

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**FACULDADE DE VETERINÁRIA**  
**CURSO DE ESPECIALIZAÇÃO EM CLÍNICA MÉDICA DE FELINOS**  
**DOMÉSTICOS**

**MARCADORES MOLECULARES E SUA UTILIZAÇÃO PARA DIAGNÓSTICO DO**  
**VÍRUS DA PERITONITE INFECCIOSA FELINA - REVISÃO DE LITERATURA**

**ANA CAROLINA DE ASSIS SCARIOT**

**PORTO ALEGRE**

**2021/2**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**FACULDADE DE VETERINÁRIA**  
**CURSO DE ESPECIALIZAÇÃO EM CLÍNICA MÉDICA DE FELINOS**  
**DOMÉSTICOS**

**MARCADORES MOLECULARES E SUA UTILIZAÇÃO PARA DIAGNÓSTICO DO**  
**VÍRUS DA PERITONITE INFECCIOSA FELINA - REVISÃO DE LITERATURA**

**Autora: Ana Carolina de Assis Scariot**

**Trabalho apresentado à Faculdade de Veterinária como requisito parcial para a obtenção do grau de Especialista em Clínica Médica de Felinos Domésticos.**

**Orientadora: Prof. Dra. Ana Cristina Pacheco De Araujo**

**Coorientadora: Prof. Dra. Silvia de Oliveira Hübner**

**PORTO ALEGRE**

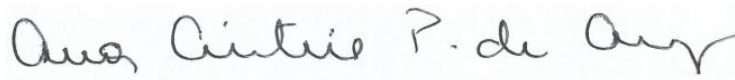
**2021/2**

ANA CAROLINA DE ASSIS SCARIOT

**MARCADORES MOLECULARES E SUA UTILIZAÇÃO PARA DIAGNÓSTICO DO  
VÍRUS DA PERITONITE INFECCIOSA FELINA - REVISÃO DE LITERATURA**

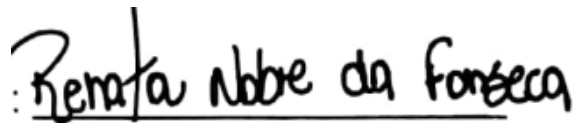
Aprovada em

APROVADO POR:



---

Prof. Dra. Ana Cristina Pacheco De Araujo



---

MSc. M.V. Renata Nobre da Fonseca



---

Prof. Dra. Francielle Liz Monteiro

*A todos os gatos que passaram pela minha vida,  
em especial ao primeiro, T.L.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, por todo amor, paciência, incentivo e também por abrirem mão de alguns de seus sonhos para realizar os meus. À minha família por me apoiar, principalmente nos momentos mais difíceis. Às minhas amigas por me ajudarem incondicionalmente ao longo dessa jornada. Ao meu falecido avô, pelo exemplo e por me motivar a ser uma pessoa melhor a cada dia, que não teve a oportunidade de amar um gato, mas que com certeza se tivesse vivido mais, teria conhecido essa sensação.

À minha orientadora, Prof.<sup>a</sup> Dra. Ana Cristina Pacheco de Araujo, que mesmo à distância me acolheu e acompanhou do início ao fim. À minha coorientadora, Prof.<sup>a</sup> Dra. Sílvia de Oliveira Hübner, pela compreensão e dedicação. As quais, sempre terei admiração e gratidão imensuráveis. A todos os professores que fizeram parte da minha formação, por todos os ensinamentos.

Ao Joey, meu pequeno e maior amor, o motivo pelo qual ingressei na Medicina Veterinária. Também ao meu companheiro de vida, por compartilhar tantos momentos importantes ao meu lado.

E, principalmente, a todos os pacientes felinos que acompanhei, por me ensinarem que a Medicina Felina não envolve apenas ciência, mas também, carinho, compreensão e respeitar a individualidade de cada ser como sendo único.

## RESUMO

O coronavírus felino (FCoV) é um vírus altamente contagioso que infecta felinos domésticos e selvagens no mundo todo, sendo considerada frequente nas populações de gatos domésticos. O FCoV ocorre em dois biótipos distintos, conforme a patogenicidade: o coronavírus entérico felino (FECV) e o vírus da peritonite infecciosa felina (FIPV) que causa uma doença extremamente grave e, geralmente fatal, a Peritonite Infecciosa Felina (PIF). Atualmente ainda não há informações suficientes para a completa compreensão do desenvolvimento da PIF, entretanto acredita-se que determinadas alterações genéticas no genoma viral possam ser responsáveis por causar uma mutação do FECV para o FIPV. Além disso, fatores como a resposta imunológica do hospedeiro também são importantes para o desenvolvimento da doença. Apesar de muitas pesquisas buscarem entender esta doença e também melhorar os métodos de diagnósticos, a peritonite infecciosa felina continua sendo uma doença intrigante e de difícil diagnóstico. Muitas pesquisas buscam entender esta doença e também melhorar os métodos de diagnósticos. Dessa maneira, pretende-se com a presente revisão bibliográfica, elucidar o potencial de marcadores moleculares virais e do hospedeiro no desenvolvimento da peritonite infecciosa felina. Bem como, a utilização desses marcadores moleculares, através de técnicas de biologia molecular, para o diagnóstico da enfermidade.

**Palavras-chaves:** biologia molecular, coronavírus felino, virologia.

### ***ABSTRACT***

Feline coronavirus (FCoV) is a highly contagious virus that infects domestic and wild felines worldwide, and is considered frequent in domestic cat populations. FCoV occurs in two distinct biotypes, depending on pathogenicity: the feline enteric coronavirus (FECV) and the feline infectious peritonitis virus (FIPV), which causes an extremely serious and usually fatal disease, Feline Infectious Peritonitis (FIP). Currently, there are not enough information to fully understand the development of FIP, however it is believed that certain genetic alterations in the viral genome may be responsible for causing a mutation from FECV to FIPV. Furthermore, factors such as the host's immune response are also important for the development of the disease. Although many researches seek to understand this disease and also improve diagnostic methods, feline infectious peritonitis remains an intriguing and difficult-to-diagnose disease. Many researches seek to understand this disease and also improve diagnostic methods. Thus, the present literature review intends to elucidate the potential of viral and host molecular markers in the development of feline infectious peritonitis. As well as the use of these molecular markers, through molecular biology techniques, for the diagnosis of the disease.

**Keywords:** feline coronavirus, molecular biology, virology.

## LISTA DE ABREVIACÕES

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

EDTA – Ácido Dietilamino Tetra Acético

ELISA – Ensaio Imunoenzimático

EUA – Estados Unidos da América

fAPN – Aminopeptidase-N

FCoV – Coronavírus Felino

FECV – Coronavírus Entérico Felino

FeLV –Leucemia Viral Felina

FIPV – Vírus da Peritonite Infecciosa Felina

FIV – Imunodeficiência Viral Felina

GWAS – Estudos de Associação Genômica Ampla

IHC - Imuno-histoquímica

IMC – Imunidade Celular Mediada Por Células

MHC – Complexo Principal de Histocompatibilidade

mRNA – RNA Mensageiro

ORF- Fase Aberta de Leitura

PIF – Peritonite Infecciosa Felina

PCR – Reação em Cadeia de Polimerase

RT-qPCR – Reação em Cadeia de Polimerase por Transcrição Reversa em Tempo Real

RNA – Ácido Ribonucleico

RT-PCR – Reação em Cadeia de Polimerase por Transcrição Reversa

SNP – Polimorfismo de Nucleotídeo Único

SNP – Polimorfismo de Nucleotídeo Único

TNF  $\alpha$  – Fator de Necrose Tumoral Alfa



## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	9
<b>2. MARCADORES MOLECULARES</b> .....	11
<b>3 PERITONITE INFECCIOSA FELINA</b> .....	12
<b>3.1 Etiologia</b> .....	<b>12</b>
3.1.1 Biótipos .....	12
3.1.2 Sorotipos.....	12
<b>3.2 Epidemiologia</b> .....	<b>13</b>
<b>3.3 Patogenia</b> .....	<b>14</b>
<b>3.4 Sinais e parâmetros clínicos</b> .....	<b>15</b>
<b>3.5 Diagnóstico</b> .....	<b>16</b>
3.5.1 Anticorpos.....	17
3.5.2 Relação albumina:globulina.....	17
3.5.3 Teste de Rivalta .....	17
3.5.4 Imuno-histoquímica .....	18
3.5.5 Reação em cadeia de polimerase .....	18
3.5.6 Diagnóstico diferencial.....	19
<b>3.6 Tratamento</b> .....	<b>19</b>
<b>3.7 Prevenção</b> .....	<b>21</b>
<b>3.8 Prognóstico</b> .....	<b>21</b>
<b>4. MARCADORES MOLECULARES VIRAIS</b> .....	<b>22</b>
<b>4.1 Estrutura viral</b> .....	<b>22</b>
4.1.1 Glicoproteína S.....	23
4.1.2 Genes.....	25
4.1.3 Aminoácidos .....	26
<b>5. MARCADORES MOLECULARES DO HOSPEDEIRO</b> .....	<b>27</b>
<b>5.1 Marcadores imunológicos</b> .....	<b>27</b>
<b>5.2 Genes do hospedeiro</b> .....	<b>28</b>
<b>5.3 Predisposição racial</b> .....	<b>28</b>
<b>6. CONCLUSÃO</b> .....	<b>30</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>31</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Marcadores moleculares, também chamados marcadores genéticos, são sequências de ácido desoxirribonucleico (DNA) com localizações físicas conhecidas dentro do genoma. Durante a última década, inovações tecnológicas permitiram, não somente, a identificação de novos marcadores moleculares virais e do hospedeiro que estão associados a infecções virais e resposta a drogas antivirais, revolucionando fortemente a compreensão sobre infecções virais e o diagnóstico viral (SCAGNOLARI *et al.*, 2017). A genética representa um dos fatores que contribuem para as variações observadas no curso das infecções causadas por coronavírus (BREST *et al.*, 2020). A utilização de tecnologias moleculares mais rápida, precisas e acessíveis podem ser úteis com ênfase particular em técnicas emergentes (como sequenciamento genético de última geração, PCR em tempo real (qPCR), estudos de associação genômica ampla (GWAS) e diagnóstico sindrômico) para simplificar o diagnóstico viral (SCAGNOLARI *et al.*, 2017). Estes marcadores podem ser identificados e mapeados utilizando uma grande variedade e combinação de técnicas quantitativas, clássicas e de biologia molecular (LOWE; BRUCE, 2019).

Segundo dados do Instituto Pet Brasil (2018), com base nas pesquisas do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), o Brasil possui uma população de 23,9 milhões de gatos, sendo o quarto país com a maior população de felinos domésticos do mundo. O crescente aumento na população dessa espécie no Brasil (ABINPET, 2019) demonstra a importância e a necessidade de compreender as suas particularidades, como comportamento, doenças, diagnósticos e tratamentos.

O coronavírus felino (FCoV) é um agente viral complexo que ocorre em dois biótipos distintos, conforme a patogenicidade: o coronavírus entérico felino (FECV) e o vírus da peritonite infecciosa felina (FIPV). O FIPV causa uma importante doença infecciosa em gatos domésticos e silvestres, a Peritonite Infecciosa Felina (PIF), que é uma enfermidade sistêmica, progressiva e, muitas vezes, fatal (MASTERS; PERLMAN, 2013). O FCoV é altamente contagioso e a infecção é comum nas populações de felinos domésticos em todo o mundo. Os anticorpos contra o FCoV estão presentes em aproximadamente 80 a 90% dos gatos que vivem em abrigos e 30 a 50% dos gatos domiciliados (PEDERSEN *et al.*, 2009; PEDERSEN, 2014). O FCoV é excretado nas fezes, o que propicia sua transmissão horizontal através da via fecal-oral. Geralmente os filhotes são infectados com o FECV no período neonatal, através do vírus presente nas fezes da mãe (ADDIE *et al.*, 2009; PEDERSEN, 2014).

A ocorrência da PIF é mais comum em gatos jovens e cerca de 5 a 10% dos gatos soropositivos para FCoV podem apresentar sinais clínicos da doença (PEDERSEN *et al.*, 2009). Os sinais clínicos da PIF são muito variáveis pois, devido à disseminação sistêmica e o desenvolvimento de vasculite imunomediada, diversos órgãos podem estar envolvidos, como fígado, rins, pâncreas, olhos e sistema nervoso central. A PIF pode apresentar duas formas, sendo a forma efusiva (mais comum), caracterizada por efusões no abdômen, tórax e/ou pericárdio (HARTMANN, 2005; PEDERSEN *et al.*, 2009), e a forma não efusiva da doença na qual não há presença de efusão nas cavidades corporais, caracterizada pela presença de granulomas em órgãos (HARTMANN, 2005).

O diagnóstico definitivo da PIF *ante mortem* é desafiador, especialmente em gatos sem presença de efusão, pois os testes de diagnóstico existentes não conseguem diferenciar entre o FECV e o FIPV (PEDERSEN *et al.*, 2009). Nesse sentido, o diagnóstico da PIF é baseado no conjunto de diversas análises, testes clínicos e laboratoriais, considerando a idade do gato, origem, sinais clínicos e exame físico (PEDERSEN, 2014). Através de estudos de biologia molecular em gatos, observou-se que determinadas regiões e diversos genes são candidatos à associação ao desenvolvimento da PIF (WANG *et al.*, 2013; PEDERSEN, 2014).

Objetiva-se, através da presente revisão bibliográfica, discutir e ampliar o conhecimento a cerca de potenciais marcadores moleculares virais e do hospedeiro no desenvolvimento da PIF. Assim como, a utilização de marcadores moleculares, através de técnicas de biologia molecular para o diagnóstico dessa enfermidade.

## 2. MARCADORES MOLECULARES

Marcadores moleculares são sequências de DNA com localizações físicas conhecidas dentro do genoma. Estes marcadores apresentam pontos de variação que podem ser utilizados para identificar indivíduos e espécies, assim como, podem ser usados para associar determinadas doenças a genes através de ligação genética com genes próximos (BENAVIDES; GUÉNET, 2012). Estes marcadores moleculares podem ser identificados e mapeados utilizando uma grande variedade e, muitas vezes, uma combinação de técnicas genéticas quantitativas, clássicas e de biologia molecular (LOWE; BRUCE; 2019). Os genes estão no centro dos debates sobre a natureza da hereditariedade, atribuições causais relativas ao desenvolvimento e funcionamento dos organismos e a natureza da evolução (RHEINBERGER; MÜLLER-WILLE, 2017).

Diversos marcadores e tecnologias moleculares foram desenvolvidas e aplicadas para a análise de genoma, avaliando predominantemente as diferenças em espécies, associação de regiões genômicas com características hereditárias e a predisposição a infecções e doenças. No entanto, devido ao custo relativamente alto associado às pesquisas de marcadores moleculares, esses métodos foram aplicados somente a um número limitado de espécies, predominantemente em países desenvolvidos. Mesmo nestas situações, a aplicação dos marcadores tendem a se concentrar em um pequeno número de características ou regiões genômicas (DURAN *et al.*, 2009).

Durante a última década, avanços tecnológicos permitiram a identificação de novos marcadores genéticos virais e do hospedeiro associados a infecções virais e resposta a drogas antivirais. Além disso, também revolucionaram fortemente a compreensão sobre infecções e diagnóstico viral (SCAGNOLARI *et al.*, 2017). A genética representa um dos fatores que contribuem para as variações observadas no curso das infecções causadas por coronavírus (BREST *et al.*, 2020). Através de estudos em gatos domésticos, observou-se que determinadas regiões e diversos genes são candidatos a associação à PIF (WANG *et al.*, 2013; PEDERSEN, 2014).

### 3 PERITONITE INFECCIOSA FELINA

#### 3.1 Etiologia

O coronavírus felino (FCoV) infecta membros da família *Felidae*, incluindo felinos domésticos e selvagens, seja em cativeiro ou vida livre. O FCoV pertence à família *Coronaviridae*, à ordem *Nidovirales*, subfamília *Orthocoronavirinae*, gênero *Alphacoronavirus* e espécie *Alphacoronavirus*, a qual também pertencem o coronavírus canino (CCoV) e o coronavírus da gastrite transmissível dos suínos (TGEV) (WALKER *et al.*; 2020). Esta classificação é baseada nas sequências completas dos genomas e no gene ORF1ab conservado (JAIMES *et al.*, 2020).

Os coronavírus, assim como outros vírus RNA, têm a característica de sofrer mutações frequentes no seu genoma em função dos erros cometidos pela RNA polimerase. O surgimento de cepas mais virulentas do coronavírus felino entérico (FECV), responsáveis pela Peritonite Infecciosa Felina (PIF), também parece estar relacionado com deleções do genoma. A alta frequência de recombinação é outro aspecto importante que pode ter grande importância na patogenia dessa doença. Segundo estudos, o FCoV tipo II pode ter se originado da recombinação entre o vírus felino (FCoV tipo I) e o coronavírus canino (CCoV). (LOVATO; DEZENGRINI, 2017).

##### 3.1.1 Biótipos

O FCoV ocorre em dois biótipos distintos, de acordo com a sua patogenicidade: o coronavírus entérico felino (FECV) e o vírus da peritonite infecciosa felina (FIPV). A principal hipótese é que determinadas alterações genéticas no genoma viral possam ser responsáveis por causar uma mutação interna no FECV, gerando o FIPV, mas ainda não existem evidências suficientes para compreender completamente como ocorre essa transformação (LOVATO; DEZENGRINI, 2017).

Uma hipótese alternativa à teoria da mutação de FECV para FIPV, é que existam cepas de FCoV virulentas e avirulentas, sugerindo que cepas benignas ou patogênicas distintas de FECV circulem nas populações de gatos domésticos e que a doença se desenvolveria apenas nos gatos infectados pelas cepas virulentas (JAIMES *et al.*, 2020).

##### 3.1.2 Sorotipos

Com base em diferenças antigênicas existentes entre os diferentes FCoVs, considera-se que existam dois sorotipos distintos: sorotipo I e II. A designação de dois sorotipos diferentes

foi baseada inicialmente em diferenças antigênicas encontradas através da caracterização com anticorpos monoclonais específicos para a proteína S (de espículas) de cepas de FCoV. Ambos os sorotipos existem nos dois biótipos, FECV e FIPV (LOVATO; DEZENGRINI, 2017).

A maioria das cepas encontradas em estudos de campo são FCoV tipo I, responsáveis por oitenta a noventa por cento das infecções naturais por FCoV (ADDIE *et al.*, 2003). Os FCoVs tipo II estão mais intimamente relacionados antígenicamente ao coronavírus entérico canino. Segundo Herrewegh *et al.* (1998), provavelmente o FCoV tipo II surgiu através de uma recombinação homóloga entre o FCoV tipo I e o coronavírus canino (CCoV). Como resultado desta recombinação, o gene *spike* (S) e regiões adjacentes do FCoV tipo I foram substituídas por parte correspondente do genoma do CCoV. A presença de diferença no gene S é refletida por diferentes características de crescimento *in vitro*. Enquanto o FCoV tipo II pode ser facilmente propagado em culturas celulares, os isolados de FCoV tipo I dificilmente crescem em cultivos celulares. Consequentemente, a maioria das investigações nos últimos anos se concentraram no FCoV tipo II (DYE; SIDDELL, 2007) embora sua prevalência seja muito menor que o FCoV tipo I (TEKES *et al.*, 2008). A aminopeptidase N felina (fAPN) foi identificada como um receptor celular para o FCoV tipo II, enquanto o receptor celular para o FCoV tipo I ainda não foi identificado (JAIMES *et al.*, 2020).

### 3.2 Epidemiologia

O FCoV é altamente contagioso e a infecção é comum nas populações de felinos domésticos em todo o mundo. Os anticorpos estão presentes em cerca de 80 a 90% dos gatos que vivem em abrigos e em 30 a 50% dos gatos domiciliados (PEDERSEN, 2014). No Brasil ainda são escassos os dados sobre ocorrência e distribuição do FCoV na população felina (LOVATO; DEZENGRINI, 2017). O FCoV é excretado nas fezes, o que propicia sua transmissão horizontal através da via fecal-oral, enquanto outros modos de transmissão são bastante raros (PEDERSEN *et al.*, 2016). Geralmente, os filhotes são infectados com o FECV no período neonatal, provavelmente através do vírus presente nas fezes da mãe. A PIF ocorre principalmente em gatos jovens, com menos três anos de idade (ADDIE *et al.*, 2009; PEDERSEN, 2014).

A excreção do vírus nas fezes começa em média uma semana após a exposição. O estágio primário da infecção após a exposição ao FCoV dura cerca de sete a 18 meses. Durante este período, os níveis mais elevados de excreção viral pelas fezes são observados.

Os gatos podem excretar FECV com baixa, moderada ou alta frequência. Geralmente a excreção persiste por quatro a seis meses, seguida de excreção intermitente ou eventual *clearance* (BUBENIKOVA *et al.*, 2020).

Uma grande proporção de gatos em ambientes com múltiplos gatos sofre ciclos de infecção e excreção do vírus, recuperação e reinfecção, excretando o vírus nas fezes de forma intermitente. Segundo estudos, mais de 80% dos gatos estudados que viviam em gatis excretavam FECV nas fezes enquanto estavam clinicamente assintomáticos. Dessa forma, é bem aceito que gatos persistentemente assintomáticos que excretam o vírus nas fezes representam a fonte mais importante de infecção (BUBENIKOVA *et al.*, 2020).

### 3.3 Patogenia

O FECV difere do FIPV principalmente por sua replicação ser limitada ao epitélio intestinal, o que resulta, geralmente, em infecção assintomática ou diarreia auto limitante. Embora o FECV possa passar por uma fase de viremia sistêmica, associada a monócitos (WHITTAKER, 2015), essa fase é curta e não produz uma disseminação sistêmica como o FIPV.

O FIPV replica-se com alta eficiência em monócitos e macrófagos, o que permite a disseminação sistêmica e o desenvolvimento da PIF (DEWERCHIN; CORNELISSE; NAUWYNCK, 2005; ROTTIER *et al.*, 2005). A disseminação linfática permite uma viremia com novas replicações e acúmulos no endotélio das veias e capilares, o qual induz uma resposta imune, objetivando eliminar o vírus. Este processo resulta em resposta inflamatória intensa e, posteriormente, em vasculite piogranulomatosa sistêmica, na qual macrófagos infectados e complexos antígeno-anticorpo são depositados no endotélio capilar estabelecendo uma inflamação perivascular e produzindo uma efusão peritoneal e pleural, de intensidade variada, determinada pela resposta imunológica do hospedeiro (ECHETO *et al.*, 2005).

Não existem evidências suficientes para compreender totalmente como ocorre a transformação do FECV para o FIPV, entretanto, a principal teoria é de que ocorreria uma ou mais mutações em genes específicos. Apesar de estar determinado os possíveis genes de interesse, ainda não foi esclarecido quais os fatores responsáveis pelas mutações (ADDIE *et al.*, 2003). Evidências apontam a teoria de mutação interna, que propõe que o FIPV evoluiu do FECV por mutação ocorrida em gatos infectados (CHANG *et al.*, 2010; PEDERSEN, 2014) e que a PIF se manifesta clinicamente devido à predisposição genética do hospedeiro e fatores ambientais (PEDERSEN *et al.*, 2009; WANG *et al.*, 2013).

Devido à falta de eliminação viral em estudos realizados em gatos com PIF, acredita-se que o FIPV esteja contido apenas nos tecidos doentes e que não é transmitido por contato entre gatos em circunstâncias naturais. Embora a excreção de FIPV nas fezes tenha sido detectada em condições experimentais de infecção (BANK-WOLF *et al.*, 2014; THIEL; THIEL; TEKES, 2015), o mesmo não foi observado em infecções naturais, sendo apenas o FECV transmitido pela via fecal-oral (PEDERSEN *et al.*, 2009; CHANG *et al.*, 2010).

Os fatores do hospedeiro que contribuem para a ocorrência da PIF incluem as características imunológicas, determinadas pela variabilidade de moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC), o tipo de citocinas secretadas em resposta à infecção e outras características da resposta imune mediada por células (CMI). A maioria dos gatos que desenvolve a PIF consegue montar uma resposta humoral significativa ao vírus, entretanto, não apresenta eficaz resposta imune mediada por células (PEDERSEN, 2014). Estresse e coinfeções, como por exemplo, pelos vírus da leucemia felina (FELV) e o vírus da imunodeficiência felina (FIV), têm sido descritos como possíveis fatores que aumentam o risco de desenvolvimento da PIF e o desencadeamento da progressão da doença (PEDERSEN *et al.*, 2009).

O curso da doença entre o início dos sinais clínicos e a morte é variável, mas é geralmente mais curto em gatos mais jovens e em gatos com a forma efusiva da doença do que em gatos mais velhos e/ou com a forma não efusiva da doença. Alguns gatos com a forma efusiva da PIF podem sobreviver muitos meses (PEDERSEN, 2014).

### **3.4 Sinais e parâmetros clínicos**

A enfermidade pode apresentar uma grande variedade de sinais clínicos, geralmente inespecíficos, como anorexia, letargia, perda de peso, febre, alterações neurológicas e oculares (GIORI *et al.* 2011; RIEMER *et al.*, 2016). Devido à disseminação sistêmica e ao desenvolvimento de vasculite imunomediada, diversos órgãos podem estar envolvidos, como fígado, rins, pâncreas, olhos e sistema nervoso central (PEDERSEN, 2014).

Da mesma forma, a presença de anormalidades nos parâmetros hematológicos ou bioquímicos não é específica. Anemia arregenerativa ou regenerativa, microcitose com ou sem anemia, linfopenia, neutrofilia e trombocitopenia são achados hematológicos comuns em gatos com PIF. Na bioquímica sérica pode ser visualizada azotemia, aumento de enzimas hepáticas, hiperproteinemia, hiperglobulinemia, associada ou não à hipoalbuminemia ou hiperproteinemia (RIEMER *et al.*, 2016). O grau de linfopenia pode auxiliar na caracterização



da progressão da doença. O maior grau e a precocidade da linfopenia, parecem estar associados ao aumento da gravidade e da velocidade de progressão da doença. Especificamente, a secreção de fator tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) pode resultar nesta alteração levando à apoptose de linfócitos (TAKANO *et al.*, 2007).

A maioria dos gatos com PIF apresentam bilirrubinemia e bilirrubinúria. Os gatos possuem um decréscimo na glucuronidação, limitando, assim, a taxa de metabolização da bilirrubina e de seus derivados. Este aumento nos níveis de bilirrubina é devido à destruição de glóbulos vermelhos e acúmulo de hemoglobina (PEDERSEN, 2014).

A PIF na forma efusiva pode resultar em derrames pleurais, abdominais e até pericárdicos. A forma não efusiva, também chamada de PIF seca, não apresenta presença de efusão nas cavidades corporais e é caracterizada pela presença de granulomas em órgãos (PEDERSEN *et al.*, 2009). As efusões de PIF geralmente são claras a moderadamente turvas, viscosas (com consistência de clara de ovo) e com alto teor de proteína (próximo ao nível sérico ou superior). Os fluidos de PIF são caracterizados com frequência como transudatos modificados ou exsudatos não sépticos, com base na ausência ou escassa presença de celularidade (ZOIA *et al.*, 2009). As principais células encontradas, quando presentes, nas efusões incluem macrófagos, neutrófilos e uma baixa proporção de linfócitos. Derrames de PIF geralmente não possuem hemorragia aparente, com exceção de alguns derrames pleurais. No entanto, eles frequentemente contêm números reduzidos de hemácias e marcadores de fibrina visíveis (PEDERSEN, 2014). Normalmente há presença de proteína total elevada e, quase sempre, uma proporção diminuída de albumina para globulina (A:G), refletindo o aumento de globulinas (ADDIE *et al.*, 2009).

### 3.5 Diagnóstico

O diagnóstico definitivo da PIF *ante mortem* é desafiador, especialmente em gatos sem presença de efusão, pois os testes de diagnóstico existentes não conseguem diferenciar entre o FECV e o FIPV. Em adição, as dificuldades em diagnosticar de forma definitiva a PIF são decorrentes dos sinais clínicos não específicos, da ausência de alterações patognomônicas nos exames de patologia clínica ou imagem (PALTRINIERI *et al.*, 2001), além da baixa sensibilidade e especificidade dos testes rotineiramente utilizados (HARTMANN *et al.*, 2003). O diagnóstico da PIF é baseado no conjunto de diversas análises, testes clínicos e laboratoriais, considerando a idade do gato, origem, sinais clínicos e exame físico (PEDERSEN, 2014).

O diagnóstico de PIF é possível, mas os tutores, muitas vezes, optam por não buscar testes diagnósticos definitivos. Além disso, inúmeros tutores de gatos recusam a realização de exames de necropsia, que pode ser outra razão pela qual faltam diagnósticos definitivos para a enfermidade (FISCHER; SAUTER-LOUIS; HARTMANN, 2012).

### 3.5.1 Anticorpos

A infecção por FCoV leva à produção de anticorpos específicos detectáveis a partir de sete dias da infecção. Os anticorpos podem ser identificados por imunofluorescência, neutralização do vírus, ensaios de imunoadsorção enzimática (ELISA) ou imunocromatografia (PRATELLI, 2008; ADDIE *et al.*, 2009). Entretanto, os testes de anticorpos não diferenciam anticorpos contra FECV e FIPV, sendo assim, nem mesmo a presença de altos títulos de anticorpos no sangue pode ser utilizada como indicador específico para a PIF (PEDERSEN, 2009). Contudo, estudos demonstram com frequência uma presença superior de anticorpos detectados nas efusões em comparação ao sangue ou soro correspondente em gatos com PIF (PALTRINIERE *et al.*, 2001).

### 3.5.2 Relação albumina:globulina

A relação albumina:globulina (A:G) foi inferida como um preditor útil da PIF, pois geralmente todas as frações de globulinas,  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ , estão aumentadas na doença. No entanto, o valor preditivo da razão A: G é muito dependente da presença de outras anormalidades clínicas, físicas ou laboratoriais associadas à doença (PEDERSEN, 2014). A relação entre albumina e globulina menor ou igual a 0,4 indica probabilidade de ocorrência de PIF, se for maior que 0,8 é considerado como um valor preditivo negativo para a enfermidade. Concluiu-se que, um resultado com baixa relação de A:G é útil para descartar a PIF, mas não é útil para fazer um diagnóstico positivo de PIF (JEFFERY; DEITZ; HOSTETTER, 2012).

### 3.5.3 Teste de Rivalta

O teste de Rivalta é amplamente utilizado para diagnosticar exsudatos associadas à PIF (HARTMANN *et al.*, 2003). Valores abaixo de 0,86 são considerados como preditivos positivos para PIF, enquanto valores superiores a 0,97 são considerados valores preditivos negativos para a enfermidade. Segundo um estudo com 497 efusões de gatos, o teste de Rivalta teve uma sensibilidade de 91% e uma especificidade de 66%, um valor preditivo positivo de 58% e um valor preditivo negativo de 93% (FISCHER; SAUTER-LOUIS; HARTMANN, 2012). A positividade do teste está relacionada à alta concentração total de proteínas, em conjunto com um alto teor de fibrinogênio e de mediadores inflamatórios na

efusão (PEDERSEN, 2014). Contudo, a leitura do teste é subjetiva e, portanto, os resultados também dependem do avaliador, e da presença de efusão, o que não ocorre na PIF seca (PEDERSEN, 2014). Além disso, existe a possibilidade de obtenção de resultados falso-positivos nos casos de linfomas e de peritonites bacterianas (FISCHER; SAUTER-LOUIS; HARTMANN, 2012; PEDERSEN, 2014).

#### 3.5.4 Imuno-histoquímica

A detecção de antígenos do FCoV por imuno-histoquímica (IHC) em macrófagos nos tecidos e órgãos permanece sendo o exame mais efetivo para o diagnóstico de PIF (GIORI *et al.*, 2011). Segundo estudos, apenas o FIPV replicava-se em macrófagos de maneira que permita a detecção de antígeno intracelular por métodos imunológicos (ADDIE *et al.*, 2009). Entretanto, estudos mais recentes detectaram imunocoloração positiva também em gatos que não apresentavam sinais clínicos da PIF, dessa forma, é possível que o FECV também possa ser detectada através de métodos de coloração imunológica intracelularmente em macrófagos (FELTEN *et al.*, 2017).

A especificidade da IHC é estimada em cerca de 100% em órgãos que possuem lesões histológicas compatíveis com PIF, portanto, é recomendado utilizar a IHC para confirmar o diagnóstico da doença (STRANIERI *et al.*, 2020). Os órgãos analisados geralmente são: baço, fígado, linfonodos mesentéricos, rins, intestino grosso e delgado e pulmão, contudo, essa análise geralmente só é possível através de biópsias incisionais ou em exames de necropsia (EMMLER *et al.*, 2020). Ressalta-se a importância da combinação dos ensaios clínicos com o histórico, anamnese e sinais clínicos do animal para um diagnóstico mais fidedigno.

#### 3.5.5 Reação em cadeia de polimerase

A reação em cadeia de polimerase em tempo real (qPCR) revolucionou a virologia diagnóstica devido a sua aplicação notável principalmente na detecção qualitativa de vírus em amostras biológicas, medições quantitativas da carga viral, identificação das variantes virais e detecção de polimorfismo em genes do hospedeiro relacionados ao mecanismo de defesa contra vírus (BREST *et al.*, 2020).

A detecção através de reação em cadeia de polimerase por transcrição reversa (RT-PCR) é provavelmente o modo mais comum de identificação de vírus atualmente e tem sido utilizada em vários estudos para investigar a epidemiologia dos FCoVs, para avaliar a prevalência de sorotipos de FCoV, e para amplificar e obter RNA viral para sequenciamento e detecção de possíveis mutações relacionadas à virulência (STRANIERI *et al.*, 2020).

Entretanto, o FCoV pode ser frequentemente detectado no sangue de gatos sem PIF e, inversamente, na forma não efusiva da doença, a detecção de vírus no sangue pode ser difícil (MELI *et al.*, 2004). A avaliação da carga viral no sangue por si só também não é definitiva, pois gatos de domicílios onde a infecção por FCoV está ocorrendo com frequência, também podem ter altos títulos virais (SIMONS *et al.*, 2005).

A detecção de RNA mensageiro (mRNA) de genes virais se correlaciona com o grau de replicação do vírus. Há pelo menos um ensaio comercial que quantifica a quantidade de mRNA viral, especificamente da proteína da membrana (KENNEDY, 2020). Encontrar quantidades significativas de mRNA viral no sangue, derrame, ou tecido de gatos sintomáticos indica a presença do FIPV e pode ser um indicativo de PIF (SIMONS *et al.*, 2005). Em um estudo, 46% (301/651) dos casos com suspeita clínica de PIF e 93% (75/81) dos animais positivos para PIF na avaliação histopatológica foram mRNA positivos (HORA, 2014). A carga viral no diagnóstico tem emergido como um indicador importante da gravidade da doença. Entretanto, ressalta-se que os resultados devem ser sempre confirmados com imuno-histoquímica (STRANIERI *et al.*, 2020).

O teste por RT-PCR em tempo real (RT-qPCR) é uma alternativa para detectar excreção viral, assim como, quantificar o nível e a frequência da excreção nas fezes, identificando possíveis gatos transmissores assintomáticos. A RT-qPCR está disponível comercialmente e o teste é altamente precisa se realizada de maneira apropriada. Testes moleculares são ensaios extremamente úteis, porque revelam a disseminação sistêmica e a presença do vírus em locais extra intestinais (KENEDY, 2020).

### 3.5.6 Diagnóstico diferencial

Como a PIF é uma doença que cursa com sinais clínicos inespecíficos, é necessário que seja realizado o diagnóstico diferencial e que outras doenças sejam descartadas, como a peritonite séptica, toxoplasmose, piotórax, colangite, neoplasias (principalmente linfoma esplênico, hepático ou alimentar), pancreatite, micoses sistêmicas, retrovíroses, glomerulonefrite e pneumonia bacteriana (ECHETO *et al.*, 2005; ADDIE, 2012).

## 3.6 Tratamento

Tratamentos para a PIF em desenvolvimento envolvem impedir a inibição da replicação do vírus e modular a resposta imunológica. A utilização de drogas antivirais que inibem

especificamente a replicação viral, o uso do interferon e a estimulação do sistema imunológico de maneira não específica, apresentam resultados muito variáveis (PEDERSEN, 2014). Estudos recentes que descrevem o papel de análogos de nucleotídeos e inibidores de protease, e seu potencial como um o tratamento para a infecção por FCoV, aumentam a possibilidade de diminuir a letalidade da doença (MURPHY *et al.*, 2018).

O tratamento de suporte visa melhorar a qualidade de vida e, possivelmente o tempo de sobrevivência dos animais, e consiste no fortalecimento nutricional através de técnicas de alimentação como sonda nasogástricas, de esofagostomia ou de gastrotomia, fluidoterapia parenteral, remoção de líquidos efusivos, transfusão sanguínea quando há anemia não regenerativa severa e também antimicrobianos quando há suspeita de infecções bacterianas secundárias (SHERDING, 2003).

Os corticosteroides e as drogas citotóxicas, por seus efeitos anti-inflamatórios e imunossupressores, se destinam a controlar as reações inflamatórias imunomediadas secundárias que ocorrem na doença. Em contrapartida, podem afetar adversamente a imunidade celular, potencializando a infecção viral, além dos efeitos colaterais, como anorexia e supressão da medula óssea (SHERDING, 2003).

Os coronavírus possuem proteases, enzimas necessárias para à clivagem de proteínas e necessárias para a maturação da estrutura viral, dessa forma, são alvos importantes para o desenvolvimento de drogas antivirais. Esses compostos foram sintetizados e testados e apresentaram sucesso ao inibir a atividade da protease do vírus tanto em estudos *in vitro* quanto *in vivo* (KENNEDY, 2020).

O análogo de nucleotídeo GC376 inibiu o desenvolvimento da PIF em gatos sintomáticos e levou à remissão em gatos infectados com FIPV (PEDERSEN *et al.*, 2016). O curso mínimo de terapia com GC376 foi considerado de doze semanas. Em estudo, treze dos vinte gatos com PIF adquirida naturalmente, apresentaram recorrência da doença, mas sete sobreviveram. Os efeitos colaterais incluíram dor e inflamação subcutânea no local da injeção e perda ou retenção de dentes decíduos e atraso no desenvolvimento dos dentes adultos. O desenvolvimento de resistência viral ao medicamento não foi observado (KENNEDY, 2020).

Outro análogo de nucleotídeo, o GS5734, e sua droga original, GS441524, desenvolvido para tratar infecções virais humanas, foram testados quanto à eficácia contra PIF. GS441524 foi avaliado *in vitro* em células felinas e, posteriormente, *in vivo em* gatos de laboratório. A

função desse análogo de nucleotídeo é substituir a adenosina, encerrando assim a replicação do vírus (ADDIE *et al.*, 2020). Em estudo com 26 gatos infectados naturalmente, o medicamento foi testado por um período de doze semanas. Dezoito gatos permaneceram saudáveis, enquanto cinco gatos tiveram recaídas que foram tratadas através de uma nova rodada de tratamento com dosagem mais alta e entraram em remissão. Desta forma, 25 gatos sobreviveram até o final do tratamento (PEDERSEN *et al.*, 2019). O análogo de nucleotídeo em questão também demonstrou eficácia por via oral, ao contrário das drogas antivirais anteriormente descritas, que devem ser administradas por via injetável, muitas vezes causando respostas inflamatórias graves (PEDERSEN *et al.*, 2019), motivo de preocupação, visto o risco de desenvolvimento de sarcoma de aplicação felino (ADDIE *et al.*, 2020). Estes medicamentos apresentam respostas promissoras no tratamento da PIF, mas devido ao número reduzido de estudos disponíveis, ainda são necessárias pesquisas mais abrangentes (KENNEDY, 2020). Esses medicamentos não estão disponíveis comercialmente no Brasil até o momento.

### **3.7 Prevenção**

A vacina intranasal para PIF é licenciada em alguns países, mas possui eficácia duvidosa. A recomendação é a primeira dose ser administrada quando os gatos têm cerca de 16 semanas. Contudo, na maioria dos casos, os gatos são infectados quando os anticorpos de origem materna diminuem, entre cinco e sete semanas de idade, pelo contato com o vírus presente em fezes de outros gatos (ADDIE *et al.*, 2003; PEDERSEN *et al.*, 2004). Além disso, a vacina não está disponível comercialmente no Brasil.

Dessa forma, a principal forma de prevenir a PIF ainda é evitar a exposição ao vírus, manter os animais em quarentena, realizar higiene rigorosa, alojar gatos em pequenos grupos, evitar altas densidades de gatos num mesmo ambiente, identificar e separar possíveis transmissores assintomáticos do vírus (PEDERSEN, 2014; ADDIE, 2020).

### **3.8 Prognóstico**

Até o momento não existe uma maneira fácil de prevenir a PIF devido a disseminação ampla do vírus nas populações de felinos domésticos. Além disso, o diagnóstico é difícil e também não há maneira simples de diagnosticá-la definitivamente (PEDERSEN *et al.*, 2016). Novos tratamentos para a doença têm se mostrado promissores, mas ainda não estão disponíveis comercialmente, principalmente no Brasil, o que leva a uma alta mortalidade pela doença e um prognóstico muitas vezes desfavorável para a maioria dos gatos.

#### 4. MARCADORER MOLECULARES VIRAIS

A existência de marcadores genéticos para diferenciar os biótipos FECV e FIPV é atualmente um dos temas de maior interesse nos estudos sobre PIF, não só do ponto de vista clínico e epidemiológico, mas também como base para uma compreensão profunda da patogênese desta doença altamente complexa (HORA *et al.*, 2016).

Alguns estudos sugerem que estruturas específicas de proteínas estruturais do FCoV podem influenciar o tipo de resposta imune montada pelo gato frente à infecção. Supondo-se que mutações do vírus também podem desempenhar um papel nas interações hospedeiro-vírus (TAKANO *et al.*, 2014).

A maior fonte de informações sobre genoma viral é obtida através de sequenciamento e análise filogenética das sequências de vírus (BROWN *et al.*, 2009). O sequenciamento do genoma completo do FCoV tipo I foi determinado por sequenciamento de fragmentos de DNA complementar (cDNA) sobrepostos gerados por transcrição reversa em cadeia de polimerase (RT-PCR) a partir do RNA viral, possibilitando uma análise completa e abrangente do genoma (DYE; SIDDELL, 2007).

##### 4.1 Estrutura viral

O genoma viral do FCoV é composto por 11 fases abertas de leitura (ORFs), incluindo uma replicase não-estrutural relacionada a duas grandes ORFs (PEDERSEN, 2009). A ORF1 codifica mais de 10 proteínas individuais utilizadas para a replicação do vírus. Em seguida, encontra-se o gene que codifica a principal proteína do envelope viral, a proteína *spike* (S), a qual tem a função de ligação do vírus à célula-alvo. É seguida por várias ORFs que codificam proteínas não estruturais de função desconhecida, incluindo as ORFs 3a-c. O gene M codifica a proteína de membrana, uma pequena proteína estrutural que interage com o envelope, bem como o núcleo do vírus. O gene E produz uma proteína de envelope, enquanto o gene N codifica a proteína do capsômero, que recobre o ácido nucleico em um núcleo helicoidal. As ORFs 7a-b também codificam proteínas não estruturais de função desconhecida (TEKES; THIEL, 2016).

Os FCOVs possuem cinco genes acessórios chamados 3a, 3b, 3c, 7a e 7b. Esses genes estão localizados em duas posições diferentes do genoma. Entre os genes S e E possuem três ORFs (3a, 3b e 3c). Deleções em todas as regiões do genoma do FCoV da ORF 3 e 7 mostraram que os genes acessórios são dispensáveis para crescimento viral *in vitro*, mas foram sugeridos como importantes para a replicação do vírus e a virulência *in vivo*

(HAIJEMA; VOLDERS; ROTTIER, 2004). No entanto, as funções das proteínas acessórias ainda não estão completamente estabelecidas.

As mutações ocorrem à medida que o vírus se replica o genoma. Os vírus de RNA são inerentemente mutáveis porque sua RNA polimerase viral está sujeita a erros e não possui a capacidade de correção. Assim, quanto mais o vírus se replica, mais provável é o surgimento de mutações. Infecções crônicas com replicação contínua de vírus favorecem a ocorrência de mutações (TEKES; THIEL, 2016). Estudos demonstram que a heterogeneidade genética do FCoV se correlaciona com a disseminação da infecção na população de felinos e com a gravidade das formas clínicas apresentadas (BATTILANI *et al.*, 2003).

#### 4.1.1 Glicoproteína S

A glicoproteína S do coronavírus é uma proteína de fusão grande (aproximadamente 200 kDa) distribuída ao redor do envelope viral composta por três monômeros individuais organizados em uma forma trimérica (BOSCH; ROTTIER, 2008) e possui o aspecto de uma espícula, de onde advém a denominação *spike*. A proteína S é considerada a principal reguladora da entrada do vírus na célula hospedeira. Para realizar essa função, ela passa por uma série de rearranjos estruturais que permitem a exposição de um segmento funcional importante da proteína de fusão, denominado de peptídeo de fusão (FP) (JAIMES *et al.*, 2020). A proteína S é composta por três domínios principais: um ectodomínio, um domínio transmembrana e um endodomínio. Dentro do ectodomínio (N-terminal), existem duas subunidades funcionais (S1 e S2). A subunidade S1 contém o domínio de ligação ao receptor (RBD), a porção da proteína que interage com o receptor celular. O domínio S2 inclui o peptídeo de fusão (FP), responsável pela fusão do envelope viral e a membrana celular (BELOUZARD, 2012). Em alguns estudos, foram identificadas duas diferenças de aminoácidos no peptídeo de fusão da proteína *spike* que, juntas, distinguiram FIPV de FECV em mais de 95% dos casos (CHANG *et al.*, 2012).

Em adição, existem interfaces para ativar o peptídeo de fusão presentes entre os domínios S1 e S2 no FCoV do tipo I, mas ausentes no tipo II, que sugerem uma diferença nos mecanismos moleculares utilizados pelos dois tipos desse vírus para entrar na célula (JAIMES *et al.*, 2020), e podem ser possíveis explicações para a maior prevalência do FCoV tipo I na população de gatos. Além disso, a proteína *spike* é considerada como a principal impulsionadora das mudanças, virulência e disseminação sistêmica do vírus (CHANG *et al.*, 2012).



Mutações em um gene ou uma combinação de mudanças em diferentes partes do genoma do FCoV podem levar ao surgimento do FIPV. Esta suposição é apoiada por dados publicados, que localizam as mutações em quatro regiões diferentes da proteína S (peptídeo de fusão, HR1, sítio de clivagem da furina e região C-terminal). Todas essas mutações do gene S podem levar a um tropismo celular alterado e ao desenvolvimento da PIF (TEKES; THIEL, 2016)

Dentre os receptores celulares, a aminopeptidase N felina (fAPN) foi descrita como adequada para a ligação da glicoproteína S do FCoV tipo II (TEKES; THIEL, 2016). A fAPN é uma proteína de membrana expressa na borda das microvilosidades do intestino delgado e dos túbulos renais, bem como em células de origem mieloide, incluindo monócitos, macrófagos e granulócitos. Estudos forneceram evidências de que a proteína S do sorotipo I falha em reconhecer a fAPN como um receptor para ligação e entrada, sugerindo que fAPN não é um receptor funcional para FCoVs do sorotipo I (DYE; SIDDELL, 2007). A lectina dendrítica do tipo C felina tem um papel na ligação celular e pode servir como um correceptor para ambos os sorotipos FCoV *in vitro* (VAN HAMME *et al.*, 2011). A identificação do receptor celular para FCoVs do sorotipo I permanece um tópico em aberto na pesquisa de FCoV (TEKES; THIEL, 2016).

Os ensaios de PCR disponíveis atualmente esta é uma prática frequente nos laboratórios de análises clínicas e um dos principais alvos de pesquisa para a compreensão do desenvolvimento e diagnóstico da PIF. A presença de mutações pontuais no gene da proteína *spike* levou à disponibilidade de ensaios de PCR, que identificam a presença dessas mutações. Além disso, o fluido efusivo continua a ser o substrato de escolha para as análises, que está ausente na forma não efusiva da doença (DRECHSLER *et al.*, 2011).

Em um estudo realizado por Felten *et al.* (2017), onde foram analisados 127 gatos, dos quais 63 tinham PIF, os pesquisadores encontraram especificidade de 100%, mas baixa sensibilidade, 6,5% em amostras soro ou plasma e de 65% em amostras de efusão. Os investigadores concluíram que embora um resultado positivo para a mutação *spike* foi uma boa evidência para PIF, um resultado negativo poderia não descartar esse diagnóstico, especialmente ao testar soro ou plasma. Outro estudo realizado por Barker *et al.* (2017) identificou que de 102 gatos, 57 desses com PIF, identificaram mutações dentro do gene da proteína *spike*.

#### 4.1.2 Genes

Mutações em diversos genes são consideradas como possíveis responsáveis pelo desenvolvimento do FIPV, dentre elas, são descritas mutações nos genes 3a, 3c, 7a e 7b (MYRRHA *et al.*, 2019).

Mutações e deleções na proteína 3c foram associadas à disseminação sistêmica do vírus e perda da capacidade de replicação nas células epiteliais intestinais (KENNEDY, 2020). O gene 3c está presente de forma íntegra na maioria das cepas obtidas de gatos com PIF e é um dos genes mais estudados (BANK-WOLF, 2014). Em estudo, todos os isolados fecais de FCoV possuíam um gene 3c intacto, sugerindo que um gene 3c intacto seja necessário para a replicação intestinal do FCoV (HORA *et al.*, 2016). Dessa forma, é considerado que deleções no gene 3c podem atuar como possíveis marcadores capazes de distinguir os biótipos de FCoV. Mutações que afetam a expressão da proteína 3c contribuem para um aumento da replicação viral em monócitos e macrófagos e, assim, ao desenvolvimento de PIF (TEKES; THIEL, 2016)

Além disso, o estudo de Dedeurwaerder *et al.* (2014) sugeriu um papel para o gene 7a como um antagonista da atividade do interferon. Há evidências crescentes de que as proteínas acessórias são importantes para a virulência *in vivo*, mas os mecanismos moleculares subjacentes não são totalmente compreendidos. Além disso, proteínas acessórias de FCoV podem ser necessárias para a persistência viral em células específicas (TEKES; THIEL, 2016). Estudos futuros são necessários para elucidar as funções das proteínas acessórias e fornecer maiores respostas sobre os mecanismos que determinam a patogênese e progressão da infecção.

O teste comercial de anticorpo para a proteína 7b, que parte da premissa de que o FECV não possui o gene ORF 7b íntegro e, portanto, não produziria o produto de proteína ORF 7b, enquanto o FIPV possuiria o gene ORF 7b, produziria a proteína e, portanto, induziria uma resposta de anticorpo à proteína da ORF 7b (PEDERSEN, 2014). Contudo, é atualmente reconhecido que todos os isolados de FIPV e FECV possuem um gene ORF 7b intacto e, portanto, ambos induzem a formação de anticorpos anti-ORF 7b (KENNEDY *et al.*, 2008). Em estudos, detecção de anticorpos contra a proteína 7b foi encontrada na maioria dos gatos infectados com coronavírus felinos (tanto FECV ou FIPV) e concluíram que a soropositividade para esta proteína não era específica para FIPV e não poderia ser usada para diagnosticar a doença (PEDERSEN, 2014).

Foram identificadas mutações no gene da proteína de membrana (M) que se correlacionaram com o desenvolvimento da PIF (BROWN *et al.*, 2009). Corroborando com

esse achado, outro estudo concluiu que as mutações no gene M e a homologia do FCoV entérico e sistêmico corroboram a teoria de que a mutação *in vivo* do isolado infectante (virulento) leva a PIF (HORA *et al.*, 2016).

#### 4.1.3 Aminoácidos

Recentemente, foi associada à mudança de virulência de FECV para FIPV à ocorrência de duas substituições de aminoácidos, a metionina por leucina na posição 1058 da proteína S (mutação M1058L) e por uma alanina na posição 1060 (mutação S1060A), identificado em um estudo realizado com mais de 183 cepas de FCoV (CHANG *et al.*, 2012). Outros estudos confirmaram uma associação significativa da alteração M1058L com PIF, enquanto poucas amostras exibiram a mutação S1060A (BANK-WOLF *et al.*, 2014; LEWIS *et al.*, 2015; DECARO *et al.*, 2021). Em um estudo mais recente, gatos eliminaram em suas fezes cepas de FCoV contendo M1058 antes de desenvolverem PIF, enquanto amostras de intestino e efusões que foram coletadas após a ocorrência de PIF continham cepas com L1058, indicando que a mutação M1058L é importante para a mudança FECV para FIPV ou, pelo menos, para a propagação sistêmica do vírus (DECARO *et al.*, 2021).

Também foram identificadas mutações nas proximidades dos nucleotídeos 23531 e 23537 do gene S, causando duas substituições de aminoácidos diferentes na proteína S. Em contraste com outras mutações do gene S, um total de quatorze mutações no nucleotídeo 23531 e 23537 foram identificadas em 96% das cepas de FCoV isoladas de gatos com PIF no estudo. Essas mutações não foram identificadas em amostras fecais de gatos controle clinicamente saudáveis (EMMLER *et al.*, 2020). Essas descobertas podem ter potencial como marcadores de diagnóstico para FCoV associado a FIPV virulento (BROWN *et al.*, 2009).

Uma vez que os resíduos de aminoácidos afetados estão localizados no peptídeo de fusão da proteína S, é possível que as mudanças de aminoácidos nesta região afetem o tropismo celular do vírus, resultando em tropismo aumento por monócitos e macrófagos (TEKES; THIEL, 2016). Dessa forma, substituições no local de clivagem da protease pode afetar indiretamente a disseminação viral e, portanto, a progressão da doença e ao desenvolvimento da PIF (BOSCH; ROTTIER, 2008). Entretanto, essa hipótese ainda necessita de mais estudos para ser confirmada. A maioria das cepas de FCoV, analisados no estudo de Longstaff *et al.* (2017) continham alterações na sequência de aminoácidos previamente associados à disseminação sistêmica ou virulência do vírus da PIF.

## 5. MARCADORES MOLECULARES DO HOSPEDEIRO

A genética do hospedeiro representa um dos fatores que contribuem para a variação observada em respostas imunes a infecções por coronavírus, tanto em humanos quanto em animais. A idade, a genética e o estado do sistema imunológico, em conjunto com doenças concomitantes e estresse ambiental, são descritos como importantes fatores do hospedeiro para o desenvolvimento da PIF, pois podem afetar as respostas imunológicas (BUBENIKOVA *et al.*, 2020). Além disso, a PIF ocorre com maior frequência em gatos muito jovens e velhos, que possuem um sistema imunológico menos eficiente (PEDERSEN *et al.*, 2009).

### 5.1 Marcadores imunológicos

O sistema imunológico é conhecido por desempenhar um papel crítico e complexo na patogênese da PIF, no entanto, esse papel ainda não é completamente compreendido. Devido à via de transmissão é hipotetizado que o sistema imunológico é importante não apenas nas respostas à infecção por FCoV, mas também no controle de eliminação fecal do vírus (BUBENIKOVA *et al.*, 2020).

A capacidade de resposta no monócito do hospedeiro determina a quantidade de replicação do vírus (DEWERCHIN; CORNELISSEN; NAUWYNCK, 2005). O desenvolvimento da PIF em gatos infectados com FCoV está associada com uma fraca resposta imune celular, eventualmente associada a uma forte imunidade humoral. A superprodução de anticorpos induz uma reação de hipersensibilidade tipo III, gerando depósitos de imunocomplexos em diversos órgãos e vasos sanguíneos, desencadeando o aparecimento de várias formas clínicas da doença, enquanto uma forte imunidade celular parece estar envolvida na resistência para a PIF (PEDERSEN, 2014).

Gatos com PIF apresentaram depleção intensa de células *natural killer* (NK) e linfócitos T reguladores, além de redução da função das células NK, fator que poderia reduzir a capacidade do sistema imunológico inato em combater o vírus e suprimir as respostas imunológicas e inflamatórias associadas. As lesões características da PIF são piogranulomas, que é um acúmulo de macrófagos, neutrófilos, linfócitos e células plasmáticas em órgãos e tecidos. A ativação sistêmica desses fatores em gatos com PIF contribuiu para as alterações observadas e a progressão da doença (PALTRINIERI *et al.*, 2001).

## 5.2 Genes do hospedeiro

Embora o genoma felino tenha sido estudado para verificar possíveis suscetibilidades individuais à PIF, pouco se sabe sobre o papel dos genes do hospedeiro na variação individual de intensidade e padrões de FCoV, na eliminação fecal, apesar de sua importância epidemiológica. Recentemente, foram encontradas associações entre polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) dos genes NCR1 e SLX4IP, possíveis candidatos funcionais e posicionais, respectivamente. Além disso, foram identificados haplótipos de quatro genes SNX5, NCR2, SLX4IP e NCR1 com eliminação de FCoV em um estudo de múltiplas raças (BUBENIKOVA *et al.*, 2020).

Em estudo de Bubenikova *et al.* (2021), foi analisado um painel de potenciais marcadores associado a doenças clínicas, como a PIF e eliminação fecal do FCoV. Dez desses marcadores foram totalmente caracterizados no estudo de Bubenikova *et al.*, 2020. Dentre estes, três marcadores genéticos foram desenvolvidos como candidatos funcionais com base nas funções de perforina (PRF1), granzima B (GZMB) e granzima A (GZMA) na citotoxicidade de células NK e linfócitos T. Essas moléculas parecem cruciais no desenvolvimento de disseminação sistêmica de vírus e desenvolvimento de FIP. Considerando o possível papel do estresse na patogênese do FCoV, genes que codificam para as moléculas envolvidas em reações de estresse foram adicionados ao conjunto de marcadores como candidatos funcionais ao desenvolvimento da PIF (PEDERSEN, 2009; DRECHSLER *et al.*, 2011).

## 5.3 Predisposição racial

A suscetibilidade diferencial de várias raças e linhagens ao desenvolvimento da PIF foi observada repetidamente em estudos, assim como, já foi relatado que gatos com pedigree são mais suscetíveis à PIF do que gatos não puros (PEDERSEN *et al.*, 2016). No entanto, como diferentes populações da mesma raça foram analisadas e diferentes métodos de diagnóstico foram usados, os dados nem sempre são comparáveis. Entretanto, a menor frequência de infecção em determinados estudos epidemiológicos pode, na realidade, ser devido à baixa disseminação de vírus na população estudada (BUBENIKOVA *et al.*, 2021).

Através das análises de variância molecular do estudo de Bubenikova *et al.* (2021) revelaram que a maior parte da variação observada nos marcadores moleculares estudados foi devido à variação entre os indivíduos, enquanto apenas uma pequena parte poderia ser explicada pela variação observada entre as populações ou raças. Nenhuma distinção clara de

raças individuais foi identificada pelo estudo. Em geral, os dados atualmente disponíveis sobre variação genética entre diferentes raças e dentro de uma raça individual ainda não são suficientes para determinar e distinguir possíveis contribuições para a variabilidade das infecções por coronavírus observada em gatos domésticos (BUBENIKOVA *et al.*, 2021).

## **6. CONCLUSÃO**

A peritonite infecciosa felina é uma doença grave que, apesar dos avanços terapêuticos, ainda apresenta alta letalidade, sendo uma das maiores preocupações na clínica médica de felinos. Ainda há dificuldade de compreensão da patogênese da PIF, bem como sobre a mutabilidade do genoma do FCoV e sobre as características genéticas do hospedeiro que possam influenciar no desenvolvimento da PIF. Contudo, há avanços em relação à detecção do FIPV e possibilidades diagnósticas, demonstrando a importância da realização de mais estudos sobre o genoma e técnicas de biologia molecular para entender a patogenia da doença e assim fornecer ferramentas que facilitem o diagnóstico e tratamento precoce, diminuindo a letalidade da doença.

## REFERÊNCIAS

- ABINPET. Dados do Mercado. Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação. 2019. Disponível em: <http://abinpet.org.br/mercado/>. Acesso em 22 de janeiro de 2021.
- ADDIE, D. *et al.* Rapid Resolution of Non-Effusive Feline Infectious Peritonitis Uveitis with an Oral Adenosine Nucleoside Analogue and Feline Interferon Omega. **Viruses**. v. 12, n.11, p. 1216. 2020.
- ADDIE, D. *et al.* Feline Coronavirus Infections. **In: Greene. Infectious Diseases of the Dog and Cat**, Elsevier. St. Louis. USA. v. 4, p. 102–108, 2012.
- ADDIE, D. *et al.* Feline infectious peritonitis. Abcd guidelines on prevention and management. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v. 11, p. 594–604, 2009.
- ADDIE, D. *et al.* Persistence and transmission of natural type I feline coronavirus infection. **Journal of General Virology**. v. 84, p. 2735–2744, 2003.
- BANK-WOLF, B. R. *et al.* Mutations of 3c and spike protein genes correlate with the occurrence of feline infectious peritonitis. **Veterinary Microbiology**. v. 173, n. 3-4, p. 177–188, 2014.
- BARKER, E. N. *et al.* Limitations of using feline coronavirus spike protein gene mutations to diagnose feline infectious peritonitis. **Veterinary Research**. v. 48, p. 60, 2017.
- BATTILANI, M. *et al.* Quasispecies composition and phylogenetic analysis of feline coronaviruses (FCoVs) in naturally infected cats. **FEMS immunology and medical microbiology**. v. 39, n. 2, p. 141–147. 2003.
- BELOUZARD, S. *et al.* Mechanisms of coronavirus cell entry mediated by the viral spike protein. **Viruses**. v. 4, n. 6, p. 1011-33, 2012.
- BENAVIDES, F. J.; GUÉNET, J. L. Mouse genomics In H. J. HEDRICH. The laboratory mouse. **Elsevier**. v.2, p. 57–90, 2012.
- BOSCH, B. J.; ROTTIER, P. J. Nidovirus Entry into Cells. In Perlman; S. Gallagher T.; BREST, P. *et al.* Host polymorphisms may impact SARS-CoV-2 infectivity. **Trends in Genetics**. v. 36, p. 813–815, 2008.
- BROWN, M. A. *et al.* Genetics and pathogenesis of feline infectious peritonitis virus. **Emerging Infectious Disease**. v.15, n.9, p.1445–1452, 2009.
- BUBENIKOVA, J. *et al.* Candidate Gene Markers Associated with Fecal Shedding of the Feline Enteric Coronavirus (FECV). **Pathogens**. v. 9, n. 11, p. 958, 2020.
- BUBENIKOVA, J. *et al.* The Population Diversity of Candidate Genes for Resistance/Susceptibility to Coronavirus Infection in Domestic Cats: An Inter-Breed Comparison. **Pathogens**. v. 10, n. 6, p- 778. 21. 2021.
- CHANG, H. W. *et al.* Spike protein fusion peptide and feline coronavirus virulence. **Emerging infectious diseases**. v. 18, n.7, p. 1089–1095, 2012.



CHANG, H. W. *et al.* Feline infectious peritonitis: insights into feline coronavirus pathobiogenesis and epidemiology based on genetic analysis of the viral 3c gene. **Journal Of General Virology**. v. 91, p. 415–420, 2010.

DECARO, N. *et al.* Mutation analysis of the spike protein in Italian feline infectious peritonitis virus and feline enteric coronavirus sequences. **Research in Veterinary Science**. v. 135, p. 15-19, 2021.

DEDEURWAERDER, A. *et al.* ORF7-encoded accessory protein 7a of feline infectious peritonitis virus as a counteragent against IFN- $\alpha$ -induced antiviral response. **Journal of General Virology**. v. 95, c. 2, p. 393-402, 2014.

DEWERCHIN, H. L.; CORNELISSEN, E.; NAUWYNCK, H. J. Replication of feline coronaviruses in peripheral blood monocytes. **Archives of Virology**. v. 150, n. 12, p. 2483-500, 2005.

DRECHSLER, Y. *et al.* Feline coronavirus in multicat environments. **Veterinary Clinical North America Small Animal Practice**. v 41, p. 1133–69, 2011.

DURAN, C. *et al.* Molecular Genetic Markers: Discovery, Applications, Data Storage and Visualisation. **Current Bioinformatics**. v. 4, n. 1, p. 16–27, 2009.

DYE C., SIDDELL S. G. Genomic Rna Sequence of Feline Coronavirus Strain Fcov. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v. 9. p. 202–213. 2007.

ECHETO, O. A. *et al.* Peritonitis infecciosa felina, gastroenteritis y colangiohepatitis parasitaria (platinosomiasis) con colangiocarcinoma hepático: estudio clínico y anatomopatológico de tres casos. **Revista Científica De La Facultad De Ciencias Veterinarias De La Universidad Del Zulia**. v. 15, n. 3, p. 195–203, 2005.

EMMLER, L. *et al.* Feline coronavirus with and without spike gene mutations detected by real-time RT-PCRs in cats with feline infectious peritonitis. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v. 22, n. 8, p. 791–799, 2020.

FELTEN, S. *et al.* Sensitivity and specificity of a realtime reverse transcriptase polymerase chain reaction detecting feline coronavirus mutations in effusion and serum/plasma of cats to diagnose feline infectious peritonitis. **BMC Veterinary Reserach**. v. 13, p. 228, 2017.

FISCHER, Y.; SAUTER-LOUIS, C.; HARTMANN, K. Diagnostic accuracy of the Rivalta test for feline infectious peritonitis. **Veterinary Clinical Pathology**. v. 41, n.4, p. 558–567, 2012.

GIORI, L. *et al.* Performances of different diagnostic tests for feline infectious peritonitis in challenging clinical cases. **Journal of Small Animal Practice**. v. 52, p. 152–157, 2011.

HAIJEMA, B. J.; VOLDERS, H.; ROTTIER, P. J. Live, attenuated coronavirus vaccines through the directed deletion of group-specific genes provide protection against feline infectious peritonitis. **Journal of Virology**. v. 78, p. 3863–387, 2004.

HARTMANN, K. *et al.* Comparison of different tests to diagnose feline infectious peritonitis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. v. 17, n. 6, p. 781-90, 2003.

HARTMANN, K. Feline Infectious Peritonitis. **Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**. v. 35, p. 39–79, 2005.

HERREWEGH, A. *et al.* Feline coronavirus type ii strains 79- 1683 and 79-1146 originate from a double recombination between feline coronavirus type I and canine coronavirus. **Journal of Virology**. v. 72, p. 4508–14, 1998.

HORA, A. S. *et al.* **Diversidade gênica do coronavírus felino em populações virais entéricas e sistêmicas intra e inter-hospedeiros**. 72 p. 2014. Tese de Doutorado em Medicina Veterinária - Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária. São Paulo. 2014.

HORA, A. S. *et al.* Feline coronavirus 3c protein: a candidate for a virulence marker? **BioMed Research International**. v 16, p. 1-9, 2016.

JAIMES, J. A. *et al.* A Tale of Two Viruses: the distinct spike glycoproteins of feline Coronaviruses. **Viruses**. v. 10, n.12, p. 83. 2020.

JEFFERY, U.; DEITZ, K.; HOSTETTER, S. Positive predictive value of albumin: globulin ratio for feline infectious peritonitis in a mid-western referral hospital population. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v. 14, e. 12, p- 903-905, 2012.

KENNEDY, M. A. Feline Infectious Peritonitis. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**. V. 50, n. 5, p. 1001–1011, 2020.

KENNEDY, M. A. *et al.* Evaluation of antibodies against feline coronavirus 7b protein for diagnosis of feline infectious peritonitis in cats. **American Journal of Veterinary Research**. v. 69, n. 9, p. 1179-1782, 2008.

LEWIS, C. S. *et al.* Genotyping coronaviruses associated with feline infectious peritonitis. **The Journal of general virology**. v. 96, p. 1358–1368, 2015.

LONGSTAFF, L. *et al.* Feline coronavirus quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction on effusion samples in cats with and without feline infectious peritonitis. **Journal of Feline Medicine Surgery**. v. 19., n. 2, p. 240-245, 2017.

LOVATO, L. T.; DEZENGRINI, R. Coronaviridae In: FLORES, E. F. **Virologia Veterinária. Virologia Geral e Doenças Víricas**. Santa Maria: UFSM. v. 3, e. 3, c. 25, p. 624-626, 2017.

LOWE, J. W. E., BRUCE, A. Genetics without genes? The centrality of genetic markers in livestock genetics and genomics. **History and Philosophy of the Life Sciences**. v. 41, n. 50, p 1-29, 2019.

MASTERS, P. S.; PERLMAN, S. Coronaviridae In: **Fields Virology**. KNIPE, D. M., HOWLEY, P. M., EDS.; LIPPINCOT WILLIAMS; WILKINS. Philadelphia, USA. v. 1, n.6, p. 825–858. 2013.

MELI, M. *et al.* 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. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v. 6, n. 2, p. 69–81, 2004.

MURPHY, B. G. *et al.* The nucleoside analog GS-441524 strongly inhibits feline infectious peritonitis (FIP) virus in tissue culture and experimental cat infection studies. **Veterinary Microbiology**. v. 219, p. 226-233, 2018.

- MYRRHA, L. *et al.* Feline coronavirus isolates from a part of Brazil: insights into molecular epidemiology 5 and phylogeny inferred from the 7b gene. **The Journal of Veterinary Medical Science**. 2019.
- PALTRINIERI, S. *et al.* Laboratory Profiles in Cats with Different Pathological and Immunohistochemical Findings Due to Feline Infectious Peritonitis (FIP). **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v.3, n.3, p. 149-159. 2001.
- Pedersen, N. C. An update on feline infectious peritonitis: Virology and immunopathogenesis. **The Veterinary Journal**. v. 201, n. 2, p. 123–132. 2014.
- PEDERSEN, N. C. *et al.* Efficacy and safety of the nucleoside analog GS-441524 for treatment of cats with naturally occurring feline infectious peritonitis. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v. 21, n. 4, p. 271-281, 2019.
- PEDERSEN, N. C. *et al.* Natural resistance to experimental feline infectious peritonitis virus infection is decreased rather than increased by positive genetic selection. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. v. 171, p. 17–20, 2016.
- PEDERSEN, N. C. *et al.* Significance of coronavirus mutants in feces and diseased tissues of cats suffering from feline infectious peritonitis. **Viruses**. v. 1, n. 2, p. 166–184, 2009.
- PRATELLI, A. Comparison of serologic techniques for the detection of antibodies against feline coronaviruses. **Journal of Veterinary Diagnostic and Investigation**. v. 20, n. 1, p. 45–50, 2008.
- RHEINBERGER, H.-J.; MÜLLER-WILLE, S. The gene: From genetics to postgenomics. Chicago, IL. **The University of Chicago Press**. 2017.
- RIEMER, F. *et al.* Clinical and laboratory features of cats with feline infectious peritonitis – a retrospective study of 231 confirmed cases (2000–2010). **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v. 18, n. 4, p. 348–356, 2016.
- ROTTIER, P. J. M. *et al.* Acquisition of Macrophage Tropism during the Pathogenesis of Feline Infectious Peritonitis Is Determined by Mutations in the Feline Coronavirus Spike Protein. **Journal of Virology**. v. 79, n. 22, p. 14122–14130, 2005.
- SCAGNOLARI, C. *et al.* Consolidation of molecular testing in clinical virology. **Expert Review of Anti-Infective Therapy**. Taylor and Francis Ltd. v. 15, e. 4, p. 387–400, 2017.
- SHERDING, R. G. Peritonite Infecçiosa Felina. In: BIRCHARD, S. J; SHERDING, R. G. **Manual Saunders: clínica de pequenos animais**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2003. p.101 - 107.
- SIMONS, F. A. *et al.* A mRNA PCR for the diagnosis of feline infectious peritonitis. **Journal of Virological Methods**. v. 124, n. 1–2, p. 111–116, 2005.
- STRANIERI, A. *et al.* Concordance between Histology, Immunohistochemistry, and RT-PCR in the Diagnosis of Feline Infectious Peritonitis. **Pathogens**. V. 9, n. 10, p. 852, 2020.
- TAKANO, T. *et al.* A “possible” involvement of TNF-alpha in apoptosis induction in peripheral blood lymphocytes of cats with feline infectious peritonitis. **Veterinary Microbiology**. v. 119, n. 2–4, p. 121–131, 2007.

TEKES, G. *et al.* Genome Organization and Reverse Genetic Analysis of a Type I Feline Coronavirus. **Journal of Virology**. v. 82, n. 4, p. 1851–1859, 2008.

TEKES, G.; THIEL, H. J. Feline Coronaviruses: Pathogenesis of Feline Infectious Peritonitis. In: **ADVANCES IN VIRUS RESEARCH**. Academic Press Inc., 2016. v. 96, p. 193–218.

THIEL, V.; THIEL, H.; TEKES, G. Tackling feline infectious peritonitis via reverse genetics. **Bioengineered Bugs**. v. 5, n. 6, p. 396–400, 2015.

VAN HAMME, E. *et al.* Intriguing interplay between feline infectious peritonitis virus and its receptors during entry in primary feline monocytes. **Virus Research**. v. 160, n. 1–2, p. 32–39, 2011.

WALKER, P. J. *et al.* Changes to virus taxonomy and the Statutes ratified by the International Committee on Taxonomy of Viruses. **Archives of Virology**. v. 165, n. 11, p. 2737-2748. 2020.

WANG, Y. *et al.* An outbreak of feline infectious peritonitis in a Taiwanese shelter: epidemiologic and molecular evidence for horizontal transmission of a novel type II feline coronavirus. **Veterinary Research**. v. 44, n. 57, 2013.

ZOIA, A. *et al.* A new approach to pleural effusion in cats: markers for distinguishing transudates from exudates. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v. 11, n. 10, p. 847–855, 2009.