

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**PREVALÊNCIA DAS INFECÇÕES PELO VÍRUS DA LEUCEMIA VIRAL FELINA E
DA IMUNODEFICIÊNCIA VIRAL FELINA NA CIDADE DE PORTO ALEGRE**

Flavio Roberto Chaves da Silva

PORTO ALEGRE

2007

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**PREVALÊNCIA DAS INFECÇÕES PELO VÍRUS DA LEUCEMIA VIRAL FELINA E
DA IMUNODEFICIÊNCIA VIRAL FELINA NA CIDADE DE PORTO ALEGRE**

Autor: Flavio Roberto Chaves da Silva

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias na Área de Concentração de Microbiologia Veterinária, na Especialidade de Virologia.

Orientador: Prof. Dr. Cláudio Wageck Canal

Co-Orientador: Prof. Dr. Daniel Thompsen Passos

PORTO ALEGRE

2007

FOLHA DE APROVAÇÃO

Flavio Roberto Chaves da Silva

PREVALÊNCIA DAS INFECÇÕES PELO VÍRUS DA LEUCEMIA VIRAL FELINA E DA
IMUNODEFICIÊNCIA VIRAL FELINA NA CIDADE DE PORTO ALEGRE

Aprovada em 18 de julho de 2007.

Prof. Dr. Cláudio Wageck Canal

Orientador e Presidente da Banca

Profa. Dra. Ana Paula Ravazzolo

Membro da Banca

Profa. Dr. Ana Cláudia Franco

Membro da Banca

Prof. Dr. Amauri Braga Simonetti

Membro da Banca

AGRADECIMENTOS

Ao professor Dr. Cláudio Wageck Canal, pelo apoio, amizade e orientação deste trabalho.

Ao professor Dr. Daniel Thompsen Passos pela amizade, pela grande ajuda na obtenção desta conquista, pela paciência nos ensinamentos e por ter acreditado em mim.

Aos meus pais, Oscar e Etelvina, pela educação, carinho, companheirismo, amor e amizade que me dedicaram durante todos os momentos da vida.

À minha namorada, Caroline Fucks, por seu amor, carinho, paciência, alegria, me incentivado e não deixando desistir.

A meus colegas e irmãos de apartamento, Diego e Claudinho Poca, pela nossa amizade, companheirismo, troca de conhecimentos e muitas brigas pela organização, mas sempre acabando em paz.

Aos meus irmãos e sobrinhos, Enio, Maris, Diego, Glaucus, Manuela, pela amizade e por sempre me apoiarem.

Ao Diego Hepp pela amizade, grande ajuda, paciência e ensinamentos transmitidos.

Aos velhos e grandes amigos Betinho e Marcelo, pela amizade, por estarem sempre disponíveis para ajudar.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Biologia Molecular da ULBRA, Juliano, Lissandra, Everton, Ângela, Daniela, Cabelo, pela amizade e apoio.

À Ana Cristina Wendelstein, Eliane e Thaísa, pela amizade, incentivo nas horas difíceis e ajuda na realização deste trabalho.

À professora Ana Paula Ravazzolo, pelos conhecimentos compartilhados e por disponibilizar a infra-estrutura do seu laboratório.

A mãe Orema pela amizade, carinho e os bolinhos gostosos.

A todos os colegas e amigos do Laboratório de Virologia, pela amizade e incentivo na realização deste trabalho.

RESUMO

O vírus da imunodeficiência felina (FIV) é um membro da subfamília *Lentivirinae* da família *Retroviridae*. A infecção é caracterizada por imunodepressão com um declínio progressivo dos linfócitos T CD4+, propiciando, desta maneira, o surgimento de infecções oportunistas. Já o vírus da leucemia viral felina (FeLV) pertence a subfamília *Oncovirinae* da família *Retroviridae*. Este vírus é um importante patógeno dos gatos domésticos que causa uma variedade de desordens neoplásicas e degenerativas e também apresenta distribuição mundial. O presente estudo compreendeu um levantamento da prevalência das infecções por FIV e FeLV no Município de Porto Alegre. Foram analisadas 65 amostras de gatos sadios e doentes. A detecção destas viroses foi realizada utilizando um “kit” comercial de ELISA para ambas as viroses e um protocolo de reação em cadeia da polimerase aninhada (Nested-PCR) para detecção do FIV. Os resultados demonstraram que 21,5% (14/65) dos gatos foram positivos para FIV combinado os resultados de ambos os testes, 10,8% (7/65) foram positivos para FeLV e 6,1% (4/65) foram positivos para ambos os vírus. Foram também realizados hemogramas de 48 animais, dos quais 8 apresentaram resultados positivos para FIV na Nested-PCR. Através do teste T de Student, verificou-se que não houve diferença significativa nos valores hematológicos destes animais. Conclui-se que a utilização do ELISA com a PCR dobrou a chance de detecção de gatos FIV positivos. Desta forma, a prevalência de FIV foi aproximadamente o dobro do que a de FeLV, ao contrário do que ocorre na maior parte de outros locais estudados.

Palavras-chave: vírus da imunodeficiência felina, vírus da leucemia viral felina, prevalência, diagnóstico, Nested-PCR, ELISA.

ABSTRACT

Feline immunodeficiency virus (FIV) belongs to the *Lentivirinae* subfamily of the *Retroviridae* family. The infection is characterized by immunodepression and progressive decline in CD4⁺ T cells that may render the animal susceptible to opportunistic infections. Feline leukemia virus (FeLV) belongs to subfamily *Oncovirinae* of the *Retroviridae* family. The virus also affects domestic cats, being an important pathogen that causes a variety of neoplastic disorders and degenerative diseases. Both viruses have a worldwide distribution. The present study aims to determine the prevalence of infection with FIV and FeLV in Porto Alegre municipality. A total of 65 cats were tested, comprising healthy and sick cats. A commercial ELISA kit was used to detect anti-FIV antibodies and FeLV antigen. A nested polymerase chain reaction (Nested-PCR) was also used for FIV provirus detection. The results showed that 21.5% of the sampled cats were positive for FIV in the ELISA and Nested-PCR, 10.8% were positive for FeLV in the ELISA and 6.1% were positive for both viruses. Haemogram of 48 animals were performed but it was not found any significant association between hematologic values of FIV positive and negative animals. It was concluded that the use of ELISA and Nested-PCR increased the possibility to detect FIV positive cats. The prevalence of FIV infected cats was higher than the prevalence of FeLV positive cats, the opposite of what is normally found in studies performed in other regions.

Key words: feline immunodeficiency virus, feline leukemia virus, prevalence, diagnosis, Nested-PCR, ELISA.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1-	Representação esquemática da replicação de um retrovírus.....	17
Figura 2-	Esquema representativo da partícula viral de um retrovírus.....	26
Figura 3-	Representação esquemática de do genoma do vírus da imunodeficiência felina com indicação dos “primers” utilizados nas reações de Nested-PCR.....	37
Figura 4-	Eletroforese em gel de poliacrilamida 10% mostrando produtos de amplificação da Nested-PCR para FIV.....	38
Figura 5-	Fotografias de exemplos dos resultados encontrados no ELISA.....	40
Figura 6-	Porcentagem de gatos positivos para FeLV de acordo com as raças analisadas.....	44
Figura 7-	Proporção dos animais FIV positivos por raça.....	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Estágio da infecção pelo FIV com sua manifestação clínica e tempo de duração aproximado.....	21
Tabela 2-	Comparação dos resultados obtidos para a detecção de FIV pelo ELISA e pela Nested-PCR.....	38
Tabela 3-	Tabela de contingência mostrando a combinação dos resultados para FeLV e FIV	39
Tabela 4-	Prevalência de FeLV e FIV em diferentes regiões do mundo comparadas com as obtidas no presente trabalho.....	40
Tabela 5-	Algumas características dos gatos amostrados no presente trabalho.....	41
Tabela 6-	Caracterização dos animais positivos para FIV e FeLV quanto ao sexo, idade, raça, procedência e alterações clínicas.....	43
Tabela 7-	Média e desvio padrão dos valores hematológicos dos animais positivos e negativos para FIV pela Nested-PCR.....	46

LISTA DE ABREVIATURAS

- ARC - Complexo Relacionado a Aids (“Aids Related Complex”)
- AZT - 3'-azido'3-desoxitimidina ou zidovudina
- CA - Proteínas do Capsídeo
- CD4/CD8 - “Cluster Of Differentiation”; Marcadores de Superfície Celular de Linfócitos T
- DNA - Ácido Desoxirribonucléico
- env* - Gene que Codifica Proteína do Envelope
- FAIDS - Aids Felina
- FeLV - Vírus da Leucemia Viral Felina
- FIV – Vírus da Imunodeficiência Viral Felina
- FOCMA - Antígeno de Membrana Celular De Oncornavírus Felino
- gag* – gene que codifica as proteínas do capsídeo
- GP - Glicoproteína
- IFA - Imunofluorescência Indireta
- LTR - Sequências Longas Repetidas (“Long Terminal Repeats”)
- MA - Proteína da Matriz
- mRNA -RNA Mensageiro
- NC - Proteína do Nucleocapsídeo
- nm - Nanômetro
- p - Proteína
- PCR - Reação em Cadeia da Polimerase (“Polymerase Chain Reaction”)
- PMEA - (9-(2-fosfonilmetoxietil) adenina)
- pol* - gene que codifica a enzima transcriptase reversa
- RNA - Ácido Ribonucléico
- RNAse - Ribonuclease
- RS - Rio Grande do Sul
- RT - Transcriptase Reversa
- SU - Glicoproteína da Superfície
- TM - Glicoproteína Transmembrana
- UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1 Imunodeficiência Felina.....	15
2.1.1 Etiologia	15
2.1.2 Epidemiologia e Transmissão	17
2.1.3 Patogenia	19
2.1.4 Sinais Clínicos.....	20
2.1.5 Diagnóstico	22
2.1.6 Tratamento e Controle.....	23
2.2 Leucemia Viral Felina.....	25
2.2.1 Etiologia	25
2.2.2 Epidemiologia e Transmissão	27
2.2.3 Patogenia	29
2.2.4 Sinais Clínicos.....	30
2.2.5 Diagnóstico	31
2.2.6 Tratamento e Controle.....	32
3 MATERIAIS E MÉTODOS	34
3.1 Amostra.....	34
3.2 Hemograma.....	35
3.3 Detecção de anticorpos contra o FIV e antígenos do FeLV.....	35
3.4 Detecção do DNA proviral do FIV	35
3.4.1 Extração de DNA	35
3.4.2 Reação em Cadeia da Polimerase Aninhada (Nested-PCR)	36
3.5 Análise estatística.....	37
4 RESULTADOS.....	38
4.1 Diagnóstico de Infecções por FIV.....	38
4.2 Diagnóstico de Infecções por FeLV.....	39
4.3 Combinação dos Resultados para FeLV e FIV	39
4.4 Caracterização dos Animais Estudados	41

4.5 Alterações Clínicas Encontradas nos Animais Positivos para FIV e FeLV.....	42
4.6 Diagnóstico de FeLV/FIV em Relação ao Modo de Vida.....	44
4.7 Porcentagem dos Animais Positivos para FeLV e FIV de Acordo com a Raça ...	44
4.8 Valores Hematológicos dos Animais Positivos para FIV por Nested-PCR.....	45
5 DISCUSSÃO	47
CONCLUSÕES	50
REFERÊNCIAS	51
ANEXOS	57

1 INTRODUÇÃO

As doenças virais são as principais causas de morbidade e mortalidade em gatos domésticos (*Felis catus domesticus*). Com população estimada de 55 milhões de gatos nos Estados Unidos e mais de 100 milhões de gatos em todo mundo, doenças causadas por infecções virais em felinos desempenham papel importante na clínica de pequenos animais (ETTINGER & FELDMAN, 1995).

Existem várias doenças em felinos com origem viral: panleucopenia felina, peritonite infecciosa felina, raiva, complexo respiratório felino, leucemia viral felina e síndrome da imunodeficiência viral felina (MERCK, 2001).

O vírus da imunodeficiência viral felina (FIV) e o vírus da leucemia viral felina (FeLV) são os dois mais importantes agentes etiológicos de doenças virais em gatos, pois afetam o sistema imune, causando alta morbidade e mortalidade em seus hospedeiros. Estes vírus já foram descritos em muitos países do mundo (YILMAZ, ILGAZ & HARBOUR, 2002).

A imunodeficiência felina é causada por um lentivírus da família *Retroviridae* que pode estabelecer infecções persistentes em gatos domésticos. Vários estudos demonstraram que este vírus está disseminado mundialmente, apresentando prevalência variada, segundo as regiões geográficas e o estilo de vida dos felinos (MERCK, 2001).

Desde sua primeira descrição, em 1987, o FIV foi reconhecido como um modelo animal para estudo do vírus da imunodeficiência humana (HIV), resultante da infecção com o HIV do tipo 1 (HIV-1), já que o FIV causa, em gatos domésticos, uma enfermidade bastante similar àquela observada em pacientes com AIDS (BENDINELLI et al., 1995).

A prevalência maior de FIV ocorre em gatos machos, adultos com livre acesso à rua, os quais, frequentemente, apresentam comportamento agressivo. Outro retrovírus de grande importância para os felinos domésticos é o FeLV, que causa doenças neoplásicas e degenerativas e também apresenta distribuição mundial (YAMAMOTO et al., 1988).

O objetivo desta dissertação foi avaliar a prevalência das infecções pelo FeLV na grande Porto Alegre, através da técnica de detecção de anticorpos por ELISA e também avaliar a prevalência das infecções pelo FIV nesta mesma região por ELISA e Reação em Cadeia da Polimerase Aninhada (“Nested”-PCR).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Imunodeficiência Felina

2.1.1 Etiologia

O vírus da imunodeficiência felina (FIV) é um membro da subfamília *Lentivirinae* da família *Retroviridae*. Ele foi isolado pela primeira vez por Pedersen et al. (1987) a partir de felinos que apresentavam sintomatologia de imunodeficiência em um gatil, em Davis, na Califórnia, EUA. Primeiramente, foi denominado como lentivírus felino T- linfotrópico, por ter sido detectado em linfócitos do sangue periférico e apresentar tropismo por linfócitos T de felinos *in vitro*. Mas, logo após estudos clínicos terem confirmado uma associação entre a infecção pelo vírus e as alterações relacionadas ao estado de imunodepressão em gatos, surgiu a denominação “feline immunodeficiency virus” (FIV) (PEDERSEN et al., 1987; YAMAMOTO et al., 1988). A infecção de gatos domésticos pelo FIV é um dos melhores modelos para o estudo da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) que causa a síndrome de imunodeficiência adquirida (AIDS) (BENDINELLI et al., 1995).

Estudos ultraestruturais têm revelado partículas maduras extracelulares, elipsóides, que variam de 120 a 150 nm e apresentam nucleocapsídeo na forma de cone (PEDERSEN et al., 1987; DUARTE et al., 1998). O genoma viral apresenta-se na forma de RNA de fita simples, de polaridade positiva, sendo composto por duas moléculas de RNA idênticas, não complementares (VOYLES, 1993). Os principais componentes internos do vírion são a proteína da matriz (MA), a proteína do capsídeo (CA) e a proteína do nucleocapsídeo (NC), que contêm motivos característicos de proteínas de retrovírus que se ligam a ácidos nucleicos, como o RNA genômico, para formar ribonucleoproteínas (EGBERINK et al., 1990).

Cada partícula viral é envolta por um envelope com glicoproteínas “Env” de superfície (SU) e transmembrana (TM). Essas glicoproteínas são componentes virais importantes porque permitem a interação do vírus com o receptor da célula do hospedeiro, exercem atividade de fusão à membrana e também são alvos primários para os anticorpos e outros mecanismos da resposta imune (BENDINELLI et al., 1995).

O genoma proviral do FIV possui duas extremidades longas repetidas (Long Terminal Repeat – LTR) com função reguladora da replicação viral e três genes estruturais: *gag*, *pol* e *env*, que codificam para as proteínas do capsídeo, matriz e nucleocapsídeo (*gag*), polimerase (*pol*) e para as glicoproteínas do envelope (*env*) (MURPHY et al., 1999).

A replicação do FIV começa a partir da interação específica dos componentes mais externos da glicoproteína do envelope da partícula viral, com um receptor de superfície celular específico de linfócitos T e macrófagos (CULLEN, 1992; CADORÉ et al., 1997; WILLET et al., 1997). Após a ligação ao receptor, o vírion penetra na célula por um processo de adsorção à membrana. Depois, ocorre o desnudamento (perda do revestimento), que resulta em perda completa ou parcial das proteínas do envelope, formando um complexo nucleoprotéico viral que é capaz de iniciar o processo de transcrição reversa. A transcrição reversa é iniciada por uma molécula de tRNA no citoplasma da célula hospedeira. Esse processo é executado pelas enzimas transcriptase reversa e RNase do vírion. O resultado final desse processo é a conversão de um genoma de RNA de fita simples em uma fita dupla linear de DNA proviral intermediária. A próxima etapa é a passagem para o núcleo da célula hospedeira. Quando está no núcleo, ocorre a integração do DNA proviral intermediário ao genoma da célula hospedeira (CULLEN, 1992).

A transcrição reversa e a inserção do DNA proviral nos cromossomos do hospedeiro são características diferenciais dos vírus da família *Retroviridae*. No seu estado integrado, o provírus é expresso pelo sistema enzimático da célula através da produção de RNAs mensageiros, sendo que a expressão gênica passa a ser regulada pelas LTR que contêm sítios promotores e seqüências ativadoras, onde fixam-se os fatores de regulação celular (VOYLES, 1993). Os mRNA transcritos pela RNA polimerase II, são processados, transportados para o citoplasma e traduzidos para formar as proteínas virais. A partir deste momento, ocorre o fenômeno de maturação viral que envolve alterações morfológicas no vírion, importantes para sua infectividade, sendo que, após sua formação e liberação por brotamento, este está apto para interagir com um receptor de superfície celular e iniciar o próximo ciclo de replicação viral (CULLEN, 1992). A Figura 1 mostra a representação esquemática da replicação de um retrovírus. O vírus é bastante frágil nas condições ambientais, podendo ser inativado por detergentes e desinfetantes, e não representa risco epidemiológico (MERCK, 2001).

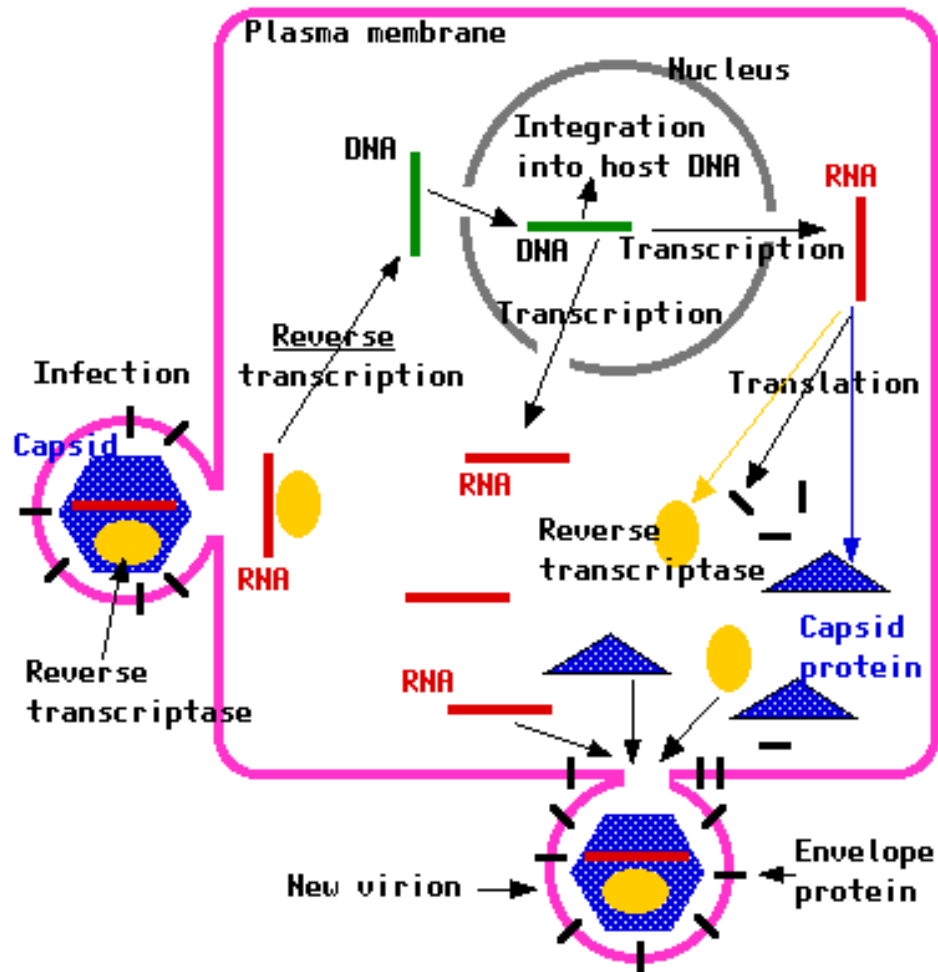


Figura 1: Representação esquemática da replicação de um retrovírus. Fonte: (KIMBALL, 2006).

2.1.2 Epidemiologia e Transmissão

O vírus é eliminado na saliva e transmitido, principalmente, através de inoculação por ferimento de mordedura durante as brigas (BIRCHARD & SHERDING, 1998). Os felinos machos com mais de seis anos de idade e de rua são mais comumente infectados (NELSON & COUTO, 2001). Estes também têm probabilidade três vezes maior de estar infectados pelo FIV do que as fêmeas (ETTINGER & FELDMAN, 1995). As gatas infectadas durante a gestação podem transmitir o vírus *in utero* ou posteriormente, por meio do colostro ou da saliva, embora isso não seja frequente (GRACE, 2004). Também pode ocorrer a transmissão do vírus através de transfusão de sangue contaminado (BIRCHARD & SHERDING, 1998). O FIV também pode ser

isolado do sêmen de animais infectados e, no ambiente laboratorial, os sobrenadantes da cultura celular e do sêmen podem ser utilizados para transmitir o FIV.

O significado da transmissão venérea no quadro natural é desconhecido, mas quando inoculado experimentalmente, ele atravessa a mucosa retal (AVERY, 2004). As infecções pela via vaginal, retal, *in utero* e transmamária foram demonstradas experimentalmente. É provável que a infecção seja influenciada pelo comportamento, idade e estado de saúde (RICHARDS, 2005).

Estudos soropidemiológicos demonstraram que o FIV está disseminado na maioria dos países do mundo e que a prevalência da infecção varia de acordo com a localização geográfica (NELSON & COUTO, 2001).

A prevalência da infecção pelo FIV nos Estados Unidos foi estimada como sendo de 1,5 a 3% na população felina sadia e de 9 a 15% nos gatos que apresentavam sintomatologia clínica (YAMAMOTO, 1989). Na França, onde foram testados 9.951 gatos para FIV, pela técnica de detecção anticorpos por ELISA, a prevalência desta doença foi de 15,4% (BRALEY, 1994).

Na Ásia, estudos realizados em Istambul, Turquia, em 103 gatos, encontraram prevalência de 22,3% para FIV (YILMAZ, ILGAZ & HARBOUR, 2000). Uma pesquisa realizada em Sydney (Austrália), com 200 gatos saudáveis, revelou a prevalência de FIV em 7,5% (MALIK et al., 1997). Em Madri, a prevalência de FIV foi de 8,3% em 180 gatos saudáveis (ARJONA, 2000). Na cidade de Pisa (Itália), foi realizado um estudo em 203 gatos aparentemente saudáveis e foi encontrada uma prevalência de 11,3% (BANDECCHI et al., 2006). Na Tunísia (África), constatou-se prevalência de 20,5% para FIV. Os gatos machos castrados, com mais de cinco anos de idade e mantidos confinados, foram os mais acometidos pela doença (FRINI et al., 1998), o que está em desacordo com os demais trabalhos publicados. Já no Japão, foram encontrados 6,3 % de prevalência para FIV (MARUYAMA et al., 2003).

No Brasil, estudos clínicos realizados com 401 felinos atendidos na Faculdade de Medicina Veterinária de São Paulo, revelaram 11,7% positivos para FIV, sendo que a prevalência foi significativamente maior em gatos machos (RECHE & HAGIWARA, 1993).

Outro estudo sorológico conduzido no Brasil testou 126 felinos domésticos no Rio de Janeiro e obteve uma prevalência de 16,66% para FIV (SOUZA, TEIXEIRA & GRAÇA, 2002). Em 2004, no Zoológico do Rio de Janeiro, foi realizado um levantamento epidemiológico de 47 gatos que viviam soltos neste local e obteve-se uma prevalência de 21% (ALMEIDA et al., 2004). Na Região Sul, foram realizadas pesquisas para detecção do provírus da imunodeficiência felina, através de PCR em 40 amostras, obtendo-se 37% de prevalência (CALDAS et al., 2000).

2.1.3 Patogenia

A infecção por FIV é acompanhada por uma disfunção do sistema imune. Este vírus apresenta um tropismo celular pelos linfócitos felinos T CD4+ (auxiliares), tanto quanto pelos linfócitos CD8+ (citotóxicos). A sua capacidade de infectar tanto CD4+ quanto CD8+ *in vivo*, parece diminuir progressiva e seletivamente a população dos linfócitos felinos CD4+ (ETTINGER & FELDMAN, 1995). O FIV replica-se nos linfócitos T (CD4+ e CD8+), nos linfócitos B, nos macrófagos e nos astrócitos. Nota-se, após a infecção, uma diminuição lenta, porém progressiva dos linfócitos T CD4+, levando a uma diminuição da razão CD4/CD8, aumento da produção de interleucina 6 (IL-6) pelos macrófagos, ocorrendo também hipergamaglobulinemia, devido ao aumento policlonal das células B (THOMAS & ROBINSON, 1995). A disseminação viral é efetuada pela infecção dos linfócitos T, sendo observadas lesões histopatológicas hiperplásicas disseminadas dos linfonodos, dos tecidos linfóides associados às mucosas, do timo e da medula óssea. Estas lesões tendem a progredir ao longo da fase aguda da infecção (BEEBE et al., 1994). A fase primária da infecção ocorre assim que o vírus se dissemina por todo o corpo, inicialmente causando febre de baixo grau, neutropenia e linfadenopatia reativa generalizada (NELSON & COUTO, 2001).

Na fase aguda, o vírus é detectado principalmente nos leucócitos (principalmente linfócitos T) e nos órgãos linfóides, embora também seja detectável nos pulmões, fígado, rins e plexo coróide. No auge da fase aguda, o número de células da linhagem monócitos/macrófagos aumenta drasticamente, com diminuição progressiva do número de linfócitos T infectados. Isto se deve, provavelmente, à morte rápida desses últimos, levando à seleção de variantes virais que infectam preferencialmente monócitos/macrófagos e replicam nessas células. Na fase final da doença, a grande

maioria das células positivas ao FIV pertence à linhagem monócitos/macrófagos. Esta mudança de tropismo pode ser importante para o estabelecimento da persistência da infecção viral já que os monócitos/macrófagos parecem não ser tão suscetíveis à lise celular induzida pelo vírus (BEEBE et al., 1994).

Na fase de latência, a duração é variável e está relacionada em parte à cepa do vírus e a idade em que o gato é infectado. O período de latência é em média de sete anos, para a maioria das cepas de FIV (NELSON & COUTO, 2001). Neste período, os níveis de vírus circulantes ficam baixos, devido à resposta imune do hospedeiro (GREENE, 1998). A infecção crônica de ocorrência experimental e natural resulta em declínio lento no número de linfócitos CD4+. As respostas imunes humorais, a função dos neutrófilos e a função das células destruidoras naturais também são alteradas (NELSON & COUTO, 2001). No estágio terminal da doença, a imunodepressão é evidente, com manifestações clínicas decorrentes das infecções oportunistas, como infecções crônicas da cavidade oral e do trato respiratório (YAMAMOTO et al., 1988).

2.1.4 Sinais Clínicos

A síndrome da imunodeficiência adquirida dos felinos pode ser caracterizada em cinco estágios, com base nos sinais clínicos, que podem ser visualizados na Tabela 1.

Tabela 1: Estágios da infecção pelo FIV com suas manifestações clínicas e tempo de duração aproximado.

ESTÁGIO	MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS	DURAÇÃO
1. Fase aguda	Nenhuma ou passageira, com sintomatologia inespecífica caracterizada por febre, linfadenopatia, depressão, diarreia e aparecimento de infecções do trato respiratório superior.	Semanas ou meses
2. Fase de portador assintomático	Nenhuma	Anos
3. Linfadenopatia generalizada	Aumento generalizado dos linfonodos, sinais inespecíficos de enfermidade incluindo febre, anorexia, perda de peso ou alterações comportamentais não-específicas	Meses
4. ARC (“AIDS related complex”)	Linfadenopatia, infecções crônicas secundárias (infecção da cavidade oral e trato respiratório superior) e perda de peso	Meses a anos
5. FAIDS (AIDS Felina)	Infecções crônicas oportunistas e secundárias severas, tumores e emaciação	Meses

Fonte: Adaptado de ISHIDA & TOMODA (1990).

Em inoculações experimentais do FIV, verificou-se que a fase aguda inicia quatro a seis semanas após a infecção (SPARGER, 1993). Alguns gatos apresentam linfadenopatia generalizada, neutropenia, febre transitória e anemia na fase aguda (BIRCHARD & SHERDING, 1998). Nos estágios mais avançados, os sinais refletem infecções oportunistas, neoplasia ou síndrome de definhamento generalizado. Os sinais terminais são: perda de peso, diarreia persistente, gengivite ou estomatite, doença respiratória crônica, linfadenopatia e doença cutânea crônica. Doença bucal ou dentária profunda é um achado comum nos estágios finais da infecção por FIV; em alguns gatos a mucosa está ulcerada e necrosada (GRACE, 2004). Três tipos de afecções oftálmicas,

comuns em gatos positivos para FIV são a uveíte anterior, inflamação do orbículo ciliar e glaucoma (ETTINGER & FELDMAN, 1995).

2.1.5 Diagnóstico

No diagnóstico laboratorial, mais de 75% dos casos apresentam neutropenia absoluta de seis a nove semanas pós-infecção e que pode durar de duas a oito semanas. Também podem apresentar leucopenia com neutropenia, linfopenia e anemia regenerativa (GREENE, 1998). No perfil bioquímico, é comum a ocorrência de hipergamaglobulinemia e, quando ocorre envolvimento renal, é possível observar azotemia (GRACE, 2004).

A detecção do vírus no plasma ou linfócitos de sangue periférico de animais infectados através do isolamento em cultura de células é possível ao longo de todo período da infecção, mas impraticável como diagnóstico de rotina (PEDERSEN & BARLOUGH, 1991).

A detecção do DNA proviral do FIV em tecidos, como linfonodo cervical, baço, medula óssea e leucócitos, pode ser feita pela PCR (BIENZLE et al., 2004) que é considerada altamente sensível e específica. A detecção de anticorpos no sangue é a maneira mais fácil de diagnosticar infecções pelo FIV, podendo ser utilizados os testes de ELISA, “Western Blot” e Imunofluorescência Indireta (IFA). O teste de ELISA é freqüentemente utilizado na triagem inicial, seguindo-se o “Western Blot” para confirmação (DONOVAN, 1999). A maioria dos testes disponíveis para diagnosticar o FIV detecta anticorpos específicos no soro, plasma ou sangue total. O teste de ELISA que identifica anticorpos anti-FIV é o único teste comercial disponível nos laboratórios das Américas do Norte e do Sul. Os testes estão dispostos em formato de “kit” para uso (SNAP COMBO FeLV/FIV-IDEXX). Apesar de sua ampla difusão e aplicação mundial, a utilização do “kit” no Brasil ainda depende da importação a custos altamente restritivos. Este fator representa um dos maiores obstáculos para o estabelecimento de diagnóstico de rotina e as pesquisas sobre FIV no Brasil.

Gatos no estágio terminal da infecção podem apresentar títulos baixos de anticorpos ou até serem negativos. Anticorpos maternos podem fazer com que os filhotes apresentem um teste positivo de ELISA até quatro meses após o nascimento, por esta razão, os filhotes ELISA-positivos devem ser reavaliados após os seis meses de idade por PCR ou ELISA (GRACE, 2004).

2.1.6 Tratamento e Controle

O tratamento de suporte é indicado nos gatos infectados pelo FIV para conter as infecções secundárias e oportunistas, bem como a desidratação, anemia e desnutrição. Geralmente, os gatos enfermos recebem drogas antimicrobianas, fluidoterapia, transfusões sanguíneas e dietas de elevada densidade calórica (PEDERSEN & BARLOUGH, 1991).

As pesquisas para o tratamento do FIV abrangem inibidores da transcriptase reversa. O AZT (3'-azido-3-desoxitimidina ou zidovudina) é um agente antiviral altamente ativo *in vitro* contra retrovírus. O trifosfato de zidovudina age como inibidor da transcriptase reversa e como substrato para a mesma (HARTMANN, DONATH & KRAFT, 1995). O AZT inibe a replicação viral *in vitro* e *in vivo* dos gatos infectados pelo FIV. Estudos clínicos revelam que a terapia com AZT melhora o estado geral e imunológico dos gatos infectados (GREGORY, BARLOUGH & CLARK, 1997), aumenta as proporções de CD4/CD8 e melhora os quadros de estomatite em gatos positivos para FIV (AVERY, 2004). Os parâmetros hematológicos dos felinos devem ser cuidadosamente monitorados em função da anemia e depressão da medula óssea que pode ocorrer com o uso prolongado do AZT (HARTMANN, 1998). O PMEA (9-(2-fosfonilmetoxietil) adenina) é, também, um inibidor da transcriptase reversa do FIV. Estudos revelam que o PMEA é mais potente do que o AZT, porém mais tóxico (HARTMANN, 1998). Também pode ser utilizado o interferon- α oral em baixas doses como um imunoestimulante que pode ser benéfico para muitos gatos infectados por FIV (GRACE, 2004).

A vacinação dos gatos seria o método ideal para prevenção e controle da infecção pelo FIV. No entanto, vários tipos de vacinas experimentais estão sendo testados, mas produzindo resultados variados quando os gatos são desafiados (WILLET,

FLYNN & HOSIE, 1997). Esta imunização induz a produção de anticorpos circulantes detectáveis pelos métodos convencionais para o diagnóstico do FIV. Isto sugere que, utilizando estas vacinas experimentais, haveria dificuldade em diferenciar gatos infectados pelo FIV dos animais vacinados (HARTMANN, 1998). Outro fator importante é a capacidade dos lentivírus de sofrer mutações, tornando mais difícil a elaboração de vacinas apropriadas (WILLET, FLYNN & HOSIE, 1997). Nenhuma vacina comercial está disponível. O controle está na prevenção da exposição separando-se gatos infectados de não-infectados em casas com vários gatos, evitando gatos errantes, utilizando gatos soronegativos para reprodução e pela triagem dos gatos antes da introdução em populações soronegativas (QUINN et al., 2005).

2.2 Leucemia Viral Felina

2.2.1 Etiologia

O vírus da leucemia viral felina (FeLV) foi o primeiro retrovírus descoberto nos gatos domésticos por William Jarret, na Escócia, no ano de 1964 (JARRET, 1999). É um vírus RNA, fita simples, da família *Retroviridae*, subfamília *Oncovirinae* (NELSON & COUTO, 2001). Acredita-se que se originou há mais de um milhão de anos, quando, de algum modo, um retrovírus endógeno de rato infectou um ancestral do gato doméstico, tornando-se um vírus exógeno do gato (COTTER, 1998).

O vírion do FeLV tem um envelope lipoprotéico, apresentando espículas curtas e um núcleo arredondado. A partícula viral apresenta 80 a 100 nm de diâmetro (ETTINGER & FELDMAN, 1995).

O genoma do FeLV contém três genes separados que codificam diferentes proteínas necessárias para a geração de novos vírions. O primeiro gene é chamado de *gag* (“group specific antigen”) e codifica proteínas para a formação do capsídeo; o segundo gene é chamado *pol* (polimerase) e codifica a transcriptase reversa e outras proteínas necessárias para o genoma do FeLV ser integrado ao genoma do gato hospedeiro; o terceiro gene é chamado de *env* e codifica as proteínas necessárias para a formação do envelope (SOUZA & TEIXEIRA, 2003).

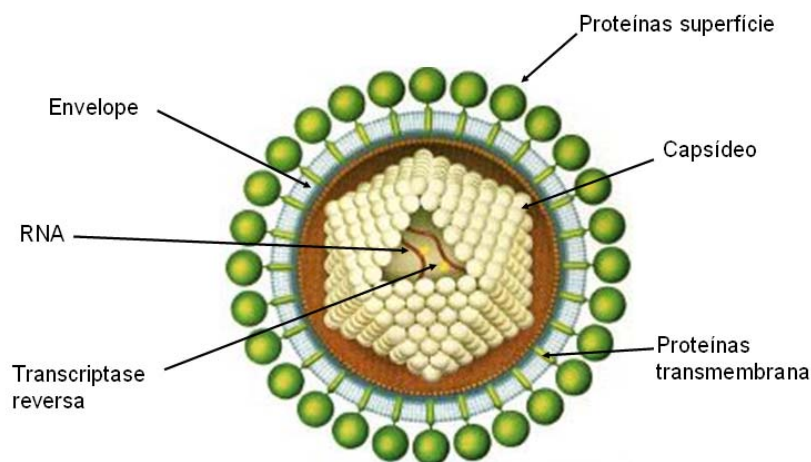


Figura 2: Esquema representativo da partícula viral de um retrovírus. Fonte: (LEVINE, 2005).

Há três subgrupos principais do FeLV. Os vírus do subgrupo A ocorrem em gatos virêmicos e podem provocar malignidade sozinho (ARJONA et al., 2006), embora sejam sinergicamente potencializados pelo subgrupo B, presente em 100% dos gatos virêmicos. O subgrupo B pode provocar viremia crônica, ocorre juntamente com o A em 50% dos gatos com neoplasias, já que sozinho ele não é patogênico. O subgrupo C é raramente isolado, possivelmente originou-se de outro grupo com replicação defectiva (COTTER, 1998). Os vírus dos três subgrupos são detectados, mas não podem ser distinguidos, através dos “kits” de diagnóstico sorológico (ARJONA et al., 2006).

As proteínas do núcleo viral (p10, p12, p15, p27 e RT) são imunogênicas, porém os anticorpos gerados não são eficazes para a neutralização do vírus (COTTER, 1998). A principal proteína antigênica do FeLV é a p27, a qual é detectada pelos testes comercializados para FeLV (SOUZA & TEIXEIRA, 2003). A principal proteína do envelope é a gp70 que varia de acordo com o subgrupo viral. Os anticorpos anti-gp70 são tipo-específicos, neutralizantes, propiciam a imunidade a reinfeção por vírus do mesmo subgrupo e são os mais importantes para imunização natural e vacinal (ETTINGER & FELDMAN, 1995). Um antígeno, denominado “antígeno de membrana

celular de oncornavírus felino” (FOCMA) está presente na membrana das células neoplásicas, mas ausente das outras células infectadas. É uma parte da gp70 expressa na membrana da célula neoplásica e gatos com altos títulos de anticorpos contra FOCMA são resistentes ao desenvolvimento de leucemia ou linfoma, sejam soropositivos ou não para doença (ETTINGER & FELDMAN, 1995). Com auxílio do complemento, os anticorpos anti-FOCMA lisam células tumorais e impedem o desenvolvimento da neoplasia. Os títulos de anti-FOCMA podem declinar com o passar do tempo, caso não haja estimulação contínua (COTTER, 1998).

O FeLV replica-se primeiro na orofaringe e, em seguida, se dissemina pelo corpo para a medula óssea, especialmente em linfócitos T, glândula salivar e epitélio respiratório. O vírus não é citopático e sai da célula por brotamento (COTTER, 1998). O restante da replicação é semelhante à replicação do FIV, que pode ser vista em maiores detalhes na Figura 1.

2.2.2 Epidemiologia e Transmissão

Estudos epidemiológicos demonstram que o vírus encontra-se disseminado no mundo, sendo importante causa de mortalidade. Sua prevalência varia de acordo com a localização geográfica e com o estilo de vida da população felina (COELHO, 2003). A incidência da infecção pelo FeLV se relaciona diretamente com a densidade populacional de gatos. As taxas de infecção são mais altas nos gatis e ambientes domésticos com muitos gatos, especialmente quando eles têm acesso ao ambiente externo (ARJONA et al., 2006).

A prevalência do FeLV determinada através de ELISA, no Reino Unido, foi de 14% (HOSIE, ROBERTSON & JARRETT, 1989). Em um estudo realizado na Europa e nos Estados Unidos, observou-se a maior prevalência deste vírus na França (19%). Nos Estados Unidos 14,81% dos gatos testados foram positivos para o FeLV (BRALEY, 1994). Na Ásia, estudos realizados em Istambul, Turquia, encontraram prevalência de 5,8% (YILMAZ, ILGAZ & HARBOUR, 2000). Uma pesquisa realizada em Sydney (Austrália), com 200 gatos saudáveis, revelou a prevalência para FeLV em 2% dos gatos (MALIK et al., 1997). Na Espanha, num estudo realizado em Madrid, com gatos saudáveis, foi verificada uma prevalência de 15,6% para FeLV (ARJONA, 2000). Na

cidade de Pisa (Itália), foi realizado um estudo em 203 gatos aparentemente saudáveis e foi encontrada uma prevalência para FeLV de 8,4%, sendo observada uma prevalência maior nos gatos machos e com acesso a rua (BANDECCHI et al., 2006). Já no Japão, foi encontrado 9,8% de prevalência para FeLV (MARUYAMA et al., 2003).

A relação macho/fêmea de gatos positivos para antígenos do FeLV é de 1,7:1. A prevalência da infecção pelo FeLV é mais elevada em gatos entre um a seis anos de idade, com média de cerca de três anos (ETTINGER & FELDMAN, 1995).

No Brasil, um estudo clínico realizado com 298 gatos atendidos no Hospital Veterinário de São Paulo revelou 12,5% de positivos para FeLV através do teste imunoenzimático (HAGIWARA, RECHE & LUCAS, 1997). Um estudo anterior no mesmo local com 401 felinos revelou 8% de prevalência para FeLV e, destes, 94% estavam doentes (RECHE & HAGIWARA, 1993). Em Minas Gerais (Uberlândia), foi realizado um estudo com 70 amostras de soros de gatos atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Minas Gerais e 55 amostras coletadas no Centro de Zoonoses e 15 amostras da Sociedade Protetora dos Animais, no Município de Ribeirão das Neves, na região metropolitana de Belo Horizonte. Encontrou-se uma taxa de 12,59% de positivos para FeLV. Das amostras estudadas originadas do Centro de Zoonoses, 20% foram positivas contra 5,71% das coletadas no Hospital Veterinário (BARBOSA, CHRISTIANINE & WALDEMARIN, 2001). Outro estudo sorológico conduzido no Brasil testou 126 felinos domésticos no Rio de Janeiro e obteve uma prevalência de 17,46% para FeLV (SOUZA, TEIXEIRA & GRAÇA, 2002). Um estudo realizado pelo Laboratório de Virologia da Faculdade de Veterinária da UFRGS, entre 1992 e 2000, demonstrou que de 740 amostras de sangue testadas para antígeno do FeLV pelo teste de IFA, 29% foram positivas para FeLV (SOUZA & TEIXEIRA, 2003).

O FeLV, geralmente, é transmitido por contato oronasal e a transmissão horizontal é a mais importante, já que gatos virêmicos liberam vírus constantemente, apresentando sinais clínicos ou não (ROJKO & HARDY, 1994). A transmissão primária é pela saliva, onde há maior concentração de vírus do que no plasma (COTTER, 1998). Também existe grande número de vírus presente nas secreções respiratórias (ARJONA, 2000). Há possibilidade de transmissão por mosquitos, pois já foi encontrado o vírus no aparelho bucal deste inseto (ROJKO & HARDY, 1994). Já a urina, fezes e pulgas são

vias menos prováveis de propagação do FeLV (COTTER, 1998). Transmissão iatrogênica pode ocorrer por agulhas contaminadas, instrumentos, fômites e transfusão de sangue (COTTER, 1998). Os gatos saudáveis persistentemente infectados constituem o principal reservatório do FeLV. As mordeduras podem ser um modo de transmissão mais importante nos gatos (MERCK, 2006). Os gatos jovens são mais suscetíveis do que os adultos e sete de 10 filhotes com três meses de idade colocados em ambientes com FeLV ficaram virêmicos dentro de cinco meses. Apenas três de 17 adultos adquiriram o vírus no mesmo ambiente descrito acima, após um convívio de sete anos com os demais gatos portadores de FeLV (CATTORI et al., 2006).

A maioria dos gatos adquirem o vírus, enquanto filhotes, da mãe, por isso verifica-se a ocorrência de gatos virêmicos mesmo tendo passado toda vida sozinhos em apartamentos. Embora os filhotes sejam mais suscetíveis, gatos adultos podem tornar-se virêmicos após exposição prolongada a gatos soropositivos, ou após imunossupressão induzida por estresse. Gatas lactantes transmitem o vírus pelo leite, sendo que a infecção intra-uterina é rara (COTTER, 1998).

O FeLV, assim como os demais retrovírus, é extremamente frágil no ambiente, sendo destruído em um período de duas a quatro horas, quando fora do hospedeiro em condições ambientais normais. O envelope viral lipídico é bastante solúvel e sensível a desinfetantes, detergentes, calor e ressecamento, não representando um problema de infecção hospitalar quando a desinfecção ambiental é adequada (WHITNEY, 2003).

2.2.3 Patogenia

Após a infecção oronasal, ocorre replicação viral nas tonsilas e linfonodos da faringe; caso a exposição tenha ocorrido através de inoculação em ferimentos por mordedura, a replicação viral irá ocorrer nos linfonodos do local (HIRSH & ZEE, 1999). Seguindo esta primeira etapa, ocorre a infecção de pequenas quantidades de leucócitos circulantes, principalmente linfócitos B e macrófagos, servindo para a disseminação sistêmica de vírus que se replicará no baço, tecidos linfóides associados ao intestino, linfonodos, células epiteliais das criptas intestinais e células precursoras da medula óssea. A partir desse processo, ocorre a liberação de plaquetas e neutrófilos infectados da medula óssea para a circulação, ocorrendo, assim, a infecção de diversos

tecidos glandulares e epiteliais, inclusive glândulas salivares e bexiga (TORRES, MATHIASON & HOOVER, 2005).

Quando o vírus se integra ao DNA do hospedeiro, este ficará infectado por toda a vida. Entretanto, o vírus pode permanecer em estado latente por muitos anos sem produzir enfermidade, tornando-se ativo inesperadamente; ou ainda, pode ocorrer uma replicação defeituosa do FeLV no genoma do hospedeiro, não causando enfermidade, mas, ainda assim, sendo transmitido através do material genético para as próximas gerações (WHITNEY, 2003).

A linfopenia nos gatos infectados pelo FeLV deve-se a uma diminuição de linfócitos T CD4+. Os linfócitos T CD8+ também diminuem quantitativamente no início da doença mantendo, desta forma, a proporção CD4/CD8 dentro dos limites normais (variando entre 0,4 e 3,5 com valor médio de 1,9). O número de células T CD8+ eventualmente é recuperado, ocorrendo uma diminuição na proporção CD4/CD8 (TIZARD, 2002).

2.2.4 Sinais Clínicos

A presença do FeLV está associada a uma variedade de doenças proliferativas e degenerativas, como leucemia, linfomas e mielodisplasias (COELHO, 2003). O FeLV está associado às doenças neoplásicas ou não-neoplásicas (LAPPIN, 1998).

Os sinais clínicos de gatos positivos para o FeLV variam enormemente, dependendo do tipo de doença e dos órgãos envolvidos (NORSWORTHY, 1998). De um modo geral, os gatos apresentam mucosas pálidas, dispnéia, letargia, anorexia, emagrecimento progressivo, febre, gengivite, estomatite, uveíte, diarreia e abscessos que não cicatrizam (BARR, 1998). Na palpação, podem ser observadas massas no interior do abdômen e aumento do tamanho dos órgãos como baço, fígado e rins (TORRES, MATHIASON & HOOVER, 2005).

As neoplasias mais comuns associadas ao FeLV são o linfoma ou linfossarcoma, o fibrossarcoma e as doenças mieloproliferativas (MEHL, 2001). O linfoma é a doença neoplásica mais comum em gatos infectados pelo FeLV, podendo atingir qualquer célula da linhagem mielóide, eritróide, linfóide ou plaquetária (HAGIWARA, RECHE

& LUCAS, 1997). Geralmente, os gatos com linfoma mediastínico apresentam dispnéia, tosse, regurgitação e cianose (NORSWORTHY, 1998). O linfoma multicêntrico é caracterizado pelo desenvolvimento de lesões neoplásicas em linfonodos e órgãos como fígado, baço e rins. O linfoma renal geralmente é bilateral e só causa sinais, quando os tumores estão muito desenvolvidos (CATTORI et al., 2006).

A imunodepressão é a mais freqüente e devastadora manifestação da viremia pelo FeLV (HAGIWARA, RECHE & LUCAS, 1997). Muito semelhante à causada pelo vírus da imunodeficiência felina, propicia o aumento na suscetibilidade a infecções bacterianas, fúngicas, protozoarianas e outras infecções virais (MERCK, 2006). Diminuindo a população de linfócitos T auxiliares, diminui a resposta imunológica primária e secundária para a produção de anticorpos (COTTER, 1998).

Problemas reprodutivos são comuns em gatos infectados pelo FeLV, pode ocorrer infertilidade, reabsorção e aborto, geralmente no final da gestação. Os filhotes podem ser infectados *in utero*, porém a via de infecção mais importante é através do aleitamento e no momento do nascimento (TORRES, MATHIASON & HOOVER, 2005).. Alguns filhotes ficam imunes e não se infectam, mas a maioria torna-se virêmica e morre cedo, com a “síndrome do gatinho apagado” que apresenta falha de mamar, desidratação, hipotermia, atrofia tímica e morte dentro das duas primeiras semanas de vida (COTTER, 1998).

2.2.5 Diagnóstico

A maioria dos testes de diagnóstico de rotina utiliza anticorpos contra a proteína mais importante do núcleo do FeLV, a p27. As técnicas mais aplicadas para a detecção da proteína viral são a IFA e o ELISA (BARR, 1998).

Os fatores que fazem um teste desejável são o custo, facilidade de execução, tempo de realização e acurácia. O teste de ELISA apresenta alta sensibilidade, especificidade e praticidade (COUTO, 1994). O teste de ELISA comercialmente empregado é denominado SNAP COMBO FeLV/FIV (IDEXX, USA) que consiste de uma membrana que contém anticorpos anti-FeLV p27 e antígeno do FIV p24. Ele pode ser realizado com sangue total, plasma ou soro (HARTMANN, WERNER & EGBERINK, 2001).

Na maioria das vezes, o diagnóstico da infecção baseia-se no histórico clínico e na detecção dos antígenos, principalmente a proteína do núcleo do FeLV (p27) nos leucócitos, plasma, soro ou saliva dos animais suspeitos (BARR, 1998). O IFA tem a capacidade de detectar antígenos estruturais, como a p27, que estão presentes nos leucócitos infectados, o que só ocorre após a viremia (HERRING et al., 2001). Em muitos gatos, o antígeno p27 pode ser detectado pelo teste IFA aproximadamente quatro semanas após a infecção, mas alguns gatos podem necessitar de até 12 semanas para serem positivos (ETTINGER & FELDMAN, 1995).

O ELISA pode identificar pequenas concentrações da proteína p27 no soro, plasma e saliva, porém, o soro é a amostra mais aconselhável de ser utilizada, pois resulta em poucos resultados falsos positivos e negativos (JARRETT, 1999). Felinos que apresentam resultados positivos para o ELISA deverão estar sob infecção transitória ou estão persistentemente infectados. Trinta por cento destes gatos podem converter para um estado negativo, devido à infecção transitória ou ao desenvolvimento de uma infecção latente. Gatos positivos no ELISA, principalmente animais sem sintomatologia clínica do FeLV, deverão ser novamente testados para o FeLV pela IFA e ou pelo ELISA após quatro a oito semanas, para determinar se a viremia é transitória ou persistente (MEHL, 2001). O teste de ELISA é o teste de eleição para a triagem de gatos positivos para FeLV, pois é rápido e sensível, devendo ocorrer confirmação por IFA para identificar gatos persistentemente virêmicos. Gatos com resultados de testes discordantes devem ser re-testados em um período de 12 semanas (BARR, 1998). O teste de IFA é normalmente realizado em laboratório, visando à detecção do antígeno p27 intracelular. Existem também protocolos de PCR descritos, os quais têm sido utilizados em pesquisa, embora ofereçam a vantagem de detectar atividade viral em estágios iniciais da doença e no estágio de latência (HERRING et al. 2001; WHITNEY, 2003).

2.2.6 Tratamento e Controle

É indicado fazer tratamento de suporte nos gatos infectados pelo FeLV para conter as infecções secundárias e oportunistas, bem como a desidratação, anemia e desnutrição (PEDERSEN & BARLOUGH, 1991). Diversos agentes antivirais são

propostos para o tratamento do FeLV, em geral, de pouco benefício (MERCK, 2006). As drogas indicadas são as mesmas para o tratamento do FIV, já explicado anteriormente. No caso de linfoma, o tratamento mais indicado é ciclofosfamida, vincristina e prednisona (TORRES, MATHIASON & HOOVER, 2005). É indicado também, o uso do interferon alfa, embora ele seja uma proteína e, como tal, destruído pelos ácidos gástricos, embora o uso via oral tenha demonstrado resultados satisfatórios na modulação da resposta imune de gatos FeLV positivos. É proposto que o interferon alfa aja sobre o tecido linfóide na orofaringe, ativando uma cascata imunológica com efeitos sistêmicos vantajosos (SOUZA & TEIXEIRA, 2003).

O método ideal de controle do FeLV consiste em evitar o contato entre gatos infectados e não infectados (BARR, 1998). Em gatis, deve-se eliminar todos os animais virêmicos. O teste deve ser repetido a cada três meses, até todos serem negativos (GREENE, 1998).

A vacinação é indicada para animais soronegativos e com alto risco de exposição, gatos de rua, os domiciliares com acesso à rua e os que vivem em casa com vários gatos (MEHL, 2001). As vacinas disponíveis no mercado são inativadas, porém os laboratórios utilizam tecnologias de produção, adjuvantes e cepas vacinais diferentes. A maioria é produzida com vírus completo, mas também existem as vacinas de vírus vivo recombinante (LOAR, 1993).

O objetivo desta dissertação foi avaliar a prevalência das infecções pelo vírus da leucemia viral felina na grande Porto Alegre, pela técnica de detecção anticorpos por ELISA e também avaliar a prevalência das infecções pelo vírus da imunodeficiência felina na mesma região por ELISA e Nested-PCR.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Amostra

O tamanho da amostra para determinar o número de animais experimentais, seguiu o modelo proposto por THRUSFIELD (2004), que utiliza a seguinte equação:

$$N = \frac{1,96^2 P_{\text{esp}} (1 - P_{\text{esp}})}{d^2}$$

em que,

N= tamanho necessário da amostra

P_{esp} = prevalência esperada

d= precisão absoluta desejada.

Para o cálculo da equação acima, foi utilizado uma P_{esp} = 20% e d = 10%.

Amostras de sangue foram obtidas de 65 gatos domésticos (*Felis catus domesticus*). Foram coletados, aleatoriamente, dentre os animais que se encontravam em clínicas veterinárias, Hospital Veterinário da UFRGS e Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) da Prefeitura de Porto Alegre. A colheita foi realizada através de venopunção da veia jugular, utilizando seringas descartáveis com agulhas 25x7 ou com Vacumtainer® e acondicionado em frascos com ácido etilenodiaminotetracético (EDTA). Os tubos foram mantidos sob refrigeração, até a chegada ao Laboratório de Virologia da Faculdade de Veterinária. De todos os animais coletados foram coletadas informações através de um questionário (Anexo 1) com o objetivo de obter dados epidemiológicos.

3.2 Hemograma

Para execução dos exames, foram utilizadas metodologias adotadas no Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Veterinária da UFRGS. Avaliou-se a série vermelha, eritrócitos ($\times 10^6 \mu\text{L}$), hemoglobina (g/dL), hematócrito (%), volume celular médio -VCM (fL), concentração de hemoglobina celular média -CHCM (%). Também analisou-se a série branca, através dos leucócitos totais ($/\mu\text{L}$), neutrófilos segmentados ($/\mu\text{L}$), eosinófilos ($/\mu\text{L}$), monócitos ($/\mu\text{L}$), linfócitos ($/\mu\text{L}$) e proteína plasmática total (g/L).

3.3 Detecção de anticorpos contra o FIV e antígenos do FeLV

Todas as 65 amostras de sangue total foram submetidas a testes para verificar a presença de anticorpos contra a proteína viral p24 do FIV e a presença da proteína viral p27 do FeLV utilizando o “kit” comercial de ELISA denominado SNAP Combo (IDEXX Laboratories, Estados Unidos da América). O resultado era determinado através da alteração de cor de alguns pontos em lugares pré-determinados da membrana para azul (o controle positivo está no ponto central, antígeno do FeLV é detectado no lado direito e anticorpos contra o FIV no lado esquerdo).

3.4 Detecção do DNA proviral do FIV

3.4.1 Extração de DNA

Foram realizadas extrações de DNA de 65 amostras de sangue total (26 refrigeradas a 4°C e 39 congeladas à -70°C). As amostras foram centrifugadas por 6 minutos a 3.000 g. Nas amostras refrigeradas, foram coletados os leucócitos da capa flogística (200 μL) e nas congeladas, foram coletados 200 μL de células do sedimento após a centrifugação. Após, foi adicionado 1 mL de TE (10 mM de Tris HCl pH 8,0 e 0,1 mM de EDTA), e centrifugado por 5 minutos a 12.000 g. Esta etapa foi repetida até o sedimento ficar claro. Em seguida, foi adicionado 500 μL de DNazol ao tubo e realizada a homogeneização para lise das células. A seguir, foi acrescentado 250 μL de etanol absoluto gelado e lentamente feita à homogeneização por inversão. Os tubos foram mantidos durante 10 minutos à 4°C , logo em seguida o DNA foi retirado com auxílio de uma ponteira e transferido para um novo tubo, onde foram realizadas 3 lavagens com 1 mL de uma solução de etanol 95% gelado, sendo que, em cada lavagem,

o DNA era ressuspenso por inversão do tubo e centrifugado a 10.000 g por 5 minutos. Após as lavagens, o DNA foi seco à temperatura ambiente durante 30 minutos e depois dissolvido em 150 μL de NaOH 8 mM. Para garantir uma completa dissolução do DNA, o tubo foi armazenado durante 48 horas à 4°C e, após este período, foi determinada a concentração de DNA das amostras em espectrofotômetro a 260/280 nm. As amostras foram aliquotadas com uma concentração de 200 ng/ μL e estocadas a -20°C.

3.4.2 Reação em Cadeia da Polimerase Aninhada (Nested-PCR)

As amostras foram submetidas a duas ampliações: a primeira delas, utilizando 5 μL da solução de DNA e os “primers” externos; e a segunda utilizando 2 μL do produto da primeira reação e os “primers” internos. Os “primers” utilizados foram: a) “primers” externos: P1 – localizado na posição 916-939 e PRT1 – localizado na posição 1375-1398; b) “primers” internos: P2 – localizado na posição 1108-1129 e PRT2 – localizado na posição 1289-1310 (Figura 2) descritos por Rimstad & Ueland (1992). As condições da reação foram: 5 minutos à 94°C para desnaturação do DNA, seguido de 30 ciclos constituídos por 1 minuto à 94°C e 1 minuto à 68°C e 90 segundos à 72°C, completando a extensão em 7 minutos à 72°C para os “primers” externos P1 e PRT1. Para os “primers” internos, P2 e PRT2, as condições foram: 5 minutos à 94°C, seguido de 30 ciclos constituídos por 1 minuto à 94°C, 1 minuto à 66°C e 90 segundos à 72°C e 7 minutos à 72°C. O volume final da reação foi de 50 μL contendo 2,5 U da enzima *Taq* DNA Polimerase (Cenbiot Enzimas, Porto Alegre, Brasil), 0,2 mM de dNTPs, 10 mM de Tris HCl pH 8, 50 mM de KCl, 3 mM de MgCl₂, 1 μM dos “primers” internos ou externos e 5 μL da amostra de DNA. A eletroforese foi realizada em gel de poliacrilamida a 10% a 150 V por 4 horas e os géis foram revelados por coloração com nitrato de prata (SAMBROOK & RUSSEL, 2001). Além disso, foram utilizados, em cada reação, uma amostra negativa contendo água e uma amostra positiva de um gato positivo para FIV.

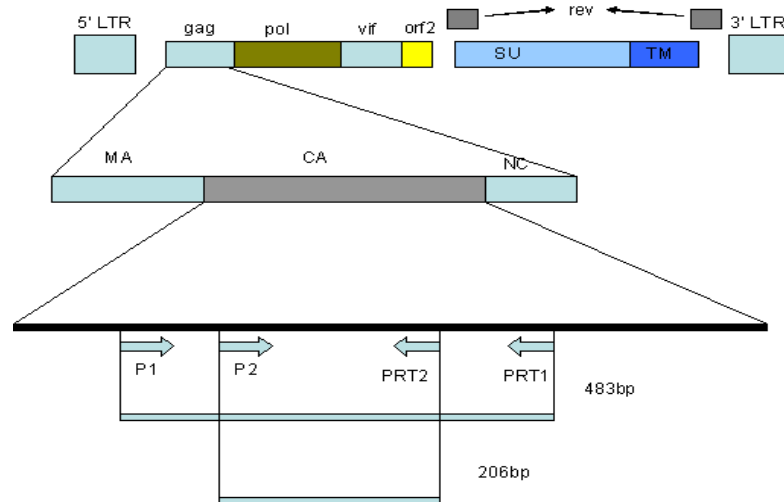


Figura 3 Representação esquemática do genoma do vírus da imunodeficiência felina com indicação dos “primers” utilizados nas reações de Nested-PCR. Genes estruturais, *gag-pol-env* (proteínas do envelope, SU=superfície, TM=transmembrana) e genes suplementares *vif-orf 2-ver*. Proteínas codificadas pelo gene *gag*, MA= Matriz, CA= Capsídeo e NC= Nucleocapsídeo. P1 e PRT1= “primers” externos (primeira PCR); P2 e PRT2= “primers” internos (segunda PCR).

3.5 Análise estatística

As análises estatísticas dos dados referentes à higidez, raça, sexo, faixa etária, como vive, procedência e das alterações hematológicas da população foram baseadas no teste T de Student e no teste exato de Fischer, utilizando o pacote estatístico SPSS[®] para Windows[®].

4 RESULTADOS

4.1 Diagnóstico de Infecções por FIV

A detecção do FIV nos animais avaliados foi realizada através de dois testes: ELISA e Nested-PCR. Foram encontrados sete animais positivos no ELISA e oito na Nested-PCR. Um animal apresentou resultado positivo em ambos os testes. A Tabela 2 apresenta uma comparação entre os resultados obtidos nos dois testes. A prevalência do FIV foi considerada através da soma das amostras positivas obtidas pelas duas técnicas. Das 65 amostras analisadas, 14 (21,5%) foram positivas. Um gel de poliacrilamida corado com nitrato de prata demonstrando alguns resultados da Nested-PCR para FIV pode ser visualizado na Figura 4.

Tabela 2: Comparação dos resultados obtidos para a detecção de FIV pelo ELISA e pela Nested-PCR.

		Nested-PCR	
		Positivo	Negativo
Elisa	Positivo	1	6
	Negativo	7	51

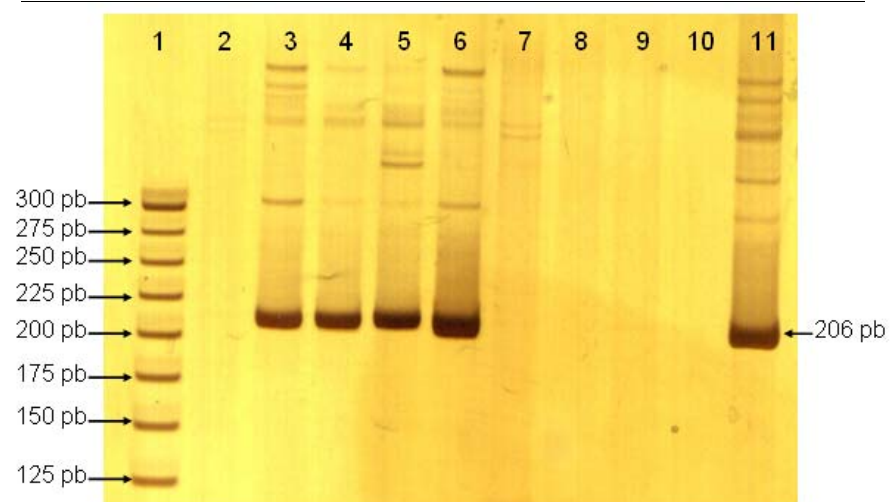


Figura 4: Eletroforese em gel de poliacrilamida 10% mostrando produtos de amplificação da Nested-PCR para FIV. Canaleta 1: marcador de peso molecular de 25 pb. Canaleta 2, 7–9: amostras negativas. Canaleta 3–6: amostras positivas. Canaleta 10: controle negativo. Canaleta 11: controle positivo.

4.2 Diagnóstico de Infecções por FeLV

A prevalência de FeLV encontrada nos 65 animais avaliados em Porto Alegre através do ELISA foi de 10,8% (sete animais).

4.3 Combinação dos Resultados para FeLV e FIV

Das 65 mostras analisadas, quatro (6,1%) animais apresentaram resultados positivos para ambos os vírus. A Tabela 3 apresenta a combinação destes resultados.

Tabela 3: Tabela de contingência mostrando a combinação dos resultados para FeLV e FIV.

		FIV	
		Positivos	Negativo
FeLV	Positivo	4	3
	Negativo	10	48

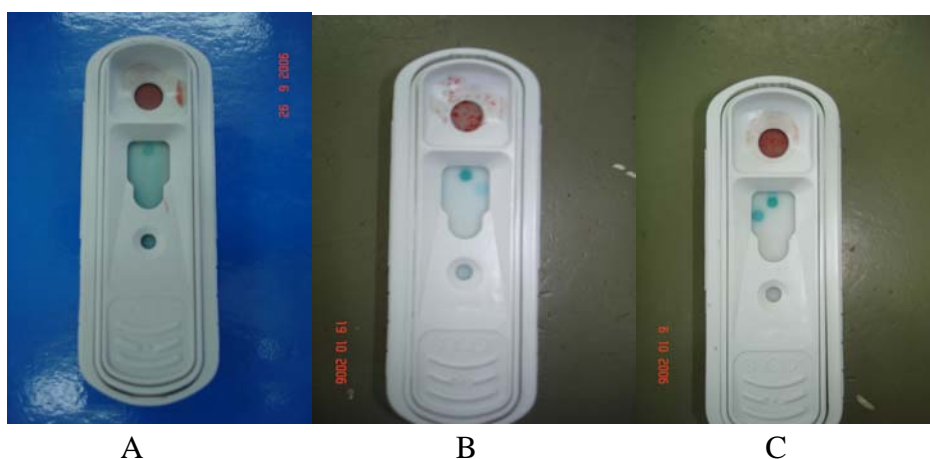


Figura 5: Fotografias de exemplos dos resultados encontrados no ELISA. A: amostra negativa para ambas as viroses. B: Amostra positiva para FeLV. C: Amostra positiva para FIV. No ponto central das membranas pode ser observado o controle positivo do teste.

Os dados experimentais permitem uma breve comparação com aqueles encontrados nos trabalhos de outros pesquisadores e disponíveis na bibliografia mundial. Esses resultados estão sinteticamente apresentados na Tabela 4.

Tabela 4: Prevalência de FeLV e FIV em diferentes regiões do mundo comparadas com as obtidas no presente trabalho.

Autores	Localidade	FeLV %	FIV %	FeLV/FIV %
Presente trabalho	Porto Alegre	10,8	21,5	6,1
Braley, 1994	Estados Unidos	14,8	15,0	1,5
Braley, 1994	França	19,0	15,4	4,3
Yilmaz et al., 2000	Ásia	5,8	22,3	4,9
Malik et al., 1997	Austrália	2,0	7,5	-
Maruyama et al., 2003	Japão	9,8	8,0	-
Arjona, 2000	Espanha	15,6	8,3	1,1
Reche, Haginara, 1993	São Paulo	12,5	6,3	1,0
Souza, et al., 2002	Rio de Janeiro	17,5	16,6	1,6
Barbosa et al., 2001	Uberlândia (MG)	12,6	-	-
Caldas et al., 2000	Porto Alegre (RS)	---	37	--

4.4 Caracterização dos Animais Estudados

Os 65 felinos analisados foram classificados por higidez, raça, sexo, faixa etária, como vivem e procedência (Tabela 5).

Tabela 5: Algumas características dos gatos amostrados no presente trabalho.

		Número	%
Higidez	Sadio	42	64,6
	Doente	23	35,4
Raça	SRD	28	43,1
	Siamês	9	13,8
	Persa	11	16,9
	América Shothair	11	16,9
	Oriental	3	4,6
	Himalaia	3	4,6
Sexo	Macho	22	33,8
	Macho castrado	19	29,2
	Fêmea	21	32,3
	Fêmea Castrada	3	4,6
Faixa Etária	< 1 ano	16	24,6
	1 a 5 anos	34	52,3
	6 a 10 anos	12	18,5
	11 a 15 anos	3	4,6
Como vive	Isolado	18	27,7
	Isolado com mais gatos	47	72,3
Procedência	Gatil	32	49,2
	Rua	25	38,5
	Gatil Zoonoses	8	12,3

4.5 Alterações Clínicas Encontradas nos Animais Positivos para FIV e FeLV

Dos 17 animais com resultados positivos para FIV e/ou FeLV, nove (53%) apresentavam-se assintomáticos. Nos outros oito (47%) foram observadas alterações clínicas.

Dos 14 animais positivos somente para FIV, seis apresentaram alterações clínicas, sendo que quatro (67%) apresentavam-se com estomatite e dois (33%) com emagrecimento progressivo. Dentre os sete animais que foram positivos para FeLV, três (43%) tinham alterações clínicas de lesões dermatológicas e emagrecimento e quatro (57%) eram assintomáticos.

Tabela 6: Caracterização dos animais positivos para FIV e FeLV quanto ao sexo, idade, raça, procedência e alterações clínicas.

AMOSTRA	SEXO	IDADE	RAÇA	PROCEDÊNCIA	ALTERAÇÕES CLÍNICAS
POSITIVO FIV					
224/06	M. Castrado	1 a 5 anos	SRD	De rua	Estomatite e lesões dermatológicas
091/06	Fêmea	1 a 5 anos	America Shothair	Gatil	Assintomática
095/06	Fêmea	1 a 5 anos	America Shothair	Gatil	Assintomática
112/06	Macho	1 a 5 anos	SRD	De rua	Estomatite
2/06	Macho	1 a 5 anos	SRD	Gatil do CCZ	Gengivite, estomatite e emagrecimento progressivo
083/06	M. Castrado	1 a 5 anos	SRD	Gatil	Assintomática
075/06	M. Castrado	1 a 5 anos	America Shothair	Gatil	Assintomática
070/06	M. Castrado	6 a 10 anos	Siamês	De rua	Diarréia e emagrecimento progressivo
088/06	M. Castrado	< 1 ano	SRD	De rua	Emagrecimento progressivo
115/06	Macho	< 1 ano	SRD	De rua	Assintomática
POSITIVO FeLV					
222/06	M. Castrado	1 a 5 anos	SRD	De rua	Emagrecimento progressivo, anorexia e apatia
15/06	M. Castrado	6 a 10 anos	SRD	Gatil do CCZ	Assintomática
229/06	Macho	1 a 5 anos	Oriental	De rua	Lesões dermatológicas e estomatite
POSITIVO FeLV/FIV					
113/06	M. Castrado	6 a 10 anos	Siamês	De rua	Genvivite e periodontite
01/06	Macho	6 a 10 anos	SRD	Gatil do CCZ	Assintomática
05/06	Fêmea	1 a 5 anos	SRD	Gatil do CCZ	Assintomática
131/06	Macho	6 a 10 anos	SRD	De rua	Assintomática

4.6 Diagnóstico de FeLV/FIV em Relação ao Modo de Vida

Dos sete animais positivos para FeLV, um (14,3%) vivia isolado e os outros seis (85,7%) viviam com outros gatos no mesmo ambiente ou tinham acesso a rua. Já os 14 animais positivos para FIV eram representados por quatro (28,6%) animais que viviam isolados e 10 (71,4%) que viviam com outros gatos no mesmo ambiente ou tinham acesso à rua.

4.7 Porcentagem dos Animais Positivos para FeLV e FIV de Acordo com a Raça

A proporção de animais positivos variou de acordo com a raça de 33% a 0% para FeLV e de 32% a 0% para FIV, conforme apresentado na Figura 6 e Figura 7, respectivamente. Os animais das raças Persa, American Shorthair e Himalaia não tiveram nenhum indivíduo positivo para FeLV ou FIV, já na raça Oriental, 33% dos animais foram positivos para FeLV, embora esta diferença não seja significativa devido ao pequeno número de animais analisados.

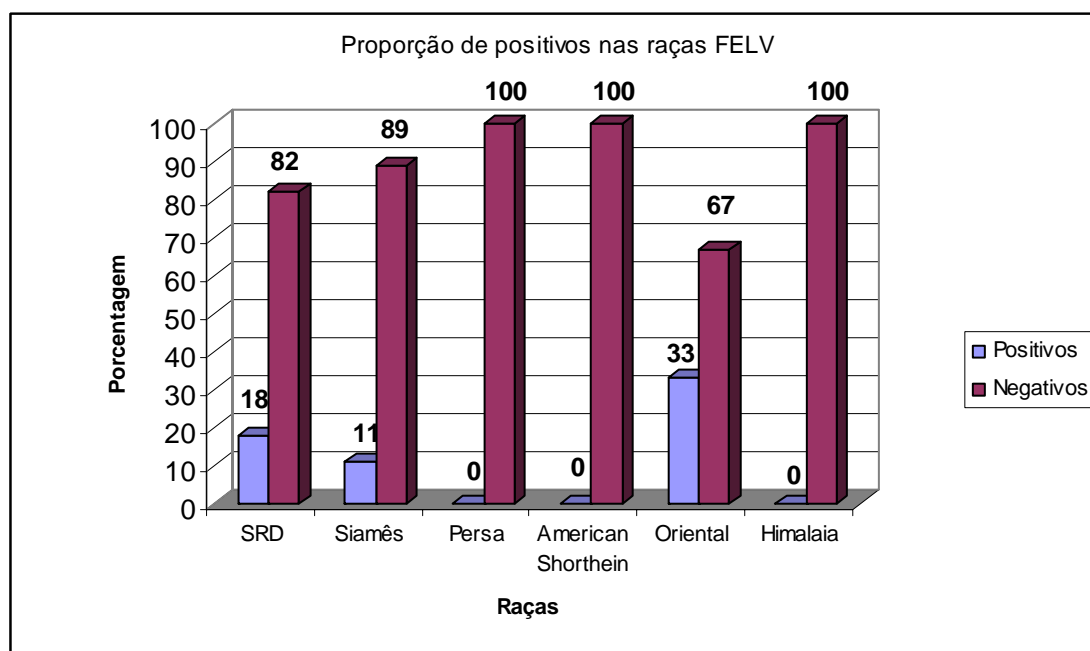


Figura 6: Porcentagem de gatos positivos para FeLV de acordo com as raças analisadas.

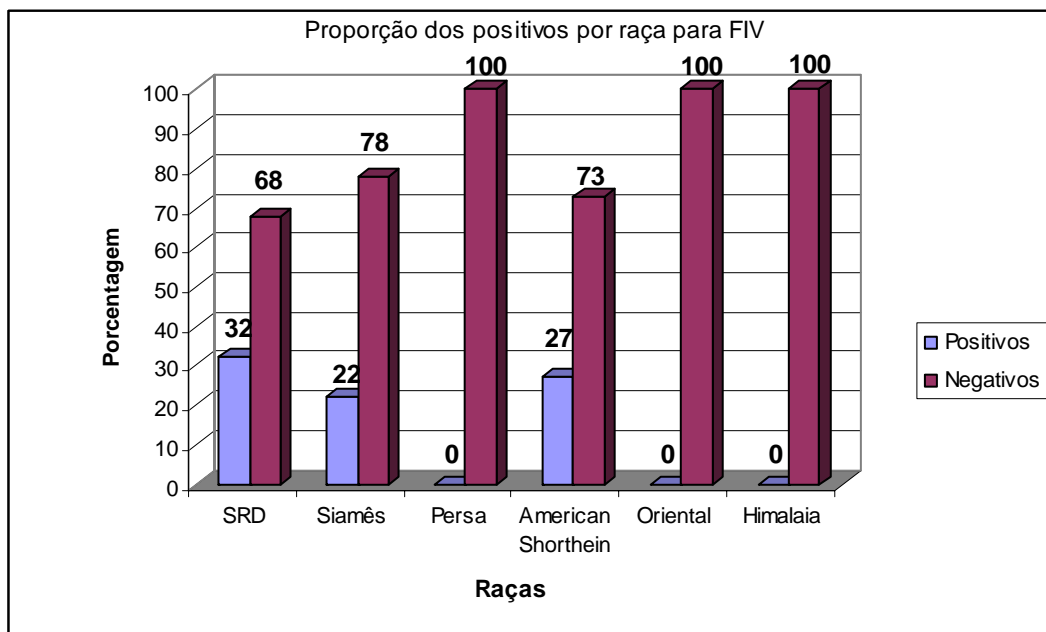


Figura 7: Proporção dos animais FIV positivo por raça.

4.8 Valores Hematológicos dos Animais Positivos para FIV por Nested-PCR

Dos 65 animais coletados, foi realizado o hemograma de 48 animais, dos quais oito (16,7%) apresentaram resultados positivos para FIV na Nested-PCR. Desta forma, somente foi possível correlacionar os valores hematológicos dos animais analisados para FIV pela Nested-PCR (Tabela 7). Através do teste T de Student, verificou-se que não houve diferença significativa nos valores hematológicos ($P > 0,05$).

Tabela 7: Média e desvio padrão dos valores hematológicos dos animais positivos e negativos para FIV pela Nested-PCR.

PARÂMETROS	Nested-PCR FIV	n	MÉDIA	DESVIO-PADRÃO	P
Eritrócitos	Positivo	8	8,46	1,93	0,55
	Negativo	40	7,96	2,21	
Hemoglobina	Positivo	8	11,85	2,00	0,52
	Negativo	40	11,26	2,38	
Hematócrito	Positivo	8	35,38	5,83	0,50
	Negativo	40	33,55	7,09	
VCM	Positivo	8	42,72	7,01	0,73
	Negativo	40	43,83	8,26	
CHCM	Positivo	8	33,01	1,60	0,57
	Negativo	40	33,66	3,06	
Leucócitos totais	Positivo	8	10287,50	5042,52	0,34
	Negativo	40	14347,50	11536,50	
N. segmentados	Positivo	8	6904,50	4725,23	0,59
	Negativo	40	8549,90	8243,84	
Eosinófilo	Positivo	6	627,83	154,85	0,48
	Negativo	38	882,66	865,04	
Monócitos	Positivo	6	256,33	241,92	0,36
	Negativo	35	457,29	520,85	
Linfócitos	Positivo	8	2680,13	1248,64	0,64
	Negativo	40	3103,95	2449,25	
PPT	Positivo	8	67,75	4,06	0,11
	Negativo	40	71,75	6,66	

5 DISCUSSÃO

No presente trabalho, a prevalência de 10,8% para a infecção pelo FeLV, de 21,5% para a infecção pelo FIV e 6,1% para ambas as viroses, apresentaram diferenças em relação aos dados descritos anteriormente nos Estados Unidos e na França (BRALEY, 1994), sendo a prevalência em Porto Alegre menor para o FeLV e maior para o FIV e para FeLV e FIV juntos.

Comparando com os estudos realizados na Ásia, o FeLV apresentou o dobro da prevalência, já para o FIV o valor foi semelhante (YILMAZ, ILGAZ & HARBOUR, 2000). Em relação à Austrália (MALIK et al. 1997) e o Japão (MARUYAMA et al. 2003), as prevalências encontradas no presente trabalho foram maiores para ambos os vírus.

Em comparação com dados conhecidos do Brasil, como em São Paulo, para o FeLV houve uma prevalência menor, já para o FIV, a prevalência foi o dobro (RECHE & HAGIWARA, 1993). O número de positivos para FeLV foi menor também que os índices obtidos em Uberlândia (BARBOSA, CHRISTIANINE & WALDERMARIN, 2001) o que pode ser esperado, pois 78,5% das amostras foram obtidas de um centro de zoonoses em MG e sabe-se que, neste meio, a prevalência é maior pela maior facilidade de transmissão já que os animais estão juntos no mesmo meio ambiente.

Os dados do presente trabalho foram menores para o FeLV e maiores para FIV e para ambas as viroses (FeLV e FIV juntas) do que os obtidos no Rio de Janeiro (SOUZA, TEIXEIRA & GRAÇA, 2002). Um dado que chamou atenção foi à prevalência para o FeLV, em Porto Alegre, ser menor do que a encontrada em outros trabalhos. Um fator importante pode ser o crescente aumento do número de gatos vacinados contra esta doença em Porto Alegre. Já para o FIV, a prevalência foi maior do que na maioria dos locais onde esta foi determinada. Uma possibilidade é a de que a doença esteja aumentando no Brasil ao longo do tempo, devido à falta de vacina no Brasil ou uma maior transmissão por alguma cepa particular de vírus. Contudo, a maior probabilidade é de que a utilização concomitante dos dois testes (ELISA e Nested-PCR) aumente o número de animais positivos detectados para FIV.

Dos 14 animais positivos somente para FIV, seis apresentaram alterações clínicas, sendo que quatro (67%) apresentavam-se com estomatite e dois (33%) com emagrecimento progressivo, alterações estas já bem documentadas na literatura (PEDERSEN & BARLOUGH, 1991).

A origem dos animais analisados apresentou diferença significativa na prevalência da infecção por FeLV ($p= 0,004$), sendo que os animais de gatil não apresentaram resultados positivos, já os de rua apresentaram 16% de positivos e os do CCZ positivos foram 37,5%. A infecção por FIV também apresentou diferença significativa ($p= 0,025$) em relação à origem, sendo que o número de positivos foi 12,5% para animais de gatil, 28% nos de rua e 37,5% para os do CCZ. Estes dados confirmam os dados da literatura que demonstram que animais que vivem em contato com outros em má condição sanitária possuem uma maior probabilidade de contrair estes retrovírus (BANDECCHI et al., 2006).

Quanto à predisposição do sexo para infecção pelo FIV, sabe-se que os gatos machos constituem o maior grupo de risco, uma vez que a forma de transmissão mais comum é a inoculação do vírus pela saliva durante as brigas (BIRCHARD & SHERDING, 1998). No presente trabalho, não houve diferença significativa para animais positivos para FeLV e FIV em relação ao sexo, provavelmente devido ao número de amostras analisadas. Ao contrário em relação à literatura, que cita que felinos machos têm probabilidade três vezes maior de estar infectados pelo FIV 1,7 pelo FeLV comparando-se com as fêmeas (ETTINGER & FELDMAN, 1995).

Também não houve diferença significativa para a infecção por FeLV e FIV em relação à higidez, raça e o ambiente em que vivem.

Foi observado que houve diferença significativa para a infecção por FeLV ($p= 0,05$) de acordo com a idade, sendo maior a prevalência entre os animais de 6 a 10 anos, resultado que coincide com os de um trabalho realizado nos Estados Unidos, onde foram encontrados exatamente os mesmos resultados (BRALEY, 1994).

No presente trabalho, foram utilizadas as técnicas da Nested-PCR e ELISA para o diagnóstico de FIV em 65 amostras de felinos. Destas, seis (9,2%) foram positivas para FIV no ELISA, sete (10,8%) na Nested-PCR e uma (1,5%) foi positiva no ELISA e na Nested-PCR. Comparando o significado dos dois métodos de diagnóstico para o FIV,

o ELISA detecta a resposta indireta, ou seja, detecta os anticorpos produzidos pelo hospedeiro contra o vírus. Já a Nested-PCR detecta diretamente o provírus, que se encontra integrado ao genoma do hospedeiro. Desta forma, é provável que se encontrem amostras com resultados diferentes, com a combinação de ELISA e Nested-PCR para FIV, detectando um maior número de positivos, do que utilizando somente um destes testes. Uma comparação semelhante foi feita entre a técnica de imunodifusão em ágar (AGID) e a PCR para detecção do vírus da artrite encefalite caprina. Este estudo encontrou resultados discordantes entre a técnica indireta e direta, pois o primeiro permitiu a detecção de 25 animais soropositivos, enquanto a PCR detectou DNA proviral em 16 amostras. As hipóteses para explicar os resultados deste trabalho podem ser: 1) que o número de cópias de DNA proviral integrado ao genoma das células sanguíneas era pequeno, devido ao estágio da infecção ou a presença de altos títulos de anticorpos ou; 2) que os “primers” não foram capazes de detectar as variantes virais presentes (RUTKOSKI et al., 2001).

CONCLUSÕES

1. A prevalência de gatos positivos para FIV no Município de Porto Alegre, Rio Grande do Sul foi de 21,5%, combinando-se os resultados do teste de ELISA com os da Nested-PCR, resultado maior do que os normalmente encontrados na literatura.

2. A prevalência de gatos positivos para FeLV no Município de Porto Alegre, Rio Grande do Sul foi de 10,8% utilizando-se o teste de ELISA, resultado menor do que os encontrados normalmente na literatura.

3. A prevalência de gatos positivos para FeLV e FIV no Município de Porto Alegre, Rio Grande do Sul foi de 6,1% para ambos os vírus.

4. Ocorreu alteração significativa na prevalência da infecção por FeLV de acordo com o modo de vida do gato, sendo que os animais de gatil não apresentaram resultados positivos, já os de rua apresentaram 16% de positivos e os do CCZ positivos foram 37,5%, resultados que concordam com a literatura.

5. A infecção por FIV também apresentou diferença significativa em relação ao modo de vida, sendo que o número de positivos foi 12,5% para animais de gatil, 28% nos de rua e 37,5% para os do CCZ, resultados que concordam com a literatura.

6. Existiu uma diferença significativa em relação a idade para a infecção por FeLV, sendo maior a tendência dos animais de 6 a 10 anos apresentarem resultados positivos.

7. Não houve alteração significativa nos valores hematológico dos animais positivos para FeLV e FIV.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, F. M.; FARIAS, M. C. F.; BRANCO, A. S.; SERRÃO, M. L.; SOUZA, A. M.; ALMOSNY, N.; CHAME, M.; LABARTHE, N. Sanitary conditions of a colony of urban feral cats in a zoological garden of Rio de Janeiro, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de S. Paulo**. v.46, n.5, 2004, p.269-274.

ARJONA, A.; ESCOLAR, E.; SOTO, I.; BARQUERO, N.; MARTIN, D.; LUCIA-GOMES, E. Seroepidemiological survey of infection by feline leukemia virus in Madrid and correlation with some clinical aspects. **Journal of Clinical Microbiology**. v.38, n.9, 2000, p.3448-3449.

ARJONA, A.; BARQUERO, N.; DOMÉNECH, A.; TEJERICO, G.; COLLADO, M. V.; TOURAL, C.; MARTÍNS, D.; GOMEZ-LUCIA, E. Evaluation of a novel nested PCR for the routine diagnosis of feline leukemia virus (FeLV) and feline immunodeficiency virus (FIV). **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v.10, n.20, 2006, p.1-9.

AVERY, P. R. Vírus da imunodeficiência felina. IN. LAPPIN, M. R. **Segredos em Medicina Interna de Felinos**. 1 ed. Porto Alegre: Artmed, 2004, p.469-475.

BANDECCHI, P.; DELL'OMODARME, M.; MAGI, M.; PALAMIDESSI, A.; PRATIC, M. C. Feline leukaemia virus (FeLV) and feline immunodeficiency virus infections in cats in Pisa district of Tuscany, and attempts to control FeLV infection in a colony of domestic cats by vaccination. **Veterinary Record**. v.158, n.16, 2006, p.555-557.

BARBOSA, F. C.; CHRISTIANINE, M. P. T.; WALDEMARIN, K. C. A. Prevalência de leucemia felina em gatos domésticos de Uberlândia, Minas Gerais. **Arquivo de Ciência Veterinária e Zoologia**. 2001, p.207-211.

BARR, F. Feline leukaemia virus. **Journal of Small Animal Practice**. v.39, n.1, 1998 p.41-43.

BEEBE, A. M.; DUA, N.; FAITH, T. G.; MOORE, P. F.; PEDERSEN, N. C.; DADEKAR, S. Primary stage of feline immunodeficiency virus infection: viral dissemination and cellular targets. **Journal of Virology**, v.68, n.5, 1994, p.3080-3091.

BENDINELLI, M.; PISTELLO, M.; LOMBARDI, S.; POLI, A.; GARZELLI, C.; MATTEUCCI, D.; CECCHERINI, N. L.; MALVALDI, G.; TOZZINI, F. Feline immunodeficiency virus: an interesting model for AIDS studies and an important cat pathogen. **Clinical Microbiology Reviews**, v.8, n.1, 1995, p.87-112.

BIENZLE, D.; REGGETI, F.; WEN, X.; LITTLE, S.; HOBSON, J.; KRUTH, S. The variability of serological and molecular diagnosis of feline immunodeficiency virus infection. **Canadian Veterinary Journal**, v.45, 2004, p.753-757.

BIRCHARD, S. J.; SHERDING, R. G. Clínica de pequenos animais. **Manual Saunders**. 3^a ed. São Paulo: Roca, 1998, p.92-104.

BRALEY, J. FeLV and FIV: survey shows prevalence in the United States and Europe. **Feline Practice**, v.22, n. 2, 1994, p.25-28.

CADORÉ, J. L.; STEINER-LAURENT, S.; GREENLAND, T.; MORNEIX, J.F. Interstitial lung disease in feline immunodeficiency virus (FIV) infected cats. **Research in Veterinary Science**. v.62, 1997, p.287-288.

CALDAS, A. P. F.; LEAL, E. S.; SILVA, E. F. A.; RAVAZZOLO, A. P. Detecção do provírus da Imunodeficiência Felina em gatos domésticos pela técnica de Reação em Cadeia da Polimerase. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.2, 2000, p.20-25.

CATTORI, V.; TANDON, R.; PEPIN, A.; LUTZ, H.; HOFMANN-LEHMANN, R.; Rapid detection of feline leukemia virus provirus integration into feline genomic DNA. **Molecular and Cellular Probes**. v.20, 2006, p.172-181.

COELHO, F. M. **Ocorrência do DNA proviral do vírus da leucemia felina em *Felis catus* detectado por Nested-PCR**. 2003. 99 f. Dissertação de Mestrado em Microbiologia. Instituto de Ciências Biológicas. Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais.

COTTER, S. M.. Feline viral neoplasia. *In* Infectious diseases of the dog and cat, 2nd Edition, C. E. Green. W.B. **Sanders Company, Philadelphia, Pennsylvania**, 1998, p.71-84.

COUTO, C. G. Diagnóstico e tratamento de doenças retrovirais em gatos. *IN*: NELSON, R. W.; COUTO, C. G. **Fundamentos de Medicina Interna de Pequenos Animais**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994, cap.91, p.702-705.

CULLEN, B. R. **Human Retroviruses**, an introduction to human retrovirus New York., 1992, p.2-11.

DANDEKAR, S.; BEEBE, A. M.; BARLOUGH, J.; PHILLIPS, T.; ELDER, J.; TORTEN, M. Detection of feline immunodeficiency virus (FIV) nucleic acids in FIV-seronegative cats. **Journal of Virology**. v.66, 1992, p.4040-4049.

DOMONOVAN.R.M. Retroviridae. *In*: HIRSH, D. C.; ZEE, Y. C. **Microbiologia Veterinária**. 1 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999, p.411-427.

DUARTE, A.; TAVARES, L.; MENGAS, R.; FEVEREIRO, M. Primeiro isolamento do vírus da imunodeficiência felina em Portugal a partir de três gatos positivos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinária**. v.93, n.525, 1998, p.39-49.

EGBERINK, H.; BORST, M.; NIPHUIS, H.; BALZARINI, J.; NEU, H.; SCHELLEKENS, H.; DE CLERCQ, E.; HORZINEK, M.; KOOLEN, M. Suppression of feline immunodeficiency virus infection *in vivo* by 9-(2-phosphonyl methoxyethyl) adenine **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**. v.87, n.8, 1990, p.3087-3091.

ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. 4 ed. São Paulo: Manole, 1995, p.589-606.

FRINI, T.; CHABCHOUB, A; LANDOLSI, F. Feline immunodeficiency virus infection Tunisian cats: a serological survey. **Revue de Médecine Veterinaire**. v.149, n.3, 1998, p.219-222.

GRACE, S. F. Infecção pelo vírus da imunodeficiência felina. IN. NORSWORTHY, G. D.; CRYSTAL, M.A.; GRACE, S. F.; TILLEY, L. P. **O Paciente Felino**. 1 ed. São Paulo: Manole, 2004, p.244-247.

GREENE, C. E. **Infectious Diseases of the Dog and Cat**. 2 ed. St. Louis: Saunders Company, 1998, p.71-96.

GREGORY, C. R.; BARLOUGH, J. E.; CLARK, R. Effects of insulin-like growth factor-1 and AZT in cats experimentally infected with FIV. **Feline Practice**, v.25, n.4, 1997, p.23-31.

HAGIWARA, M. K.; RECHE, JR. A.; LUCAS, S. R. R. Estudo clínico da infecção de felinos pelo vírus de leucemia felina em São Paulo. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**. v.4, n.1, 1997, p.35-38.

HARTMANN, K. Review- Feline immunodeficiency virus infection: an overview. **The Veterinary Journal**, v.155, n.2, 1998, p.123-137.

HARTMANN, K.; DONATH, A.; KRAFT, W. AZT in treatment of feline immunodeficiency virus infection, part.1. **Feline Practice**, v.23, n.5, 1995, p.16-21.

HERRING, I. P.; TROY, G. C.; TOTH, T. E.; CHAMPAGNE, E. S.; PICKETT, P.; HAINES, D. M. Feline leukemia virus detection corneal tissues of cats by polymerase chain reaction and immunohistochemistry. **Veterinary Ophthalmology**. v.4, n.6, p.2001, 119-126.

HOSIE, M. J.; ROBERTSON, C.; JARRET, O. Prevalence of feline leukaemia antibodies to feline immunodeficiency virus in cats in the United Kingdom. **Veterinary Record**, v.125, n.11, 1989, p.293-297.

ISHIDA, T.; TOMODA, I. Clinical staging of feline immunodeficiency virus infection. **Japanese Journal of Veterinary Science**. v.52, n.3, 1990, p.645-648.

JARRET, O. Strategies of retrovirus survival in the cat. **Veterinary Microbiology**. v.69, n.1-2, 1999, p.99-107.

LAPPIN, M. R. Feline leukemia virus. In: Seminário internacional de doenças infecciosas. **Anais**. São Paulo: 1998, p.36-44.

LEVINE, A. J. Disponível em URL<<http://www.accessexcellene.org>>. Acesso em 25 de junho de 2006.

LOAR, A.S. Feline leukemia virus immunization and prevention. **The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.23, n.1, 1993, p.193-211.

MALIK, R.; KENDALL, K.; CRIDLAND, J.; COULSTON, S.; STUART, A.J.; SNOW, D.; LOVE, D.N. Prevalences of feline leukaemia virus and feline immunodeficiency virus infections in cats in Sydney. **Australian Veterinary Journal**. n.75, 1997, p.323-327.

MARUYAMA, S.; KABEYA, H.; NAKAO, R.; TANAKA, S.; SAKAI, T.; XUAN, X.; KATSUBE, Y.; MIKAMI, T. Seroprevalence of *Bartonella henselae*, *Toxoplasma gondii*, FIV and FeLV infections in domestic cats in Japan. **Microbiology and Immunology**, n.47, v.2, 2003, p.147-153.

MEHL, M. L. Feline leukemia virus. IN: LAPPIN, M. R. **Feline Internal Medicine Secrets**. Philadelphia: Hanley & Belfus. cap.76, 2001, p.387-391.

MERCK. Feline leukemia vírus and related disease: introduction. IN: **The Merck Veterinary Manual**. Estados Unidos, 2006. Disponível em: <<http://vetmanual.com/mvm/index.jsp>>. Acesso em: 13 outubro 2006.

MERCK. **Manual Merck de Veterinária**. 8 ed. São Paulo: Roca, 2001, p.449-457.

MEYER, D. J.; COLES, E. H.; RICH, L. J. **Medicina de Laboratório Veterinária**. 1 ed. São Paulo: Roca, 1995.

MURPHY, F. A.; GIBBS, E. P. J.; HORZINEK, M. C.; STUDDERT, M. J. **Veterinary Virology**. 3 ed. California: Academic Press, 1999, p.363-389.

NELSON, R. W.; COUTO, C. G. **Medicina Interna de Pequenos Animais**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001, p.1016-1022.

NORSWORTHY, G. D. Feline leukemia virus diseases. IN: NORSWORTHY, G. D. **The Feline Patient: essentials of diagnosis and treatment**. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins. 1998. cap.55, p.204-209.

PEDERSEN, N. C.; BARLOUGH, J. E. Clinical overview of feline immunodeficiency virus. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. n.199, 1991, p.1298-1305.

PEDERSEN, N. C.; HO, E. W.; BROWN, M. L.; YAMAMOTO, J. K. Isolation of a T-lymphotropic virus from domestic cats with an immunodeficiency-like syndrome. **Science**. v.235, n.4790, 1987, p.790-793.

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J.; LEONARD, F. C. **Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas**. 1 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005, p.342-354.

RECHE, Jr. J. A.; HAGIWARA, M. K. Estudos clínicos da síndrome de imunodeficiência adquirida dos felinos em felinos domésticos de São Paulo. In: Congresso Brasileiro de Clínicos Veterinários de Pequenos Animais. **Anais**. Rio de Janeiro: n.15, 1993, p.54.

Retrovíroses Disponível em
URL<<http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/BiologyPages/W/Welcome.html>>.
Copyright©2006 John W. Kimball .Acesso em 20 de agosto de 2006.

RICHARDS, J. Feline immunodeficiency virus vaccine: Implications for diagnostic testing and disease management. **Biologicals**. n.33, 2005, p.215-217.

RIMSTAD, E.; UELAND, K. Detection of feline immunodeficiency virus by a nested polymerase chain reaction. **Journal of Virological Methods**, v.36, 1992. p.239-248.

ROJKO, J. L.; HARDY, W. D. Feline leukemia virus and other retroviruses. IN: SHERDING, R. G. **The Cat: Diseases and Clinical Management**. 2 ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1994, cap.11, p.263-432.

RUTKOSKI, J. K.; WERENICZ, R.; REISCHAK, D.; WENDELSTEIN, A. C.; MOOJEN, V., RAVAZZOLO, A. P. Detecção da infecção pelo vírus da artrite-encefalite caprina: imunodifusão em ágar e reação em cadeia da polimerase com “primers” degenerados. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**. v.53, n.6, 2001, p.635-640.

SAMBROOK, J.; RUSSELL, D. W. **Molecular Cloning: A Laboratory Manual**. 3 ed. New York: Cold Spring Harbor Press, 2001.

SOUZA, H. J. M.; TEIXEIRA, C, H. R. Leucemia viral felina. IN: **Coletânea em Medicina e Cirurgia Felina**. Rio de Janeiro: L. F. Livros, 2003, cap.22, p.251-272.

SOUZA, H. J. M.; TEIXEIRA, C, H. R.; GRAÇA, R. F. S. Estudo epidemiológico de infecção pelo vírus da leucemia e ou imunodeficiência felina, em gatos domésticos do Município do Rio de Janeiro. **Clínica Veterinária**. n.36, 2002, p.14-21.

SPARGER, E. E. Current Thoughts on feline immunodeficiency virus infection. **The Veterinary Clinics of North America**. Small animal practice. v.23, n.1, 1993, p.173-187.

THIZARD, I. R. **Imunologia Veterinária – Uma Introdução**. 2 ed. São Paulo: Roca, 2002.

THOMAS, J.; ROBINSON, W. Infección por el virus de la inmunodeficiencia felina. **Waltham Focus**. v.5, n.2, 1995, p.24-30.

THRUSFIELD, M. **Epidemiologia Veterinária**. 2 ed. São Paulo: Roca, 2004, p.228-232.

TORRES, A. N.; MATHIASON, C. K.; HOOVER, E. A. Re-examination of feline leukemia virus: host relationships using real-time PCR. **Virology**. v.332, 2005, p.272-283.

VOYLES, B. A. **The Biology of Virus** Missouri: Mosby, 1993, p.386.

WHITNEY, C. Feline leukemia virus. **Veterinary Technician**. USA, v.24, n.2, 2003, p.102-109.

WILLETT, B. J.; FLYNN, J. N.; HOSIE, M. J. FIV infection of the domestic cat: an animal model for AIDS. **Immunology Today**, v.18, n.4, 1997, p.182-189.

WILLETT, B. J.; PICARD, L.; HOSIE, M. J.; TURNER, J. D.; ADEMA, K.; CLAPHAM, P. R. Shared usage of the chemokine receptor Cxcr4 by the feline and human immunodeficiency viruses. **Journal of Virology**. v.71, n.9, 1997, p.6415-1997.

YAMAMOTO, J. K. Epidemiology and clinical aspects of feline immunodeficiency virus infection in cats from the continental United States and Canada and possible mode of transmission. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v.5, 1989, p.194-213.

YAMAMOTO, J. K.; SPARGER, E.; HO, E. W.; ANDERSEN, P. R.; O` CONNOR, T. P.; MANDELL, C. P.; LOWENSTEIN, L.; MUNN, R.; PEDERSEN, N. C. Pathogenesis of experimentally induced feline immunodeficiency virus infection in cats **American Journal of Veterinary Research**. v.49, n.8, 1988, p.1246-1258.

YILMAZ, H.; ILGAZ, A.; HARBOUR, DA. Prevalence of FIV and FeLV infections in cats in Istanbul. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. n.2, 2000, p.69-70.

ANEXOS

QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO
Levantamento Sorológico FeLV e FIV em Porto alegre
Pela técnica SNAP COMBO e PCR
Lab. de Virologia-UFRGS

Dados de identificação do Proprietário	Dados de identificação do Paciente
Nome:	Nome:
Endereço:	Idade:
Cidade:	Espécie:
Telefone:	Raça:
Origem do Animal:	Sexo: () F () M Ciclo sexual: () Inteiro () Castrado
	Ambiente onde vive: () Casa () Apto _____
Observações:	Pulgas () Sim () Não Carrapatos () Sim () Não
	Convive com outros animais: () Sim () Não Quantos:
	Vacinas: () Sim () Não Qual:
	Estado de saúde: () Sadio () Doente
	Sintomatologia Clínica: