

Actualización de la Peritonitis Infecciosa Felina.

Update of Feline Infectious Peritonitis disease.

Magdalena Prieto¹ MV; Alberto Acuña² MV.

Recibido: Agosto 2012

Aceptado: Septiembre 2012

Resumen

La Peritonitis Infecciosa Felina es una enfermedad fatal, inmunomediada, provocada por la infección producida por el coronavirus entérico felino (CoVF). Es una enfermedad de diagnóstico creciente, progresiva, de carácter agudo o crónico, caracterizada por un severo daño inflamatorio de las membranas serosas y una lesión piogranulomatosa generalizada, que ocurre en pulmones, hígado, tejido linfático y cerebro. El coronavirus felino (CoVF) es un virus envuelto, hebra RNA positivo, perteneciente a la familia coronaviridae (CoVFs).

En la siguiente revisión se destacan las generalidades de la enfermedad, métodos diagnósticos, alternativas terapéuticas y manejo de la enfermedad.

Palabras claves: PIF, virus, diagnóstico.

Abstract

The Feline Infectious Peritonitis (FIP) is a fatal and immune-augmented disease caused by feline coronavirus (FCoV) infection. The FIP is a progressive diagnostic disease, characterized typically by severe systemic inflammatory damage of serosal membranes and widespread pyogranulomatous lesions; which occurs in the lung, liver, lymph tissue, and brain. The coronavirus feline (FCoV) is an enveloped, positive-sense single-stranded RNA viruses, and belongs to the family Coronaviridae (FCoVs).

This review highlights the generalities of the disease, diagnostics methods, therapeutic alternatives and management of the disease.

Key words: FIP, virus, diagnosis

Introducción

La peritonitis infecciosa felina (PIF) es una enfermedad que por años ha causado desazones, tanto en lo afectivo como en lo clínico, debido a su desenlace invariablemente fatal independiente de los esfuerzos médicos.

La infección con Coronavirus Felino (CoVF), produce dos formas clínicas de enfermedad; una leve enteritis y la peritonitis infecciosa felina, enfermedad multisistémica y fatal que genera sintomatología grave.

Los animales que cursan clínicamente con la peritonitis infecciosa felina, dependiendo en gran parte de su inmunidad particular, pueden desarrollarla de tres maneras: seca, húmeda y mixta. El PIF seco se caracteriza por lesiones piogranulomatosas de carácter multiorgánico. El PIF húmedo se manifiesta mayormente con efusiones en abdomen o tórax. La presentación mixta es aquella que produce signos húmedos y secos a la vez.

Etiología

El Coronavirus felino (CoVF) pertenece a la familia Coronaviridae. Debe su nombre a la apariencia física que se pudo ver bajo microscopía electrónica, la cual asemeja una corona por la forma casi esférica y las múltiples proteínas de su membrana.

Es un virus ARN de hebra positiva, esférico, envuelto, de aproximadamente 80-220 nm. de tamaño. Su genoma consiste de una cadena simple de entre 27 a 31 Kb (Kilobases), siendo el ARN viral más largo conocido hasta la fecha.¹

El Coronavirus felino posee 4 proteínas estructurales:²

- S ("Spike" o Espícula): Glicoproteína de membrana (la cual le da el aspecto de corona y por ende el nombre). Su función es de unión a receptores del huésped y media la fusión de membranas. Determinante en la especificidad, tropismo celular y virulencia.

¹Médico Veterinario, Universidad Mayor.

²Médico Veterinario, Universidad Mayor.

- M (Membrana): Glicoproteína de membrana.
- N (Nucleocápside): Envuelve al genoma ARN viral en una nucleocápside.
- E (Envoltura): Envoltura proteica con funciones de canal de iones.

La estructura genética de todos los coronavirus felinos es similar, constando de un genoma de cerca de 29.000 nucleótidos.³

Epidemiología

Los coronavirus felinos son muy comunes, especialmente en lugares de altas densidades, como gateras o criaderos, donde llegan a ser endémicos. Se encuentran en todo el mundo y se transmiten primariamente por heces y raramente por saliva.⁴ La prevalencia en mascotas solitarias es más baja.³

Existen factores importantes al momento del desarrollo del PIF, como la raza y la edad. Algunas razas puras como la Bengala tienen mayor susceptibilidad a desarrollarlo. La edad también es un factor a considerar, ya que cerca del 70% de los gatos afectados por PIF son menores a 1 año de vida.³

Las heces son la principal fuente de contagio y el virus puede sobrevivir por hasta dos semanas en las cajas de arena.

Luego del contagio oro-fecal, los animales comienzan a diseminar el virus por las heces a partir de una semana³ y pueden permanecer crónicamente infectados, eliminando el virus continua o intermitentemente por largos períodos.⁵ De estos, se estima que sólo un 5% a 10% desarrollan el PIF.³

Patogenia

La patogenia del PIF es compleja y aun no se comprende totalmente.^{6,7}

El hecho de que CoVF genera una infección por coronavirus común en gatos y que se encuentra en las heces de un 40-80% de ellos⁶ nos da una imagen de lo fácil que puede ser la transmisión.

Una vez que el CoVF es ingerido vía oro-fecal, éste pasa por el sistema gastrointestinal y desde el lumen entra al epitelio intestinal, donde se replica, causando daño al mismo.⁵

Al parecer, el CoVF posee gran tropismo por el epitelio apical intestinal maduro.⁸

El período de incubación del PIF efusivo es de 2 a 14 días bajo condiciones experimentales, mientras que el del PIF seco es de varias semanas más.⁸

La hipótesis inicial era que las cepas de CoVF causantes de PIF eran distintas a aquellas que causaban la enfermedad avirulenta entérica y es por esto que llegó a subdividirse en dos "biotipos distintos" CVEF y VPIF. Sin embargo, hoy se sabe que todos los Coronavirus felinos pueden inducir infección sistémica. Hasta la fecha, la comunidad científica se encuentra dividida en base a dos teorías principales que postulan la mutación de un CoVF avirulento a la forma virulenta.^{3,6}

La primera hipótesis postula que se necesita una mutación interna del virus, para permitir la propagación del virus a través de los monocitos/macrófagos, saliendo del sistema gastrointestinal y, de esta forma, produciendo los daños multisistémicos.^{6,9}

La segunda corriente teórica, es la hipótesis de la carga viral individual del huésped, además de la propia inmunidad presente en el momento de la primo infección con CVEF.^{9,10,11,12}

En ambas teorías, el punto clave es el momento en que el virus deja de ser exclusivo del sistema gastrointestinal y comienza a replicarse en macrófagos y monocitos, diseminándose por el organismo del huésped y tornándose en una afección multiorgánica.^{3,6}

Independiente del origen del cambio en la patogenia del virus, la peritonitis infecciosa felina una vez instaurada se caracteriza por generar un tropismo hacia los monocitos. Este monocito infectado libera citoquinas como TNF- α y IL-1. Estas citoquinas sobre-estimulan la expresión de adhesinas endoteliales y, cuando el monocito infectado toma contacto con estas adhesinas, se comienza a adherir al endotelio.³

El monocito ya detenido libera metaloproteasas, las cuales debilitan las uniones entre las células de endotelio, permitiendo la diapédesis y filtrado de plasma fuera del vascular.³

Aquí, el monocito fuera del vaso, se diferencia en un macrófago activado, el cual secreta citoquinas pro inflamatorias, causando que se expresen más adhesinas endoteliales, atrayendo más monocitos y neutrófilos al área. Luego, llegan algunos linfocitos. Estas células se acumulan y se empaquetan, determinando la inflamación granulomatosa y formando el piogranuloma perivascular, que es la lesión característica del PIF.³

Inmunidad

Pasiva

Los anticuerpos maternos generalmente proveen protección hasta las 5 a 6 semanas de vida. A las 8 semanas, los títulos se tornan indetectables.³

Activa Celular

Los gatos que se han mantenido sanos luego de una infección experimental con CoVF, han mostrado tener una mejor respuesta inmune celular que aquellos que progresaron a PIF.³

Activa Humoral

Los gatos se pueden re infectar sólo semanas después de que hayan superado un primer episodio de coronavirus felino, debido a que la inmunidad natural es de corta vida.³

El rol de la inmunidad humoral contra el PIF es ambiguo. Se han observado cursos más cortos y muertes más tempranas en gatos con anticuerpos pre-existentes.³

En cuanto a la respuesta de anticuerpos frente al virus, se sabe que estos son neutralizantes in vitro, pero in vivo parecen ocasionar lo contrario y tienen un efecto facilitante a la enfermedad. Cuando se realiza con éxito la unión anticuerpo-virus, se previene efectivamente la unión virus-célula, pero se produce secundariamente un aumento de la ingesta viral por parte de los macrófagos, mediante los receptores del complemento. A este efecto se le llama "Ampliación dependiente de anticuerpos" (A.D.E. por sus siglas en inglés).⁶

Cuadro Clínico

La visión clínica del PIF es altamente variable, reflejando la variabilidad de la distribución de las lesiones piogranulomatosas³; sin embargo, los primeros signos suelen ser debilidad generalizada, dolor muscular, fiebre fluctuante y refractaria a antibióticos, inapetencia y pérdida de peso.⁶

Dependiendo de la extensión del daño producido por los piogranulomas y mediado en cierta forma por la inmunidad del huésped, podremos ver dos formas clínicas clásicas del PIF; "seca" y "húmeda". También se describe la forma "mixta" en la cual veremos ambas presentaciones a la vez y una última forma "nodular entérica", que es de presentación más rara y se describe en gatos jóvenes con vómitos y diarreas de carácter violento.³

El PIF no efusivo, o seco, es usualmente más difícil de diagnosticar.³ Estos animales generalmente son menores a 5 años y se presentan con signos inespecíficos como malestar general, fiebre, anorexia y pérdida de peso.

El compromiso renal puede llevar a renomegalia, detectable a la palpación; lesiones murales en el colon pueden expresarse como diarreas crónicas y vómitos.³

Respecto a la signología neurológica, casi un 50% de los gatos con enfermedad inflamatoria del sistema nervioso central (SNC) tienen PIF, al igual que un sexto del total de casos de gatos que muestran cualquier signo de SNC.³ Addie y colaboradores reportan una incidencia neurológica del 10%. La signología neurológica depende mucho de la localización de las lesiones; signos sugerentes de enfermedad espinal como paresia posterior, ataxia, hiperestesia y convulsiones han sido reportados.^{6,14}

El compromiso ocular, tal como la enfermedad del SNC, es mucho más probable que ocurra en los gatos con PIF seco que efusivo. PIF es también la causa más frecuente de uveítis / corioretinitis en los gatos, después de las causas menos comunes como linfoma asociado al virus de leucemia felino; trauma y la uveítis inducida por el cristalino.¹⁵

Por otro lado, cuando las lesiones piogranulomatosas producto de la reacción inmunomediada inducen un cambio en la permeabilidad vascular extenso (serositis), permiten la salida de líquido a los espacios perivasculares, llevando a efusiones en abdomen y/o tórax. Esto lleva a la signología clásica de la forma "húmeda" del PIF, supuestamente agravada por una respuesta inmune pobre por parte del huésped. Esta forma efusiva es la más común.⁷

La distensión abdominal producto de la efusión es el hallazgo físico más comúnmente encontrado en PIF húmedo y encabeza la lista frente a enfermedad cardiovascular, neoplasia, enfermedad hepática y enfermedad renal como causas de su origen.¹⁶

Una vez abordado el abdomen en cirugía o necropsia, uno se puede encontrar hasta un litro de contenido amarillento y turbio.⁶

El período de incubación experimental de esta forma efusiva va de 2 a 14 días, sin embargo, en condiciones naturales, este período es desconocido, pudiendo ir de meses a años antes de mostrar signología.⁶

Tabla Nº1. Variabilidad en signos clínicos de PIF efusivo:²⁶

Compromiso de:	Porcentaje de gatos afectados (%)
Cavidad Peritoneal	58%
Cavidad Peritoneal y Pleural	22%
Cavidad Pleural	11%
Cavidad Peritoneal y ojos	2.8%
Cavidad Peritoneal y SNC	1.9%
Cavidad Peritoneal y Pleural, SNC	0,9%
Cavidad Peritoneal y Pleural, ojos	0,9%
Cavidad Pleural, SNC y ojos	0.9%
Cavidad Peritoneal, SNC y ojos	0.9%

Diagnóstico

Clínico

El diagnóstico de PIF debiese ser relativamente simple, dada su afinidad por gatos jóvenes, su fuerte tendencia en albergues o gaterías, los hallazgos físicos e históricos típicos y las numerosas anormalidades características de laboratorio; sin embargo, continúa siendo una de los diagnósticos más difíciles para muchos médicos veterinarios⁶ debido a la invasividad que implica tomar muestras para biopsia de gatos enfermos.³

Laboratorio

Una anemia moderada, sin respuesta, es usualmente un hallazgo en esta enfermedad⁷ pero puede verse en virtualmente todas las enfermedades crónicas felinas.³

El recuento de células blancas puede estar elevado o disminuido, sin embargo, encontrar una linfopenia es común, debido a una apoptosis de células blancas no infectadas producto de la liberación de TNF- α por parte de los macrófagos infectados.³

La anormalidad más común encontrada en los perfiles bioquímicos de gatos que padecen PIF es una hiperproteinemia total sérica, producto de un alza en las gamma globulinas.^{3,7} Las γ -globulinas en concentraciones mayores a un 32% son características de PIF.¹⁷ Sin embargo, la proporción albumina/globulina tiene un valor diagnóstico mucho más alto que la medición individual de proteínas plasmáticas totales o γ -globulinas.⁷

Esta proporción albumina/globulina menor de 0.8 posee un mejor valor diagnóstico al diferenciar PIF de otras condiciones.¹⁸

Una hiperbilirrubinemia en ausencia de ictericia, hemólisis, daño hepático y/o colestasis es un hallazgo común en gatos con PIF, especialmente en la forma efusiva.

Examen de Efusiones

Si existen efusiones, su análisis debe ser siempre obtenido, debido a que las pruebas diagnósticas de ellas tienen un valor diagnóstico más alto que los realizados en sangre³; además, la obtención de estas efusiones no es invasiva y puede tomarse fácilmente mediante aspiración, guiada o no por ultrasonografía.⁷

Lamentablemente, sólo un 50% de los gatos que se presentan con efusiones tienen PIF.¹⁷ Las efusiones son usualmente amarillas, que pueden ir de claro a oscuro, y de un carácter "mucoso" o "viscoso" que deja una línea al separar con los dedos.⁶ Sin embargo, a veces el fluido encontrado en gatos positivos PIF tiene un aspecto totalmente distinto, incluso en algunos casos se ha reportado sólo una efusión quilosa.⁷ Usualmente tienen un contenido proteico bastante alto (> 3.5 gr/dL) consistente con las de un exudado, con un contenido celular que puede variar desde 1600 hasta 25000 por μ l., predominando macrófagos, neutrófilos no tóxicos y linfocitos⁶ pareciéndose más a un transudado. Son efusiones positivas al "Test de Rivalta".³

Serología

La medición de títulos de anticuerpos es una herramienta extensamente utilizada como herramienta diagnóstica⁷ pero, lamentablemente, los anticuerpos de coronavirus no diferencian gatos infectados con CVEF o VPIF y aunque títulos muy altos (>1:1600) son altamente sugerentes a PIF y títulos negativos tienden a descartar PIF^{18,19}, la variabilidad de títulos en animales sanos

expuestos y enfermos es tan alta, que tiene en definitiva poco valor diagnóstico.^{17,20,21,22} Un gran porcentaje de gatos sanos son CoVF positivos con serología, pero la mayoría de ellos nunca desarrollará PIF.⁷

Se ha demostrado que en gatos con PIF fulminante, los títulos disminuyen terminalmente⁶, y aproximadamente 10% de los gatos con PIF clínicamente manifiesto dan resultados negativos.²³ Esto puede ser tanto porque grandes cantidades del virus están unidas a anticuerpos, dejando poco para la unión con el antígeno en el test o porque se pierden en la efusión cuando las proteínas son translocadas durante la vasculitis.⁷ Sin embargo, la serología sigue siendo una ayuda para descartar o aumentar las posibilidades de que un animal específico tenga PIF; en ningún caso para confirmar la enfermedad.⁶

Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

En 1983, el Dr. Kary Mullis ideó un método para amplificar de forma artificial un segmento específico de una hebra de ADN, utilizando una muestra del ADN original, un marcador o "primer", una solución que contenía los nucleótidos esenciales y la enzima polimerasa.²⁴

De esta forma y mediante múltiples ciclos de calentamiento y enfriamiento, logró billones de copias de un segmento en particular. Esto, en términos de diagnóstico genético, fue un descubrimiento importantísimo que lo llevó a ganar el premio Nobel.²⁴

Cabe destacar que el PCR por sí sólo no constituye una técnica diagnóstica, ya que sólo amplifica un segmento genético. La detección específica del producto amplificado se realiza con otros métodos, como la electroforesis, que separa los segmentos por tamaños y luego la secuenciación genética.²⁵

Sin embargo, de acuerdo a la teoría de mutación intestinal, son variantes mutantes las que producen el cambio de patogenicidad del inocuo CoVF, otorgándole la capacidad de replicarse en macrófagos. Estos diminutos cambios genéticos pueden darse en numerosos sitios, borrando o agregando segmentos; a veces sólo cambiando una base. Es por esto que primers de PCR para discriminar entre cepas inocuas y causantes de PIF no podrían ser diseñadas y no sería posible distinguir entre un virus mutado y uno no mutado por esta técnica.²⁶

Otro aspecto negativo del uso del PCR como técnica diagnóstica es la dificultad que implica interpretar el resultado por parte del laboratorio;

es decir, la incidencia de falsos negativos (degradación de ARN a ADN provoca problemas, por lo ubicuo de las ribonucleasas) y falsos positivos (no distingue entre "virulentos" y "no virulentos", tampoco entre coronavirus de otras especies).⁷

Proteínas de Fase Aguda

Las proteínas de fase aguda son un largo y variado grupo de glicoproteínas en el suero, las cuales incrementan o disminuyen su concentración durante ciertos desórdenes inflamatorios.²⁵

La medición de estas proteínas ha sido usada para detectar condiciones inflamatorias en PIF, sobre todo la Alfa-1-Acido Glicoproteína (AGP) y el suero amiloide A (SAA), los cuales aumentan su concentración en condiciones infecciosas e inflamatorias y pueden ser medidas para facilitar el diagnóstico.

Inmunotinción

Es la prueba "estándar de oro" para el diagnóstico de PIF y consiste en detectar la presencia de antígenos de CoVF en macrófagos usando inmunofluorescencia (en macrófagos de efusiones) o inmunohistoquímica (en macrófagos de tejidos). La técnica, si bien no distingue entre el CoVF "inocuo" y el causante de PIF, funciona sólo cuando grandes cantidades de macrófagos son afectados, lo cual es característico del PIF. En un estudio de inmunofluorescencia de macrófagos de efusiones, se determinó un valor 100% predictivo de PIF³; sin embargo, tiene un valor predictivo negativo bajo de 57%. En el caso de inmunohistoquímica de tejidos, usualmente se requieren de métodos invasivos para la obtención de muestras de tejidos.³

Tratamiento

Hasta la fecha, el tratamiento de gatos con PIF continúa siendo frustrante y debe ser limitado sólo a aquellos pocos pacientes que responden favorablemente dentro de los primeros días.⁷

Inmunosupresores

Ya que la enfermedad es secundaria a reacciones inmunomediadas contra el virus, modular la reacción inflamatoria es una parte primordial en el tratamiento del gato con PIF. Sin embargo, no hay estudios controlados que indiquen un efecto benéfico real de los corticoesteroides³. Dosis bajas de prednisólona (1 a 2 mg/kg SID) pueden ser efectivas disminuyendo las manifestaciones clínicas de PIF Seco. Se recomienda administrarlo junto con antibióticos para prevenir infecciones oportunistas.²⁷

Interferón

Interferón es una glicoproteína, producida por los linfocitos e induce una respuesta frente a un agente extraño, "interfiriendo" su replicación.²⁸

Algunos autores indican su uso, ya que inhibiría la replicación *in vitro* del virus, pero estudios *in vivo* no han mostrado efectos positivos en el tiempo de sobrevida.²⁹ Más aún, una estimulación no específica de sistema inmune suena contraproducente tratándose de una enfermedad que se gatilla por una respuesta inmune sin control.⁷

Antimicrobianos

Al inmunosuprimir a un animal, se torna esencial la vigilancia infecciosa oportunista, por lo cual la administración de antimicrobianos se hace necesaria en el tratamiento del PIF. Algunos autores recomiendan el uso de ampicilina en dosis de 50 mg/gato cada 12 horas.²⁹ Una terapia de soporte puede necesitarse según los órganos afectados, como protectores gástricos, protectores hepáticos, entre otros.⁷

Antivirales

La terapia con drogas antivirales se ha convertido cada vez más importante en una serie de enfermedades virales como el VIH y el virus de la influenza humana. La ribavirina, que previene la formación de proteínas virales, probablemente interfiriendo con el proceso de terminación del ARNm, es un fuerte inhibidor del PIF *in vitro*³⁰, no es eficaz *in vivo*.³¹

Citostáticos

En adición a los glucocorticoides, se han usado drogas citostáticas como la ciclofosfamida para suprimir al sistema inmune.³

Prevención y Manejo

El coronavirus felino se encuentran en todo el mundo y la facilidad de transmisión hace de la prevención de esta enfermedad un desafío para el médico veterinario, sobre todo en situaciones de múltiples animales conviviendo juntos.³

Ya que la principal ruta de contagio es la oro-fecal, la higiene es el factor más importante en la prevención del PIF.³

El desarrollo de vacunas efectivas ha sido tan ineficiente como un tratamiento efectivo y hasta el momento, no se ha creado una vacuna efectiva contra el PIF.⁶

En 1990, Christianson y colaboradores crearon una vacuna intranasal de una variante mutante del PIF que supuestamente conferiría una respuesta local de IgA y una respuesta sistémica. 500 gatos FIV / ViLef / Coronavirus negativos se dividieron en dos grupos. La mitad recibió la vacuna viva intranasal y la otra mitad fue vacunada con una vacuna falsa. Los gatos fueron seguidos durante 16 meses. En general, las muertes en ambos grupos fueron las mismas. Sin embargo, dos gatos en el grupo vacunado desarrollaron PIF durante los 16 meses y 8 gatos no vacunados sucumbieron a la enfermedad.³²

El CoVF se mantiene en una casa o criadero mediante ciclos continuos de infección y reinfección, siendo la fuente de todo la caja de arena sanitaria. El PIF es raramente encontrado en animales que tienen un estilo de vida "indoor - outdoor" (callejeros esporádicos).³

Los criaderos de gatos son ambientes de altísimo riesgo de infección; en Europa, existen pocos criaderos donde el CoVF no es endémico.³

La incidencia de PIF en estos criaderos puede disminuirse mediante un manejo adecuado.⁶ La mortalidad tiende a aumentar a medida que la cantidad de animales, especialmente gatitos, aumenta. Este efecto de "sobrepoblación" ha sido particularmente evidente en albergues animales.

Otra medida ampliamente utilizada como prevención es el aislamiento de hembras gestantes y de sus camadas de gatitos.³ Estos gatitos no se infectarán con CoVF hasta las 9 a 10 semanas de edad⁵; por lo tanto, si se aísla a la hembra gestante antes del parto manteniéndola en estricta cuarentena y removiendo a los gatitos lo antes posible, sería posible evitar que se infecten con CoVF a edades tempranas y, por lo tanto, bajar la incidencia de PIF.³

Estas medidas requieren grandes manejos en aislamiento, equipamiento, manejo de aires, ropas, arenas sanitarias y muchas precauciones extremas debido a la alta transmisibilidad del virus; lo que lo hace sólo factible para casos específicos o criaderos pequeños.³³

Las maneras más eficientes, en términos de costo/efecto, de controlar pérdidas por PIF son:⁶

- Eliminar la sobrepoblación y en lo posible, no mantener más de seis reproductoras.
- Mantener una mayor población de gatos adultos (3 años en adelante)
- Manejar la transmisión oral-fecal manteniendo

correctamente las cajas de arena.

- Ser altamente selectivo en el programa de reproducción.
- Controlar genética, al no usar un macho que haya producido gatitos que hayan desarrollado PIF.

Referencias Bibliográficas

1. Brown TDK, Brierly. The coronaviral non-structural proteins. In: S.G.Siddell (ed.), *The Coronaviridae*. Plenum Press, New York, USA; 1995: 191-217.
2. Thiel V. Coronaviruses. *Molecular and Cellular Biology*. 2007.
3. Addie D, Belak S, Boucraut-Baralon, C, Egberink, H, Frymus, T, Gruffydd-Jones T, Hartmann K, Hosie M J, Lloret A, Lutz H, Marsilio F, Pennisi MG, Radford A D, Thiry E, Truyen U, Horzinek MC. Feline infectious peritonitis. ABCD guidelines on prevention and management. *J Feline Med Surg* ; 2009, 11(7): 594-604.
4. Addie D, Jarrett O. Use of a reverse-transcriptase polymerase chain reaction for monitoring the shedding of feline coronavirus by healthy cats. *Vet Rec*; 2001, 148(21): 649-53.
5. Pedersen NC, Allen CE, Lyons LA. Pathogenesis of feline enteric coronavirus infection. *J Feline Med Surg*; 2008, 10(6): 529-41.
6. Pedersen NC. A review of feline infectious peritonitis virus infection: 1963-2008. *J Feline Med Surg*; 2009, 11(4): 225-58.
7. Hartmann K. Diagnostis and Treatment of Feline infectious Peritonitis, *Consultations in Feline Internal Medicine*; 2010, 6: 62-76.
8. Pedersen NC, Boyle JF, Floyd, K, Fudge A, Barker J. An enteric coronavirus infection of cats and its relationship to feline infectious peritonitis. *Am J Vet Res*: 1981, 42(3): 368-77.
9. Poland AM, Vennema H, Foley JE, Pedersen NC. Two related strains of feline infectious peritonitis virus isolated from immunocompromised cats infected with a feline enteric coronavirus. *J Clin Microbiol*; 1996, 34(12): 3180-4.
10. Dewerchin HL, Cornelissen E, Nauwynck HJ. Replication of feline coronaviruses in peripheral blood monocytes. *Arch Virol*; 1995, 150(12): 2483-500.
11. Dye C, Siddell SG. Genomic ARN sequence of Feline coronavirus strain PIFV WSU-79/1146. *J Gen Virol*; 2005, 86(Pt 8): 2249-53.
12. Rottier PJ, Nakamura K, Schellen P, Volders H, Haijema BJ. Acquisition of macrophage tropism during the pathogenesis of feline infectious peritonitis is determined by mutations in the feline coronavirus spike protein. *J Virol*; 2005, 79(22): 14122-30.
13. Bradshaw JM, Pearson GR, Gruffydd-Jones T J. A retrospective study of 286 cases of neurological disorders of the cat. *J Comp Pathol*; 2004, 131(2-3): 112-20.
14. Timmann D, Cizinauskas S., Tomek A, Doherr M, Vandeveldel M, Jaggy A. Retrospective analysis of seizures associated with feline infectious peritonitis in cats. *J Feline Med Surg*; 2008, 10(1): 9-15.
15. Goodhead AD. Uveitis in dogs and cats: guidelines for the practitioner. *J S Afr Vet Assoc*; 1996, 67(1): 12-9.
16. Wright KN, Gompf RE, DeNovo RC. Peritoneal effusion in cats: 65 cases (1981-1997). *J Am Vet Med Assoc*; 1999, 214(3): 375-81.
17. Sparkes AH, Gruffydd-Jones TJ, Harbour DA. An appraisal of the value of laboratory tests in the diagnosis of feline infectious peritonitis. *J Am Anim Hosp Assoc*; 1994, 30:345.
18. Hirschberger J, Hartmann K, Wilhelm N, Frost J, Lutz H, Kraft W. Clinical symptoms and diagnosis of feline infectious peritonitis. *Tierarztl Prax*;1995, 23(1): 92-9.
19. Pedersen NC. Serologic studies of naturally occurring feline infectious peritonitis. *Am J Vet Res*; 1976, 37(12): 1449-53.
20. Pedersen NC, Black JW. Attempted immunization of cats against feline infectious peritonitis, using avirulent live virus or sublethal amounts of virulent virus. *Am J Vet Res*; 1983, 44(2): 229-34.
21. Paltrinieri S, Ponti W, Comazzi S, Giordano A, Poli G. Shifts in circulating lymphocyte subsets in cats with feline infectious peritonitis (PIF): pathogenic role and diagnostic relevance. *Vet Immunol Immunopathol*; 2003, 96(3-4): 141-8.
22. Sharif S, Arshad SS, Hair-Bejo M, Omar AR, Zeenathul NA, Alazawy A. Diagnostic methods for feline coronavirus: a review. *Vet Med Int*; 2010.
23. Hartmann K, Binder C, Hirschberger J, Cole D, Reinacher M, Schroo S, Frost J, Egberink H, Lutz H, Hermanns W. Comparison of different tests to diagnose feline infectious peritonitis. *J Vet Intern Med*; 2003, 17(6): 781-90.
24. Pestana. "Early, rapid and sensitive veterinary molecular diagnostics - real time pcr applications." 1st ed. Springer, New York. USA; 2009.
25. Murphy F. *Veterinary Virology*. 3ª Ed. Elsevier. California, USA; 1999: 495-508.

26. Fehr D, Bolla S, Herrewegh A, Horzinek MC, Lutz H. Detection of feline coronavirus using RT-PCR: basis for the study of the pathogenesis of feline infectious peritonitis (PIF). *Schweiz Arch Tierheilkd*; 1996, 138(2): 74-9.
27. Lappin M. In: Nelson R, Couto N. *Small Animal Internal Medicine*. 4th ed, Missouri; 2009: 1338.
28. Boden E. *Black's Veterinary Dictionary*. 21th ed. USA; 2005: 365.
29. Hartmann K. Feline infectious peritonitis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*; 2005, 35(1): 39-79.
30. Barlough JE, Scott FW. Effectiveness of three antiviral agents against PIF virus in vitro. *Vet Rec*; 1990, 126(22): 556-8.
31. Weiss RC, Cox NR, Martinez ML. Evaluation of free or liposome-encapsulated ribavirin for antiviral therapy of experimentally induced feline infectious peritonitis. *Res Vet Sci*; 1993, 55(2): 162-72.
32. Christianson K, Ingersoll J D, Landon, RM, Pfeiffer NE, Gerber JD. Characterization of a temperature sensitive feline infectious peritonitis coronavirus. *Arch Virol*; 1989, 109(3-4): 185-96.
33. Hickman MA, Morris JG, Rogers QR, Pedersen NC. Elimination of feline coronavirus infection from a large experimental specific pathogen-free cat breeding colony by serologic testing and isolation. *Feline Practice*; 1995, 23: 96-102.