kanda aşırı yükseldiği tespit edilmiştir (Azkur ve ark., 2020; Zhang ve ark., 2020). Bu çalışmada hayvanların ölü olarak getirilmesinden dolayı kan parametrelerine bakılamamıştır. Ancak dokulardaki IL-1, IL-6 ve TNF- α immun reaktivitelerinin enfeksiyonun şiddeti ile doğru orantılı olarak artmış olması Covid-19'un FIP'in anlaşılmasında rol model olabileceği düşündürmektedir.

Hastalığın patogenezinde sitokin yanıt da önemli olduğu bildirilmektedir. Hastalığa karşı bağışıklığın düşük TNF- α ve yüksek IFN- γ yanıtı ile sağlanması gerektiği vurgulanmıştır. Yüksek TNF- α ve düşük IFN- γ hastalığın oluşmasında etkili olmuştur (Pedersen, 2009). Bu çalışmada yapılan immunohistokimyasal testlerde Anti-coronavirus ve Anti-TNF α birbiriyle doğru orantılı yükseldiği tespit edildi. Bu durum Pedersen (2009) tespitleriyle örtüşmektedir. Ayrıca istatistiksel analiz sonuçlarında TNF- α ile CoV'un pozitif korelasyonu, enfeksiyonun şiddeti ile TNF- α salınımını arttırdığı ve sıvısal yanıtın şiddetli olmasına neden olduğunu gösterdi.

Yapılan bir çalışmada B hücreli malign tümörlerde CD3 aktivasyonunu sağlayan programlı ölüm ligandı 1 (PD-L1) proteininin aktive edilmesiyle tedavi edildiğine dair bilgiler mevcuttur. T lenfositlerdeki CD3 reseptörlerinin B lenfositlerdeki CD20 reseptörlerine bağlanarak B hücre proliferasyonunu engellediği ve B hücre apoptozuna neden olduğu tespit edilmiştir. Bu sayede insanlarda B tip lenfoma tedavisinde yeni bir tedavi yöntemi öne sürülmüştür (Kim ve Chen, 2016; Sun ve ark., 2015; Sun ve ark., 2016). Mevcut çalışmada BALT, interalveolar septal doku ve damar çevresindeki CD3 ve CD20 immun reaktivitelerine bakıldığında literatür bilgisinin tersine şaşırtıcı biçimde CD20 immun reaktivitelerinin CD3 aktivitelerine göre yüksek düzeyde olduğu belirlenmiştir. Bu durum kazanılmış bağışıklığın gelişmesindeki problemlerin altında başka mekanizmaların da rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Makrofaj aktivasyon sendromuna katkıda bulunan önemli bir sitokin olarak kabul edilen IL-6'nın plazma seviyesi özellikle şiddetli Covid-19 enfeksiyonu geçiren hastalarda yüksek miktarda olduğu belirlenmiştir (Chen ve ark., 2020; Crayne ve ark., 2019; Qin ve ark., 2020; Wan ve ark., 2020). Ayrıca akut solunum sıkıntısı sendromu olan hastalarda akciğer infiltrasyonunun değerlendirilmesine dayalı akciğer hasarları,

periferik kanda artmış olan IL-6 seviyesi ve lenfosit alt grubu ile yakından ilişkilendirilmiştir (Wang ve ark., 2020). Mevcut çalışmada CD20 immün reaktivitesi ile doğru orantılı olarak IL-6'nın yüksek seviyelerde olduğu tespit edilmiştir. IL-6'nın damar permabilitesini ve B lenfosit proliferasyonunu arttırdığı bilindiğinden FIP enfeksiyonlarında akciğerde ödem ve interalveoler septal dokunun kalınlaşmasına neden olduğu düşünülmektedir. Akciğer kesitlerinde CD3 immün reaktivitesinin CD20 reaktivitesine göre düşük olması hastalıkla mücadelede T lenfosit savunmasının yetersiz olduğu, makrofajların içerisinde replike olan virüsün tekrarlanan ataklar şeklinde plazma hücresi ve dolayısıyla B lenfosit proliferasyonunu gösteren CD20 aktivitesinin arttığını göstermektedir. Dolayısıyla FIP'teki yangısal yanıtın primer olarak virüs aktivitesinden ziyade oluşan immün reaksiyonlar sebebiyle şekillendiği düşünülmektedir. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda CD20 ve IL6 arasında pozitif korelasyon gözükmesi B hücresi proliferasyonunu destekler nitelikte olduğu görüldü. Ayrıca CD3 ile IL1'in pozitif korelasyona sahip olması T lenfositleri yangı bölgesine çağırdığı ancak çoğunun virüs tarafından yıkımlandığına işaret edildi.

Zhang ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada CD4, CD8 alt tiplerini ve özellikle doğal katil hücrelerini (NK) içeren T lenfosit sayısının şiddetli vakalarda yüksek olmasını beklerken daha düşük olduğunu tespit etmişlerdir (Zhang ve ark., 2020). Bununla birlikte lökosit sayısının yükselmesi ve lenfosit sayısının azalması şiddetli veya ölümcül Covid-19 ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir. Yüksek lökosit sayısı virüs invazyonunun neden olduğu sitokin fırtınası ile ilişkili olduğu vurgulanmıştır. Düşük lenfosit sayısı ise CoV aracılı şiddetli bağışıklık hasarı ile ilişkilendirilmiştir (Hu ve ark., 2020). Bu çalışmada immunohistokimyasal incelemelerde akciğer dokusunda Anti-CD3 immün reaktiviteleri Anti-CD20 reaktivitelerine göre düşük olması FIP'in patogeneizindeki mekanizmaların insanlardaki Covid-19 enfeksiyonu ile benzer olduğunu ortaya koymaktadır. Ancak mortalite oranlarının neden kedilerde fazla olduğu ortaya çıkarılamamıştır.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada, koronavirüs pozitif olan kedi akciğer dokularına ait parafin bloklar histopatolojik ve immunohistokimyasal yöntem uygulanarak karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Hem insan hem de hayvan sağlığı açısından önemli bir yere sahip olan bu virüs geçmişten günümüze kadar etkisini sürekli arttırmıştır.

Sonuç olarak şiddetli vakalarda IL-1 IL-6 TNF α salınımlarının yüksek olduğu T lenfositlerin (CD3) sayıca azaldığı buna karşın B lenfositlerin (CD20) sayıca arttığı tespit edilmiştir. Buna göre virüsün T lenfositleri yıkımlayarak T lenfosit savunmasını inhibe ettiği ve makrofajlar içinde replike olan virüsün tekrarlanan ataklarla B lenfosit proliferasyonunu arttırdığı gözlemlenmiştir. Bununla birlikte oluşan hasarın virüsün direkt etkisinden ziyade B lenfosit aracılı immun yanıtı sonucu antijen-antikor komplekslerine karşı oluşan aşırı sitokin salınımları ile alakalı olduğu belirlendi. Bu özelliği yönüyle insanlarda görülen Covid-19 hastalığına benzerliklerin olması ve Covid-19 ile FIP'in oluşum mekanizması, teşhis ve tedavisinde rol model olabileceği düşünülmüştür.

KAYNAKLAR

- Addie DD, Dennis JM, Toth S, Callanan JJ, Reid S, Jarrett O (2000).** Long-term impact on a closed household of pet cats of natural infection with feline coronavirus, feline leukaemia virus and feline immunodeficiency virus. Long-term impact on a closed household of pet cats of natural infection with feline coronavirus, feline leukaemia virus and feline immunodeficiency virus. *Vet. Rec.*, **146(15)**, 419-424.
- Addie DD, Jarrett O (1990).** *Feline coronavirus infections*. In: Greene CE (ed), *Infectious diseases of the dog and cat*. Philadelphia, WB Saundersp, 300-312.
- Addie DD, Schaap IAT, Nicolson L, Jarrett O (2003).** Persistence and transmission of natural type I feline coronavirus infection. *J. Gen. Virol.*, **84(10)**, 2735-2744.
- Addie DD, Belák S, Boucraut-Baralon C, Egberink H, Frymus T, Gruffydd-Jones T, Hartmann K, Hosie MJ, Lloret A, Lutz H, Marsilio F, Pennisi MG, Radford AD, Thiry E, Truyen U, Horzinek MC (2009).** Feline Infectious Peritonitis: ABCD Guidelines on Prevention and Management. *J. Feline Med. Surg.*, **11(7)**, 594-604.
- Addie, DD., Jarrett, O (2001).** Use of a reverse-transcriptase polymerase chain reaction for monitoring the shedding of feline coronavirus by healthy cats. *Vet. Rec.*, **148(21)**, 649-653.
- Anderson LJ, Tong S (2010).** Update on SARS research and other possibly zoonotic coronaviruses. *Int. J. Antimicrob. Agents.*, **36(1)**, 21-25.
- Andrew SE (2000).** Feline infectious peritonitis. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, **30(5)**, 987-1000.
- Anis EA, Wilkes RP, Kania SA (2014).** Effect of small interfering RNAs on in vitro replication and expression of feline coronavirus. *Am. J. Vet. Res.*, **75(9)**, 828-834.
- Armstrong J, Niemann H, Smeekens S, Rottier P, Warren G (1984).** Sequence and topology of a model intracellular membrane protein, E1 glycoprotein, from a coronavirus. *Nature.*, **308(5961)**, 751-752.
- Azkur AK, Akdis M, Azkur D, Sokolowska M, van de Veen W, Brüggen MC, O'Mahony L, Gao Y, Nadeau K, Akdis CA (2020).** Immune response to SARS-CoV-2 and mechanisms of immunopathological changes in COVID-19. *Allergy*, **75(7)**, 1564-1581.
- Barcena M, Oostergetel GT, Bartelink W, Faas FG, Verkleij A, Rottier PJ, Koster AJ, Bosch BJ (2009).** Cryo-electron tomography of mouse hepatitis virus: insights into the structure of the coronavirion. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **106(2)**, 582-587.
- Baş TM, Sevinç M, Ok M (2020).** Coronavirus Infections in Cats. *Eurasian J. Vet. Sci., Covid-19 Special Issue*, 106-117.

- Baudoux P, Carrat C, Besnardeau L, Charley B, Laude H (1998).** Coronavirus pseudo particles formed with recombinant M and E proteins induce alpha interferon synthesis by leukocytes. *J. Virol.*, **72(11)**, 8636-8643.
- Baydar E, Eröksüz Y, Timurkan MÖ, Eröksüz H (2014).** Türkiye’de Bir Kedide Göz Lezyonlarıyla Belirgin Feline Enfeksiyöz Peritonitis Olgusu. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.*, **20(6)**, 961-965.
- Belouzard S, Millet JK, Licitra BN, Whittaker, GR (2012).** Mechanisms of coronavirus cell entry mediated by the viral spike protein. *Viruses.*, **4(6)**, 1011-1033.
- Benacerraf B, Levine BB (1962).** Immunological specificity of delayed and immediate hypersensitivity reactions. *J. Exp. Med.*, **115(5)**, 1023-1036.
- Benetka V, Kübber-Heiss A, Kolodziejek J, Nowotny N, Hofmann-Parisot M, Möstl K (2004).** Prevalence of feline coronavirus types I and II in cats with histopathologically verified feline infectious peritonitis. *Vet. Microbiol.*, **99(1)**, 31-42.
- Berti-Bock G, Vial F, Premuda L, Rulliére R (1979).** Exudates, transudates and the Rivalta reaction (1895). Current status and historical premises. *Minerva Med.*, **70(52)**, 3573-3580.
- Bosch BJ, van der Zee R, de Haan CAM, Rottier PJM (2003).** The Coronavirus Spike Protein Is a Class I Virus Fusion Protein: Structural and Functional Characterization of the Fusion Core Complex. *J. Virol.*, **77(16)**, 8801-8811.
- Boudreaux MK, Weiss RC, Cox N, Spano JS (1989).** Evaluation of antithrombin-III activity as a coindicator of disseminated intravascular coagulation in cats with induced feline infectious peritonitis virus infection. *Am. J. Vet. Res.*, **50(11)**, 1910-1913.
- Brierley I, Digard P, Inglis SC (1989).** Characterization of an efficient coronavirus ribosomal frameshifting signal: requirement for an RNA pseudoknot. *Cell.*, **57(4)**, 537-547.
- Campbell LH, Reed C (1975).** Ocular signs associated with feline infectious peritonitis in two cats. *Feline Pract.*, **5**, 32-35.
- Can-Şahna K, Ataseven VS, Pınar D, Oğuzoğlu TÇ (2007).** The detection of feline coronaviruses in blood samples from cats by mRNA RT-PCR. *J. Feline Med. Surg.*, **9(5)**, 369- 372.
- Cao YC, Deng QX, Dai SX (2020).** Remdesivir for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 causing COVID-19: An evaluation of the evidence. *Travel Med. Infect. Dis.*, **35**, 101647.
- Cave TA, Golder MC, Simpson J, Addie DD (2004).** Risk factors for feline coronavirus seropositivity in cats relinquished to a UK rescue charity. *J. Feline Med. Surg.*, **6(2)**, 53-58.

Cham TC, Chang YC, Tsai PS, Wu CH, Chen HW, Jeng CR, Pang VF, Chang HW (2017). Determination of the cell tropism of serotype 1 feline infectious peritonitis virus using the spike affinity histochemistry in paraffin-embedded tissues. *Microbiol. Immunol.*, **61(8)**, 318-327.

Chang HW, de 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(2)**, 415-420.

Chen L, Liu HG, Liu W, Liu J, Liu K, Shang J, Wei S (2020). Analysis of clinical features of 29 patients with 2019 novel coronavirus pneumonia. *Zhonghua Jie. He. He. Hu. Xi. Za. Zhi.*,= *Chin. J. Tuber. Res. Dis.*, **43(3)**, 203-208.

Crayne CB, Albeituni S, Nichols KE, Cron RQ (2019). The immunology of macrophage activation syndrome. *Front. Immunol.*, **10**, 119.

Christian PD, Scotti P (1994). A Suggested Taxonomy and Nomenclature for the Cricket Paralysis and Drosophila C Virus Complex. *J. Invertebr. Pathol.*, **63(2)**, 157-162.

Christianson KK, Ingersoll JD, Landon M (1989). Characterization of a temperaturesensitive feline infectious peritonitis coronavirus. *Arch. Virol.*, **109(3)**, 185-196.

Corapi WV, Darteil RJ, Audonnet JC, Chappuis GE (1995). Localization of antigenic sites of the S glycoprotein of feline infectious peritonitis virus involved in neutralization and antibodydependent enhancement. *J. Virol.*, **69(5)**, 2858–2862.

Corapi WV, Olsen CW, Scott FW (1992). Monoclonal antibody analysis of neutralization and antibody-dependent enhancement of feline infectious peritonitis virus. *J. Virol.*, **66(11)**, 6695-6705.

De Clercq E, Li G (2016). Approved antiviral drugs over the past 50 years. *Clin. Microbiol. Rev.*, **29(3)**, 695-747.

De Groot RJ, Maduro J, Lenstra JA, Horzinek MC, Van Der Zeijst BAM, Spaan WJM (1987). cDNA cloning and sequence analysis of the gene encoding the peplomer protein of feline infectious peritonitis virus. *J. Gen. Virol.*, **68(10)**, 2639-2646.

de Haan CA, De Wit M, Kuo L, Montalto-Morrison C, Haagmans BL, Weiss SR, Masters PS, Rottier PJ (2003). The glycosylation status of the murine hepatitis coronavirus M protein affects the interferogenic capacity of the virus in vitro and its ability to replicate in the liver but not the brain. *Virology.*, **312(2)**, 395-406.

de Haan CA, Kuo L, Masters PS, Vennema H, Rottier PJ (1998). Coronavirus particle assembly: primary structure requirements of the membrane protein. *J. Virol.*, **72(8)**, 6838-6850.

- Dedeurwaerder A, Desmarests LM, Olyslaegers DA, Vermeulen BL, Dewerschin HL, Nauwynck HJ (2013).** The role of accessory proteins in the replication of feline infectious peritonitis virus in peripheral blood monocytes. *Vet. Microbiol.*, **162(2-4)**, 447-455.
- DeDiego ML, Álvarez E, Almazán F, Rejas MT, Lamirande E, Roberts A, Enjuanes L (2007).** A Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus That Lacks the E Gene Is Attenuated In Vitro and In Vivo. *J. Virol.*, **81(4)**, 1701-1713.
- Delmas B, Gelfi J, Sjöström H, Noren O, Laude H (1993).** Further characterization of aminopeptidase-N as a receptor for coronaviruses. *Adv. Exp. Med. Biol.*, **342**, 293-298.
- Denison MR, Graham RL, Donaldson EF, Eckerle LD, Baric RS (2011).** Coronaviruses: an RNA proofreading machine regulates replication fidelity and diversity. *RNA Biol.*, **8(2)**, 270-279.
- Dewerschin HL, Cornelissen E, Nauwynck JH (2005).** Replication of feline coronaviruses in peripheral blood monocytes. *Arch. Virol.*, **150(12)**, 2483-2500.
- Doenges SJ, Weber K, Dorsch R, Fux R, Hartmann K (2017).** Comparison of real-time reverse transcriptase polymerase chain reaction of peripheral blood mononuclear cells, serum and cell-free body cavity effusion for the diagnosis of feline infectious peritonitis. *J. Feline Med. Surg.*, **19(4)**, 344-350.
- Drechsler Y, Alcaraz A, Bossong FJ, Collisson EW, Diniz PP (2011).** Feline coronavirus in multicat environments. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, **41(6)**, 1133-1169.
- Dye C, Siddell SG (2005).** Genomic RNA sequence of Feline coronavirus strain FIPV WSU-79/1146. *J. Gen. Virol.*, **86(Pt 8)**, 2249-2253.
- Dye C, Helps CR, Siddell SG (2008).** Evaluation of real-time RT-PCR for the quantification of FCoV shedding in the faeces of domestic cats. *J. Feline Med. Surg.*, **10(2)**, 167-174.
- Dye C, Siddell SG (2007).** Genomic RNA sequence of feline coronavirus strain FCoV C1Je. *J. Feline Med. Surg.*, **9(3)**, 202-213.
- Escors D, Ortego J, Enjuanes L (2001).** The membrane M protein of the transmissible gastroenteritis coronavirus binds to the internal core through the carboxyterminus. *Adv. Exp. Med. Biol.*, **494**, 589-593.
- Fankhauser R, Fatzer R (1977).** Meningitis and Chorioependymitis granulomatosa der Katze: mögliche Beziehungen zur felineen infectösen Peritonitis (FIP). *Kleintierpraxis*, **22**, 19- 22.
- Fehr AR, Perlman S (2015).** Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. *Methods Mol. Biol.*, **1282**, 1-23.

Fehr D, Bolla S, Herrewegh A, Horzinek MC, Lutz H (1996). Detection of feline coronavirus using RT-PCR: basis for the study of the pathogenesis of feline infectious peritonitis (FIP). *Schweiz Arch. Tierheilkd.*, **138**, 74-79.

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

Felten S, Matiassek 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. *J. Feline Med. Surg.*, **19(4)**, 410-418.

Felten S, Weider K, Doenges S, Gruendl S, Matiassek K, Hermanns W, Mueller E, Matiassek L, Fischer A, Weber K, Hirschberger J, Wess G, Hartmann K (2017). Detection of feline coronavirus spike gene mutations as a tool to diagnose feline infectious peritonitis. *J. Feline Med. Surg.*, **19(4)**, 321-335.

Foley JE, Lapointe JM, Koblik P, Poland A, Pedersen NC (1998). Diagnostic features of clinical neurologic feline infectious peritonitis. *J. Vet. Intern. Med.*, **12(6)**, 415-423.

Foley JE, Pedersen NC (1996). The inheritance of susceptibility to feline infectious peritonitis virus in purebred catteries. *Feline Pract.*, **24(1)**, 14-22.

Foley JE, Poland A, Carlson J, Pedersen NC (1997). Patterns of feline coronavirus infection and fecal shedding from cats in multiple-cat environments. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **210(9)**, 1307-1312.

Foley JE, Poland A, Carlson J, Pedersen NC (1997). Risk factors for feline infectious peritonitis among cats in multiple-cat environments with endemic feline enteric coronavirus. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **210(9)**, 1313-1318.

Foley JE, Rand C, Leutenegger C (2003). Inflammation and changes in cytokine levels in neurological feline infectious peritonitis. *J. Feline Med. Surg.*, **5(6)**, 313-322.

Fowler ME (1978). *Zoo and Wild Animal Medicine*, Philadelphia, Saunders, p: 660.

Francisco AU, Brandon LP, Hostetter JM (2016). *Pathology of Domestic Animals*. In: Maxie MG (ed), Feline infectious peritonitis. Vol. 4, 6nd Edition. Missouri: Elsevier Health Sciences, p: 254-256.

Gerber JD (1995). Overview of the development of a modified live temperature-sensitive FIP virus vaccine. *Feline. Pract.*, **23**, 62-6.

Gillespie JH, Scott FW (1973). Feline viral infections. *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.*, **17**, 163-200.

Giordano A, Paltrinieri S (2009). Interferon-gamma in the serum and effusions of cats with feline coronavirus infection. *Vet. J.*, **180(3)**, 396-398.

Giori L, Giordano A, Giudice C, Grieco V, Paltrinieri S (2011). Performances of different diagnostic tests for feline infectious peritonitis in challenging clinical cases. *J. Small Anim. Pract.*, **52(3)**, 152-157.

Glansbeek HL, Haagmans BL, Te Lintelo RG (2002). Adverse effects of feline IL-12 during DNA vaccination against feline infectious peritonitis virus. *J. Gen. Virol.*, **83(1)**, 1–10.

González JM, Gomez-Puertas P, Cavanagh D, Gorbalenya AE, Enjuanes L (2003). A comparative sequence analysis to revise the current taxonomy of the family Coronaviridae. *Arch. Virol.*, **148(11)**, 2207-2235.

Goodson T, Randell S, Moore L (2009). Feline infectious peritonitis. Compendium (Yardley, PA), 31(10), E1--8; quiz E9.

Gunn-Moore DA, Gruffydd-Jones TJ, Harbour DA (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. *Vet. Microbiol.*, **62(3)**, 193–205.

Hagan WA, Bruner DW, Timoney JF (1992). *Hagan and Bruner's microbiology and infectious diseases of domestic animals*. Comstock Publishing Associate.

Haijema BJ, Rottier PJM, de Groot RJ (2007). *Molecular and Cellular Biology*. In: Thiel V (ed), Feline coronaviruses: a tale of two-faced types. Coronaviruses: Caister Academic Press, p: 183-204.

Hanedan B, Timurkan MO, Aydin H, Altun S, Comakli S, Yanar KE (2022). Pleural effusion associated with feline infectious peritonitis in a kitten: molecular and histopathological investigation. *J. Appl. Biol. Sci.*, **16(1)**, 62-69.

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(6)**, 781-790.

Hartmann K (2017). Feline infectious peritonitis—new developments in pathogenesis, diagnosis, and management. *Thai J. Vet. Med.*, **47**, 97-100.

Hartmann K (2005). Feline infectious peritonitis. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, **35(1)**, 39-79.

Hartmann K (2010). *Merck Veterinary Manual*. 10th Edition, In: Aiello SA. (Ed), Feline infectious peritonitis. Pennsylvania: The Merck Publishing Group, p: 707-718.

Hayashi T, Goto N, Takahashi R, Fujiwara K (1977). Systemic vascular lesions in feline infectious peritonitis. *Jpn. J. Vet. Res.*, **39(4)**, 365-377.

Herrewegh AA, Smeenk I, Horzinek MC, Rottier PJM, de Groot RJ (1998). Feline Coronavirus Type II Strains 79-1683 and 79-1146 Originate from a Double

Recombination between Feline Coronavirus Type I and Canine Coronavirus. *J. Virol.*, **72**(5), 4508-4514.

Hinkle D, Wiersma W, Jurs S (2003). Applied Statistics for the Behavioral Sciences. 5th Ed. Boston: Houghton Mifflin.

Hohdatsu T, Izumiya Y, Yokoyama Y, Kida K, Koyama H (1998). Differences in virus receptor for type I and type II feline infectious peritonitis virus. *Arch. Virol.*, **143**(5), 839-850.

Hohdatsu T, Yamato H, Ohkawa T, Kaneko M, Motokawa K, Kusuhara H, Kaneshima T, Arai S, Koyama H (2003). Vaccine efficacy of a cell lysate with recombinant baculovirus-expressed feline infectious peritonitis (FIP) virus nucleocapsid protein against progression of FIP. *Vet. Microbiol.*, **97**(1–2), 31–44.

Holmes KV, Lai MMC (1996). *Fundamental Virology*. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM. (Eds), *Coronaviridae: The Viruses and Their Replication*. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, p: 541-559.

Holst BS, Englund L, Palacios S, Renström L, Berndtsson LT (2006). Prevalence of antibodies against feline coronavirus and *Chlamydomydia felis* in Swedish cats. *J. Feline Med. Surg.*, **8**(3), 207-211.

Holzworth J. (1963). Some important disorders of cats. *Cornell Vet.*, **53**, 157-160.

Horsburgh BC, Brown TD (1995). Cloning, sequencing and expression of the S protein gene from two geographically distinct strains of canine coronavirus. *Virus Res.*, **39**, 63–74.

Hoskins, JD (1993). Coronavirus Infection in Cats. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, **23**(1), 1-16.

Hu X, Hu C, Yang Y, Chen J, Zhong P, Wen Y et al. (2020). Clinical characteristics and risk factors for severity of COVID-19 outside Wuhan: a double-center retrospective cohort study of 213 cases in Hunan, China. *Ther. Adv. Respir. Dis.*, **14**, 1753466620963035.

Jacobse-Geels HE, Daha MR, Horzinek MC (1982). Antibody, immune complexes, and complement activity fluctuations in kittens with experimentally induced feline infectious peritonitis. *Am. J. Vet. Res.*, **43**(4), 666-670.

Jaimes JA, Whittaker GR (2018). Feline coronavirus: Insights into viral pathogenesis based on the spike protein structure and function. *Virology*, **517**, 108-121.

Kennedy MA, Abd-Eldaim M, Zika SE, Mankin JM, Kania SA. (2008). Evaluation of antibodies against feline coronavirus 7b protein for diagnosis of feline infectious peritonitis in cats. *Am. J. Vet. Res.*, **69(9)**, 1179-1182.

Kim Y, Liu H, Kankanamalage ACG, 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. Path.*, **12**, e1005531.

Kim JM, Chen DS (2016). Immune escape to PD-L1/PD-1 blockade: seven steps to success (or failure). *Ann. Oncol.*, **27(8)**, 1492-1504.

Kim Y, Shivanna V, Narayanan S (2015). Broad-spectrum inhibitors against 3C-like proteases of feline coronaviruses and feline caliciviruses. *J Virol.*, **89(9)**, 4942-50.

Kipar A, Baptiste K, Barth A, Reinacher M (2006). Natural FCoV infection: cats with FIP exhibit significantly higher viral loads than healthy infected cats. *J. Feline Med. Surg.*, **8(1)**, 69-72.

Kipar A, Bellmann S, Kremendahl J, Kohler K, Reinacher M (1998). Cellular composition, coronavirus antigen expression and production of specific antibodies in lesions in feline infectious peritonitis. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, **65**, 243-257.

Kipar A, Kohler K, Leukert W, Reinacher M (2001). A comparison of lymphatic tissues from cats with spontaneous feline infectious peritonitis (FIP), cats with FIP virus infection but no FIP, and cats with no infection. *J. Comp. Pathol.*, **125(2-3)**, 182-191.

Kipar A, May H, Menger S, Weber M, Leukert W, Reinacher M (2005). Morphological features and development of granulomatous vasculitis in feline infectious peritonitis. *Vet. Pathol.*, **42(3)**, 321-330.

Kipar A, Meli ML (2014). Feline infectious peritonitis: still an enigma? *Vet. Pathol.*, **51**, 505-526.

Kipar A, Bellmann S, Gunn-Moore DA, Leukert W, Köhler K, Menger S, Reinacher M (1999b). Histopathological alterations of lymphatic tissues in cats without feline infectious peritonitis after long-term exposure to FIP virus. *Vet. Microbiol.*, **69(1-2)**, 131-137.

Kiss I, Kecskemeti S, Tanyi J, Klingeborn B, Belák S (2000). Preliminary studies on feline coronavirus distribution in naturally and experimentally infected cats. *Res. Vet. Sci.*, **68(3)**, 237-242.

Kline KL, Joseph RJ, Averill DR (1994). Feline infectious peritonitis with neurologic involvement: clinical and pathological findings in 24 cats. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, **30**, 111-118.

Kummrow M, Meli ML, Haessig M, Goenczi E, Poland A, Pedersen NC, Hofmann-Lehmann R, Lutz H (2005). Feline Coronavirus Serotypes 1 and 2: Seroprevalence and Association with Disease in Switzerland. *Clin. Diagn Lab Immunol.*, **12(10)**, 1209-1215.

Lai MMC, Perlman S, Anderson LJ (2007). *Fields Virology* In: Knipe DM, Howley PM. (Eds), Coronaviridae. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, p: 1305-1335.

Legendre AM, Kuritz T, Galyon G (2017). Polyprenyl immunostimulant treatment of cats with presumptive non-effusive feline infectious peritonitis in a field study. *Front Vet Sci.*, **4**, 7.

Licitra BN, Sams KL, Lee DW, Whittaker GR (2014). Feline Coronaviruses Associated with Feline Infectious Peritonitis Have Modifications to Spike Protein Activation Sites at Two Discrete Positions. *arXiv preprint arXiv*, 1412.4034

Licitra BN, Millet JK, Regan AD, Hamilton BS, Rinaldi VD, Duhamel GE, Whittaker GR (2013). Mutation in Spike Protein Cleavage Site and Pathogenesis of Feline Coronavirus. *Emerg. Infect Dis.*, **19(7)**, 1066-1073.

Marioni-Henry K, Vite CH, Newton AL, Van Winkle TJ. (2004). Prevalence of Diseases of the Spinal Cord of Cats. *J. Vet. Intern. Med.*, **18(6)**, 851.

Masters PS (2006). The molecular biology of coronaviruses. *Adv. Virus Res.*, **66**, 193-292.

Masters PS, Perlman S (2013). *Fields Virology*. In: Knipe DM, Howley PM (Eds), Coronaviridae. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, p: 825-858

McArdle F, Bennett M, Gaskell RM (1995). Independent evaluation of a modified live FIPV vaccine under experimental conditions (University of Liverpool experience). *Feline. Pract.*, **23**, 67–71.

Meli M L, Spiri AM, Zwicklbauer K, Krentz D, Felten S, Bergmann M, Hofmann LR (2022). Fecal Feline Coronavirus RNA Shedding and Spike Gene Mutations in Cats with Feline Infectious Peritonitis Treated with GS-441524. *Viruses*, **14(5)**, 1069.

Meli M, Kipar A, Müller C, Jenal K, Gönczi E, Borel N, Gunn-Moore D, Chalmers S, Lin F, Reinacher M, Lutz H (2004). High viral loads despite absence of clinical and pathological findings in cats experimentally infected with feline coronavirus (FCoV) type I and in naturally FCoV-infected cats. *J. Feline Med. and Surg.*, **6(2)**, 69-81.

Milli ÜH, Hazıroğlu R (2000). *Veteriner Patoloji Kitabı*, Cilt I, İkinci Baskı, s: 233-236.

- Molenkamp R, Spaan WJM (1997).** Identification of a Specific Interaction between the Coronavirus Mouse Hepatitis Virus A59 Nucleocapsid Protein and Packaging Signal. *Virology*, **239(1)**, 78-86.
- Montali RJ, Strandberg JD (1972).** Extraperitoneal Lesions in Feline Infectious Peritonitis. *Vet. Pathol.*, **9(2)**, 109-121.
- Motokawa K, Hohdatsu T, Aizawa C, Koyama H, Hashimoto H (1995).** Molecular cloning and sequence determination of the peplomer protein gene of feline infectious peritonitis virus type I. *Arch. Virol.*, **140**, 469-480.
- Mulaka M (2012).** A guide to appropriate use of correlation coefficient in medical research. *Malawi Med J.*, **24**:69–71.
- Murphy BG, Perron M, Murakami E, Bauer K, Park Y, Eckstrand C, Liepnieks 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.
- Myrrha LW, Silva FMF, Peternelli EFDO, Junior AS, Resende M, de Almeida MRD (2011).** The Paradox of Feline Coronavirus Pathogenesis: A Review. *Adv. Virol.*, **1-8**.
- Narayanan K, Makino S (2001).** Characterization of nucleocapsid-M protein interaction in murine coronavirus. *Adv. Exp. Med. Biol.*, **494**, 577-582.
- Neuman BW, Kiss G, Kunding AH, Bhella D, Baksh MF, Connelly S, Droese B, Klaus JP, Makino S, Sawicki SG, Siddell SG, Stamou DG, Wilson IA, Kuhn P, Buchmeier MJ (2001).** A structural analysis of M protein in coronavirus assembly and morphology. *J. Struct Biol.*, **174**, 11–22.
- Niemann H, Geyer R, Klenk HD, Linder D, Stirm S, Wirth M (1984).** The carbohydrates of mouse hepatitis virus (MHV) A59: structures of the O-glycosidically linked oligosaccharides of glycoprotein E1. *EMBO J.*, **3**, 665-670.
- Nieto-Torres JL, DeDiego ML, Verdia-Baguena C, Jimenez-Guardeno JM, Regla- Nava JA, Fernandez-Delgado R, Castano-Rodriguez C, Alcaraz A, Torres J, Aguilera VM, Enjuanes L (2014).** Severe acute respiratory syndrome coronavirus envelope protein ion channel activity promotes virus fitness and pathogenesis. *PLoS Pathog.*, **10**, e1004077.
- Norris JM, Bosward KL, White JD, Baral RM, Catt MJ, Malik R (2005).** Clinicopathological findings associated with feline infectious peritonitis in Sydney, Australia: 42 cases (1990– 2002). *Aust. Vet. J.*, **83(11)** 666-673.
- Olsen CW (1993).** A review of feline infectious peritonitis virus: molecular biology, immunopathogenesis, clinical aspects, and vaccination. *Vet. Microbiol.*, **36(1-2)**, 1-37.

Oostra M, de Haan CA, de Groot RJ, Rottier PJ (2006). Glycosylation of the severe acute respiratory syndrome coronavirus triple-spanning membrane proteins 3a and M. *J. Virol.*, **80(5)**, 2326-2330.

Paltrinieri S, Cammarata Parodi M, Cammarata G, Mambretti M (1998). Type IV hypersensitivity in the pathogenesis of FIPV-induced lesions. *Zentralbl Veterinarmed B.*, **45(3)**, 151–159.

Paltrinieri S, Giordano A, Tranquillo V, Guazetti S (2007). Critical assessment of the diagnostic value of feline alpha 1-acid glycoprotein for feline infectious peritonitis using the likelihood ratios approach. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **19**, 266-272.

Paltrinieri S, Grieco V, Comazzi S, Parodi MC (2001). Laboratory Profiles in Cats with Different Pathological and Immunohistochemical Findings Due to Feline Infectious Peritonitis (FIP). *J. Feline Med. Surg.*, **3(3)**, 149-159.

Pedersen NC, Liu H, Dodd K, Pesavento PA (2009). Significance of Coronavirus Mutants in Feces and Diseased Tissues of Cats Suffering from Feline Infectious Peritonitis. *Viruses*, **1(2)**, 166-184.

Pedersen NC, Black JW, Boyle JF, Evermann JF, McKeirnan AJ, Ott RL (1984). Pathogenic differences between various feline coronavirus isolates. *Adv. Exp. Med. Biol.*, **173**, 365-380.

Pedersen NC, Boyle JF, Floyd K, Fudge A, Barker J (1981b). An enteric coronavirus infection of cats and its relationship to feline infectious peritonitis. *Am. J. Vet. Res.*, **42**, 368-377.

Pedersen NC, Boyle JF (1980). Immunologic phenomena in the effusive form of feline infectious peritonitis. *Am. J. Vet. Res.*, **41**, 868-876.

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

Pedersen NC (2009). A review of feline infectious peritonitis virus infection: 1963–2008. *J. Feline Med. Surg.*, **11(4)**, 225-258.

Pedersen NC (2014). An update on feline infectious peritonitis: Diagnostics and therapeutics. *Vet. J.*, **201(2)**, 133-141.

Pedersen NC (1995). An overview of feline enteric coronavirus and infectious peritonitis virus infections. *Feline Pract.*, **23**, 7-20.

Pedersen NC (1976). Feline infectious peritonitis. Something old, something new. *Feline Pract.*, **6**, 42-51.

Pedersen NC (1976). Morphological and physical characteristics of feline infectious peritonitis virus and its growth in autochthonous peritoneal cell cultures. *Am. J. Vet. Res.*, **(5)**, 567–572.

Pedersen NC (1995). The history and interpretation of feline coronavirus serology. *Feline Pract.*, **23**, 46-51.

Pedersen NC, Boyle JF, Floyd K (1981). Infection studies in kittens, using feline infectious peritonitis virus propagated in cell culture. *Am. J. Vet. Res.*, **42(3)**, 363-367.

Pedersen NC, Ward J, Mengeling WL (1978). Antigenic relationship of the feline infectious peritonitis virus to coronaviruses of other species. *Arch. Virol.*, **58(1)**, 45-53.

Pedersen NC, Allen CE, Lyons LA (2008). Pathogenesis of feline enteric coronavirus infection. *J. Feline Med. Surg.*, **10(6)**, 529-541.

Pedersen NC, Eckstrand C, Liu H, Leutenegger C, Murphy B (2015). Levels of feline infectious peritonitis virus in blood, effusions, and various tissues and the role of lymphopenia in disease outcome following experimental infection. *Vet. Microbiol.*, **175(2–4)**, 157–166.

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(1)**, 17-28.

Pedersen NC (2009). A review of feline infectious peritonitis virus infection: 1963-2008. *J. Feline Med. Surg.*, **11(4)**, 225-258.

Pesteanu-Somogyi LD, Radzai C, Pressler BM (2006). Prevalence of feline infectious peritonitis in specific cat breeds. *J. Feline Med. Surg.*, **8(1)**, 1-5.

Poland AM, Vennema H, Foley JE, Pedersen NC (1996). Two related strains of feline infectious peritonitis virus isolated from immunocompromised cats infected with a feline enteric coronavirus. *J. Clin. Microbiol.*, **34(12)**, 3180-3184.

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(1)**, 49.

Qin C, Zhou L, Hu Z, Zhang S, Yang S, Tao Y, Xie C, Ma K, Shang K, Wang W, Tian DS (2020). Dysregulation of Immune Response in Patients With Coronavirus (COVID-19) in Wuhan, China. *Clin. Infect. Dis.*, **71(15)**, 762-768.

Regan, AD, Whittaker GR (2008). Utilization of DC-SIGN for entry of feline coronaviruses into host cells. *J. Virol.*, **82**, 11992-11996.

Ritz S, Egberink H, Hartmann K (2007). Effect of feline interferon-omega on the survival time and quality of life of cats with feline infectious peritonitis. *J. Vet. Intern. Med.*, **21(6)**, 1193–1197.

Rohrbach BW, Legendre AM, Baldwin CA, Lein DH, Reed WM, Wilson RB (2001). Epidemiology of feline infectious peritonitis among cats examined at veterinary medical teaching hospitals. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **218(7)**, 1111-1115.

Rohrer C, Suter PF, Lutz H (1993). The diagnosis of feline infectious peritonitis (FIP): a retrospective and prospective study. *Kleintierprax*, **38**, 379–389.

Romanelli P, Paltrinieri S, Bonfanti U, Castaman MG, Monza E, Bertazzolo W (2022). Utility of the Ratio between Lactate Dehydrogenase (LDH) Activity and Total Nucleated Cell Counts in Effusions (LDH/TNCC Ratio) for the Diagnosis of Feline Infectious Peritonitis (FIP). *Animals*, **12(17)**, 2262.

Scott FW, Copari WV, Olsen CW (1995). Antibody-dependent enhancement of feline infectious peritonitis. *Feline Pract.*, **23**, 77-80.

Shiba N, Maeda K, Kato H, Mochizuki M, Iwata H (2007). Differentiation of feline coronavirus type I and II infections by virus neutralization test. *Vet. Microbiol.*, **124(3-4)**, 348-352.

Simons FA, Vennema M, Rofina JE, Pol JM, Horzinek MC, Rottier PJ, Egberink HF (2005). A mRNA PCR for the diagnosis of feline infectious peritonitis. *J. Virol. Methods*, **124(1-2)**, 111-116.

Slausen DO, Finn JP (1972). Meningoencephalitis and panophthalmitis in feline infectious peritonitis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **160**, 729-734.

Spaan W, Cavanagh D, Horzinek MC (1988). Coronaviruses: structure and genome expression. *J. Gen. Virol.*, **69(12)**, 2939-2952.

Sun LL, Ellerman D, Mathieu M, Hristopoulos M, Chen X, Li Y, et al. (2015). Anti-CD20/CD3 T cell-dependent bispecific antibody for the treatment of B cell malignancies. *Sci. Transl. Med.*, **7(287)**, 287ra70-287ra70.

Sun LL, Wang P, Clark R, Hristopoulos M, Ellerman D, Mathieu M, et al. (2016). Preclinical characterization of combinability and potential synergy of anti-CD20/CD3 T-cell dependent bispecific antibody with chemotherapy and PD-1/PD-L1 blockade. *Blood*, **128(22)**, 4168.

Takano T, Hohdatsu T, Hashida Y, Kaneko Y, Tanabe M, Koyama HA (2007). “possible” involvement of TNF-alpha in apoptosis induction in peripheral blood lymphocytes of cats with feline infectious peritonitis. *Vet. Microbiol.*, **119(2-4)**, 121-31.

Takano T, Hohdatsu T, Toda A, Tanabe M, Koyama H (2007). 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**(1), 64-72.

Takano T, Katada Y, Moritoh S, Ogasawara M, Satoh K, Satoh R, Tanabe M, Hohdatsu T (2008a). Analysis of the mechanism of antibody-dependent enhancement of feline infectious peritonitis virus infection: aminopeptidase N is not important and a process of acidification of the endosome is necessary. *J. Gen. Virol.*, **89**(4), 1025-1029.

Takano T, Kawakami C, Yamada S, Satoh R, Hohdatsu T (2008b). Antibody-dependent enhancement occurs upon re-infection with the identical serotype virus in feline infectious peritonitis virus infection. *J. Vet. Med. Sci.*, **70**(12), 1315-1321.

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

Thiel V (2007). *Coronaviruses: Molecular and Cellular Biology*. In: Thiel V. (Ed), United Kingdom, Norfolk: Caister Academic Press, p: 109-131.

Tresnan DB, Levis R, Holmes KV (1996). Feline aminopeptidase N serves as a receptor for feline, canine, porcine, and human coronaviruses in serogroup I. *J. Virol.*, **70**(12), 8669-8674.

Tsai HY, Chueh LL, Lin CN, Su BL (2011). Clinicopathological findings and disease staging of feline infectious peritonitis: 51 cases from 2003 to 2009 in Taiwan. *J. Feline Med. Surg.*, **13**(2), 74-80.

Van Hamme E, Desmarets L, Dewerchin HL, Nauwynck HJ (2011). Intriguing interplay between feline infectious peritonitis virus and its receptors during entry in primary feline monocytes. *Virus Res.*, **160**(1-2), 32-39.

Van Hamme E, Dewerchin HL, Cornelissen E, Verhasselt B, Nauwynck HJ (2008). Clathrin and caveolae-independent entry of feline infectious peritonitis virus in monocytes depends on dynamin. *J. Gen. Virol.*, **89**(9), 2147-2156.

Vennema H, De Groot RJ, Harbour DA, Dalderup M, Gruffydd-Jones T, Horzinek MC, Spaan WJ (1990). Immunogenicity of recombinant feline infectious peritonitis virus spike protein in mice and kittens. *Adv. Exp. Med. Biol.*, **276**, 217–222.

Vennema H, Poland A, Foley J, Pedersen NC (1998). Feline infectious peritonitis viruses arise by mutation from endemic feline enteric coronaviruses. *Virology*, **243**(1), 150-157.

Vignuzzi M, Stone JK, Arnold JJ, Cameron CE, Andino R (2006). Quasispecies diversity determines pathogenesis through cooperative interactions in a viral population. *Nature*, **439**(7074), 344-348.

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(5)**, 71.

Wan S, Yi Q, Fan S, Lv J, Zhang X, Guo L, Chen Y (2020). Characteristics of lymphocyte subsets and cytokines in peripheral blood of 123 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus pneumonia (NCP). *MedRxiv*.

Wang Jr W, He J, Wu S (2020). The definition and risks of cytokine release syndrome-like in 11 COVID19-infected pneumonia critically ill patients: disease characteristics and retrospective analysis. *MedRxiv*.

Ward JM (1970). Morphogenesis of a virus in cats with experimental feline infectious peritonitis. *Virology*, **41(1)**, 191-194.

Weiss RC, Dodds WJ, Scott FW (1980). Disseminated intravascular coagulation in experimentally induced feline infectious peritonitis. *Am. J. Vet. Res.*, **41(5)**, 663-671.

Weiss RC, Scott FW (1981b). Pathogenesis of feline infectious peritonitis: nature and development of viremia. *Am. J. Vet. Res.*, **42(3)**, 382-390.

Weiss RC, Scott FW (1981c). Pathogenesis of feline infectious peritonitis: pathologic changes and immunofluorescence. *Am. J. Vet. Res.*, **42(12)**, 2036-2048.

Weiss RC (1998). *The Merck Veterinary Manual*. In: Aiello SE (Ed), Feline infectious peritonitis and pleuritis. Philadelphia: Merck&Co Inc, p: 551-555

Wills-Karp M (2008). *Fundamental Immunology*. In: Paul WE (Ed), Immunological mechanisms of allergic diseases. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, p: 1375-1425.

Wissink EH, Kroese MV, Maneschijn Bonsing JG, Meulenberg JJ, van Rijn PA, Rijsewijk FA, Rottier PJ (2004). Significance of the oligosaccharides of the porcine reproductive and respiratory syndrome virus glycoproteins GP2a and GP5 for infectious virus production. *J. Gen. Virol.*, **85(12)**, 3715-3723.

Wolfe LG, Griesemer RA (1966). Feline Infectious Peritonitis. *Pathol. Vet.*, **3(3)**, 255- 270.

Woo PCY, Lau SKP, Huang Y, Yuen KY (2009). Coronavirus Diversity, Phylogeny and Interspecies Jumping. *Exp. Biol. Med.*, **234(10)**, 1117-1127.

Wright KN, Gompf RE, DeNovo Jr RC (1999). Peritoneal effusion in cats: 65 cases (1981-1997). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **214(3)**, 375-381.

Zhang JJ, Cao YY, Tan G, Dong X, Wang BC, Lin J, Yan YQ, Liu GH, Akdis M, Akdis CA, Gao YD (2021). Clinical, radiological, and laboratory characteristics and risk factors for severity and mortality of 289 hospitalized COVID-19 patients. *Allergy*, **76(2)**, 533-550.

Zhang B, Zhou X, Qiu Y, Song Y, Feng F, Feng J et al. (2020). Clinical characteristics of 82 cases of death from COVID-19. *PLoS One*, **15(7)**, e0235458.

Zhang XW, Yap YL, Danchin A (2005). Testing the hypothesis of a recombinant origin of the SARS-associated coronavirus. *Arch. Virol.*, **150(1)**, 1-20.

Ziółkowska N, Paździor-Czapula K, Lewczuk B, Mikulska-Skupień E, Przybylska-Gornowicz B, Kwiecińska K, Ziółkowski H (2017). Feline Infectious Peritonitis: Immunohistochemical Features of Ocular Inflammation and the Distribution of Viral Antigens in Structures of the Eye. *Vet. Pathol.*, **54(6)**, 933-944.

Zook BC, King NW, Robison RL, McCombs HL (1968). Ultrastructural Evidence for the Viral Etiology of Feline Infectious Peritonitis. *Pathol. Vet.*, **5(1)**, 91-95.

