

## PERITONITE INFECCIOSA FELINA – RELATO DE CASO

FERNANDES, Maureen Hoch Vieira <sup>1</sup>;  
CARGNELUTTI, Juliana Felipetto <sup>2</sup>;  
MASUDA, Eduardo Kenji <sup>3</sup>;  
HÜBNER, Silvia de Oliveira <sup>4</sup>.

Recebido: 20/05/15

Aceito: 19/10/15

<sup>1</sup>Mestranda, Programa de Pós-Graduação em Veterinária, UFPEL; <sup>2</sup>Bolsista de Pós-Doutorado Júnior, UFSM; <sup>3</sup>Médico Veterinário, Doutor, Axys Análises; <sup>4</sup>Professora Doutora, Faculdade de Veterinária, UFPEL.

### RESUMO

A peritonite infecciosa felina (PIF) é uma doença esporádica, causada por um coronavírus felino, com caráter imunomediado. Um felino, macho, SRD, com oito meses de idade, apresentou sinais clínicos compatíveis com PIF e veio a óbito. A doença foi confirmada através do histórico do animal, sinais clínicos, achados de necropsia e histopatológicos e detecção do agente pela técnica de reação da transcriptase reversa, seguida de reação em cadeia da polimerase (RT-PCR). Na necropsia observaram-se mucosas pálidas e levemente amareladas. O pulmão estava repleto de infiltrado inflamatório, com impressões costais, pesado e firme. A cavidade pericárdica possuía líquido viscoso, amarelo e com fibrina. Os rins continham múltiplos pontos amarelos que se estendem e se coalesciam da zona cortical à medular. Através da avaliação histopatológica, diagnosticou-se pneumonia broncointersticial supurativa, crônica, proliferativa, com edema acentuado; pericardite e miocardite fibrinosa, linfoplasmocítica e supurativa, multifocal a coalescente, acentuada, com vasculite fibrinóide. O fígado apresentava colangite linfoplasmocítica, difusa e moderada. Ainda havia pielonefrite e nefrite intersticial, multifocal, moderada, com vasculite fibrinóide e meningite linfoplasmocítica difusa leve. A técnica de RT-PCR confirmou a presença do agente no líquido de efusão pericárdica.

**Palavras-chave:** Vírus da Peritonite Infecciosa Felina. Diagnóstico. Felino.

## INTRODUÇÃO

A peritonite infecciosa felina (PIF) é uma doença que atinge gatos, de ocorrência esporádica, imunomediada, de caráter progressivo, geralmente fatal (ADDIE; JARRET, 1998). É considerada, atualmente, a doença mais letal em gatos jovens (PEDERSEN, 2014). A PIF tem como agente etiológico um coronavírus felino (FCoV) (ADDIE et al., 2009), vírus envelopado com RNA fita simples, do gênero *Coronavirus*, família *Coronaviridae* (LAI; HOLMES, 2001). No entanto, nem todas as infecções por FCoV causam PIF (MACLACHLAN; DUBOVI, 2011). Sabe-se que há dois biótipos do vírus: um coronavírus entérico felino (FECV), responsável por infecção gastrointestinal branda, e uma mutação desse vírus, responsável pela peritonite infecciosa felina (FIPV) (SHARIF et al., 2010). Porém restam dúvidas se a cepa virulenta mutada (FIPV), que causa a doença patogênica, e a cepa avirulenta (FECV), que causa uma infecção benigna de caráter intestinal coexistem, ou se a cepa avirulenta se transforma *in vivo*, causando a PIF (BROWN et al., 2009). Não há comprovação de que os gatos com PIF possam transmitir diretamente a outros gatos o vírus mutado, embora essa possibilidade tenha sido sugerida como explicação para pequenos surtos raros (PEDERSEN et al., 2009b).

A via de transmissão do FCoV é fecal-oral (ADDIE et al., 2009). Após a infecção, no entanto, há diversos fatores predisponentes para o desenvolvimento da doença, como idade, suscetibilidade genética, estado físico geral, presença de outra enfermidade concomitante, imunodepressão, entre outros (AUGUST, 1992). Além disso, o sistema imune, ao tentar desempenhar papel protetor, acaba colaborando com a disseminação viral que, aliada a intensa formação e deposição de imuno-complexos, causam lesões aos órgãos (MONTELEONE et al., 2005).

As lesões causadas costumam aparecer como múltiplos nódulos branco-acinzentados na serosa do fígado, pulmões, baço, omento, intestinos e rins. Microscopicamente, inicia com uma necrose aguda perivascular, que progride para uma lesão piogranulomatosa crônica (MURPHY et al., 1999). Os sinais clínicos iniciais são prostração, depressão, anorexia e diarreia (RAPOSO et al., 1995/1996), posteriormente, os sinais variam de acordo com a forma apresentada da doença, tendo na forma exsudativa da PIF a presença de derrames,

manifestando-se por dilatação abdominal e dispneia, e na forma seca, sinais oculares e neurológicos (MOTA, 2010).

O diagnóstico presuntivo da doença pode ser realizado através da avaliação do histórico do animal, achados clínicos e resultados laboratoriais (HOSKINS et al., 1993). O diagnóstico definitivo padrão é a análise imunohistoquímica associada à histopatologia (HARTMANN et al., 2005). De acordo com Kennedy et al. (2009), a reação da transcriptase reversa seguida de reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) pode ser usada para detecção do vírus, mas não é confirmatório. Apesar da RT-PCR ser um teste muito sensível para a detecção de infecção por coronavírus em gatos, os resultados devem ser interpretados em conjunto com outros achados clínicos e não pode ser usado como o único critério para o diagnóstico da PIF, visto que não é possível diferenciar quando a infecção é por FECV ou FIPV (SHARIF et al., 2010).

#### **RELATO DE CASO**

Um gato, macho, sem raça definida, com oito meses de idade, e com histórico de acesso à rua, foi encaminhado a uma clínica veterinária devido a emagrecimento progressivo e apatia. O proprietário relatou que o gato havia tido contato com um animal diagnosticado com PIF. Alguns dias após a consulta, o animal começou a apresentar dispneia, vindo a óbito em seguida.

O cadáver do animal foi encaminhado para um laboratório de diagnóstico particular, onde foi realizada a necropsia do animal e análise macroscópica e histopatológica.

A fim de reforçar a suspeita diagnóstica, uma amostra de efusão pericárdica foi encaminhada para o Setor de Virologia da Universidade Federal de Santa Maria, onde se realizou a técnica de RT-PCR. Inicialmente foi feita extração de ácido ribonucleico (RNA) usando Trizol<sup>®</sup>, seguida da produção de ácido desoxirribonucleico (DNA) complementar ao RNA presente com o kit *High-Capacity cDNA Reverse Transcription*<sup>®</sup>, seguindo as normas dos fabricantes. A reação em cadeia da polimerase (PCR) foi utilizada para amplificação de fragmento do gene da proteína de membrana (M) a partir do cDNA, conforme Brown et al. (2009), utilizando os *primers* descritos na tabela 1. As reações com volume final de 25 µL foram preparadas utilizando 10% do volume total de tampão da enzima, dNTP's (0,2 mM),

cloreto de Mg (2 mM), 2 µM de cada primer necessário para a reação, 1 unidade de Taq DNA polimerase, 100 a 200 ng/µL da amostra de DNA e q.s.p. de água ultrapura. A enzima utilizada para amplificação do gene foi a Taq DNA Polimerase Recombinante (Invitrogen®).

**Tabela 1** - Primers utilizados na PCR para amplificação de fragmento da proteína de membrana do FCoV.

<b>Primer</b>	<b>Sequência</b>
<i>Forward</i> 5'-3' (F)	TCTTGCTAACTGGAAGCTTCAGCTGG
<i>Reverse</i> 5'-3' (R)	TGACGCGTTGTCCCTGTGTG

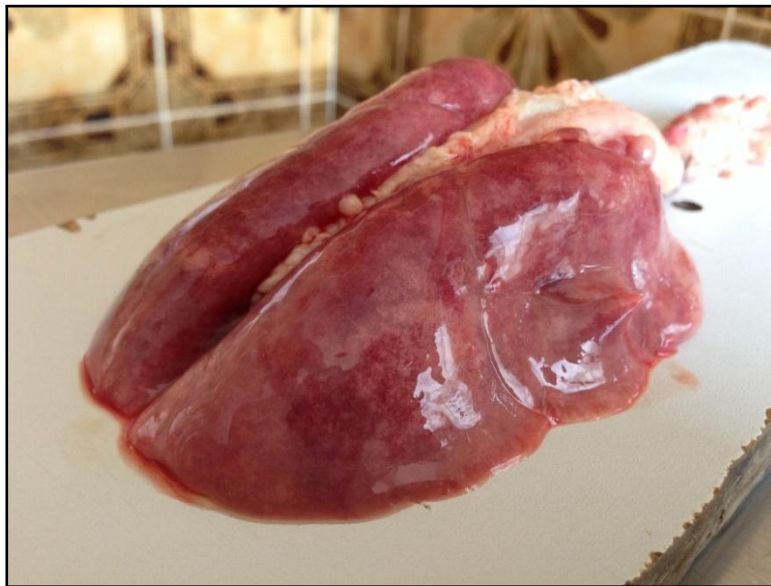
As amostras teste, controle positivo (gato PIF positivo) e controle negativo (gato PIF negativo) foram submetidas à amplificação em um termociclador obedecendo ao seguinte programa: uma incubação inicial por dois minutos a 94 °C, seguida de uma desnaturação por 20 segundos a 94 °C, então, a fase de anelamento foi realizada com temperaturas variáveis conforme o ciclo, sendo 30 segundos a 60 °C nos três primeiros ciclos, então 58 °C (5 ciclos), 56 °C (5 ciclos), 54 °C (5 ciclos), 52 °C nos últimos 22 ciclos, e, por fim de cada ciclo, uma extensão de um minuto a 72 °C e uma extensão final a 72 °C por sete minutos. Para análise do fragmento obtido, um volume de 10 µL do produto final misturado com gelRed® foi submetido à eletroforese. A eletroforese foi realizada em cuba horizontal a 60 V durante 60 minutos em gel de agarose a 1,5%. O gel foi submetido à luz UV e a análise da reação foi feita baseada na altura de banda obtida (677 pb) em comparação com o controle e o marcador de peso molecular de 100 pb.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

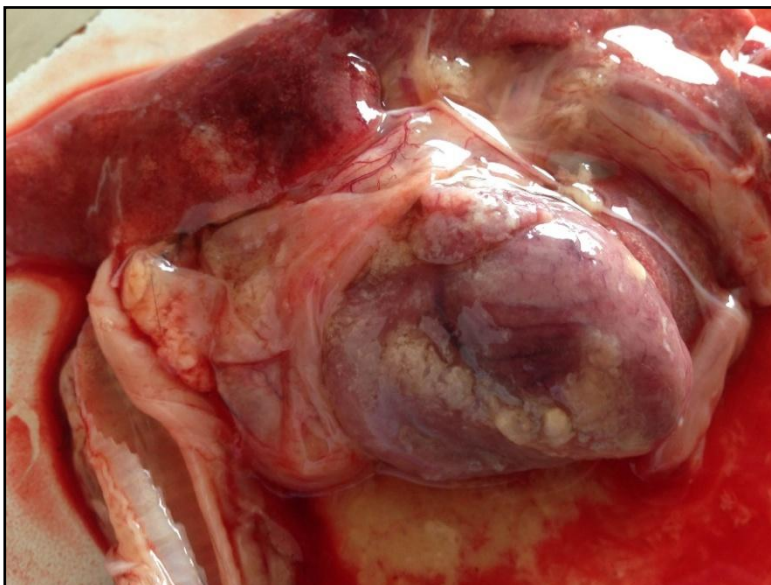
O gato examinado tinha oito meses, estando entre a faixa etária mais acometida pela PIF, visto que aproximadamente 50% dos gatos diagnosticados têm menos de dois anos (NORRIS et al., 2005). Os sinais clínicos apresentados eram condizentes com a doença, que segundo Tekelioglu et al. (2015) cursa com sinais de depressão, febre, perda de peso, e em alguns casos dispneia.

Na necropsia, as mucosas estavam pálidas e levemente amareladas. O pulmão estava repleto de infiltrado inflamatório, com impressões costais, pesado e firme. A superfície do

pulmão encontrava-se úmida, brilhante e vermelho-clara (Figura 1). Ao corte, havia quantidade de espuma leve a moderada na traqueia, brônquios e bronquíolos. A cavidade pericárdica possuía líquido viscoso, amarelo e com fibrina (Figura 2). Os rins continham múltiplos pontos amarelos que se estendiam e se coalesciam da zona cortical à medular. As lesões achadas na necropsia estão de acordo com o relatado em gatos que apresentam PIF (TILLEY; SMITH JR, 2015).



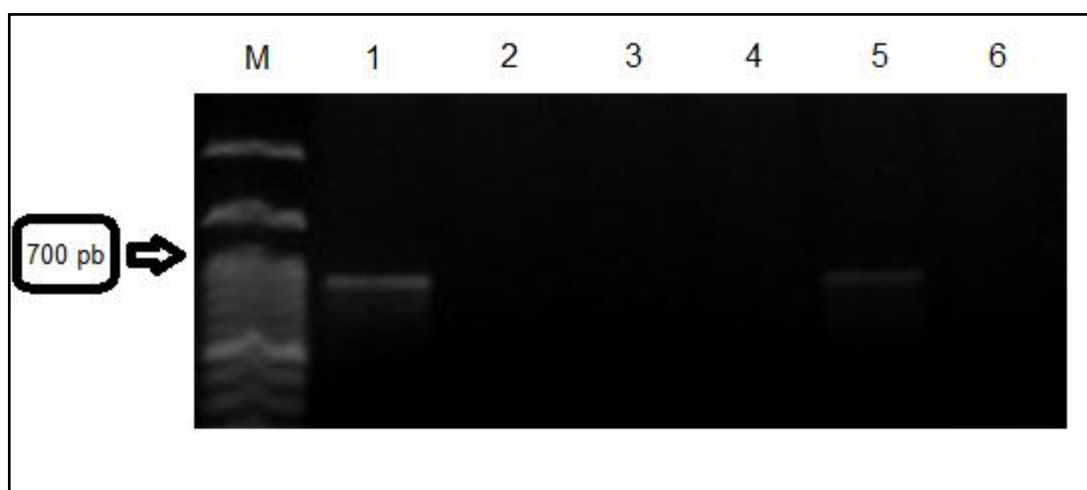
**Figura 1** - Pulmão do felino de oito meses diagnosticado com PIF, apresentando coloração vermelho-clara e superfície úmida e brilhante devido à grande quantidade de infiltrado inflamatório.



**Figura 2** - Cavidade pericárdica do felino de oito meses diagnosticado com PIF, apresentando líquido viscoso, amarelo e com fibrina.

Na avaliação histopatológica, foram encontradas lesões semelhantes às descritas na literatura (KIPAR et al., 2005; PEDERSEN, 2009a; SHARIF et al., 2010). O pulmão apresentava leve fibrose multifocal de septos alveolares e acentuado edema intra-alveolar, caracterizado por material eosinofílico amorfo e fibrilar. Havia moderado infiltrado inflamatório neutrofílico e histiocítico no interior de múltiplos alvéolos, bronquíolos e brônquios, caracterizando uma pneumonia broncointersticial supurativa, crônica, proliferativa, com edema acentuado. Detectou-se pericardite e miocardite fibrinosa, linfoplasmocítica e supurativa, multifocal a coalescente, acentuada, com vasculite fibrinóide. Observaram-se acentuado infiltrado inflamatório misto e agregados fibrinosos, constituído por linfócitos, plasmócitos e neutrófilos no pericárdio e por entre cardiomiócitos do miocárdio. Havia necrose multifocal de vasos sanguíneos, com eosinofilia e aspecto fibrinóide. O fígado possuía moderado infiltrado inflamatório linfoplasmocítico nos espaços-porta, caracterizando uma colangite linfoplasmocítica, difusa, moderada. Além disso, havia pielonefrite e nefrite intersticial, multifocal, moderada, com vasculite fibrinóide. As meninges encefálicas possuíam grande quantidade de células inflamatórias linfoplasmocíticas, mas caracterizada como uma meningite difusa leve.

A RT-PCR do fragmento de gene correspondente à membrana revelou uma amplificação de 677 pb do produto do controle positivo e da amostra do felino. Nenhuma amplificação foi observada no controle negativo e nas demais amostras.



**Figura 3** - Resultados da PCR para o gene de membrana do vírus causador da PIF em gel de agarose a 1,5% corado com gelRed®. M: marcador de peso molecular 100 bp DNA Ladder RTU KASVI; 1: produto de PCR do controle positivo; 2, 3, e 4: produto de PCR de amostras aleatórias; 5: produto de PCR da amostra do felino; 6: produto de PCR do controle negativo.

De acordo com Hartmann (2003), o diagnóstico por RT-PCR em efusões de gatos buscando diretamente o agente tem um bom valor preditivo para o diagnóstico, porém é preciso ter cuidado pois não se diferencia o vírus mutado do não-mutado através da técnica. Dessa forma, o resultado da RT-PCR sempre deve ser avaliado em conjunto com outros dados e não como diagnóstico definitivo (SHARIF et al., 2010).

### CONCLUSÃO

A PIF é considerada a doença mais letal em gatos jovens e é de difícil diagnóstico, por ser complexa e de curso variável. O gato que veio a óbito apresentava sinais clínicos e histórico que induziram a um diagnóstico presuntivo de PIF. O diagnóstico foi confirmado com os achados de necropsia e histopatológicos, compatíveis com o já descrito pela literatura, e também pela detecção do agente através da técnica de RT-PCR.

## FELINE INFECTIOUS PERITONITIS - CASE REPORT

### ABSTRACT

**F**eline infectious peritonitis (FIP) is a sporadic disease caused by a feline coronavirus, with immune-mediated character. A male cat with undefined breed, eight months of age, showed clinical signs compatible with FIP and came to death. The disease was confirmed by the animal's history, clinical signs, necropsy and histopathological findings. The agent was detected by the reverse transcriptase reaction technique followed by polymerase chain reaction (RT-PCR). The necropsy showed pale and slightly yellowish mucosae. The lung was heavy and firm, filled with inflammatory infiltrate and rib imprinting. The pericardial cavity had viscous, yellow and fibrinoid liquid. The kidneys contained multiple yellow dots extending and coalescing from the cortical area to the spinal cord. By histopathological evaluation it was diagnosed chronic, proliferative, suppurative bronchointerstitial pneumonia, with marked edema; pericarditis and multifocal to coalescing fibrinoid, lymphoplasmocytic and suppurative myocarditis, marked with fibrinoid vasculitis. The liver had diffuse and moderate lymphoplasmocytic cholangitis. There were still multifocal, moderate pyelonephritis and interstitial nephritis with fibrinoid vasculitis and mild diffuse lymphoplasmocytic meningitis. RT-PCR confirmed the presence of the agent in the pericardial effusion.

**Keywords:** Feline Infectious Peritonitis Virus. Diagnosis. Feline.

## PERITONITIS INFECCIOSA FELINA - REPORTE DE CASO

### RESUMEN

**P**eritonitis infecciosa felina (PIF) es una enfermedad esporádica, causada por un coronavirus felino, con carácter inmunomediado. Un gato, macho, mestizo, con ocho meses de edad, mostró signos clínicos compatibles con PIF y murió. La enfermedad fue confirmada por la historia del animal, signos clínicos, resultados de la necropsia y estudio histopatológico, y por la detección del agente mediante la técnica de reacción de la transcriptasa inversa seguida de reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR). En la necropsia se observó la mucosa pálida y ligeramente amarillenta. El pulmón contenía líquido (edema) que se evidenciaba por las improntas de las costillas y estaba pesado y de consistencia firme. La cavidad pericárdica tenía líquido viscoso, amarillo y fibrina. Los riñones contenían múltiples puntos amarillos que se extendían desde el área cortical a la medular. Por evaluación histopatológica se le diagnosticó neumonía broncointersticial supurativa, crónica, proliferativa, con edema marcado; pericarditis y miocarditis fibrinosa, linfoplasmocítica y supurativa, multifocal a coalescente, acentuada, con vasculitis fibrinoide.



En el hígado había colangitis linfoplasmocítica, difusa y moderada. Además, había pielonefritis y nefritis intersticial, multifocal, moderada, con vasculitis fibrinoide y meningitis linfoplasmocítica difusa leve. RT-PCR confirmó la presencia del agente en el líquido pericárdico.

**Palabras clave:** Virus de la Peritonitis Infecciosa Felina. Diagnóstico. Felino.

## AGRADECIMENTOS

Um agradecimento especial ao laboratório Axys Análises – Diagnóstico Veterinário e Consultoria e ao Setor de Virologia da UFSM.

## REFERÊNCIAS

- ADDIE, D. D.; BELÁK, S.; BOUCRAUT-BARALON, C.; EGBERINK, H.; FRYMUS, T.; GRUFFYDD-JONES, T.; HARTMANN, K.; HOSIE, M. J.; LLORET, A.; LUTZ, H.; MARSILIO, F.; PENNISI, M. G.; RADFORD, A. D.; THIRY, E.; TRUYEN, U.; HORZINEK, M. C. Feline infectious peritonitis: ABCD guidelines on prevention and management. **Journal of Feline Medicine & Surgery**, v. 11, n. 7, p. 594-604, 2009.
- ADDIE, D. D.; JARRETT, O. Feline coronavirus infection. In: GREENE, C. E. **Infectious diseases of the dog and cat**. Athens: Saunders, 1998. p. 58-69.
- AUGUST J. R. Moléstias virais felinas. In: ETTINGER J. S. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**, v. 1. 3. ed. São Paulo: Manole, 1992. p. 328-356.
- BROWN, M. A.; TROYER, J. L.; PECON-SLATTERY, J.; ROELKE, M. E.; O'BRIEN, S. J. Genetics and Pathogenesis of Feline Infectious Peritonitis Virus. **Emerging Infectious Diseases**, v. 15, n. 9, p. 1445-1452, set/2009.
- HARTMANN, K.; BINDER, C.; HIRSCHBERGER, J.; COLE, D.; REINACHER, M.; SCHROO, S.; FROST, J.; EGBERINK, H.; LUTZ, H.; HERMANN, W. Comparison of different tests to diagnose feline infectious peritonitis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 17, p. 781-790, 2003.
- HARTMANN, K. Feline infectious peritonitis. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 35, n. 1, p 39-79, 2005.
- HOSKINS, J. D. **Pediatria veterinária**. São Paulo: Manole, 1993. 605p.
- KENNEDY, M. A. **An update on feline infectious peritonitis**, 2009. Disponível em: <<http://veterinarymedicine.dvm360.com/vetmed/article/articleDetail.jsp?id=615188&sk=&date=&pageID=6>>. Acesso em: 15 de abril 2015.

KIPAR, A.; MAY, H.; MENGER, S.; WEBER, M.; LEUKERT, W.; REINACHER, M. Morphologic features and development of granulomatous vasculitis in Feline Infectious Peritonitis. **Veterinary Pathology**, v. 42, p. 321-330, 2005.

LAI, M. M. C.; HOLMES, K. V. Coronaviruses. In: KNIPE, D. M.; HOWLEY, P. M.; GRIFFIN, D. E.; LAMB, R. A.; MARTIN, M. A.; ROIZMAN, B.; STRAUS, S. E. (Eds.). **Fields Virology**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001. p. 1163–1185.

MACLACHLAN, N. J.; DUBOVI, E. J. **Fenner's Veterinary Virology**. 4. ed. San Diego: Academic Press, 2011. 534p.

MONTELEONE, G. S.; BRANDÃO, P. E.; DEMÉTRIO, C.; GREGORI, F.; ROSA, C.; ROSALES, C. A. R.; SOARES, P.; SOARES, R. M.; VILLARREAL, L. Y. B.; RICHTZENHAIN, L. J.; JEREZ, J. A. Detecção do vírus da peritonite infecciosa felina (FIPV) por meio da PCR. **ARS Veterinária**, v. 21, n. 1, p. 030-033, 2005.

MOTA, A. L. D. R. **Relação entre apresentação clínica, carga viral e a titulação de anticorpos na peritonite infecciosa felina**. Lisboa: UTL, 2010. 95p. Dissertação (Mestrado Integrado em Medicina Veterinária), Universidade Técnica de Lisboa, 2010.

MURPHY, F. A.; GIBBS, E. P. J.; HORZINEK, M. C.; STUDDERT, M. J. **Veterinary Virology**. 3. ed. San Diego: Academic Press, 1999. 629p.

NORRIS, J. M.; BOSWARD, K. L.; WHITE, J. D.; BARAL, R. M.; CATT, M. J.; MALIK, R. Clinicopathological findings associated with feline infectious peritonitis in Sydney, Australia: 42 cases (1990-2002). **Australian Veterinary Journal**, v. 83, n. 11, p. 666-673, 2005.

PEDERSEN, N. C. A review of feline infectious peritonitis virus infection: 1963-2008. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 11, p. 225-258, 2009a.

PEDERSEN, N. C.; LIU, H.; DODD, K. A.; PESAVENTO, P. A. Significance of coronavirus mutants in feces and diseased tissue of cats suffering from feline infectious peritonitis. **Viruses**, v. 1, p. 166-184, 2009b.

PEDERSEN, N. C. An update on feline infectious peritonitis: Diagnostics and therapeutics. **The Veterinary Journal**, v. 201, p. 133-141, 2014.

RAPOSO, J. B.; FERNANDES, C. G.; SALLIS, E. S. V.; GRECCO, F. B. Peritonite infecciosa felina – relato de casos. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia**, v. 2/3, n. 1, p. 62-70, 1995/1996.

SHARIF, S.; ARSHAD, S. S.; HAIR-BEJO, M.; OMAR, A. R.; ZEENATHUL, N. A.; ALAZAWY, A. Diagnostic methods for Feline Coronavirus: A Review. **Veterinary Medicine International**, v.

2010, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.4061/2010/809480>> Acesso em: 13 de abril 2015.

TEKELIOGLUA, B. K.; BERRIATUAB, E; TURANC, N.; HELPSD, C. R.; KOCAKA, M.; YILMAZC, H. A retrospective clinical and epidemiological study on feline coronavirus (FCoV) in cats in Istanbul, Turkey. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 119, n. 1-2, p. 41-47, 2015.

TILLEY, L. P.; SMITH JR, F. W. K. **Consulta Veterinária em 5 Minutos: Espécie Canina e Felina**. 5. ed. Barueri: Manole, 2015. 1560p.

*Autor para correspondência:*  
*Maureen Hoch Vieira Fernandes.*  
*Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Veterinária, UFPEL, Campus Universitário, Capão do Leão (RS).*  
*CEP 96160-000, CP 354.*  
*maurenhvfernandes@yahoo.com.br*