

Mariana Cabral Campello Duarte Turras

**Estudo da prevalência de FIV/FelV numa população de
88 gatos errantes da região metropolitana de Lisboa**

Orientadora: Professora Doutora Ana Godinho

Co-Orientador: Doutor José Girão Bastos

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2014

Mariana Cabral Campello Duarte Turras

**Estudo da prevalência de FIV/FelV numa população de
88 gatos errantes da região metropolitana de Lisboa**

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

Orientadora: Professora Doutora Ana Godinho

Co-orientador: Doutor José Girão Bastos

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2014

I - Agradecimentos

Em primeiro lugar, quero agradecer à equipa veterinária do Hospital Veterinário Arco do Cego, Joana Crisóstomo, Rita von Bonhorst, Sheila Teodoro e Marina Coelho por ter aceite o meu estágio, e pela forma como me acolheram, ajudando-me a progredir e respondendo a todas as minhas dúvidas, mesmo quando eu parecia um caso perdido.

À professora Ana Godinho por ter aceite orientar esta dissertação e pela paciência e extrema disponibilidade ao longo do tempo que demorou a completá-la.

Ao professor José Girão Bastos por ser um dos melhores professores que tive e por me ter dado o gosto que tenho hoje pela parasitologia.

À minha Lili, a auxiliar veterinária que me ensinou que existe muito mais em veterinária do que aquilo que está nos livros e que corrigiu as minhas asneiras antes que eu pusesse alguém em perigo.

Ao Ivo Espírito Santo por me ter chateado a cabeça até ter a certeza de que algum conhecimento tinha entrado.

Aos amigos que fiz ao longo dos anos, especialmente aqueles que fiz durante a faculdade, em particular aos GFM Ana Margarida Vale, João Almeida, Miguel Vicente, Ricardo Pais e Rui Antunes, por se terem tornado num grupo de amigos inseparáveis que me proporcionou momentos de diversão quando precisava de espairecer e que tornou a minha estadia na faculdade muito mais fácil, mas também à Sofia Cunha, Diogo Carvalheira, Francisco Carvalho e à Isabel Neves, por tudo aquilo que passámos juntos.

Aos meus pais e aos meus irmãos, Miguel, Rita, Inês, Carolina, Zé Maria, Benedita e Salvador por terem sempre apoiado as minhas escolhas e por terem feito de mim a pessoa que sou hoje.

A Luís e Paula Costa por me terem dado apoio, orientação e ovos estrelados em todas as alturas que eu precisei.

Ao meu namorado, Luís Costa, por me ter aturado desde o primeiro ano, mesmo nos momentos mais difíceis, e por toda a paciência que eu sei que foi necessária para se manter sempre ao meu lado.

A todas as pessoas que não foram referidas mas que me acompanharam ao longo deste percurso e que por isso farão sempre parte da minha história.

II - Resumo

A família *Retroviridae* têm grande impacto em Medicina Veterinária, sendo o vírus da imunodeficiência felina e o vírus da leucemia felina os de maior importância na clínica dos animais de companhia devido ao seu envolvimento em diversas doenças neoplásicas, alterações hematológicas e imunossupressão. Uma vez que são doenças crónicas, sem cura e de fácil propagação em populações de elevada densidade, é crucial a realização de acções profiláticas em colónias de gatos errantes, nomeadamente programas de esterilização.

Neste estudo foram testados para FIV e FeLV 88 animais provenientes de colónias de gatos errantes da zona de Lisboa por forma a determinar a prevalência destas doenças nestas populações e a sua possível relação com algumas variáveis epidemiológicas tais como idade, sexo, condição corporal, estado de esterilização, vacinação e desparasitação. Este estudo foi realizado na Clínica Veterinária do Arco do Cego no período compreendido entre 31 de Março de 2013 e 31 de Março de 2014.

Na população estudada o FIV teve uma prevalência de 8%, afectando principalmente machos inteiros adultos, enquanto que o FeLV teve uma prevalência de 5,7%, não sendo possível tirar conclusões quanto ao sexo, idade e estado de esterilização dos animais mais predispostos à infecção por este vírus devido ao reduzido número de animais positivos identificados. Neste estudo a condição corporal e o estado vacinal e de desparasitação foram considerados factores pouco relevantes.

São necessários estudos de longa duração que utilizem uma amostra populacional maior para uma avaliação correcta da importância real das diversas variáveis epidemiológicas sugeridas em infecções por FIV/FeLV.

Palavras-chave: Retrovírus; FIV; FeLV; Epidemiologia; Felinos errantes.

III - Abstract

The retrovirus family has a great impact in veterinary medicine, being the feline immunodeficiency virus and the feline leukemia virus of particular clinical importance in small animal medicine due to their involvement in various neoplastic diseases, hematological changes and severe immunosuppression. Since they cause chronic incurable disease and spread easily within high-density populations, it is important to undergo prophylactic measures such as spay/neuter actions within stray cats colonies.

In this study 88 animals were tested for both FIV and FeLV in order to determine the prevalence of these diseases in several stray cat colonies from the Lisbon area and its connection to epidemiological variables such as age, gender, body condition, reproductive condition, vaccination and deworming. This study was performed in Arco do Cego Veterinary Clinic in Lisbon during the period comprised between the 31st March 2013 and the 31st March 2014.

In our study FIV had a prevalence of 8% and affected mainly sexually intact adult males, whereas FeLV had a prevalence of 5.7 %. It was not possible in this study to draw any conclusions regarding gender, age and state of sterilization for FeLV since the number of obtained samples was too small (n = 5). Body condition, vaccination and deworming status were considered unimportant factors in this study.

It is necessary to perform more studies using a larger population sample and a longer timeframe in order to properly assess the importance of the various epidemiological variables previously suggested in FIV/FeLV infections.

Keywords: Retroviruses; FIV; FeLV; epidemiology; Stray cats.

IV - Lista de siglas e abreviaturas

ADN - Ácido desoxirribonucleico

ARN - Ácido ribonucleico

AZT - Azidotimidina

ELISA - Enzyme-linked immunosorbent assay

enFeLV - Vírus da leucemia felina endógeno

FeLV - Vírus da leucemia felina

FIV - Vírus da imunodeficiência felina

HIV - Vírus da imunodeficiência humana

IFA - Ensaio de imunofluorescência de anticorpos

Gp - Glicoproteína

mARN - Ácido ribonucleico mensageiro

MuLV - Vírus da leucemia murina

P - Proteína

PCR - Polymerase chain reaction

RT-PCR - Reverse transcription polymerase chain reaction

SPA - Proteína A do *Staphylococcus*

WIV - Whole inactivated virus

Índice

I - AGRADECIMENTOS	3
II - RESUMO	4
III - ABSTRACT	5
IV - LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS.....	6
V - ÍNDICE DE TABELAS.....	8
VI - ÍNDICE DE FIGURAS.....	9
VII - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
1 - FAMÍLIA RETROVIRIDAE	10
2 - VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA FELINA.....	10
2.1 - <i>Patogénese e Patologia</i>	11
2.2 - <i>Epidemiologia</i>	12
2.3 - <i>Sinais Clínicos</i>	15
2.4 <i>Diagnóstico</i>	17
2.5 - <i>Prognóstico</i>	19
3 - VÍRUS DA LEUCEMIA FELINA	19
3.1 - <i>Patogénese e Patologia</i>	21
3.2 - <i>Epidemiologia</i>	23
3.3 - <i>Sinais Clínicos</i>	25
3.4 - <i>Diagnóstico</i>	27
3.5 – <i>Prognóstico FIV/FelV</i>	29
4 - TRATAMENTO DE RETROVIROSES FELINAS	29
4.1 - <i>Tratamento geral</i>	30
4.2 - <i>Tratamento sintomático</i>	34
5 - PREVENÇÃO DE RETROVIROSES.....	34
VIII - OBJECTIVOS.....	37
IX - MATERIAL E MÉTODOS	38
1 - AMOSTRA	38
2 - CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA	38
3 - MÉTODOS.....	40
X - RESULTADOS.....	41
XI - DISCUSSÃO	49
XII - CONCLUSÕES	52
XIII - BIBLIOGRAFIA	53

V - Índice de tabelas

TABELA 1 - POSSÍVEIS TIPOS DE INFECÇÃO APÓS A EXPOSIÇÃO A FELV. ADAPTADO DE ETTINGER (2010).....	22
TABELA 2 - FÁRMACOS ANTIVIRAIS E IMUNOMODULADORES UTILIZADOS NO TRATAMENTO DE FIV E FELV.	32
TABELA 3 - AVALIAÇÃO DA CONDIÇÃO CORPORAL EM GATOS (ADAPTADO DE SAUNDERS MANUAL SMALL ANIMAL PRACTICE).....	39
TABELA 4 - FREQUÊNCIA ABSOLUTA E RELATIVA DO SEXO DA AMOSTRA POPULACIONAL EM ESTUDO.	41
TABELA 5 - FREQUÊNCIA ABSOLUTA E RELATIVA DA IDADE DA AMOSTRA POPULACIONAL EM ESTUDO.	41
TABELA 6 - FREQUÊNCIA ABSOLUTA E RELATIVA DO ESTADO DE ESTERILIZAÇÃO DA AMOSTRA POPULACIONAL EM ESTUDO.	41
TABELA 7 - FREQUÊNCIA ABSOLUTA E RELATIVA DA CONDIÇÃO CORPORAL DA AMOSTRA POPULACIONAL EM ESTUDO.....	42
TABELA 8 - FREQUÊNCIA ABSOLUTA E RELATIVA DO ESTADO DE DESPARASITAÇÃO DA AMOSTRA POPULACIONAL EM ESTUDO.	42
TABELA 9 - FREQUÊNCIA ABSOLUTA E RELATIVA DO ESTADO VACINAL DA AMOSTRA POPULACIONAL EM ESTUDO.	42
TABELA 10 - RESULTADOS DOS TESTES RÁPIDOS DE FIV/FELV.....	43
TABELA 11 - RESULTADOS DA CONFIRMAÇÃO COM TESTES PCR.....	43
TABELA 12 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS DIAGNOSTICADOS COM FIV E FELV QUANTO AO SEXO.	44
TABELA 13 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS INFECTADOS QUANTO AO SEU ESTADO REPRODUTIVO.	44
TABELA 14 - RELAÇÃO ENTRE O SEXO E O ESTADO REPRODUTIVO DOS ANIMAIS INFECTADOS COM FIV.	45
TABELA 15 - RELAÇÃO ENTRE O SEXO E O ESTADO REPRODUTIVO DOS ANIMAIS INFECTADOS COM FELV.	45
TABELA 16 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS DIAGNOSTICADOS QUANTO À IDADE.	46
TABELA 17 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS INFECTADOS COM FIV E FELV QUANTO À CONDIÇÃO CORPORAL.....	46
TABELA 18 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS INFECTADOS QUANTO AO ESTADO DE DESPARASITAÇÃO.	47
TABELA 19 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS INFECTADOS QUANTO AO ESTADO VACINAL.	47
TABELA 20 - DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS INFECTADOS QUANTO AO SEGUIMENTO CLÍNICO.....	48

VI - Índice de Figuras

FIGURA 1 - ANATOMIA MOLECULAR DO VÍRUS DA IMUNODEFECIÊNCIA FELINA.	11
FIGURA 2 - DISTRIBUIÇÃO DOS SUBTIPOS A, B, C, D, E, F E U DO FIV.	13

VII - Revisão Bibliográfica

1 - Família Retroviridae

A família *Retroviridae* é composta por 2 subfamílias e 7 géneros, sendo que todos os retrovírus possuem a propriedade de sintetizar uma cópia de ácido desoxirribonucleico (ADN) a partir seu genoma constituído por uma cadeia simples de ácido ribonucleico (ARN) devido à transcriptase reversa, num processo denominado transcrição reversa (Wise & Carter, 2005; Dunham & Graham, 2008; Lairmore, 2011).

Uma característica que diferencia os retrovírus das outras famílias de vírus é o facto de terem um genoma diplóide, constituído por duas cópias de uma cadeia simples de ARN. Durante a transcrição reversa o ARN é convertido em dsADN, que é integrado no genoma da célula hospedeira por uma enzima denominada integrase, formando-se assim o chamado provírus que é essencial para a ocorrência da replicação viral. O provírus pode permanecer latente (através da activação e inactivação de genes específicos) ou produzir ARN mensageiro (mARN) a partir do qual os vários componentes do virão são sintetizados; esses novos viriões são depois libertados por gemulação. Devido à ocorrência de um grande número de mutações durante a replicação do genoma viral, esta família apresenta grande diversidade genética e consegue por essa razão “escapar” à acção do sistema imunitário do hospedeiro. (Harbour *et al.*, 2004; Wise & Carter, 2005; Dunham & Graham, 2008; Lairmore, 2011).

O facto de estes vírus terem como hospedeiros diversas espécies e conseguirem induzir imunossupressão, doenças imunomediadas ou mesmo alguma neoplasias leva a que os retrovírus tenham uma elevada importância em Medicina Veterinária (Harbour *et al.*, 2004; Wise & Carter, 2005; Dunham & Graham, 2008; Lairmore, 2011).

2 - Vírus da imunodeficiência felina

O Vírus da imunodeficiência felina (FIV) é um vírus da subfamília *Orthoretrovirinae* do género *Lentivirus*, devendo-se o nome do género à sua capacidade de se manterem latentes no hospedeiro por longos períodos de tempo, não se replicando mas evitando o reconhecimento por parte dos anticorpos e actuando como um reservatório viral (Lairmore, 2011; McDonnell *et al.*, 2013).

Documentado em 1987, 6 anos depois do vírus da imunodeficiência humana (HIV), o FIV tem sido utilizado como modelo experimental em medicina humana na busca de um tratamento antiviral eficaz para esta doença, uma vez que ambos apresentam uma estrutura

e patogênese muito semelhantes, apesar de os antígenos serem bastante distintos (Bendinelli, *et al.*, 1995; Harbour *et al.*, 2004; Birchard & Sherding, 2006).

Conforme observado na Figura 1, para além dos genes *gag*, *pol* e *env*, comuns a todos os retrovírus, o FIV contém também genes acessórios, responsáveis por manter o estado de latência do vírus. O gene *gag* codifica as proteínas da cápside, da nucleocápside e da matriz. O gene *pol* codifica a transcriptase reversa e a integrase. O gene *env* codifica as proteínas do envelope, nomeadamente as glicoproteínas 120 (gp120) e 41 (gp41) que contribuem fortemente para a diversidade antigénica dos subtipos de FIV e que são de extrema importância para o vírus, uma vez que estão envolvidas na interação deste com os receptores das células, determinando por isso o tropismo do FIV. Além disso, são estas as glicoproteínas que iniciam a fusão do envelope viral com a membrana plasmática da célula hospedeira, sendo o principal alvo da resposta imunitária do hospedeiro (Bendinelli, *et al.*, 1995; Dunham & Graham, 2008; Lairmore, 2011).

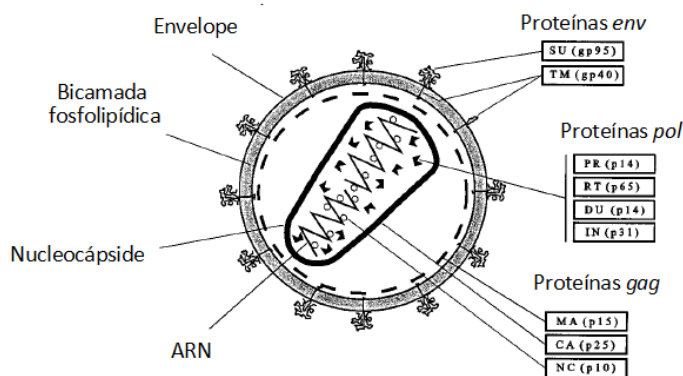


Figura 1 - Anatomia molecular do vírus da imunodeficiência felina. Adaptado de Lairmore (2011).

2.1 - Patogênese e Patologia

O FIV infecta preferencialmente linfócitos T CD4+ ativados (apesar de também infectar macrófagos e células dendríticas), fundindo-se com a membrana plasmática e entrando na célula via gp120. Após transcrição reversa ocorre replicação viral associada com virémia - fase aguda de infecção - sendo os principais órgãos afectados o sistema nervoso central, os pulmões, o timo, os linfonodos mesentéricos e as glândulas salivares. Nesta fase o vírus pode ser isolado em cultura celular e detectado através da polymerase

chain reaction (PCR) 5 dias após infecção nos leucócitos e após 10 dias noutros órgãos, sendo o pico da virémia e de ADN proviral nas células mononucleadas atingido 8 a 10 semanas após o início da infecção. Ocorre ainda um declínio das células CD4+ (linfócitos T-*helper*) e CD8+ (linfócitos citotóxicos) associada a uma forte resposta imune, com formação de anticorpos específicos (podendo estes ser detectados duas semanas após o início da infecção). Esta forte resposta imune leva à supressão da carga viral, aumento das células CD8+ para números superiores aos números de pré-infecção e inversão do rácio CD4+:CD8+. A seroconversão pode demorar mais tempo se o animal for exposto a baixas doses de vírus, o que retarda o aparecimento dos anticorpos (em 10-20% dos animais). No entanto, os números de linfócitos vão gradualmente diminuindo até chegar ao ponto de imunossupressão - síndrome de imunodeficiência adquirida; nesta fase o animal é extremamente susceptível a infecções oportunistas. Os anticorpos formados persistem ao longo de toda a infecção, excepto na fase terminal da doença em que há uma exaustão do sistema imune (Harbour *et al.*, 2004; Dunham & Graham, 2008; Lairmore, 2011).

Após a fase aguda os animais podem ficar assintomáticos durante meses ou mesmo anos, apesar de os linfócitos CD4+ continuarem a diminuir progressivamente. Isto deve-se à capacidade de os anticorpos diminuírem a carga viral em circulação, apesar de nunca eliminarem totalmente o vírus. Está descrito que os linfócitos CD8+ também têm um importante papel na manutenção dos baixos níveis de virémia, apesar de os mecanismos que o possibilitam ainda não terem sido esclarecidos. A duração desta fase varia entre indivíduos, mas um factor importante que leva ao início do aparecimento de sinais clínicos e da fase de imunossupressão é a exposição a outros agentes patogénicos. Apesar de estes terem uma apresentação clínica semelhante em gatos saudáveis e que nunca foram expostos ao FIV, os sinais clínicos são mais severos. Pensa-se que outros factores tais como a idade que o animal na altura de exposição, a via de transmissão, a dose viral a que foi exposto e a variação de patogenicidade entre subespécies de FIV também possam influenciar na progressão da doença (Bendinelli, *et al.*, 1995; Yamamoto *et al.*, 2007; Ettinger & Feldman, 2010; Lairmore, 2011).

Apesar de a sua eficácia ainda não ter sido comprovada, pensa-se que as gatas podem conferir alguma imunidade à ninhada através do colostro. No entanto, foi realizado um estudo que demonstrou que, apesar de os anticorpos garantirem imunidade contra algumas estirpes virais, podem ser ineficazes contra outras (Hosie *et al.*, 1989; Siebelink, *et al.*, 1995).

Apesar das suas semelhanças com o HIV, o FIV não é transmissível ao ser humano (Butera *et al.*, 2000; Johnston *et al.*, 2001).

2.2 - Epidemiologia

2.2.1 - Distribuição e prevalência

Desde a sua descoberta o FIV já foi identificado um pouco por todo o mundo, tendo sido isolado em pelo menos 27 espécies felinas para além do gato doméstico, tais como em leões, pumas, tigres e leopardos (Olmsted *et al.*, 1992; Harbour *et al.*, 2004).

Até à data foram identificados 7 subtipos de FIV (A, B, C, D, E, F e U) com vários graus de virulência e distribuição variável. A sua classificação baseia-se na variação genética do gene *env*, que pode atingir os 26%. Os subtipos F e U foram descobertos recentemente nos Estados Unidos e na Nova Zelândia, sendo no entanto raramente detectados. Os subtipos A e B são os mais frequentes, sendo que o subtipo B é o mais frequente em Portugal, apesar de o subtipo A também estar presente. As diferentes distribuições são demonstradas na Figura 2 (Sodora, *et al.*, 1994; Kakinuma, *et al.*, 1995; Grace, 2011).

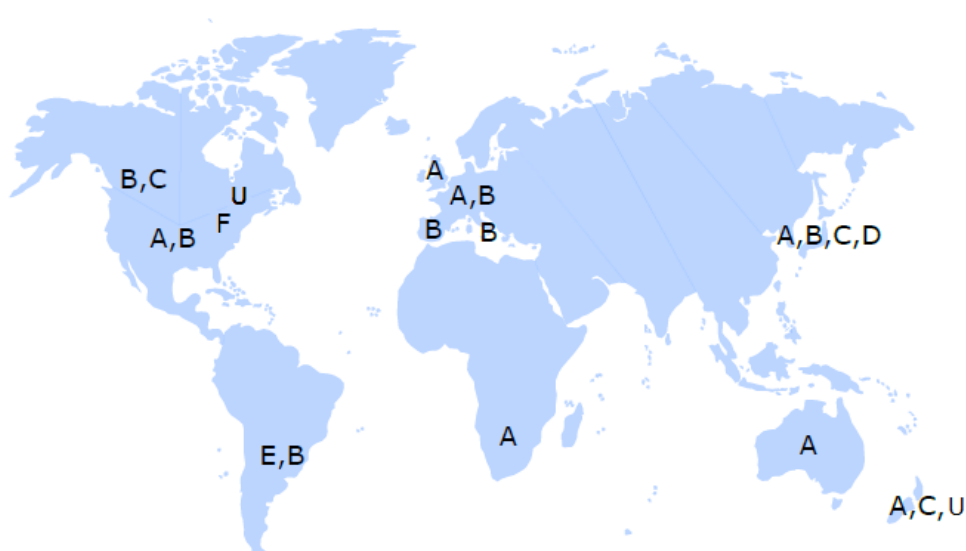


Figura 2 - Distribuição dos subtipos A, B, C, D, E, F e U de FIV. Adaptado de Hosie *et al.* (2009).

A prevalência real deste vírus em gatos domésticos é desconhecida, uma vez que a testagem de animais é voluntária, não há centralização dos dados obtidos e a grande maioria dos testes de diagnóstico rápidos não são confirmados através de técnicas com maior sensibilidade. Tendo em conta os estudos de prevalência existentes baseados em dados recolhidos em clínicas veterinárias, criadores e associações, considera-se que o FIV tem uma seroprevalência altamente variável. Em algumas zonas de Itália e do Japão, em

que quantidade de gatos errantes é maior, calcula-se que a taxa de prevalência esteja perto de 30%, tendo o Japão a taxa mais elevada com cerca de 28,9%. Já no Reino Unido estima-se que esta esteja entre 2 a 4%, assim como nos Estados Unidos da América (EUA), onde um estudo realizado em 2002 revelou que a prevalência estaria entre os 2,3 a 4,3%, enquanto no Canadá esta seria de 5% e no México de 2,5%, neste caso último tendo em conta um estudo realizado a partir de cerca de 200 animais (Olmsted *et al.*, 1992;; Little S., 2005; Birchard & Sherding, 2006; Levy J. K. *et al.*, 2006; Ortega-Pacheco *et al.*, 2013; Ettinger & Feldman., 2010). Para além do mais, um estudo efectuado na Austrália em gatos errantes utilizando testes rápidos de imunocromatografia e confirmados com Western Blot calculou a prevalência de FIV em 8%. (Norris *et al.*, 2007).

Já na Península Ibérica, um estudo realizado em Madrid em 2000 apontou para uma prevalência de FIV entre gatos errantes de 8,3% (Arjona *et al.*, 2000). Em Portugal um estudo efectuado em 2009 em Lisboa testou gatos errantes através de *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) e indicou uma prevalência de 18%, enquanto que em 2010 um estudo semelhante indicou uma prevalência bastante mais baixa, na ordem dos 10%. Mais recentemente, um estudo realizado na zona da Moita em 2012 em gatos errantes calculou que a taxa de prevalência na zona fosse de 22%. (Rosado, 2009; Duarte, 2010; Rodrigues, 2012).

2.2.2 - Vias de Transmissão

A transmissão do FIV em gatos adultos é na maioria dos casos horizontal e através da mordida de animais infectados. Ao contrário do que acontece no caso do HIV, que pode ser transmitido por contacto sexual, não foi documentada até ao momento a transmissão através da via sexual no caso do FIV, apesar de o vírus poder ser encontrado no esperma e de poder ser inoculado experimentalmente na mucosa oral, na vagina e no recto (Olmsted, *et al.*, 1992; Harbour *et al.*, 2004; Birchard & Sherding, 2006).

Apesar de ser pouco frequente em condições naturais, a transmissão vertical é possível. O vírus pode ser transmitido às crias pela mãe quer *in utero* quer na passagem pelo canal de partos (infecção congénita). No entanto, este modo de transmissão não é comum, uma vez que depende muito da carga viral da gata durante a gravidez e na altura do parto. Se a fêmea estiver numa fase de virémia aguda, até 70% da ninhada pode ser infectada. Se a progenitora estiver cronicamente infectada e na fase assintomática, a probabilidade de a ninhada ficar infectada é muito menor. A transmissão através da lactação também é possível, tendo já sido identificado FIV em leite de gatas com níveis de virémia altos, mas a maioria das gatas infectadas só passa colostro com anticorpos FIV, o que faz com que os testes de diagnóstico como o ELISA e Western Blot feitos às crias com menos

de 6 meses (altura em que as crias já não possuem anticorpos maternos) sejam falsos positivos (O'Neil *et al.*, 1995a; O'Neil *et al.*, 1996; Kennedy & Little, 2012; Litster, 2014).

A transmissão indirecta é extremamente improvável, uma vez que é um vírus extremamente frágil no meio ambiente e sensível a desinfetantes comuns, lixívia e ao calor), não resistindo muito tempo no exterior do hospedeiro. Deste modo é possível que gatos infectados partilhem o mesmo espaço com gatos saudáveis sem que estes se tornem seropositivos, apesar de a transmissão ser em teoria possível através do contacto com saliva de um gato infectado no comedouro ou durante o *grooming*, principalmente se lamber feridas ou arranhões do gato infectado (Harbour *et al.*, 2004; Lairmore, 2011).

2.2.3 - Factores de risco:

Existem diversos factores que influenciam a prevalência de FIV numa determinada população. Os machos adultos (6 anos ou mais) inteiros são aqueles com uma maior prevalência de infecção, quatro vezes maior do que a de animais jovens, uma vez que são os mais propensos a lutas e a serem mordidos, sendo os machos três a quatro vezes mais afectados do que as fêmeas (Hosie *et al.*, 1989; Levy J. *et al.*, 2006b; Levy J. , *et al.*, 2008a; Bande, *et al.*, 2012).

A densidade populacional também é um factor importante para a prevalência de FIV, predispondo para disputas por recursos e consequentemente elevando a prevalência viral na população (Hosie *et al.*, 1989; Levy J. *et al.*, 2006b; Bande, *et al.*, 2012).

2.3 - Sinais Clínicos

A sintomatologia do FIV varia consoante a idade do animal, a estirpe, a dose, a via de transmissão do vírus e a exposição concomitante do animal a outros agentes infecciosos (White *et al.*, 2011).

Os sinais clínicos de FIV podem dever-se tanto à infecção viral em si como podem ser consequência da síndrome de imunossupressão associado à infecção. Uma grande parte dos casos clínicos apresenta sintomatologia de doença crónica em episódios recorrentes ou esporádicos. Alguns animais têm uma progressão muito rápida dos sinais clínicos, enquanto que outros não mostram qualquer sinal de deterioração durante anos. No entanto, o mais comum é que à medida que a infecção progride e os níveis de linfócitos descem, os sinais vão-se tornando mais frequentes e mais severos, até o animal entrar na fase terminal (Richards, 2005; Belak *et al.*, 2009).

Cerca de 4 a 6 semanas após a fase inicial de infecção (associada ao aumento da virémia) o animal apresenta apenas sinais moderados que geralmente não são notados, nomeadamente: febre transiente, leucopenia, linfadenopatia generalizada, anorexia e depressão. Alguns animais podem ter alguns sinais mais severos e infrequentes tais como septicémia, dermatite pustular facial, anemia, diarreia e estomatite (Hartmann, 2012; Liem *et al.*, 2013).

Após a fase aguda os animais entram na fase assintomática, durante a qual os animais não demonstram sintomatologia; esta fase é de duração variável, podendo durar anos. É de salientar que a fase assintomática não corresponde à fase de latência característica dos lentivírus, em que não há replicação viral. Apesar de não haver sintomatologia, o vírus está activo e encontra-se no plasma e na saliva na mesma quantidade que aparece em gatos que apresentam sintomatologia, ao contrário do que acontece na fase latente (Ishida *et al.*, 1992; Wise & Carter, 2005; Liem *et al.*, 2013).

A fase assintomática termina quando o contínuo declínio dos linfócitos CD4+ leva a que o animal desenvolva a síndrome de imunodeficiência adquirida. Alguns animais não entram na fase assintomática e passam directamente para a fase terminal. A diminuição dos linfócitos CD4+, juntamente com a imunoestimulação excessiva e a resposta inapropriada dos mecanismos imunes aos antígenos, predispõe os animais a inflamações crónicas e doenças imunomediadas tais como estomatite/gengivite crónica (em mais de 50% dos casos), doença respiratória crónica (cerca de 25% dos animais), glomerulonefrite imunomediada, rinite crónica, linfadenopatia, diarreia crónica, perda de peso e a infecções secundárias por agentes patogénicos oportunistas, tais como o vírus da leucemia felina (FeLV), calicivírus, herpesvírus, *Staphylococcus sp.*, *Pseudomonas sp.* ou *Demodex canis*; estas ocorrem muitas vezes em simultâneo e são resistentes ao tratamento. Para além da ocorrência de infecções oportunistas, esta fase caracteriza-se por uma acentuada perda de peso (mais de 20% dos animais), leucopenia e anemia persistentes (Linenberger & Abkowitz, 1995; Ettinger & Feldman, 2010; Liem *et al.*, 2013).

Para além do mais, o facto de o FIV provocar amiloidose intersticial e glomerular e glomerulonefrite intersticial leva a alterações renais, estando os animais infectados predispostos a insuficiência renal crónica (Baxter *et al.*, 2012; Poli *et al.*, 2012; Asproni *et al.*, 2013).

Já gatos infectados com certas estirpes de FIV em fase terminal ou muito jovens podem apresentar alterações neurológicas tais como anisocoria, diminuição do reflexo pupilar, convulsões, ataxia, tremores de intensão, paralisia (raro) e alterações no ciclo de sono, uma vez que gatos infectados com FIV podem dormir até menos 50% do que gatos saudáveis. Pensa-se que esta alteração do ciclo do sono ocorre quando o FIV infecta

células da microglia e astrócitos, provocando assim danos neurológicos. Estes animais raramente apresentam sinais sistémicos tais como febre ou anorexia (Power *et al.*, 1997; Fletcher *et al.*, 2011; Hartmann, 2012; Liem *et al.*, 2013).

A deposição de complexos imunes na câmara posterior do olho (inflamação da *pars plana*) leva a uma uveíte ligeira, muitas vezes também é associada à inflamação da íris e ao aumento da opacidade do humor aquoso (Willis, 2000; Stiles, 2013).

Também foi estabelecida uma correlação entre uma grande incidência de linfomas das células B e neoplasias mieloproliferativas em gatos infectados com FIV. Já foram igualmente descritos adenocarcinomas, mastocitomas, fibrossarcomas, meningeomas e carcinomas das células escamosas nestes animais. No entanto, uma vez que o FIV é um vírus sem propriedades oncogénicas, pensa-se que estas neoplasias ocorram essencialmente devido ao facto de o animal se encontrar imunodeprimido do que à infecção pelo vírus em si (Magden *et al.*, 2011).

O animal infectado pode apresentar ainda diversas alterações hematológicas, tais como trombocitopenia (primária ou secundária a neoplasias e a displasia medular), prolongamento do tempo de tromboplastina parcial activada e do tempo de trombina, coagulação intravascular disseminada (geralmente secundária a infeções ou neoplasias), neutropenia, anemia não regenerativa e hiperglobulinémia policlonal (Linenberger & Abkowitz, 1995; Hartmann, 2012).

Animais imunodeprimidos e com infeções secundárias podem recuperar se receberem tratamento adequado e regressarem à fase assintomática. No entanto, a esperança de vida de animais em fase terminal é de apenas um ano na maioria dos casos (Hartmann, Clinical Aspects of Feline Retroviruses: A Review, 2012).

2.4 Diagnóstico

A infecção por FIV leva à produção de anticorpos contra diversos antígenos virais, permitindo facilmente o seu diagnóstico por métodos indirectos. No entanto, estes não conseguem distinguir os anticorpos induzidos pela infecção viral dos anticorpos vacinais ou dos anticorpos maternos (Ammersbach & Bienzle, 2011). Estes estão disponíveis comercialmente como testes rápidos serológicos de ELISA e de imunocromatografia, permitindo a detecção de anticorpos contra proteínas estruturais do FIV tais como a p24 da cápside ou a gp41 do envelope. No entanto, em animais suspeitos de terem sido expostos recentemente a FIV o teste deve ser repetido passados 60 dias, uma vez que é possível que ainda não tenha ocorrido seroconversão. Além do mais, estes testes não devem ser feitos em gatinhos até aos seis meses, uma vez que apesar de raramente serem infectados pelas mães, muitos apresentam em circulação anticorpos maternos indistinguíveis dos anticorpos

virais, o que dá origem a uma grande percentagem de falsos-positivos (Lutz, *et al.*, 1988; MacDonald *et al.*, 2004; Ammersbach & Bienzle, 2011). Outros testes indirectos, tais como o Western Blot e a imunofluorescência indirecta, têm sido usados para diagnóstico de FIV. O Western Blot detecta anticorpos contra diversos antígenos virais mas não é mais sensível nem mais específico do que o ELISA. Os testes de imunofluorescência indirecta não devem ser utilizados como testes de confirmação uma vez que têm uma especificidade menor que o ELISA, devendo ser apenas utilizados em rastreios serológicos (Lutz, *et al.*, 1988; Ammersbach & Bienzle, 2011).

Entre os métodos de diagnóstico directos ou de detecção de antígenos o isolamento viral em linfócitos T felinos é considerado o método de diagnóstico de eleição para identificação do FIV. Contudo, é um método laborioso e não está disponível por rotina (Crawford & Levy, 2007; Ammersbach & Bienzle, 2011).

A PCR é muito útil para identificar a presença de FIV, sendo também capaz de detectar ADN proviral. Apresenta uma sensibilidade de 41%-93% e uma especificidade entre 81%-100% em gatos não vacinados (sendo um pouco mais baixa em gatos vacinados contra FIV) mas a sua eficácia depende da estirpe, tendo uma maior sensibilidade para a estirpe A. (Slater *et al.*, 2005; Crawford & Levy, 2007; Ammersbach & Bienzle, 2011; Bienzle *et al.*, 2013).

Em conclusão, caso um animal seja positivo para FIV após a realização de testes rápidos de ELISA é sempre recomendada a confirmação do resultado através outros testes, principalmente se forem animais de baixo risco ou assintomáticos; a PCR é o teste mais utilizado na confirmação de resultados positivos de FIV (Ammersbach & Bienzle, 2011; Little *et al.*, 2013). No entanto, por vezes os resultados do ELISA e da PCR são contraditórios; quando o teste de ELISA dá positivo mas o teste de PCR dá negativo, o PCR pode não ser específico para a estirpe viral de FIV ou o animal terá menos de 6 meses de idade. Já quando o teste de ELISA dá negativo mas o teste de PCR dá positivo, o animal está infectado mas ainda não ocorreu seroconversão (Barr, 1996; Crawford & Levy, 2007; Ammersbach & Bienzle, 2011).

Relativamente à realização de testes rápidos para FIV, devem ser testados:

- Gatos doentes, mesmo que tenham testado negativo no passado;
- Gatos recém-adquiridos, mesmo quando não vão conviver com outros animais, uma vez que é uma doença com impacto significativo na saúde do animal, já que este pode vir a ter acesso à rua e os proprietários podem vir a adquirir mais animais;
- Gatos que testaram negativo mas que foram expostos a animais infectados ou a gatos cujo estatuto é desconhecido, principalmente se foram mordidos. Um

segundo testes dever ser realizado cerca de dois meses após a realização do primeiro para evitar falsos negativos causados por atrasos na seroconversão;

- Gatos que convivam com animais seropositivos para FIV devem ser testados anualmente;
- Gatos com estilos de vida de alto risco, tais como gatos inteiros com acesso à rua ou que vivam em locais com uma grande densidade populacional, devem ser testados regularmente.
- Todos os animais devem ser testados antes de se iniciarem os protocolos de vacinação para FIV e para FeLV.
- Os gatos dadores de sangue para além de testados com testes rápidos, devem ter os resultados confirmados através de PCR (Ettinger & Feldman, 2010).

2.5 - Prognóstico

Embora seja uma doença crónica, os animais infectados por FIV podem viver anos sem qualquer demonstração de sinais clínicos; mesmo após o aparecimento destes, os seropositivos podem manter uma boa qualidade de vida durante alguns meses. Um estudo efectuado ao longo de 6 anos com 67963 animais infectados e saudáveis nos EUA determinou que a taxa de sobrevivência era de 90% nos animais saudáveis, contra apenas 65% nos animais com FIV nesse período de tempo. A maioria das mortes nos animais infectados com FIV decorreu no primeiro ano após o diagnóstico, quer devido a doenças provocadas pelo vírus, quer por eutanásia (para controlo da doença). No entanto, outro estudo efectuado na Alemanha ao longo de 9 anos com 17289 animais não encontrou diferenças significativas na taxa de sobrevivência dos animais (785 dias para gatos saudáveis contra 625 dias para animais infectados) (Lorentzen & Levy, 2006; Gleich *et al.*, 2009).

3 - Vírus da leucemia felina

O vírus da leucemia felina (FeLV) é, tal como o FIV, um retrovírus e pertence ao género *Gammaretrovirus*, um género composto por vírus endógenos e exógenos e classificados quanto à quantidade de hospedeiros que podem afectar e quanto à distribuição de receptores nessa espécie de vírus (Lairmore, 2011).

Observado pela primeira vez em 1964 através do recurso à microscopia electrónica, o FeLV pode infectar para além do gato doméstico uma grande variedade de felídeos, nomeadamente o lince ibérico e o gato montês. Para além da forma exógena do FeLV, são conhecidas duas formas endógenas, o enFeLV e o RD114, este último sem qualquer

potencial patogénico para o animal. Pensa-se que o enFeLV terá tido origem num evento ocorrido há centenas de anos, nomeadamente a integração do vírus da leucemia murina (MuLV) nas células germinais de um gato doméstico após ingestão de ratos infectados. Depois deste acontecimento, todos os descendentes desta linhagem terão herdado enFeLV. No entanto, uma vez que o seu genoma é muito incompleto e não tem capacidade de se replicar de forma independente, o animal portador não desenvolve doença. O facto de a prevalência de enFeLV ser muito variável dentro da mesma raça indica que os animais continuam a estar expostos ao MuLV (Lutz, *et al.*, 2009; Costa & Norsworthy, 2011; Willett & Hosie, 2013).

Tal como todos os retrovírus, o FeLV é um vírus de ARN, possuindo uma estrutura genómica bastante simples composta pelos genes *pol*, *gag* e *env*. O gene *env* codifica as proteínas presentes no envelope viral, como a glicoproteína 70 (gp70) e a proteína transmembranar 15E (p15E). A gp70 é de extrema importância pois é extremamente antigénica e determina o grau de patogenicidade de dado vírus e o seu tropismo. A p15E é responsável por permitir a ligação da gp70 à membrana celular do hospedeiro e pela imunossupressão e anemia não regenerativa observadas em gatos com infecção persistente. O gene *pol* codifica a transcriptase reversa, a protease e a integrase, enquanto que o gene *gag* codifica as proteínas estruturais tais como a proteína 27 (p27), que tem grande importância para o diagnóstico de infecções por FeLV uma vez que se encontram grandes quantidades da mesma tanto no plasma sanguíneo como no citoplasma das células dos animais infectados (Hardy Jr *et al.*, 1976; Lairmore, 2011; Hartmann, 2012).

Este vírus apresenta diversos mecanismos oncogénicos, nomeadamente oncogenes virais (tais como o v-myc), que têm a capacidade de activar proto-oncogenes do hospedeiro e contrariam a acção do gene supressor de tumores e a indução de mutagenese através da inserção de ADN viral no genoma do hospedeiro, o que leva à alteração da estrutura e/ou função de genes geralmente envolvidos na regulação do ciclo celular (Coffin *et al.*, 1997; Lee & Reddy, 1999).

As subespécies de FeLV são morfologicamente distintas, apesar de não ser possível distingui-las com testes de diagnóstico de rotina. A subespécie A é menos patogénica que as outras subespécies, apesar de ser a forma infectante e estar envolvida em todas as infecções por FeLV. A subespécie B surgiu após a recombinação dos genes *env* da subespécie A com o ADN proviral do enFeLV e é responsável por aproximadamente 50% das infecções por FeLV. A transmissão de FeLV B entre gatos é possível, mas apenas se for juntamente com FeLV A. As infecções mistas com FeLV A e FeLV B são muito mais severas do que as infecções com apenas FeLV A, existindo nestes casos um aumento de incidência de doenças neoplásicas (cerca de 30% destes animais desenvolvem linfoma). Já

a subespécie C surge após a ocorrência de mutações no gene *env* da subespécie A, sendo responsável por cerca de 1% das infecções por FeLV. Não é transmissível entre gatos, uma vez que provoca em poucas semanas uma anemia fatal. A subespécie T foi recentemente descoberta e é pouco conhecida. Sabe-se que se deve a uma mutação pontual no gene *env* do FeLV A, com o qual tem 96% de homologia, responsável pela alteração das proteínas de superfície. Por ter tropismo apenas para linfócitos T e por ser extremamente citolítico causa imunossupressão severa (Norsworthy, 1993; Gwynn *et al.*, 2000; Miyazawa, 2002; Ravazzollo & Costa, 2007).

3.1 - Patogénese e Patologia

Diversos fatores como a idade, a carga viral e o subtipo viral, a via de exposição ao vírus, o estado imunitário do animal e a presença de doenças concomitantes podem influenciar o modo como a infecção por FeLV progride (Lairmore, 2011).

A classificação da infecção viral por FeLV e das suas fases tem em conta o tipo de resposta imunitária à infecção, sendo denominadas de: infecção regressiva com eliminação da infecção, infecção progressiva, infecção regressiva com latência e infecção na forma atípica. A progressão da doença pode também ser dividida em seis etapas, ocorrendo as primeiras três etapas entre 2-12 dias após o início da infecção (Torres *et al.*, 2005).

O FeLV penetra no organismo através da orofaringe e replica-se nos tecidos linfóides locais e linfonodos regionais (1ªetapa), infectando posteriormente monócitos e linfócitos (2ªetapa) que são depois transportados via sanguínea para a medula óssea e outros órgãos linfóides como o timo, baço e linfonodos distantes (3ªetapa), onde se replica rapidamente nas células em mitose (4ªetapa). Entre 4-6 semanas depois, o vírus difunde-se a partir destes locais pelo corpo através do plasma (5ªetapa) e infecta células epiteliais de vários órgãos como as glândulas salivares, mucosa nasal e orofaringe, de onde é posteriormente excretado através de fluídos corporais como a saliva (6ªetapa). O tempo de incubação desde o momento em que começam as alterações genéticas até que se desenvolvem de facto doenças associadas ao FeLV varia entre 2-4 anos (Horzinek *et al.*, 2007; Hartmann, 2012).

Este ciclo pode durar semanas a meses, apesar de poder ser interrompido pelo sistema imunitário em qualquer altura. Se a infecção é debelada antes do o vírus infectar a medula óssea o animal nunca entra em fase de virémia secundária e o vírus é eliminando totalmente do organismo. Tal é possível quando o animal infectado produz anticorpos contra a gp70, restringindo assim a replicação viral e a capacidade do vírus de penetrar nas células do hospedeiro. Estamos neste caso na presença de uma infecção regressiva com eliminação da infecção (Kahn, 2007; Hartmann, 2012).

Se a resposta imunitária for mais tardia ocorre uma virémia transitória que pode durar semanas ou meses. Neste caso a reactivação viral é possível mas provavelmente incomum. Estes animais raramente excretam o vírus e geralmente não desenvolvem sinais clínicos associados à doença, sendo possível na maioria dos casos eliminar a infecção. a presença de ADN proviral pode ser detectada por PCR, considerando-se por isso que o vírus está em estado latente sob a forma proviral ou que estamos na presença de uma infecção regressiva com latência. Cerca de 10% dos animais testados apresentam esta forma da doença. (Pacitti & Jarrett, 1985; Levy J. , *et al.*, 2008a; Costa & Norsworthy, 2011).

Nos casos em que a virémia secundária se completa ocorre infecção das células epiteliais de vários órgãos e já não é possível ao sistema imunitário eliminar o vírus do organismo, estabelecendo-se assim uma virémia persistente. Este tipo de infecção é denominada de infecção progressiva, estando as 6 fases de infecção previamente descritas presentes (Boretti, *et al.*, 2004; Hartmann, 2006).

Em casos muito raros os animais são parcialmente imunes ao FeLV a infecção pode ficar circunscrita a alguns órgãos específicos, tais como o epitélio das glândulas salivares, não ocorrendo nem excreção viral nem sintomatologia típica de infecção por FeLV. Neste caso estamos na presença de uma infecção atípica, que pode evoluir quer para infecção latente quer para infecção progressiva.

Tabela 1 - Possíveis tipos de infecção após a exposição a FeLV. Adaptado de Ettinger (2010).

	Antigénio p27 no sangue	Cultura viral de sangue	Cultura viral de tecidos	ADN proviral no sangue	Excreção de vírus	Doenças associadas a FeLV
Infecção regressiva com eliminação de infecção	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Pouco provável
Infecção progressiva	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Muito Provável
Infecção regressiva com latência	Transitória	Transitória	Transitória	Positivo	Negativo	Pouco provável
Infecção atípica	Negativo	Negativo	Positivo	Desconhecido	Variável	Desconhecido

A tabela 1 apresenta um resumo dos vários tipos de progressão da infecção por FeLV acima descritos e qual o resultado obtido para cada caso após a realização de vários testes diagnósticos (Pacitti & Jarrett, 1985; Hartmann, 2006).

A grande maioria dos animais que conseguem debelar a infecção por FeLV apresentam altos níveis de anticorpos antivirais específicos contra os componentes virais. No entanto, nem todos os animais apresentam altos níveis de anticorpos, o que leva a suspeitar que os linfócitos T citotóxicos também têm um importante papel na eliminação viral, tendo já sido demonstrado que linfócitos T específicos contra o vírus aparecem antes dos anticorpos neutralizantes. Não só estes anticorpos protegem os animais de reinfeções com FeLV, como podem ser transmitidas às ninhadas, embora não tenham qualquer efeito se a virémia já se tiver estabelecido (Flynn *et al.*, 2002).

Uma vez que se determinou laboratorialmente que o FeLV B e o FeLV C podem infectar células humanas, a hipótese de animais infetados com FeLV poderem transmitir a doença aos donos tem sido estudada. No entanto, estudos epidemiológicos não encontraram qualquer associação entre a ocorrência de leucemias e o contacto com gatos com FeLV, nem qualquer evidência serológica de que tal seja possível. Um estudo utilizou PCR para determinar se existiriam sequências de ADN viral na medula óssea de humanos com tumores hematológicos, tendo os resultados sido negativos (Donaldson *et al.*, 1994; Nowotny *et al.*, 1995).

3.2 - Epidemiologia

3.2.1 - Distribuição e prevalência

A prevalência de FeLV e das doenças a ele associadas tem vindo a diminuir progressivamente desde a década de 80 devido à implementação de programas agressivos de diagnóstico e prevenção, apesar de ainda ser considerada uma das doenças infecto-contagiosas mais comuns entre os gatos domésticos. (Meichner *et al.*, 2012)

O FeLV tem uma distribuição mundial e a sua prevalência é grandemente influenciada pela densidade populacional, apesar de, ao contrário do que acontece com o FIV, se manter constante entre 1-8%. Poucos estudos foram feitos para determinar a prevalência em diferentes países, apesar de se considerar que na maioria dos países europeus e no Canadá esta é aproximadamente cerca de 1%. Contudo, a prevalência é muito diferente entre gatos errantes e gatos com donos. Esta mantém-se constante em gatos errantes, mas numa casa com diversos gatos e sem quaisquer medidas de prevenção pode atingir valores tão altos como 20% (Levy J. K. *et al.*, 2006; Ettinger & Feldman., 2010).

Um estudo efectuado na Polónia com 676 animais determinou que a prevalência de FeLV nesse país é de 6,4%. Num estudo realizado nos EUA com 18000 gatos testados 2,3% obtiveram resultados positivos para FeLV (Levy J. K. *et al.*, 2006; Rypula *et al.*, 2014).

Em Portugal, estudos efectuados na Moita determinaram que a prevalência desta doença seria de 10%, enquanto que um estudo efectuado em Lisboa determinou que esta seria de 10,9%. Outro estudo obteve resultados semelhantes, calculando que a prevalência seria cerca de 10.2%. (Rosado, 2009; Duarte, 2010; Rodrigues, 2012).

De todos os animais que têm contacto com o vírus, apenas 30% desenvolvem virémia persistente com infecção progressiva. Cerca de 40% dos animais infectados consegue desenvolver anticorpos contra o antigénio p15E, desenvolvendo apenas a infecção regressiva com eliminação da infecção e 28% dos animais desenvolve infecção regressiva com latência. Somente 5-10% dos animais desenvolvem infecção atípica (Barr, 1996; Hartmann, 2006).

3.2.2 - Vias de transmissão

O vírus encontra-se presente em secreções de animais infectados, tais como a saliva, secreções nasais, fezes e leite. A transmissão é principalmente horizontal pela via oronasal, principalmente através de *grooming*, apesar de também poder ocorrer através de mordidas como no caso do FIV. A transmissão vertical durante a gravidez é possível, apesar de geralmente resultar em morte embrionária e nados-mortos. Os gatinhos que sobrevivem nascem infectados e morrem rapidamente. Se a fêmea apresentar infecção regressiva com latência é pouco provável que transmita o vírus à ninhada, apesar de alguns gatinhos poderem ser virémicos após o nascimento. Este fenómeno deve-se ao facto de o vírus poder manter-se latente na glândula mamária até ao desenvolvimento da mesma no período final da gravidez. Gatinhos de gatas que tenham tido uma infecção regressiva com eliminação da infecção adquirem anticorpos que lhes conferem imunidade durante 2-3 meses (Hardy Jr *et al.*, 1976; Pacitti *et al.*, 1986; Lutz *et al.*, 2009; Costa & Norsworthy, 2011).

3.2.3 - Factores de risco

O principal factor que determina se um animal exposto a FeLV desenvolve ou não a doença é a idade que tinha quando foi infectado. Animais infectados até aos 4-5 meses têm uma maior probabilidade de desenvolver uma infecção progressiva, idade a partir da qual os animais começam a desenvolver resistência à infecção. Contudo, animais adultos podem

tornar-se susceptíveis à infecção se forem expostos durante longos períodos de tempo. (O'Connor Jr *et al.*, 1991; Levy J. K. *et al.*, 2006; Grenacher *et al.*, 2009).

Outros factores de risco incluem doenças concomitantes, grande densidade populacional, falta de higiene do ambiental e acesso ao exterior. Os machos adultos também parecem ter uma maior predisposição para infecção por FeLV, uma vez que são os animais que mais facilmente se envolvem em lutas com outros gatos. Apesar disso, há autores que defendem que não existe qualquer predisposição de género. Para além disso, casas com múltiplos gatos também estão predispostas à transmissão do FeLV, particularmente através do *grooming* (Ettinger & Feldman, 2010; Bande *et al.*, 2012).

3.3 - Sinais Clínicos

Os sinais clínicos de FeLV apenas se desenvolvem em animais persistentemente infectados. Apesar de poder ocorrer em gatos de qualquer idade, afecta geralmente animais com cerca de 2-4 anos de idade, uma vez que a maioria é infectada durante as primeiras semanas de vida e os animais jovens são mais susceptíveis (Lutz *et al.*, 2009).

O FeLV pode provocar múltiplas doenças muito variáveis entre si, sendo na maioria dos casos potencialmente fatais. As mais comuns são os linfomas (linfossarcomas), leucemias mielóides e linfóides, anemia, imunossupressão, enterite, supressão da medula óssea e desordens reprodutivas (Lutz *et al.*, 2009).

Algumas proteínas virais são directamente imunossupressoras, como a p15E, que afeta a acção da interleucina 2 e impede por isso a maturação dos linfócitos B. Ao contrário do FIV, que é extremamente específico para determinados linfócitos, o FeLV afecta uma grande variedade de leucócitos, provocando neutropenia e alterações na função dos neutrófilos, linfopenia com perda de linfócitos CD4+ e CD8+ e atrofia do timo (Lafrado *et al.*, 1987; Mehrotra *et al.*, 2003).

Os animais infectados são sempre imunodeprimidos, independentemente do facto de exibirem sintomatologia ou não, com diminuição do número de anticorpos ou atrasos na resposta imune. Assim sendo, os gatos infectados ficam susceptíveis a microrganismos a que normalmente seriam resistentes, tais como *Salmonella spp.*, e têm uma resposta mais exacerbada a microrganismos como *Mycoplasma haemofelis* e *Cryptococcus spp.* Podem ainda demonstrar sinais clínicos de doenças crónicas como estomatite ou gengivite crónica, sendo por norma mais difícil tratar doenças simples como abscessos, uma vez que estes têm tendência a recorrer devido à imunossupressão (Tenorio *et al.*, 1991; Lutz *et al.*, 2009; Shalev *et al.*, 2009).

Os animais infectados desenvolvem diversos tipos de anemia, sendo a maioria do tipo não-regenerativa. As anemias regenerativas são raras e devem-se sobretudo a infecções secundárias, como por *Mycoplasma haemofelis* por exemplo, ou a processos imunomediados que provocam hemólise dos eritrócitos. A causa mais comum de anemia não regenerativa é a hipoplasia eritróide, uma doença degenerativa e fatal. O vírus provoca mielossupressão, por aplasia eritrocitária ou por pancitopenia, impedindo a diferenciação dos precursores dos eritrócitos na medula óssea, o que leva a uma anemia macrocítica. (Kociba, 1986; Quigley *et al.*, 2000).

Os linfomas induzidos por FeLV estão entre os tumores mais comuns nos gatos (cerca de 70% de todos os linfomas), tendo os animais infectados 6 vezes mais probabilidade de desenvolver este tipo de tumor do que os animais saudáveis. Os diferentes tipos de linfoma são classificados consoante as suas localizações mais frequentes, sendo reconhecidas 4 formas: a forma tímica ou mediastínica, a mais comum em gatinhos; a forma alimentar, onde as células tumorais estão associadas ao tracto gastrointestinal e que ocorre essencialmente em animais mais idosos; a forma multicêntrica ou periférica, que afeta os linfonodos; a forma atípica ou extranodal, em que os tumores estão associados aos rins, à pele, olhos ou ao sistema nervoso. Estes tumores afectam tipicamente os linfócitos T e independentemente da sua localização o seu aspecto é semelhante, com lesões de tamanho variável, firmes e homogêneas compostas por linfócitos neoplásicos (Boretti *et al.*, 2004; Louwerens *et al.*, 2005; Fujino *et al.*, 2008; Mochizuki *et al.*, 2011; Stützer *et al.*, 2011).

Também pode ocorrer mielodisplasia associada ao aparecimento de anemia não regenerativa e anomalias na maturação celular na medula óssea. Nestes casos é comum ocorrer ainda mielofibrose, granulopenia e trombocitopenia. A partir do momento que as células blásticas compreenderem mais de 30% da medula óssea passamos a ter leucemia, ocorrendo a progressão para este estado geralmente semanas a meses após o diagnóstico de mielodisplasia (Carmichael *et al.*, 2002; Levy *et al.*, 2006b; Lutz *et al.*, 2009). As leucemias associadas ao FeLV podem afectar várias das várias linhas medulares, afectando elementos eritróides (eritroleucemia, reticuloendoteliose), mielóides (leucemias granulocíticas, monocíticas ou mielomonocíticas) ou megacariócitos. Se houver envolvimento de células estaminais pode ainda afectar várias linhagens celulares (Carmichael *et al.*, 2002; Levy *et al.*, 2006b; Lutz *et al.*, 2009).

A leucemia linfoblástica aguda é caracterizada por infiltração da medula óssea (e possivelmente outros órgãos) por linfoblastos, e é muitas vezes acompanhada por anemia e blastos em circulação. A diferenciação entre leucemia linfoblástica e linfoma é difícil, sendo os tratamentos similares. Praticamente todos os animais com leucemia linfoblástica aguda são FeLV positivos. Por outro lado, a leucemia linfocítica crónica não está associada ao

FeLV. Pode ainda ocorrer mielofibrose, uma proliferação de fibroblastos que resultam em osteosclerose medular (Carmichael *et al.*, 2002; Levy *et al.*, 2006b; Lutz *et al.*, 2009).

Também podem ocorrer anemias hemolíticas, glomerulonefrites e poliartrites, situações que podem ser causadas pela deposição de complexos antígeno-anticorpo em vários locais do organismo, juntamente com a diminuição da actividade das células supressoras T, responsáveis pela regulação do sistema imune (Cohn, 2006; Lutz *et al.*, 2009). A chamada linfadenopatia periférica também está associada ao FeLV; apesar de ser benigna é muitas vezes confundida com linfoma. Outras afecções tais como doenças hepáticas degenerativas e inflamatórias e enterite crónica associada à degeneração do epitélio intestinal e necrose das criptas intestinais já foram associadas a infeções por FeLV (Cohn, 2006; Lutz *et al.*, 2009).

Sinais clínicos como anisocoria, midríase, síndrome de Horner, incontinência, vocalização anormal, hiperestesia, parésia e paralisia são comuns em gatos infectados com FeLV. As doenças neurológicas não parecem estar associadas a linfoma do sistema nervoso central ou a infeções oportunistas, mas antes a efeitos directos do vírus (Dow & Hoover, 1992; Carmichael *et al.*, 2002).

3.4 - Diagnóstico

Ao contrário do que acontece com o FIV, o diagnóstico com base na detecção de anticorpos tem pouco valor, uma vez que muitas vezes os gatos desenvolvem anticorpos contra o seu próprio vírus endógeno, não significando que estão de facto infectados com FeLV e dando origem a muitos falsos-positivos. Assim sendo, são os métodos de diagnóstico directo que têm maior valor (Sparkes, 2003; Pinches *et al.*, 2007). Uma vez que estes testes detectam antígenos e não anticorpos, os anticorpos maternos e os anticorpos vacinais não interferem com os testes, reduzindo assim o número de falsos positivos (Hartmann, 2012).

O teste ELISA permite a proteína da cápside p27 presente no soro ou no sangue mas só tem resultados positivos 1 a 2 semanas após o início da virémia, o que leva a que seja desaconselhada a sua utilização. Apresenta anticorpos com epítomos específicos para a p27 fixos numa fase sólida. Este método possui uma especificidade superior a 98% e uma sensibilidade de cerca de 90%. Por ser um método barato e facilmente disponível e é o método mais utilizado em clínicas veterinárias para o diagnóstico de FeLV. A imunocromatografia tem uma sensibilidade e especificidade semelhantes ao teste ELISA (Hartmann, 2012; Kim *et al.*, 2014; Boenzli *et al.*, 2014).

O ensaio de imunofluorescência indirecta (IFA) foi o primeiro método de diagnóstico que permitiu detectar gatos virémicos na prática clínica comum em 1973. Permite a detecção de proteínas expressas pelo gene *gag* em amostras de sangue mas apenas 6 a 8 semanas após a exposição. Uma vez que detecta o FeLV em leucócitos podem ocorrer falsos negativos se o animal tiver leucopenia (Hawks *et al.*, 1991; Hartmann, 2006; Hartmann, 2012).

Uma vez que numa fase inicial de infecção um animal pode haver resultados discordantes entre os testes ELISA e imunofluorescência, dando o teste ELISA positivo e teste IFA negativo, estes devem ser repetidos dentro de 1 a 3 meses. Se estes resultados se mantiverem, deve ser feito um teste confirmatório com PCR (Cohn, 2006; Levy J. *et al.*, 2008a; Dunham & Graham, 2008).

Existem diversos motivos para ocorrerem falsos positivos e negativos em testes de ELISA. Animais em fase de regressão da infecção poderão apresentar virémia transitória com resultado positivo do teste ELISA, mas se este for repetido alguns meses depois o resultado será negativo. O oposto pode acontecer se o animal apresentar uma infecção latente, não sendo nestes casos possível detectar antígenos em circulação através do teste ELISA. Os resultados poderão ser discordantes durante anos até à reactivação do vírus (Jarrett & Hosie, 2004).

O isolamento viral é, tal como no FIV, o teste de eleição para o diagnóstico de FeLV, tendo uma sensibilidade extrema e permitindo a detecção do vírus em fases iniciais de infecção. No entanto, não é utilizado por rotina na prática clínica devido ao seu custo e dificuldade de realização (Hartmann, 2006; Lutz *et al.*, 2009).

A PCR pode ser executada de duas maneiras: para detecção e quantificação de provírus (PCR) ou para detecção de ARN viral (*reverse-transcription polymerase chain reaction* - RT-PCR). O PCR não permite distinguir entre FeLV endógeno e exógeno, tendo no entanto uma alta sensibilidade (perto de 90%) e especificidade (100%). É utilizado muitas vezes em casos em que os resultados discordantes se mantêm durante muitos meses (ELISA positivo e IFA negativo), ou quando o animal apresenta sintomatologia altamente suspeita de FeLV mas é antigenicamente negativo. Apesar de geralmente se utilizar o sangue para a realização deste teste, também se pode utilizar medula óssea, amostras de tecidos ou mesmo saliva. Estudos demonstraram que entre 5-10% dos animais que testaram negativo em testes de detecção de antígenos testaram positivo quando utilizada a PCR (Hofmann-Lehmann *et al.*, 2001; Gomes-Keller *et al.*, 2006; Cattori, *et al.*, 2008; Willi *et al.*, 2008).

A técnica de detecção e quantificação de ARN viral utilizando RT-PCR pode ser feita com amostras de sangue, soro, saliva ou fezes e é muito útil, uma vez que permite a

detecção do vírus na ausência de células, ao contrário da PCR. A RT-PCR é extremamente fiável em todos os tipos de infecção do FeLV excepto durante a fase latente, uma vez que neste caso não há virémia e o vírus encontra-se presente no organismo apenas como provírus. (Lutz *et al.*, 2009).

Os primeiros testes ELISA para diagnóstico de FeLV que apareceram no mercado eram testes indirectos, tal como acontece com o FIV. No entanto, uma vez que não é possível distinguir anticorpos maternos e vacinais dos anticorpos virais, muitos animais são dados como falsos-positivos. O facto de os anticorpos detectarem tanto virais como não virais também leva a um aumento de falsos positivos (Flynn *et al.*, 2002). No entanto, pensa-se que testes ELISA para detecção de anticorpos específicos para a proteína p15E possam ter algum valor, pois apesar de terem uma sensibilidade de apenas 77,1% e uma especificidade de 85,6%, o facto de animais vacinados terem níveis mínimos destes anticorpos faz com que este teste permita distinguir animais naturalmente infectados de animais vacinados, o que é impossível com outros testes de detecção indirectos (Boenzli *et al.*, 2014).

3.5 – Prognóstico FIV/FeLV

Animais infectados por FeLV mas que não tenham outras doenças concomitantes podem manter-se saudáveis por meses ou mesmo anos antes de demonstrarem sintomatologia. Um estudo efectuado nos EUA ao longo de 6 anos que visava determinar qual a esperança de vida de 67963 gatos infectados constatou que 51% dos animais já não se encontravam vivos, quer devido a patologias não relacionadas com FeLV quer devido a eutanásia devido a patologias ligadas ao FeLV. Um estudo realizado na Alemanha determinou que a esperança de vida de gatos infetados com FeLV era de 732 dias, significativamente mais curta que a dos gatos saudáveis. No entanto, considera-se que a maioria dos animais infectados com virémia persistente tem uma esperança de vida de cerca de 2-3 anos após o aparecimento dos primeiros sinais clínicos (Lorentzen & Levy, 2006; Gleich *et al.*, 2009).

Quanto aos animais com infecção latente, considera-se que apenas 8% permanece com o vírus latente na medula óssea até 3 anos após a infecção, havendo pouca probabilidade de o animal reactivar o vírus e morrer como consequência do mesmo (Harbour *et al.*, 2004).

4 - Tratamento de retrovíroses felinas

Ainda não é conhecido nenhum tratamento eficaz na eliminação do FIV ou do FeLV uma vez que a infecção esteja instalada. É aceite que uma vez infectado, o animal permanece assim para o resto da sua vida. No entanto, esforços são feitos para travar a progressão da doença controlando os níveis de virémia e fortalecendo o sistema imunitário dos animais infectados (Cohn, 2006; Ettinger & Feldman, 2010).

4.1 - Tratamento geral

O isolamento do animal infectado é essencial, uma vez que estes precisam de ser protegidos de infecções secundárias, pois existem evidências de que não só estes animais são mais susceptíveis a agentes patogénicos comuns, como estas infecções podem despoletar a fase terminal de FIV. No entanto, é uma medida difícil de cumprir em locais com grande densidade populacionais (Levy J. *et al.*, 2008a; Ettinger & Feldman, 2010). O controlo veterinário a cada seis meses destes animais é aconselhado, verificando-se o peso do animal e fazendo controlos laboratoriais que devem incluir um hemograma, um painel bioquímico e urianálise (Richards, 2005; Levy J. *et al.*, 2008a; Ettinger & Feldman, 2010).

A vacinação de gatos infectados contra outros agentes patogénicos tais como o herpesvírus ou calicivírus é ainda debatida pela comunidade científica. Embora o sistema imune dos animais seropositivos assintomáticos reaja fortemente à vacinação e tenha sido feito um estudo que demonstra que o FIV e o FeLV não interferem com a resposta à vacinação, teme-se que a estimulação do sistema imunitário provocada pela vacina possa levar à progressão da doença. É por isso recomendado o uso de vacinas inactivadas em vez de vacinas modificadas vivas (Richards *et al.*, 2006; Belak *et al.*, 2009; Ettinger & Feldman, 2010).

É aconselhada ainda a administração profilática de antibióticos a animais infectados antes de uma cirurgia, pois apesar de os animais suportarem bem os procedimentos ficam mais expostos a agentes patogénicos secundários. Durante o internamento não devem ser expostos a outros gatos doentes, principalmente aos que têm doenças infecciosas respiratórias (Levy J. *et al.*, 2008b; Belak *et al.*, 2009; Lutz *et al.*, 2009).

Uma boa alimentação é importante, principalmente em animais assintomáticos, para evitar o desenvolvimento da doença. Deve ser também evitada uma alimentação à base de alimentos crus para limitar a exposição a agentes infecciosos secundários (Lutz *et al.*, 2009).

O tratamento antiviral para FIV e FeLV está ainda em desenvolvimento e a maioria dos fármacos desenvolvidos não são utilizados devido a problemas de toxicidade, falta de eficácia, custos muito altos ou simplesmente porque não estão disponíveis no país. Os agentes antivirais interferem com a replicação viral através de diversos mecanismos, tais

como: impedindo o vírus de interagir com os receptores da célula; inibindo a fusão da membrana viral com a membrana celular; bloqueando a transcrição reversa; impedindo a integração do ADN viral no ADN celular; inibindo a maturação viral (Mohammadi & Bienzle, 2012; Taffin *et al.*, 2014).

A utilização de interferão tem tido sucesso devido às suas propriedades antivirais e imunoestimulantes. Dois tipos de interferão são utilizados, o interferão-ómega felino e o interferão-alfa humano. O interferão-gamma felino não pode ser utilizado, uma vez que não tem quaisquer propriedades antivirais, aumentando inclusive a replicação viral. O interferão-ómega felino parece ter tido bons resultados desde que foi introduzido na Europa, inibindo a replicação viral mas não conseguindo reverter a virémia. No caso do FeLV tem tido também bons resultados na regressão de sinais clínicos e no aumento da esperança média de vida dos animais infectados. O interferão-alfa humano parece diminuir inicialmente os níveis de virémia mas torna-se inactivo ao fim de seis a sete semanas, altura em que os gatos desenvolvem anticorpos contra a proteína humana (Lutz *et al.*, 2009; Gómez *et al.*, 2012; Gil *et al.*, 2013).

O tratamento antiviral mais utilizado contra retrovíroses é a azidotimidina (AZT), um nucleosídeo que tem a capacidade de travar a transcrição reversa. O tratamento por este composto pode ser tolerado pelos animais infectados durante cerca de dois anos. Para além de ter um efeito antiviral, a AZT tem também um efeito imunomodulador. Estudos comprovam que consegue aumentar o rácio de CD4+/CD8+ e melhora notoriamente alguns sinais clínicos, nomeadamente a estomatite/gengivite e os sinais neurológicos associados ao FIV. No entanto, os seus efeitos mielossupressores levam ao aparecimento de anemias não regenerativas, sendo necessário controlar regularmente o hematócrito dos doentes. Se o hematócrito baixar a níveis abaixo de 20%, o tratamento tem de ser interrompido e só pode ser retomado duas a três semanas depois com metade da dose. Para além do mais, devido às mutações genéticas constantes do FIV os animais tornam-se resistentes ao tratamento (Bisset L.R., 2002; Sellon & Hartmann, 2006; Belak *et al.*, 2009).

Foi demonstrado num estudo que a administração isolada de AZT ou em combinação com outro inibidor da transcrição reversa é eficaz na prevenção de FIV em gatos recentemente expostos ao vírus. No entanto, não demonstrou ter valor terapêutico no caso de gatos cronicamente infectados (Arai *et al.*, 2002; Bisset L.R., 2002). Já no caso de animais infectados com FeLV deve-se ter em atenção que, apesar dos seus benefícios, pode provocar uma anemia não regenerativa, sendo perigosa a sua utilização em animais que já apresentam sinais de leucemia eritróide (Ettinger & Feldman, 2010).

O inibidor de proteases TL-3 deu algumas provas de prevenir e até fazer regredir as alterações de sistema nervoso central provocadas por retrovíroses. Algumas citocinas tais

como a eritropoetina ou o factor estimulador de colónias de granulócitos (G-CSF) também deram provas de ser eficazes no caso de neutropénia ou anemia provocadas por retrovírus, em especial no caso do FIV. No entanto, os animais desenvolvem anticorpos contra estas substâncias passadas poucas semanas após o início do tratamento (Huitron-Resendiz *et al.*, 2004; Phillips *et al.*, 2005).

A utilização de imunoestimulantes inespecíficos tem tido resultados discrepantes. Se por um lado estimulam o sistema imunitário enfraquecido do animal, permitindo-lhes controlar os níveis de virémia, ao levarem à activação de células infectadas aumentam também o nível de replicação viral, devendo por isso ser usados com cuidado, uma vez que não existem estudos que comprovem a sua eficácia (Birchard & Sherding, 2006; Belak *et al.*, 2009).

A *Staphylococcus Protein A* (SPA) actua como imunomodulador, mas, apesar de num estudo os donos notarem diferenças significativas na saúde dos seus animais, não se detectou qualquer diferença clínica no estado dos animais (McCaw *et al.*, 2001).

A Tabela 2 demonstra diversos fármacos utilizados no tratamento de FIV e FeLV, e quais os resultados dos estudos feitos) para confirmar a sua eficácia.

Tabela 2 - Fármacos antivirais e imunomoduladores utilizados no tratamento de FIV e FeLV.

Droga	Categoria	Vírus	Estudos controlados efectuados em animais naturalmente infectados
Azidotimidina (AZT)	Antiviral	FIV/FeLV	Melhorou os sinais clínicos associados
Acemannan	Imunomodulador	FIV/FeLV	Sem estudos efectuados
Bacilo de Calmette-Guérin	Imunomodulador	FIV/FeLV	Sem estudos efectuados
Lactoferrina bovina	Imunomodulador	FIV/FeLV	Sem estudos efectuados
Didanosina	Antiviral	FIV/FeLV	Sem estudos efectuados
Dietilcarbamazina	Imunomodulador	FIV/FeLV	Sem estudos efectuados
Interferão-ómega felino	Imunomodulador, Antiviral	FIV/FeLV	Melhorou a esperança média de vida
Levamisol	Imunomodulador	FIV/FeLV	Sem estudos efectuados
Imunomodulador de linfócitos T	Imunomodulador	FIV/FeLV	Sem estudos efectuados

PIND-AVI, PIND-ORF	Imunomodulador	FIV/FeLV	Sem efeito
<i>Propionibacterium acnes</i>	Imunomodulador	FIV/FeLV	Sem estudos efectuados
Interferão-alfa recombinante humano	Imunomodulador, Antiviral	FIV	Diminuiu níveis de virémia
<i>Serratia marcescens</i>	Imunomodulador	FIV/FeLV	Sem estudos efectuados
<i>Staphylococcus protein A</i>	Imunomodulador	FIV/FeLV	Sem efeito
Suramina	Antiviral	FIV/FeLV	Sem estudos efectuados
Zidovudina	Antiviral	FeLV	Diminuiu os níveis de antigenicidade da p27

4.2 - Tratamento sintomático

O ponto mais importante do tratamento sintomático é a rápida identificação e adequado tratamento da mesma. Todos os medicamentos imunossuppressores ou supressores da medula óssea não devem ser utilizados pois podem piorar o estado do animal, devendo-se apenas pensar na sua utilização em casos de doenças imunomediadas (Lutz *et al.*, 2009; Ettinger & Feldman, 2010).

A utilização de corticosteróides a longo prazo para tratamento de inflamações crônicas como a estomatite crônica é controversa devido aos seus efeitos a longo prazo, nomeadamente a imunodepressão. É aconselhado nestes casos o uso de metronidazol e de clindamicina e em casos refratários ao tratamento é recomendável a remoção total de dentes. Outros fármacos como a griseofulvina não devem ser utilizados devido à sua capacidade de provocar mielossupressão, principalmente no caso de animais infectados por FeLV (Shelton *et al.*, 1990; Sellon & Hartmann, 2006).

O stress do animal deve ser reduzido ao mínimo possível e uma alimentação adaptada ao animal é recomendada, de maneira a prolongar ao máximo a vida do doente (Sellon & Hartmann, 2006; Ettinger & Feldman, 2010).

As infecções secundárias devem ser tratadas com antibioterapia agressiva, principalmente as mais comuns como infecções por *Mycoplasma haemofelis*, que responde muito bem à doxiciclina. Transfusões sanguíneas são recomendadas em casos de anemia, e muitos animais podem necessitar de fluidoterapia (Lappin, 2006; Levy J. *et al.*, 2008a).

O tratamento para linfoma associado ao FeLV já está bem definido, baseando-se principalmente em quimioterapia e podendo em alguns casos entrar em remissão. No entanto, não têm qualquer efeito nos níveis de virémia (Gunn-Moore, 2008; Lutz *et al.*, 2009).

5 - Prevenção de retrovíroses

O isolamento continua a ser uma maneira eficaz de controlar as infecções retrovirais. Isso pode ser complicado em casas com mais do que um animal, mas estudos demonstram que um gato saudável pode viver anos com um gato infectado por FIV sem se tornar seropositivo, desde que as relações entre eles estejam bem estabelecidas e não costumem lutar e morder. O mesmo já não acontece com o FeLV, onde o isolamento total é vital para impedir a propagação da doença. Alerta-se ainda que a vacinação contra o FeLV não é um substituto do isolamento, uma vez que não é completamente eficaz, sendo recomendado uma combinação dos dois (Levy J. *et al.*, 2008a; Ettinger & Feldman, 2010).

A esterilização de gatos com acesso ao exterior e de gatos errantes é essencial para a prevenção da infecção, uma vez que reduz indirectamente a participação do animal em lutas (Levy J. *et al.*, 2008a; Ettinger & Feldman, 2010).

O ponto-chave da prevenção de FeLV é a vacinação, que permitiu uma redução drástica da prevalência de infecções por este retrovírus nas últimas décadas. A primeira vacina foi introduzida em 1984 e era baseada numa preparação de antigénios de FeLV. Posteriormente diversas vacinas foram desenvolvidas e estão actualmente disponíveis na Europa. A mais utilizada consiste na utilização de um canarypox vírus modificado que codifica as glicoproteínas do envelope e as proteínas da cápside do FeLV. O vírus replica-se apenas uma vez para permitir a expressão dos genes virais. Em caso de contacto com o vírus a estimulação do sistema imunitário leva à produção rápida de anticorpos neutralizantes (Sparkes, 2003; Lutz *et al.*, 2009).

As diferentes vacinas para FeLV existentes no mercado têm graus de eficácia diferentes, sendo no entanto complicado comparar a sua eficácia devido aos diferentes protocolos de vacinação, que variam em termos de estirpes utilizadas e vias de administração da vacina. Diferentes estudos efectuados sobre a mesma vacina podem obter resultados discordantes se feitos por laboratórios independentes. Por este motivo já muitas vacinas foram retiradas do mercado (Tandon *et al.*, 2007; Stuke *et al.*, 2014).

A farmacopeia europeia definiu determinados critérios para verificar a eficácia das vacinas, incluindo a taxa de infectividade mínima aceitável, que visa confirmar que a estirpe utilizada é suficientemente eficaz, sendo também tida em conta a imunidade natural dos gatos saudáveis ao vírus no cálculo do nível de protecção atingido pela vacinação (Lutz *et al.*, 2009).

Nenhuma vacina é 100% eficaz na protecção e nenhuma impede a infecção. Animais vacinados não apresentam níveis elevados de virémia mas tornam-se provírus positivos e o ARN viral pode ser inclusive detectado, embora em níveis muito inferiores em comparação com animais persistentemente infectados e não seja clinicamente significativo, considerando-se que os animais estão protegidos (Cattori *et al.*, 2006; Hofmann-Lehmann *et al.*, 2006).

A vacinação é benéfica em casos de animais de risco como gatos inteiros e com acesso ao exterior, mas pode não ser incluída no protocolo vacinal em animais cujo risco de exposição ao vírus seja mínimo, como é o caso de animais *indoor* (Tandon *et al.*, 2007).

Na primovacinação os animais devem ser testados primeiro para evitar que animais infectados antes da vacinação desenvolvam sinais clínicos. Este passo pode ser dispensado em casos em que a infecção é pouco provável (como em gatinhos filhos de pais que testaram negativo). Os gatinhos podem ser vacinados a partir das 8-9 semanas e o reforço

deve ser dado às 12 semanas, juntamente com as outras vacinas (Tandon *et al.*, 2007; Lutz *et al.*, 2009).

Não existem estudos feitos que confirmem a duração da imunidade conferida pela vacina por mais de um ano, por isso é recomendado um reforço anual. Já foi no entanto sugerido que, uma vez que a susceptibilidade do animal ao FeLV diminui ao longo da vida, a partir dos 3-4 anos de idade o reforço pode ser realizado a cada 2-3 anos em vez de anualmente (Lutz *et al.*, 2009; Hartmann, 2012).

Actualmente não está disponível nenhuma vacina contra o FIV na Europa. Já foram propostas diversas vacinas para o FIV, sendo a que utiliza o chamado vírus inactivado inteiro ou *whole inactivated virus* (WIV) disponível nos EUA desde 2002 a que teve mais sucesso. No entanto, ainda não existem estudos publicados que comprovem a sua eficácia contra as estirpes de FIV Europeias. Na verdade, um estudo conseguiu provar que esta vacina não tem qualquer efeito na prevenção contra o subtipo A no Reino Unido. O facto de o FIV estar em constante mutação para se defender do sistema imune leva a que seja complicado obter uma vacina eficaz em todas as estirpes. No entanto, a identificação dos animais vacinados é aconselhada, uma vez que os testes de diagnóstico não conseguem distinguir os anticorpos vacinais dos anticorpos antivirais e existem países em que a eutanásia é recomendada caso um animal teste positivo para FIV. Se se optar pela vacinação, os animais devem ser sempre testados primeiro (Kusuhara *et al.*, 2004; Pistello *et al.*, 2010).

VIII - Objectivos

Este trabalho teve como principal objectivo determinar a prevalência de FIV e FeLV em algumas colónias de gatos errantes na região metropolitana de Lisboa.

Os objectivos específicos deste estudo foram:

- Caracterização da população de gatos errantes quanto a idade, sexo, condição corporal, estado de esterilização, vacinação e desparasitação.
- Relacionar casos positivos com algumas variáveis epidemiológicas tais como sexo, condição corporal, estado de esterilização, vacinação e desparasitação.

IX - Material e Métodos

1 - Amostra

A amostra em estudo foi constituída por 104 gatos de rua que habitam em colónias de gatos errantes na região metropolitana de Lisboa. As colónias são apoiadas pela associação Gatos à solta, que se dedica não só à esterilização e prevenção de FIV/FelV, mas também à alimentação, vacinação, desparasitação e realojamento de gatos de rua, fornecendo-lhes ainda cuidados veterinários quando necessário.

Os animais são testados para FIV/FelV na mesma altura em que são esterilizados. No entanto, por razões económicas, alguns animais são libertados e só são testados alguns meses depois. Este estudo apenas considera o estado de esterilização na altura do teste. Os animais que são dados para adopção repetem o teste antes de serem entregues.

Critérios de inclusão: Foram incluídos todos os animais independentemente do sexo, estado de esterilização, estado vacinal, desparasitação ou condição corporal que foram examinados na Clínica Veterinária Arco do Cego, entre Março de 2013 e Março de 2014 e que foram testados para FIV/FelV com o teste rápido de imunocromatografia FelV/FIV da sensPERT®.

Critérios de exclusão: Foram excluídos todos os animais com menos de 6 meses e todos os animais que não foram testados para FIV/FelV. No total foram excluídos desde estudo 16 animais.

2 - Caracterização da amostra

Dos 104 animais observados apenas foram incluídos os 88 animais que respeitavam os critérios de inclusão. As variáveis recolhidas foram o sexo, a idade, a condição corporal na altura do teste, o estado de esterilização, o estado vacinal e de desparasitação. Estes dados foram recolhidos em consulta e em alguns casos através da base de dados informática da clínica veterinária Arco do Cego.

As idades dos animais são difíceis de calcular, uma vez que sendo animais de rua não é possível conhecer a sua história pregressa. Assim sendo foi realizado um cálculo aproximado pela avaliação da dentição e divididos em duas classes, juvenis (animais com mais de 6 meses e menos de um ano) e adultos (todos os animais com mais de um ano). Os animais geriátricos foram considerados adultos pois a dentição dos gatos de rua deteriora-se muito rapidamente, tornando difícil a divisão entre as duas classes.

A condição corporal foi classificada de um a cinco, correspondendo o 1 a animal emaciado e o 5 a um animal obeso, segundo os parâmetros definidos na tabela 3:

Tabela 3 - Avaliação da condição corporal em gatos (adaptado de Saunders Manual Small Animal Practice).

Score	Condição Corporal	Parâmetros Avaliados
1/5	Emaciado	Sem gordura corporal óbvia, com massa muscular mínima. Asa do íleo e processos vertebrais proeminentes e facilmente visíveis.
2/5	Magro	Costelas ligeiramente visíveis e facilmente palpáveis. Asa do íleo e curvatura abdominal proeminente, tanto a vista lateral como da dorsal.
3/5	Ideal	Costelas não visíveis mas palpáveis, apenas com uma camada ligeira de gordura. Curvatura abdominal normal, com uma cintura visível na vista dorsal. Deposição mínima de gordura abdominal.
4/5	Excesso de peso	Costelas dificilmente palpáveis com uma camada moderada de gordura, perda da curvatura abdominal normal. Deposição moderada de gordura abdominal.
5/5	Obeso	Deposição excessiva de gordura abdominal, com perda total de cintura. Costelas não palpáveis.

Todos os animais considerados vacinados foram vacinados com a vacina Tricat® da Novibac, recebendo um reforço três a quatro semanas depois. Os gatos não vacinados ou que não completaram este protocolo vacinal na altura do teste foram considerados não vacinados.

O protocolo de desparasitação consistiu na toma de um comprimido de Milbemax de gato adulto em gatos com mais de 4kg e de meio comprimidos no caso de gatos com menos de 4kg. Nos casos de animais com menos de 2kg administrou-se um comprimido de

Milbemax de gatinho. A administração dos desparasitantes foi realizada de 3 em 3 meses, uma vez que são considerados animais com muito susceptíveis a parasitoses. Todos os animais que não cumpriam regularmente o protocolo de desparasitação foram considerados não desparasitados. Nenhum animal fez desparasitação externa.

3 - Métodos

A cada animal foram retirados 2 ml de sangue através de punção da veia jugular. Uma vez que são animais de rua e pouco habituados à manipulação, em alguns casos foi necessária alguma sedação com ketamina (5 µg/kg) associada a dexmedetomidina (40 µg/kg)). Apesar de o teste poder ser realizado com sangue total ou plasma sanguíneo, optou-se por utilizar apenas plasma, uma vez que existe uma maior probabilidade de falsos positivos quando é utilizado sangue total. Amostras que mostravam sinais de hemólise também foram descartadas devido ao risco de falsos positivos/negativos. Cerca de 1 ml de sangue foi centrifugado e o plasma submetido a testes rápidos de imunocromatografia para detecção de anticorpos de FIV ou antigénios de FeLV, sendo o restante sangue refrigerado. O protocolo foi realizado segundo as recomendações da marca, introduzindo uma gota de soro e uma de diluente nos poços do teste, aguardando entre 5 a 10 minutos antes de ler os resultados. Resultados lidos após os 10 minutos foram considerados inválidos.

Os testes são considerados válidos e positivos se aparecer uma linha no controlo e outra no teste. Se a linha de controlo não aparecer o teste é considerado inválido, mesmo que a linha de teste apareça.

Nos casos em que o resultado foi positivo ou duvidoso (fraco positivo), a restante amostra de sangue foi enviada para o laboratório Vetinlab® para verificação do resultado por PCR.

X - Resultados

Caracterização da amostra

Dos 104 animais capturados pela associação Gatos à solta apenas 88 (84,6%) foram tidos em conta para a realização deste estudo. Desses 88, 49 (55,6%) eram machos e 39 (44,3%) eram fêmeas, como demonstrado na tabela 4.

Tabela 4 - Frequência absoluta e relativa do sexo da amostra populacional em estudo.

		Frequência Absoluta	Frequência Relativa (%)
Sexo	Macho	49	55,7
	Fêmea	39	44,3
	Total	88	100,0

Quanto à distribuição da amostra em estudo pela idade, 41 (46,6%) foram considerados adultos e 47 (53,4%) foram considerados jovens, como indicam os resultados indicados na Tabela 5.

Tabela 5 - Frequência absoluta e relativa da idade da amostra populacional em estudo.

		Frequência Absoluta	Frequência Relativa (%)
Idade	Adulto	41	46,6
	Jovem	47	53,4
	Total	88	100,0

Da amostra em estudo apenas 29/88 (33,0%) dos animais era esterilizado como indicado na tabela 6.

Tabela 6 - Frequência absoluta e relativa do estado de esterilização da amostra populacional em estudo.

		Frequência Absoluta	Frequência Relativa (%)
Estado de esterilização	Esterilizado	29	33,0
	Não Esterilizado	59	67,0
	Total	88	100,0

Quanto à condição corporal, 88,6% dos animais encontravam-se em condições ideais ou um pouco abaixo do peso; os resultados dos restantes animais podem ser observados na tabela 7.

Tabela 7 - Frequência absoluta e relativa da condição corporal da amostra populacional em estudo.

		Frequência Absoluta	Frequência Relativa (%)
Condição corporal	1 em 5	6	6,8
	2 em 5	34	38,6
	3 em 5	44	50,0
	4 em 5	4	4,5
	Total	88	100,0

Relativamente à desparasitação, 53 (60,2%) dos animais encontravam-se desparasitados e 35 (39,8%) não foram submetidos a nenhum protocolo de desparasitação, como indicado na tabela 8.

Tabela 8 - Frequência absoluta e relativa do estado de desparasitação da amostra populacional em estudo.

		Frequência Absoluta	Frequência Relativa (%)
Estado de desparasitação	Desparasitado	53	60,2
	Sem Desparasitação	35	39,8
	Total	88	100,0

Tal como mostra a tabela 9, 60 animais (68,2%) não cumpriram qualquer protocolo vacinal e 28 animais (31,8%) encontravam-se vacinados.

Tabela 9 - Frequência absoluta e relativa do estado vacinal da amostra populacional em estudo.

		Frequência Absoluta	Frequência Relativa (%)
Estado vacinal	Sem Vacinação	60	68,2
	Vacinado	28	31,8
	Total	88	100,0

Resultados FIV/FeLV

Dos 88 animais que realizaram o teste rápido FIV/FeLV, sete (8,0%) obtiveram um resultado positivo para FeLV e 10 (11,4%) tiveram um resultado positivo para FIV. Nenhum animal testou positivo para ambas as doenças. No total, 17 animais (19,3%) testaram positivo para uma das retrovíroses em estudo (tabela 10).

Tabela 10 - Resultados dos testes rápidos de FIV/FeLV.

		Frequência Absoluta	Frequência Relativa
Resultados dos testes rápidos FIV/FeLV	FeLV Positivo	7	8,0
	FIV Positivo	10	11,4
	Teste FIV/FeLV Negativo	71	80,7
	Total	88	100,0

As amostras de sangue dos 17 animais que testaram positivo para FIV ou FeLV foram de seguida submetidas a um teste de PCR. Apenas sete dos 10 animais que tinham testado positivo para FIV no teste rápido (70% dos animais que testaram positivo nos teste rápido; 8% da amostra total) obtiveram resultados positivos no teste de PCR. Somente cinco dos sete animais que testaram positivo para FeLV no teste rápido (71,4% dos animais que testaram positivo nos teste rápido; 5,7% da amostra total) obtiveram resultados positivos no teste de PCR, como comprovado pela tabela 11.

Tabela 11 - Resultados da confirmação com testes PCR.

		Frequência Absoluta	Frequência Relativa
Confirmação com PCR	Teste rápido FIV/FeLV negativo	71	80,7
	FeLV Negativo	2	2,3
	FeLV Positivo	5	5,7
	FIV Negativo	3	3,4
	FIV Positivo	7	8,0
	Total	88	100,0

A tabela 12 mostra a distribuição do sexo entre os animais positivos no teste de PCR. Entre os sete animais que testaram positivo para FIV, seis (85,7%) eram machos e um (14,3%) era fêmea, enquanto que entre os animais que testaram positivo para FeLV, três (60%) eram machos e dois (40%) eram fêmeas. Quanto ao estado reprodutivo, como demonstrado pela tabela 13, no caso do FIV, seis (85,7%) dos animais afectados eram inteiros, e dois (14,3%) eram esterilizados, enquanto que no caso do FeLV, três (60%) eram esterilizados e dois (40%) eram inteiros.

Tabela 12 - Distribuição dos animais diagnosticados com FIV e FeLV quanto ao sexo.

		Sexo		Total
		Fêmea	Macho	
FeLV Positivo	Frequência Absoluta	3	2	5
	Frequência Relativa	60,0%	40,0%	100,0%
FIV Positivo	Frequência Absoluta	1	6	7
	Frequência Relativa	14,3%	85,7%	100,0%

Tabela 13 - Distribuição dos animais infectados quanto ao seu estado reprodutivo.

		Estado de esterilização		Total
		Esterilizado	Não Esterilizado	
FeLV Positivo	Frequência Absoluta	3	2	5
	Frequência Relativa	60,0%	40,0%	100,0%
FIV Positivo	Frequência Absoluta	1	6	7
	Frequência Relativa	14,3%	85,7%	100,0%

Quando relacionámos o sexo do animal com o estado reprodutivo verificamos que no caso do FIV cinco (83,3%) dos machos eram inteiros e apenas um (16,7%) era esterilizado. A única fêmea que testou positivo para FIV era esterilizada, como mostra a tabela 14.

Tabela 14 - Relação entre o sexo e o estado reprodutivo dos animais infectados com FIV.

FIV Positivos			Estado de esterilização		Total
			Esterilizado	Não Esterilizado	
Sexo	Fêmea	Frequência Absoluta	0	1	1
		Frequência Relativa	0,0%	100,0%	100,0%
	Macho	Frequência Absoluta	1	5	6
		Frequência Relativa	16,7%	83,3%	100,0%

No caso do FeLV, das fêmeas infectadas duas (66,7%) eram esterilizadas e uma (33,3%) era inteira. Quanto aos machos um (50%) era esterilizado e um (50%) inteiro, como demonstrado na tabela 15.

Tabela 15 - Relação entre o sexo e o estado reprodutivo dos animais infectados com FeLV.

FeLV Positivos			Estado de esterilização		Total
			Esterilizado	Não Esterilizado	
Sexo	Fêmea	Frequência Absoluta	2	1	3
		Frequência Relativa	66,7%	33,3%	100,0%
	Macho	Frequência Absoluta	1	1	2
		Frequência Relativa	50,0%	50,0%	100,0%

Como demonstrado na tabela 16, dos animais que obtiveram um resultado positivo para FIV no teste de PCR cinco (71,4%) animais eram adultos e dois (28,6%) animais eram juvenis. No caso dos que testaram positivo para FeLV, dois (40%) eram adultos e três (60%) eram jovens.

Tabela 16 - Distribuição dos animais diagnosticados quanto à idade.

		Idade		Total
		Adulto	Jovem	
FeLV Positivo	Frequência Absoluta	2	3	5
	Frequência Relativa	40,0%	60,0%	100,0%
FIV Positivo	Frequência Absoluta	4	3	7
	Frequência Relativa	57,1%	42,9%	100,0%

Quanto à condição corporal, no caso dos FIV positivos, cinco (71,4%) animais tinham uma condição corporal de 2/5 (71,4%) e dois (28,6%) animais tinham uma condição corporal de 3/5. Dos animais infectados com FeLV, um (20%) tinha uma condição corporal de 1/5, dois (40%) tinham uma condição de 2/5 e dois (40%) tinham uma condição corporal de 3/5, como se vê na tabela 17.

Tabela 17 - Distribuição dos animais infectados com FIV e FeLV quanto à condição corporal.

		Condição Corporal				Total
		1 em 5	2 em 5	3 em 5	4 em 5	
FeLV Positivo	Frequência Absoluta	1	2	2	0	5
	Frequência Relativa	20,0%	40,0%	40,0%	0,0%	100,0%
FIV Positivo	Frequência Absoluta	0	5	2	0	7
	Frequência Relativa	0,0%	71,4%	28,6%	0,0%	100,0%

Relativamente à desparasitação, três (42,9%) dos animais infectados com FIV cumpriam o plano de desparasitação, e quatro (57,1%) não eram desparasitados. Dos animais infectados com FeLV, três (60%) eram desparasitados e dois (40%) não cumpriram qualquer protocolo de desparasitação, como demonstrado na tabela 18.

Tabela 18 - Distribuição dos animais infectados quanto ao estado de desparasitação.

		Desparasitação		Total
		Desparasitado	Sem Desparasitação	
FeLV Positivo	Frequência Absoluta	3	2	5
	Frequência Relativa	60,0%	40,0%	100,0%
FIV Positivo	Frequência Absoluta	3	4	7
	Frequência Relativa	42,9%	57,1%	100,0%

Nenhum gato de entre aqueles que testaram positivo para FIV cumpriu o protocolo vacinal. Dos animais que testaram positivo para FeLV, dois (40%) não cumpriram nenhum protocolo vacinal e três (60%) eram vacinados, como comprovado pela tabela 19.

Tabela 19 - Distribuição dos animais infectados quanto ao estado vacinal.

		Vacinação		Total
		Sem Vacinação	Vacinado	
FeLV Positivo	Frequência Absoluta	2	3	5
	Frequência Relativa	40,0%	60,0%	100,0 %
FIV Positivo	Frequência Absoluta	7	0	7
	Frequência Relativa	100,0%	0,0%	100,0 %

Dos animais infectados com FIV, apenas um (14,3%) foi eutanasiado em resultado de sinais clínicos associados a FIV, dois (28,6%) apresentavam sinais clínicos mas foi possível reverter-los e obter-se a estabilização clínica da doença e quatro (57,1%) não demonstraram qualquer sinal clínico até ao momento. No caso do FeLV, um (20%) animal foi eutanasiado devido a sinais clínicos associados ao FeLV e quatro (80%) não manifestaram nenhum sinal de doença. Os resultados são representados na tabela 20.

Tabela 20 - Distribuição dos animais infectados quanto ao seguimento clínico.

		Seguimento clínico			Total
		Estabilização clínica da doença	Eutanásia	Sem manifestação de doença	
FeLV Positivo	Frequência Absoluta	0	1	4	5
	Frequência Relativa	0,0%	20,0%	80,0%	100,0%
FIV Positivo	Frequência Absoluta	2	1	4	7
	Frequência Relativa	28,6%	14,3%	57,1%	100,0%

XI - Discussão

Na população de gatos errantes a prevalência de FIV foi 8% e a prevalência de FeLV foi de 5,7%. Segundo a bibliografia, a prevalência de FIV em Portugal é muito mais elevada do que os resultados obtidos, variando entre 18% e 22% (Rosado, 2009; Rodrigues, 2012). No entanto, estes estudos não realizaram exames confirmatórios como a PCR, portanto podem ter detectado uma prevalência mais elevada devido à detecção de falsos-positivos, dado que com os testes rápidos os valores obtidos neste estudo foram de 11,4%. Porém os nossos resultados são mais semelhantes a um outro estudo realizado em Lisboa, que obteve uma prevalência de 10,2% para o FIV e de 7,1% para o FeLV (Duarte, et al. 2010). Verifica-se no entanto que a nossa prevalência, confirmada através de PCR está de acordo com os resultados obtidos em Madrid de 8,3% (Arjona, et al., 2000).

Neste estudo a prevalência de gatos infectados com FeLV através de testes rápidos foi de 8%, sendo 5,7% destes resultados confirmados por PCR. Estes resultados indicam uma prevalência mais baixa de FeLV nesta população do que aquela descrita em Portugal na bibliografia consultada que seria de 10 e 10,9% (Rosado, 2009; Rodrigues, 2012). Contudo, tal como aconteceu com o FIV, não foram realizados testes confirmatórios, o que pode ter levado a que falsos positivos tenham sido levados em conta ao calcular a prevalência nestes estudos. No entanto, os resultados obtidos neste estudo estão de acordo com o que a bibliografia aponta ser a prevalência média de FeLV em colónias, que pode atingir os 20% (Lutz, et al., 2009).

É de realçar que neste estudo apenas foram feitos testes confirmatórios aos animais que testaram positivo nos testes rápidos de FIV/FeLV e não a todos os animais que realizaram este teste. Assim sendo, é possível que existam falsos negativos que não foram detectados e que consequentemente não foram tidos em conta no cálculo da prevalência destas doenças.

O facto de termos observado uma maior prevalência de FIV em machos vai de acordo ao indicada pela bibliografia, apesar de esta indicar uma prevalência 3 a 4 vezes maior em machos do que em fêmeas (Norris, Bell, & Hales, 2007) e no presente estudo a prevalência foi 6 vezes maior. Isto pode dever-se ao facto de a quantidade de animais que testou positivo para FIV ser muito diminuta. No caso do FeLV obtivemos uma frequência maior em fêmeas do que em machos mas pouco significativa, o que está de acordo com a premissa defendida por alguns autores de que não existe predisposição sexual para a infecção por FeLV (Souza, Teixeira, & Graça, 2002). No entanto, os resultados obtidos estão em desacordo com a maioria dos autores, que defendem que os machos são mais

predispostos a infecções por FeLV do que as fêmeas, apesar de não ser uma diferença muito acentuada (Hartmann, Clinical Aspects of Feline Retroviruses: A Review, 2012).

Relativamente ao sexo e ao estado reprodutivo dos animais em estudo, verificou-se uma prevalência maior de FIV em machos inteiros (n=5), o que vai de encontro ao descrito na bibliografia (Levy J. K., Scott, Lachtara, & Crawford, 2006a). No caso do FeLV é impossível tirar conclusões quanto à relação entre o sexo e o estado reprodutivo, uma vez que não se observou uma diferença significativa entre os animais esterilizados e inteiros, apesar de a bibliografia consultada descrever uma maior expressão da infecção em machos inteiros (Bande, et al., 2012). Esta diferença pode dever-se mais uma vez ao facto de a amostra ser muito pequena.

No caso do FIV obtivemos uma prevalência superior em gatos adultos. No entanto, uma vez que no nosso estudo consideramos adultos todos os gatos a partir de um ano, é impossível verificar neste estudo se a prevalência é maior após os seis anos de idade, como referido na bibliografia consultada (Barr M., 1996). Nos animais que testaram positivo para FeLV observamos uma maior prevalência em gatos jovens (n=3) tal como esperado (Cohn, 2006), apesar de a amostra ser muito diminuta.

Apesar de haver um maior número de animais com um condição corporal de 2 em 5 infectados com FIV, este resultado não parece ser significativo, uma vez que 78 (88,6%) dos 88 animais testados tinham uma condição entre 2 e 3 em 5. Sendo animais de rua, estes gatos têm muito mais actividade física do que gatos domésticos e não têm o mesmo tipo de alimentação. Assim sendo, é mais provável que a condição corporal apresentada esteja mais relacionada com o seu modo de vida do que com o facto de terem sido infectados com FIV. O mesmo se passa no caso do FeLV, em que não existe uma prevalência maior de nenhuma condição corporal.

O número de animais desparasitados e não desparasitados foi muito semelhante tanto entre os animais infectados com FIV como com FeLV. Tendo em conta a ausência de referências à desparasitação na prevenção de infecções por retrovírus em felinos, a desparasitação não parece ser um factor relevante na prevenção destas doenças.

Nenhum dos animais infectados com FIV estava vacinado, uma vez que o protocolo vacinal não incluía uma vacina que imunizasse contra o FIV. No caso do FeLV alguns animais estavam vacinados (n=3), o que pode justificar que apenas um animal tenha sido eutanasiado e que os outros não tenham manifestado doença, apesar de serem necessários mais estudos e com uma amostra maior para se poderem tirar conclusões.

Quanto ao seguimento clínico, até à conclusão do estudo a grande maioria dos animais infectados com FIV (n=4) não manifestava sinais clínicos de doença, o que está de acordo com a bibliografia consultada que defende que a maioria dos animais se mantém

assintomática durante longos períodos de tempo (Liem, *et al.*, 2013). Apenas um animal foi eutanasiado em consequência da doença e foi possível estabilizar os sinais clínicos em dois dos animais, estando estas observações em concordância com a premissa defendida na bibliografia em que a maioria das infecções em animais infectados pode ser tratada, desde que sejam detectadas precocemente (Hosie, *et al.*, 2009). No caso do FeLV, o único animal que apresentou sinais clínicos foi eutanasiado, estando esta observação de acordo com a bibliografia consultada que defende que a maioria das doenças associadas ao FeLV são potencialmente fatais após aparecimento dos sinais clínicos (Lutz, *et al.*, 2009). No entanto, a maioria dos animais não apresentou sintomatologia, o que pode ser considerado normal uma vez que esta depende da fase de infecção em que o animal se encontra na altura do diagnóstico (Levy, *et al.*, 2006a).

XII - Conclusões

Apesar de serem doenças muito comuns entre os felinos, poucos estudos epidemiológicos foram realizados sobre a prevalência de FIV e FeLV em Portugal. Embora a amostragem deste estudo seja pequena e tenha por isso um baixo valor estatístico, os resultados obtidos podem dar uma contribuição na determinação da prevalência destes vírus no nosso país.

Devido a limitações económicas não foi possível testar todos os animais através de PCR. Outros factores tais como a impossibilidade de obter uma correcta anamnese dos animais e o momento de colheita da amostra poderão ter levado a uma subestimação da prevalência de ambas as doenças em estudo. O facto de apenas terem sido incluídos na amostra gatos errantes deve ser levado em conta, uma vez que não é uma amostra representativa da população total de felinos em Portugal ou na área da grande Lisboa onde o estudo foi realizado.

Observando os resultados obtidos e tendo em conta outros estudos realizados, concluímos que o FIV tem uma prevalência maior do que o FeLV em animais errantes em Portugal. De todos os factores que nos propusemos a relacionar com a prevalência de ambas as retrovíruses, o sexo, a idade e o estado de esterilização foram aqueles que demonstraram ser mais significativos. Observou-se ainda que no caso do FIV os machos inteiros foram os mais afectados, ao contrário do que acontece no FeLV, em que as fêmeas foram mais afectadas mas de forma pouco significativa, não sendo também possível estabelecer uma relação com o estado de esterilização. Os animais adultos parecem ter um maior risco para a infecção por FIV, sendo que o oposto acontece no FeLV, em que os animais jovens são os mais afectados. Quanto à progressão da doença, observou-se que na maioria destes animais a infecção é assintomática, apesar de não se poderem tirar conclusões reais acerca deste aspecto uma vez que o tempo de duração deste estudo não foi suficientemente extenso. Não foi encontrada nenhuma correlação entre a ocorrência de infecções por retrovírus e os outros factores estudados, nomeadamente condição corporal, estado de desparasitação e estado de vacinação.

Os resultados obtidos mostram que é cada vez mais importante o diagnóstico e a implementação de medidas de prevenção de FIV e FeLV em gatos errantes, uma vez que a prevalência destas doenças ainda é significativa entre estes animais e podem actuar como reservatório para gatos domésticos.

XIII - Bibliografia

- Ammersbach, M., & Bienzle, D. (2011). Methods for assessing feline immunodeficiency virus infection, infectivity and purification. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 202-214.
- Arai, M., Earl, D., & Yamamoto, J. (2002). Is AZT/3TC therapy effective against FIV infection or immunopathogenesis? *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 85, 189.
- Arjona, A., Escolar, E., Soto, I., Barquero, N., Martin, D., & Gomez-Lucia, E. (2000). Seroepidemiological Survey of Infection by Feline Leukemia Virus and Immunodeficiency Virus in Madrid and Correlation with Some Clinical Aspects. *Journal of Clinical Microbiology*, 38, 3448-3449.
- Asproni, P., Abramo, F., Millanta, F., Lorenzi, D., & Poli, A. (2013). Amyloidosis in association with spontaneous feline immunodeficiency virus infection. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 15, 300-306.
- Bande, F., Arshad, S., Hassan, L., Zakaria, Z., Sopian, N., Rahman, N., & Alazawy, A. (2012). Prevalence and risk factors of feline leukaemia virus and feline immunodeficiency virus in peninsular Malaysia. *BMC Veterinary Research*, 8, 33.
- Barr, F. (1998). Feline Leukemia Virus. *Journal of Small Animal Practice*, 39, 41-43.
- Barr, M. (1996). FIV, FeLV, and FIPV: Interpretation and Misinterpretation of Serological Test Results. *Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)*, 11, 144-153.
- Baxter, K., Levy, J., Edinboro, C., Vaden, S., & Tompkins, M. (2012). Renal disease in cats infected with feline immunodeficiency virus. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 26, 238-243.
- Belak, S., Hosie, M., & Addie, D. (2009). Feline immunodeficiency ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of Feline Medicine Surgery*, 11, 575.
- Bendinelli, M., Pistello, M., Lombardi, S., Poli, A., Garzelli, C., Matteucci, D., . . . Tozzini, F. (1995). Feline Immunodeficiency Virus: an Interesting Model for AIDS Studies and an Important Cat Pathogen. *Clinical Microbiology Review*, 8, 87-112.
- Bienzle, D., Little, S., & Ammersbach, M. (2013). Preliminary evaluation of a quantitative polymerase chain reaction assay for diagnosis of feline immunodeficiency virus infection. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 15, 725-729.
- Birchard, S. J., & Sherding, R. G. (2006). *Saunders Manual of Small Animal Practice* (3ª Edição ed.). St. Louis, USA: Saunders Elsevier.
- Bisset LR, L. H. (2002). Combined effect of zidovudine (ZDV), lamivudine (3TC) and abacavir (ABC) antiretroviral therapy in suppressing in vitro FIV replication. *Antiviral Res*, 53, 35.

- Boenzli, E., Hadorn, M., Hartnack, S., Huder, J., Hofmann-Lehmann, R., & Lutz, H. (2014). Detection of Antibodies to the Feline Leukemia Virus (FeLV) Transmembrane Protein p15E: an Alternative Approach for Serological FeLV Diagnosis Based on Antibodies to p15E. *Journal of Clinical Microbiology*, 10-19.
- Boretto, F., Ossent, P., Bauer-Pham, K., Weibel, B., Meili, T., Cattori, V., . . . Hofmann-Lehmann, R. (2004). Recurrence of feline leukemia virus (FeLV) and development of fatal lymphoma concurrent with feline immunodeficiency virus (FIV) induced immune suppression. *7th International Feline Retrovirus Research Symposium*. Pisa, Italy.
- Botelho, S. (2014). *Estudo Epidemiológico do Vírus da Imunodeficiência Felina e do Vírus da Leucemia Felina em Gatos Errantes e Assilvestrados da Ilha de São Miguel, Açores*. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade de Lisboa.
- Butera, S., Brown, J., & Callahan, M. (2000). Survey of veterinary conference attendees for evidence of zoonotic infection by feline retroviruses. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 217, 1475.
- Carmichael, K., Bienzle, D., & McDonnell, J. (2002). Feline leukemia virus associated myelopathy in cats. *Veterinary Pathology*, 39, 536.
- Cattori, V., Pepin, A., Tandon, R., Riond, B., Meli, M., Willi, B., . . . Hofmann-Lehmann, R. (2008). Real-time PCR investigation of feline leukemia virus proviral and viral RNA loads in leukocyte subsets. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 123, 124-128.
- Cattori, V., Tandon, R., Pepin, A., Lutz, H., & Hofmann-Lehmann, R. (2006). Rapid detection of feline leukemia virus provirus integration into feline genomic DNA. *Molecular and Cellular probes*, 20, 172-181.
- Coffin, J., Hughes, S., & Varmus, H. (1997). *Oncogenesis*. USA: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Cohn, L. A. (2006). Update on serologic testing for infectious disease in cats. *Proceedings of the International Congress of the Italian Association of Companion Animal Veterinarians*, (pp. 19-21). Rimini, Itália.
- Costa, F. V., & Norsworthy, G. (2011). *The Feline Patient* (4^a Edição ed.). USA: Blackwell Science Ltd.
- Crawford, P., & Levy, J. (2007). New challenges for the diagnosis of feline immunodeficiency virus infection. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 37, 335-350.
- Donaldson, L., Rankin, J., & Proctor, S. (1994). Is it possible to catch leukaemia from a cat? *Lancet*, 344, 971-972.
- Dow, S., & Hoover, E. (1992). Neurologic disease associated with feline retroviral infection. *Current veterinary therapy*, 1010.
- Duarte, A., Castro, I., Fonseca, I., Almeida, V., Carvalho, L., Meireles, J., Fazendeiro, M., Tavares, L., Vaz, Y. (2010). Survey of infectious and parasitic diseases in stray cats at the Lisbon Metropolitan Area, Portugal. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 12, 441-446

- Dunham, S., & Graham, E. (2008). Retroviral infections of small animals. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 38, 879-901.
- Ettinger, S., & E., F. (2010). *Textbook of Veterinary Internal Medicine* (7ª Edição ed.). St. Louis, USA: Elsevier.
- Ettinger, S., & Feldman, E. (2010). *Textbook of Veterinary Internal Medicine* (7ª Edição ed.). St. Louis, USA: Elsevier.
- Fletcher, N., Meeker, R., Hudson, L., & Callanan, J. (2011). The neuropathogenesis of feline immunodeficiency virus infection: barriers to overcome. *Veterinary Journal*, 188, 260-269.
- Flynn, J., Dunham, S., Watson, V., & Jarrett, O. (2002). Longitudinal analysis of feline leukemia virus-specific cytotoxic T lymphocytes: correlation with recovery from infection. *Journal of Virology*, 76, 2306-2315.
- Fujino, Y., Ohno, K., & Tsujimoto, H. (2008). Molecular pathogenesis of feline leukemia virus-induced malignancies: insertional mutagenesis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 123, 138.
- Gil, S., Leal, R., Duarte, A., McGahie, D., Sepúlveda, N., Siborro, I., . . . Tavares, L. (2013). Relevance of feline interferon omega for clinical improvement and reduction of concurrent viral excretion in retrovirus infected cats from a rescue shelter. *Research in veterinary science*, 94, 753-763.
- Gleich, S., Krieger, S., & Hartmann, K. (2009). Prevalence of feline immunodeficiency virus and feline leukaemia virus among client-owned cats and risk factors for infection in Germany. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11, 985.
- Gomes-Keller, M., Gonczi, E., & Tandon, R. (2006). Detection of feline leukemia virus RNA in saliva from naturally infected cats and correlation of PCR results with those of current diagnostic methods. *Journal of Clinical Microbiology*, 44, 916-922.
- Gómez, N., Fontanals, A., Castillo, V., Gisbert, M., Suraniti, A., Mira, G., & Pisano, P. (2012). Evaluation of different antiretroviral drug protocols on naturally infected feline immunodeficiency virus (FIV) cats in the late phase of the asymptomatic stage of infection. *Viruses*, 4, 924-939.
- Grace, S. F. (2011). *Feline immunodeficiency virus infection*. (4ª Edição ed.). Iowa, USA: Blackwell Science.
- Grenacher, B., Gomes-Keller, M., & Gonczi, E. (2009). Fecal shedding of infectious feline leukemia virus and its nucleic acids: a transmission potential. *Veterinary Microbiology*, 134, 208.
- Gunn-Moore, D. (2008). Management options for cats with retroviral diseases. *Proceedings of the 33ª World Small Animal Veterinary Congress*. (pp. 299-301). Dublin, Irlanda: IVIS.
- Gwynn, S., Hankenson, F., Luring, A., Rohn, J., & Overbaugh, J. (2000). Feline leukemia virus envelope sequences that affect T-cell tropism and syncytium formation are not part of known receptor-binding domains. *Journal of Virology*, 74, 5754-5761.

- Harbour, D., Caneyand, S., & Sparkes, A. (2004). *Feline Medicine and therapeutics* (3ª Edição ed.). Iowa, USA: Blackwell Publishing.
- Hardy Jr, W., Hess, P., & MacEwen, E. (1976). Biology of feline leukemia virus in the natural environment. *Cancer Research*, 36, 582-588.
- Hardy Jr, W., McClelland, A., & Zuckerman, E. (1976). Prevention of the contagious spread of feline leukaemia virus and the development of leukaemia in pet cats. *Nature*, 263, 326-328.
- Hartmann, K. (2006). *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. (3ª Edição ed.). USA: Saunders Elsevier.
- Hartmann, K. (2012). Clinical Aspects of Feline Retroviruses: A Review. *Viroses*, 2684-2710.
- Hawks, D., Legendre, A., & Rohrbach, B. (1991). Comparison of four test kits for feline leukemia virus antigen. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 199, 1373-1377.
- Hayes, K., Rojko, J., & Mathes, L. (1992). Incidence of localized feline leukemia virus infection in cats. *American journal of veterinary research*, 53, 604-607.
- Hofmann-Lehmann R, C. V. (2007). Vaccination against the feline leukaemia virus: Outcome and response categories and long-term follow-up. *Vaccine*, 25, 5531-5539.
- Hofmann-Lehmann, R., Cattori, V., Tandon, R., Boretti, F., Meli, M., Riond, B., & Lutz, H. (2008). How molecular methods change our views of FeLV infection and vaccination. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 123, 119-123.
- Hofmann-Lehmann, R., Huder, J., & Gruber, S. (2001). Feline leukaemia provirus load during the course of experimental infection and in naturally infected cats. *Journal of Genetic Virology*, 82, 1589-1596.
- Hofmann-Lehmann, R., Tandon, R., Boretti, F., Meli, M., Willi, B., Cattori, V., . . . Lutz, H. (2006). Reassessment of feline leukaemia virus (FeLV) vaccines with novel sensitive molecular assays. *Vaccine*, 24, 1087-1094.
- Horzinek, M., Addie, D., & Bélak, S. (2007). Guidelines on Feline Infections Disease - Feline Leukaemia Virus. *ABCD European Advisory Board on Cats Diseases*.
- Hosie, M., Addie, D., Belák, S., Boucraut-Baralon, C., Egberink, H., Frymus, T., . . . Horzinek, M. (2009). ABCD guidelines on feline immunodeficiency virus. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11, 575-584.
- Hosie, M., Robertson, C., & Jarrett, O. (1989). Prevalence of feline leukaemia virus and antibodies to feline immunodeficiency virus in cats in the United Kingdom. *Veterinary Record*, 125, 293-297.
- Huitron-Resendiz, S., De Rozieres, S., & Sanchez-Alavez, M. (2004). Resolution and prevention of feline immunodeficiency virus induced neurological deficits by treatment with the protease inhibitor TL-3. *Journal of Virology*, 78, 4525.

- Ishida, T., Taniguchi, A., Matsumura, S., Washizu, T., & Tomoda, I. (1992). Long-term clinical observations on feline immunodeficiency virus infected asymptomatic carriers. *Veterinary Immunology Immunopathology*, 35, 15-22.
- Jarrett, O. (1999). Strategies of retrovirus survival in the cat. *Veterinary Microbiology*, 69, 99-107.
- Jarrett, O., & Hosie, M. (2004). Feline leukaemia virus infection. In E. Chandler, C. Gaskell, & R. Gaskell, *The Feline Medicine and Therapeutics* (pp. 597-607). USA: Blackwell Publishing.
- Johnston, J., Olson, M., Rud, E., & Power, C. (2001). Xenoinfection of nonhuman primates by feline immunodeficiency virus. *Current Biology*, 14, 1109-1113.
- Kahn, C. (2007). *Manual MERK de Veterinaria* (6ª Edição ed.). USA: Oceano/ Centrum Merial.
- Kakinuma, S., Motokawa, K., Hohdatsu, T., Yamamoto, J., Koyama, H., & Hashimoto, H. (1995). Nucleotide sequence of feline immunodeficiency virus: classification of Japanese isolates into two subtypes which are distinct from non-Japanese subtypes. *J. Virology*, 69, 3639-3646.
- Kennedy, M., & Little, S. E. (2012). *The Cat Clinical Medicine and Management* (1ª Edição ed.). St. Louis, USA: Elsevier.
- Kim, W., Chong, C., Kim, H., Lee, G., Jeong, W., An, D., . . . Lee, Y. (2014). Development and clinical evaluation of a rapid diagnostic kit for feline leukemia virus infection. *Journal of Veterinary Science*, 15, 91-97.
- Kociba, G. (1986). Hematologic consequences of feline leukaemia virus infection. In R. Kirk, *Current Veterinary Therapy*. (p. 448). USA: WB Saunders.
- Kusuhara, H., Slater, M., Crawford, P., & Levy, J. (2004). Effect of vaccination against feline immunodeficiency virus on results of serologic testing in cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 225, 1558-1561.
- Lafrado, L., Lewis, M., & Mathes, L. (1987). Suppression of in vitro neutrophil function by feline leukaemia virus (FeLV) and purified FeLV-p15E. *Journal of General Virology*, 68, 507.
- Lairmore, M. D. (2011). *Fenner's Veterinary Virology* (4ª ed.). San Diego, USA: Elsevier.
- Lappin, M. (2006). Chronic feline infectious diseases. *Proceedings of North American Veterinary Conference, Small Animal Edition* (pp. 636-638). Orlando, Florida: IVIS.
- Lee, C., & Reddy, E. P. (1999). The v-myc oncogene. *Oncogene*, 18, 2997-3003.
- Levy, J. K., Scott, H. M., Lachtara, J. L., & Crawford, P. (2006a). Seroprevalence of feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus infection among cats in North America and risk factors for seropositivity. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 228, 371-376.
- Levy, J., Crawford, C., Hartmann, K., Little, S., Sundahl, E., Thayer, V., & Hoffmann-Lehmann, R. (2008a). Feline retrovirus management guidelines. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 10, 300-316.

- Levy, J., Crawford, P., Kusuhara, H., Motokawa, K., Gemma, T., Watanabe, R., . . . Hohdatsu, T. (2008b). Differentiation of feline immunodeficiency virus vaccination, infection, or vaccination and infection in cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine.*, 22, 330-334.
- Levy, J., Lorentzen, L., Shields, J., & Lewis, H. (2006b). Long-term outcome of cats with natural FeLV and FIV infection. *8th International Feline Retrovirus Research Symposium*, (pp. 78-82). USA.
- Levy, J., Scott, H., J.L., L., & Crawford, P. (2006b). Seroprevalence of feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus infection among cats in North America and risk factors for seropositivity. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 228, 371-376.
- Liem, B., Dhand, N., Pepper, A., Barrs, V., & Beatty, J. (2013). Clinical findings and survival in cats naturally infected with feline immunodeficiency virus. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 27, 798-805.
- Linenberger, M., & Abkowitz, J. (1995). Haematological disorders associated with feline retrovirus infections. *Baillière's Clinical Haematology*, 8, 73-101.
- Litster, A. L. (2014). Transmission of feline immunodeficiency virus (FIV) among cohabiting cats in two cat rescue shelters. *Veterinary Journal*, 84-87.
- Little, S. (2005). Feline immunodeficiency virus testing in stray, feral, and client-owned cats of Ottawa. *The Canadian Veterinary Journal*, 46, 898-901.
- Little, S., Bienzle, D., & Ammersbach, M. (2013). Preliminary evaluation of a quantitative polymerase chain reaction assay for diagnosis of feline immunodeficiency virus infection. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 15, 725-729.
- Lorentzen, L., & Levy, J. (2006). Long-term outcome of cats with natural FeLV and FIV infection. *8th International Feline Retrovirus Research Symposium*. Washington, USA.
- Louwerens, M., London, C., & Pedersen, N. (2005). Feline lymphoma in the post-feline leukemia virus era. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 19, 329-335.
- Lutz, H., Addie, D., Belák, S., Boucraut-Baralon, C., Egberink, H., Frymus, T., . . . Horzinek, M. (2009). Feline leukaemia: ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11, 565-574.
- Lutz, H., Arnold, P., Hübscher, U., Egberink, H., Pedersen, N., & Horzinek, M. (1988). Specificity Assessment of Feline T-lymphotropic Lentivirus Serology. *Zentralblatt fur Veterinarmedizin*, 773-778.
- MacDonald, K., Levy, J., Tucker, S., & Crawford, P. (2004). Effects of passive transfer of immunity on results of diagnostic tests for antibodies against feline immunodeficiency virus in kittens born to vaccinated queens. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 225, 1554-1557.
- Magden, E., Quackenbush, S., & VandeWoude, S. (2011). FIV associated neoplasms: Review. *Veterinary Immunology Immunopathology*, 143, 227-234.

- McCaw, D., Boon, G., Jergens, A., Kern, M., Bowles, M., & Johnson, J. (2001). Immunomodulation therapy for feline leukemia virus infection. *Journal of American Animal Hospital Association*, 37, 356-363.
- McDonnell, S., Sparger, E., & Murphy, B. (2013). Feline immunodeficiency virus latency. *Retrovirology*, 69.
- Mehrotra, S., Mishra, K., & Yadav, V. (2003). Immunomodulation by peptide analogs of retroviral envelope protein. *Peptides*, 24, 979.
- Meichner, K., Kruse, D., Hirschberger, J., & Hartmann, K. (2012). Changes in prevalence of progressive feline leukaemia virus infection in cats with lymphoma in Germany. *The Veterinary Record*, 171, 348.
- Miyazawa, T. (2002). Infections of feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus. *Frontiers in Bioscience*, 7, 504-518.
- Mochizuki, H., Takahashi, M., Nishigaki, K., Ide, T., Goto-Koshino, Y., Watanabe, S., . . . Tsujimoto, H. (2011). Establishment of a novel feline leukemia virus (FeLV)-negative B-cell cell line from a cat with B-cell lymphoma. *Veterinary Immunology Immunopathology*, 140, 307-311.
- Mohammadi, H., & Bienzle, D. (2012). Pharmacological inhibition of feline immunodeficiency virus (FIV). *Viruses*, 708-724.
- Norris, J., Bell, E., & Hales, L. (2007). Prevalence of feline immunodeficiency virus infection in domesticated and feral cats in eastern Australia. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 9, 300-308.
- Norsworthy, G. (1993). *Feline Practice*. USA: J. B. Lippincott Company.
- Nowotny, N., Ulthman, A., & Hass, O. (1995). Is it possible to catch leukaemia from a cat? *Lancet*, 346, 252-253.
- O'Neil, L., Burkhard, M., Diehl, L., & Hoover, E. (1995). Vertical transmission of feline immunodeficiency virus. *Seminars in Veterinary Medical Surgery (Small Animal)*, 10, 266-278.
- O'Neil, L., Burkhard, M., Diehl, L., & Hoover, E. (1995a). Vertical transmission of feline immunodeficiency virus. *Seminars in Veterinary Medical Surgery (Small Animal)*, 10, 266-278.
- O'Connor Jr, T., Tonelli, Q., & Scarlett, J. (1991). Report of the National FeLV/FIV Awareness Project. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 199, 1348-1353.
- Olmsted, R. A., Langley, R., Roelke, M. E., Goeken, R., Adger-Johnson, D., Goff, J., . . . Martenson, J. (1992). Worldwide prevalence of lentivirus infection in wild feline species: Epidemiologic and phylogenetic aspects. *J. Virology*, 66, 6008-6018.
- O'Neil, L., Burkhard, M., & Hoover, E. (1996). Frequent perinatal transmission of feline immunodeficiency virus by chronically infected cats. *J. Virology*, 70, 2894-2901.

- Ortega-Pacheco, A., & Jiménez-Coello, M. (2011). Debate For and Against Euthanasia in the Control of Dog Populations. In J. Kuře, *Euthanasia - The "Good Death" Controversy in Humans and Animals*. (pp. 233-246.). México: Intechopen.
- Ortega-Pacheco, A., Aguilar-Caballero, A., Colin-Flores, R., Acosta-Viana, K., Guzman-Marin, E., & Jimenez-Coello, M. (2013). Seroprevalence of feline leukemia virus, feline immunodeficiency virus and heartworm infection among owned cats in tropical Mexico. *Journal of Feline Medicine Surgery*, 33-47.
- Pacitti, A., & Jarrett, O. (1985). Duration of the latent state in feline leukaemia virus infections. *Veterinary Records*, 117, 472-474.
- Pacitti, A., Jarrett, O., & Hay, D. (1986). Transmission of feline leukaemia virus in the milk of a non-viraemic cat. *Veterinary Records*, 118, 381-384.
- Phillips, K., Arai, M., & Tanabe, T. (2005). FIV-infected cats respond to short-term rHuG-CSF treatment which results in anti-G-CSF neutralizing antibody production that inactivates drug activity,. *Veterinary Immunology Immunopathology*, 108, 357.
- Pinches, M., Diesel, G., Helps, C., Tasker, S., Egan, K., & Gruffydd-Jones, T. (2007). An update on FIV and FeLV test performance using a Bayesian statistical approach. *Veterinary Clinical Pathology*, 36, 141-147.
- Pistello, M., Conti, F., Vannucci, L., & Freer, G. (2010). Novel approaches to vaccination against the feline immunodeficiency virus. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 134, 48-53.
- Poli, A., Tozon, N., Guidi, G., & Pistello, M. (2012). Renal alterations in feline immunodeficiency virus (FIV)-infected cats: a natural model of lentivirus-induced renal disease changes. *Viruses*, 9, 1372-89.
- Power, C., Moench, T., & Peeling, J. (1997). Feline immunodeficiency virus causes increased glutamate levels and neuronal loss in brain. *Neuroscience*, 77, 1175-1185.
- Quigley, J., Burns, C., Anderson, M., Lynch, E., Sabo, K., Overbaugh, J., & Abkowitz, J. (2000). Cloning of the cellular receptor for feline leukemia virus subgroup C (FeLV-C), a retrovirus that induces red cell aplasia. *Blood*, 95, 1093-1099.
- Ravazzollo, A. P., & Costa, U. (2007). Retroviridae. *Retroviridae*, 809-838.
- Richards, J. (2005). Feline immunodeficiency virus vaccine: implications for diagnostic testing and disease management. *Biologicals*, 33, 215-217.
- Richards, J., Elston, T., Ford, R., Gaskell, R., Hartmann, K., Hurley, K., . . . Sparkes, A. (2006). The 2006 American Association of Feline Practitioners: Feline Vaccine Advisory Panel Report. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 229, 1405-1441.
- Rodrigues, C. (2012). *Prevalência de Vírus da Imunodeficiência Felina, Vírus da Leucemia Felina, Calicivírus Felino, Herpesvírus Felino Tipo I e Candida spp em Felinos Errantes e possível*

- associação a Gengivo-estomatite Felina e Doença Respiratória Felina*. Lisboa: Tese de mestrado - Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade de Lisboa.
- Rosado, R. (2009). *Rastreio virológico de carnívoros errantes e caracterização genética viral*. Lisboa: Tese de mestrado - Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade Técnica de Lisboa.
- Rypuła, K., Płoneczka-Janeczko, K., Bierowiec, K., Kumala, A., & Sapikowski, G. (2014). Prevalence of viral infections in cats in southwestern Poland in the years 2006 to 2010. *Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift*, 127, 163-165.
- Sellon, R., & Hartmann, K. (2006). *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. (3ª Edição ed.). USA: Greene, C.E.
- Shalev, Z., Duffy, S., & Adema, K. (2009). Identification of a feline leukemia virus variant that can use THTR1, FLVCR1, and FLVCR2 for infection. *Journal of Virology*, 83, 6706.
- Shelton, G., Grant, C., & Linenberger, M. (1990). Severe neutropenia associated with griseofulvin therapy in cats with feline immunodeficiency virus infection. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 4, 317.
- Siebelink, K., Tijhaar, E., Huisman, R., Huisman, W., de Ronde, A., Darby, I., . . . Osterhaus, A. (1995). Enhancement of feline immunodeficiency virus infection after immunization with envelope glycoprotein subunit vaccines. *J. Virology*, 69, 3704-3711.
- Slater, M., Crawford, P., & Levy, J. (2005). Accuracy of polymerase chain reaction assays for diagnosis of feline immunodeficiency virus infection in cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 226, 1503-1506.
- Sodora, D., Schpaer, E., Kitchell, B., Dow, S., Hoover, E., & Mullins, J. (1994). Identification of three feline immunodeficiency virus (FIV) env gene subtypes and comparison of the FIV and human immunodeficiency virus type 1 evolutionary patterns. *J. Virology*, 68, 2230-2238.
- Souza, H., Teixeira, C., & Graça, R. (2002). Estudo epidemiológico da infecção pelo vírus da leucemia e/ou imunodeficiência felina, em gatos domésticos do município do Rio de Janeiro. *Clínica Veterinária*, 36, 14-21.
- Sparkes, A. (1997). Feline leukaemia virus: a review of immunity and vaccination. *Journal of Small Animal Practice*, 38, 187-194.
- Sparkes, A. (2003). Feline leukaemia virus and vaccination. *Journal of feline medicine and surgery*, 5, 97-100.
- Stiles, J. (2013). Ocular manifestations of feline viral diseases. *Veterinary Journal*, 610-612.
- Stuke, K., King, V., Southwick, K., Stoeva, M., Thomas, A., & Winkler, M. (2014). Efficacy of an inactivated FeLV vaccine compared to a recombinant FeLV vaccine in minimum age cats following virulent FeLV challenge. *Vaccine*, 32, 2599-2603.

- Stützer, B., Simon, K., Lutz, H., Majzoub, M., Hermanns, W., Hirschberger, J., . . . Hartmann, K. (2011). Incidence of persistent viraemia and latent feline leukaemia virus infection in cats with lymphoma. *Journal of Feline Medicine Surgery*, 13, 81-87.
- Taffin, E., Paepe, D., Goris, N., Auwerx, J., Debille, M., Neyts, J., . . . Daminet, S. (2014). Antiviral treatment of feline immunodeficiency virus-infected cats with (R)-9-(2-phosphonylmethoxypropyl)-2,6-diaminopurine. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 16, 200-209.
- Tandon, R., Hofmann-Lehmann, R., & Cattori, V. (2007). Vaccination against the feline leukaemia virus: outcome and response categories and long-term follow-up. *Vaccine*, 25, 5531-5539.
- Tenorio, A., Franti, C., Madewell, B., & Perdersen, N. (1991). Chronic oral infections of cats and their relationship to persistent oral carriage of feline calici-, immunodeficiency, or leukaemia viruses. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 29, 1-14.
- Torres, A., Mathiason, C., & Hoover, E. (2005). Re-examination of feline leukemia virus: host relationships using real-time PCR. *Virology*, 332, 272-283.
- White, J., Stickney, A., & Norris, J. (2011). Feline immunodeficiency virus: disease association versus causation in domestic and nondomestic felids. *The Veterinary clinics of North America. Small Animal Practice*, 1197-1208.
- Willett, B., & Hosie, M. (2013). Feline leukaemia virus: half a century since its discovery. *Veterinary Journal*, 195, 16-23.
- Willi, B., Tandon, R., Cattori, V., Lutz, H., & Hofmann-Lehmann, R. (2008). Quantification of endogenous and exogenous feline leukemia virus sequences by real-time PCR assays. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 123, 129-133.
- Willis, A. (2000). Feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 30, 971-986.
- Wise, D., & Carter, G. (2005). *A Concise Review of Veterinary Virology*. IVIS.
- Yamamoto, J., Pu, R., Sato, E., & Hohdatsu, T. (2007). Feline immunodeficiency virus pathogenesis and development of a dual-subtype feline-immunodeficiency-virus vaccine. *AIDS*, 21, 547-563.