

Sílvia Lopes Martins

**Relação da titulação de anticorpos anti-coronavírus felino
e anamnese, sinais clínicos e laboratoriais comumente
utilizados para diagnóstico da peritonite infecciosa felina**

Doutora Ana Munhoz - Presidente

Doutor Daniel Murta – Orientador

Doutora Margarida Simões - Arguente

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2015

Sílvia Lopes Martins

**Relação da titulação de anticorpos anti-coronavírus felino
e anamnese, sinais clínicos e laboratoriais comumente
utilizados para diagnóstico da peritonite infecciosa felina**

Dissertação apresentada para a obtenção do Grau de Mestre em Medicina Veterinária no curso de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária conferido pela Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Presidente: Professora Doutora Ana Munhoz

Orientador: Professor Doutor Daniel Murta

Arguente: Professora Doutora Margarida Simões

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2015

Agradecimentos

Queria agradecer especialmente à Doutora Inês Veiga, por todo o apoio incondicional, por toda a compreensão e paciência que me demonstrou ao longo da realização deste trabalho, apesar de todas as adversidades ocorridas no percurso. Um muito obrigado por não ter deixado de me apoiar nunca, mesmo sendo a distância longa.

À Doutora Inês Viegas pelo apoio e paciência demonstrados na realização da parte estatística da tese.

Ao Doutor Daniel Murta pela atenção, disponibilidade e apoio no término deste trabalho. Um muito obrigado.

A toda a equipa do Hospital Veterinário Vasco da Gama, por todo o conhecimento transmitido e pelo apoio na recolha dos dados.

A todos os meus amigos e colegas, que me apoiaram nos altos e baixos momentos do curso, e que nunca deixaram de me apoiar nem acreditar em mim. Em particular à Mariana Caldas, à Sara Gameiro e à Joana Diogo que para além de boas colegas também foram grandes amigas e nunca deixaram de me apoiar e de acreditar em mim. E à Cristina Martins pelo apoio e compreensão não só como chefe mas como amiga. Um grande Obrigado.

Ao meu informático e amigo, Márcio Mendes, por toda a paciência e por todo o apoio ao longo da realização deste trabalho.

Um enorme obrigado e mesmo muito especial aos meus pais e irmão. Pelo amor, compreensão, ajuda, apoio e força ao longo do curso e da vida. Obrigado por também não deixarem de acreditar em mim, por me ajudarem a concretizar os meus sonhos e estarem sempre ao meu lado, nos bons e maus momentos.

Ao meu namorado, Sérgio Mendes por todo o amor, paciência, compreensão e força que me fizeram acreditar e concluir mais esta etapa da minha vida. Obrigado por estares do meu lado e não deixar de acreditar em mim.

Resumo

A peritonite infecciosa felina (PIF) é das doenças infecciosas mais frequentes na espécie felina, afectando gatos domésticos (*Felis catus*) e selvagens. Esta doença é provocada por uma estirpe virulenta do coronavírus felino (FeCoV), e é sempre fatal após manifestação dos sintomas, sendo normalmente descrita como sendo uma doença do indivíduo, fortemente dependente não só da virulência viral, mas também de factores ambientais e do hospedeiro, nomeadamente da sua resposta imunitária.

O presente estudo retrospectivo focou-se numa população de 122 gatos seguidos entre os anos 2010 e 2014 no Hospital Veterinário Vasco da Gama em Lisboa, para os quais foi realizada a titulação de anticorpos anti-FeCoV, sendo o objectivo principal relacionar o título de anticorpos anticoronavírus (anti-FeCoV) com a anamnese, sinais clínicos e parâmetros laboratoriais apresentados pelos animais suspeitos de PIF, avaliando assim se a sua determinação contribui para um correcto diagnóstico da PIF.

Para além de se ter encontrado uma relação estatisticamente significativa entre um título positivo de anticorpos anti-FeCoV e a ocorrência de líquidos de derrame (especialmente ascite), a hiperglobulinémia e a hiperbilirrubinémia, também foi encontrada uma relação estatisticamente significativa entre um título negativo de anticorpos anti-FeCoV e gatos sem contacto regular com outros gatos e a presença de sinais clínicos neurológicos. Todas as relações identificadas estão de acordo com o descrito na bibliografia, com a excepção dos sinais clínicos neurológicos associados a títulos negativos de anticorpos anti-FeCoV, que geralmente estão presentes em animais afectados por PIF, esperando-se por isso que a incidência destes sintomas em animais com títulos anti-FeCoV positivos fosse predominante.

Nesta população a titulação de anticorpos anti-FeCoV foi realizada essencialmente como meio complementar de diagnóstico clínico de PIF e não como meio de avaliar a ocorrência de uma exposição prévia ao FeCoV, não tendo sido detectada uma diferença significativa entre os títulos de anticorpos anti-FeCoV entre ambos os grupos.

Assim sendo, e com base nos resultados obtidos neste estudo, a repetição periódica da titulação em animais sem sintomatologia de PIF mas que poderão ter estado em contacto com animais infectados com FeCoV durante um período de um ano deverá ser realizada para avaliar a evolução da situação, de acordo com o preconizado pelo laboratório DNATech. Já no caso dos animais com sintomatologia suspeita de PIF, a titulação deverá ser realizada e o resultado analisado tendo em conta a anamnese, sinais clínicos e parâmetros laboratoriais apresentados pelos animais, continuando a histopatologia associada à imunohistoquímica a ser actualmente o método de diagnóstico de PIF com maior valor diagnóstico.

Palavras-chave: peritonite infecciosa felina (PIF), sinais clínicos, parâmetros laboratoriais, diagnóstico de PIF, titulação de anticorpos anti-FeCoV

Abstract

Feline infectious peritonitis (FIP) is one of the most frequent feline infectious diseases, affecting both domestic (*Felis Catis*) and wild cats. This disease is caused by a virulent strain of feline coronavirus and is always fatal upon clinical manifestation, being usually described as a disease that affects single animals and whose outcome depends not only on the virulence of a given viral strain, but also on environmental factors and on host characteristics, namely its immune response.

The main aim of the present study was to find a connection between the anti-feline coronavirus (FeCoV) antibody titers and the anamnesis, clinical signs and laboratory values from animals suspected of FIP, thus evaluating the contribution of its determination for a correct FIP diagnosis. For this purpose, a group of 122 cats followed between 2010 and 2014 at the Vasco da Gama Veterinary Hospital in Lisbon, for whom anti-FeCoV antibody titer determination was performed, was chosen.

Besides finding a statistically significant association between a positive anti-FeCoV antibody titer and the presence of effusions (mainly ascitis), hyperglobulinemia and hyperbilirrubinemia, a statistically significant association between a negative anti-FeCoV antibody titer and cats that have no contact with other cats and neurologic symptoms has also been identified. All these associations are in accordance with what was previously described in the literature, with the exception of the last one, since neurological symptoms are very often identified in cats affected by FIP, thus an association with a positive titer would be more likely.

Finally, in this population this test was performed essentially as a complementary diagnostic tool in FIP-suspected cases and not to evaluate the occurrence of a previous FeCoV exposure; no difference in FeCoV antibody titers between the two studied groups was found. Based on the presented results, it is advisable to repeat the anti-FeCoV titration in animals without FIP symptoms that have been exposed to FeCoV-infected animals during 1 year, in accordance with DNATech lab recommendations. If the animal has FIP-related symptoms, the titration result must always be analysed having into account the anamnesis, clinical signs and laboratory values presented by the affected animals. However, a definitive FIP diagnosis can only be obtained after performing the FIP golden standard technique histopathology, preferably in association with immunohistochemistry.

Keywords: infectious feline peritonitis (FIP), clinical signs, laboratory values, FIP diagnosis, anti-FeCoV antibody titer determination

Abreviaturas e símbolos

AD - Adenosina desaminase

ADE – *Antibody-dependet enhancement of infectivity* (Potenciação da infecção dependente de anticorpos)

A:G – *Rácio* albumina:globulina

AGP – Glicoproteína ácida α -1

AHAI - Anemia hemolítica autoimune

ALT/GPT – Alanina aminotransferase/Glutamato piruvato transaminase

APN – Aminopeptidase-N

APP – Proteína de fase aguda (*Acute phase protein*)

BCoV - Coronavírus dos bovinos

BWCoV SW1 - Coronavírus da baleia beluga

CAR - “Registo de Animais de Companhia” (*Companion Animal Register*)

CCV – Coronavírus canino

cDNA - Ácido desoxirribonucleico complementar

CHCM – Concentração de hemoglobina corpuscular média

Chi² – Teste qui-quadrado

CID – Coagulação intravascular disseminada

CRCoV - Coronavírus respiratório canino

DNA – Ácido desoxirribonucleico (*Deoxyribonucleic acid*)

EDTA – Ácido etilenodiaminotetracético (*Ethylenediaminetetraacetic acid*)

ELISA – Ensaio imunoenzimático (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*)

E.U.A. – Estados Unidos da América

FA/ALP – Fosfatase alcalina (*Alkaline phosphatase*)

FeCoV – Coronavírus felino

FECV – Coronavírus felino entérico

FeLV – Vírus da leucemia felina

FIV – Vírus da imunodeficiência felina

FIPV – Vírus da peritonite infecciosa felina

FRECV - Coronavírus entérico do furão

FRSCV - Coronavírus sistémico do furão

ECoV - Coronavírus equino

HCM – Hemoglobina corpuscular média

HCoV 229E - Coronavírus serótipo 229E da bronquite humana

HCoV-OC43 - Coronavírus humano OC43

HVVG – Hospital Veterinário Vasco da Gama

IBV e TuCoV - Coronavírus das aves

IFI – Imunofluorescência indirecta

IFN – Interferão

Ig A – Imunoglobulina A

Ig G – Imunoglobulina G

IHQ – Imunohistoquímica

IL – Interleucina

LCR – Líquido cefalorraquidiano

LDH - Lactato-desidrogenase

MCoV - Coronavírus da marta

mRNA – Ácido ribonucleico mensageiro

NK – *Natural killer*

NSW - *New South Wales*

nPCR – *Nested Polymerase chain reaction*

OIE – Organização Mundial da Saúde Animal (*Organization pour Epizoties*)

ORF – *Open reading frame* (grelha génica de leitura aberta)

PEDV - Coronavírus da diarreia epidémica suína

PHEV - Vírus da encefalomielite hemaglutinante dos suínos

PIF – Peritonite infecciosa felina

PT – Proteínas totais

RbCoV - Coronavírus dos coelhos

RNA – Ácido ribonucleico

RT-PCR - *Reverse transcriptase polymerase chain reaction* (Reacção em cadeia da polimerase)

SAA – Amilóide sérica A

SARSV - Vírus da síndrome respiratória

SDAV e MHV - Coronavírus do rato

SID – Uma vez por dia (*single in take/day*) – *semel in die*

SNC – Sistema nervoso central

SPF - Agentes patogénicos específicos (*specific pathogen free*)

SPSS - *Statistical Package for The Social Sciences*

TGEV – Vírus da gastroenterite transmissível (*Transmissible gastroenteritis virus*)

TNF – Factor de necrose tumoral (*Tumor necrosis factor*)

UTR – *Untranslated regions*

VCM – Volume corpuscular médio

VN - Neutralização viral

VPN – Valor preditivo negativo

VPP – Valor preditivo positivo

α – Alfa

β – Beta

γ – Gama

ω – Ómega

% - Percentagem

$\geq$ - Maior ou igual

$\leq$ - Menor ou igual

$<$ - Menor

$>$ - Maior

dL - Decilitro

g – Grama

G - Gaus

h - Horas

kDa – QuiloDalton

Kg - Quilograma

L – Litro

mg - Miligrama

mL – Mililitro

N – Amostra

p – p-value

pH – Potencial de hidrogénio iónico

rpm – Rotações por minuto

μ g – Micrograma

UI – Unidades internacionais

μ L – Microlitro

Índice Geral

A – Introdução	15
1 - Coronavírus felino	15
Taxonomia	15
Morfologia viral	16
2 - Epidemiologia	17
Prevalência	17
Factores de risco	18
Idade	18
Convívio com outros animais	19
Raça	20
Género e estado reprodutivo	20
Sazonalidade	21
Stress	21
Imunossupressão e doenças concomitantes	22
3 - Transmissão	22
4 - Infecção	23
5 - Excreção	24
B - Fisiopatologia	24
1 - Forma avirulenta – FeCoV nos enterócitos (FECV)	24
2 - Forma virulenta – mutação e invasão dos monócitos/macrófagos (FIPV)	25
Teoria da mutação interna	25
Teoria da circulação de estirpes virulentas e avirulentas	27
Teoria da resposta imune relacionada com a interacção hospedeiro-vírus	27
3 - Adsorção – entrada na célula e disseminação viral	27
C - Resposta Imunitária	28
Resposta imunitária humoral	28
Resposta imunitária celular	30
Tipo e magnitude da resposta imunitária	31
D - Apresentação clínica	31
Anamnese	32
Formas da Peritonite infecciosa Felina	33

PIF exsudativa/húmida	33
PIF não-exsudativa/seca	34
E - Diagnóstico	36
Hemograma	36
Análises bioquímicas	37
Análise do líquido de derrame	38
Análise do líquido cefalorraquidiano e do humor aquoso	40
Radiografia e ecografia	40
Testes serológicos	41
RT-PCR	42
Histopatologia	43
Imunohistoquímica	45
F - Tratamento	45
Tratamento imunossupressor	46
Tratamento imunomodulador	47
Tratamento antiviral	47
Tratamento de suporte	49
Outros tratamentos	49
G - Prevenção	49
Vacinação	50
Parte II – Trabalho experimental	51
H - Objectivos	51
I - Material e métodos	53
Caracterização da amostra	53
Critérios de seleção dos casos	53
Metodologia	54
Análise estatística dos dados	56
J - Resultados	57
Caracterização da amostra	57
Sinais clínicos	61
Alterações laboratoriais	68
K - Discussão dos resultados	72

L - Conclusão	81
Bibliografia	83
Apêndice I - valores de referência do perfil hematológico e bioquímico de felinos no HVVG I	

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Distribuição dos animais com suspeitas de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e a origem	59
Tabela 2 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e a exposição a eventos stressantes.....	61
Tabela 3 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e presença/ausência de líquido de derrame.....	62
Tabela 4 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e a ocorrência de efusões torácicas.....	62
Tabela 5 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e a ocorrência de ascite.	63
Tabela 6 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e a ocorrência de febre.	63
Tabela 7 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e a ocorrência de anorexia/perda de peso.	64
Tabela 8 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e a ocorrência de prostração/letargia.	65
Tabela 9 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e a ocorrência de vômito.....	65
Tabela 10 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e a ocorrência de icterícia.	66
Tabela 11 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e a ocorrência de sinais neurológicos.	66
Tabela 12 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e a contagem do número de leucócitos.	68
Tabela 13 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e contagem do número de linfócitos.....	69
Tabela 14 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e hiperglobulinémia.	70
Tabela 15 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e hiperbilirrubinémia	71

Índice de Gráficos

Gráfico 1 – Distribuição dos animais incluídos neste estudo retrospectivo de acordo com o motivo da realização da titulação de anticorpos anti-FeCoV.....	57
Gráfico 2 – Distribuição dos animais que participaram neste estudo retrospectivo segundo o motivo da realização de titulação de anticorpos anti-FeCoV e o resultado da titulação...	58
Gráfico 3 - Distribuição dos animais deste estudo retrospectivo suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e a idade.....	58
Gráfico 4 - Distribuição dos animais deste estudo retrospectivo dentro dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e o sexo e estado reprodutivo.	59
Gráfico 5 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e a origem.	60
Gráfico 6 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e o modo de vida.....	60
Gráfico 7 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e a ocorrência de febre.	64
Gráfico 8 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e a ocorrência de sinais neurológicos.	67
Gráfico 9 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e a ocorrência de sinais oculares.....	67
Gráfico 10 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e contagem de leucócitos.	68
Gráfico 11 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e contagem do número de linfócitos.	69
Gráfico 12 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e hiperglobulinemia.	70
Gráfico 13 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e hiperbilirrubinemia.	71

Índice de Figuras

Figura 1 - Organização modelo dos coronavírus: S - glicoproteína das espículas; M - glicoproteínas transmembranares; E - glicoproteínas de envólucro; N - fosfoproteínas da nucleocápside.	17
Figura 2 – Gato com forma exsudativa/húmida de PIF apresentando distensão abdominal.	33
Figura 3 – Radiografia de gato com forma exsudativa/húmida de PIF apresentando efusão torácica.	34
Figura 4 Figura 5 – (A) gato com forma não exsudativa/seca de PIF apresentando uveíte; (B) Gato com forma não exsudativa/seca de PIF com precipitados queráticos.	35
Figura 6 – Líquido de derrame de um gato com a forma exsudativa/húmida de PIF.	39
Figura 7 – Resultado positivo para o teste de Rivalta.	40
Figura 8 – Necrópsia da cavidade abdominal de um gato com a forma exsudativa/húmida de PIF.	43
Figura 9- Rins de um gato com a forma não exsudativa/seca de PIF com granulomas capsulares e no parênquima.	44
Figura 10 – Linfonodo mesentérico aumentado de um gato com a forma não exsudativa/seca de PIF.	44
Figura 11 – Diagrama de diagnóstico da PIF	55

A - Introdução

A peritonite infecciosa felina (PIF) é uma doença viral imunomediada, sendo considerada por alguns autores como sendo a doença viral com mais impacto em gatos (Berg, Ekman, Belák, & Berg, 2005). Com raras exceções, é fatal em poucos meses após o aparecimento de sintomas. Foi descrita pela primeira vez em 1963 no hospital Angel Memorial Animal Hospital em Boston por Holzworth (Le Poder, 2011), tendo recebido a denominação de peritonite fibrinosa crônica com base em casos detectados em algumas regiões dos Estados Unidos da América (E.U.A.). Desde então têm sido relatados casos tanto em felinos domésticos como selvagens a nível mundial (Niels C. Pedersen, Allen, & Lyons, 2008).

1 - Coronavírus felino

Taxonomia

A PIF é provocada por uma forma virulenta do coronavírus felino (FeCoV), cujo aparecimento se deve à ocorrência de mutações deste *in vivo* (D. Addie et al., 2009; Norris, 2007). Estes vírus pertencem à família *Coronaviridae* da ordem *Nidovirales*, que se caracteriza por englobar vírus de RNA de cadeia simples positiva de genoma não segmentado com invólucro (Diane D Addie & Jarrett, 2006; Herrewegh et al., 1995). Os vírus pertencentes a esta família apresentam o maior de todos os genomas dos vírus de RNA (H.-W. Chang, de Groot, Egberink, & Rottier, 2010; Paul, McHeyzer-williams, & Barthold, Stephen. Bowen, R. Hedrick, Ronald. Knowles, Donald. Lairmore, Michael. Parrish, Colin. Saif, Linda. Swayne, 2010), que se encontram distribuídos pelos géneros *Coronavirus* e *Togavirus* (Diane D Addie & Jarrett, 2006; Herrewegh et al., 1995).

Actualmente, o género Coronavírus está dividido em três novos géneros: *Alpha-*, *Beta-* e *Gammacoronavirus* (anteriormente denominados como grupos 1, 2 e 3, respectivamente) (Le Poder, 2011; Paul et al., 2010), pertencendo o FeCoV ao género *Alphacoronavirus*, que inclui vários vírus com importância na medicina veterinária e humana, nomeadamente o vírus da gastroenterite transmissível suína (TGEV), o coronavírus respiratório suíno, o coronavírus da diarreia epidémica suína (PEDV), o coronavírus entérico do furão (FRECV), o coronavírus sistémico do furão (FRSCV), o coronavírus da marta (MCoV), afecta também as hienas e os morcegos, o coronavírus serótipo 229E da bronquite humana (HCoV-229E), o coronavírus NL63 humano (HCoV-NL63), os coronavírus caninos (CCV) e os coronavírus dos coelhos (RbCoV) (Le Poder, 2011; Wang, Su, Hsieh, & Chueh, 2013). O grupo II (*Betacoronavirus*) inclui o coronavírus humano OC43 (HCoV-OC43), o coronavírus respiratório canino (CRCoV), o coronavírus equino (ECoV), os coronavírus do rato (MHV e SDAV), o vírus da

encefalomielite hemaglutinante dos suínos (PHEV) e o coronavírus dos bovinos (BCoV). O grupo III (*Gammacoronavirus*) é constituído por dois coronavírus das aves (IBV e TuCoV) e um coronavírus da baleia beluga (BWCoV SW1) (Le Poder, 2011; Paul et al., 2010).

Os coronavírus felinos podem ser divididos de acordo com as suas características serológicas e genómicas em dois serótipos antigenicamente distintos, que utilizam diferentes receptores para entrar nas células. Estes serótipos são denominados de FeCoV tipo I e tipo II, sendo o FeCoV tipo I predominante e responsável por 70-95% da morbidade e mortalidade associada à PIF (Duarte, Veiga, & Tavares, 2009; Vogel et al., 2010; Wang et al., 2013). No entanto, apesar do FeCoV tipo I induzir frequentemente títulos de anticorpos anti-FeCoV mais elevados, ambos os tipos causam a mesma sintomatologia e ambos podem causar a PIF (Benetka et al., 2004; Norris, 2007; Wang et al., 2013). O FeCoV tipo II está antigenicamente mais próximo do coronavírus canino (CCV) do que o serótipo tipo I e parece ter surgido da recombinação genética entre o FeCoV tipo I e o CCV, mais especificamente a nível do gene que codifica a proteína S, apresentando assim estes dois coronavírus espículas semelhantes (Katrin Hartmann, 2005; Sharif et al., 2010).

O FeCoV pode ainda ser diferenciado em dois biotipos, o coronavírus entérico felino (FECV) e o vírus da peritonite infecciosa felina (FIPV). Os FECV do tipo I e II causam geralmente infecções assintomáticas ou eventualmente alterações intestinais autolimitantes ou de gravidade moderada. Já o FIPV de ambos os serótipos ocorre com muito menor frequência mas causa a PIF (Licitra et al., 2013). Inicialmente julgava-se que o FECV se replicava apenas nos enterócitos, não passando a barreira intestinal e causando apenas diarreia ou infecções assintomáticas, enquanto o FIPV se replicava nos monócitos/macrófagos, e que as diferentes manifestações da doença se deviam ao diferente tropismo celular destes dois biotipos (Herrewegh et al. 1995; Pedersen 2009a). Contudo, desde que foi demonstrado que todos os FeCoV podem sofrer alterações no seu tropismo celular e induzir infecção sistémica, a distinção em biotipos tem sido evitada em muitos estudos (Advisory & Diseases, 2008; H. W. Chang, Egberink, Halpin, Spiro, & Rottie, 2012; Sharif et al., 2010).

Morfologia viral

Os viriões do FeCoV são partículas esféricas (120-140nm de diâmetro), revestidas por um envelope lipoproteico onde se inserem espículas (ou peplómeros) claviformes, longas e bem diferenciadas à superfície (Knipe & Howley, 2007) que lhes dão a aparência de uma coroa, a que se deve o nome da família (coroa do latim *corona*) (Quinn, Markey, & Leonard, 2002). No seu interior encontra-se uma cadeia de RNA linear de sentido positivo com 29 kb, associada a

várias subunidades proteicas que formam uma nucleocápside de simetria helicoidal (H.-W. Chang et al., 2010; Paul et al., 2010).

As principais proteínas que constituem o FeCoV são a proteína básica N (nucleocápside, 50kDa), que codifica uma fosfoproteína que interage com o RNA genômico viral para formar a nucleocápside viral (Knipe & Howley, 2007); a proteína S, a proteína principal das espículas (ou peplômeros) (180 kDa); a proteína transmembranar M (25 a 30 kDa), e a proteína membrana secundária ou do envelope E (9 kDa) (Murphy, Gibbs E.P.J., Horzinek, & Studdert, 1999; Paul et al., 2010) (Figura 1).

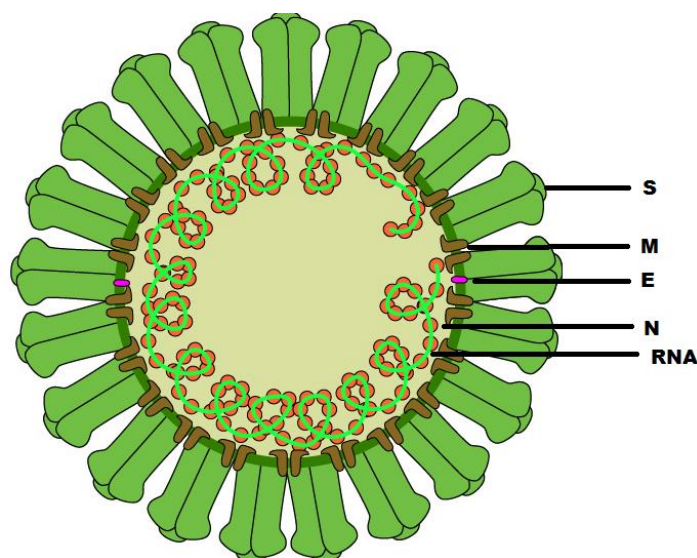


Figura 1 - Organização modelo dos coronavírus: S - glicoproteína das espículas; M - glicoproteínas transmembranares; E - glicoproteínas de envólucro; N - fosfoproteínas da nucleocápside. Adaptado de <http://virologydownunder.blogspot.pt/2014/04/mers-cov-partial-spike-gene-sequences.html>

2 - Epidemiologia

Prevalência

A PIF tem maior prevalência em abrigos ou em casas com muitos gatos (Alazawy et al., 2012). Apesar de afectar maioritariamente os felinos domésticos, pode ainda afectar felinos selvagens como o leão, pantera, leopardo, chita, jaguar, lince, serval, caracal, gato selvagem europeu, gato da areia e gato Pallas (Pedersen 2009a; Paul et al. 2010). Para que ocorra PIF tem de ocorrer previamente infecção com FeCoV, em qualquer um dos seus biotipos; no entanto, apenas 5-12% dos animais infectados com o FeCoV desenvolvem PIF (D. Addie et al., 2009; German, 2012; Vogel et al., 2010). A prevalência de PIF na população de gatos é difícil de determinar, visto que os testes serológicos para detecção de anticorpos anti-FeCoV não

conseguem distinguir o FIPV do FECV (D. D. Addie, Schaap, Nicolson, & Jarrett, 2003; Advisory & Diseases, 2008; Sharif et al., 2010).

O FeCoV infecta 20-60% dos gatos domésticos (Sharif et al., 2010), variando a sua distribuição consoante a população, sendo que 75-100% dos gatos de abrigo ou de casas com muitos gatos apresentam anticorpos anti-FeCoV, assim como 82% dos gatos de exposição e 53% dos gatos de raça pura, enquanto em ambiente doméstico com apenas um gato, apenas 10-50% dos gatos se encontram infectados (Alazawy et al., 2012; Sharif et al., 2010; Vogel et al., 2010).

O FeCoV encontra-se distribuído mundialmente, sendo que as prevalências mais elevadas foram detectadas na Áustria (>70%), E.U.A. (>60%) e Malásia (95%) (Alazawy et al., 2012; Benetka et al., 2004). Por outro lado, prevalências mais baixas foram detectadas no Reino Unido (25,6%) e Japão (14,6%) (Diane D. Addie, Paltrinieri, & Pedersen, 2004; Michimae et al., 2010). Alguns autores defendem que as diferenças na prevalência acima indicada podem explicar-se através das diferentes densidades populacionais nestes países, uma vez que quanto menor a densidade menor a probabilidade de transmissão fecal-oral e menor a carga viral. Adicionalmente, condições ambientais distintas, nomeadamente climas mais frios e húmidos, permitem uma maior sobrevivência do vírus no meio ambiente (Bell, Toribio, White, Malik, & Norris, 2006).

Adicionalmente, estudos recentes indicam que existe uma grande incidência do tipo I na Europa, Japão e E.U.A., e do tipo II em Taiwan (Duarte et al., 2009; Wang et al., 2013). Em Portugal foi realizado em 2009 um estudo para determinar a distribuição do FeCoV tipo I e II por transcrição reversa seguida de reacção em cadeia da polimerase (*Reverse transcriptase polymerase chain reaction* - RT-PCR) em 120 gatos. Das 57 amostras positivas obtidas, 79% eram do tipo I e apenas 3,5% do tipo II, sendo impossível determinar nas restantes 17,5% qual o serotipo implicado (Duarte et al., 2009).

Factores de risco

Idade

Apesar de a PIF ocorrer tipicamente em gatos jovens com idades compreendidas entre os 3 meses e 3 anos ou em gatos idosos com mais de 10 anos (Beer, 1999; Rohrbach et al., 2001; Vogel et al., 2010), esta é uma doença que pode ocorrer em qualquer idade (Diane D Addie & Jarrett, 2006).

Pensa-se que os gatinhos recém-nascidos estão protegidos pelo colostro contra o FECV até às 10 semanas de idade (Paul et al., 2010; Niels C. Pedersen et al., 2008). À medida que os

títulos de anticorpos maternos diminuem, os gatinhos são naturalmente infectados quando ocorre transmissão do FECV por parte da progenitora. Os gatinhos desenvolvem então uma resposta imunitária activa, mas geralmente esta é uma resposta eficaz, podendo ocorrer uma infecção viral persistente dos intestinos com excreção fecal crónica do vírus. Os vírus e os anticorpos co-existem nos gatinhos, sendo a infecção controlada por uma resposta imunitária celular (Murphy et al., 1999). Os gatinhos podem permanecer saudáveis mas poderão desenvolver PIF quando sujeitos a eventos stressantes tais como desmame, castração ou vacinação, ou ainda devido a imunossupressão induzida por doenças virais imunossupressoras concomitantes, tais como o síndrome da imunodeficiência felina e a leucemia felina (Diane D Addie & Jarrett, 2006). Desenvolvem-se então mutações virais simultaneamente à rápida selecção e proliferação dos macrófagos, o que leva ao desenvolvimento da PIF (Paul et al., 2010). Ocorrências em gatos idosos, por outro lado, podem estar associadas ao declínio da imunidade celular, que ocorre com o avançar da idade (Bell et al., 2006).

Worthing et al. efectuou em 2012 um estudo no decurso do qual avaliou os factores que favorecem o desenvolvimento de PIF em gatos domésticos australianos. Este estudo incluiu 382 gatos com diagnóstico de PIF confirmado por histopatologia com idades compreendidas entre os 2 meses e os 15 anos de idade. A maioria destes animais tinha menos de 1 ano de idade, tendo 50% destes menos de 7 meses de idade, não sendo assim evidente neste estudo que a PIF afecte também gatos mais velhos, como descrito por outros autores (Worthing et al., 2012).

Convívio com outros animais

Algumas ocorrências-chave na história pregressa de um gato podem indicar uma possível presença de PIF. Um desses aspectos é o contacto do gato com outros gatos infectados até 18 meses antes do início da sintomatologia suspeita, o que tende a acontecer mais frequentemente a animais que tenham acesso à rua ou que vivam em ambientes com muitos gatos, como abrigos ou criadores. O desenvolvimento de PIF 18 meses após contacto com animais infectados é muito raro, ocorrendo apenas em gatos geriátricos ou imunodeprimidos. Já um gato que não tenha acesso à rua, terá menos probabilidade de desenvolver PIF (Diane D Addie & Jarrett, 2006).

Apesar da probabilidade de um gato (de um ambiente com vários gatos) seropositivo para FeCoV, ser duas vezes superior à de um gato que não coabite com outros animais (Bell et al., 2006), ainda assim apenas 5% dos gatos provenientes de ambientes sobrepovoados desenvolvem PIF (Katrin Hartmann, 2005).

Raça

A PIF pode afectar todas as raças de gatos, principalmente as de maior porte (Beer, 1999). No entanto, algumas raças são mais predispostas a desenvolver PIF com algumas variações de acordo com os vários estudos realizados. Enquanto que as raças British Shorthair, Devon Rex, Birmanês, Bengal, Himalaio, Ragdoll e Abissínio (Pesavento & Murphy, 2014; Pesteanu-Somogyi, Radzai, & Pressler, 2006) aparentam ter um risco acrescido de desenvolver PIF, os gatos de raça Manx, Persa, Russian Blues e Siamês são raramente afectados por esta patologia (German, 2012; Pesteanu-Somogyi et al., 2006).

Num estudo (2012) realizado por Worthing et al. previamente referido, a raça foi considerada um factor de risco para a ocorrência de PIF, tendo-se verificado neste estudo que 60% dos casos de PIF ocorriam em gatos de raça pura, estando estes valores significativamente aumentados quando comparados com os valores esperados pelo “Registo de Animais de Companhia” (*Companion Animal Register – CAR*) do estado de *New South Wales* (NSW) na Austrália, um registo governamental obrigatório de todos os animais de companhia deste estado, que regista todos os dados dos gatos nele residentes, inclusive a frequência esperada da ocorrência de doenças infecciosas (Worthing et al., 2012). Neste estudo as raças mais representadas entre os animais com PIF eram a Cornish e Devon Rex, Bengal, Birmanês, Himalaio, Ragdoll e Abissínio. No entanto, outras raças puras não apresentavam uma incidência aumentada, o que levou o autor a sugerir que não é o facto de os gatos de raças puras habitarem mais frequentemente em ambientes com vários gatos e serem mais sujeitos a situações stressantes, tais como a introdução de novos gatos e cruzamentos frequentes, mas sim linhagens familiares de certas raças que determinam o risco acrescido de ocorrência de PIF (Worthing et al., 2012). Adicionalmente, um estudo recentemente realizado em 199 gatos de raça Birmanesa (raça esta que apresenta uma elevada consanguinidade e alta incidência de PIF), identificou 5 genes em 4 cromossomas distintos que parecem estar associados a uma maior susceptibilidade para o desenvolvimento da PIF (Golovko et al., 2013).

Também já foi sugerido por outros autores que a concentração de factores hereditários através de cruzamentos consanguíneos leva a uma maior susceptibilidade ao desenvolvimento da PIF (Foley & Pedersen, 1996, citado por Vennema et al. 1998).

Género e estado reprodutivo

Vários estudos têm referido que machos e animais inteiros apresentam uma maior predisposição para desenvolver PIF do que fêmeas esterilizadas (Benetka et al., 2004; Rohrbach et al., 2001). Pensa-se que as diferenças imunitárias específicas entre os perfis hormonais dos

dois sexos, em particular a nível da imunidade celular, poderão explicar esta predisposição, um fenómeno que também foi observado noutras doenças (Benetka et al., 2004; Worthing et al., 2012).

No estudo realizado em 2012 por Worthing et al., previamente referido, verificou-se que 61% dos casos de PIF registados em gatos australianos ocorrem em machos, tendo esta associação entre uma determinada doença e o género sido confirmada em 2013 num estudo realizado por Soma et al. , que defende que a influência do stress na competição e luta entre machos pode levar a um aumento da ocorrência de infecções por vírus associados ao desenvolvimento de imunossupressão, tais como o vírus da imunodeficiência felina (FIV) e o vírus da leucemia felina (FeLV).

Também no estudo realizado por Worthing et al. (2012), foi observado que gatos inteiros se apresentavam em maioria; no entanto 50% dos animais afectados detectados neste estudo tinham idades inferiores a 7 meses, idade quando muitos gatinhos já se encontram castrados. Também o facto de grande parte desses gatos inteiros pertencerem a uma população com pedigree, que muitas vezes não é sujeita a castração para permitir utilização posterior como animal reprodutor, poderá ser um motivo para a sobre-representação dos gatos inteiros como animais com uma maior predisposição a desenvolver PIF.

Sazonalidade

Alguns estudos realizados no Japão que se focaram na sazonalidade da PIF indicam que existe uma maior prevalência desta doença durante o Outono e o Inverno (Soma et al., 2013). Num estudo realizado por Rohrbach et al. em 2001 nos E.U.A., a mesma predisposição para a ocorrência de PIF foi observada, o que sugere que a sazonalidade de PIF estaria relacionada com o stress associado ao clima, uma vez que baixas temperaturas causam maior stress, e à fase do ciclo éstrico.

Stress

O stress também é considerado um factor de risco para o desenvolvimento de PIF. Principalmente em abrigos e em ambientes de criadores, o nível de stress é elevado devido ao confinamento de vários animais em espaços de tamanho reduzido, ruído elevado constante e mudanças constantes de dieta (Pesavento & Murphy, 2014). Muitos estudos têm ligado a presença do stress à indução da imunossupressão, que resulta numa maior vulnerabilidade à ocorrência de várias doenças infecciosas (Pesavento & Murphy, 2014), contudo é importante

evitar situações de stress na vida de um gato tais como cirurgias, idas para gatis/hotéis, mudanças no meio ambiente ou traumas no seu maneio (D. Addie et al., 2009).

Imunossupressão e doenças concomitantes

A patogenia da PIF apresenta interacções muito interessantes com outros agentes infecciosos, uma vez que agentes patogénicos imunossupressores como o FIV e o FeLV podem afectar a imunidade do hospedeiro, facilitando assim o desenvolvimento da PIF; esta situação é mais comumente observada em casos de co-infecção com FIV (Pedersen 2009a). Sabe-se que a presença de FIV e FeLV pode levar ao aumento da taxa de replicação do FECV no intestino, o que favorece a proliferação de FIPVs mutantes, podendo ainda inibir a capacidade do hospedeiro de responder de forma efectiva a esse mesmo vírus mutado (Poland, Vennema, Foley, & Pedersen, 1996). A infecção por FeLV suprime ainda a resposta imunitária celular, que é essencial para a resistência à infecção pelo FIPV.

No entanto, o oposto também pode ocorrer, isto é, a PIF também pode causar uma imunossupressão, o que facilita o desenvolvimento destas duas patologias, sendo no entanto difícil determinar qual dos agentes infecciosos é o primeiro a causar patogénese (Pedersen 2009a). Sabe-se que nos anos 1970s e 1980s 33-50% dos animais com PIF apresentavam simultaneamente FeLV, enquanto que apenas 10% dos gatos com PIF apresentavam FIV (Poland et al., 1996).

Actualmente, apenas 5% dos gatos com PIF apresentam FIV e/ou FeLV devido ao desenvolvimento de várias medidas profiláticas, nomeadamente, o desenvolvimento de testes rápidos de detecção FIV/FeLV, que permitem a separação dos animais FIV e/ou FeLV positivos dos animais saudáveis, assim como a vacinação contra o FeLV (Weijer et al. 1986, citado por Pedersen 2009a).

3 - Transmissão

Por ser um vírus com invólucro, o FeCoV é facilmente inactivado por desinfectantes, sobrevivendo geralmente menos de 48h à temperatura ambiente. Contudo, sob determinadas condições pode sobreviver até 7 semanas no meio ambiente, tendo nesta situação as fómites um papel muito importante na sua transmissão (D. Addie et al., 2009).

A infecção por FeCoV ocorre principalmente de forma indirecta através do contacto com fezes ou fómites contendo o vírus, ou através do contacto directo com a saliva, secreções respiratórias e urina de animais infectados, podendo o vírus também ser transmitido por aerossóis, partilha de taças de comida e *grooming* (Diane D Addie & Jarrett, 2006; H.-W. Chang

et al., 2010). E a transmissão transplacentária foi descrita numa gata que desenvolveu a doença durante a gravidez, mas é bastante rara (Advisory & Diseases, 2008).

Após a infecção, o FeCoV replica-se no intestino, estabelecendo um baixo grau de infecção crónica mantida pela resposta do sistema imunitário (H.-W. Chang et al., 2010).

Não existem evidências sólidas de que gatos com PIF transmitam FIPV directamente a outros gatos; no entanto, essa possibilidade foi sugerida como explicação para a ocorrência de “mini-surtos” de PIF em algumas partes do globo, principalmente em abrigos e criadores (Pedersen 2014b).

4 - Infecção

Estudos realizados sugerem que pequenas quantidades de FECV são suficientes para causar infecção, estando de acordo com a eficácia da disseminação do vírus que se verifica *in vivo* (Vogel et al., 2010). Normalmente os gatos são infectados por fezes contendo FeCoV provenientes de gatos com infecção entérica ou com PIF, não tendo sido ainda encontrado FIPV em secreções ou excreções de gatos com PIF. Assim sendo, a transmissão do FeCoV mutado que provoca a PIF é considerada pouco provável em condições naturais (Katrin Hartmann, 2005). No entanto, o FIPV pode ser transmitido iatrogenicamente ou sob condições experimentais, como comprovado por Pedersen et al. (2009b), uma vez que o FIPV obtido a partir de fragmentos de lesões ou do fluído de animais com PIF é altamente infeccioso quando inoculado em gatos livres de agentes patogénicos específicos (*specific pathogen free* – SPF).

Os gatinhos naturalmente expostos ao vírus começam a excretar FeCoV às 10 semanas de idade mas apresentam níveis de replicação viral inferiores a gatinhos mais velhos ou adultos que foram experimentalmente infectados (Niels C. Pedersen et al., 2008). Em gatis, os gatinhos são mais frequentemente infectados por volta das 6 semanas de idade ao contactarem com fezes provenientes de gatos adultos excretadores do vírus (D. Addie et al., 2009). Ao contrário de gatos com infecções mais duradouras, os gatinhos respondem à reinfecção tal como os gatos que recuperam da infecção, o que sugere que a imunidade materna possa ter algum papel na alteração do rumo da infecção natural, embora ainda não haja imunidade adquirida (Niels C. Pedersen et al., 2008).

Sendo assim, o vírus é mantido na população de gatos através de portadores crónicos e através da reinfecção de gatos que deixaram de excretar (Diane D Addie & Jarrett, 2006). Assume-se que maior tempo de permanência de um animal em abrigos e gatis, maior o risco de infecção (Cave, Golder, Simpson, & Addie, 2004).

5 - Excreção

Num estudo realizado por Pedersen et al. (2008) que tinha como objectivo provar que a resistência e susceptibilidade à infecção do FeCoV se deve a factores genéticos, amostras fecais de 51 gatos infectados por FeCoV foram recolhidas para avaliação dos níveis de excreção de FeCoV durante 2-10 meses. Após amplificação por RT-PCR de cDNA viral verificou-se que dos 51 gatos infectados pelo FeCoV, 11 gatos excretaram o vírus persistentemente em quantidades variáveis durante 9-24 meses, enquanto que 11 gatos apresentavam períodos intermitentes de excreção (infecções recorrentes) e 7 gatos deixaram de excretar o vírus após 5-9 meses. Para além disso, a carga viral era mais elevada em gatinhos do que em gatos mais velhos (Niels C. Pedersen et al., 2008).

Assim sendo, podem ser observados três tipos de excreção em animais infectados com FeCoV: excreção continua (10-15%), excreção intermitentemente associada a reinfeção (70-80%) e excreção nula do vírus nas fezes em animais seropositivos, apresentando estes animais aparentemente um elevado grau de imunidade (5%) (Foley, Poland, Carlson, & Pedersen, 1997; Vogel et al., 2010).

Alguns estudos indicam que a dose de inóculo viral nos gatos pode afectar o tipo de excreção que o gato vai apresentar, sendo que doses mais baixas dão origem a baixas excreções ou mesmo à não excreção do vírus no início da infecção, ao contrário do que sucede em casos de doses elevadas de inoculação (Vogel et al., 2010).

B - Fisiopatologia

Apesar de serem muito semelhantes geneticamente, o FECV e o FIPV são muito distintos do ponto de vista fisiológico.

1 - Forma avirulenta – FeCoV nos enterócitos (FECV)

O FECV entra geralmente no hospedeiro via fecal-oral, penetrando no epitélio intestinal após replicação no citoplasma de enterócitos maduros localizados no topo das vilosidades intestinais. A replicação intestinal do FECV leva à morte desses enterócitos, o que poderá eventualmente levar à ocorrência de diarreia persistente ou intermitente, aguda ou crónica, eventualmente associada a vômitos e/ou inapetência (Niels C. Pedersen et al., 2008; Vogel et al., 2010). Sabe-se que ambos os serótipos do FECV usam tipos específicos de N-aminopeptidases (APN) como receptores a nível dos enterócitos para penetrarem na célula (Tresnan, Levis, & Holmes, 1996; Tusell, Schittone, & Holmes, 2007), estando a progressão da doença do serotipo II mais caracterizada do que para o serotipo I devido ao facto de este serotipo

crescer mais facilmente em culturas celulares (Pedersen et al. 2009b). No entanto, sabe-se que em alguns casos o vírus poderá também entrar no hospedeiro por inalação, replicando-se nas amígdalas e orofaringe e sendo excretado na saliva (ainda que apenas durante algumas horas) (Diane D Addie & Jarrett, 2006). Em ambos os casos, a excreção do vírus começa após dois dias da infecção (Diane D Addie & Jarrett, 2006).

O FECV também pode infectar órgãos ricos em monócitos e macrófagos, tais como linfonodos periféricos, durante a infecção primária (Can-Şahna, Soydal Ataseven, Pinar, & Çiğdem Oğuzoğlu, 2007; Meli et al., 2004), apresentando assim uma fase intestinal e uma fase sistémica; no entanto, esta última é ligeira e de curta duração e de impacto muito inferior à infecção sistémica pelo FIPV (Can-Şahna et al., 2007; Dewerchin, Cornelissen, & Nauwynck, 2005). Apesar de nem todos os monócitos serem susceptíveis de infecção, os que o são tanto podem ser infectados pelo FECV como pelo FIPV (Dewerchin et al., 2005).

2 - Forma virulenta – mutação e invasão dos monócitos/macrófagos (FIPV)

Apesar dos vários estudos realizados até à data, os mecanismos exactos que regem a patogénese do FIPV permanecem incompreendidos. Sabe-se apenas que a alteração do tropismo viral dos enterócitos para os monócitos/macrófagos é essencial à ocorrência de PIF (Rottier, Nakamura, Schellen, Volders, & Haijema, 2005). As hipóteses sugeridas até à data são: a teoria da mutação interna, a mais comumente aceite (Niels C Pedersen et al., 2012); a teoria da circulação de estirpes virulentas e avirulentas; e a teoria da resposta imune relacionada com a interacção hospedeiro-vírus (Myrrha et al., 2011).

Teoria da mutação interna

A elevada proximidade antigénica entre o FECV e o FIPV indica que o FIPV tem origem numa mutação do FECV (Ni.C. Pedersen, Boyle, Floyd, Fudge, & Barker, 1981), que ocorre a nível dos enterócitos de um gato infectado e que alteram o tropismo viral, permitindo a sua posterior disseminação pelo organismo (D. Addie et al., 2009; Brown, Troyer, Pecon-Slattey, Roelke, & O'Brien, 2009). Pensa-se que esta mutação ocorre em animais cuja resposta imunitária não é suficientemente eficiente para conter a replicação viral, isto é, em gatos muito jovens ou imunodeprimidos (Hartmann 2005; N.C. Pedersen 2014b).

Apesar dos estudos realizados ao longo dos anos, a natureza exacta da mutação ainda não foi identificada, havendo apenas estudos que sugerem que diferenças nas sequências da proteína estrutural S e das proteínas não estruturais 3c, 7a e 7b possam estar envolvidas (Brown, 2011).

Outros estudos sugeriram que a infecção por FIPV ocorre devido não a uma mas sim a várias mutações do FECV, mutações essas que ocorrem tanto a nível do gene S como em outras regiões do genoma (H. W. Chang et al., 2012; Rottier et al., 2005). Alguns autores confirmaram que a região 5' deste gene não é essencial ao desenvolvimento de PIF (Terada et al., 2012), enquanto outros descobriram que, no caso do serótipo tipo I do FeCoV, mutações do gene S se relacionam com o fenótipo da PIF em mais de 95% dos gatos, o que poderá permitir a distinção entre os dois biotipos (H. W. Chang et al., 2012). Por último, Licitra et al. (2013) comparou sequências genómicas do FECV e do FIPV a nível da zona de clivagem da proteína S que permite a separação das subunidades S1 e S2. Verificou-se que no caso do FECV esta zona de clivagem, específica da enzima furina, se encontra intacta, enquanto no FIPV esta se encontra alterada, tendo o autor concluído que esta mutação contribui para o desenvolvimento da doença (Licitra et al., 2013).

Muitos dos estudos efectuados identificaram também mutações a nível do gene 3c, que codifica uma proteína de função desconhecida (H.-W. Chang et al., 2010). Pedersen et al. (2009b) realizou um estudo num grupo de gatos de regiões distintas e descobriu que as mutações ocorridas nesta região eram específicas de cada gato, não sendo a PIF transmitida horizontalmente entre animais. Já num estudo realizado por Chang et al. (2010), que tinha como objectivo analisar as mutações ocorridas a nível do gene 3c e verificar qual o seu impacto na virulência do vírus, foi concluído que a proteína funcional 3c é essencial à replicação do FECV no intestino, não o sendo no entanto para a replicação do FIPV sistémico. O gene 3c encontrava-se intacto em todos os animais com FECV e mutado na maioria dos animais com FIPV (71,4%), o que indica que a mutação no gene 3c contribuirá para porem não ser a única razão da maior virulência do FIPV em comparação com o FECV (H.-W. Chang et al., 2010).

Adicionalmente, pensava-se que as mutações ocorridas a nível do gene 7b levavam à atenuação da virulência (Vennema et al., 1998); no entanto, estudos mais recentes afirmam que as alterações ao nível das grelhas génicas de leitura aberta (*Open Reading Frame* - ORFs) 7a e 7b estariam relacionadas com um aumento da incidência de PIF (Kennedy, Boedeker, Gibbs, & Kania, 2001). Posteriormente, Lin et al. (2009) encontrou deleções nesta região tanto no FECV como no FIPV, o que o levou a afirmar que as mutações nestes genes não estão associadas à patogenicidade dos biotipos.

Resumindo, e apesar das várias mutações identificadas até à data no genoma do FIPV, nenhuma delas foi observada de forma consistente e apenas se sabe que o evento-chave que leva ao desenvolvimento da PIF é a infecção dos monócitos/macrófagos (Dye & Siddell, 2007;

Murphy et al., 1999) pelo FIPV, estando o FECV menos apto a replicar e disseminar-se entre os macrófagos (Murphy et al., 1999).

Teoria da circulação de estirpes virulentas e avirulentas

A teoria da existência de duas estirpes distintas, uma virulenta e outra avirulenta, foi proposta por Brown et al. (2009). Esta teoria defende que animais expostos à estirpe virulenta e com predisposição desenvolvem a doença, enquanto os animais predispostos à estirpe avirulenta não. No entanto, devido à baixa ocorrência da doença e à rara ocorrência de surtos de PIF, poucos dados existem que fundamentem esta teoria.

Teoria da resposta imune relacionada com a interacção hospedeiro-vírus

De acordo com esta teoria, a acumulação de mutações durante a replicação viral do FeCoV, leva à formação de quasispécies, à semelhança do que ocorre em outros coronavírus. Battilani et al. (2003) comprovou que a heterogeneidade do genoma do FeCoV se relaciona com a gravidade, a forma clínica de PIF e com as lesões observadas nos órgãos dos animais infectados. Para além deste estudo, não há mais associações claras entre a patogénese e a dinâmica das quasispécies. Para além da formação das quasispécies, esta teoria propõe também que o desenvolvimento da PIF esteja relacionado não só com a ocorrência de mutações mas também com o hospedeiro, nomeadamente a eficácia da resposta imunitária à infecção (Myrrha et al., 2011). Assim sendo, foi sugerido que uma resposta imunitária celular de baixa eficácia, associada a uma resposta imunitária humoral exuberante, constituem um risco acrescido para o desenvolvimento da PIF, enquanto uma resposta imunitária celular forte poderá levar a uma maior resistência à doença (Addie & Jarrett 2006; Pedersen 2009a).

3 - Adsorção – entrada na célula e disseminação viral

É considerado que o FIPV entra nos monócitos/macrófagos pelo processo de potenciação da infecção dependente de anticorpos (ADE), ou ainda através da ligação ao receptor APN (N-aminopeptidase) na ausência de anticorpos (Huisman, Martina, Rimmelzwaan, Gruters, & Osterhaus, 2009; Takano et al., 2008). No caso da ADE, a entrada do vírus nos monócitos/macrófagos é facilitada pela presença dos anticorpos anti-proteína S, que se vão ligar através da sua porção Fc ao receptor Fc existente na superfície dos monócitos/macrófagos (Huisman et al., 2009).

Após a entrada na célula por endocitose, os viriões são incorporados num endossoma que sofre posteriormente acidificação devido à acção de uma bomba de protões, processo este

necessário à invasão pelo FIPV (Takano et al., 2008) pois permite a fusão do envelope viral com a membrana do endossoma e a activação das catepsinas e proteases de cisteína do sistema endossomal, com consequente libertação do material genético viral no citoplasma dos monócitos (Eifart et al., 2007; Regan, Shraybman, Cohen, & Whittaker, 2008).

Tem então início a replicação viral no interior dos monócitos infectados, que leva à replicação e disseminação viral com especial incidência em tecidos-alvo, tais como os linfonodos mesentéricos, a superfície serosa do intestino e ainda, com menor frequência, a pleura, o omento, as meninges (principalmente na porção caudal e ventral do cérebro), a dura-máter da espinal medula, a úvea e a retina (Pedersen 2009a). Ao atingirem os tecidos-alvo, como resultado da interacção entre complexos antigénio-anticorpo e as células endoteliais, ocorrem vasculites, patologia característica da PIF (a Kipar & Meli, 2014; Porter et al., 2014). Aquando da diferenciação dos monócitos infectados em macrófagos activados, são libertadas aminas vasoactivas, factores quimiotácticos e mediadores da inflamação, que vão induzir a contracção das células endoteliais, o que aumenta a sua permeabilidade e favorece a saída das proteínas plasmáticas do seu interior, dando origem ao derrame rico em proteínas muitas vezes observado em animais com PIF. Os factores quimiotácticos podem ainda atrair mais monócitos que serão posteriormente infectados, favorecendo a disseminação da doença pelo organismo do animal, enquanto os mediadores inflamatórios destroem os tecidos devido à activação de enzimas proteolíticas, levando assim à formação dos piogranulomas característicos da PIF (Katrín Hartmann, 2005).

C - Resposta Imunitária

Resposta imunitária humoral

Alguns autores defendem que os anticorpos anti-FeCoV que se formam aquando da infecção por PIF não são eficazes na eliminação do vírus, talvez devido ao facto do seu aparecimento ser tardio (Groot-mijnes, Dun, Most, Groot, & Groot, 2005); pelo contrário, estes parecem favorecer o desenvolvimento de PIF tanto *in vitro* (transfusão de anticorpos imunoglobulinas G purificados) como *in vivo* (infecção natural) em gatos previamente imunizados contra o FeCoV (Myrrha et al., 2011; Paul et al., 2010). No entanto e apesar dos gatinhos serem protegidos pelos anticorpos maternos existentes no colostro e de a infecção pelo FeCoV poder ser intermitente, considera-se que em algumas situações possa haver uma resposta imunitária humoral contra a proteína S do vírus (Paul et al., 2010; Niels C. Pedersen et al., 2008). A ocorrência de ADE poderá explicar o desenvolvimento acelerado da PIF na presença de anticorpos (Myrrha et al., 2011; Vennema et al., 1990). Isto porque os anticorpos

poderão ajudar na disseminação do vírus em gatos infectados ao facilitar a entrada dos viriões nos macrófagos através da formação de complexos antígeno-anticorpo, que são incorporados pelos macrófagos/monócitos não infectados através do receptor Fc (Pedersen 2009a; Myrrha et al. 2011). Os gatos em que ocorre ADE desenvolvem a doença em menos de 12 dias (Diane D Addie & Jarrett, 2006), tendo sido também proposto que o ADE não ocorre em animais com uma forte resposta imunitária celular, mesmo que estes possuam anticorpos anti-FeCoV em circulação (Takano et al., 2008).

Outro processo associado ao desenvolvimento dos sinais clínicos associados ao desenvolvimento de PIF (Niels C Pedersen et al., 2012) é a ocorrência de uma reacção de hipersensibilidade do tipo III, também denominada por hipersensibilidade tipo-Arthus, que ocorre no interior das vénulas e leva à ocorrência de vasculites, edema, migração de células inflamatórias e necrose como resposta à presença do antígeno viral e de imunoglobulina G (IgG) dentro dos macrófagos (Kipar et al. 2005; Pedersen 2009a). Neste processo, a deposição dos complexos antígeno-anticorpo na parede dos vasos sanguíneos, principalmente nas vénulas (e posterior fixação do complemento), vão levar à activação do sistema complemento e de neutrófilos, desencadeando um conjunto de respostas inflamatórias na tentativa de eliminar o vírus, através da activação de proteínas da membrana plasmática, na sua maioria proteases, que reagem entre elas para facilitar a opsonização do agente patogénico (Arosa, Cardoso, & Pacheco, 2007; a Kipar et al., 2005). A deposição dos complexos antígeno-anticorpo ocorre essencialmente em locais de elevada pressão sanguínea e muito irrigados como o peritонеu, os rins e a úvea (Katrin Hartmann, 2005). Apesar de os complexos antígeno-anticorpo serem reconhecidos pelos macrófagos, pensa-se que estes não são apresentados às “*Natural Killer Cells* (células NK)”, células estas que são linfócitos citotóxicos produtores de citocinas responsáveis pela regulação de respostas imunes inatas e adaptativas (Arosa et al., 2007; a Kipar et al., 2005).

Considera-se que a imunidade humoral associada à secreção da imunoglobulina A (Ig A) possa ser particularmente importante na prevenção da infecção das células epiteliais numa fase inicial da doença (Diane D Addie & Jarrett, 2006). A importância de outras substâncias biológicas, como a amiloide sérica A (SAA) e a alfa-glicoproteína ácida (α -AGP) na protecção de gatos contra a PIF também tem vindo a ser muito questionada (Diane D Addie & Jarrett, 2006), visto terem sido detectadas variações nas quantidades das mesmas durante a infecção pelo FIPV.

Em resumo, ambos os processos associados à imunidade humoral acima descritos parecem associar o desenvolvimento de PIF ao aparecimento dos anticorpos anti-FeCoV em circulação (Pedersen 2009a).

Resposta imunitária celular

Esta parece ser mais eficaz como resposta contra o PIFV; no entanto, o desenvolvimento da doença vai depender do estado imunitário do hospedeiro, principalmente da resposta dos linfócitos T ao vírus (Groot-mijnes et al. 2005; Pedersen 2009a).

No diagnóstico da doença, é muito comum a detecção de linfopenia na realização do hemograma, uma situação que se pensa ser causada pela ocorrência de apoptose dos mesmos, com depleção dos linfócitos T, incluindo os linfócitos CD4⁺ e os linfócitos CD8⁺ (Diane D Addie & Jarrett, 2006; Groot-mijnes et al., 2005). Este processo ocorre principalmente nos linfonodos, no baço e também no sangue periférico (Diane D Addie & Jarrett, 2006), e contribui para um aumento da replicação viral, visto que os linfócitos T são os principais responsáveis pela resposta celular contra o vírus (Groot-mijnes et al., 2005).

Tanto os linfócitos Th1 como Th2 parecem ter um papel importante na resposta imunitária à infecção pelo FeCoV, sendo que os linfócitos Th1 regulam a resposta celular contra o vírus através da secreção de citocinas como a interleucina-2 (IL-2), interferão- γ (IFN- γ), factor de necrose tumoral- α (TNF- α) e factor de necrose tumoral- β (TNF- β), enquanto os linfócitos Th2 regulam a resposta humoral através da secreção de citocinas como interleucina-4 (IL-4), interleucina-5 (IL-5), interleucina-9 (IL-9), interleucina-10 (IL-10) e interleucina-13 (IL-13) (Arosa et al., 2007). Curiosamente, gatos com PIF apresentam os linfócitos Th1 convertidos em Th2, ocorrendo uma resposta humoral exacerbada que, ao invés de proteger o animal, leva ao desenvolvimento da doença (Arosa et al., 2007).

A acção da TNF- α secretada pelos monócitos/macrófagos e outras citocinas parece ser a causa mais provável para a ocorrência da apoptose dos linfócitos CD4⁺ e CD8⁺, visto que esta não pode ser induzida directamente pela infecção, visto que o FIPV não se replica nos linfócitos (Haagmans, Egberink, & Horzinek, 1996; Takano et al., 2008). Existem dois tipos de receptores para o TNF- α que induzem a ocorrência de apoptose: o receptor do factor de necrose tumoral-1 (TNFRF-1), que está directamente relacionado com morte celular, e o receptor do factor de necrose tumoral-2 (TNFRF-2), que auxilia na transdução do sinal de apoptose, estando a expressão do mRNA aumentada especialmente nos linfócitos CD8⁺, daí estes parecerem ser mais susceptíveis à apoptose (Takano, Hohdatsu, Toda, Tanabe, & Koyama, 2007).

Assim sendo, uma fraca resposta imunitária contra o FIPV poderá ser causada por um desequilíbrio entre a libertação de TNF- α e de IFN- γ pelos macrófagos causando danos ao nível dos linfócitos (Kiss, Poland, & Pedersen, 2004), isto porque uma resposta com elevado TNF- α e baixos níveis de IFN- γ favorece o desenvolvimento da doença, enquanto o inverso poderá levar a uma resposta imunitária eficaz contra o vírus, visto que o TNF- α favorece a resposta imunitária humoral (Th2) e o IFN- γ favorece a resposta imunitária celular (Th1) (Kiss et al., 2004). No entanto, o papel do IFN- γ no aumento da resposta imunitária celular tem vindo a ser muito discutido. Estudos realizados sugerem que gatos infectados com FeCoV assintomáticos ou com sinais clínicos da forma efusiva ou húmida da doença apresentam um aumento da concentração sérica e do líquido de derrame de IFN- γ , sugerindo assim que, mesmo na presença de uma forte resposta imunitária celular, o sistema imunitário tanto pode combater como ser permissivo a infecção (Giordano & Paltrinieri, 2009). Assim, o desenvolvimento da doença com aumento das concentrações de IFN- γ poderá ser explicado pelo facto de os macrófagos serem activados pela presença de IFN- γ , o que leva ao aumento da replicação viral (Berg et al., 2005).

Tipo e magnitude da resposta imunitária

O tipo e a magnitude da resposta imunitária ao desenvolvimento de PIF parece determinar a forma como a PIF se irá manifestar (Pedersen 2009a). Uma resposta imunitária humoral exacerbada associada a uma resposta imunitária celular fraca ou inexistente poderá levar à manifestação da forma aguda, exsudativa ou húmida da doença, caracterizada pelo desenvolvimento de vasculites que leva à passagem de fluído rico em proteínas através das paredes dos vasos sanguíneos nas cavidades torácica e abdominal.

Já uma resposta imunitária humoral associada a uma resposta imunitária celular parcial poderá levar ao desenvolvimento da forma não crónica, não exsudativa ou seca de PIF, que se caracteriza pelo aparecimento de lesões granulomatosas ou piogranulomatosas em vários órgãos (Pedersen 2009a; Sharif et al. 2010). Finalmente, em animais que desenvolvem uma resposta imunitária humoral associada a uma resposta imunitária celular completa a PIF parece não ocorrer (Pedersen 2009a).

D - Apresentação clínica

A patologia e os sinais clínicos que ocorrem num animal com PIF são consequências directas da vasculite e dos danos causados nos órgãos provocados pela destruição dos vasos sanguíneos que os irrigam (Diane D Addie & Jarrett, 2006; Katrin Hartmann, 2005). Em gatos

seronegativos infectados experimentalmente, os primeiros sinais clínicos de PIF surgiram 10-16 dias após infecção, coincidindo estes quase sempre com o aparecimento de anticorpos anti-FeCoV (Pedersen 2009a). No entanto, na infecção natural, os primeiros sinais clínicos podem desenvolver-se algumas semanas até 2 anos pós-infecção, dependendo o aparecimento das mutações e da resposta imunitária de cada gato ao vírus (Katrin Hartmann, 2005). Contudo, foi demonstrado que existe maior risco do desenvolvimento de PIF após 6 a 18 meses da infecção pelo FeCoV e que esse risco diminui 4% após 36 meses da infecção (D. D. Addie, Toth, Murray, & Jarrett, 1995).

Geralmente, os primeiros sinais clínicos desenvolvidos na PIF são muito vagos e inespecíficos, sendo idênticos aos de muitas outras doenças infecciosas ou inflamatórias (Murphy et al., 1999). Os gatos afectados apresentam anorexia/perda de peso, febre, prostração e, menos frequentemente, vômito e icterícia (Michimae et al., 2010; Murphy et al., 1999). Todos os gatos que apresentem sinais inespecíficos como os referidos anteriormente deve ter-se em conta a PIF nas possibilidades de diagnóstico diferencial (Katrin Hartmann, 2005). Ocasionalmente, também são detectados sinais clínicos oculares e neurológicos, principalmente na forma não-exsudativa ou seca da doença (Murphy et al., 1999). Já na forma exsudativa/húmida da doença, os sinais clínicos anteriormente descritos são geralmente acompanhados por uma distensão abdominal (ascite) ou por dispneia, como consequência da presença de líquidos de derrame na cavidade abdominal e torácica, respectivamente (Murphy et al., 1999). A quantidade do fluído pode variar de alguns mililitros até bastante mais de um litro (Murphy et al., 1999).

Anamnese

Como previamente descrito, para além da idade, da raça e da co-habitação com outros gatos (Addie & Jarrett 2006; Pedersen 2014b), existem dois aspectos muito importantes a considerar na anamnese de um gato suspeito de PIF. O primeiro a considerar é se este esteve em contacto com gatos infectados com FeCoV, o que ocorre mais frequentemente em gatis de criação, abrigos temporários, com animais que têm acesso à rua e, mais raramente com animais que tenham sido internados em hospitais veterinários ou que tenham ido a exposições nos últimos 18 meses (Diane D Addie & Jarrett, 2006). É muito raro que, após este período, gatos que vivam indoor isolados de outros gatos desenvolvam PIF. O segundo aspecto a considerar é se o gato foi sujeito a algum evento stressante recentemente, nomeadamente a realização de uma esterilização/castração ou outras cirurgias, a introdução de um novo gato ou de outras

alterações no seu ambiente, se foi adoptado recentemente, idas para gatis/hotéis ou traumas associados ao seu manejo (D. Addie et al., 2009).

Formas da Peritonite infecciosa Felina

PIF exsudativa/húmida

A forma exsudativa ou húmida de PIF ocorre geralmente 4 a 8 semanas após a infecção ou após um evento stressante (Diane D Addie & Jarrett, 2006). Os gatos que desenvolvem a forma efusiva podem apresentar uma carga viral elevada associada à ocorrência de vasculites e piogranulomas disseminados. Os piogranulomas típicos de PIF ocorrem em vários tecidos e órgãos, tais como os pulmões, o fígado, o baço, o omento e o cérebro (Groot-mijnes et al., 2005). Nesta forma da doença o mais comumente encontrado são os piogranulomas ao nível do omento e da pleura, daí o principal sinal clínico desta ser a acumulação de líquido de derrame a nível torácico e abdominal. Calcula-se que 50% dos gatos que apresentam líquido de derrame torácico e/ou abdominal terão PIF (Katrinn Hartmann, 2005).

Os gatos com ascite apresentam frequentemente distensão abdominal, em casos menos graves, o líquido apenas pode ser detectado entre as ansas intestinais por digitalização rectal (Katrinn Hartmann, 2005), que também permite a detecção de massas abdominais devido à formação de adesões viscerais e do omento ou devido a linfadenomegália dos linfonodos mesentéricos (Katrinn Hartmann, 2005).



Figura 2 – Gato com forma exsudativa/húmida de PIF apresentando distensão abdominal. Adaptado de www.peticy.com/nao-existe-uma-cura-a-vista-para-peritonite-infecciosa-felina-fotos

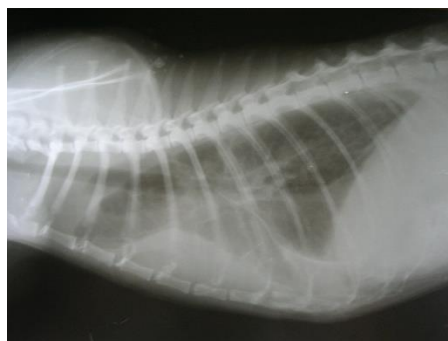


Figura 3 – Radiografia de gato com forma exsudativa/húmida de PIF apresentando efusão torácica. Adaptado de <https://historiasveterinarias.wordpress.com/tag/derrame-pleural>

Gatos que apresentem líquido de derrame a nível torácico poderão apresentar em consequência dispneia e taquipneia, respiração de boca aberta e mucosas cianóticas (Katrin Hartmann, 2005). À auscultação os batimentos cardíacos são abafados, podendo haver também a presença de líquido de derrame a nível pericárdico que poderá ser detectada por ecocardiografia (Katrin Hartmann, 2005). No entanto, também há muitos sinais clínicos inespecíficos, uma vez que gatos que apresentem líquidos de derrame tanto podem estar activos como apresentar sintomatologia suspeita. Já a presença de icterícia e vômito poderão ser uma consequência da falha de outros órgãos associada à presença de efusões (Katrin Hartmann, 2005).

PIF não-exsudativa/seca

A forma não-exsudativa ou seca de PIF ocorre geralmente já na fase terminal da doença, podendo manifestar-se semanas a meses após a infecção (Diane D Addie & Jarrett, 2006). Pensa-se que esta poderá surgir na sequência de uma resposta imunitária celular parcial ou baixa estando associada frequentemente ao aparecimento de piogranulomas de maiores dimensões. Os sinais clínicos desta forma da doença dependem muito do órgão afectado pelos piogranulomas e são pouco específicos (Diane D Addie & Jarrett, 2006). No entanto, nesta forma da doença podem surgir ocasionalmente sinais clínicos oculares e neurológicos. Entre os principais sinais oculares associados a esta forma da doença encontra-se a uveíte (Diane D Addie & Jarrett, 2006), hipópion, deposição de precipitados queráticos (causados pela acumulação de células inflamatórias na câmara anterior), alteração da cor da íris, anisocoria, coriorretinite, hemorragias e deslocamento da retina (Bistner, 1994; Katrin Hartmann, 2005).

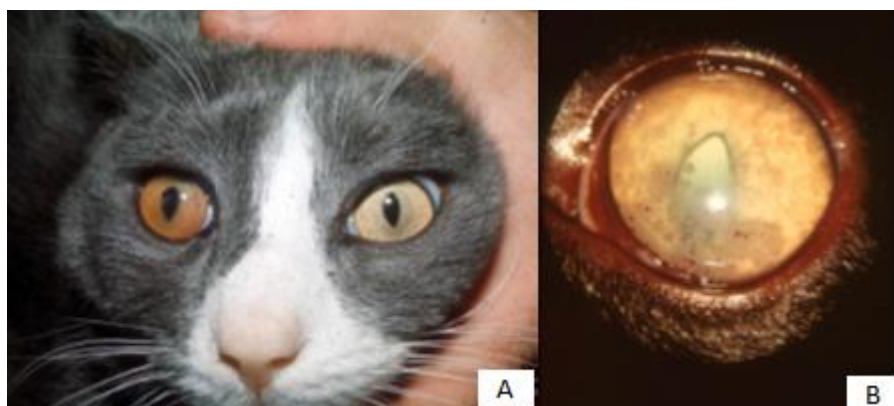


Figura 4 Figura 5 – (A) gato com forma não exsudativa/seca de PIF apresentando uveíte; (B) Gato com forma não exsudativa/seca de PIF com precipitados queráticos. Adaptado de Pedersen 2009a

Relativamente aos sinais clínicos neurológicos, o sistema nervoso central (SNC) está afectado em 13% dos animais com PIF; mesmo animais que não apresentam deficits neurológicos podem apresentar lesões microscópicas inflamatórias apenas detectáveis após realização de histopatologia (Katrin Hartmann, 2005; Rand, Parent, Percy, & Jacobs, 1994). Os principais sinais clínicos neurológicos detectados em gatos com PIF são: convulsões, paresia dos membros posteriores, ataxia generalizada, hiperestesia toracolombar, nistagmos, anisocoria, mudanças no comportamento, apreensão, desorientação, tetraparesia, tremores e incontinência urinária (Diaz & Poma, 2009; Echeto et al., 2005; Foley, Lapointe, Koblik, Poland, & Pedersen, 1998). Num estudo realizado por Bradshaw et al. (2004) com 286 gatos com sinais clínicos neurológicos, mais de metade tinha PIF.

Na maioria dos casos, o órgão onde se formam mais frequentemente piogranulomas é o intestino, principalmente a nível da junção ileocecal, podendo os gatos manifestar diferentes sinais clínicos associados a esta ocorrência, nomeadamente diarreia crónica e vômito (Diane D Addie & Jarrett, 2006; Harvey, Lopez, & Hendrick, 1996). A palpação abdominal poderá ainda revelar zonas de espessamento intestinal, linfadenomegália dos linfonodos mesentéricos, rins irregulares ou alterações irregulares noutras vísceras (Katrin Hartmann, 2005; A. Kipar, Koehler, Bellmann, & Reinacher, 1999).

Para além da forma exsudativa/húmida e não exsudativa/seca, existem também uma forma mista de PIF, que aparece em gatos que apresentam um maior ou menor grau de efusão em combinação com alterações granulomatosas em vários órgãos, não sendo possível nestes casos a classificação de forma húmida e seca (Katrin Hartmann, 2005). Mais recentemente, concluiu-se que a manifestação da forma mista da doença corresponde a uma transição, isto é, à passagem da forma seca para a húmida, classicamente considerada a fase terminal da doença

crónica, ou da forma húmida para a seca, classicamente considerada como sendo a fase inicial da doença (Pedersen 2009a).

E - Diagnóstico

O diagnóstico de PIF é extremamente complicado e depende da realização de vários exames complementares (D. Addie et al., 2009). A técnica mais utilizada para o diagnóstico definitivo de PIF por excelência é a histopatologia (*gold standard*), que tem a desvantagem de apenas ser realizada *post-mortem* ou mais raramente através da realização de biópsias (Diane D Addie & Jarrett, 2006). Assim sendo, o diagnóstico de PIF baseia-se muitas vezes na associação entre os dados colhidos na anamnese, os sinais clínicos e os exames complementares, tais como testes laboratoriais e serologia, nomeadamente a titulação de anticorpos anti-FeCoV. Uma vez que os gatos com PIF geralmente são eutanasiados é importante diferenciar a PIF de outras doenças para as quais existe tratamento (Diane D Addie & Jarrett, 2006).

Hemograma

Apesar de o hemograma do gato com PIF na forma húmida e seca apresentar várias alterações nenhuma é patognomónica. É típico encontrar leucocitose, linfopenia e neutrofilia com desvio à esquerda, uma situação que pode ser frequentemente confundida com um quadro de “leucograma de stress” (Diane D Addie & Jarrett, 2006; Sharif et al., 2010). Apesar de a leucocitose ser mais comum, a leucopenia também poderá ocorrer na PIF (D. Addie et al., 2009; Katrin Hartmann, 2005); esta depleção linfocitária pode ser detectada por imunofenotipagem ou por citometria de fluxo (Groot-mijnes et al., 2005).

Cerca de 65% dos gatos com PIF apresentam anemia ocasionalmente regenerativa, como possível consequência da ocorrência de uma anemia hemolítica autoimune (AHAI); neste caso são detectados auto-anticorpos na superfície dos eritrócitos, dando o teste de Coombs resultado positivo (Katrin Hartmann, 2005). Na forma não exsudativa/seca da doença a anemia não regenerativa (< 30%) é mais comum encontrando-se associada a uma inflamação crónica (Diane D Addie & Jarrett, 2006), que pode também ocorrer em inúmeras doenças crónicas felinas. Também na forma não exsudativa/seca da doença poderá detectar-se uma trombocitopenia leve a moderada, o que poderá indicar a ocorrência de coagulação intravascular disseminada (CID) ou uma destruição plaquetária imunomediada desencadeadas pela vasculite (Katrin Hartmann, 2005; Sykes, 2014). Os gatos que apresentem colite

granulomatosa podem ainda apresentar um aumento dos corpos de Heinz nos eritrócitos, o que leva ao aumento da hemólise (Diane D Addie & Jarrett, 2006; Katrin Hartmann, 2005).

Análises bioquímicas

Vários parâmetros bioquímicos podem encontrar-se elevados, tais como enzimas hepáticas, bilirrubina, ureia e creatinina, dependendo da localização das lesões causadas pela PIF, tendo por isso pouco valor diagnóstico (Norris, 2007; Sharif et al., 2010).

No perfil bioquímico o parâmetro que se apresenta mais consistentemente elevado são as proteínas séricas totais (PT), o que acontece em 50% dos animais afectados pela forma exsudativa/húmida da doença e em 70% dos animais pela forma não exsudativa/seca (Diane D Addie & Jarrett, 2006; Sharif et al., 2010). A ocorrência desta hiperproteinémia deve-se essencialmente a um aumento das globulinas, principalmente das γ -globulinas, que é característica desta doença, podendo no entanto, não haver hiperproteinémia mas ocorrer na mesma uma diminuição do rácio albumina:globulina (rácio A:G) devido a um aumento das globulinas associado a uma concentração de albumina normal ou diminuída, provocado pela estimulação das células B pela IL-6 (Diane D Addie & Jarrett, 2006; Sharif et al., 2010). Um rácio A:G inferior a 0,4 é indicador de PIF, enquanto um rácio superior a 0,8 não é indicador de PIF; rácios que se localizem entre 0,4 e 0,8 são inconclusivos (Katrin Hartmann et al., 2003). Para além do rácio de A:G, também se poderá realizar uma electroforese das proteínas séricas, uma vez que muitos animais com PIF apresentam uma hiperglobulinémia policlonal caracterizada essencialmente pelo aumento das globulinas α_2 e γ . No entanto, este método é um pouco limitado visto que não permite a diferenciação entre PIF e algumas doenças tumorais (S Paltrinieri, Cammarata, Cammarata, & Comazzi, 1998).

A ocorrência de hipoalbuminémia poderá ocorrer em animais com PIF devido a insuficiência hepática, ao extravasamento do fluído rico em proteínas que ocorre durante a vasculite, perdas urinárias em animais com glomerulopatia secundária à deposição de complexos imunes ou devido a inflamação, sendo mais frequente na forma efusiva/húmida de PIF associada à presença de líquidos de derrame (Katrin Hartmann et al., 2003).

Para além do aumento das proteínas séricas, também poderá ocorrer o aumento de proteínas de fase aguda (APPs). Estas são glicoproteínas presentes no soro cuja concentração varia durante os processos inflamatórios (Sharif et al., 2010). O aumento de glicoproteínas como a glicoproteína ácida α_1 (AGP) e a proteína amilóide sérica A (SAA) podem ser indicativas de PIF, especialmente quando mensuradas no plasma ou líquidos de derrame com concentrações superiores a 1,5g/L, o que permite diferenciar a PIF de outras doenças

cl clinicamente semelhantes tais como cardiomiopatias e neoplasias (Addie & Jarrett 2006; Paltrinieri, Giordano, et al. 2007b). No entanto, ainda que o aumento da SAA em animais com PIF seja dez vezes superior ao de um animal infectado com FeCoV assintomático, o aumento da AGP também pode ocorrer em gatos portadores do FeCoV assintomáticos (Paltrinieri, Metzger, et al. 2007a).

A bilirrubina é outro parâmetro que se pode encontrar aumentado, especialmente na forma exsudativa/húmida da doença (Diane D Addie & Jarrett, 2006; Katrin Hartmann, 2005), sendo esta doença a causa mais comum para a detecção de soro e plasma ictérico em gatos com menos de 3 anos de idade (Pedersen 2009a). Ao longo dos anos foram realizados vários estudos para determinar a causa desta hiperbilirrubinémia que, segundo Hartmann (2005), se deve à necrose hepática e, menos frequentemente à hemólise secundária a AHAI. Segundo Pedersen (2009a) a ocorrência de icterícia não se deve ao envolvimento hepático mas sim à ocorrência de microhemorragias e hemólise extravascular secundária à vasculite e CID, e ao facto de estes gatos terem uma deficiência no transporte da hemoglobina. Foi também proposto que a hiperbilirrubinémia poderia ser causada pelo aumento das concentrações de TNF- α , que inibem o transporte transmembranar causando danos a nível metabólico e excreção da bilirrubina para o sistema biliar (D. Addie et al., 2009; Katrin Hartmann, 2005).

Análise do líquido de derrame

No caso de um animal apresentar líquidos de derrame, é importante proceder à avaliação do mesmo, tendo esta um valor de diagnóstico superior ao valor de diagnóstico dos testes laboratoriais realizados ao sangue (Katrin Hartmann, 2005). Tanto a titulação de anticorpos anti-FeCoV como o cálculo do rácio A:G no líquido de derrame são mais fiáveis que os realizados no sangue (Xufre, 2014), sendo que a titulação positiva de anticorpos anti-FeCoV (em efusões) apresenta um valor preditivo positivo (VPP) de 90% e um valor preditivo negativo (VPN) de 79% superiores às do soro (Katrin Hartmann et al., 2003). No entanto, é preciso ter em atenção que com colangite linfocítica, neoplasias hepáticas e linfomas apresentam líquidos de derrame muito semelhantes aos da PIF (Tasker & Gunn-Moore, 2000), podendo as alterações no hemograma e nos parâmetros bioquímicas ser muito semelhantes, o que dificulta a diferenciação (Sparkes, Gruffydd-Jones, & Harbour, 1991). Sinais clínicos que poderão ajudar a diferenciar a PIF destas doenças são a presença de anemia não-regenerativa, uveíte e efusões torácicas em casos de PIF (Sparkes et al., 1991; Tasker & Gunn-Moore, 2000).

O líquido de derrame típico da PIF é transparente, de cor amarelo-palha, densidade elevada (1,017-1,047) e muitas vezes viscoso devido à elevada concentração em proteínas,

podendo inclusivé conter coágulos de fibrina (Diane D Addie & Jarrett, 2006; Katrin Hartmann, 2005).



Figura 6 – Líquido de derrame de um gato com a forma exsudativa/húmida de PIF. Adaptado de <http://www.caesegatos.com.br/peritonite-infecciosa-felina-um-desafio-diagnostico/>

Esta concentração proteica deve-se ao aumento da concentração das γ -globulinas em circulação. No entanto, o líquido de derrame do animal com PIF poderá apresentar características distintas, sendo necessária a realização da titulação de anticorpos anti-FeCoV para confirmar o diagnóstico (Hartmann 2005; Pedersen 2014a). A efusão característica na forma húmida de PIF é na maioria das vezes classificada como um transudado modificado ou como uma combinação entre um exsudado e um transudado; isto porque a concentração proteica deste líquido é geralmente elevada ($> 35\text{g/L}$), o que reflecte a composição do soro, enquanto a concentração celular baixa é característica dos transudados puros (<1000 células nucleadas por mililitro) (Hartmann 2005; Pedersen 2014a). Quando realizada citologia é mais comum observar neutrófilos não tóxicos mas que podem apresentar uma ligeira degeneração nuclear, e macrófagos, podendo ainda haver plasmócitos e linfócitos (Sharif et al., 2010). No entanto, esta técnica apenas é utilizada para descartar a presença de outras doenças visto que não é específica para PIF (Giori, Giordano, Giudice, Grieco, & Paltrinieri, 2011).

Outro parâmetro que pode ser usado como indicador do diagnóstico de PIF é a medição da actividade enzimática no líquido de derrame. A concentração de enzimas como a lactato-desidrogenase (LDH), libertada pelas células inflamatórias, e a alfa-amilase (α -amilase), libertada em caso de lesão do pâncreas, podem também encontrar-se elevadas. Outra enzima que tem sido estudada para distinguir diferentes causas de derrame tem sido a adenosina desaminase (AD), a qual se encontra em concentrações bastante elevadas em animais com PIF, de acordo com alguns autores (Hirschberger & Koch, 1995).

O teste de Rivalta é utilizado para diferenciar as efusões por PIF de efusões causadas por outras doenças. Este teste fácil e barato pode ser realizado no próprio hospital veterinário. O teste consiste em colocar 7 a 8 mL de água destilada num tubo de ensaio e adicionar uma gota de ácido acético a 98% e uma gota do líquido de derrame torácico ou abdominal recolhido

do animal. O alto conteúdo proteico, a presença de fibrina e dos mediadores inflamatórios no líquido de derrame de PIF, levam à formação de um precipitado proteico que em pH ácido faz com que a gota deste mantenha a sua forma, permanecendo na superfície ou movendo-se lentamente para o fundo do tubo (D. Addie et al., 2009; Yvonne Fischer, Sauter-Louis, & Hartmann, 2012).

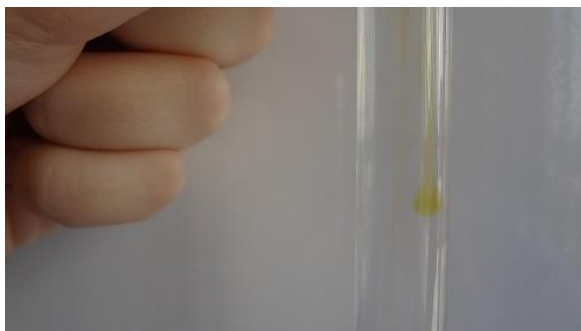


Figura 7 – Resultado positivo para o teste de Rivalta. Adaptado de <http://www.caesegatos.com.br/peritonite-infecciosa-felina-um-desafio-diagnostico>

Se o líquido de derrame se dissipar na solução o resultado é negativo. O teste de Rivalta permite assim a distinção entre exsudado e transudado (Fischer et al. 2012).

No entanto, o teste pode originar falsos positivos no caso de linfomas e de peritonite bacteriana. Segundo Hartmann et al. (2003) este teste tem um VPP de 86% e um VPN de 96%.

Análise do líquido cefalorraquidiano e do humor aquoso

A análise ao líquido cefalorraquidiano (LCR) é efectuada quando o gato apresenta PIF neurológica, ao passo que a análise ao humor aquoso é realizada quando o gato apresenta sinais clínicos oculares suspeitos de PIF, tais como uveíte. Em ambos os casos ocorre uma hiperproteinémia e uma leucocitose (Paltrinieri et al. 2001; Pedersen 2009a), à semelhança do que se verifica no líquido de derrame. O LCR de um animal com PIF poderá apresentar concentrações de proteínas superiores a 200mg/dL e uma contagem de leucócitos superior a 100 células/ μ L, principalmente linfócitos, neutrófilos e macrófagos (Foley et al., 1998). No entanto, estes valores não são específicos de PIF, podendo o LCR não apresentar quaisquer alterações (Boettcher et al., 2007).

Radiografia e ecografia

A radiografia e ecografia são dois exames complementares muito utilizados no diagnóstico da PIF. A radiografia pode revelar efusões na pleura, pericárdio e peritoneu, assim

como hepatomegália e renomegália. Alguns gatos podem ainda apresentar linfadenopatia mesentérica, que surge como uma massa abdominal na radiografia (Sharif et al., 2010).

Já a ecografia é utilizada para a confirmação da presença de líquido livre, sendo mais eficaz quando a presença deste é mínima. Pode ainda ser utilizada para a avaliação do pâncreas, fígado, linfonodos e rins (Sharif et al., 2010).

Outro exame que pode ainda ser utilizado, mas que não é muito procurado, é a ressonância magnética, que pode revelar dilatação ventricular e hidrocefalia em gatos com PIF neurológica (Sharif et al., 2010).

Testes serológicos

A utilização dos testes serológicos para diagnóstico de PIF, nomeadamente a detecção de anticorpos anti-FeCoV, tem sido bastante criticada ao longo dos anos, sendo no entanto importante para o diagnóstico e tratamento da doença quando executado e interpretado correctamente (Diane D Addie & Jarrett, 2006).

Existem vários testes serológicos disponíveis, sendo os mais utilizados a imunofluorescência indirecta (IFI), a imunoabsorção enzimática (ELISA), o teste mais sensível (Pratelli, 2008), e a neutralização viral (VN) (Murphy et al. 1999; Pedersen 2009a). Nenhum destes testes permite a distinção entre o FECV e o FIPV (Hartmann 2005; Pedersen 2009a). A titulação de anticorpos anti-FeCoV pode ser realizada a partir de sangue, líquido de derrame, LCR e humor aquoso, havendo no entanto ainda algumas dúvidas relativamente à interpretação dos resultados no caso destas duas últimas amostras biológicas (D. Addie et al., 2009).

Apesar de esta regra nem sempre se aplicar, considera-se que títulos muito altos de anticorpos anti-FeCoV têm valor diagnóstico, enquanto que títulos baixos e médios têm valor diagnóstico duvidoso (Katrin Hartmann et al., 2003); isto porque os anticorpos parecem aumentar à medida que a doença evolui, estando títulos baixos presentes no estado subclínico da doença e altos quando há sintomatologia (Hartmann et al. 2003; Pedersen 2009a). No entanto, um título muito baixo também não indica que o animal não tem PIF, uma vez que na fase terminal da doença o título de anticorpos anti-FeCoV geralmente tende a diminuir drasticamente, especialmente na forma exsudativa/húmida (Katrin Hartmann et al., 2003). Tal ocorre devido à formação de imunocomplexos na presença de elevadas cargas virais, retenção de anticorpos no líquido de derrame, ou diminuição destes em circulação devido à acentuada imunossupressão (Diane D Addie & Jarrett, 2006; Sharif et al., 2010).

Adicionalmente, dado que a maioria dos gatos (95-100%) já foi exposto ao FeCoV, a maioria terá um título de anticorpos anti-FeCoV detectável, havendo também muitos animais portadores do FeCoV (Hartmann 2005; Pedersen 2009a).

Assim sendo, um título anti-FeCoV positivo não indica necessariamente um mau prognóstico, visto que a maioria dos gatos infectados pelo FeCoV não desenvolvem PIF. Eventualmente, muitos gatos domésticos deixam de estar infectados, tornando-se seronegativos alguns meses ou anos após a infecção. Gatinhos ou gatos adultos que tenham sido infectados apenas uma vez podem apresentar uma redução rápida no título de anticorpos anti-FeCoV em cerca de 1-2 meses, enquanto outros gatos podem permanecer seropositivos durante anos sem necessariamente excretarem o vírus (Hartmann 2005; Pedersen 2009a).

Considera-se ainda que, em casos de infecção endêmica associados a títulos de anticorpos anti-FeCoV baixos, o gato não desenvolverá, muito provavelmente, a forma não exsudativa/seca de PIF (Diane D Addie & Jarrett, 2006).

Assim sendo, os resultados dos testes serológicos devem ser analisados sempre tendo em conta a história pregressa, sinais clínicos e laboratoriais apresentados por um dado animal, não podendo o diagnóstico de PIF ser baseado apenas no resultado deste teste (Hartmann 2005; Pedersen 2009a). Isto apesar de, num estudo realizado por Hartmann et al. (2003), a titulação de anticorpos anti-FeCoV ter obtido resultados de VPP e VPN muito elevados.

RT-PCR

Esta técnica pode ser utilizada para detecção do vírus em várias amostras biológicas, nomeadamente sangue, líquido de derrame, tecidos ou fezes. Apesar de este ser um teste rápido e sensível para detecção de infecções por FeCoV, os resultados têm sempre de ser interpretados no contexto dos sinais clínicos, visto que virémia por si só não indica doença (Katrin Hartmann et al., 2003; Sharif et al., 2010).

Em 2005, Simons et al. afirmou que este teste poderia ter especificidade e sensibilidade muito elevadas se fossem utilizados *primers* específicos para o gene M e para a sequência líder do vírus presente dentro dos macrófagos e monócitos. No entanto, num estudo realizado por Can-Şahna et al. (2007) houve detecção de FeCoV no sangue de animais saudáveis utilizando o mesmo teste. Já em 2010, Sharif et al. afirmou que os *primers* utilizados para o reconhecimento de regiões específicas do genoma do FeCoV, tais como o gene *Pol*, 7b e a região 3'UTR, permitem a identificação de quase todas as estirpes do FeCoV, e que estes *primers* podiam ser delineados por forma a reconhecerem a região S que permite a distinção entre o FeCoV tipo I e II através duma reacção de RT-PCR seguida de um *nested* PCR (nPCR).

No entanto, é impossível criar *primers* capazes de diferenciar o FeCoV do FIPV, não só devido ao polimorfismo das mutações ocorridas, mas também ao facto de não se conhecer um determinante genético capaz de os distinguir (Sharif et al., 2010). Assim sendo, à semelhança da titulação de anticorpos anti-FeCoV, a realização de RT-PCR não permite a diferenciação entre FECV e FIPV, não sendo por isso um método muito específico para o diagnóstico de PIF (Katrin Hartmann et al., 2003).

No entanto, a sensibilidade e especificidade deste método aumenta se for utilizada a técnica de PCR em tempo real (*Real time PCR*), visto que esta técnica permite a quantificação do mRNA e replicação viral, diferenciando assim gatos saudáveis de gatos doentes (Pedersen 2009a; Sharif et al. 2010). Isto apesar de poderem ocorrer resultados falsos negativos como consequência da degradação do RNA viral, da falha da transcrição reversa ou da variação da sequência de nucleótidos virais, e falsos positivos como consequência da infecção por CCV e TGEV (Katrin Hartmann et al., 2003; Sharif et al., 2010).

Histopatologia

Do ponto de vista histopatológico, a PIF caracteriza-se por causar uma inflamação maioritariamente piogranulomatosa a nível perivascular, essencialmente nas vénulas, associada à presença de líquido de derrame com elevado teor proteico nas cavidades torácica e abdominal, no caso da forma exsudativa/húmida.

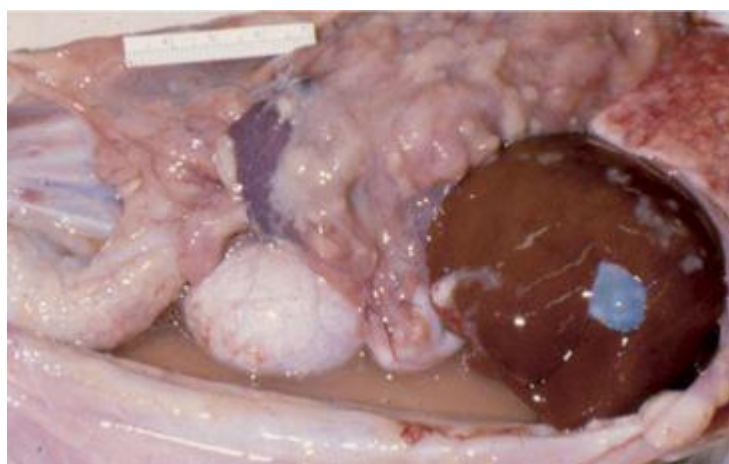


Figura 8 – Necrópsia da cavidade abdominal de um gato com a forma exsudativa/húmida de PIF. Adaptado de Addie & Jarrett 2006

Na forma não exsudativa/seca as lesões são mais semelhantes a granulomas, embora possam ser denominados como piogranulomas (Norris 2007; Pedersen 2014a). Macroscopicamente, os granulomas correspondem a lesões nodulares brancas localizadas em

superfícies serosas ou órgãos parenquimatosos como o fígado, rins, pulmões, pâncreas e baço. As lesões podem ser microscópicas ou macroscópicas, podendo mesmo ser perceptíveis à palpação abdominal (Pedersen 2009a).

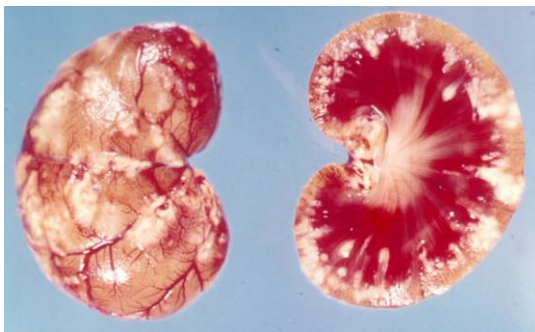


Figura 9- Rins de um gato com a forma não exsudativa/seca de PIF com granulomas capsulares e no parênquima. Adaptado de Pedersen (2009a)

Já os piogranulomas podem ser identificados como lesões que variam de poucos milímetros a vários centímetros, estando geralmente associados à ocorrência de necrose fibrinosa (Benetka et al., 2004; Sharif et al., 2010). Quando cobertas de fibrina, as superfícies serosas apresentam um aspecto granular e podem mesmo ser visualizadas pequenas adesões. Microscopicamente, estas lesões caracterizam-se pela presença de monócitos e macrófagos, contendo ainda alguns neutrófilos, linfócitos B, plasmócitos e em número muito reduzido de linfócitos T na periferia das lesões, assim como elevadas concentrações de antígeno viral (a Kipar et al., 2005; Sharif et al., 2010). Vários órgãos, tanto da cavidade torácica como abdominal, podem encontrar-se aumentados ou irregulares, sendo uma característica muito comum da PIF a linfadenomegália (Knipe & Howley, 2007).



Figura 10 – Linfonodo mesentérico aumentado de um gato com a forma não exsudativa/seca de PIF. Adaptado de Pedersen (2009a).

Outro órgão que poderá ser afectado em casos de PIF é o encéfalo, existindo exsudados fibrinosos associados às meninges, acompanhados ou não de dilatação ventricular e hidrocefalia (Knipe & Howley, 2007). Apesar de alguns estudos que indiquem a falta de fiabilidade da

histopatologia como meio de diagnóstico de PIF (Giori et al., 2011), por afirmarem que as lesões geralmente descritas são estereotipadas, este continua a ser o método de diagnóstico definitivo da doença (*gold standard*), como referido anteriormente.

Actualmente, para além da avaliação macroscópica e microscópica das lesões, recorre-se muitas vezes à imunohistoquímica para confirmar o diagnóstico de PIF (Pedersen 2014a).

Imunohistoquímica

A imunohistoquímica (IHQ) permite identificar a presença de antígenos específicos do FeCoV através da utilização de anticorpos específicos. No DNATech, laboratório que realizou a titulação de anticorpos anti-FeCoV para este estudo, é utilizado um anticorpo monoclonal específico para as proteínas 1 e 2 do invólucro viral do FeCoV, tornando-se o citoplasma dos macrófagos infectados pelo FIPV cor castanho-brilhante. Através da observação das lesões e da coloração característica dos macrófagos infectados, é possível obter um diagnóstico eficaz de PIF (Xufre, 2014), sendo este um método mais sensível que a detecção do antígeno viral nos derrames (Pedersen 2009a).

Apesar de a IHQ apresentar um VPP de 100%, o seu VPN é apenas de 57% devido ao facto de haver um baixo número de macrófagos nos esfregaços e à alta competitividade de ligação dos anticorpos anti-FeCoV dos líquidos de derrame (Hartmann et al. 2003; Pedersen 2009a). Geralmente na forma exsudativa/húmida as concentrações de antígeno viral são mais elevadas do que na forma não exsudativa/seca, isto porque as lesões necróticas características de piogranulomas da forma húmida apresentarem maior quantidade do vírus que as lesões não necróticas características da forma não exsudativa/seca (Pedersen 2009a).

Apesar de estes testes também não permitirem a distinção entre FeCoV e FIPV, o diagnóstico de PIF faz-se com base na presença de antígeno viral suficiente nos macrófagos que determine um resultado positivo (Katrin Hartmann, 2005).

F - Tratamento

Apesar de haverem relatos de casos em que ocorreu cura espontânea sem tratamento em gatos com PIF, considera-se que não existe ainda um tratamento eficaz capaz de controlar a PIF (Pedersen 2009a). O tratamento de PIF actual baseia-se essencialmente num tratamento de suporte, que garante o prolongamento da vida do animal com qualidade (K. Hartmann, 2010). No entanto, este tratamento não parece diminuir a taxa de mortalidade, acabando os animais por falecer da doença quando entram no estado terminal, altura em que perdem peso, deixam de comer e apresentam sintomas debilitantes (Diane D. Addie et al., 2004). Caso o

animal chegue a este estado e não tenha ainda falecido, deve-se aconselhar a eutanásia devido às fracas perspectivas de sobrevivência e à pouca qualidade de vida (Diane D. Addie et al., 2004).

Existem actualmente três abordagens ao tratamento de PIF: a primeira abordagem consiste no uso de fármacos que inibem a replicação viral; a segunda consiste no uso de fármacos imunomoduladores, tal como o interferão, para inibir aspectos chave da resposta inflamatória e aumentar a resposta mediada por células, mas esta apenas é bem-sucedida quando combinada com determinados fármacos anti-virais; um exemplo disto é a utilização do α -interferão; por último, a terceira abordagem baseia-se na inibição do sistema imunitário através de fármacos imunomodulares (Pedersen 2014a). Actualmente são combinadas uma ou mais destas abordagens com o tratamento de suporte para o tratamento de PIF, usando-se uma combinação entre fármacos imunomoduladores, imunossuppressores e anti-virais, sendo importante o controlo da sua eficácia e segurança para o animal (Pedersen 2014a).

Tratamento imunossupressor

Como tratamento imunossupressor os fármacos mais utilizados têm sido a prednisolona ou a ciclofosfamida. Apesar de, ambos serem capazes de inibir a progressão da doença, considera-se a prednisolona como sendo o fármaco mais eficaz (K. Hartmann, 2010).

A prednisolona é administrada via oral numa dose de 2-4mg/Kg SID, com redução gradual da dose a cada 10-14 dias, consoante a resposta do animal ao tratamento. Este fármaco é responsável pela inibição da resposta imunitária e celular do animal, permitindo uma remissão transitória parcial ou completa do desenvolvimento da doença e levando ao aumento do tempo de vida do animal (Diane D Addie & Jarrett, 2006; Katrin Hartmann, 2005). Em alternativa, poderá utilizar-se ciclofosfamida numa dose de 2-3mg/Kg via oral, quatro vezes por semana, ou ainda fazer o tratamento com a associação de ambos os fármacos (Katrin Hartmann, 2005; Norris, 2007).

No caso de gatos que apresentem efusões, a administração de dexametasona (1 mg/Kg a cada 24h) após a drenagem do líquido de derrame também parece beneficiar o tratamento, visto que parece inibir a produção do mesmo (K. Hartmann, 2010).

Outro fármaco utilizado é a pentoxifilina, que inibe o TNF- α e consequentemente a vasculite, aumentando assim a qualidade e tempo de vida do animal (Norris, 2007). No entanto, um estudo realizado por Fischer et al. em 2011 não encontrou nenhum efeito deste fármaco nos parâmetros avaliados, levantando assim dúvidas relativamente à sua eficácia.

Aos fármacos imunossuppressores descritos anteriormente também pode ser associado um tratamento de suporte, nomeadamente fluidoterapia, antibioterapia de largo espectro (ex:

ampicilina) para prevenção do aparecimento de infecções bacterianas secundárias e ainda corticosteróides (Katrin Hartmann & Ritz, 2008).

Tratamento imunomodulador

Os imunomoduladores permitem o restabelecimento da resposta imunitária comprometida pela doença, permitindo ao animal controlar a carga viral e consequentemente a sintomatologia de PIF. No entanto, esta estimulação da resposta imunitária poderá também não ser benéfica, visto estar comprovado que em muitos casos a sua estimulação leva ao aparecimento e desenvolvimento dos sinais clínicos de PIF (Hartmann & Ritz 2008; Pedersen 2009a).

Como exemplos de imunomoduladores utilizados no tratamento de PIF temos: a tilosina, a promodulina e o poliprenil (Katrin Hartmann & Ritz, 2008).

A tilosina é um antibiótico do grupo dos macrólidos, que tal como outros macrólidos possui efeitos imunomoduladores. No entanto, a sua eficácia ainda não foi comprovada, visto que os estudos realizados foram efectuados apenas em gatos para os quais o diagnóstico de PIF não foi comprovado através da realização de histopatologia (Katrin Hartmann & Ritz, 2008). A promodulina é um imunomodulador que parece levar a uma rápida remissão dos sinais clínicos de PIF tais como anorexia, febre e efusões; no entanto, para este também só foram efectuados estudos em animais para os quais o diagnóstico de PIF não foi comprovado através da realização de histopatologia (Ford, 1986).

O poliprenil é um imunoestimulante com baixa toxicidade absorvido oralmente que regula a biossíntese do mRNA de linfócitos T *Helper* responsáveis pela produção de citocinas Th1, sendo utilizado no tratamento de várias doenças virais. Este fármaco é administrado em doses de 1-3 mg/Kg duas vezes ao dia, sendo usado apenas em gatos que apresentem a forma não exsudativa/seca da doença. Apesar de este fármaco parecer controlar o desenvolvimento da doença e aumentar o tempo de vida do animal, ainda não é possível utiliza-lo porque ainda não está disponível no mercado, mas pode vir a ser uma boa alternativa no futuro (Legendre & Bartges, 2009).

Tratamento antiviral

Também a procura por um tratamento antiviral realmente eficaz tem vindo a ser problemática. Estudos realizados tanto com a ribavirina como com a anfotericina B, revelaram que estes inibiam o FIPV *in vitro* mas não *in vivo* e que poderiam inclusive causar toxicidade nos gatos (D. Addie et al., 2009). Outro fármaco estudado foi a cloroquina, que para além de

propriedades antivirais tem ainda propriedades anti-inflamatórias. No entanto, e tal como os antivirais descritos anteriormente, parece apresentar efeitos tóxicos, por induzir um aumento da ALT nos gatos que realizam este tratamento (Takano, Katoh, Doki, & Hohdatsu, 2013). Um tratamento combinado entre nelfinavir e aglutinina de *Galanthus nivalis* demonstrou eficácia na inibição da replicação do FeCoV, porém, não apresentaram qualquer eficácia quando usados individualmente (Hsieh et al., 2010).

Mais recentemente, os interferões têm sido frequentemente utilizados no tratamento da PIF, sendo os compostos mais utilizados o interferão α humano (IFN- α) e o interferão ω recombinante felino (IFN- ω). O IFN- α é uma citocina com funções imunomoduladoras e antivirais que deve ser administrada em doses entre 10^4 a 10^6 UI/Kg via injeção parenteral (intramuscular ou subcutânea) e por um curto prazo de tempo, ou em doses mais baixas de 1-50 UI/dia por via oral durante 7 dias consecutivos em semanas alternadas (Diane D Addie & Jarrett, 2006; Katrin Hartmann, 2005). Os gatos tendem a desenvolver anticorpos contra a proteína humana após 3 a 7 semanas, daí a administração via parenteral só poder ser efectuada num curto espaço de tempo. Já a administração via oral poderá ser efectuada por um longo prazo, visto que a produção de anticorpos anti-interferão é inibida pelo tracto gastrointestinal (Katrin Hartmann, 2005). Considera-se que a administração via parenteral seja mais adequada para o tratamento da forma exsudativa/húmida da doença e a via oral para a forma não exsudativa/seca (Diane D Addie & Jarrett, 2006; Katrin Hartmann, 2005). Este fármaco não elimina o vírus mas inibe a síntese dos seus ácidos nucleicos e proteínas (Katrin Hartmann, 2005).

O IFN- ω felino possui uma maior actividade antiviral nas células felinas por se tratar de uma citocina homóloga, tornando-se menos antigénica que o IFN- α (Diane D Addie & Jarrett, 2006). Este é administrado em doses de 10^6 UI/Kg via subcutânea de dois em dois dias até que haja diminuição dos sinais clínicos, passando posteriormente a ser administrada apenas uma ou duas vezes por semana (Diane D Addie & Jarrett, 2006). Apesar dos vários estudos realizados ao longo dos anos, recentemente Hartmann & Ritz (2008) afirmaram que este é um tratamento totalmente ineficaz.

Em ambos os fármacos a sua eficácia na inibição da replicação viral apenas foi demonstrada *in vitro*, não havendo qualquer alteração na qualidade ou tempo de vida do animal nos estudos realizados *in vivo* (Ritz, Egberink, & Hartmann, 2007).

Tratamento de suporte

Um bom tratamento de suporte permite uma melhoria da qualidade de vida do animal, podendo mesmo permitir um prolongamento da vida do animal (Sykes, 2014). Este tratamento de suporte pode incluir fluidoterapia; realização da drenagem do líquido de derrame, fornecendo maior conforto ao animal e aliviar possível dispneia; alimentação assistida por tubo para suprimento nutricional; administração de aspirina para inibição de agregação plaquetária causada por vasculite; antibioterapia de largo espectro e anti fúngicos para evitar infecções secundárias por bactérias e fungos; administração de atropina e corticoesteróides tópicos em casos de uveíte; e administração de eritropoietina e transfusões de sangue fresco total ou plasma em casos de anemia não regenerativa grave e neutropénia (Sykes, 2014). Como o stress é um dos factores mais comum no desenvolvimento de PIF em gatos infectados, é também necessário evitar ou minimizar a exposição dos gatos a factores stressantes (Diane D Addie & Jarrett, 2006).

Outros tratamentos

Para além dos tratamentos anteriormente descritos, existem relatos de muitos outros fármacos utilizados no tratamento da PIF para os quais não foi comprovado nenhum benefício até à data. As vitamina A, B1 (tiamina), C, E e esteróides anabolizantes foram propostos para o tratamento da PIF por terem importantes funções anti-oxidantes, estimularem o apetite e diminuírem o catabolismo, não se considerando no entanto uma mais-valia a sua utilização (Addie & Jarrett 2006; Pedersen 2009a). Outro fármaco já usado é o hidróclorido de Ozagrel, que inibe a produção de tromboxano A₂, responsável pela agregação das plaquetas (Katrin Hartmann & Ritz, 2008). Em estudos mais recentes foram sugeridos o tratamento com anticorpos monoclonais anti-TNF- α felino, que neutralizam a acção do TNF- α responsável pela apoptose dos linfócitos T e aumento da taxa de sobrevivência de neutrófilos (Doki, Takano, Nishiyama, Nakamura, & Hohdatsu, 2013), e o tratamento com compostos de piridinil imidazole, inibidores da enzima p38MAPK que activa citocinas responsáveis pelo desenvolvimento da doença, entre elas o TNF- α , para os quais já se obtiveram estudos com resultados satisfatórios (Regan et al., 2008).

G - Prevenção

O controlo do FIPV passa pela eliminação do vírus do meio ambiente, quer seja em casa quer seja num abrigo. Este controlo é extremamente difícil, requerendo um alto nível de higiene, uma quarentena muito restricta e medidas profiláticas exigentes (Katrin Hartmann,

2005; Murphy et al., 1999). No caso dos gatinhos, visto que adquirem o vírus através da progenitora, o desmame deverá ser precoce caso a progenitora seja seropositiva, ou seja, por volta das 4 a 6 semanas, numa tentativa de interromper a transmissão do vírus, e a progenitora deve ser separada de outros animais 2 a 3 semanas antes do parto. No entanto, a eficácia deste acto ainda não está comprovada (Murphy et al., 1999), podendo mesmo ser prejudicial visto que no período entre as 2 e as 7 semanas de vida é quando ocorre o estabelecimento dos laços sociais dos gatinhos (Diane D. Addie et al., 2004).

Em ambientes com muitos gatos a prevenção passa pela redução do número dos mesmos e pela conservação da higiene das superfícies que possam estar potencialmente contaminadas. É possível que casas com menos de 5 gatos se consigam manter livres do vírus, sendo, no entanto, quase impossível em casas com mais de 10 gatos, especialmente em gatis e criadores (K. Hartmann, 2010). Nos gatis a prevenção chega a ser mesmo impossível, visto que o isolamento dos animais é ineficaz devido à constante entrada e saída de animais, e a dispersão do vírus torna-se difícil de controlar devido ao facto de este poder ser transportado mesmo através de fómites (K. Hartmann, 2010). É por isso importante controlar essa dispersão viral para que os gatis e criadores disponham de um número adequado de areões em relação ao número de animais, com limpeza e desinfecção adequada, e que estes sejam colocados longe das taças de comida e água. Os animais devem encontrar-se agrupados em grupos com menos de 10 animais, idealmente 3 ou 4 animais. Adicionalmente, a titulação de anticorpos anti-FeCoV deve ser realizada antes do animal ser introduzido no abrigo. Caso haja animais seropositivos, deverá proceder-se à separação destes dos seronegativos. Estes animais devem ser testados novamente 3 a 6 meses após a realização da primeira titulação para confirmar o resultado inicial (Diane D Addie & Jarrett, 2006). Em animais de criação deve também evitar-se o uso de reprodutores seropositivos, apesar de a eficácia desta medida ainda não ter sido comprovada. Alternativamente, estes poderão realizar cruzamentos apenas entre o mesmo status serológico. No caso das gatas seropositivas, deverá ser realizado um desmame precoce e isolamento dos gatinhos resultantes para prevenir a sua infecção por FeCoV pela progenitora (D. Addie et al., 2009). Adicionalmente, deve evitar-se a realização de tratamentos com fármacos imunossupressores e a exposição a eventos stressantes dos gatos seropositivos.

Vacinação

Ao longo dos anos, foram realizadas muitas tentativas para desenvolver uma vacina eficaz contra o PIF, tendo muitas falhado devido à ocorrência de ADE (Katrin Hartmann, 2005). A única vacina comercial existente contra o FeCoV denomina-se Primucell® (Pfizer Animal

Health), uma vacina atenuada que tem de ser mantida a temperaturas muito baixas. Esta vacina foi lançada no mercado em 1991 nos Estados Unidos, tendo sido posteriormente introduzida em inúmeros países europeus. A vacina é aplicada na mucosa nasal, onde há poucas condições para a ocorrência da replicação viral e formação de anticorpos, sendo a resposta imunitária celular favorecida e conseguindo-se assim alguma protecção para o animal num dos locais por onde ocorre a entrada do vírus no organismo, a orofaringe (Katrin Hartmann, 2005).

As maiores preocupações com esta vacina eram a segurança da mesma, uma vez que se temia que esta pudesse causar PIF ao promover a ocorrência de ADE. Inúmeras experiências foram realizadas para testar a segurança da vacina, tendo alguns estudos de campo vindo a comprovar a segurança da vacina intra-nasal (Katrin Hartmann, 2005), apesar de poderem ocorrer alguns efeitos secundários como espirros, vômitos ou diarreia. Num estudo realizado na Suíça num grupo de gatos que não tinham tido contacto prévio com o FeCoV antes da vacinação, ocorreu uma redução significativa do número de casos de PIF, comprovando que a vacina poderá ser eficaz em gatos que não tenham contactado com o FeCoV antes da vacinação.

No entanto, visto que a maioria dos gatos já contactou com o vírus, a vacina acaba por não constituir uma importante medida de prevenção. Para além disso, sabe-se que a vacinação de gatos adultos seropositivos não é eficaz (Murphy et al., 1999), tendo esta de ser aplicada a partir das 16 semanas de idade em gatos saudáveis e seronegativos. Outra desvantagem desta vacina é que grande maioria dos gatos vacinados desenvolve anticorpos anti-FeCoV após a vacinação, o que torna impossível o controlo por métodos serológicos de uma casa ou abrigo que se considere livre de FeCoV (Katrin Hartmann, 2005). Em resumo, não há um consenso relativamente à eficácia desta vacina (a eficácia na prevenção variará entre os 0%, 50% e 70% dependendo do estudo consultado), sabendo-se apenas que é segura e não promove a ocorrência de ADE (Katrin Hartmann, 2005).

Parte II – Trabalho experimental

H - Objectivos

Este estudo retrospectivo tinha como principal objectivo relacionar o título de anticorpos anti-FeCoV com a anamnese, sinais clínicos e parâmetros laboratoriais apresentados pelos animais suspeitos de PIF, avaliando assim de que maneira a realização desta titulação contribui para um correcto diagnóstico da doença. Os animais utilizados no estudo foram seguidos no Hospital Veterinário Vasco da Gama (HVVG) entre os anos 2010 e 2014, tendo sido possível ao mestrando acompanhar pessoalmente 37 casos enquanto os dados dos restantes 61 animais em estudo foram recolhidos através da pesquisa das fichas clínicas que se encontram

armazenadas no programa QVET (Pontual®) do HVVG, um sistema de gestão de base de dados para clínicas veterinárias. Há que salientar que o presente estudo foi sujeito a várias condicionantes, nomeadamente a dependência dos dados disponibilizados pelos proprietários e a sua disponibilidade financeira, não sendo, assim, um estudo controlado.

Inicialmente os animais foram divididos em dois grupos:

- No primeiro grupo foram incluídos gatos saudáveis ou doentes que não apresentavam sintomatologia característica de PIF, que pertencessem a um grupo de risco para o desenvolvimento da doença, isto é, animais que tivessem tido contacto com gatos com PIF, que tivessem acesso à rua, ou que coabitassem com outros gatos, por exemplo em gatis ou criadores;

- No segundo grupo foram incluídos gatos que apresentavam sintomatologia potencialmente suspeita de PIF, nomeadamente anorexia/perda de peso, febre, prostração/letargia, vômito, icterícia, líquidos de derrame torácicos/abdominais no caso específico da PIF húmida e ainda sinais clínicos neurológicos (convulsões, paresia dos membros posteriores, ataxia generalizada, hiperestesia toracolombar, nistagmos, anisocoria, mudanças no comportamento, apreensão, desorientação, tetraparesia, tremores e incontinência urinária) e oculares (uveíte, hipópio, precipitados queráticos, alteração da cor da íris, anisocoria, coriorretinite, hemorragias e deslocamento da retina), no caso específico da forma seca.

Inicialmente, a distribuição dos títulos de anticorpos anti-FeCoV no material biológico colhido tanto em animais em que a titulação foi realizada por controlo (sangue) ou por suspeita de PIF (sangue e/ou líquidos de derrame torácicos/abdominais) foi avaliada.

Posteriormente, foi realizada uma comparação dos títulos de anticorpos anti-FeCoV apresentados pelos animais em estudo com várias variáveis, nomeadamente:

- Anamnese: idade, sexo e estado reprodutivo, raça, proveniência, modo de vida, exposição recente a factores stressantes e status FIV/FeLV.

- Sintomatologia clínica apresentada, nomeadamente anorexia/perda de peso, febre, prostração/letargia, vômito, icterícia, presença de líquidos de derrame torácicos/abdominais, sinais neurológicos e oculares;

- Número de leucócitos e linfócitos por microlitro (μ L) do hemograma de cada animal;
- Rácio A:G;
- Ocorrência de hiperbilirrubinemia;

Para esta análise, os animais suspeitos de PIF foram separados de acordo com o resultado da titulação de anticorpos anti-FeCoV (positiva ou negativa) e procurou-se encontrar diferenças entre estes dois grupos relativamente às variáveis em estudo.

I - Material e métodos

Caracterização da amostra

O presente estudo retrospectivo contemplou uma amostra de 98 gatos pertencentes a diferentes ambientes (gatos de casa, gatis, criadores, ou com acesso à rua). Desses 98 gatos, 32 gatos realizaram a titulação de anticorpos anti-FeCoV por controlo, enquanto que os restantes 66 animais realizaram a titulação por haver suspeita clínica de PIF. Para além da titulação de anticorpos anti-FeCoV, estes animais foram também submetidos a outros exames de diagnóstico de PIF, nomeadamente a análise do líquido de derrame, a determinação do rácio A:G e, em alguns casos, histopatologia por apresentarem história pregressa ou sinais clínicos e laboratoriais suspeitos da doença.

Critérios de seleção dos casos

Como critérios de inclusão para este estudo foram considerados:

- Todos os gatos para os quais foi realizada a titulação de anticorpos anti-FeCoV entre 2010 e 2014, tanto por controlo como por suspeita de PIF, cujo título exacto é conhecido;
- Todos os gatos para os quais foi realizada titulação de anticorpos anti-FeCoV entre 2010 e 2014, tanto por controlo como por suspeita de PIF, cujo título exacto é desconhecido mas para os quais se conhecem os valores da titulação (positivo ou negativo);

Como critérios de exclusão foram considerados:

- Todos os gatos para os quais foi realizada a titulação de anticorpos anti-FeCoV entre 2010 e 2014, tanto por controlo como por suspeita de PIF, cujo título determinado e resultados são desconhecidos;
- Todos os gatos para os quais foi realizada a titulação de anticorpos anti-FeCoV entre 2010 e 2014, tanto por controlo como por suspeita de PIF, cuja titulação de anticorpos anti-FeCoV não foi realizada pelo laboratório DNATech;
- Todos os gatos seguidos entre 2010 e 2014 para os quais não foi realizada a titulação de anticorpos anti-FeCoV, mesmo apresentando sintomatologia suspeita da doença.

Metodologia

Dada a complexidade do diagnóstico da PIF, a seguinte metodologia foi seguida neste estudo:

- Relativamente a anamnese, foi recolhida informação relativamente à idade, raça, sexo, estado reprodutor, proveniência, modo de vida, status FIV/FeLV e exposição recente a um evento stressante, tal como introdução de novos animais e outras alterações do ambiente dos animais, castração/esterilização, parto, lutas entre gatos e cruzamentos.

- Relativamente à sintomatologia, procedeu-se à detecção de sinais clínicos suspeitos de PIF, nomeadamente ascite e líquidos de derrame torácicos e/ou pericárdicos, febre, anorexia/perda de peso, vômito, prostração/letargia, dispneia, icterícia, linfadenomegália e sinais clínicos neurológicos (convulsões, paresia dos membros posteriores, ataxia generalizada, hiperestesia toracolombar, nistagmos, anisocoria, mudanças no comportamento, apreensão, desorientação, tetraparesia, tremores e incontinência urinária) e oculares (uveíte, hipópio, precipitados queráticos, alteração da cor da íris, anisocoria, coriorretinite, hemorragias e deslocamento da retina).

- Como exames complementares de diagnóstico foram realizados hemograma e bioquímicas sanguíneas (para determinação dos níveis de ureia, creatinina, ALT/GPT, FA/ALP, bilirrubina total, proteínas totais, albumina), o teste rápido de FIV/FeLV, a titulação de anticorpos anti-FeCoV a partir de sangue e/ou líquido de derrame, radiografias torácicas e/ou abdominais, ecografia abdominal, análise macroscópica e citológica do líquido de derrame. Em casos raros recorreu-se ainda à histopatologia. No entanto, apenas a titulação de anticorpos anti-FeCoV, a contagem de linfócitos e leucócitos, a hiperglobulinémia determinada pelo rácio A:G, a hiperbilirrubinémia, os resultados do teste FIV/FeLV e a presença ou não de efusões torácicas e/ou abdominais foram utilizadas como variáveis neste estudo.

Um resumo da metodologia seguido no HVVG para chegar ao diagnóstico presuntivo de PIF está indicada na Figura 11.

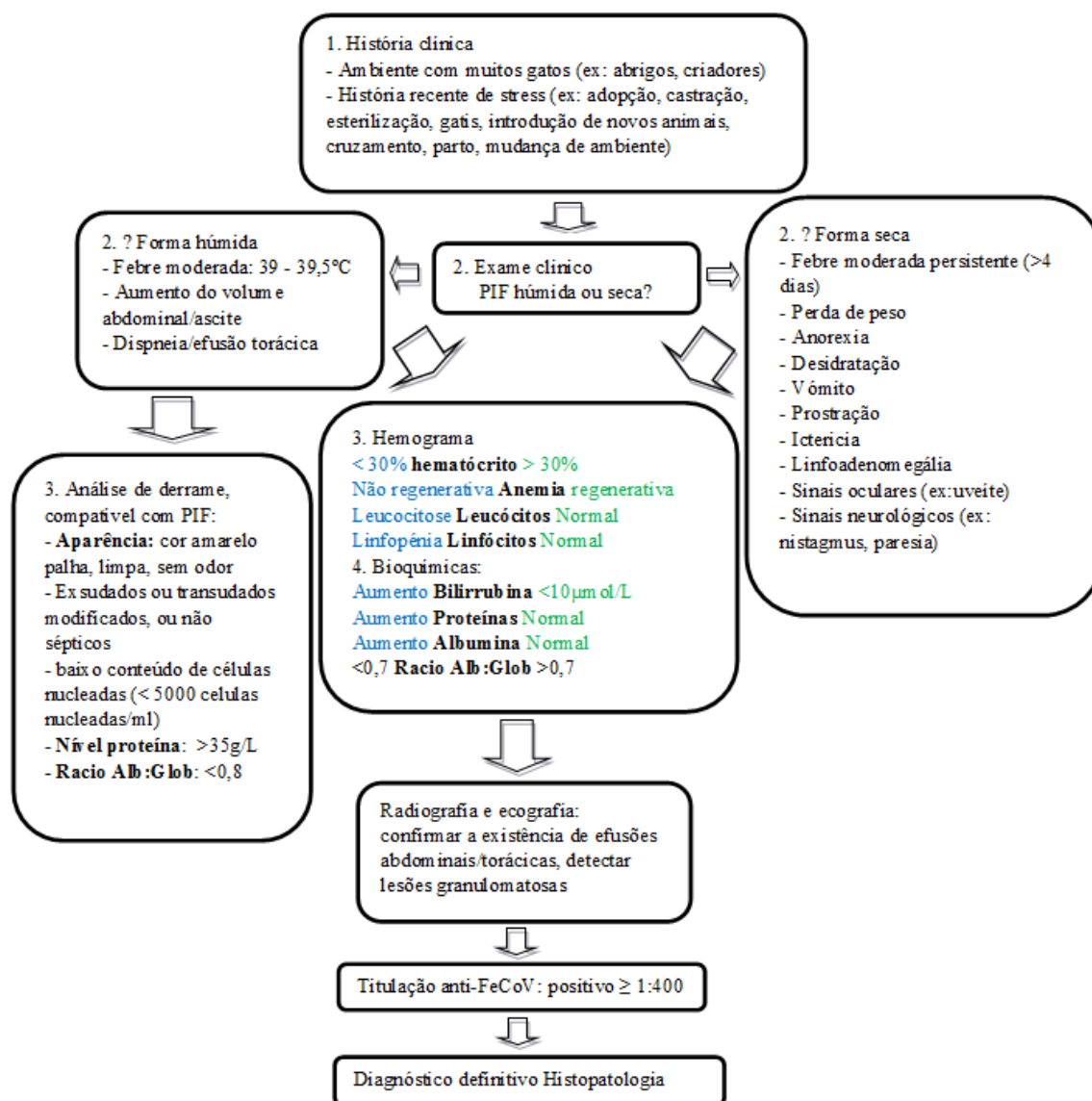


Figura 11 – Diagrama de diagnóstico da PIF adaptado de <http://www.dr-addie.com>. Os valores indicados em azul e em verde nos pontos 3. e 4. são compatíveis e não compatíveis com PIF, respectivamente.

Tanto o registo da sintomatologia como a realização do hemograma e das sanguíneas foram realizados durante a consulta no HVVG, estando os valores de referência utilizados para o hemograma e para as bioquímicas sanguíneas descritos no

Apêndice I. As amostras de sangue foram recolhidas por venopunção das veias jugular, femoral e cefálica com uma agulha de 20-22G e transferidas para tubos de EDTA, tendo o sangue total sido centrifugado a 5000 rpm durante cerca de 5 minutos para separar o plasma das células sanguíneas.

A detecção de FIV/FeLV foi realizada com o teste DFV[®] test FeLV+FIV. Este teste rápido é um ensaio imunocromatográfico que detecta o antígeno p27 do FeLV e anticorpos

contra o FIV de forma independente em sangue total, soro ou plasma, com uma sensibilidade e especificidade de 100%.

As radiografias torácicas/abdominais e ecografia abdominal em gatos que apresentassem dispneia/taquipneia e/ou dilatação abdominal foram também realizadas no HVVG durante a consulta para detecção de líquido de derrame torácico e abdominal, respectivamente. A ecografia abdominal foi também utilizada para descartar outras doenças e detectar a presença de outras alterações características de PIF, tais como linfadenomegália, lesões granulomatosas e alterações no tamanho e ecogenicidade dos órgãos abdominais, tais como o fígado e os rins.

Tanto as análises macroscópicas e citológicas das efusões como a titulação de anticorpos anti-FeCoV foram realizados no laboratório DNATech. Segundo as informações fornecidas por este laboratório, a titulação de anticorpos anti-FeCoV é realizada através da realização da técnica de imunofluorescência indirecta de acordo com as orientações da *Organization pour Epizooties* (OIE), sendo realizadas diluições na ordem dos seguintes valores: 1:25, 1:40, 1:100, 1:200, 1:400, 1:1000 e 1:2000. Apenas devem ser considerados no diagnóstico de PIF títulos de anticorpos anti-FeCoV iguais ou superiores a 1:400. Relativamente à análise citológica dos líquidos de derrame, consideraram-se compatíveis com PIF, exsudados ou transudados modificados, e exsudados não sépticos com alto teor proteico (aumento das γ -globulinas), aumento da viscosidade e poucas células nucleadas (< 1000 células nucleadas/ml).

Nos casos em que foi realizada histopatologia, as amostras dos animais suspeitos foram recolhidas no HVVG e enviadas para processamento no laboratório da DNATech, onde foram sujeitas a imunohistoquímica.

Análise estatística dos dados

Os dados obtidos no decurso deste estudo foram analisados sob o ponto de vista estatístico com o programa IBM SPSS Statistics 22 (Statistical Package for The Social Sciences), tendo sido utilizado o teste qui-quadrado (χ^2) para detectar relações estatisticamente significantes entre as variáveis em estudo.

Em todas as variáveis em estudo foi fixado um nível de significância de 95% (origem, líquido de derrame, ascite, sinais neurológicos), excepto no caso da hiperglobulinémia e da hiperbilirrubinémia, em que se considerou um nível de significância de 90%.

J - Resultados

Caracterização da amostra

Dos 98 gatos incluídos que correspondiam aos critérios de inclusão definidos para este estudo, a titulação de anticorpos anti-FeCoV foi realizada em 33% dos animais (32/98) apenas por controlo. Este grupo incluía gatos saudáveis, ou que não apresentavam sintomatologia característica de PIF, que pertencessem a um grupo de risco para o desenvolvimento da doença, como já referido. O segundo grupo incluía 67% dos animais (66/98) para os quais o teste foi realizado por haver sintomatologia suspeita de PIF (Gráfico 1).

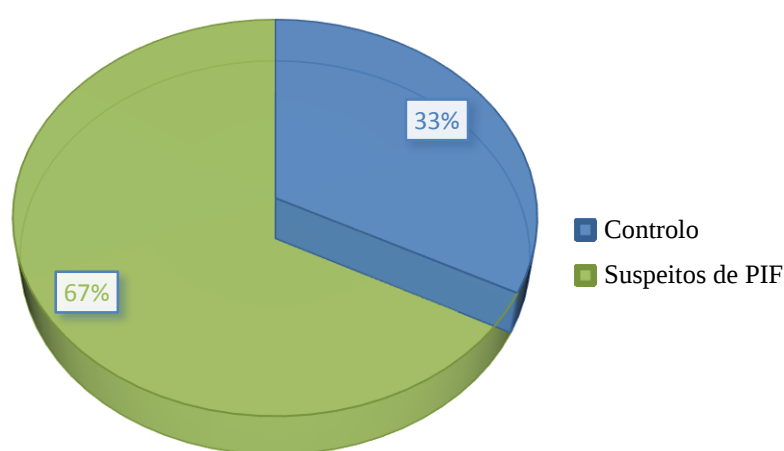


Gráfico 1 – Distribuição dos animais incluídos neste estudo retrospectivo de acordo com o motivo da realização da titulação de anticorpos anti-FeCoV.

Para análise posterior dos resultados obtidos, foi considerado que os animais pertencentes tanto ao grupo de controlo como ao grupo dos animais suspeitos de PIF que apresentassem titulação de anticorpos anti-FeCoV inferior a 1:400 ($< 1:400$) seriam negativos e animais com titulação superior ou igual a 1:400 ($\geq 1:400$) seriam positivos.

Foi realizado o teste qui-quadrado para verificar se haveria alguma relação entre o motivo da realização da titulação de anticorpos anti-FeCoV (por controlo ou suspeita de PIF) e o resultado da titulação de anticorpos anti-FeCoV (positivo ou negativo). Concluiu-se que não havia nenhuma relação estatística significativa entre estas duas variáveis, pois apesar de haver uma maior quantidade de animais suspeitos de PIF a terem realizado o teste (67,35%, 66/98), tanto PIF positivos como negativos, a proporção entre positivos e negativos é igual tanto para animais que realizaram a titulação apenas por controlo como para os animais que realizaram a titulação por suspeita de PIF, como se pode verificar no Gráfico 22.

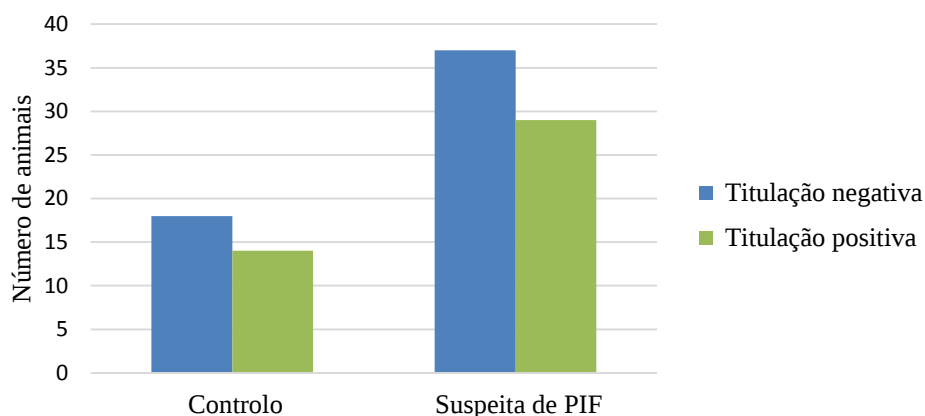


Gráfico 2 – Distribuição dos animais que participaram neste estudo retrospectivo segundo o motivo da realização de titulação de anticorpos anti-FeCoV e o resultado da titulação.

Já dentro do grupo dos animais que realizaram a titulação de anticorpos anti-FeCoV por suspeita de PIF, não se verificou uma relação estatisticamente significativa entre o valor da titulação de anticorpos anti-FeCoV e a idade. No entanto, os dados estão de acordo com o que está descrito na literatura (Worthing et al., 2012), pois cerca de 50% dos animais com títulos de anticorpos anti-FeCoV positivos têm idade inferior a 3 anos. Além disso, é possível verificar no Gráfico 3, que entre os animais com idades inferiores a 3 anos em estudo, cerca de 50% apresenta um título de anticorpos anti-FeCoV positivo. Pode ainda observar-se neste grupo uma elevada percentagem de animais com títulos de anticorpos anti-FeCoV positivos com idades superiores a 10 anos (27,59%).

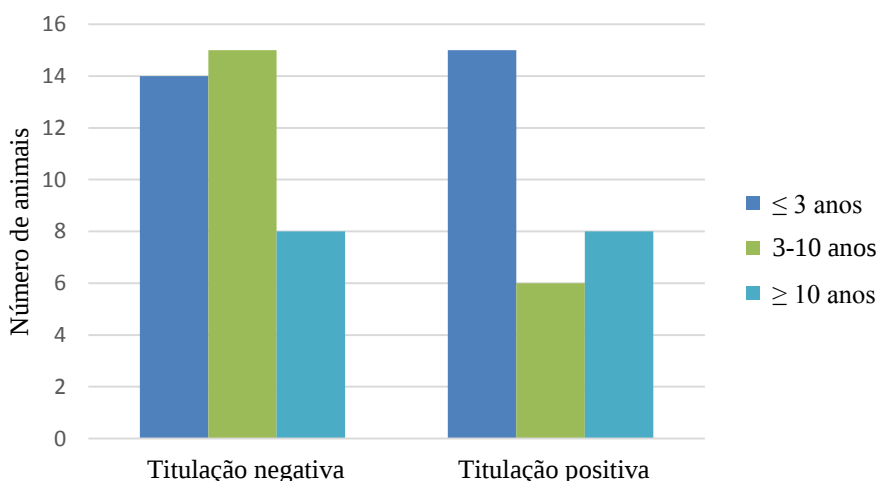


Gráfico 3 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e a idade.

Também não foi verificada, dentro deste grupo, nenhuma relação estatisticamente significativa entre a titulação de anticorpos anti-FeCoV, o sexo e estado reprodutivo. No entanto, machos inteiros parecem apresentar uma maior propensão para desenvolver PIF, tal como referido na literatura (Benetka et al., 2004; Rohrbach et al., 2001) (Gráfico 4), enquanto que os machos castrados parecem ser menos predispostos a desenvolverem a doença (o que pode ser explicado com diminuição dos níveis de hormonas sexuais, diminuição do stress e consequentemente com o aumento da imunocompetência).

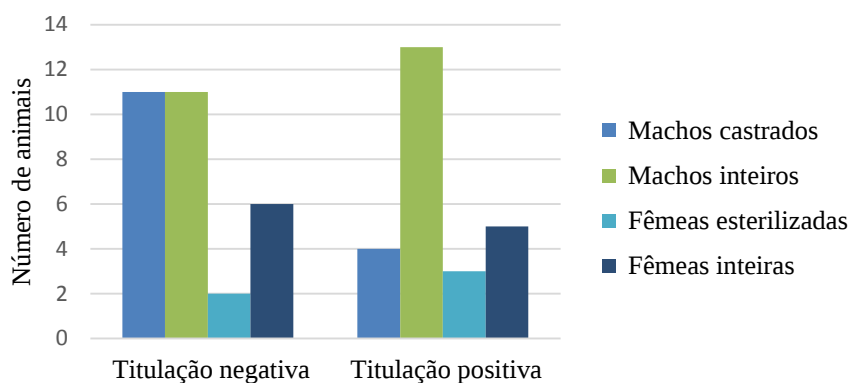


Gráfico 4 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e o sexo e estado reprodutivo.

Relativamente à proveniência dos animais, através da realização do teste de qui-quadrado foi possível estabelecer uma relação estatisticamente significativa a 95% entre a titulação de anticorpos anti-FeCoV e a origem dos animais (χ^2 (3,N = 66) = 7,847, $p = 0,049$), tendendo os gatos de casa a apresentar títulos de anticorpos anti-FeCoV negativos (63,04%), enquanto que os gatos de gatil e criadores têm uma probabilidade quase duas vezes superior ao esperado de apresentarem títulos positivos de anticorpos anti-FeCoV, como se pode verificar na tabela seguinte (Tabela 1) (Gráfico 5).

Tabela 1 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e a proveniência.

			Origem				Total
			Rua	Casa	Gatil	Criador	
Teste de PIF	Negativo	Contagem	6	29	1	1	37
		Contagem esperada	5	25,8	3,9	2,2	37
	Positivo	Contagem	3	17	6	3	29
		Contagem esperada	4	20,2	3,1	1,8	29
Total		Contagem	9	46	7	4	66
		Contagem esperada	9	46	7	4	66

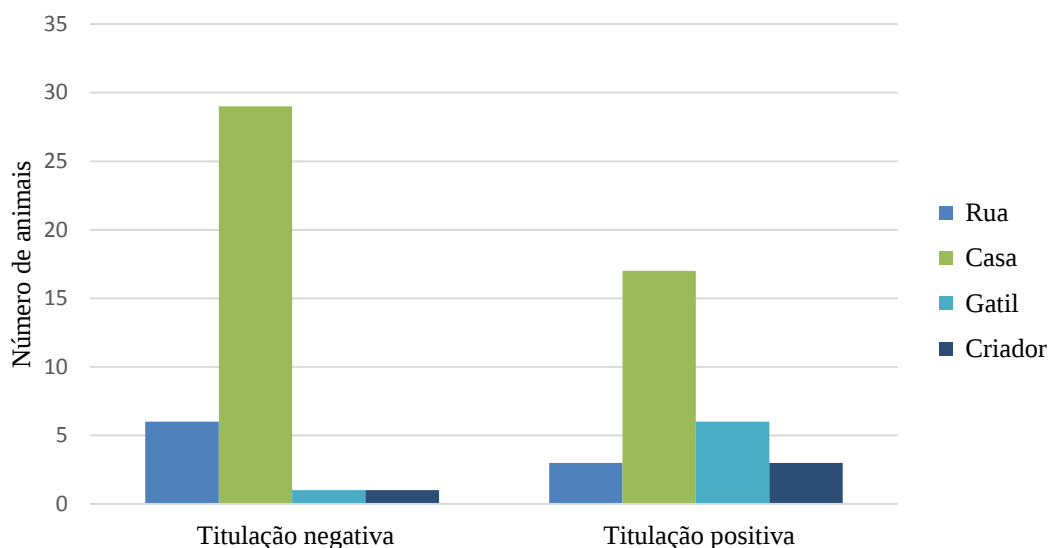


Gráfico 5 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e a proveniência.

Quanto ao modo de vida do animal, não se verificou nenhuma relação estatisticamente significativa entre esta variável e o título de anticorpos anti-FeCoV, podendo apenas sugerir-se, com base nos dados obtidos, que animais sem acesso à rua tendem a apresentar títulos de anticorpos anti-FeCoV negativos (Gráfico 6).

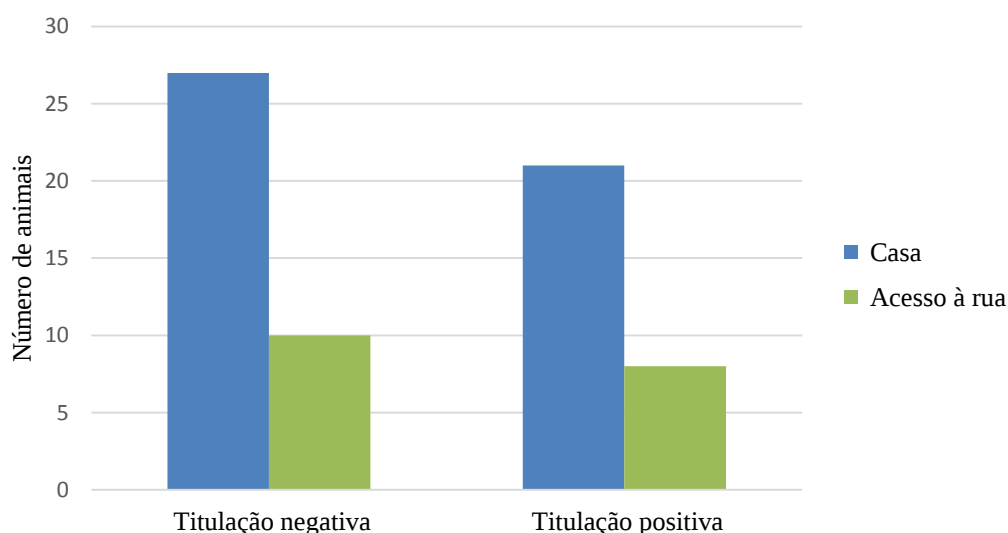


Gráfico 6 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e o modo de vida.

Relativamente à exposição a eventos stressantes, também não foi detectada nenhuma relação estatisticamente significativa. Contudo, é possível verificar na Tabela 2 que a

probabilidade de animais sujeitos a um evento stressante (tais como desmame, vacinação, cirurgias, esterilização/castração e mudanças no ambiente) terem titulação de anticorpos anti-FeCoV positiva é superior à esperada.

Tabela 2 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e a exposição a eventos stressantes.

			Exposição a eventos estressantes		Total
			Não	Sim	
Teste de PIF	Negativo	Contagem	9	28	37
		Contagem esperada	6,7	30,3	37
	Positivo	Contagem	3	26	29
		Contagem esperada	5,3	23,7	29
Total		Contagem	12	54	66
		Contagem esperada	12	54	66

Dentro dos animais suspeitos de PIF, não foi encontrada nenhuma relação estatisticamente significativa o título de anticorpos anti-FeCoV positivo e o status FIV/FeLV, apesar de a literatura referir que PIF pode levar ao desenvolvimento de FIV/FeLV e vice-versa, devido à supressão do sistema imunitário. Nesta população apenas se verificou a existência de um gato FIV/FeLV positivo e com uma titulação anticorpos anti-FeCoV positiva e de um gato FeLV positivo e com titulação anticorpos anti-FeCoV positiva, sendo estes dois animais (2/66) os únicos da amostra em estudo a apresentarem estas doenças virais em simultâneo.

Sinais clínicos

Relativamente à relação entre a titulação de anticorpos anti-FeCoV e os sinais clínicos apresentados, a distribuição dentro dos animais suspeitos de PIF foi a seguinte:

- Dentro dos animais com líquido de derrame, 18/28 apresentavam um título de anticorpos anti-FeCoV positivo ($\geq 1:400$), enquanto que entre os animais que não apresentavam líquido de derrame apenas 11/38 apresentavam um título de anticorpos anti-FeCoV positivo. Assim sendo, existe uma relação estatisticamente significativa ($\chi^2 (1, N = 66) = 8,173, p = 0,004$) entre a presença de líquido de derrame e a ocorrência de um título de anticorpos anti-FeCoV positivo, o que está de acordo com o descrito na literatura (Tabela 3).

Tabela 3 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e presença/ausência de líquido de derrame.

			Líquido de derrame		Total
			Ausente	Presente	
Teste de PIF	Negativo	Contagem	27	10	37
		Contagem esperada	21,3	15,7	37
	Positivo	Contagem	11	18	29
		Contagem esperada	16,7	12,3	29
Total		Contagem	38	28	66
		Contagem esperada	38	28	66

Dos 28 animais com líquido de derrame, 10/28 apresentavam efusão torácica, apresentando 50% dos animais um título de anticorpos anti-FeCoV positivo e 50% um título de anticorpos anti-FeCoV negativo, não se verificando assim nenhuma relação estatística entre a ocorrência de efusões a nível torácico e a titulação de anticorpos anti-FeCoV (Tabela 4).

Tabela 4 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e a ocorrência de efusões torácicas.

			Efusão torácica		Total
			Ausente	Presente	
Teste de PIF	Negativo	Contagem	32	5	37
		Contagem esperada	31,4	5,6	37
	Positivo	Contagem	24	5	29
		Contagem esperada	24,6	4,4	29
Total		Contagem	56	10	66
		Contagem esperada	56	10	66

Relativamente à ascite, dos 28 gatos com líquido de derrame em estudo, 21 animais apresentavam ascite, sendo que 71,43% tinham um título de anticorpos anti-FeCoV positivo. Foi encontrada uma relação estatisticamente significativa (χ^2 (1,N = 66) = 9,448, p = 0,002) entre a presença de ascite e um título de anticorpos anti-FeCoV positivo. Assim sendo, gatos com ascite tendem a apresentar um título de anticorpos anti-FeCoV positivo (15/21, 71,43%), enquanto que gatos sem ascite tendem a apresentar um título de anticorpos anti-FeCoV negativo (31/45, 68,89%) (Tabela 5).

Tabela 5 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e a ocorrência de ascite.

			Ascite		Total
			Ausente	Presente	
Teste de PIF	Negativo	Contagem	31	6	37
		Contagem esperada	25,2	11,8	37
	Positivo	Contagem	14	15	29
		Contagem esperada	19,8	9,2	29
Total		Contagem	45	21	66
		Contagem esperada	45	21	66

- Não foi encontrada nenhuma relação estatisticamente significativa entre a ocorrência de febre e o valor da titulação de anticorpos anti-FeCoV. No entanto, como se pode verificar pela tabela e pelo gráfico seguintes (Tabela 6 e Gráfico 77), parece existir uma propensão para animais que apresentam febre terem títulos de anticorpos anti-FeCoV positivos (10/17, 58,82%) e animais que não apresentam febre terem títulos de anticorpos anti-FeCoV negativos (30/49, 61,23%), sendo em ambos os casos as probabilidades obtidas superiores às esperadas.

Tabela 6 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e a ocorrência de febre.

			Febre		Total
			Ausente	Presente	
Teste de PIF	Negativo	Contagem	30	7	37
		Contagem esperada	27,5	9,5	37
	Positivo	Contagem	19	10	29
		Contagem esperada	21,5	7,5	29
Total		Contagem	49	17	66
		Contagem esperada	49	17	66

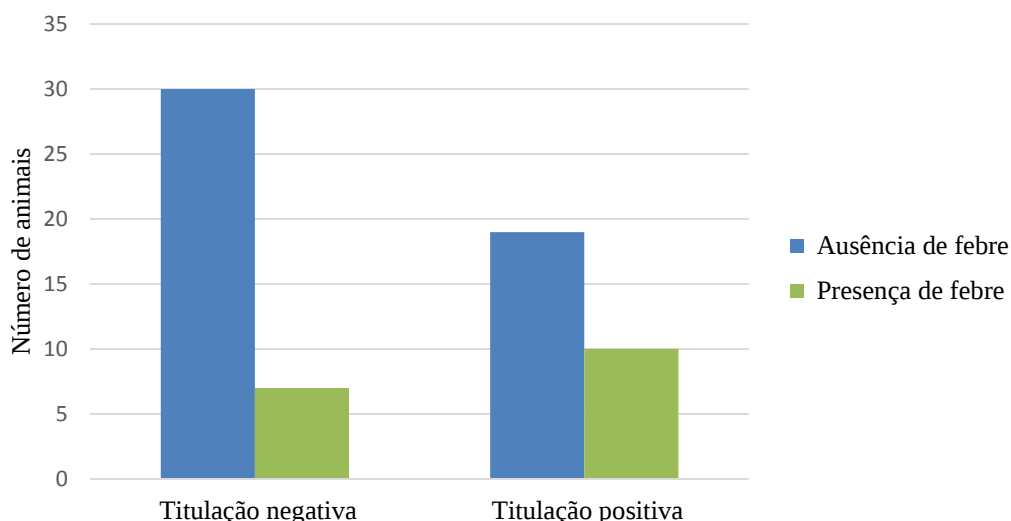


Gráfico 7 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e a ocorrência de febre.

- Quanto a uma possível relação entre a ocorrência de anorexia/perda de peso e a titulação de anticorpos anti-FeCoV, não foi encontrada nenhuma relação estatisticamente significativa. No entanto, tal como se pode verificar pela tabela seguinte (Tabela 7), animais que não apresentem anorexia/perda de peso têm mais propensão para apresentar títulos de anticorpos anti-FeCoV negativos (28/46, 60,87%), enquanto animais que apresentem anorexia/perda de peso têm uma maior propensão para apresentar títulos de anticorpos anti-FeCoV positivos (11/20, 55%).

Tabela 7 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e a ocorrência de anorexia/perda de peso.

			Anorexia/perda de peso		Total
			Ausente	Presente	
Teste de PIF	Negativo	Contagem	28	9	37
		Contagem esperada	25,8	11,2	37
	Positivo	Contagem	18	11	29
		Contagem esperada	20,2	8,8	29
Total		Contagem	46	20	66
		Contagem esperada	46	20	66

- Relativamente à relação entre a titulação de anticorpos anti-FeCoV e a ocorrência de letargia/prostração, também não foi encontrada nenhuma relação estatisticamente significativa, apenas uma propensão de animais que não apresentam letargia/prostração para apresentarem títulos negativos (30/56, 53,57%) (Tabela 8).

Tabela 8 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e a ocorrência de prostração/letargia.

			Prostração/letargia		Total
			Ausente	Presente	
Teste de PIF	Negativo	Contagem	30	7	37
		Contagem esperada	31,4	5,6	37
	Positivo	Contagem	26	3	29
		Contagem esperada	24,6	4,4	29
Total		Contagem	56	10	66
		Contagem esperada	56	10	66

- Relativamente à relação entre a titulação de anticorpos anti-FeCoV e a ocorrência de vômito e icterícia, não se verificou qualquer relação estatisticamente significativa. No caso específico do vômito, pode apenas sugerir-se, com base nos dados obtidos, que animais que apresentavam este sintoma têm uma maior propensão para apresentar um título de anticorpos anti-FeCoV positivo (15/27, 55,56%) enquanto que animais que não apresentem este sintoma tendem a apresentar títulos negativos (25/39, 64,10%) (Tabela 9).

Tabela 9 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e a ocorrência de vômito.

			Vômito		Total
			Ausente	Presente	
Teste de PIF	Negativo	Contagem	25	12	37
		Contagem esperada	21,9	15,1	37
	Positivo	Contagem	14	15	29
		Contagem esperada	17,1	11,9	29
Total		Contagem	39	10	66
		Contagem esperada	39	10	66

Já no caso específico da icterícia, verificou-se que animais que não apresentavam icterícia tinham propensão para ter títulos de anticorpos anti-FeCoV negativos (28/47, 59,57%), enquanto animais com icterícia tendem a apresentar títulos de anticorpos anti-FeCoV positivos (10/19, 52,63%) (Tabela 10).

Tabela 10 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e a ocorrência de icterícia.

			Icterícia		Total
			Ausente	Presente	
Teste de PIF	Negativo	Contagem	28	9	37
		Contagem esperada	26,3	10,7	37
	Positivo	Contagem	19	10	29
		Contagem esperada	20,7	8,3	29
Total		Contagem	47	19	66
		Contagem esperada	47	19	66

- Relativamente à relação entre a titulação de anticorpos anti-FeCoV e a ocorrência de sinais clínicos neurológicos, encontrou-se uma relação estatisticamente significativa (χ^2 (1, N = 66) = 4,516, $p = 0,034$) entre estas duas variáveis. No entanto, através da avaliação tanto da tabela de probabilidades como do gráfico 8, consegue verificar-se que neste caso a relação é inversa, uma vez que os animais que apresentavam sinais clínicos neurológicos neste estudo apresentavam uma maior propensão para apresentar títulos de anticorpos anti-FeCoV negativos (12/15, 80%), contrariamente aos animais sem sinais clínicos neurológicos que apresentavam uma maior propensão para revelarem títulos de anticorpos anti-FeCoV positivos (26/51, 50,98%).

Tabela 11 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e a ocorrência de sinais neurológicos.

			Sinais neurológicos		Total
			Ausente	Presente	
Teste de PIF	Negativo	Contagem	25	12	37
		Contagem esperada	28,6	8,4	37
	Positivo	Contagem	26	3	29
		Contagem esperada	22,4	6,6	29
Total		Contagem	51	15	66
		Contagem esperada	51	15	66

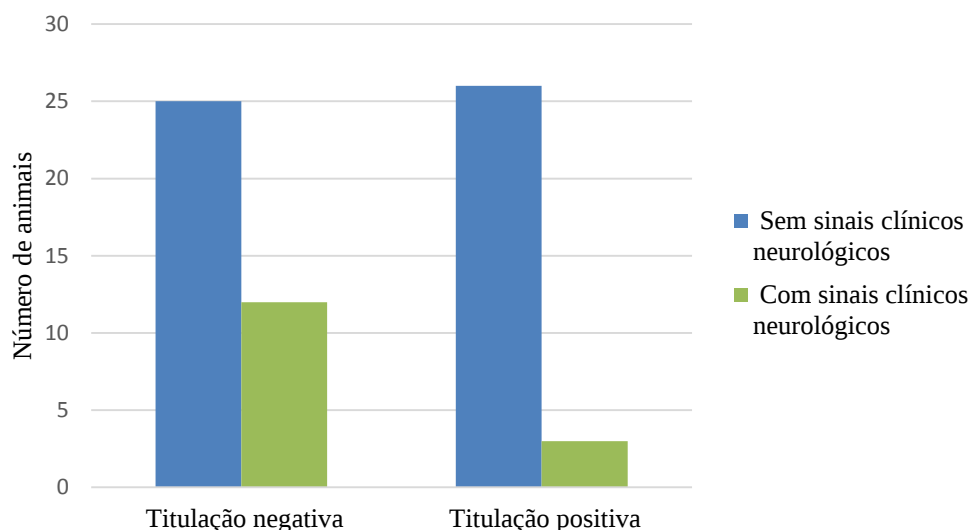


Gráfico 8 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e a ocorrência de sinais clínicos a nível neurológico.

- Relativamente à relação entre a titulação de anticorpos anti-FeCoV e a ocorrência de sinais clínicos oculares, não foi verificada nenhuma relação estatisticamente significativa. No entanto, há que salientar que só foram detectados três animais com sintomatologia ocular, dois dos quais (2/3, 66,67%) tinham títulos de anticorpos anti-FeCoV negativos e apenas um título positivo (1/3, 0,33%) (Gráfico 9).

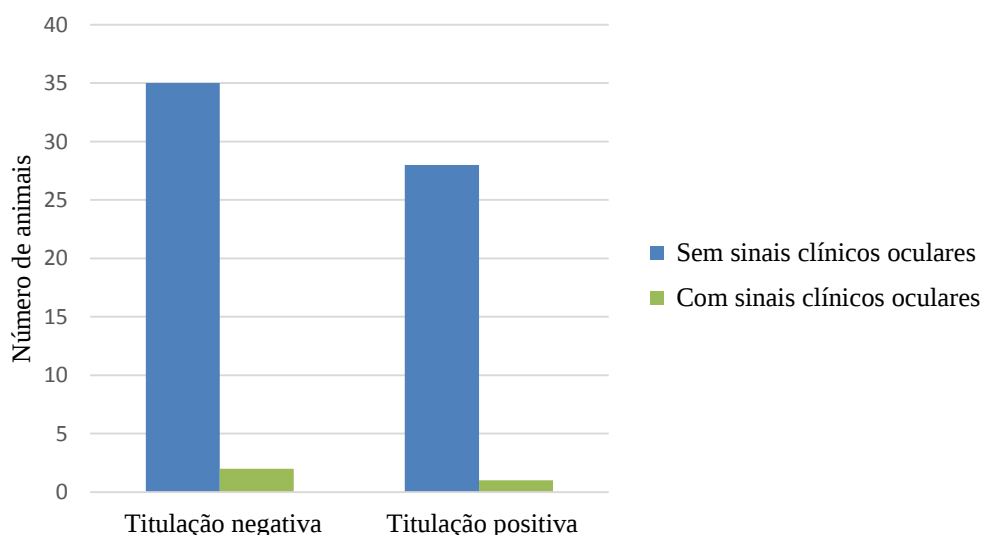


Gráfico 9 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e a ocorrência de sinais clínicos a nível ocular.

Alterações laboratoriais

Relativamente à relação entre a titulação de anticorpos anti-FeCoV e os sinais laboratoriais apresentados pelos animais afectados, a distribuição dentro dos animais suspeitos de PIF foi:

- Relativamente a uma possível relação entre a titulação de anticorpos anti-FeCoV e a contagem de leucócitos, também não foi encontrada nenhuma relação estatisticamente significativa. Como se pode verificar pela tabela (Tabela 12) e pelo gráfico (Gráfico 10), animais com leucocitose tendem a apresentar títulos de anticorpos anti-FeCoV positivos (12/20, 60%), enquanto animais com leucopénia ou contagem normal de leucócitos tendem a apresentar títulos de anticorpos anti-FeCoV negativos (5/9, 55,56% e 22/34, 64,71%, respectivamente).

Tabela 12 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e a contagem do número de leucócitos.

			Leucócitos			Total
			Normal	Leucopénia	Leucocitose	
Teste de PIF	Negativo	Contagem	22	5	8	35
		Contagem esperada	18,9	5	11,1	35
	Positivo	Contagem	12	4	12	28
		Contagem esperada	15,1	4	8,9	28
	Total	Contagem	34	9	20	63
		Contagem esperada	34	9	20	63

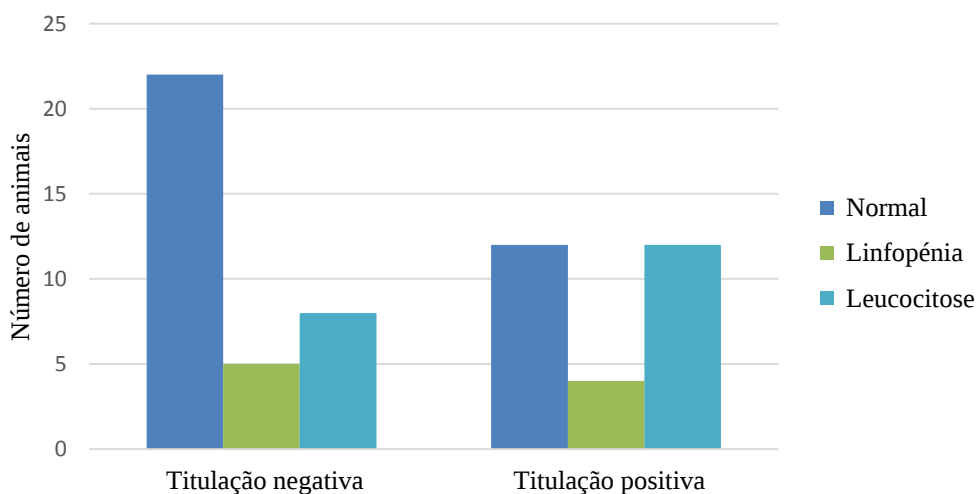


Gráfico 10 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e contagem de leucócitos.

- Não foi encontrada nenhuma relação estatisticamente significativa entre a titulação de anticorpos anti-FeCoV e a contagem de linfócitos. No entanto, consegue verificar-se que os animais com contagens normais de linfócitos tendem a apresentar títulos de anticorpos anti-FeCoV negativos (30/53, 56,60%), enquanto animais com linfopénia tendem a apresentar títulos de anticorpos anti-FeCoV positivos (3/5, 60%) e animais com linfocitose têm maior probabilidade em revelar títulos negativos (3/5, 60%), não se conhecendo os valores da contagem de linfócitos de três dos animais em estudo (Tabela 13 e Gráfico 11).

Tabela 13 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e contagem do número de linfócitos.

			Linfócitos			Total
			Normal	Linfopénia	Linfocitose	
Teste de PIF	Negativo	Contagem	30	2	3	35
		Contagem esperada	29,4	2,8	2,8	35
	Positivo	Contagem	23	3	2	28
		Contagem esperada	23,6	2,2	2,2	28
	Total	Contagem	53	5	5	63
		Contagem esperada	53	5	5	63

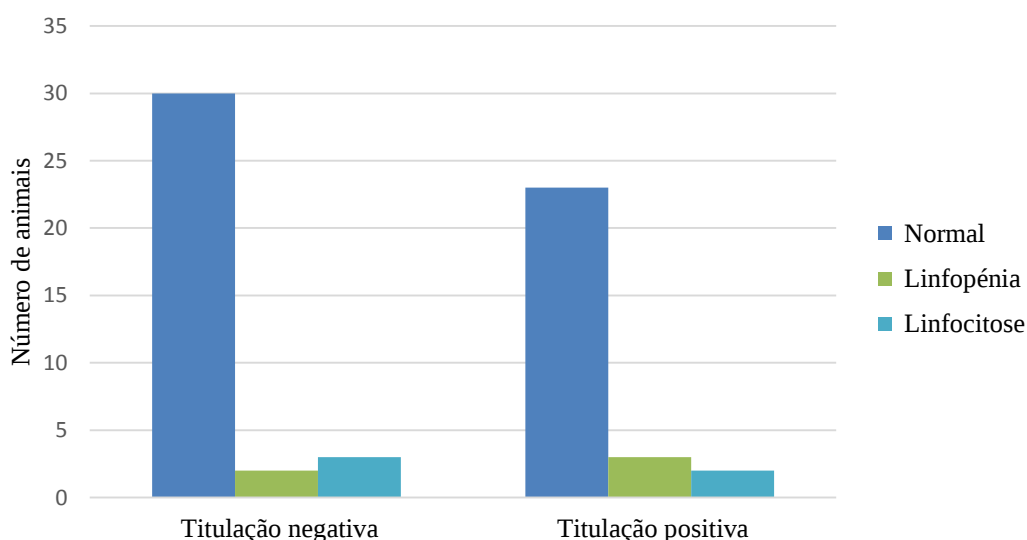


Gráfico 11 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e contagem do número de linfócitos.

- Relativamente à relação entre a titulação de anticorpos anti-FeCoV e a ocorrência de hiperglobulinémia nos animais em estudo, verificou-se uma propensão para animais com

hiperglobulinémia apresentarem títulos de anticorpos positivos (18/34, 52,94%) enquanto animais sem hiperglobulinémia tendem a apresentar títulos de anticorpos anti-FeCoV negativos (19/28, 67,86%), mas apenas quando se utiliza uma significância de 90%, (χ^2 (1,N = 62) = 2,702, p = 0,100). Para este parâmetro os resultados de quatro gatos em estudo não são conhecidos (Tabela 14 e **Erro! A origem da referência não foi encontrada.**).

Tabela 14 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e hiperglobulinémia.

			Hiperglobulinémia		Total
			Ausente	Presente	
Teste de PIF	Negativo	Contagem	19	16	35
		Contagem esperada	15,8	19,2	35
	Positivo	Contagem	9	18	27
		Contagem esperada	12,2	14,8	27
Total		Contagem	28	34	62
		Contagem esperada	28	34	62

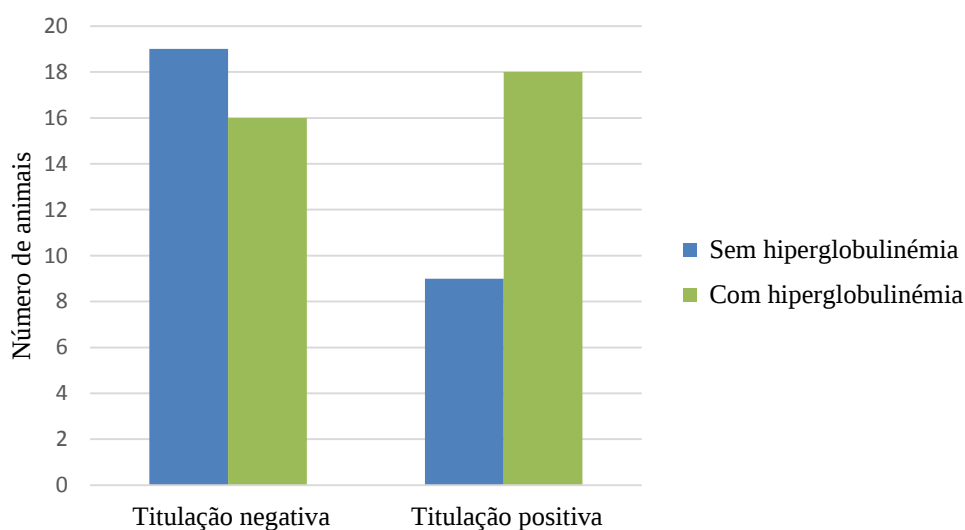


Gráfico 12 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e hiperglobulinémia.

- Por último, relativamente à relação entre a titulação de anticorpos anti-FeCoV e a ocorrência de hiperbilirrubinémia, também foi encontrada uma relação estatisticamente significativa a 90% (χ^2 (1,N = 62) = 2,960, p = 0,085), ou seja, os animais em estudo suspeitos de PIF com hiperbilirrubinémia parecem ter maior propensão para apresentar títulos de anticorpos anti-FeCoV positivos (16/28, 57,14%), verificando-se também o inverso (22/34,

64,71%), tal como se pode verificar pela tabela e gráfico seguintes (Tabela 15 e **Erro! A origem da referência não foi encontrada.**).

Tabela 15 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e hiperbilirrubinémia

			Hiperbilirrubinémia		Total
			Ausente	Presente	
Teste de PIF	Negativo	Contagem	22	12	34
		Contagem esperada	18,6	15,4	34
	Positivo	Contagem	12	16	28
		Contagem esperada	15,4	12,6	28
Total		Contagem	34	28	62
		Contagem esperada	34	28	62

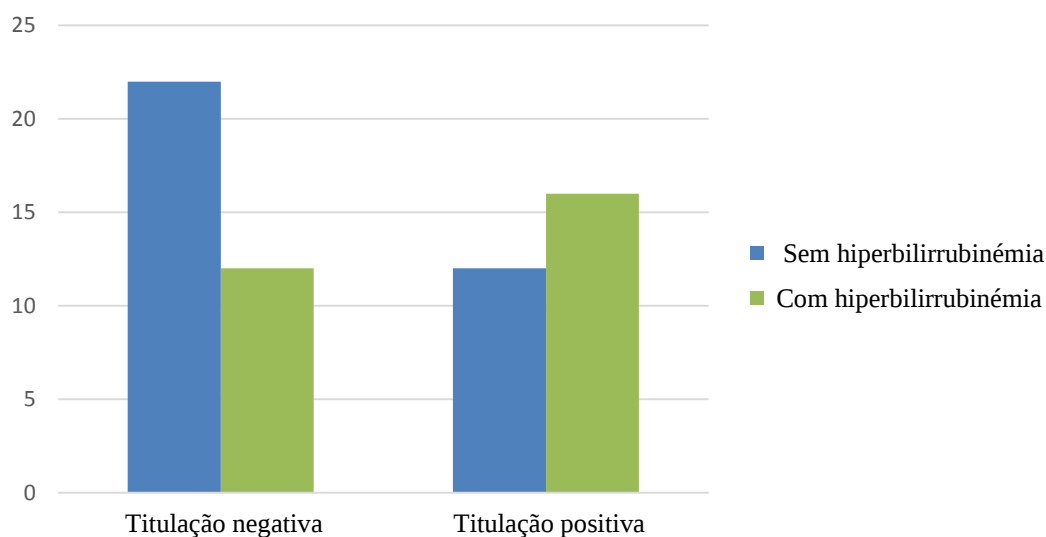


Gráfico 13 - Distribuição dos animais suspeitos de PIF segundo a titulação de anticorpos anti-FeCoV e hiperbilirrubinémia.

K - Discussão dos resultados

Neste estudo retrospectivo verificou-se que, para esta população de gatos seguida no HVVG entre os anos 2010 e 2014, a titulação de anticorpos anti-FeCoV é realizada essencialmente como meio complementar de diagnóstico clínico de PIF (67%) e não como meio para avaliar a ocorrência de uma exposição prévia ao FeCoV. Estes resultados não são surpreendentes, na medida em que a realização desta titulação implica custos adicionais que os donos dos animais poderão não querer ou poder suportar caso o animal não apresente sintomatologia. Também no presente estudo, 28 dos 66 animais suspeitos de PIF (42,42%) apresentaram títulos de anticorpos anti-FeCoV positivos (iguais ou superiores a 1:400), tendo dois destes gatos apresentado um título igual ou superior a 1:1000. O laboratório DNATech realizou entre 2008 e 2015 a titulação de anticorpos anti-FeCoV em 3589 gatos por IFI, tendo concluído que 86,6% destes animais eram seropositivos para FeCoV, 39,2% dos quais com um título igual ou superior a 1:400, um valor semelhante ao determinado para esta população em particular. No entanto, a proporção relativa de gatos com título de anticorpos anti-FeCoV positivo não depende do motivo da realização da titulação, ou seja, não foi detectada uma diferença significativa entre o número de animais com título de anticorpos anti-FeCoV positivo entre gatos que realizaram a titulação apenas por controlo e gatos que apresentavam sintomatologia suspeita de PIF. Estas observações estão de acordo com a bibliografia consultada, uma vez que a maioria dos gatos já expostos ao FeCoV apresenta um título de anticorpos anti-FeCoV positivo, não significando necessariamente que todos estes animais venham a desenvolver a doença (Hartmann 2005; Pedersen 2009a). Adicionalmente, gatos com a forma exsudativa/húmida também podem apresentar títulos muito baixos ou mesmo não apresentar um título de anticorpos anti-FeCoV detectável devido à formação de grandes quantidades de imunocomplexos, que impossibilita a ligação dos anticorpos anti-FeCoV aos antígenos do teste (Katrin Hartmann, 2005). Assim sendo, uma das possíveis conclusões deste estudo é de que a realização isolada da titulação em animais sem sintomatologia suspeita de PIF poderá não ser de grande utilidade, uma vez que muitos animais com títulos elevados poderão nunca desenvolver a doença e títulos negativos ou ausentes não indicam necessariamente que o animal não tenha PIF. O laboratório DNATech recomenda que, caso se queira proceder à titulação em animais potencialmente em risco mas sem sintomatologia característica de PIF, se proceda à repetição da titulação 1 mês, 3 meses e 1 ano após a realização da primeira medição. Se não houver alteração do título, pode então considerar-se que este animal não virá a desenvolver PIF muito provavelmente (Ângela Xufre, comunicação pessoal).

Já a realização da titulação de anticorpos anti-FeCoV como método de diagnóstico complementar de PIF em animais com sinais clínicos e laboratoriais característicos da doença é recomendável, uma vez que se trata de um método pouco invasivo e económico, apresentando maior fiabilidade quando realizado a partir de líquido de derrame (Xufre, 2014).

Em conclusão, apesar de este teste ser cada vez mais utilizado na prática veterinária para o diagnóstico de PIF, a interpretação dos resultados obtidos e o seu significado devem ser sempre analisados no âmbito da anamnese e dos sinais clínicos, e parâmetros laboratoriais apresentados pelo animal, visto que títulos altos não indicam necessariamente a ocorrência de PIF, tal como como títulos baixos ou negativos não excluem necessariamente a doença.

Ainda assim, o diagnóstico definitivo de PIF apenas é possível através da realização de histopatologia, se possível em associação com a imunohistoquímica. No entanto, este não é um exame frequentemente efectuado na prática veterinária nem *in vivo* nem *ex vivo*, tanto devido a limitações económicos como ao elevado risco anestésico associado à colheita de biópsias em animais já altamente debilitados, ou ao não consentimento por parte dos proprietários para realização de necrópsias. No caso específico dos animais incluídos na população em estudo, este exame foi apenas realizado em três gatos suspeitos de PIF com títulos de anticorpos anti-FeCoV positivos, tendo-se verificado que todos apresentavam lesões compatíveis com PIF, tais como a ocorrência de piogranulomas multifocais na cavidade abdominal e, no caso particular da forma exsudativa/húmida de PIF, líquidos de derrame tanto a nível torácico como abdominal com características específicas.

Relativamente à anamnese dos animais em estudo, apenas se encontrou uma relação estatisticamente significativa entre o título de anticorpos anti-FeCoV e o modo de vida para a população em estudo, sendo apenas possível indicar para as outras variáveis a existência de tendências e caracterização das mesmas.

Em relação à idade dos animais suspeitos de PIF, a primeira variável analisada, mais de metade (51,72%) dos gatos com titulação de anticorpos positiva tinham uma idade inferior a 3 anos, o que está de acordo com a bibliografia consultada (Pedersen 2014b). Pensa-se que os animais jovens estejam mais predispostos a desenvolver PIF devido à imaturidade do seu sistema imunitário, principalmente após exposição a eventos stressantes como desmame, vacinação e castração. Também neste estudo se verificou a existência de um segundo pico de animais suspeitos de PIF com títulos de anticorpos anti-FeCoV positivos em animais com idades superiores a 10 anos, o que vai de encontro ao descrito por Bell et al. (2006), onde se sugere que a ocorrência de PIF em gatos idosos pode dever-se ao declínio da imunidade celular associada ao envelhecimento. Esta imunossupressão pode ainda ser agravada por doenças

concomitantes, como a leucemia felina ou o síndrome de imunodeficiência felina, ou devido à realização de tratamentos imunossupressores (Diane D Addie & Jarrett, 2006).

Relativamente ao sexo e estado reprodutivo, Worthing et al. (2012) refere que a PIF é mais comum em machos inteiros. No presente estudo verificámos a mesma situação, uma vez que dos 25 animais com titulação de anticorpos anti-FeCoV positiva que apresentavam sintomatologia suspeita de PIF, 13 eram machos inteiros (52%). No entanto, apesar de parecer haver uma predisposição na população em estudo para o desenvolvimento de PIF em machos inteiros, não se comprovou a existência de uma relação estatisticamente significativa entre o sexo e o estado reprodutivo e uma titulação de anticorpos anti-FeCoV positiva. A falta de significância poderá dever-se à reduzida dimensão da amostra, ao facto existirem mais animais inteiros do que castrados na população em estudo e de os machos se encontrarem mais representados do que as fêmeas, desconhecendo-se ainda o estado reprodutivo de 11 dos animais participantes no estudo.

Relativamente à raça dos animais suspeitos de PIF e a sua relação com a ocorrência de altos títulos de anticorpos anti-FeCoV não foi possível estabelecer uma relação estatística, visto que entre os 66 animais suspeitos de PIF apenas 13 eram de raça pura. Desses 13 animais, apenas sete apresentaram um título de anticorpos anti-FeCoV positivo, sendo dois destes animais de raça Bosques da Noruega, três de raça Persa, um de raça Ragdoll e um de raça British Shorthair. Os restantes animais em estudo eram europeus comuns, devendo-se esta situação ao facto de haver uma maior população destes gatos em Portugal e também de a maioria dos animais deste estudo serem provenientes de gatis. No entanto, com a exceção da raça Persa, as raças acima indicadas são citadas na bibliografia consultada como sendo particularmente predispostas a desenvolver PIF, nomeadamente nos estudos realizados por Worthing et al. (2012) e Pesavento & Murphy (2014). Curiosamente, neste estudo também se verificou que cerca de 10% dos animais seriam provenientes de ninhadas em que a progenitora ou outros gatos da mesma ninhada teriam morrido de PIF, o que poderá indicar uma forte influência da componente hereditária na susceptibilidade dos animais à PIF, de acordo com o descrito por vários autores que defendem que, mais do que a raça, existirão linhagens genéticas associadas a uma maior susceptibilidade para o desenvolvimento da PIF (Golovko et al., 2013; Worthing et al., 2012).

Relativamente à proveniência dos animais em estudo e a sua relação com a ocorrência de altos títulos de anticorpos anti-FeCoV, observou-se que há uma relação estatisticamente significativa entre títulos negativos e gatos que não contactem com outros animais ($\chi^2(3, N = 66) = 7,847$, $p = 0,049$), que constituíam 63,04% da amostra, enquanto gatos provenientes de

ambientes onde há mais de um gato, como por exemplo gatis e criadores, tendem a apresentar títulos de anticorpos anti-FeCoV positivos (85,71% e 75%, respectivamente). Estes resultados estão de acordo com o descrito por Bell et al. (2006), segundo o qual a probabilidade de um gato proveniente de um ambiente com vários gatos ser seropositivo para FeCoV é duas vezes superior à de um gato que não coabite com outros animais. Isto apesar de apenas uma reduzida proporção destes animais, nomeadamente 5%, virem a desenvolver PIF (Hartmann 2005). Também neste estudo, dos 17 animais suspeitos de PIF provenientes de ambientes com vários gatos tais como gatis, criadores ou mesmo da rua (17/66, 25,76%), 9 animais (9/17, 52,94%) apresentaram títulos de anticorpos anti-FeCoV positivos, o que poderá eventualmente indicar que estes gatos apresentam um maior risco de desenvolver PIF devido ao contacto acrescido com o FeCoV, apesar de não termos para nenhum destes animais um diagnóstico definitivo de PIF. Esta conclusão está de acordo com a bibliografia consultada, uma vez que animais provenientes de ambientes com vários gatos se encontram mais sujeitos a um elevado nível de stress devido à sobrepopulação, cruzamentos e lutas, ocorrências estas que aumentam a imunossupressão, e também devido a uma mais rápida dispersão do FeCoV através das fezes e fômites em ambientes com muitos animais (Pesavento & Murphy, 2014). No entanto, é preciso ter em conta que neste estudo havia um maior número de gatos sem contacto com outros animais (46/66, 69,70%) com sintomatologia suspeita de PIF, o que muito provavelmente tem influência nos resultados apresentados.

Relativamente à relação entre a ocorrência de eventos stressantes e o título de anticorpos anti-FeCoV, no presente estudo verificou-se que 81,82% (54/66) dos animais estiveram sujeitos a eventos stressantes no mês anterior à titulação de anticorpos anti-FeCoV, tais como a realização de castração ou outras intervenções cirúrgicas, gatis, mudanças de ambiente ou cruzamentos. Apesar de neste estudo 48,15% dos animais com título de anticorpos anti-FeCoV positivo terem sido sujeitos a eventos stressantes no mês anterior à titulação, um valor superior ao esperado, a probabilidade de estes terem um título negativo é superior (51,85%). No entanto, dado que a quantidade de animais sujeitos a um evento stressante (54/66) é muito superior à de animais não sujeitos (12/66), não é possível concluir para esta população se o stress predispõe ou não os animais em estudo a desenvolver PIF.

Relativamente à ocorrência de imunossupressão associada à infecção por retrovírus felinos, nomeadamente o FIV e o FeLV, Pedersen (2009a) defende que estas aparecem frequentemente como infecções concomitantes em animais com PIF. No entanto, não se sabe na maioria dos casos qual é a infecção viral que predispõe à ocorrência da outra. Este autor refere ainda que, actualmente, apenas 5% dos gatos com PIF vêm a desenvolver leucemia felina

e/ou síndrome da imunodeficiência felina, o que se deve muito provavelmente ao desenvolvimento de muitas estratégias profiláticas nos últimos anos que têm vindo a diminuir a prevalência de infecções por FIV e FeLV, nomeadamente a vacinação contra o FeLV, realização de testes rápidos, isolamento dos gatos infectados e castração (Advisory & Diseases, 2008). Contudo, neste estudo não se conseguiu encontrar uma relação estatisticamente significativa entre a infecção por FIV/FeLV e a ocorrência de PIF nem vice-versa, o que se deve ao reduzido número de animais infectados por FIV/FeLV presentes neste estudo. Dos 66 animais estudados, apenas dois gatos com título de anticorpos anti-FeCoV positivos estavam infectados por retrovírus felinos, sendo um FIV/FeLV positivo e outro FeLV positivo.

Quanto ao modo de vida do animal, dos 29 animais com títulos de anticorpos anti-FeCoV positivos, apenas 8 (27,59%) tinham acesso à rua, sendo neste estudo a probabilidade de gatos sem acesso à rua apresentarem um título positivo de anticorpos anti-FeCoV maior (72,41%) do que para animais que têm acesso à rua. Esta situação não está de acordo com o descrito na bibliografia consultada, segundo a qual animais com acesso à rua não só apresentam um risco mais elevado de serem infectados pelo FeCoV mas também de se encontrarem sujeitos a factores stressantes que levam ao desenvolvimento de PIF (Diane D Addie & Jarrett, 2006). No entanto, há que ter em conta que, neste estudo, os animais sem acesso à rua (48/66, 72,73%) estarem sobre-representados em relação aos animais sem acesso à rua (18/66, 27,27%) o que muito provavelmente afecta os resultados apresentados.

Apesar de os sinais clínicos da PIF serem muito vagos e pouco específicos (Murphy et al., 1999), tentou encontrar-se uma relação estatística significativa entre a titulação de anticorpos anti-FeCoV e alguns sintomas mais comumente associados à PIF, nomeadamente a presença de líquido de derrame (efusão torácica/ascite), febre, anorexia/perda de peso, prostração/letargia, vômito, icterícia e sinais clínicos neurológicos e oculares (Murphy et al., 1999).

Relativamente à sintomatologia apresentada pelos animais suspeitos de PIF, 27,27% (18/66) dos animais suspeitos de PIF apresentavam líquido de derrame e titulação de anticorpos anti-FeCoV positiva sendo a relação entre estas duas variáveis estatisticamente significativa (χ^2 (1, N = 66) = 8,173, p = 0,004). Há que salientar que também se verificou uma relação estatisticamente significativa entre um título positivo de anticorpos anti-FeCoV e a ocorrência de ascite (χ^2 (N = 66) = 9,448, p = 0,002). Estes resultados indicam que a ocorrência da forma exsudativa/húmida da PIF é mais comum, embora a forma seca tenha vindo a tornar-se mais frequente nos últimos anos, de acordo com a bibliografia consultada (Hartmann et al. 2003; Pedersen 2009a). Dos animais em estudo, 13 gatos apresentavam ascite e três gatos efusão

torácica, enquanto que apenas dois gatos apresentavam simultaneamente efusões em ambas as localizações. Entre os animais com um título de anticorpos anti-FeCoV positivo, a percentagem de gatos com líquido de derrame é de 64,29% (18/28), percentagem esta que é bastante superior à indicada por Hartmann (2005), segundo a qual apenas 50% dos gatos com líquido de derrame vêm a sofrer de PIF. No entanto, há que salientar que não é possível comparar de forma directa estes dois valores, uma vez que neste estudo não foi possível confirmar o diagnóstico presuntivo de PIF através da realização de exames de referência, nomeadamente a histopatologia. Os 10 animais com líquido de derrame mas com titulação de anticorpos anti-FeCoV negativa serão suspeitos de ter outras doenças felinas comuns, nomeadamente a colangite linfocítica, neoplasias hepáticas e linfomas, que dão origem à presença de líquidos de derrame com características semelhantes às efusões por PIF, de acordo com a literatura consultada (Tasker & Gunn-Moore, 2000).

Já os 11 gatos (11/66, 16,67%) com um título de anticorpos anti-FeCoV positivo mas sem líquido de derrame poderiam ser afectados eventualmente pela forma não exsudativa/seca de PIF.

Relativamente à ocorrência de febre, verificou-se que 10/17 (58,82%) dos animais suspeitos de PIF e que tinham febre apresentavam uma titulação de anticorpos anti-FeCoV positiva. No entanto, entre os 29 animais com um título de anticorpos anti-FeCoV positivo, apenas 10 (34,48%) apresentavam febre, não sendo por isso um sinal clínico muito comum nos animais suspeitos de PIF no nosso estudo, contrariamente ao descrito na bibliografia consultada (Murphy et al., 1999).

Relativamente a uma possível relação estatística entre a titulação de anticorpos anti-FeCoV de animais suspeitos de PIF e a ocorrência de anorexia/perda de peso, verificou-se que dos 20 animais que apresentavam um ou ambos os sinais clínicos apenas 11 tinham titulação de anticorpos anti-FeCoV positiva. No entanto, entre os 29 animais com um título de anticorpos anti-FeCoV positivo apenas 11 (37,93%) apresentavam anorexia/perda de peso, considerando-se assim que estes sinais clínicos são relativamente comuns nos animais suspeitos de PIF neste estudo. O mesmo foi observado relativamente à relação entre a titulação de anticorpos anti-FeCoV e a ocorrência de prostração/letargia, uma vez que o número de animais suspeitos de PIF que apresentou este sinal clínico foi bastante reduzido (3/66, 4,55%).

Relativamente à ocorrência de vômito, verificou-se que dos 29 animais com títulos de anticorpos anti-FeCoV positivos 15 (51,72%) apresentaram vômitos. Já relativamente ao estabelecimento de uma relação estatística entre a titulação de anticorpos anti-FeCoV e a ocorrência de icterícia, verificou-se que dos 19 animais que estavam ictéricos 10 (52,63%)

apresentavam títulos de anticorpos anti-FeCoV positivos; no entanto, dos 29 animais com titulação de anticorpos anti-FeCoV positiva, apenas 10 apresentaram icterícia. Assim sendo, apesar de na bibliografia consultada se considerar que estes dois sinais clínicos são os menos frequentes em animais com PIF (Michimae et al., 2010; Murphy et al., 1999), no presente estudo verificou-se que estes ocorreram com alguma frequência. Esta situação poderá ser explicada pelo facto de ambos os sinais clínicos poderem manifestar-se em ambas as formas da doença, que poderão estar bem representadas neste estudo caso fosse possível confirmar a ocorrência de PIF através da realização de histopatologia (D. Addie et al., 2009; Katrin Hartmann, 2005).

Relativamente à ocorrência de sinais clínicos neurológicos, foi encontrada uma relação estatisticamente significativa (χ^2 (1, N = 66) = 4,516, p = 0,034) embora contrária ao esperado, visto que neste estudo, 12 dos 15 animais com sintomatologia neurológica, apresentavam títulos de anticorpos anti-FeCoV negativos (12/15, 80%), enquanto os animais sem sinais neurológicos pareciam ter maior propensão para apresentar títulos de anticorpos anti-FeCoV positivos (26/51, 50,98%). Esta relação não está de acordo com a bibliografia consultada, uma vez que alguns autores afirmam que cerca de 13% dos animais com PIF apresentam sinais clínicos neurológicos (Katrin Hartmann, 2005), e outros, que mais de metade dos gatos com PIF apresentam este tipo de sintomatologia (Bradshaw et al., 2004). Tal situação poderia ser explicada por uma eventual maioria dos animais integrados neste estudo poderem ser afectados pela forma exsudativa/húmida da PIF, sendo os sinais clínicos neurológicos mais comuns na forma não exsudativa/seca (Pedersen 2009a). O mesmo estudo considera que os sinais clínicos oculares são mais típicos da forma não exsudativa/seca de PIF. No entanto, neste estudo não foi possível estabelecer uma relação estatística entre a titulação de anticorpos anti-FeCoV e este tipo de sintomatologia, visto que apenas 3 dos animais em estudo apresentaram sinais clínicos oculares, apresentando dois destes títulos negativos e apenas um título positivo. Tal como referido anteriormente, esta situação poderá ser explicada pelo facto dos animais deste estudo poderem ser mais afectados pela forma exsudativa/húmida de PIF.

Outro sinal clínico descrito como muito frequente na literatura é a linfadenomegália (Knipe & Howley, 2007). No entanto, esta só foi verificada em 3/66 animais suspeitos de PIF. Tal situação poderá ser explicada pelo facto de não se ter realizado nem ecografias abdominais nem histopatologia em todos os animais, podendo assim esta alteração ter passado despercebida.

Relativamente aos exames complementares realizados, procurou-se estabelecer relações estatisticamente significantes entre a titulação de anticorpos anti-FeCoV e as contagens de leucócitos, de linfócitos, a ocorrência de hiperglobulinémia e de hiperbilirrubinémia.

Quanto à relação entre a titulação de anticorpos anti-FeCoV e a contagem de leucócitos, não foi encontrada nenhuma relação estatisticamente significativa, tendo-se apenas verificado que animais com leucocitose tendem a ter títulos de anticorpos anti-FeCoV positivos (12/20, 60%) enquanto animais com leucopénia e contagem normal de leucócitos tendem a apresentar títulos negativos (5/9, 55,56% e 22/34, 64,71%, respectivamente). No entanto, dentro dos animais com titulação de anticorpos anti-FeCoV positiva, apenas 12/28 (42,86%) apresentaram leucocitose, sendo esta percentagem próxima da descrita por Tsai et al. (2011) que detectou leucocitose em 37,8% dos animais com PIF. Já Hartmann (2005) e Addie et al. (2009) referem que em animais com PIF tanto pode haver leucopénia como leucocitose, sendo a leucocitose mais frequente, o que vai de acordo com o verificado neste estudo, uma vez que de entre os animais suspeitos de PIF com titulação de anticorpos anti-FeCoV positiva a percentagem de animais que apresenta leucocitose é muito superior (12/28, 42,86%) à de animais com leucopénia (4/28, 14,29%). Este aumento do número de leucócitos encontra-se geralmente associado à ocorrência de neutrofilia, segundo a bibliografia consultada, e deve-se essencialmente à deposição dos complexos antígeno-anticorpo na parede dos vasos sanguíneos e posterior fixação do complemento, que leva à activação do sistema complemento e dos neutrófilos, desencadeando um conjunto de respostas inflamatórias antivirais (Arosa et al., 2007; a Kipar et al., 2005).

Relativamente à contagem do número de linfócitos, também não foi encontrada nenhuma relação estatisticamente significativa, tendo-se verificado, no entanto, que animais com linfopénia tendem a ter títulos de anticorpos anti-FeCoV positivos (3/5, 60%) enquanto animais com linfocitose tendem a ter títulos de anticorpos anti-FeCoV negativos (3/5, 60%). Segundo o estudo realizado por Tsai et al. (2011) a linfopénia foi detectada em 64,1% dos animais com PIF, enquanto no presente estudo entre os animais suspeitos de PIF com titulação de anticorpos anti-FeCoV positiva, apenas 3/28 (10,71%) apresentaram linfopénia. Tal situação pode ser explicada pelo facto de a linfopénia e neutrofilia serem muitas vezes confundidas com um “leucograma de stress” típico, que pode ocorrer em associação com muitas outras doenças sistémicas (Diane D Addie & Jarrett, 2006; Sharif et al., 2010).

Relativamente a uma possível relação estatística entre a titulação de anticorpos anti-FeCoV e os parâmetros bioquímicos hiperglobulinémia e hiperbilirrubinémia, foi encontrada uma relação estatisticamente significativa para ambos os parâmetros com um nível de significância de 90% ((χ^2 (1, N = 62) = 2,702, p = 0,100) e (χ^2 (1, N = 62) = 2,960, p = 0,085), respectivamente), sendo a hiperglobulinémia calculada através do rácio A:G. Neste estudo, verificou-se uma propensão para animais com hiperglobulinémia apresentarem títulos de

anticorpos positivos (18/34, 52,94%) enquanto animais sem hiperglobulinemia tendem a apresentar títulos de anticorpos anti-FeCoV negativos (19/28, 67,86%). Dentro dos animais suspeitos de PIF com títulos de anticorpos anti-FeCoV positivos, 18/27 (66,67%) apresentavam hiperglobulinemia (rácio inferior a 0,8), sendo que apenas dois desses animais apresentavam um rácio inferior a 0,4, valor este que é fortemente indicador de PIF (Katrin Hartmann et al., 2003). No entanto, desconhecia-se o valor do rácio A:G para quatro dos animais.

Relativamente a uma possível relação estatística entre a titulação de anticorpos anti-FeCoV e a ocorrência de hiperbilirrubinemia, verificou-se que animais suspeitos de PIF com hiperbilirrubinemia tendem a ter títulos de anticorpos anti-FeCoV positivos (16/28, 57,14%) enquanto que animais sem hiperbilirrubinemia tendem a ter títulos negativos (22/34, 64,71%). Também se verificou que, dentro dos animais suspeitos de PIF com títulos de anticorpos anti-FeCoV positivos, a probabilidade destes apresentarem hiperbilirrubinemia seria também elevada (57,14%). Segundo Tsai et al. (2011) a hiperbilirrubinemia ocorre mais na forma exsudativa/húmida de PIF, que seria eventualmente a forma mais representada na amostra em estudo, apesar de não haver um diagnóstico definitivo de PIF para nenhum destes animais, como já referido. Tal poderia explicar a alta percentagem de animais a apresentarem hiperbilirrubinemia neste estudo.

Finalmente, este estudo retrospectivo teve algumas limitações que tiveram um impacto significativo nos resultados obtidos e conclusões tiradas, nomeadamente:

- O tamanho da amostra em estudo e;
 - A realização de histopatologia para apenas três dos animais participantes no estudo.
- Assim sendo, apenas se pode concluir, a partir dos resultados obtidos, que os animais serão suspeitos de terem PIF sem se ter a certeza do diagnóstico final;
- Obtenção da grande maioria dos dados clínicos através da consulta de fichas clínicas do programa QVet do HVVG, algumas das quais estavam incompletas, o que dificultou a análise de resultados relativos às variáveis em estudo;
 - Não realização de todos os exames complementares de diagnóstico, tais como hemograma, bioquímicas, radiografias e ecografias, para todos os animais, devido a limitações financeiras dos proprietários.

Em resumo, este estudo seria mais completo se tivesse sido realizado de forma controlada e associado à implementação de protocolos idênticos para todos os animais, possibilitando o acesso a todas as informações, no que concerne a todas as variáveis de cada indivíduo em estudo por forma a aumentar a fiabilidade dos resultados.

L - Conclusão

No decurso deste estudo retrospectivo, uma relação estatisticamente significativa entre um título de anticorpos anti-FeCoV e a ocorrência de líquidos de derrame (especialmente ascite), a hiperglobulinémia e hiperbilirrubinémia foi determinada, o que está de acordo com o previamente descrito na bibliografia consultada. Também se encontrou uma relação estatisticamente significativa entre um título negativo de anticorpos anti-FeCoV e gatos sem contacto regular com outros animais e a presença de sinais clínicos neurológicos. Esta segunda relação estatística não está de acordo com o descrito na bibliografia consultada, uma vez que os sinais clínicos neurológicos estão frequentemente associados à PIF, principalmente com a forma não exsudativa/seca da doença.

Relativamente à caracterização desta população e começando pela anamnese, na população analisada de animais suspeitos de PIF os gatos com títulos de anticorpos anti-FeCoV positivos apresentavam maioritariamente idades inferiores a 3 anos (50%) ou superiores a 10 anos (27,59%), sendo na sua maioria machos inteiros (52%). Também se verificou que animais provenientes de gatis (85,71%) e criadores (75%), tinham maior propensão para apresentar títulos de anticorpos anti-FeCoV positivos e que 48,15% dos animais com títulos positivos tinham sido sujeitos a um evento stressante no mês anterior à realização da titulação. Neste estudo, os sinais clínicos mais comuns apresentados pelos gatos suspeitos de PIF com títulos de anticorpos anti-FeCoV positivos foram: a ocorrência de líquidos de derrame (64,29%), principalmente ascite (72,22%); e, menos frequentemente, efusões torácicas (16,67%), febre (34,48%), anorexia/perda de peso (37,93%), prostração/letargia (4,55%), vômito (51,72%), icterícia (34,48%), sinais clínicos neurológicos (10,35%) e oculares (3,45%). Quanto aos parâmetros laboratoriais, no hemograma de 42,86% dos animais em estudo com títulos de anticorpos anti-FeCoV positivos foi detectada uma leucocitose e em 10,71% uma linfopenia, enquanto nas análises bioquímicas de 66,67% dos mesmos animais foi detectada uma hiperglobulinémia e em 57,14% uma hiperbilirrubinémia.

Finalmente, na população estudada a titulação de anticorpos anti-FeCoV foi realizada essencialmente como meio complementar de diagnóstico clínico de PIF e não como meio para avaliar a ocorrência de uma exposição prévia ao FeCoV, não tendo sido detectada uma diferença significativa entre os títulos de anticorpos anti-FeCoV entre ambos os grupos. Esta observação sugere que, no caso particular dos animais sem sintomas de PIF suspeitos de terem contactado com o FeCoV, é importante a repetição da titulação durante cerca de um ano para seguir a evolução da situação em termos serológicos, e também que os resultados da titulação de anticorpos anti-FeCoV devem sempre ser interpretados tendo em conta a anamnese, as

alterações clínicas e laboratoriais do animal suspeito de PIF para que se possa proceder a um acompanhamento correcto do animal, permitindo o aumento da qualidade de vida e a implementação de uma terapêutica adequada.

Em conclusão, dadas as dificuldades associadas ao diagnóstico de PIF e com base nos resultados deste estudo, conclui-se que a titulação de anticorpos anti-FeCoV constitui um importante método complementar de diagnóstico desta doença que tem, no entanto, de ser interpretado de forma cuidadosa e sempre tendo em conta todos os dados disponíveis, continuando a histopatologia, associada a imunohistoquímica, a ser o método de diagnóstico de PIF com maior valor diagnóstico.

Geralmente, enquanto não se desenvolverem tratamentos antivirais e vacinas eficazes contra a PIF, deverá recorrer-se o mais frequentemente possível à implementação de medidas de controlo, principalmente nos locais onde há sobrepopulação de gatos por forma a diminuir a disseminação e transmissão viral.

Bibliografia

- Addie, D., Belák, S., Boucraut-Baralon, C., Egberink, H., Frymus, T., Gruffydd-Jones, T., ... Horzinek, M. C. (2009). Feline infectious peritonitis. ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11(7), 594–604. <http://doi.org/10.1016/j.jfms.2009.05.008>
- Addie, D. D., & Jarrett, O. (2006). Feline Coronavirus Infections. In *Greene CE (Ed), Infectious Diseases of the Dog and Cat, (3rd edition)* (3rd Editio, pp. 88–103). St. Louis, Missouri: Saunders.
- Addie, D. D., Paltrinieri, S., & Pedersen, N. C. (2004). Recommendations from workshops of the second international feline coronavirus/feline infectious peritonitis symposium. In *Journal of Feline Medicine and Surgery* (Vol. 6, pp. 125–130).
- Addie, D. D., Schaap, I. A. T., Nicolson, L., & Jarrett, O. (2003). Persistence and transmission of natural type I feline coronavirus infection. *Journal of General Virology*, 84(10), 2735–2744. <http://doi.org/10.1099/vir.0.19129-0>
- Addie, D. D., Toth, S., Murray, G. D., & Jarrett, O. (1995). Risk of feline infectious peritonitis in cats naturally infected with feline coronavirus. *American Journal of Veterinary Research*, 56(4), 429–434.
- Advisory, E., & Diseases, C. (2008). Guidelines on Feline Infectious Diseases, (October 2007).
- Alazawy, A., Arshad, S. S., Omar, A. R., Bejo, M. H., Bande, F., Sharif, S., & Tengku Ibrahim, T. A. (2012). Isolation and molecular characterization of type I and type II feline coronavirus in Malaysia. *Virology Journal*, 9, 278. <http://doi.org/10.1186/1743-422X-9-278>
- Arosa, F. A., Cardoso, E. M. ., & Pacheco, F. C. (2007). *Fundamentos de Imunologia*. Lisboa: Lidel - edições técnicas, Lda.
- Battilani, M., Coradin, T., Scagliarini, A., Ciulli, S., Ostanello, F., Prosperi, S., & Morganti, L. (2003). Quasispecies composition and phylogenetic analysis of feline coronaviruses (FCoVs) in naturally infected cats. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 39(2), 141–147.
- Beer, J. (1999). *Doenças Infecciosas em animais domésticos*. Livraria Roca Lda.
- Bell, E. T., Toribio, J. A. L. M. L., White, J. D., Malik, R., & Norris, J. M. (2006). Seroprevalence study of feline coronavirus in owned and feral cats in Sydney, Australia. *Australian Veterinary Journal*, 84(3), 74–81.
- 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. *Veterinary Microbiology*, 99(1), 31–42.
<http://doi.org/10.1016/j.vetmic.2003.07.010>
- Berg, A.-L., Ekman, K., Belák, S., & Berg, M. (2005). Cellular composition and interferon-gamma expression of the local inflammatory response in feline infectious peritonitis (FIP). *Veterinary Microbiology*, 111(1-2), 15–23.
<http://doi.org/10.1016/j.vetmic.2005.07.017>
- Bistner, S. (1994). Allergic- and immunologic-mediated diseases of the eye and adnexae. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 24(4), 711–734.
- Boettcher, I. C., Steinberg, T., Matiassek, K., Greene, C. E., Hartmann, K., & Fischer, A. (2007). Use of anti-coronavirus antibody testing of cerebrospinal fluid for diagnosis of feline infectious peritonitis involving the central nervous system in cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 230(2), 199–205.
- Bradshaw, J. M., Pearson, G. R., & Gruffydd-Jones, T. J. (2004). A retrospective study of 286 cases of neurological disorders of the cat. *Journal of Comparative Pathology*, 131(2-3), 112–120.
- Brown, M. A. (2011). Genetic determinants of pathogenesis by feline infectious peritonitis virus. *Veterinary Immunology and Immunopathology*.
- Brown, M. A., Troyer, J. L., Pecon-Slaterry, J., Roelke, M. E., & O'Brien, S. J. (2009). Genetics and pathogenesis of feline infectious peritonitis virus. *Emerging Infectious Diseases*, 15(9), 1445–1452.
- Can-Şahna, K., Soydal Ataseven, V., Pinar, D., & Çiğdem Oğuzoğlu, T. (2007). The detection of feline coronaviruses in blood samples from cats by mRNA RT-PCR. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 9(5), 369–372.
- Cave, T. A., Golder, M. C., Simpson, J., & Addie, D. D. (2004). Risk factors for feline coronavirus seropositivity in cats relinquished to a UK rescue charity. In *Journal of Feline Medicine and Surgery* (Vol. 6, pp. 53–58).
- Chang, H. W., Egberink, H. F., Halpin, R., Spiro, D. J., & Rottier, P. J. M. (2012). Spike protein fusion peptide and feline coronavirus virulence. *Emerging Infectious Diseases*, 18(7), 1089–1095.
- Chang, H.-W., de Groot, R. J., Egberink, H. F., & Rottier, P. J. M. (2010). Feline infectious peritonitis: insights into feline coronavirus pathobiogenesis and epidemiology based on genetic analysis of the viral 3c gene. *The Journal of General Virology*, 91(Pt 2), 415–20.
<http://doi.org/10.1099/vir.0.016485-0>
- Dewerchin, H. L., Cornelissen, E., & Nauwynck, H. J. (2005). Replication of feline coronaviruses in peripheral blood monocytes. *Archives of Virology*, 150(12), 2483–2500.
<http://doi.org/10.1007/s00705-005-0598-6>
- Diaz, J. V., & Poma, R. (2009). Diagnosis and clinical signs of feline infectious peritonitis in the central nervous system. *The Canadian Veterinary Journal*, 50, 1091–1093.

- Doki, T., Takano, T., Nishiyama, Y., Nakamura, M., & Hohdatsu, T. (2013). Generation, characterization and therapeutic potential of anti-feline TNF-alpha MAbs for feline infectious peritonitis. *Research in Veterinary Science*, 95(3), 1248–1254.
- Duarte, a., Veiga, I., & Tavares, L. (2009). Genetic diversity and phylogenetic analysis of Feline Coronavirus sequences from Portugal. *Veterinary Microbiology*, 138(1-2), 163–168. <http://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.03.009>
- Dye, C., & Siddell, S. G. (2007). Genomic RNA sequence of feline coronavirus strain FCoV C1Je. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 9(3), 202–213. <http://doi.org/10.1016/j.jfms.2006.12.002>
- Echeto, O. E. V., Madrigal, K., Admadé, M., Oviedo, O. R. V., Moreno, A., & Simoes, D. (2005). 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*, 15(3), 195–203.
- Eifart, P., Ludwig, K., Böttcher, C., de Haan, C. A. M., Rottier, P. J. M., Korte, T., & Herrmann, A. (2007). Role of endocytosis and low pH in murine hepatitis virus strain A59 cell entry. *Journal of Virology*, 81(19), 10758–10768.
- Fischer, Y., Ritz, S., Weber, K., Sauter-Louis, C., & Hartmann, K. (2011). Randomized, placebo controlled study of the effect of propentofylline on survival time and quality of life of cats with feline infectious peritonitis. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 25(6), 1270–6. <http://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2011.00806.x>
- Fischer, Y., Sauter-Louis, C., & Hartmann, K. (2012). Diagnostic accuracy of the Rivalta test for feline infectious peritonitis. *Veterinary Clinical Pathology*, 41(4), 558–567.
- Foley, J. E., Lapointe, J. M., Koblik, P., Poland, a, & Pedersen, N. C. (1998). Diagnostic features of clinical neurologic feline infectious peritonitis. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 12(6), 415–23. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9857333>
- Foley, J. E., Poland, A., Carlson, J., & Pedersen, N. C. (1997). Risk factors for feline infectious peritonitis among cats in multiple-cat environments with endemic feline enteric coronavirus. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 210(9), 1313–1318.
- Ford, R. B. (1986). Biological response modifiers in the management of viral infection. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 16(6), 1191–1204.
- German, A. (2012). Update on feline infectious peritonitis. *In Practice*, 34, 282–291. <http://doi.org/10.1136/inp.e2779>
- Giordano, A., & Paltrinieri, S. (2009). Interferon-gamma in the serum and effusions of cats with feline coronavirus infection. *Veterinary Journal*, 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. *The Journal of Small Animal Practice*, 52(3), 152–157. <http://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2011.01042.x>
- Golovko, L., Lyons, L. A., Liu, H., Sørensen, A., Wehnert, S., & Pedersen, N. C. (2013). Genetic susceptibility to feline infectious peritonitis in Birman cats. *Virus Research*, 175(1), 58–63.
- Groot-mijnes, J. D. F. De, Dun, J. M. Van, Most, G. Van Der, Groot, R. J. De, & Groot, R. J. D. E. (2005). Natural History of a Recurrent Feline Coronavirus Infection and the Role of Cellular Immunity in Survival and Disease Natural History of a Recurrent Feline Coronavirus Infection and the Role of Cellular Immunity in Survival and Disease. *Society*, 79(2), 1036–1044. <http://doi.org/10.1128/JVI.79.2.1036>
- Haagmans, B. L., Egberink, H. F., & Horzinek, M. C. (1996). Apoptosis and T-cell depletion during feline infectious peritonitis. *Journal of Virology*, 70(12), 8977–8983.
- Hartmann, K. (2005). Feline infectious peritonitis. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 35(1), 39–79, vi. <http://doi.org/10.1016/j.cvsm.2004.10.011>
- Hartmann, K. (2010). Feline Infectious Peritonitis and Feline Coronavirus Infections. In *Ettinger, S.J. & Feldman, E.C., Textbook of Veterinary Internal Medicine , 7th Edition Feline Enteric Coronavirus and Feline Infectious Peritonitis* (pp. 940–945). Missouri: Elsevier.
- Hartmann, K., Binder, C., Hirschberger, J., Cole, D., Reinacher, M., Schroo, S., ... Hermanns, W. (2003). Comparison of different tests to diagnose feline infectious peritonitis. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 17(6), 781–790. <http://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2003.tb02515.x>
- Hartmann, K., & Ritz, S. (2008, May 15). Treatment of cats with feline infectious peritonitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. <http://doi.org/10.1016/j.vetimm.2008.01.026>
- Harvey, C. J., Lopez, J. W., & Hendrick, M. J. (1996). An uncommon intestinal manifestation of feline infectious peritonitis: 26 cases (1986-1993). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 209(6), 1117–1120.
- Herrewegh, A. A. P. M., De Groot, R. J., Cepica, A., Egberink, H. F., Horzinek, M. C., & Rottier, P. J. M. (1995). Detection of feline coronavirus RNA in feces, tissues, and body fluids of naturally infected cats by reverse transcriptase PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 33(3), 684–689.
- Hirschberger, J., & Koch, S. (1995). Validation of the determination of the activity of adenosine deaminase in the body effusions of cats. *Research in Veterinary Science*, 59(3), 226–229.

- Hsieh, L. E., Lin, C. N., Su, B. L., Jan, T. R., Chen, C. M., Wang, C. H., ... Chueh, L. L. (2010). Synergistic antiviral effect of Galanthus nivalis agglutinin and nelfinavir against feline coronavirus. *Antiviral Research*, 88(1), 25–30.
- Huisman, W., Martina, B. E. E., Rimmelzwaan, G. F., Gruters, R. A., & Osterhaus, A. D. M. E. (2009). Vaccine-induced enhancement of viral infections. *Vaccine*.
- Kennedy, M., Boedeker, N., Gibbs, P., & Kania, S. (2001). Deletions in the 7a ORF of feline coronavirus associated with an epidemic of feline infectious peritonitis. *Veterinary Microbiology*, 81(3), 227–234.
- Kipar, a, May, H., Menger, S., Weber, M., Leukert, W., & Reinacher, M. (2005). Morphologic features and development of granulomatous vasculitis in feline infectious peritonitis. *Veterinary Pathology*, 42(3), 321–330. <http://doi.org/10.1354/vp.42-3-321>
- Kipar, a, & Meli, M. L. (2014). Feline infectious peritonitis: still an enigma? *Veterinary Pathology*, 51(2), 505–26. <http://doi.org/10.1177/0300985814522077>
- Kipar, A., Koehler, K., Bellmann, S., & Reinacher, M. Feline infectious peritonitis presenting as a tumour in the abdominal cavity., 144 *The Veterinary record* 118–122 (1999).
- Kiss, I., Poland, A. M., & Pedersen, N. C. (2004). Disease outcome and cytokine responses in cats immunized with an avirulent feline infectious peritonitis virus (FIPV)-UCD1 and challenge-exposed with virulent FIPV-UCD8. In *Journal of Feline Medicine and Surgery* (Vol. 6, pp. 89–97).
- Knipe, D. M., & Howley, P. M. (2007). *Fields Virology* (5th editio). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Le Poder, S. (2011). Feline and canine coronaviruses: Common genetic and pathobiological Features. *Advances in Virology*.
- Legendre, A. M., & Bartges, J. W. (2009). Effect of Polyprenyl Immunostimulant on the survival times of three cats with the dry form of feline infectious peritonitis. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11(8), 624–626. <http://doi.org/10.1016/j.jfms.2008.12.002>
- Licitra, B. N., Millet, J. K., Regan, A. D., Hamilton, B. S., Rinaldi, V. D., Duhamel, G. E., & Whittaker, G. R. (2013). Mutation in spike protein cleavage site and pathogenesis of feline coronavirus. *Emerging Infectious Diseases*, 19(7), 1066–1073.
- Lin, C. N., Su, B. L., Huang, H. P., Lee, J. J., Hsieh, M. W., & Chueh, L. L. (2009). Field strain feline coronaviruses with small deletions in ORF7b associated with both enteric infection and feline infectious peritonitis. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11(6), 413–419.
- Meli, M., Kipar, A., Müller, C., Jenal, K., Gönczi, E., Borel, N., ... 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. In *Journal of Feline Medicine and Surgery* (Vol. 6, pp. 69–81).

- Michimae, Y., Mikami, S., Okimoto, K., Toyosawa, K., Matsumoto, I., Kouchi, M., ... Seki, T. (2010). The First Case of Feline Infectious Peritonitis-like Pyogranuloma in a Ferret Infected by Coronavirus in Japan. *Journal of Toxicologic Pathology*.
- Murphy, F. A., Gibbs E.P.J., Horzinek, M. C., & Studdert, M. J. (1999). *Veterinary virology* (3th editio). London: Academic Press.
- Myrrha, L. W., Silva, F. M. F., Peternelli, E. F. D. O., Junior, A. S., Resende, M., & Almeida, M. R. De. (2011). The paradox of feline coronavirus pathogenesis: A review. *Advances in Virology*. <http://doi.org/10.1155/2011/109849>
- Norris, J. (2007, July). Updates in FIP: pathogenesis, diagnosis and treatment. Retrieved from <http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2007>
- Paltrinieri, S., Cammarata, M. P., Cammarata, G., & Comazzi, S. (1998). Some aspects of humoral and cellular immunity in naturally occurring feline infectious peritonitis. *Vet Immunol Immunopathol*, 65(2-4), 205–220. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9839875
- Paltrinieri, S., Giordano, A., Tranquillo, V., & Guazzetti, S. (n.d.). Critical assessment of the diagnostic value of feline alpha1-acid glycoprotein for feline infectious peritonitis using the likelihood ratios approach. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation : Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 19(3), 266–272. <http://doi.org/10.1016/j.jvdi.2005.03.001> [pii]
- Paltrinieri, S., Grieco, V., Comazzi, S., & Cammarata Parodi, M. (2001). Laboratory profiles in cats with different pathological and immunohistochemical findings due to feline infectious peritonitis (FIP). *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 3(3), 149–159.
- Paltrinieri, S., Metzger, C., Battilani, M., Pocacqua, V., Gelain, M. E., & Giordano, A. (n.d.). Serum α 1-acid glycoprotein (AGP) concentration in non-symptomatic cats with feline coronavirus (FCoV) infection. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 9(4), 271–277.
- Paul, W. E., McHeyzer-williams, M., & Barthold, Stephen. Bowen, R. Hedrick, Ronald. Knowles, Donald. Lairmore, Michael. Parrish, Colin. Saif, Linda. Swayne, D. (2010). *FENNER'S VETERINARY VIROLOGY. ELSEVIER* (Vol. 5th editio). <http://doi.org/10.1016/B978-0-12-375158-4.X0001-6>
- Pedersen, N. C. (n.d.). A review of feline infectious peritonitis virus infection: 1963-2008. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11(4), 225–258. <http://doi.org/10.1016/j.jfms.2008.09.008>
- Pedersen, N. C. (n.d.). An update on feline infectious peritonitis: Diagnostics and therapeutics. *Veterinary Journal*, 201(2), 133–141. <http://doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.04.016>
- Pedersen, N. C. An update on feline infectious peritonitis: Virology and immunopathogenesis. *Veterinary Journal (London, England : 1997)*, 1–33. <http://doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.04.017>

- Pedersen, N. C., Allen, C. E., & Lyons, L. A. (2008). Pathogenesis of feline enteric coronavirus infection. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 10, 529–541. <http://doi.org/10.1016/j.jfms.2008.02.006>
- Pedersen, N. C., Boyle, J. F., Floyd, K., Fudge, A., & Barker, J. (1981). An Enteric Coronavirus Infection of Cats and Its Relationship to Feline Infectious Peritonitis. *Department of Medicine, School of Veterinary Medicine*, 368–377.
- Pedersen, N. C., Liu, H., Dodd, K. A., & Pesavento, P. A. (n.d.). Significance of coronavirus mutants in feces and diseased tissues of cats suffering from feline infectious peritonitis. *Viruses*, 1(2), 166–184.
- Pedersen, N. C., Liu, H., Scarlett, J., Leutenegger, C. M., Golovko, L., Kennedy, H., & Kamal, F. M. (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 Research*, 165(1), 17–28. <http://doi.org/10.1016/j.virusres.2011.12.020>
- Pesavento, P. a, & Murphy, B. G. (2014). Common and emerging infectious diseases in the animal shelter. *Veterinary Pathology*, 51(2), 478–91. <http://doi.org/10.1177/0300985813511129>
- Pesteanu-Somogyi, L. D., Radzai, C., & Pressler, B. M. (2006). Prevalence of feline infectious peritonitis in specific cat breeds. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 8(1), 1–5. <http://doi.org/10.1016/j.jfms.2005.04.003>
- Poland, A. M., Vennema, H., Foley, J. E., & Pedersen, N. C. (1996). Two related strains of feline infectious peritonitis virus isolated from immunocompromised cats infected with a feline enteric coronavirus. *Journal of Clinical Microbiology*, 34(12), 3180–3184.
- Porter, E., Tasker, S., Day, M. J., Harley, R., Kipar, A., Siddell, S. G., & Helps, C. R. (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, 1–11. <http://doi.org/10.1186/1297-9716-45-49>
- Pratelli, A. (2008). Comparison of serologic techniques for the detection of antibodies against feline coronaviruses. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation : Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 20(1), 45–50.
- Quinn, P., Markey, B., & Leonard, F. (2002). *Veterinary microbiology and microbial disease*. Oxford: Blackwell Science.
- Rand, J. S., Parent, J., Percy, D., & Jacobs, R. (1994). Clinical, cerebrospinal fluid, and histological data from twenty-seven cats with primary inflammatory disease of the central nervous system. *Canadian Veterinary Journal*, 35(2), 103–110.
- Regan, A. D., Shraybman, R., Cohen, R. D., & Whittaker, G. R. (2008). Differential role for low pH and cathepsin-mediated cleavage of the viral spike protein during entry of serotype II feline coronaviruses. *Veterinary Microbiology*, 132(3-4), 235–248.

- 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. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 21(6), 1193–1197. <http://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2011.00806.x>
- Rohrbach, B. W., Legendre, A. M., Baldwin, C. A., Lein, D. H., Reed, W. M., & Wilson, R. B. (2001). Epidemiology of feline infectious peritonitis among cats examined at veterinary medical teaching hospitals. *Journal of the American Veterinary Medical Association*.
- Rottier, P. J. M., Nakamura, K., Schellen, P., Volders, H., & Haijema, B. J. (2005). Acquisition of macrophage tropism during the pathogenesis of feline infectious peritonitis is determined by mutations in the feline coronavirus spike protein. *Journal of Virology*, 79(22), 14122–14130.
- Sharif, S., Arshad, S. S., Hair-Bejo, M., Omar, A. R., Zeenathul, N. A., & Alazawy, A. (2010). Diagnostic methods for feline coronavirus: a review. *Veterinary Medicine International*, 2010.
- Simons, F. A., Vennema, H., Rofina, J. E., Pol, J. M., Horzinek, M. C., Rottier, P. J. M., & Egberink, H. F. (2005). A mRNA PCR for the diagnosis of feline infectious peritonitis. *Journal of Virological Methods*, 124(1-2), 111–116. <http://doi.org/10.1016/j.jviromet.2004.11.012>
- Soma, T., Wada, M., Taharaguchi, S., & Tajima, T. (2013). Detection of Ascitic Feline Coronavirus RNA from Clinically Suspected Cats of Feline Infectious Peritonitis. *The Journal of Veterinary Medical Science, Advance Pu*.
- Sparkes, A. H., Gruffydd-Jones, T. J., & Harbour, D. A. (1991). Feline infectious peritonitis: a review of clinicopathological changes in 65 cases, and a critical assessment of their diagnostic value. *The Veterinary Record*, 129(10), 209–212.
- Sykes, J. E. (2014). Feline Coronavirus Infection. In *Canine and Feline Infectious Diseases* (1ª Ed, pp. 195–208). Missouri: Elsevier. http://doi.org/10.3138/CRAS-s030-01-front_matter
- 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., ... Hohdatsu, T. (2008). 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. *Journal of General Virology*, 89(4), 1025–1029.
- Takano, T., Katoh, Y., Doki, T., & Hohdatsu, T. (2013). Effect of chloroquine on feline infectious peritonitis virus infection in vitro and in vivo. *Antiviral Research*, 99(2), 100–107.

- Tasker, S., & Gunn-Moore, D. (2000). Differential diagnosis of ascites in cats. *In Practice*.
- Terada, Y., Shiozaki, Y., Shimoda, H., Youssef, H., Mahmoud, A. H., Noguchi, K., ... Maeda, K. (2012). Feline infectious peritonitis virus with a large deletion in the 59-terminal region of the spike gene retains its virulence for cats. *Journal of General Virology*, 93(PART 9), 1930–1934.
- Tresnan, D. B., Levis, R., & Holmes, K. V. (1996). Feline aminopeptidase N serves as a receptor for feline, canine, porcine, and human coronaviruses in serogroup I. *Journal of Virology*, 70(12), 8669–8674.
- Tsai, H. Y., Chueh, L. L., Lin, C. N., & Su, B. L. (2011). Clinicopathological findings and disease staging of feline infectious peritonitis: 51 cases from 2003 to 2009 in Taiwan. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 13(2), 74–80.
- Tusell, S. M., Schittone, S. A., & Holmes, K. V. (2007). Mutational analysis of aminopeptidase N, a receptor for several group 1 coronaviruses, identifies key determinants of viral host range. *Journal of Virology*, 81(3), 1261–1273.
- Vennema, H., de Groot, R. J., Harbour, D. a, Dalderup, M., Gruffydd-Jones, T., Horzinek, M. C., & Spaan, W. J. (1990). Early death after feline infectious peritonitis virus challenge due to recombinant vaccinia virus immunization. *Journal of Virology*, 64(3), 1407–1409.
- Vennema, H., Poland, a, Foley, J., & Pedersen, N. C. (1998). Feline infectious peritonitis viruses arise by mutation from endemic feline enteric coronaviruses. *Virology*, 243, 150–157. <http://doi.org/10.1006/viro.1998.9045>
- Vogel, L., Van Der Lubben, M., Te Lintelo, E. G., Bekker, C. P. J., Geerts, T., Schuijff, L. S., ... Rottier, P. J. M. (2010). Pathogenic characteristics of persistent feline enteric coronavirus infection in cats. *Veterinary Research*, 41(5).
- Wang, Y. T., Su, B. L., Hsieh, L. E., & Chueh, L. L. (2013). An outbreak of feline infectious peritonitis in a Taiwanese shelter: Epidemiologic and molecular evidence for horizontal transmission of a novel type II feline coronavirus. *Veterinary Research*, 44(1). <http://doi.org/10.1186/1297-9716-44-57>
- Worthing, K. A., Wigney, D. I., Dhand, N. K., Fawcett, A., McDonagh, P., Malik, R., & Norris, J. M. (2012). Risk factors for feline infectious peritonitis in Australian cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*.
- Xufre, A. (2014). Integração e importância das estratégias moleculares na monitorização do estado de saúde em animais de companhia. In C. I. J. . M.A. (Ed.), *Abordagens Moleculares em Veterinária* (p. 183,184). Lisboa: Lidel - edições técnicas, Lda.

Apêndice I - valores de referência do perfil hematológico e bioquímico de felines no HVVG

Valores de referência do perfil hematológico no HVVG

Parâmetro	Valor de referência
Leucócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	5.5 – 19,5
Linfócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0.8 – 7
Monócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0.0 – 1.9
Granulócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	2.1 – 15.0
Linfócitos (%)	12 – 45
Monócitos (%)	2 – 9
Granulócitos (%)	35 – 85
Eritrócitos ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	4.6 – 10
Hemoglobina (g/dL)	9.3 – 15.3
Hematócrito (%)	28 – 49
VCM (f/L)	39 – 52
MCH (pg)	13 – 21
CHCM (g/dL)	30 – 38
Plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	100 – 514

Valores de referência do perfil bioquímico no HVVG

Parâmetro	Valores de referência
Ureia (mg/dL)	17.6 – 32.8
Creatinina (mg/dL)	0.8 – 1.8
ALP/FA (U/L)	9 – 53
GPT/ALT (U/L)	22 – 84
Proteínas Totais (g/dL)	5.7 – 7.8
Albumina (g/L)	2.3 – 3.5
Bilirrubina Total (mg/dL)	0.1 – 0.4