

Revisión de literatura

Diagnóstico serológico y molecular del coronavirus felino en las américas

Alida Carolina Valencia G¹  MV; Karen Delgado V²  M.Sc; Julián Ruíz-Sáenz^{1*}  Ph.D.

¹Universidad Cooperativa de Colombia sede Bucaramanga, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Grupo de Investigación en Ciencias Animales – GRICA. Bucaramanga, Colombia.

²Universidad de Pamplona, Facultad de Ciencias Agrarias, Pamplona, Colombia.

*Correspondencia: julian.ruizs@campusucc.edu.co

Recibido: Junio 2020; Aceptado: Enero 2021; Publicado: Abril 2021.

RESUMEN

Desde su descubrimiento por Holzworth en el año 1962, el estudio del Coronavirus Felino (FCoV) ha sido de gran interés ya que este puede afectar a felinos domésticos y silvestres. Actualmente se conocen 2 serotipos, el tipo I que es único de felinos y el tipo II que nace de una doble recombinación homóloga con un coronavirus canino (CCoV); estos a su vez pueden dividirse en 2 biotipos, los virus que generan enfermedades entéricas leves (FECVs) y los que causan la peritonitis infecciosa felina (FIPVs). En el continente americano existen distintos métodos diagnósticos que permiten en conjunto detectar la peritonitis infecciosa felina (FIP), pero la identificación del FCoV solo se puede hacer por métodos moleculares. Los países que más han estudiado este virus son aquellos que cuentan con una mayor cantidad de herramientas para realizar las pruebas diagnósticas como lo son Estados Unidos, Canadá y Brasil. En el presente trabajo se exhiben los reportes de casos y los métodos diagnósticos usados para identificar el coronavirus felino y/o sus biotipos en algunos países del continente americano.

Palabras Clave: Coronavirus felino; FCoV; FIP; diagnóstico (*Fuente: CAB*).

ABSTRACT

Since its discovery by Holzworth in 1962, the study of the Feline Coronavirus (FCoV) has have a great interest because it can affect wildlife and domestic felines. Currently 2 serotypes are known, type I is unique for felines and type II arose from a double homologous recombination with a canine coronavirus (CCoV); these also can be classified in 2 biotypes, viruses that generate mild enteric diseases (FECVs) and those that cause the feline infectious peritonitis (FIPVs). In the American continent exist different diagnostic methods that together allow the detection of the feline infectious peritonitis (FIP), but the identification of the FCoV only can be done by molecular methods. The countries that have studied this virus the most are those that have the greatest number of tools to carry out diagnostic test, such as United States, Canada and Brazil. In the present work are shown cases reports and the diagnostics methods used to identify the feline coronavirus and/or its biotypes in some countries of the American continent.

Keywords: Diagnostic; Feline Coronavirus; FCoV; FIP (*Source: CAB*).

Como citar (Vancouver).

Valencia GAC, Delgado K, Ruíz-Sáenz J. Diagnóstico Serológico y Molecular del Coronavirus Felino en las Américas. Rev MVZ Córdoba. 2021; 26(2):e2041. <https://doi.org/10.21897/rmvz.2041>



©El (los) autor (es), Revista MVZ Córdoba 2021. Este artículo se distribuye bajo los términos de la licencia internacional Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>), que permite a otros distribuir, remezclar, remezclar, retocar, y crear a partir de su obra de modo no comercial, siempre y cuando den crédito y licencien sus nuevas creaciones bajo las mismas condiciones.

INTRODUCCIÓN

El Coronavirus felino (FCoV) pertenece al orden *Nidovirales*, familia *Coronaviridae*, subfamilia *Coronavirinae*, género *Alphacoronavirus* y especie *Alphacoronavirus 1*; es un virus RNA de cadena simple con polaridad positiva (ssRNA+), envuelto, su genoma es de acerca 30 kilobases (Kb), el cual tiene 11 marcos de lectura abiertos (ORFs) que codifican para 5 proteínas accesorias: 3a, 3b, 3c, 7a y 7b, 16 proteínas no estructurales que forman el complejo de replicación/transcripción viral que se encuentran codificadas en las ORFs 1a y 1b, y 4 proteínas estructurales: la proteína de la nucleocápside (N), de espícula (S), de envoltura (E) y de matriz (M) (Figura 1) (1). En la envoltura del FCoV se encuentra la proteína de espícula (S), esta glicoproteína media la entrada del virus a la célula huésped uniéndose a los receptores que se encuentran en la membrana celular, como el receptor aminopeptidasa N (APN) o receptores de lectina tipo C de células dendríticas, como el DC-SIGN, estos son usados por el FCoV tipo II. Las proteínas M y E son glicoproteínas importantes en el proceso de fusión de membranas en el endosoma, maduración y ensamblaje de la partícula viral, y la salida del virus. La proteína N junto con el RNA forman una nucleocápside flexible y helicoidal (2).

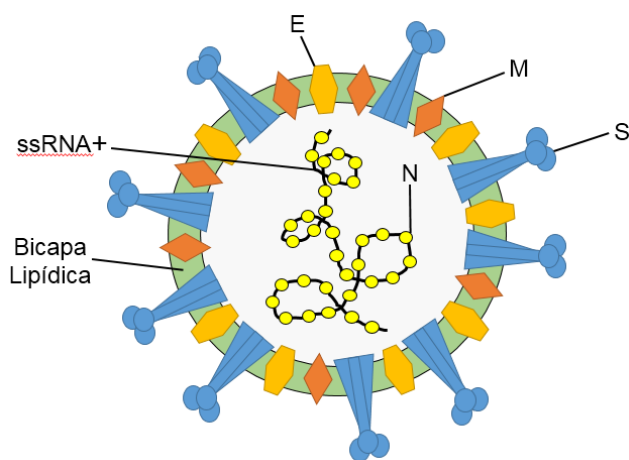


Figura 1. Estructura del Coronavirus Felino con sus proteínas asociadas.

Las infecciones causadas por el FCoV se han descrito en felinos domésticos y silvestres. El primer acercamiento a la descripción de una de las enfermedades que causa este virus (la peritonitis infecciosa felina) fue realizado por Holzworth en el año 1962. Hasta el año

1968 se confirmó su etiología viral cuando se observaron partículas virales en los tejidos de animales enfermos. Wrad en 1970, determinó que este agente viral era un coronavirus debido a sus similitudes morfológicas con las partículas virales de los agentes pertenecientes a la familia *Coronaviridae* (3).

El FCoV es transmitido de forma horizontal, el biotipo FECV tiene una prevalencia del 90% en animales que habitan en ambientes donde conviven con más de dos felinos y que son seropositivos. Los animales que se encuentran infectados eliminan el virus de forma continua o intermitente en heces por largos periodos de tiempo y generalmente estos animales son asintomáticos, por lo cual desempeñan un gran papel en el proceso epidemiológico del virus (4).

El FCoV se clasifica de 2 formas, la primera es en serotipos, esta clasificación está basada en sus propiedades serológicas, es decir, la capacidad de neutralización viral usando anticuerpos específicos contra la proteína S y el análisis de las secuencias del gen de la proteína S, y la segunda es en biotipos, esta está basada en su patogenicidad, que se define según el tipo de enfermedad que causan (5).

Existen 2 serotipos, el tipo I, que es un virus único de felinos, con una proteína S totalmente derivada del FCoV y que tiene dificultad para propagarse en cultivo celular, además, en Europa y América se ha encontrado que entre el 80 - 95% de las infecciones por FCoV son causadas por el tipo I. El tipo II, nace de una doble recombinación homóloga entre el tipo I y el coronavirus canino (CCoV). Esta doble recombinación homóloga conlleva a que se presenten cambios en la cadena de aminoácidos de la proteína S, por lo cual, el porcentaje de identidad en el dominio S1 de la proteína S del tipo II es solo del 30% con respecto al tipo I (6).

Ambos serotipos a su vez se pueden dividir en 2 biotipos, los coronavirus entéricos felinos (FECVs) y los causantes de la peritonitis infecciosa felina (FIPVs). El FECV es un virus que afecta principalmente a los enterocitos y presenta signos clínicos de enteritis leves. Cuando ocurren mutaciones dentro del genoma de los FECVs, estos se convierten en el biotipo FIPV. Estas mutaciones hacen que su tropismo celular cambie, lo que permite que infecte monocitos y/o macrófagos, y se disemine (7). Como resultado de esta diseminación se produce la peritonitis infecciosa felina (FIP) (8).

Se cree que el porcentaje con el que ocurren estas mutaciones internas dentro de los FECVs varían entre el 1 – 5%. Los coronavirus, al ser un virus RNA, tienen una tasa de mutación estimada de 4×10^{-4} nucleótidos/sitio/año, y se ha sugerido que las mutaciones que causan el cambio del biotipo viral se dan dentro de los genes 3c y 7b. De igual forma se han tenido en cuenta los cambios que se dan en los dominios de la proteína S por el papel que juegan en las etapas de unión al receptor (dominio S1) y fusión de membranas (dominio S2) en el ciclo de replicación viral, pues las mutaciones en estas subunidades podrían conllevar a un cambio en el clivaje proteolítico que favorezca el cambio en el tropismo celular del virus y el desarrollo de FIP (9).

El diagnóstico del coronavirus felino se puede hacer mediante pruebas serológicas, para la detección de anticuerpos (IgG), las cuales tienen un porcentaje de sensibilidad del 95% y de especificidad del 83%, y por pruebas moleculares para detectar el genoma viral. Por otro lado, para realizar el diagnóstico de la peritonitis infecciosa felina se pueden correlacionar metodologías como el análisis de la historia clínica del animal y los signos clínicos, realizar pruebas de laboratorio, hacer el análisis de las efusiones (si se presentan), tomar imágenes diagnósticas, y por último esta se puede confirmar con pruebas moleculares y análisis histopatológicos (10).

EPIDEMIOLOGÍA

La ruta de infección del FCoV es usualmente oro-nasal, debido a que la excreción del virus se da en las heces y los animales se contagian cuando tienen contacto directo con esta o con fómites contaminados con materia fecal. Aunque en estudios se ha demostrado que los FIPVs pueden transmitirse iatrogénicamente o en condiciones experimentales inoculando el líquido de un animal con FIP efusiva en un animal sano.

En etapas tempranas de la infección se puede presentar sintomatología respiratoria, principalmente de tracto respiratorio superior, aunque de igual forma en FIP efusiva las efusiones pleurales pueden ocasionar taquipnea, distrés respiratorio y estertores (11)

Una semana después de que el animal se ha infectado, este empieza a excretar el virus y lo continúa haciendo por varias semanas, meses e incluso podría llegar hacerlo durante toda su vida. El 12% de los animales infectados con

FCoV desarrollan la FIP, esta enfermedad se da en felinos de cualquier edad y raza. La infección con FCoV es común en ambientes muy poblados donde los animales sanos a menudo interactúan con animales infectados (12). En estos ambientes suelen presentarse situaciones que le generan estrés al animal como la convivencia con más animales, el hacinamiento y la competencia por alimento, estos factores que pueden contribuir al desarrollo de FIP. Otros factores que también pueden contribuir a su desarrollo son aquellos asociados al virus como las mutaciones que se dan en la proteína S, o al hospedador como la edad, respuesta inmune frente a la presencia del virus y la capacidad de sus células para mantener la replicación del FCoV (13).

REPLICACION VIRAL

La unión del FCoV a la célula está mediada por la proteína S, esta se une a los receptores de la membrana celular APN o DC-SIGN, estos son usados por el FCoV tipo II, pues para el FCoV tipo I aún se desconoce el receptor que usa. El ingreso del virus se da por endocitosis y después de su internalización en la célula se da la fusión de la envoltura viral con la membrana del endosoma, para que se de esta fusión deben suceder dos procesos, la activación proteolítica (clivaje) del dominio S2 de la proteína S por medio de proteasas como las furinas o catepsinas, y un cambio en el pH endosomal. Una vez el genoma viral es liberado en el citoplasma se inicia el proceso de replicación, para esto se debe formar el complejo de transcriptasa-replicasa, este está conformado por 16 proteínas no estructurales (NSP) que resultan del clivaje de las poliproteínas pp1a y pp1ab. Todos los genes de la maquinaria necesaria para este proceso, incluyendo la polimerasa RNA dependiente de RNA (RdRp), se encuentran codificados en las ORFs 1a y 1b. El genoma viral del FCoV, que es ssRNA +, es copiado en ssRNA -, el cual es una molécula intermedia para que los genes de las proteínas estructurales y accesorias sean transcritas en RNAs subgenómicos (sgrNAs). El proceso de glicosilación de las proteínas estructurales y el ensamblaje de las nuevas partículas virales se dan en el retículo endoplásmico y en el compartimiento intermedio entre el retículo endoplásmico y Golgi (ERGIC) cuando las proteínas pasan a través de este. Una vez finalizado este proceso, las partículas virales ensambladas son transportadas a través de vesículas secretoras a la membrana celular y salen de la célula por medio de la fusión de membranas (3).

INFECCIONES POR CORONAVIRUS FELINO

Los FECVs producen enfermedades entéricas usualmente asintomáticas o con sintomatología leve, tienen tropismo por las células intestinales y pueden ser detectados a los pocos días post-infección en materia fecal y sangre. Por medio de infecciones experimentales se ha demostrado que la parte inferior del tracto intestinal es el principal sitio de replicación viral del FECV. En los FECVs, la ruta de transmisión favorece que los animales jóvenes sean usualmente los más afectados, en especial los recién nacidos, quienes probablemente se contagian a través de las heces de la madre. (6).

Los FIPVs causan la FIP, esta enfermedad se clasifica de 3 formas: la efusiva (húmeda), no efusiva (seca) y mixta. Los signos clínicos generales que se observan en la FIP son: letargia, pérdida de peso, piroxia que no responde a los tratamientos e ictericia. En la forma efusiva se puede observar la acumulación de líquido rico en proteínas en cavidad abdominal y/o torácica que conlleva a la distensión abdominal, disnea, taquipnea y la presencia de una capa serosa sobre el intestino grueso, por el contrario, en la forma no efusiva hay ausencia de estas efusiones y está principalmente asociada al desarrollo de signos neurológicos, oculares y dermatológicos, y por último, en la tercera forma se presenta una combinación sintomatológica entre las dos formas nombradas anteriormente (13).

Los monocitos y macrófagos juegan un papel importante pues en ellos se da la replicación viral, lo que conlleva a la activación de estas células. Los monocitos activados circulantes expresan citocinas y moléculas de adhesión celular que facilitan la interacción con las células endoteliales produciendo disfunción en la barrera endotelial, incremento de la permeabilidad vascular y extravasación de los fluidos, por lo cual se dan las efusiones en las cavidades corporales (6).

DIAGNÓSTICO MOLECULAR E HISTOPATOLÓGICO DE FIP

El FCoV puede detectarse en tejido, líquido ascítico, suero y materia fecal, estas muestras deben manipularse con cuidado y congelarse evitando que se dé la degradación del RNA. Su diagnóstico puede realizar mediante pruebas serológicas y moleculares (10).

En las pruebas serológicas indirectas se miden los anticuerpos contra el virus por medio de las pruebas inmunofluorescencia indirecta y ELISA, aunque estas pueden presentar reacciones cruzadas con otros alphacoronavirus. La inmunocromatografía puede utilizarse como un método diagnóstico más apropiado pues da los mismos resultados que las pruebas anteriores de forma más rápida y simple (14).

Para la detección del FCoV por medio pruebas moleculares se realiza una RT-PCR usando primers específicos para las regiones más conservadas del genoma viral como la RNA polimerasa, el gen 7b, la UTR 3 y los genes de las proteínas M y S. La sensibilidad y especificidad de esta prueba mejora cuando se utiliza esta técnica en tiempo real (qRT-PCR). Para diferenciar los serotipos virales el ensayo se hace dirigido al gen de la proteína S con distintos sets de primers (10).

De igual forma se ha demostrado que se pueden diferenciar los biotipos virales usando esta técnica pero con un set de primers dirigidos al gen 3c, ya que se ha reportado que esta proteína se encuentra truncada en los FIPVs y que este gen podría funcionar como un marcador genético de virulencia (15).

Después de detectar el RNA del FCoV es posible secuenciar secciones del genoma por medio de técnicas como pirosecuenciación y secuenciación tipo Sanger. La secuenciación de los genes 3c y la proteína S es útil pues de esta forma es posible comprobar que existen mutaciones específicas presentes en los FIPVs. A partir de muestras de tejido es posible hacer la detección del FCoV por medio de inmunohistoquímica (IHC) o inmunofluorescencia (IFA), en estas técnicas se usan anticuerpos con fluorocromos que se unen a las células que se encuentran infectadas y por medio de reacciones enzimáticas se emite una fluorescencia (13).

DIAGNÓSTICO CLÍNICO DE FIP

Para el diagnóstico de FIP se debe tener en cuenta la edad, los signos clínicos y el examen físico del animal. Generalmente gatos con edades entre los 4 meses y 3 años, ictericia, ascitis con distensión abdominal y signos neurológicos o dermatológicos son sospechosos de esta enfermedad. Por medio de pruebas hematológicas en las que se realiza el conteo de las células sanguíneas se puede encontrar una anemia normocítica normocromática no

regenerativa, trombocitopenia, leucocitosis con neutrofilia y linfopenia, proteínas séricas totales aumentadas y disminución en el ratio albúmina/globulina (A:G) (10).

La prueba de química sanguínea para determinar los niveles de bilirrubina en sangre se realiza con suero o plasma del animal y da como resultado una hiperbilirrubinemia (principalmente en FIP efusiva), causada por la hemólisis y la dificultad para eliminar los residuos de hemoglobina. También se pueden medir las proteínas de fase aguda, en especial la glicoproteína ácida α_1 (AGP) que es de ayuda para el diagnóstico de FIP (16).

En el caso de FIP efusiva se puede hacer el análisis del líquido presente en las cavidades abdominal y/o torácica. La colección de este se hace por medio de una punción y aspiración guiada por ecografía, después de su obtención se analiza macro y microscópicamente. En el análisis macroscópico se observa la consistencia, el color del fluido que varía dependiendo del tipo de pigmento, es de color amarillo cuando el pigmento es bilirrubina o de color verde si es de biliverdina; el grado de turbidez que va de claro a turbio, y se mide el contenido proteico. En el análisis microscópico se observa la presencia de células y puede clasificar el líquido como un exudado de tipo inflamatorio si se observan macrófagos, neutrófilos no tóxicos y linfocitos (17).

El test Rivalta es usado para diferenciar las efusiones de FIP de otras enfermedades. Se obtiene un resultado positivo cuando la gota de la efusión usada mantiene su forma al ser adicionada al ácido acético, por el contrario, si esta se diluye, dará un resultado negativo. Al líquido también se le puede realizar pruebas serológicas para detectar anticuerpos o antígeno y pruebas moleculares (18).

Para la detección serológica la prueba ELISA ha sido una de las más populares para la detección de anticuerpos, en esta los gatos saludables tienen títulos menores a 1/100 y aquellos que se encuentran infectados tienen títulos mayores o iguales a 1/400 (16).

CORONAVIRUS EN LAS AMÉRICAS. DETECCIÓN POR PRUEBAS SEROLÓGICAS Y MOLECULARES

A continuación, se nombrarán países en los que se ha reportado la detección del FCoV y/o alguna de las enfermedades que esta causa en animales

domésticos y silvestres, y los métodos con los que se realizó.

Argentina: Se han descrito casos de peritonitis infecciosa felina, en los cuales, para realizar su diagnóstico, en primera instancia se examina al animal para observar sus signos clínicos. Posteriormente, se realizan pruebas como hemograma, química sanguínea, exámenes de orina, imágenes diagnósticas, estudio de la efusión (si el animal la presenta) y por último, si el animal fallece y es posible practicarle la necropsia, se confirma la enfermedad por medio de histopatología. En el año 2012 se llevó a cabo un estudio para determinar anticuerpos contra FCoV en gatos de Geoffroy y gatos domésticos provenientes del Parque Nacional Lihué Calel, Parque Nacional "Campos del Tuyú" y áreas cercanas a estos, por medio de KELA (cinética basada en ELISA). Como resultado, solo un gato de Geoffroy fue positivo presentando títulos de anticuerpos de 1/12 y todo los gatos domésticos fueron negativos (19).

Bolivia: En el estudio realizado en el año 2004 se tomaron muestras de felinos y caninos domésticos, y algunos carnívoros no domésticos que se encontraban en zonas cercanas o dentro de áreas protegidas para determinar títulos de anticuerpos para distintos patógenos, entre estos, el FCoV. Para la detección de anticuerpos contra FCoV se utilizó el método KELA, aunque no se detectaron anticuerpos en ningún animal, citado por Alexander et al (20). En el año 2018 se reportó otro estudio realizado por Napolitano et al para detectar anticuerpos contra FCoV en un gato andino, esta vez usando el Kit InmunoComb FCoV (IgG) y en este también se obtuvo un resultado negativo (21).

Brasil: Los primeros reportes de prevalencia de FIP se describen en el año 2003. Ellos observaron histológicamente lesiones macroscópicas y microscópicas relacionadas con la enfermedad en tejidos recolectados en necropsias realizadas a 638 felinos entre los años 1970 y 2001. De las muestras obtenidas, el 2.03% (13/638) de los animales fueron diagnosticados con FIP, el 61.53% presentaba la forma efusiva y el 38.47% la forma no efusiva. De los datos obtenidos (raza, lugar de proveniencia y edad) se discute que estos podrían ser posibles factores por los cuales los animales tienen una mayor predisposición a desarrollar la enfermedad, citado por de Oliveira et al (22).

Otros estudios indicaron la detección serológica del FCoV en felinos silvestres cautivos y libres, por medio de la prueba de IFA. Uno de estos se realizó en el año 2003, se describió la presencia de FeLV y FIPV en muestras de sangre. Se obtuvo como resultado que 12 de las 16 muestras fueron positivas para el FIPV, concluyendo que este virus se encuentra ampliamente distribuido en los felinos silvestres de Brasil, citado por Furtado et al (23). En otro estudio se comprobó la presencia de anticuerpos contra varios patógenos, entre estos el FCoV, en suero o plasma. El 65% en los animales cautivos fueron seropositivos, y se concluyó que podría deberse al constante contacto que hay entre estos con los felinos domésticos (24).

También se ha dado el uso de pruebas moleculares para realizar la detección del FCoV en felinos silvestres, durante los años 1999 y 2011 se recolectaron muestras de sangre y por medio de RT-PCR obtuvieron resultados negativos para FCoV (25). Nuevamente se utilizando la prueba RT-PCR para la detección de FCoV en 29 muestras de materia fecal de felinos domésticos se encontró que un animal era positivo solamente a FCoV y que otros 2 animales presentaban una co-infección entre FCoV y otro agente patógeno (26). A finales del año 2018 se logra aislar y obtener la primera secuencia de genoma completo de FCoV a partir de muestras de materia fecal de felinos domésticos por el método de secuenciación Illumina, la cual se reportó en el GenBank con el número de acceso MH817484 (27).

Canadá: En el año 1969, se reportó el primer caso de peritonitis infecciosa felina. El caso es de un felino doméstico que presentaba diarrea, temperatura alta que empeora con el tiempo, anemia, abdomen distendido con presencia de líquido (ascitis) y disminución del apetito, finalmente el animal fallece. En la necropsia se observó macroscópicamente que el líquido presente cavidad torácica y abdominal era de color amarillo, transparente y de consistencia viscosa, también en el examen microscópico este contenía neutrófilos y fibrina. Histológicamente las lesiones encontradas se relacionaban con una peritonitis fibrinonecrótica, pleuritis y distintos grados de inflamación en otros órganos, citado por Lauzi et al (28).

En el año 1982, se visualizaron partículas virales de FCoV en la materia fecal de un felino doméstico. El diagnóstico se realizó por medio de microscopía electrónica y las partículas virales visualizadas tenían formas pleomórficas, eran envueltas y con un tamaño entre los

70nm y 150nm; y por medio de la técnica de contrainmunolectroforesis (CIE) se confirmó la detección del antígeno mediante la formación de una línea de precipitación (29).

Un estudio realizado entre los años 1993 y 2001, buscó en 215 lince canadienses anticuerpos contra varios patógenos, entre ellos el FCoV. Por medio de la prueba IFA se confirmó la exposición de estos animales a los biotipos FECV y FIPV. Algunos animales tuvieron altos títulos de anticuerpos, lo que pudo sugerir, que estos se habían expuesto recientemente a estos biotipos. La prevalencia de los virus no varió según la edad, el sexo o la región de la que provenía el animal, citado por Licht et al (30).

Bauer et al reportan un caso de FIP, en el año 2013, el cual presentaba múltiples lesiones cutáneas, panuveítis bilateral, anorexia y letargia. Además de los exámenes de rutina realizados (hemograma, química sanguínea, electroforesis de las proteínas séricas) se realizó la prueba de ELISA para determinar títulos de anticuerpos contra distintos agentes virales felinos y se obtuvo títulos de anticuerpos de 1/51200 para FIPV. De las lesiones cutáneas se tomaron biopsias y la prueba de IHC dio positiva para FCoV en macrófagos dérmicos, siendo esto confirmado por medio del diagnóstico histopatológico (31).

Mckay et al (32) en el año 2020, querían determinar si las mutaciones en la proteína S que se han denominado como específicas de los FIPVs (M1030L y/o S1032A) se encontraban en felinos domésticos diagnosticados postmortem con FIP. Para esto se obtuvieron 185 muestras de materia fecal, 63 de tejido y 2 de líquido ascítico, a las cuales se les realizó la RT-PCR, y a las muestras positivas, se les realizó la secuenciación tipo Sanger para realizar el análisis filogenético. De las 185 muestras el 46% (86/185) fueron positivas a FECV tipo 1 y el 26% (49/185) fueron positivas a FIPV, de las cuales 8 presentaban la mutación M1030L y una la S1032A (32).

Chile: En el año 1985 se presentó un caso sospechoso de peritonitis infecciosa felina, se hacen exámenes de laboratorio y se toma una radiografía abdominal que muestra la presencia de líquido en esta cavidad. Una semana después por medio de una laparotomía exploratoria se observó que el líquido era un poco turbio, espumoso y viscoso, se tomó una muestra que se envió al laboratorio para analizar y se confirmó que se trata de un caso de FIP (33).

Colombia: Se han realizado dos reportes de caso de FIP efusiva que se han confirmado por medio de necropsia y análisis de las efusiones. En el primer caso durante la necropsia se observó macroscópicamente un exudado fibrinoso sobre la superficie estomacal y peritoneal; y microscópicamente una enteritis con acortamiento y destrucción de las vellosidades del intestino delgado (34). Para el segundo caso el líquido hallado se encontraba adherido a las pleuras del pulmón y al peritoneo, además, era de color amarillo y de textura viscosa, adicionalmente se realizó un análisis histopatológico de las muestras de tejido tomadas y se encontró perivasculitis en riñón, neumonía aguda en los pulmones y depósitos de fibrina en el bazo. Estos hallazgos se encuentran comúnmente en las necropsias que se realizan a gatos con FIP efusiva (35).

En el año 2013, un estudio realizado por Ramírez et al (36), determinó la seroprevalencia del FCoV en poblaciones felinas callejeras, caseras y de albergues por medio del Kit de ELISA Inmmunocomb® Lab. Biogal. De las 150 muestras obtenidas 93 fueron positivas, obteniendo como resultado una seroprevalencia del 62% (36). Esta misma prueba fue usada en el estudio realizado por Fletcher et al, en el año 2016, en felinos silvestres y en el que se obtuvo una seroprevalencia del 10.71% (37).

En el año 2017, Delgado et al (38), realizaron un estudio para conocer la prevalencia de FCoV en felinos de distintos albergues, se tomaron 96 muestras y por medio de la prueba de ELISA se evidenció una prevalencia del 84.64%, la cual se comprobó molecularmente con una RT-PCR dirigida al gen NSP-14. Posteriormente las muestras que fueron positivas para ambas pruebas fueron enviadas para realizarles la secuenciación tipo Sanger y por medio del análisis filogenético se identificó el serotipo del FCoV como tipo I (38).

Entre los años 2014 y 2018, Santana et al (39), recolectaron muestras de efusiones en 5 felinos y de materia fecal en 44 caninos para realizar la detección de coronavirus. A las muestras se les realizó la prueba RT-PCR dirigida al gen NSP12 y posteriormente amplificación parcial de los genes de las proteínas M, N, S y 3b. Solo un felino fue positivo a FCoV, y en el análisis filogenético que se realizó basado en el gen de la proteína M se clasificó como FCoV tipo II, ya que en el árbol de Máxima Verosimilitud se agrupó con una secuencia de referencia FCoV tipo II (39).

Ecuador: Se realizó un estudio para diagnosticar FCoV y otros patógenos en la Isla Isabela, Galápagos. En este se recolectaron muestras de 95 perros y 52 gatos de la isla y por medio de la prueba ELISA se buscaron anticuerpos contra FCoV, como resultado, todos los felinos fueron negativos, citado por Teiseira et al (40).

Estados Unidos: En el año 1968, Zook et al (41), visualizaron por primera vez partículas virales en lesiones producidas por la FIP por medio de microscopía electrónica en tejidos de felinos domésticos infectados experimentalmente. Los animales fueron observados y examinados periódicamente hasta el fallecimiento del animal, y posteriormente, se les realizó la necropsia, en la cual se tomaron muestras de distintos tejidos. Un total de 17 animales desarrollaron la enfermedad, y en la microscopía electrónica se observaron partículas virales en las células mesoteliales del mesenterio (41).

Se han usado distintas técnicas para evaluar la respuesta inmune contra el FCoV como la IFA, ELISA y neutralización viral, aunque la prueba de ELISA presentaba algunas deficiencias. Debido a lo anterior, se desarrolló la prueba KELA para hacer la detección de anticuerpos para distintos patógenos. En el año 1982, se realizó una adaptación computacional de esta prueba para detectar anticuerpos contra FCoV y encontraron que esta disminuía el requisito que tiene la prueba ELISA de realizar diluciones en serie de los sueros. De esta forma se minimizaban los errores que se podían cometer al realizar una manipulación física de la muestra y proporcionaba resultados más rápidos y precisos, citado por Domínguez et al (42).

En el año 1990, se realizó un estudio para hallar la prevalencia del FCoV en guepardos cautivos. Para esto se utilizó la prueba de IFA, los animales positivos obtuvieron títulos de anticuerpos para FIPV superiores o iguales a 1/25, que se confirmaron por medio de Western blot. También se encontró que la prevalencia de FCoV en materia fecal fue del 31%, citado por Kim et al (43). La técnica de IFA y KELA fueron usadas en el año 1993 para detectar anticuerpos contra FECV y FIPV en panteras de la Florida. Como resultado 4 de 21 animales fueron positivos por el método IFA mientras que con la prueba KELA ningún animal fue positivo. Además, se encontró que la prevalencia del FCoV en panteras era del 19%, citado por Foley et al (44).

En el año 2001 se realizó un estudio en felinos silvestres (guepardos cautivos) para detectar el FCoV a partir de muestras de sangre, materia fecal y líquido de efusiones por medio de la prueba RT-PCR dirigida a las proteínas accesorias de la ORF 7ab. Se tomaron muestras de 33 guepardos, y en el ensayo se usó la cepa WSU1143 (American BioResearch, Sevierville, Tennessee 37864, USA) como control positivo y agua libre de RNAsas como control negativo. De los resultados obtenidos 10 muestras fueron positivas. También se realizó la prueba de IFA, para la cual 13 muestras resultaron positivas para el serotipo I y 2 para el tipo II, citado por Gaffney et al (45).

De igual forma se puede hacer una qRT-PCR, como en un estudio realizado en el año 2014, en el cual la qRT-PCR estaba dirigida al gen 7b. Como resultado el 88% de los 68 animales a los que se les realizó la prueba fueron positivos para FCoV (46).

Adicionalmente las pruebas de PCR se pueden complementar realizándosele una secuenciación a los productos positivos obtenidos para conseguir genomas completos o parciales del virus y a partir de estos establecer relaciones filogenéticas entre las secuencias (47).

Guatemala: En el año 2001 fueron recolectadas 30 muestras de sangre de felinos domésticos y de 2 tigrillos cautivos de la región de Petén para determinar anticuerpos contra FCoV y otros patógenos felinos. Los títulos de anticuerpos se detectaron por medio de IFA, obteniendo que el 27% de los felinos domésticos fueron seropositivos con títulos de 1/40. Igualmente ambos tigrillos muestreados fueron positivos para FCoV con títulos de 1/40 y <1/80 (48).

Perú: Hasta el año 1997 no se tenía información sobre enfermedades causadas por FCoV o casos de FIP en este país, por lo que se realizó un estudio con el objetivo de probar la existencia de infecciones por FCoV en la ciudad de Lima. La detección de anticuerpos se hizo por medio de la prueba IFA, obteniendo como resultado que el 27.8% de los animales era positivo para el tipo I. Además, dentro de los animales positivos para el tipo I, el 11.1% también fue positivo para el tipo II (49). Para el año 2018 el diagnóstico de la FIP se da por la correlación de los signos clínicos y las pruebas de laboratorio, pero se confirman por medio de necropsia e histopatología, como en 2 casos de FIP que se presentaron en una clínica veterinaria. Los

resultados de la necropsia mostraron que ambos animales presentaban ascitis y masas de fibrina adheridos a la serosa de hígado, bazo, pericardio, intestino y mesenterio. Histopatológicamente se encontró exudado inflamatorio compuesto por hilos de fibrina, acompañado de vasculitis y efusión de líquido proteínico, además de zonas necróticas en hígado y folículos linfoides con depleción moderada en bazo. Estos hallazgos confirmaron que ambos casos se trataban de una FIP efusiva (50).

Venezuela: En el año 2005 para analizar 3 casos de felinos domésticos con sintomatología de FIP se tomaron muestras de sangre y del fluido encontrado en cavidad torácica y abdominal. Posteriormente se les realizó la necropsia y se tomaron muestras de tejido para el análisis histopatológico. El fluido encontrado era de color blanquecino o ámbar, turbio, acuoso con un alto contenido proteico y presencia de fibrina. Macroscópicamente se observaron adherencias entre la pleura parietal y visceral, y microscópicamente infiltrado de células inflamatorias en bronquios, pleura visceral y en la serosa del intestino. Estos cambios permiten orientar a un diagnóstico sugestivo de FIP efusiva (51).

CONCLUSIONES

El coronavirus felino tiene una prevalencia que oscila entre el 20 y el 90% en las poblaciones felinas domésticas y silvestres, en las que ocasiona enfermedades como la peritonitis infecciosa felina o enteritis intermitentes durante toda la vida del animal. Se ha descrito que este virus puede aislarse con mayor frecuencia en animales jóvenes y que se encuentran en ambientes sobrepoblados, esto debido, a la transmisión oronasal del virus. Existen dos serotipos del virus, el tipo I y el tipo II, del primero se conoce que se encuentra solo en felinos y del segundo que surge de una doble recombinación homóloga entre el tipo I con un coronavirus canino, y que estos dos serotipos a su vez se pueden dividir en dos biotipos, los coronavirus entéricos felinos (FECVs) que son causantes de enteritis leves y los coronavirus causantes de la peritonitis infecciosa felina (FIPVs). Esta es la enfermedad más estudiada, para la cual como método diagnóstico inicial se realizan exámenes clínicos de rutina diaria como hemogramas, pruebas bioquímicas, examen de las efusiones, pruebas serológicas que tienen como fin determinar títulos de anticuerpos contra el virus, y las pruebas moleculares que son las más asertivas para detectar el genoma viral. También durante la necropsia del animal se pueden encontrar cambios histopatológicos que

pueden guiar el diagnóstico de esta enfermedad.

Como se ha podido demostrar, en menos de la mitad de los países que se encuentran dentro del continente americano se ha investigado sobre la prevalencia del FCoV o la FIP. Los países más desarrollados se destacan por tener una mayor cantidad de investigaciones debido a que cuentan con una amplia variedad de pruebas para realizar la detección del FCoV (Figura 2), mientras que los países que se encuentran en vía de desarrollo tienen pocas investigaciones sobre este tema. Esto también puede deberse a la falta de interés económico en las mascotas, pues estas son más consideradas como animales de compañía.



Figura 2. Representación de los continentes Americanos y la forma en la que se diagnostica el FCoV.

Cabe destacar que no en todos los países las pruebas moleculares son el método principalmente usado para detectar el FCoV, y conociendo que otras enfermedades felinas tienen sintomatología similar a la observada en las enfermedades que son causadas por ambos biotipos del FCoV, se hace necesario implementar este tipo de pruebas como método de diagnóstico rutinario, ya que estas son más acertadas para realizar la detección de este patógeno, y que en muchos de los casos las pruebas serológicas pueden dar resultados que no son el 100% confirmatorios y generan un diagnóstico erróneo de la infección.

No hay que desmeritar a los países que no se mencionan en este artículo, pues en ellos se debe realizar el diagnóstico del FCoV o de la FIP por alguno o varios de los métodos citados anteriormente y que debido a la dificultad para encontrar información sobre ellos o a la falta de publicaciones estos no son nombrados en el estudio. De igual forma, algunos de los países mencionados también cuentan con poca información proporcionada sobre el estudio del FCoV, es por esto que la información que se tiene sobre las prevalencias del FCoV en el continente americano es poca y se dificulta la posibilidad de encontrar una prueba diagnóstica que permita de forma exacta y precisa detectar este virus.

Conflicto de intereses

No hay conflicto de intereses con respecto a este manuscrito.

REFERENCIAS

1. Lemmermeyer T, Lamp B, Schneider R, Ziebuhr J, Tekes G, Thiel H-J. Characterization of monoclonal antibodies against feline coronavirus accessory protein 7b. *Vet Microbiol.* 2016; 184:11-19. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2015.12.009>.
2. Kipar A, Meli M. Feline infectious peritonitis: still an enigma? *Vet Pathol.* 2014; 51(2):505-526. <https://doi.org/10.1177/0300985814522077>.
3. Jaimes JA, Whittaker GR. Feline coronavirus: insights into viral pathogenesis based on the spike protein structure and function. *Virology.* 2018; 517:108-121. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2017.12.027>.
4. Chang H-W, de Groot RJ, Egberink HF, Rottier PJ. Feline infectious peritonitis: insights into feline coronavirus pathobiogenesis and epidemiology based on genetic analysis of the viral 3c gene. *J Gen Virol.* 2010; 91(2):415-420. <https://doi.org/10.1099/vir.0.016485-0>.
5. Shiba N, Maeda K, Kato H, Mochizuki M, Iwata H. Differentiation of feline coronavirus type I and II infections by virus neutralization test. *Vet microbiol.* 2007; 124(3-4):348-352. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2007.04.031>.
6. Tekes G, Thiel H-J. Feline coronaviruses: pathogenesis of feline infectious peritonitis. *Advances in virus research.* Elsevier. 2016; 96:193-218. <https://doi.org/10.1016/bs.aivir.2016.08.002>.
7. Desmarests LM, Vermeulen BL, Theuns S, Conceição-Neto N, Zeller M, Roukaerts ID, et al. Experimental feline enteric coronavirus infection reveals an aberrant infection pattern and shedding of mutants with impaired infectivity in enterocyte cultures. *Sci Rep.* 2016; 6(1):1-11. <https://doi.org/10.1038/srep20022>.
8. Kim Y, Liu H, Kankanamalage ACG, Weerasekara S, Hua DH, Groutas WC, et al. Reversal of the progression of fatal coronavirus infection in cats by a broad-spectrum coronavirus protease inhibitor. *PLoS Pathog.* 2016; 12(3):1-18. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005650>.
9. Licitra BN, Millet JK, Regan AD, Hamilton BS, Rinaldi VD, Duhamel GE, et al. Mutation in spike protein cleavage site and pathogenesis of feline coronavirus. *Emerg Infect Dis.* 2013; 19(7):1066-1073. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1907.121094>.
10. Sharif S, Arshad SS, Hair-Bejo M, Omar AR, Zeenathul NA, Alazawy A. Diagnostic methods for feline coronavirus: a review. *Vet Med Int.* 2010; 2010:1-8. <https://doi.org/10.4061/2010/809480>.
11. Hartmann K. Feline infectious peritonitis. *Vet Clin Small Anim.* 2005; 35(1):39-79. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2004.10.011>.
12. Addie DD. Feline infectious peritonitis: answers to frequently asked questions concerning FIP and coronavirus. *VNJ.* 2019; 34(8):201-206. <https://doi.org/10.1080/17415349.2019.1629366>.
13. Tasker S. Diagnosis of feline infectious peritonitis: Update on evidence supporting available tests. *J Feline Med Surg.* 2018; 20(3):228-243. <https://doi.org/10.1177/1098612X18758592>.
14. Takano T, Hohdatsu T. Serological diagnosis of feline coronavirus infection by immunochromatographic test. *Coronaviruses: Springer.* 2015; 1282:33-39. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2438-7_3.
15. Hora A, Tonietti P, Taniwaki S, Asano K, Maiorka P, Richtzenhain L, et al. Feline coronavirus 3C protein: a candidate for a virulence marker? *BioMed Res Int.* 2016; 9(8):1-9. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/8560691>.
16. Pedersen NC. An update on feline infectious peritonitis: diagnostics and therapeutics. *Vet J.* 2014; 201(2):133-141. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.04.016>.
17. Prieto M, Acuña A. Actualización de la Peritonitis Infecciosa Felina. *Hospitales Veterinarios.* 2012; 4(3):75-82. Available from: http://www.rhv.cl/index.php?option=com_docman&task=doc_download&gid=59

18. Fischer Y, Sauter-Louis C, Hartmann K. Diagnostic accuracy of the Rivalta test for feline infectious peritonitis. *Vet Clin Pathol.* 2012; 41(4):558-567. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2012.00464.x>.
19. Uhart MM, Rago MV, Marull CA, Ferreyra HdV, Pereira JA. Exposure to selected pathogens in Geoffroy's cats and domestic carnivores from central Argentina. *J Wildl Dis.* 2012; 48(4):899-909. <https://doi.org/10.7589/2011-05-137>.
20. Alexander AB, Poirotte C, Porton IJ, Freeman KL, Rasambainarivo F, Olson KG, et al. Gastrointestinal parasites of captive and free-living lemurs and domestic carnivores in eastern Madagascar. *J Zoo Wildl Med.* 2016; 47(1):141-149. <http://dx.doi.org/10.1638/2015-0111.1>.
21. Napolitano C, Sacristán I, Beltrán-Saavedra LF, Limachi-Quiñajo R, Poulin E. Molecular and serologic survey of pathogens in an endangered andean cat (*Leopardus jacobita*) of the high andes of Bolivia. *J Wildl Dis.* 2019; 55(1):242-245. <https://doi.org/10.7589/2018-05-136>.
22. de Oliveira TES, Di Santis GW, Headley SA. Epidemiological data and a score-based study of renal, hepatic and cerebral lesions in feline infectious peritonitis. *Semin Cienc Agrar.* 2017; 38(5):3133-3143. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2017v38n5p3133>.
23. Furtado MM, de Ramos Filho JD, Scheffer KC, Coelho CJ, Cruz PS, Ikuta CY, et al. Serosurvey for selected viral infections in free-ranging jaguars (*Panthera onca*) and domestic carnivores in Brazilian Cerrado, Pantanal, and Amazon. *J Wildl Dis.* 2013; 49(3):510-521. <https://doi.org/10.7589/2012-02-056>.
24. Filoni C, Catão-Dias JL, Cattori V, Willi B, Meli ML, Corrêa SHR, et al. Surveillance using serological and molecular methods for the detection of infectious agents in captive Brazilian neotropical and exotic felids. *J Vet Diagn Invest.* 2012; 24(1):166-173. <https://doi.org/10.1177/1040638711407684>.
25. Furtado MM, Taniwaki SA, de Barros IN, Brandão PE, Catão-Dias JL, Cavalcanti S, et al. Molecular detection of viral agents in free-ranging and captive neotropical felids in Brazil. *J Vet Diagn Invest.* 2017; 29(5):660-668. <https://doi.org/10.1177/1040638717720245>.
26. Castro TX, Rita de Cássia N, Fumian TM, Costa EM, Mello R, White PA, et al. Detection and molecular characterization of caliciviruses (vesivirus and norovirus) in an outbreak of acute diarrhea in kittens from Brazil. *Vet J.* 2015; 206(1):115-117. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.06.014>.
27. de Barros BdCV, de Castro CMO, Pereira D, Ribeiro LG, Júnior JWBD, Casseb SMM, et al. First complete genome sequence of a feline alphacoronavirus 1 strain from Brazil. *Microbiol Resour Announc.* 2019; 8(10):1-2. <https://doi.org/10.1128/MRA.01535-18>.
28. Lauzi S, Stranieri A, Giordano A, Luzzago C, Zehender G, Paltrinieri S, et al. Origin and transmission of Feline coronavirus type I in domestic cats from Northern Italy: a phylogeographic approach. *Vet Microbiol.* 2020; 244:1-9. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2020.108667>.
29. Dea S, Roy R, Elazhary M. Coronavirus-like particles in the feces of a cat with diarrhea. *Can Vet J.* 1982; 23(5):153. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1790106/>.
30. Licht DS, Moen RA, Brown DP, Romanski MC, Gitzen RA. The Canada Lynx (*Lynx canadensis*) of Isle Royale: over-harvest, climate change, and the extirpation of an island population. *Can Field-Nat.* 2019; 129(2):139-151. <https://doi.org/10.22621/cfn.v129i2.1694>.
31. Bauer BS, Kerr ME, Sandmeyer LS, Grahn BH. Positive immunostaining for feline infectious peritonitis (FIP) in a Sphinx cat with cutaneous lesions and bilateral panuveitis. *Vet Ophthalmol.* 2013; 16(1):160-163. <https://doi.org/10.1111/vop.12044>.
32. McKay LA, Meachem M, Snead E, Brannen T, Mutlow N, Ruelle L, et al. Prevalence and mutation analysis of the spike protein in feline enteric coronavirus and feline infectious peritonitis detected in household and shelter cats in western Canada. *Can J Vet Res.* 2020; 84(1):18-23. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31949325>.
33. Albala A. Peritonitis infecciosa felina en Chile. Comunicación preliminar. *Monogr Med Vet.* 1986; 8(2). Available from: https://web.uchile.cl/vignette/monografiasveterinaria/monografiasveterinaria.uchile.cl/CDA/mon_vet_articulo/0,1412,SCID%253D8120%2526ISID%253D418%2526PRT%253D0,00.html

34. Ochoa J, Roque A, Daza J. Colangiocarcinoma hepático en un felino y hallazgos anatomopatológicos, y clínicos compatibles con peritonitis infecciosa felina. *Rev MVZ Córdoba*. 2012; 17(2):3080-3086. <https://doi.org/10.21897/rmvz.245>.
35. Rodríguez JCB, Betancur AM, Salcedo LK, León SP. Caso clínico felino con peritonitis infecciosa felina (PIF) ocasionado por un coronavirus. *Rev Electrón Vet*. 2017; 18(7):1-9. Available from: <https://www.redalyc.org/pdf/636/63652580012.pdf>.
36. Ramirez Cardona ID, Velasquez Viera MA, Ramirez Garcia R, Hernandez Lopez CA. Estudio de seroprevalencia del coronavirus felino en gatos callejeros, de albergue y caseros de la ciudad de Medellín durante el 2013. [Tesis de maestría]. Colombia: Universidad CES, 2014. <https://repository.ces.edu.co/handle/10946/2128>.
37. Fletcher Uribe S, Perez Garcia J, Villegas Tabares JP. Diagnóstico de agentes infecciosos de común presentación en felinos silvestres nativos y exóticos mantenidos en cautiverio en Colombia. Colombia: Universidad CES, 2017. Available from: <https://repository.ces.edu.co/handle/10946/2848>.
38. Delgado Villamizar KY. Seroprevalencia y evaluación molecular de coronavirus felino en Bucaramanga utilizando RT-PCR. [Tesis de maestría]. Colombia: Universidad Cooperativa de Colombia, 2018. Available from: <https://repository.ucc.edu.co/handle/20.500.12494/11667>.
39. Santana N, Reyes D, Arango D, Velandia A, Taniwaki S, de Souza S, Brandão, P. Molecular diversity of Alphacoronavirus 1 in dogs and cats in Colombia. *Heliyon*. 2020; 6(7):1-6. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04381>.
40. Teixeira BM, Hagiwara MK, Cruz J, Hosie MJ. Feline immunodeficiency virus in South America. *Viruses*. 2012; 4(3):383-396. <https://doi.org/10.3390/v4030383>.
41. Zook B, King N, Robison R, McCombs H. Ultrastructural evidence for the viral etiology of feline infectious peritonitis. *Vet Pathol*. 1968; 5(1):91-95. <https://doi.org/10.1177/030098586800500112>.
42. Domínguez M, Moreno I, Toraño A. Quantitation of monoclonal antibody by capture ELISA based on initial enzyme activity rate. *J Immunol Methods*. 2019; 474:1-6. <https://doi.org/10.1016/j.jim.2019.112645>.
43. Kim Y, Mandadapu SR, Groutas WC, Chang K-O. Potent inhibition of feline coronaviruses with peptidyl compounds targeting coronavirus 3C-like protease. *Antiviral Res*. 2013; 97(2):161-168. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2012.11.005>.
44. Foley JE, Swift P, Flee KA, Torres S, Girard YA, Johnson CK. Risk factors for exposure to feline pathogens in California mountain lions (*Puma concolor*). *J Wildl Dis*. 2013; 49(2):279-293. <https://doi.org/10.7589/2012-08-206>.
45. Gaffney PM, Kennedy M, Terio K, Gardner I, Lothamer C, Coleman K, et al. Detection of feline coronavirus in cheetah (*Acinonyx jubatus*) feces by reverse transcription-nested polymerase chain reaction in cheetahs with variable frequency of viral shedding. *J Zoo Wildl Med*. 2012; 43(4):776-786. <https://doi.org/10.1638/2011-0110R1.1>.
46. Polak K, Levy J, Crawford P, Leutenegger C, Moriello K. Infectious diseases in large-scale cat hoarding investigations. *Vet J* 2014; 201(2):189-195. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.05.020>.
47. Fish EJ, Diniz PPV, Juan Y-C, Bossong F, Collisson EW, Drechsler Y, et al. Cross-sectional quantitative RT-PCR study of feline coronavirus viremia and replication in peripheral blood of healthy shelter cats in Southern California. *J Feline Med Surg*. 2018; 20(4):295-301. <https://doi.org/10.1177/1098612X17705227>.
48. Lickey AL, Kennedy M, Patton S, Ramsay EC. Serologic survey of domestic felids in the Petén region of Guatemala. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. 2005; 36(1):121-123. <https://doi.org/10.1638/03-059>.
49. Pereyra C, Rosadio R. Evidencias de infecciones coronavirales y retrovirales en felinos de lima metropolitana. *Rev Inv Pec (IVITA)*. 1997;8(1):79-82. Available from: https://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/veterinaria/v08_n1/infeccionesc.htm.
50. Rubio A, Chavera A. Peritonitis infecciosa felina: dos casos clínicos en Lima-Perú. *Rev Investig Vet Peru*. 2018; 29(1):381-388. <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v29i1.14188>.
51. Echeto OEV, Madrigal K, Admadé M, Oviedo ORV, Moreno A, Simoes D. Peritonitis infecciosa felina, gastroenteritis y colangiohepatitis parasitaria (Platinosomiasis) con colangiocarcinoma hepático: Estudio clínico y anatomopatológico de tres casos. *Rev Cient (FCV-LUZ)*. 2005; 15(3):195-203. <http://www.saber.ula.ve/handle/123456789/28308>.