

MARIANA SEQUEIRA REIS

**AVALIAÇÃO DA INFEÇÃO PELOS VÍRUS DA
LEUCEMIA FELINA E DA IMUNODEFICIÊNCIA
FELINA NUMA COLÓNIA DE GATOS
ERRANTES DA ILHA DE FARO, PENÍNSULA DO
ANCÃO**

Orientadora: Professora Doutora Margarida Alves

**Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias
Faculdade de Medicina Veterinária**

Lisboa
2017

MARIANA SEQUEIRA REIS

**AVALIAÇÃO DA INFEÇÃO PELOS VÍRUS DA
LEUCEMIA FELINA E DA IMUNODEFICIÊNCIA
FELINA NUMA COLÓNIA DE GATOS
ERRANTES DA ILHA DE FARO, PENÍNSULDA
DO ANCÃO**

Dissertação defendida em provas públicas para obtenção do Grau de Mestre em Medicina Veterinária no curso de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, conferido pela Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, no dia 10 de Fevereiro de 2017, com o Despacho Reitoral nº 59/2017, com a seguinte composição de Júri:

Presidente: Professora Doutora Laurentina Pedroso
Arguente: Professora Doutora Margarida Simões
Orientadora: Professora Doutora Margarida Alves

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias
Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2017

Epígrafe

“Viver é como andar de bicicleta. É preciso estar em constante movimento para manter o equilíbrio.”

Albert Einstein

Agradecimentos

À Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, por ter sido a minha casa durante estes últimos anos, me ter formado tanto a nível profissional como pessoal, e pelos momentos felizes que nela vivi que guardo com nostalgia.

Agradeço à minha orientadora Professora Doutora Margarida Alves, por toda a disponibilidade, dedicação, ajuda, incentivo, motivação e inspiração.

Agradeço à Professora Inês Viegas, por toda a disponibilidade, dedicação, prontidão e ajuda na parte de estatística.

Agradeço, ainda, ao Professor João Ribeiro Lima, por me ter elucidado sobre a escrita de um documento científico e seu planeamento.

Agradeço à totalidade do corpo docente da Universidade. Pela dedicação, motivação e boa-disposição.

Agradeço à equipa do Hospital Referência Veterinária Montenegro, por ser um exemplo, me ter recebido tão bem e pelos ensinamentos transmitidos.

Agradeço ao Doutor Luís Montenegro por me ter aceite como orientador externo. Pela motivação e inspiração.

Agradeço aos meus pais, por serem o meu pilar em tudo, pelo amor, ajuda, carinho, incentivo, dedicação, compreensão e inspiração. Sem eles nada disto seria possível. Obrigada, com amor (1001), mãe, pai.

À Dani, grande amiga e companheira do 21 do Barão de Forrester, pela ajuda e incentivo. Por ter sido um grande apoio no Porto e ter facilitado muito a minha estadia na Invicta.

Aos meus amigos de curso, por todos os bons momentos passados. Pelo companheirismo e união. Pelas horas de estudo intermináveis, gargalhadas no meio do desespero, pelas espadinhas jogadas e claro, pelos jantares de curso, que recordo com tanta saudade.

Aos meus colegas de estágio pelo espírito de entre-ajuda e companheirismo.

À minha família e todos os amigos, pelo apoio e compreensão.

Às amigas Rita, Megui, Joana, Justine, Ana Lúcia e Carla. Em Sintra a aventura da Medicina Veterinária também decorria, entre tardes e noites na biblioteca.

À Invicta, cidade que me recebeu de braços abertos, com a sua boa-disposição habitual, civismo e espírito positivo. Aqui fui muito feliz, e recordo com grande saudade todas as aventuras que nela vivi.

Às duas pequenas por me receberem todos os dias quando voltava da faculdade cansada, aos saltos e beijos, sempre incondicionalmente. Por terem sido a minha companhia durante dias e noites de estudo.

Agradeço a todos os colegas da faculdade pelo companheirismo e espírito de entre-ajuda.

Por fim, agradeço ainda, a todos os que, de uma forma ou outra, tenham contribuído para esta grande aventura.

Resumo

Os vírus pertencentes à família *Retroviridae* têm vindo a ser estudados porque são responsáveis por importantes infeções, em várias espécies, em todo o Mundo. Dentro desta família incluem-se dois retrovírus felinos com grande importância em Medicina Veterinária, o Vírus da Leucemia Felina (FeLV, do inglês “Feline Leukemia Virus”) e o Vírus da Imunodeficiência Felina (FIV, do inglês “Feline Immunodeficiency Virus”). Estes causam um grande espectro de doenças e comprometem o bem-estar dos animais infetados.

O presente estudo teve como objetivo geral determinar as taxas de infeções por FeLV e por FIV, através de um ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA, do inglês “Enzyme-Linked Immunosorbent Assay”) para a deteção de antígeno e anticorpo, respetivamente, numa amostra populacional de 152 gatos errantes que vivem na Ilha de Faro, península do Ancão. Os objetivos específicos foram a caracterização da população, quanto ao sexo, idade e sinais clínicos e investigar possíveis relações entre os casos positivos de infeção e as variáveis epidemiológicas referidas.

A prevalência real de gatos infetados por FeLV foi de 7,6% (13/150) e por FIV de 14,7% (21/152). Para além do referido, parece existir uma possível relação entre a positividade de infeção por FIV e as variáveis idade e presença de linfadenopatia.

O presente documento constitui o primeiro estudo epidemiológico na população de gatos errantes da Ilha de Faro. Assim, recomenda-se a implementação de medidas profiláticas nesta população e, no futuro, a realização de novo estudo epidemiológico, avaliando a evolução dos valores de infeção por FeLV e FIV.

Palavras-chave: gatos, retrovírus, FeLV, FIV, Ilha de Faro, ELISA.

Abstract

Viruses belonging to the *Retroviridae* family have been studied because they are responsible for important infections, in various species, all over the world. Within this family, there are two feline retroviruses with great importance in Veterinary Medicine, the Feline Leukemia Virus (FeLV) and the Feline Immunodeficiency Virus (FIV). These cause a wide spectrum of diseases and compromise the wellbeing of infected animals.

The general objective of the present study was to determine, in a population sample of 152 wandering cats of Ilha de Faro, Ancão, the rates of FeLV and FIV infections by an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antigens and antibodies, respectively. The specific objectives were to characterize the population regarding to sex, age and clinical signs and investigate possible relations between positive cases of infection and epidemiological variables.

The real prevalence of FeLV infected cats was 7.5% (13/150) and of FIV infected cats was 14.7% (21/152). In addition, there seems to be a possible relation between the positivity of FIV infection and the variables age and presence of lymphadenopathy.

This document is the first epidemiological study in a population of wandering cats of the Island of Faro. Thus, it is recommended the implementation of prophylactic measures in this population and, in the future, the accomplishment of a new epidemiological study, evaluating the evolution of FeLV and FIV infection rates.

Key words: cats, retroviruses, FeLV, FIV, Ilha de Faro, ELISA.

Lista de abreviaturas e símbolos

AAFP: American Association of Feline Practitioners'

ABCD: European Advisory Board on Cat Diseases

AZT: Azidotimidina

DNA: Ácido Desoxirribonucleico, do inglês "Deoxyribonucleic Acid"

ELISA: Ensaio de Imunoabsorção Enzimática, do inglês "Enzyme-Linked Immunosorbent Assay"

Et al.: E outros, da locução latina "*et alli*"

EUA: Estados Unidos da América

FIV: Vírus da Imunodeficiência Felina, do inglês "Feline Immunodeficiency Virus"

FeFV: Vírus Espumoso Felino, do inglês "Feline Foamy Virus"

FeLV: Vírus da Leucemia Felina, do inglês "Feline Leukemia Virus"

FMV: Faculdade de Medicina Veterinária

HRP: Peroxidase de Raiz-forte ou Rábano-bastardo (*A Armoracia rusticana*), do inglês "Horseradish Peroxidase"

HRVM: Hospital Referência Veterinária Montenegro

IBD: Doença Inflamatória Intestinal, do inglês "Inflammatory Bowel Disease"

IFA: Teste de Imunofluorescência, do inglês "Immunofluorescence Assay"

LACH: Laboratório de Análises Clínicas e Histopatologia

OVH: Ovariohisterectomia

PBS: Tampão Fosfato Salino, do inglês "Phosphate Buffered Saline"

PCR: Reação em Cadeia da Polimerase, do inglês "Polymerase Chain Reaction"

PIF: Peritonite Infeciosa Felina

RNA: Ácido Ribonucleico, do inglês "Ribonucleic Acid"

SIDA: Síndrome de Imunodeficiência Adquirida

ULHT: Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

VIH: Vírus da Imunodeficiência Humana

λ : Comprimento de onda

°C : Grau Celsius

<: Maior

>: Menor

μ l: Microlitro

ml: Mililitro

rpm: Rotações por minuto

Índice geral

	PÁG.
I - Descrição das atividades do estágio curricular	13
II – Avaliação da infecção pelos vírus da leucemia felina e da imunodeficiência felina numa colónia de gatos errantes da Ilha de Faro, península do Ancão	20
1. Introdução	20
1.1. Vírus da leucemia felina	22
1.1.1. Estrutura e classificação viral	22
1.1.2. Epidemiologia	23
1.1.2.1. Prevalência e distribuição	23
1.1.2.2. Transmissão	25
1.1.2.3. Fatores de risco	26
1.1.3. Patogenia.....	27
1.1.4. Sinais clínicos	29
1.1.5. Diagnóstico	30
1.2. Vírus da imunodeficiência felina	34
1.2.1. Estrutura e classificação viral	34
1.2.2. Epidemiologia	35
1.2.2.1. Prevalência e distribuição	35
1.2.2.2. Transmissão	37
1.2.2.3. Fatores de risco	38
1.2.3. Patogenia.....	39
1.2.4. Sinais clínicos	41
1.2.5. Diagnóstico	42
1.3. Controlo das retrovíroses	45
2. Material e Métodos	47
2.1. Projeto.....	47
2.2. Amostra populacional.....	47
2.3. Métodos de diagnóstico.....	48
2.3.1. <i>Vírus da leucemia felina</i>	48
2.3.2. <i>Vírus da imunodeficiência felina</i>	50

5. Análise estatística	51
3. Resultados.....	52
3.1. Caracterização da amostra populacional	52
3.2. Prevalências de infecção por FeLV e FIV	54
3.3. Relações estatísticas	55
4. Discussão	57
5. Conclusão.....	63
6. Referências Bibliográficas.....	64
7. Anexos	80
7.1. Anexo 1.....	80

Índice de figuras

	PÁG.
Figura 1: Casuística dos casos observados nas consultas médico-veterinárias no Hospital Referência Veterinária Montenegro, distribuídas por especialidades e espécies animais, durante o período de 1 de Setembro de 2015 a 28 de Fevereiro de 2016.	14
Figura 2: Casuística dos casos observados nas cirurgias médico-veterinárias no Hospital Referência Veterinária Montenegro, distribuídas por especialidades e espécies animais, durante o período de 1 de Setembro de 2015 a 28 de Fevereiro de 2016.	16
Figura 3: Esquema da estrutura de um retrovírus.	20
Figura 4: Mapa mundo com distribuição dos subtipos virais de FIV.	35
Figura 5: Fotografia retirada durante o trabalho laboratorial e exemplo de um teste válido.	49
Figura 6: Prevalência aparente de infeção por FeLV.	54
Figura 7 : Prevalência aparente de infeção por FIV.	55
Figura 8: Relação entre o estado de infeção por FIV e a idade.	56
Figura 9: Relação entre o estado de infeção por FIV e o sinal clínico linfadenopatia.	56

Índice de tabelas

	PÁG.
Tabela 1: Possíveis resultados da infecção por FeLV e suas respectivas diferenças nos métodos de diagnóstico.	33
Tabela 2: Resumo da ausência de informação de variáveis epidemiológicas em parte dos animais estudados.	52
Tabela 3: Caracterização da amostra populacional em relação às variáveis intrínsecas, sexo e idade, em frequência absoluta, percentagem e percentagem válida.	53
Tabela 4: Caracterização da amostra populacional em relação às variáveis extrínsecas de sinais clínicos em frequência absoluta, percentagem e percentagem válida.	53

I - Descrição das atividades do estágio curricular

O estágio curricular da autora foi realizado em duas entidades, no Laboratório de Análises Clínicas e Histopatologia (LACH) da Faculdade de Medicina Veterinária (FMV) da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias (ULHT), em Lisboa, e no Hospital Referência Veterinária Montenegro (HRVM), no Porto.

O estágio curricular no LACH-FMV, ULHT foi efetuado sob orientação da Professora Doutora Margarida Alves, tendo permitido a elaboração da presente dissertação. O estágio teve a duração de um mês (entre 1 e 31 de Março de 2016), onde a autora realizou trabalho laboratorial, conforme descrito no presente documento.

O estágio curricular no HRVM foi realizado sob orientação do Doutor Luís Montenegro. O estágio teve a duração de seis meses (entre 1 de Setembro de 2015 a 28 de Fevereiro de 2016), em regime de horário rotativo, com turnos diurnos de 8 horas (das 9h às 17h ou das 14h às 22h), turnos noturnos de 16 horas (das 17h às 9h) e mistos, de 24 horas.

O hospital tem o serviço de atendimento de urgências permanente durante 24 horas, todos os dias do ano. Durante a semana está aberto para consultas no horário das 10h às 20.30h, e ao sábado, das 10h às 18h; o restante tempo, domingos e feriados, está ao serviço de urgência.

Pontualmente, a autora estava escalada para um turno de 8 horas, das 9h às 17h, noutras instalações do hospital, na Clínica Veterinária Montenegro, também situada no Porto, que tem o mesmo horário de funcionamento que o hospital e também dispõe do serviço de atendimento de urgência durante 24 horas, todos os dias do ano. A clínica reúne vários serviços, como internamento, consultas de clínica geral, medicina preventiva e acompanhamento pós-cirúrgico; também são efetuadas cirurgias simples, como ovariohisterectomia (OVH), orquiectomia e remoção de pequenos nódulos, que a autora teve a possibilidade de ajudar e/ou assistir.

No HRVM, durante os dias semanais, a autora teve oportunidade de assistir e intervir nas reuniões médicas matinais, onde diariamente eram discutidos os casos clínicos e abordados temas diversos, de forma a haver troca de conhecimento entre clínicos e atualização do conhecimento na área da medicina e cirurgia. Teve, ainda,

possibilidade de assistir a várias exposições farmacêuticas de medicamentos e rações médico-veterinárias e a ações de formação na área laboratorial, anestesia, imagiologia e oncologia que decorreram no hospital. Para além do referido, também preparou e organizou apresentações em regime de trabalho de grupo e/ou individual, onde expôs, oralmente, temas pertinentes e casos clínicos, como OVH e hemofilia.

Em relação ao serviço de consultas, teve, também, a possibilidade de assistir e/ou auxiliar nas consultas médico-veterinárias de várias especialidades. Na figura 1 está descrita, de forma resumida, a casuística dos casos observados, distribuídos por especialidades e espécies animais. A casuística maior foi de consultas de medicina preventiva, seguindo-se a especialidade de neurologia, infeciologia, oncologia e nefrologia/urologia, respetivamente.

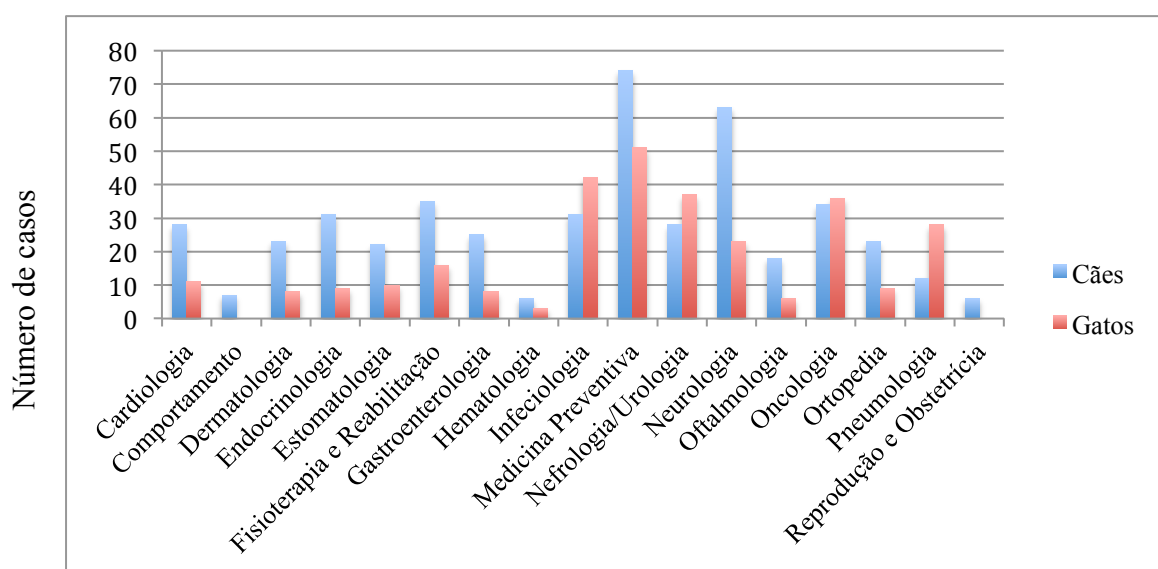


Figura 1: Casuística dos casos observados nas consultas médico-veterinárias no Hospital Referência Veterinária Montenegro, durante o período de 1 de Setembro de 2015 a 28 de Fevereiro de 2016, distribuídas por especialidades e espécies animais,.

Nas consultas de medicina preventiva era realizado um exame clínico geral, vacinação, aplicação do microchip e desparasitação interna e externa.

O serviço de neurologia teve grande importância, pois a autora aprendeu a realizar um exame neurológico e a localizar a lesão. As principais lesões e/ou doenças observadas foram hérnia discal cervical e torácica e convulsões/epilepsia. Teve, também, possibilidade de observar um caso de hidrocefalia e um caso de síndrome de Wobbler num cão.

A infeciologia foi uma especialidade com grande casuística. Importa referir que os casos de traqueobronquite infecciosa canina foram muitos e regulares durante o estágio. Observaram-se outros casos de doenças, como esgana e parvovirose, em cães, e Peritonite Infecciosa Felina (PIF), Infecção pelo Vírus da Leucemia Felina (FeLV, do inglês “Feline Leucemia Vírus”), Vírus da Imunodeficiência Felina (FIV, do inglês “Feline Immunodeficiency Vírus”), em gatos.

Quanto ao serviço de oncologia, foram observados casos muito variados, como linfoma, osteossarcoma, mastocitoma, melanoma, entre outros. A autora teve possibilidade de assistir e auxiliar em sessões de quimioterapia. Aprendeu, ainda, a realizar o cálculo da dose e alguns protocolos que estavam em curso, especialmente no tratamento de linfoma.

A especialidade de nefrologia/urologia teve considerável casuística, especialmente em animais geriátricos, sendo a insuficiência renal, a infecção urinária e os cálculos urinários os casos mais observados.

A autora teve, também, oportunidade de presenciar os restantes serviços, apesar de serem em menor número. Na especialidade de cardiologia, normalmente, realizava-se o acompanhamento regular dos animais e os casos mais assistidos foram os de insuficiência cardíaca. No serviço de comportamento animal, a autora teve possibilidade de assistir a consultas de socialização entre cães. Durante as consultas de dermatologia, familiarizou-se com os procedimentos mais realizados, como citologia e tricograma, assim como os métodos terapêuticos mais adequados. Quanto à especialidade de endocrinologia, os casos mais observados foram de hipotireoidismo e hiperadrenocorticismo em cães e de hipertireoidismo em gatos. No serviço de estomatologia, o complexo eosinofílico felino foi a doença com maior prevalência. Nas sessões de fisioterapia e electroestimulação, a autora teve oportunidade de assistir a algumas técnicas adaptadas a cada caso. Na área de gastroenterologia, a maioria dos casos foi de ingestão de corpo estranho, gastroenterite, doença inflamatória intestinal (IBD, do inglês “Inflammatory Bowel Disease”), fecaloma e dilatação e/ou torção gástrica. Na área de hematologia, os casos mais recorrentes foram de intoxicação por dicumarínicos. Na especialidade de oftalmologia foram examinados casos de catarata, depósitos de cálcio no olho, microftalmia, distíquia, conjuntivite e úlcera na córnea e foi dada possibilidade à autora de se familiarizar com os instrumentos e procedimentos mais executados neste serviço, como a utilização do otoscópio, teste de Schirmer, teste de fluoresceína, tonometria, entre outros. Na especialidade de

ortopedia, auxiliou em exames de diagnóstico precoce de displasia da anca, em testes para diagnóstico de rotura de ligamento cruzado anterior e luxação de patela e observou casos de traumatologia, como fratura óssea e maceração muscular por atropelamento. Na área de pneumologia, a maioria da casuística foi de bronquites crónicas e broncopneumonias. Por fim, na área da reprodução e obstetrícia, a autora teve oportunidade de acompanhar consultas de planeamento de gestação de um casal de cães da raça *Akita Inu*, onde aprendeu a realizar e a interpretar citologias vaginais, recolha de sémen e avaliação e controlo da gestação por ecografia.

Em relação ao serviço de cirurgia, participou na preparação pré-cirúrgica, na cirurgia propriamente dita e na monitorização pós-cirúrgica. Na figura 2 está descrita, de forma resumida, a casuística das cirurgias observadas, distribuídas pelas espécies animais.

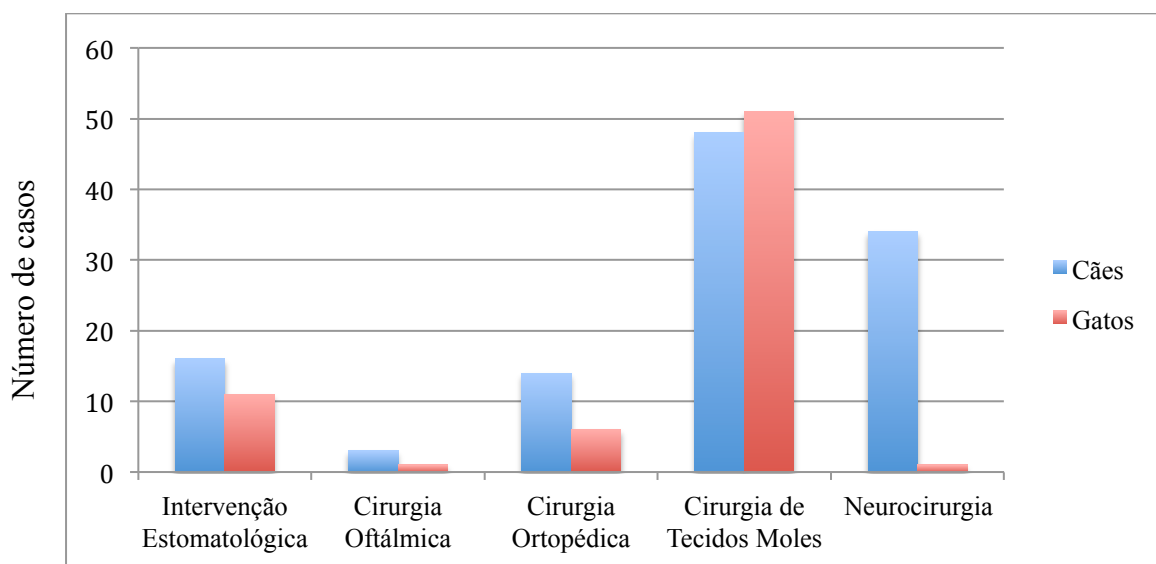


Figura 2: Casuística dos casos observados nas cirurgias médico-veterinárias no Hospital Referência Veterinária Montenegro, distribuídas por especialidades e espécies animais, durante o período de 1 de Setembro de 2015 a 28 de Fevereiro de 2016.

Na preparação pré-cirúrgica, a autora tinha como principais tarefas ajudar e/ou realizar o painel analítico adequado ao animal, discutido com o médico veterinário responsável, colocar o cateter endovenoso e assegurar a correta fluidoterapia, fazer contenção animal quando requisitada para tal, efetuar a tricotomia, lavagem e desinfeção da área cirúrgica, discutir a pré-medicação adequada ao animal com o médico anestesista, realizar a indução anestésica e assegurar a administração da medicação profilática pré-cirúrgica, conforme prescrita pelo médico. Na sala de

cirurgia, a autora executava e/ou ajudava na entubação do animal e conexão ao sistema de anestesia volátil e na ligação de todos os equipamentos necessários para monitorização anestésica e respetiva cirurgia.

Durante a cirurgia, a autora tinha as tarefas de monitorização anestésica do animal, ajudante de cirurgião e circulante. Quando destacada para monitorização anestésica, tinha de conferir as constantes vitais do animal, assegurando uma correta anestesia. Como ajudante de cirurgião, teve oportunidade de, na prática, observar técnicas cirúrgicas e, no final da cirurgia, pontualmente teve oportunidade de realizar uma sutura de encerramento. Quando selecionada para circulante, a principal tarefa era fornecer o material cirúrgico necessário, de forma célere e asséptica.

Após terminar a cirurgia, a autora acompanhava o animal, realizava radiografias pós-cirúrgicas, quando solicitadas pelo médico cirurgião, e assegurava a monitorização pós-cirúrgica, controlando os sinais vitais, certificando a subida da temperatura e a administração da medicação necessária, prescrita pelo médico.

Conforme apresentado na figura 2, a maioria das intervenções observadas foram cirurgias de tecidos moles, geralmente, OVH e orquiectomia simples. No entanto, a autora também teve possibilidade de assistir a outras cirurgias de tecidos moles para além das referidas, como OVH por complicações como piómetra ou mucómetra, cesariana, mastectomia, esplenectomia, gastrotomia por corpo estranho, resolução de torção gástrica, resolução de hérnia diafragmática, excisão de nódulos cutâneos, lipomas, mastocitomas e outros.

A maioria dos casos de neurocirurgia foram da espécie canina e a cirurgia que a autora teve possibilidade de assistir, com maior frequência, foi a hemilâminectomia. Foi, ainda, possível ajudar numa cirurgia complicada de resolução de luxação atlanto-axial com fratura da asa do atlas.

A cirurgia ortopédica teve, também, considerável casuística, tendo as principais técnicas cirúrgicas observadas sido de resolução de fraturas de ossos longos com aplicação de placas, amputação de membros posterior e anterior, entre outros.

Em relação à intervenção estomatológica, a autora auxiliou em destartarizações e extrações dentárias e teve oportunidade de acompanhar as várias fases de um caso de implantação de uma prótese de um dente canino, num cão da raça Galgo Afegão.

A cirurgia oftálmica foi a menos observada, mas os casos que teve possibilidade de auxiliar foram de resolução de distiquíase e enucleação.

O hospital disponibiliza o serviço de endoscopia, tendo sido possível auxiliar diversos procedimentos; a gastroscopia foi a mais observada, tendo ajudado na realização de biopsias com recurso a endoscópio.

Da mesma forma, o hospital tem ao dispor métodos de diagnóstico complementares, como hemograma, análises bioquímicas sanguíneas, ionograma, urianálise, exame fecal, citologia e anatomia patológica, análises microbiológicas e micológicas, recolha e análise de líquido cefalorraquidiano, que a autora teve a possibilidade de executar e/ou auxiliar. O hospital trabalha em conjunto com laboratórios de análises clínicas médico-veterinários nacionais e internacionais, que realizam testes serológicos e hormonais, quando requisitados pelo centro hospitalar.

As análises clínicas são requeridas pelos médicos responsáveis e efetuadas para avaliação pré-cirúrgica, auxílio ao diagnóstico clínico, apreciação de resposta a tratamentos em curso e, de forma rotineira, para monitorização da função dos principais órgãos, especialmente em pacientes geriátricos. A autora teve possibilidade de discutir o painel analítico mais adequado a alguns casos clínicos.

No serviço de imagiologia do hospital incluem-se radiografia e ecografia. A autora realizou e/ou auxiliou em exames radiográficos, mielografia, ecografias abdominais, ecocardiografias e procedimentos ecoguiados, como cistocentese, punção aspirativa de estruturas internas e colocação de pleurocan (R).

Para além do já referido, ainda teve oportunidade de auxiliar exames imagiológicos no Centro de Imagem Montenegro, como a tomografia axial computadorizada e a ressonância magnética. No Centro de Imagem, quando requisitada, a autora ajudava na contenção animal, colocação de cateter endovenoso, assegurando a fluidoterapia, administração de medicação pré-anestésica e indução anestésica, entubação, certificando-se da correta ligação ao sistema de anestesia volátil, controlo da anestesia e administração de solução de contraste, quando necessário. A autora aprendeu algumas noções básicas destes dois meios de diagnóstico.

Em relação ao serviço de internamento, estava encarregue de fazer os exames clínicos diários (controlo da temperatura, frequência respiratória, frequência cardíaca, pulso, mucosas e tempo de repleção capilar), garantir o cumprimento da fluidoterapia e a sua adequada preparação, com supervisão médica, assegurar o cumprimento da administração das medicações injetáveis e orais prescritas pelos médicos, que eram discutidas com a autora, e preparar e fazer a alimentação e a higiene diária dos animais. Para além do referido, sempre que solicitada, tinha outras

tarefas, como garantir uma boa contenção física, preparar material e colocar cateteres endovenosos e subcutâneos e fazer colheitas de sangue.

Também estava encarregue, sempre que requisitada, de fazer fisioterapias de acordo com o protocolo instituído, realizar nebulizações, monitorizar animais em processo de transfusão sanguínea e ajudar em procedimentos de doação de sangue, executar curvas de glicemia, fazer enemas, algaliações e pensos, medir pressões arteriais e realizar eletrocardiogramas. Sempre que necessário, também estava encarregue de tarefas como monitorizar pacientes dispneicos e assegurar uma correta oxigenioterapia, controlar comportamento de animais com grande potencial de desenvolver convulsão, ajudar em métodos de diálise peritoneal e em lavagens intra-articulares, entre outros procedimentos necessários à saúde e ao bem-estar do animal, como corte de unhas, esvaziar sacos anais, limpeza dos ouvidos, entre outros.

Ademais, a aluna teve oportunidade de presenciar e ajudar em diversas situações de urgência médica, como paragens cardiovasculares, convulsões e hemorragias pulmonares, onde foi necessário auxiliar nos procedimentos em equipa com os médicos e enfermeiros de forma célere.

No hospital, também é realizada a eutanásia em determinados casos, um procedimento que a autora teve possibilidade de observar e ajudar.

Em certas situações, cujo diagnóstico é desconhecido, ou de doença com um curso atípico, é realizada a necropsia. Durante a presença da autora no HRVM, foi-lhe dada a oportunidade de assistir e ajudar numa necropsia.

Para além do referido, a aluna teve, também, possibilidade de contactar com o público em geral e, na maioria das vezes, com os proprietários, em atendimento telefónico e pessoal. No atendimento pessoal estava responsável por fazer uma triagem e o *check-up* inicial à entrada dos animais e uma rápida anamnese.

II – Avaliação da infecção pelos vírus da leucemia felina e da imunodeficiência felina numa colónia de gatos errantes da Ilha de Faro, península do Ancão

1. Introdução

A família *Retroviridae* tem vindo a ser estudada há algum tempo porque é responsável por importantes infeções em todo o Mundo, em várias espécies, incluindo humanos e felinos (Dunham & Graham, 2008; Levy *et al.*, 2008a; Lairmore, 2011; Policicchio *et al.*, 2016).

As doenças associadas às retroviroses foram descritas desde muito cedo e em 1970 foi realizada a descoberta de uma importante enzima, a transcriptase reversa, característica desta família (Baltimore, 1970; Temin & Mizutani, 1970).

Este grupo de retrovírus é, também, caracterizado por ser composto por duas cadeias simples de ácido ribonucleico (RNA, do inglês “Ribonucleic Acid”). O genoma diploide dos retrovírus é constituído por três genes estruturais: i) o gene *gag*, que codifica proteínas da matriz, cápside icosaédrica e nucleocápside, ii) o gene *pol*, que codifica enzimas responsáveis pela replicação viral iii) e o gene *env*, que codifica glicoproteínas do envelope do virião, de superfície de ligação ao receptor e transmembranar (figura 3) (Dunham & Graham, 2008; Lairmore, 2011).

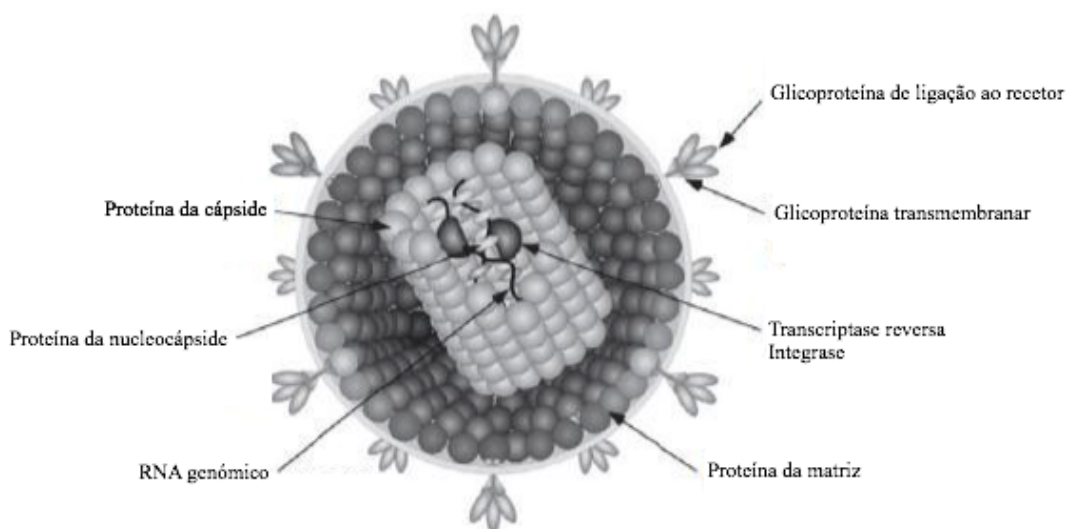


Figura 3: Esquema da estrutura de um retrovírus (Adaptado de Lairmore, 2011).

No ciclo de replicação viral dos retrovírus, o agente entra na célula hospedeira e sofre um processo de transcrição reversa. O termo *retro* (reverso) reflete a propriedade que os retrovírus têm de sintetizar uma cópia de ácido desoxirribonucleico (DNA, do inglês “Deoxyribonucleic Acid”) a partir do RNA viral, por ação da enzima transcriptase reversa. O DNA sintetizado é integrado no genoma das células infetadas, por ação da enzima integrase, persistindo nelas como provírus. Ademais, o genoma viral é traduzido e transcrito e é efetuada a morfogênese de novos viriões que são extruzidos (Dunham & Graham, 2008; Lairmore, 2011).

O processo de transcrição reversa não é efetuado de forma completamente precisa e, por vezes, são introduzidos alguns erros no genoma viral. Assim, existe uma grande variabilidade genética dos viriões produzidos e, embora alguns possam ter defeitos, outros têm alterações benéficas que lhes conferem uma vantagem significativa de sobrevivência contra a resposta imune do organismo. Para além do referido, existe uma grande frequência de recombinações genéticas entre o genoma das células infetadas e um ou vários vírus, que lhes podem, da mesma forma, conferir vantagens (Dunham & Graham, 2008; Lairmore, 2011).

A família *Retroviridae* é dividida em duas subfamílias, a *Orthoretrovirinae* e a *Spumaretrovirinae*. A *Orthoretrovirinae* subdivide-se em seis géneros: *Alpharetrovirus*, *Betaretrovirus*, *Gammaretrovirus*, *Deltaretrovirus*, *Epsilonretrovirus* e *Lentivirus*. A família *Spumaretrovirinae* tem apenas a família *Spumavirus* (Lairmore, 2011).

Dentro da família dos retrovírus destacam-se dois que infetam gatos: i) o vírus da leucemia felina (FeLV, do inglês “Feline Leukemia Vírus”), um *Gammaretrovirus*, e ii) o vírus da imunodeficiência felina (FIV, do inglês “Feline Immunodeficiency Virus”), um *Lentivirus*. Estes dois retrovírus têm elevada importância em Medicina Veterinária (Arjona *et al.*, 2000; Dunham & Graham, 2008; Hartmann, 2011; Lairmore, 2011; Little, 2011).

Para além do referido, também se encontra descrita a existência de um terceiro retrovírus felino, com menor importância do ponto de vista clínico, o vírus espumoso felino (FeFV, “Feline Foamy Vírus”), um *Spumavirus*. Este retrovírus é considerado não patogénico (Romen *et al.*, 2006; Dunham & Graham, 2008); no entanto, estudos mais recentes têm refutado esta hipótese (German *et al.*, 2008).

O FeLV e o FIV têm potencial de causar um espetro de doenças bastante semelhante, de tal modo que diferenciá-las clinicamente é bastante difícil. Estas duas

retrovíroses são caracterizadas pelo desenvolvimento de tumores, anemia, imunodeficiência e infecções oportunistas secundárias (Bande *et al.*, 2012). Apesar das semelhanças, o FeLV e o FIV diferem bastante na forma de infecção, na resposta imune e na patogenia (Hartmann, 2011).

1.1. Vírus da leucemia felina

O FeLV foi descoberto, pela primeira vez, em 1964, numa população de gatos com linfoma, por Jarrete *et al.* (1964) e, três anos depois, isolado por Kawakami *et al.* (1967). Atualmente, continua a ser uma importante doença dos gatos domésticos (Hardy *et al.*, 1976; Dunham & Graham, 2008).

1.1.1. Estrutura e classificação viral

O FeLV é um retrovírus, do tipo C, que pertence à subfamília *Orthoretrovirinae* e género *Gammaretrovirus* (Lairmore, 2011; O'Brien *et al.*, 2012).

O genoma deste retrovírus é constituído por três genes estruturais: i) o gene *gag*, que codifica proteínas do interior do virião, incluindo a proteína p27, da cápside, a proteína p10, da nucleocápside, a proteína p15c, da matriz, e a proteína p12, cuja localização ainda não é totalmente conhecida, ii) o gene *pol*, que codifica a enzima transcriptase reversa e a integrase e iii) o gene *env*, que codifica a glicoproteína gp70, de superfície e a proteína p15e, transmembranar (Hartmann, 2006; Lutz *et al.*, 2009; Lairmore, 2011; O'Brien *et al.*, 2012).

Nos gatos domésticos existem formas exógenas e endógenas de FeLV. Os vírus exógenos são patogénicos e podem ser transmitidos horizontalmente. Os vírus endógenos são conhecidos como RD-114, enFeLV e MAC-O e, quando presentes, são apatogénicos e inerentes ao animal. Normalmente, os vírus endógenos estão presentes no genoma de uma população de gatos e a sua transmissão é vertical, através da linha germinativa. As fracções de DNA proviral endógenas não induzem a produção de partículas virais infecciosas (Hartmann, 2006; Lutz *et al.*, 2009; Anai *et al.*, 2012).

O FeLV também é classificado em subtipos, de acordo com a variação na sequência do gene *env*. Existem diferentes subtipos virais, o FeLV-A, o FeLV-B, o FeLV-C e o FeLV-T; no entanto, apesar de distintos, são antigenicamente semelhantes (Lutz *et al.*, 2009; Stewart *et al.*, 2012).

O subtipo A é o mais frequente nas infecções em gatos domésticos, sendo a sua transmissão horizontal (Hartmann, 2006; Dunham & Graham, 2008; Lutz *et al.*, 2009). Os subgrupos restantes não são transmitidos horizontalmente, na natureza, surgindo quando o subtipo A infeta um animal e ocorrem mutações e/ou recombinações entre o genoma viral de FeLV-A e genes celulares do hospedeiro, ou genes de um vírus endógeno de FeLV. Desta forma, a patogenicidade do vírus aumenta (Hartmann, 2006; Dunham & Graham, 2008; Lutz *et al.*, 2009; Helfer-Hungerbuehler *et al.*, 2010; Stewart *et al.*, 2012).

O subtipo B é o produto de uma recombinação de FeLV-A com enFeLV, um *Gammaretrovirus* endógeno felino. O FeLV-B tem a capacidade de influenciar o curso da doença, por exemplo, acelerando o desenvolvimento de tumores e aumentando o potencial neuropatogénico do vírus (Dunham & Graham, 2008; Lutz *et al.*, 2009; Lairmore, 2011; O'Brien *et al.*, 2012).

O subtipo C é raro e é o resultado de uma mutação no gene *env* de FeLV-A. O FeLV-C causa um rápido desenvolvimento de anemia não regenerativa fatal (Hartmann, 2006; Dunham & Graham, 2008; Lutz *et al.*, 2009).

O FeLV-T é um subtipo que foi descoberto recentemente, sendo o resultado de várias mutações no gene *env* de FeLV-A. Este é caracterizado por ter citotropismo para os linfócitos T e por causar uma severa imunossupressão (Hartmann, 2006; Dunham & Graham, 2008; Lutz *et al.*, 2009).

1.1.2. Epidemiologia

1.1.2.1. Prevalência e distribuição

O FeLV infeta, principalmente, gatos domésticos na natureza; no entanto, encontram-se descritos alguns casos de infecções por este vírus em espécies felinas não-domésticas, incluindo gato-bravo (*Felis silvestres*), gato-chileno (*Leopardus guigna*) lince ibérico (*Lynx pardinus*), lince-pardo (*Felis rufus*), puma (*Puma concolor*) e chita (*Acinonyx jubatus*) (Hartmann, 2006; Lutz *et al.*, 2009; Blanco *et al.*, 2011; Filoni *et al.*, 2012; Foley *et al.*, 2013; Mora *et al.*, 2015).

Vários autores têm realizado estudos epidemiológicos sobre a infeção por FeLV que evidenciam que este retrovírus tem uma distribuição ubíqua, com exceção da Ilha Granada, Galápagos e Antilhas, onde ainda não foi descoberta infeção por este agente (Hartmann, 2006; Levy *et al.*, 2008c).

Importa referir que têm sido demonstradas várias evidências de que a infeção por FeLV tem vindo a diminuir desde a década de 80 (Levy & Crawford, 2005; Hartmann, 2006; Levy *et al.*, 2008; Meichner *et al.*, 2012). A descida dos valores de infeção tem-se verificado especialmente em gatis, devido à realização de exames de diagnóstico para esta doença e às práticas preventivas instituídas. A melhor compreensão da patogenia, assim como o início da vacinação para este agente, também contribuiu para a descida da taxa de infeção (Hartmann, 2006).

A prevalência de infeção por FeLV é influenciada pela densidade populacional, suas características, como idade, sexo, estado de saúde e estilo de vida, zona geográfica e tipo de local (Hartmann, 2006; Little *et al.*, 2009; Lutz *et al.*, 2009).

Encontra-se descrito, que os valores de infeção por este agente são variáveis de acordo com a região geográfica, sendo de 2,3 a 3,3% na América do Norte, 0 a 2,9% na Ásia e 3,5 a 15,6% na Europa (Gleich *et al.*, 2009; Spada *et al.*, 2012; Chhetri *et al.*, 2013). Para além do referido, em média, uma população aparentemente saudável tem uma taxa de infeção de 1 a 8%; uma população com inclusão apenas de animais doentes, em média, tem uma taxa de infeção de doença superior a 38%; uma população composta por animais que apresentem doenças como linfoma e leucemia tem uma taxa de infeção média de 75% (Arjona *et al.*, 2000; Levy & Crawford, 2005; Hartmann, 2006).

Considerando apenas estudos realizados com recurso ao teste de ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA, do inglês “Enzyme-Linked Immunosorbent Assay”) para detecção de antigénio de FeLV, as prevalências de infeção encontradas foram de 2,3% (409/18038), na América do Norte, numa população de gatos provenientes de colónias (n=8068) e com proprietários (n=9970) (Levy *et al.*, 2006), de 7,5% (17/227), no México, numa população de gatos com proprietários (Ortega-Pacheco *et al.*, 2013), de 3,4% (383/11144), no Canadá, numa população mista de gatos errantes (n=1556) e com proprietário (n=9588) (Little *et al.*, 2009) e de 1,0% (2/196), na Finlândia, numa população de gatos errantes (Sukura *et al.*, 1992).

Em Portugal, foram efetuados alguns estudos que indicam ocorrência de infeção por este retrovírus. Rosado (2009) estudou uma população de gatos do Canil Municipal de Lisboa, através do teste ELISA ViraCHEK®/FeLV (Synbiotics) e concluiu que a prevalência aparente de infeção por FeLV foi de 10% (5/50). Outra investigação, realizada na área metropolitana de Lisboa, na qual foram testados gatos errantes provenientes de várias colónias, através do mesmo teste concluiu que a

prevalência aparente de infecção foi de 7,1% (14/198) (Duarte *et al.*, 2010). Ainda em Lisboa, Turras (2014), utilizando o teste rápido de imunocromatografia FeLV/FIV da sensPERT® (Venco) e a reação em cadeia da polimerase (PCR, do inglês “Polymerase Chain Reaction”) como teste confirmatório, encontrou, numa população de gatos provenientes de várias colónias de animais errantes, uma prevalência de infecção de 5,7% (5/88). Na região de Setúbal, foi estudada uma população de animais de um gatil, através do teste rápido de imunocromatográfico Speed® Duo FeLV/FIV (Virbac), tendo sido obtida uma prevalência real de infecção por FeLV de 9,8% (5/50) (Rodrigues, 2012). Na Ilha de São Miguel, região autónoma dos Açores, através do método de ELISA ViraCHEK®/FeLV (Synbiotics), Botelho (2014) estudou uma população de gatos errantes e assilvestrados e detetou uma prevalência real de 0,6% (2/90) para a ocorrência de infecção por FeLV.

Na Ilha de Faro nunca foi realizado nenhum estudo acerca desta infecção, pelo que a presença de doença ainda é desconhecida (Diário Digital & Agência Lusa, 2014).

1.1.2.2. Transmissão

O FeLV pode ser transmitido horizontalmente ou verticalmente, apesar da última via ser menos comum (Gomes-Keller *et al.*, 2006; Levy *et al.*, 2008; O’Brien *et al.*, 2012).

A transmissão horizontal é a mais comum e, normalmente, ocorre via oronasal (Hardy *et al.*, 1973; Levy *et al.*, 2008; Bande *et al.*, 2012; Chhetri *et al.*, 2015). A transmissão do FeLV é bastante comum entre gatos que vivam juntos, façam *grooming* mútuo, partilhem as taças da água e comida e usem a mesma liteira (Arjona *et al.*, 2000; Hartmann, 2006; Dunham & Graham, 2008; Levy *et al.*, 2008; Lutz *et al.*, 2009; Chhetri *et al.*, 2015).

A principal secreção corporal que pode infetar um novo animal é a saliva, uma vez que tem uma elevada concentração viral e, portanto, é a que está mais envolvida na transmissão da doença, na natureza (Hartmann, 2006; Helfer-Hungerbuehler *et al.*, 2010). Porém, também estão descritas outras que têm este potencial, como secreções respiratórias, fezes, urina, lágrima e leite materno (Arjona *et al.*, 2000; Hartmann, 2006; Levy *et al.*, 2008; Lutz *et al.*, 2009; Munro *et al.*, 2014).

A transmissão iatrogénica, por contaminação de agulhas, instrumentos, fômites e transfusão sanguínea é improvável porque o vírus é inativado em poucos segundos no ambiente (Hartmann, 2006; Munro *et al.*, 2014; Nesina *et al.*, 2015).

A transmissão vertical, de gatas infetadas com FeLV, para a descendência, pode ocorrer apesar de ser um acontecimento raro na natureza (Levy *et al.*, 2008). A transmissão pode ocorrer via transplacentária, contacto com a saliva da progenitora e ingestão do leite materno (Nemzek *et al.*, 1994; Little *et al.*, 2011; Munro *et al.*, 2014)

Normalmente, as gatas com infeção progressiva têm morte embrionária, morte fetal, reabsorção fetal ou parem gatos virémicos, que possuem grande risco de sobrevida curta. Está descrito que apenas cerca de 20% dos gatos infetados verticalmente sobrevivem; no entanto, tornam-se persistentemente infetados, em adultos (Hartmann, 2006; Lutz *et al.*, 2009). Em relação às gatas com infeção regressiva, a transmissão do vírus à descendência ocorre através da ingestão do leite materno. Desta forma, os gatos podem tornar-se virémicos após nascimento (Hartmann, 2006; Lutz *et al.*, 2009). As gatas com uma infeção atípica na glândula mamária podem, também, transmitir o vírus à descendência, através da ingestão de leite (Hartmann, 2006).

Para além do referido, está descrito que o FeLV já cresceu, laboratorialmente, em células de outras espécies animais, como cães, coelhos, porcos, vacas, entre outros. Os subtipos B e C do FeLV têm a capacidade de replicar em linhagens de células humanas. Apesar destas descobertas, atualmente, o FeLV não é transmissível para estas espécies (Lappin, 2003; Hartmann, 2006).

1.1.2.3. Fatores de risco

A infeção por FeLV é uma doença de gatos que coabitam, uma vez que a transmissão é feita essencialmente pelo contacto social (Hartmann, 2006).

Está descrito, em estudos recentes, que a idade do animal, quando infetado, o sexo, o estilo de vida e o estado de saúde poderão ser fatores de risco para adquirir esta infeção (Levy *et al.*, 2006; Lutz *et al.*, 2009; Bande *et al.*, 2012; de Almeida *et al.*, 2012; Meichner *et al.*, 2012; Sukhumavasi *et al.*, 2012).

A susceptibilidade dos gatos ao FeLV é dependente da idade, sendo que gatos, com idade compreendida entre quatro e seis meses, têm maior probabilidade de desenvolver infeção progressiva, quando comparando com animais mais velhos. Com

a idade, os gatos tornam-se cada vez mais resistentes ao retrovírus, mas, se expostos a doses elevadas, podem ser infetados (Hoover *et al.*, 1976; Hosie *et al.*, 1989; Levy *et al.*, 2008; Gleich *et al.*, 2009; Lutz *et al.*, 2009; Ramírez *et al.*, 2016).

Em relação ao sexo do animal, existem vários estudos que afirmam que gatos machos têm um risco significativamente maior de contrair uma infecção por FeLV do que as fêmeas (Hartmann, 2006; Levy *et al.*, 2006; Gleich *et al.*, 2009; Little *et al.*, 2009; Bande *et al.*, 2012). No entanto, também foram descritos outros dados epidemiológicos que não suportam esta afirmação (Bandecchi *et al.*, 2006; Danner, 2007).

Os gatos que vivem com densidade populacional elevada, especialmente em locais pouco higienizados, também têm maior probabilidade de adquirir uma infecção por FeLV comparando com os que vivem numa habitação sozinhos (Gleich *et al.*, 2009; Bande *et al.*, 2012; Ramírez *et al.*, 2016). Da mesma forma, animais com acesso ao exterior têm maior probabilidade de adquirir uma infecção por este agente, comparando com gatos confinados à residência (Levy *et al.*, 2006; Levy *et al.*, 2008; Gleich *et al.*, 2009).

Os gatos que apresentem outra doença também têm maior probabilidade de adquirir infecção por FeLV (Hosie *et al.*, 1989; Little *et al.*, 2009; Bande *et al.*, 2012).

1.1.3. Patogenia

O resultado de infecção é diferente entre animais, porque depende do estado do sistema imune, idade quando infetado, subtipo viral, respetiva patogenia e concentração viral (Hartmann, 2006).

Existem quatro possíveis resultados de infecção. Numa habitação em que coabitam vários gatos domésticos, em que não está instituída nenhuma medida profilática, em média, 30 a 40% dos animais terá uma infecção progressiva, 30 a 40%, uma infecção regressiva, 20 a 30%, uma infecção abortiva e cerca de 5% terá um curso atípico de infecção (Lutz *et al.*, 2009).

Os gatos que desenvolvem uma infecção progressiva são animais cujo organismo não obteve uma resposta imune eficiente contra o retrovírus no início da doença (Hartmann, 2006).

Numa infecção progressiva, após exposição ao vírus, este começa a replicar, no tecido linfóide local, na orofaringe (1ª etapa). Posteriormente, há uma

disseminação do vírus através da circulação sanguínea de células mononucleares (linfócitos e monócitos) infectadas pelo vírus (2ª etapa), que são transportadas para outros órgãos, como baço, linfonodos e tecido linfóide associado ao intestino onde se replicam (3ª etapa). Depois, também migram para a medula óssea (4ª etapa). Como as células da medula óssea têm elevado índice mitótico, após a sua infecção, são produzidos viriões a uma taxa elevada. Acontece a disseminação de plaquetas e neutrófilos infectados derivados da medula óssea (5ª etapa) seguindo a infecção epitelial disseminada com secreção viral, principalmente na saliva (6ª etapa) (Lappin, 2003; Dunham & Graham, 2008; Lutz *et al.*, 2009; Lairmore, 2011; Hartmann, 2012). Numa infecção progressiva, os animais não desenvolvem uma imunidade específica para o retrovírus, sendo os níveis de anticorpos baixos. Tornam-se persistentemente infectados, tendo potencial de transmitir o FeLV a outros animais e desenvolver doenças associadas a este retrovírus, com prognóstico mau e uma esperança média de vida sem tratamento, de três anos (Hartmann, 2006; Hartmann, 2011; Hartmann, 2012).

Na infecção regressiva, há uma resposta imune e a replicação viral é controlada antes ou aquando da infecção da medula óssea (Hartmann, 2006; Levy *et al.*, 2008a). Acontecem as primeiras três etapas acima referidas e, nesta fase, os gatos eliminam o vírus, principalmente na saliva, sendo, portanto, infeciosos para outros animais. Esta virémia termina dentro de algumas semanas, tendo uma duração média de três a 16 semanas (Hartmann, 2006; Hartmann, 2012). Alguns gatos conseguem controlar a virémia muito cedo (menos de 3 semanas), sem que a medula óssea seja infectada. Estes desenvolvem uma resposta imune efetiva, estão protegidos contra nova exposição ao vírus e têm pouco risco de desenvolver doenças associadas a este retrovírus; no entanto, o vírus está integrado no genoma como provírus (Hartmann, 2006). Noutros, a virémia dura mais de três semanas e a medula óssea é infectada, sendo produzidos neutrófilos e plaquetas infectados que circulam no organismo. No entanto, mesmo nestes casos, em que as células da medula óssea são infectadas, alguns animais conseguem controlar a virémia. Apesar do DNA proviral ficar presente nas células estaminais da medula óssea, existe uma resposta imune eficiente e não são produzidas partículas virais. Estes gatos não transmitem o vírus, não são infeciosos para outros animais e têm baixa probabilidade de desenvolver doenças associadas a FeLV (Hartmann, 2006). Ainda assim, nos casos de infecção regressiva, pode haver uma reativação da infecção, com produção viral, dado que a informação para a

produção de virões está presente nas células do organismo, existindo um potencial de ser reutilizada quando os níveis de anticorpos diminuem. Desta forma, os gatos regressivos podem voltar a tornar-se novamente virémicos (Hartmann, 2012). Esta diminuição dos anticorpos pode acontecer devido a uma imunossupressão, depois de situações de stress, experimentalmente quando administrada uma dose elevada de glucocorticóides, ou durante a gestação, como resultado de imunossupressão de progesterona endógena (Hartmann, 2006). No entanto, importa referir que os gatos com infeção regressiva eliminam por completo os genes virais das suas células, em média, nove a 16 meses depois da infeção (Hartmann, 2006).

A infeção abortiva acontece em alguns gatos que são imunocompetentes. Normalmente, estes animais são expostos a baixas doses de FeLV e a replicação viral é terminada por uma resposta imune efetiva. O vírus não se espalha sistemicamente, os gatos nunca se tornam virémicos nem acontece a integração de DNA proviral no genoma do animal (Hartmann, 2006; Hartmann, 2012). Estes animais têm anticorpos que persistem vários anos, têm baixo risco de desenvolver doenças associadas a FeLV e o potencial de transmitir o vírus é muito baixo (Hartmann, 2006; Hartmann, 2012).

A infeção focal ou atípica acontece na natureza, sendo, no entanto, um acontecimento raro. É uma infeção que se caracteriza por uma replicação viral, local, atípica e persistente, por exemplo, na glândula mamária, na bexiga ou no olho, na qual existe uma produção baixa ou intermitente do antígeno p27 (Hartmann, 2012).

1.1.4. Sinais clínicos

Clinicamente, o FeLV é, geralmente, mais patogénico do que o FIV. Os sinais clínicos de uma infeção pelo FeLV são muito variáveis, estando descrito o desenvolvimento de imunossupressão, infeções secundárias, tumores, alterações hematológicas, como anemia e leucopenia, entre outros (Hartmann, 2006; Gleich *et al.*, 2009; Lutz *et al.*, 2009; Hartmann, 2011).

Os animais com infeção por FeLV podem desenvolver imunossupressão e têm elevada probabilidade de adquirir infeções bacterianas, virais, fúngicas e por protozoários (Hartmann, 2006; Gleich *et al.*, 2009; Lutz *et al.*, 2009; Hartmann, 2011; Hartmann, 2012; Gleich & Hartmann, 2009). Está descrito que a infeção por FeLV pode predispor a infeções como estomatite, rinite crónica, abscessos subcutâneos,

otites externas, doenças de pele, entre outras (Hartmann, 2006; Lutz *et al.*, 2009; Kornya *et al.*, 2014).

O FeLV causa diferentes tumores nos gatos. Os mais comuns são o linfoma, normalmente com origem nos linfócitos T, e a leucemia, mas também estão descritos outros tumores hematopoéticos, como mielofibrose, fibrossarcoma, osteocondroma, neuroblastoma oftálmico, entre outros (Jackson *et al.*, 1993; Hartmann, 2006; Dunham & Graham, 2008; Lutz *et al.*, 2009; Hartmann, 2011; Hartmann, 2012; Meichner *et al.*, 2012; Stiles, 2014; Nesina *et al.*, 2015). Este retrovírus pode predispor os animais a doenças imunomediadas, incluindo anemia hemolítica, glomerulonefrite e poliartrite (Lutz *et al.*, 2009; Gleich & Hartmann, 2009). Estão descritos outros síndromes associados a este retrovírus, como síndrome de imunodeficiência adquirida felina (SIDA), enterite associada a FeLV, alterações reprodutivas, síndrome de gato-bebé enfraquecido, neuropatia e hepatopatia (Hartmann, 2006; Lutz *et al.*, 2009).

1.1.5. Diagnóstico

Para o diagnóstico da infecção por FeLV, foram desenvolvidas várias técnicas, sendo que algumas detetam o antígeno p27 solúvel, outros o vírus, outros o DNA proviral ou, ainda, o RNA viral (Dunham & Graham, 2008). Estudos recentes têm sido realizados de forma a desenvolver testes diagnóstico alternativos, como a detecção dos anticorpos para a proteína p15e transmembranar (Boenzli *et al.*, 2014).

Os testes de diagnóstico efetuados em clínica para detecção de uma infecção por FeLV, são diretos e baseiam-se na detecção do antígeno viral p27, o antígeno solúvel em circulação. O diagnóstico de FeLV através da detecção de anticorpos não é eficiente porque, muitas vezes, os gatos desenvolvem anticorpos contra o vírus endógeno e, desta forma, poderiam existir muitos resultados falso positivos (Levy *et al.*, 2003; Hartmann *et al.*, 2007; Levy *et al.*, 2008a; Kim *et al.*, 2014).

A imunocromatografia e a ELISA são as técnicas utilizadas nos testes de triagem (Hartmann *et al.*, 2007). A ELISA é um teste serológico imunoenzimático que deteta a presença do antígeno p27 solúvel, que tem a vantagem de possuir uma elevada sensibilidade e especificidade (Lutz *et al.*, 2009; Little *et al.*, 2011). A técnica de ELISA em microplacas é bastante utilizada para estudar o estado de infecção por este agente em populações. A imunocromatografia é um método que se baseia no

mesmo princípio que a ELISA, sendo as suas sensibilidade e especificidade bastante semelhantes (Lutz *et al.*, 2009).

Regra geral, quando se utilizam estes testes, a maioria dos animais só apresenta um resultado positivo após 28 dias da exposição inicial; no entanto, o desenvolvimento da antigenemia é extremamente variável, podendo ser superior ao tempo referido (Levy *et al.*, 2008a; Little *et al.*, 2011).

Importa, ainda, referir que os gatos bebés expostos a FeLV por transmissão materna, podem ter resultados falso negativos, até alguns meses após o nascimento (Levy *et al.*, 2008a; Little *et al.*, 2011). Em relação à vacinação contra o FeLV, esta não compromete o resultado dos testes dado que estes detetam antigénios e não anticorpos. No entanto, a amostra para o diagnóstico deve ser colhida antes da administração da vacina, para evitar que contenha antigénios vacinais (Levy *et al.*, 2003).

Assim, nestes casos, quando o resultado dos testes que pesquisam antigénio é negativo, não se pode excluir uma infeção recente, sendo recomendada a sua repetição 30 dias após a última potencial exposição (Levy *et al.*, 2008a). Alternativamente, podem utilizar-se testes moleculares, como a PCR, para deteção de provírus, uma vez que, normalmente, são positivos mais cedo, quando comparados com testes que detetam o antigénio p27 (Hofmann-Lehmann *et al.*, 2001; Levy *et al.*, 2008a; Lutz *et al.*, 2009).

Quando os resultados dos testes que pesquisam antigénio solúvel são positivos é recomendado efetuar confirmação, uma vez que podem ser resultados menos exatos quando comparando com os negativos, especialmente, se se tratarem de animais com risco reduzido e clinicamente assintomáticos (Hartmann, 2006; Hartmann *et al.*, 2007; Levy *et al.*, 2008a; Little *et al.*, 2011). Existem várias técnicas disponíveis para confirmação, como o isolamento retroviral, a PCR e o teste de imunofluorescência (IFA, do inglês “Immunofluorescence Assay”) direta. Também se pode optar por realizar um segundo teste de triagem para deteção de antigénio solúvel, preferencialmente de um fabricante diferente (Hartmann *et al.*, 2007; Dunham & Graham, 2008; Levy *et al.*, 2008a; Little *et al.*, 2011).

O isolamento retroviral em cultura é considerado o método de diagnóstico padrão para deteção de infeção progressiva por FeLV, embora não seja realizado por rotina (Hartmann, 2006; Hartmann *et al.*, 2007; Dunham & Graham, 2008; Levy *et al.*, 2008a; Lutz *et al.*, 2009; Little *et al.*, 2011).

A PCR é um método de diagnóstico oferecido por laboratórios, que pode ser realizado no sangue, na medula óssea, na saliva ou em tecidos, que permite a detecção de DNA proviral exógeno. Existem animais com resultados positivos na PCR após uma a duas semanas da exposição ao retrovírus. Este é um teste que permite um resultado precoce quando comparando com o que detecta o antígeno p27 (Jackson *et al.*, 1993; Gomes-Keller *et al.*, 2006; Arjona *et al.*, 2007; Levy *et al.*, 2008a; Little *et al.*, 2011).

Para além da reação convencional, existe a PCR em tempo real, um teste com grande sensibilidade, que permite, para além de detectar, quantificar o DNA proviral presente na amostra. Esta técnica permite diferenciar uma infeção regressiva de uma progressiva, uma vez que, numa fase mais tardia da infeção, a primeira está associada a uma baixa carga de DNA proviral e a segunda a valores elevados (Levy *et al.*, 2008; Lutz *et al.*, 2009; Little *et al.*, 2011; Hartmann, 2012).

A PCR em tempo real também pode ser utilizada para detectar e quantificar o RNA viral. Apesar de ser uma técnica muito sensível, tem desvantagens em relação à PCR para detecção de DNA proviral, pois os gatos que controlam a antigenemia permanecem positivos para provírus e negativos para o RNA viral (Gomes-Keller *et al.*, 2006; Lutz *et al.*, 2009).

A IFA direta é uma técnica que pesquisa, em esfregaços de sangue ou de medula óssea, o antígeno p27 viral dentro de granulócitos, linfócitos e plaquetas infetados (Levy *et al.*, 2008a). Esta técnica tem as desvantagens de não detectar a infeção por FeLV até a medula óssea ser infetada (6 a 8 semanas após exposição inicial) e da possibilidade de ocorrerem resultados falso negativos em gatos com leucopenia (Little *et al.*, 2011; Levy *et al.*, 2008a). Um teste de IFA positivo indica que se trata de um animal com grande probabilidade de se manter com uma infeção progressiva (Levy *et al.*, 2008a; Little *et al.*, 2011).

Ainda assim, podem ocorrer resultados de testes discordantes sendo, portanto, difícil determinar o verdadeiro estado de infeção FeLV num animal (Levy *et al.*, 2008a; Little *et al.*, 2011). O estado do gato com resultados discordantes pode, eventualmente, ser clarificado, repetindo os testes em 60 dias e, depois, anualmente até que os resultados dos mesmos sejam concordantes. Alternativamente, a PCR em tempo real pode ajudar a esclarecer os resultados discordantes dos exames (Levy *et al.*, 2008a; Lutz *et al.*, 2009; Little *et al.*, 2011).

Os gatos com infecção regressiva, numa fase inicial, têm resultados positivos nos testes que detetam antígeno p27, mas, posteriormente, testam negativo pois já controlaram a antigenemia. Assim, nestes casos, só é possível diagnosticar a exposição prévia a FeLV através de testes que procurem DNA proviral (tabela 1) (Levy *et al.*, 2003; Hartmann, 2006; Arjona *et al.*, 2007; Little, 2011; Hartmann, 2012).

Tabela 1: Possíveis resultados da infecção por FeLV e as suas respetivas diferenças nos métodos de diagnóstico (Adaptado de Levy, 2008 e Hartmann, 2012).

		Método de diagnóstico				Resultado	
		Antígeno p27 no sangue	Cultura viral de sangue	Cultura viral de tecidos	DNA proviral no sangue	Excreção viral	Doença associada a FeLV
Tipo de infecção	Infeção progressiva	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Muito provável
	Infeção regressiva	Negativo ou transitoriamente positivo	Negativo ou transitoriamente positivo	Negativo ou transitoriamente positivo	Positivo (mais tarde negativo)	Negativo ou transitoriamente positivo	Pouco provável
	Infeção abortiva	Negativo	Negativo	Discutível	Negativo	Negativo	Pouco provável
	Infeção atípica	Variável	Variável	Positivo	Não testado	Variável	Desconhecido

Nos casos de infeções atípicas, em que a produção do antígeno p27 é baixa e intermitente, os resultados dos testes que pesquisam o antígeno podem alternar entre o positivo e o negativo (tabela 1) (Hartmann, 2006; Hartmann, 2012).

A acrescentar, os animais com infecção abortiva, teoricamente, têm resultados negativos para testes que procuram o antígeno p27, RNA viral, e DNA proviral no sangue, em qualquer fase da infecção. No entanto, recentemente, esta hipótese tem vindo a ser refutada, uma vez que, em animais com este tipo de infecção, tem sido encontrado, por PCR, RNA viral em tecidos (tabela 1) (Hartmann, 2006; Hartmann, 2012).

1.2. Vírus da imunodeficiência felina

O FIV foi isolado pela primeira vez, em 1986, por Perdensen *et al.* (1987). Atualmente, continua a ser uma importante doença dos gatos domésticos (Dunham & Graham, 2008; Lairmore, 2011; Sampaio Ferreira *et al.*, 2011).

1.2.1. Estrutura e classificação viral

O FIV é um retrovírus exógeno, do tipo B, que pertence à subfamília *Orthoretrovirinae* e ao género *Lentivirus*, que partilha características semelhantes com o Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH) como a estrutura viral, ciclo de vida e patogenia. O FIV tem sido objecto de grande investigação, como modelo das lentivirose para patogenia e prevenção e o conhecimento nesta área continua a crescer (Beebe *et al.*, 1994; Bendinelli *et al.*, 1995; Dean & G, 2003; Sellon & Hartmann, 2006; Hosie *et al.*, 2009; Lairmore, 2011; Policicchio *et al.*, 2016).

O genoma deste retrovírus é constituído por três genes estruturais: i) o gene *gag* que codifica proteínas do interior do virião, incluindo a proteína p15, da matriz, a proteína p24, da cápside, e a proteína, p13, da nucleocápside, ii) o gene *pol* que codifica a transcriptase reversa e a integrase e iii) o gene *env* que codifica as glicoproteínas gp95 e gp120 de superfície e a glicoproteína gp41 transmembranar (Dunham & Graham, 2008; Hosie *et al.*, 2009; Westman *et al.*, 2015). Para além destes, o FIV tem, na constituição do seu genoma, genes “acessórios”, não estruturais, incluindo *rev*, *vif*, e outros, que lhe fornecem a capacidade de regular o seu ciclo de vida e infetar maior diversidade celular (Dunham & Graham, 2008; Lairmore, 2011; Sampaio Ferreira *et al.*, 2011; Mohammadi & Bienzle, 2012).

Existem vários subtipos virais, o A, B, C, D, E e F, que são definidos de acordo com a diversidade genética nas sequências do gene *env* (Sellon & Hartmann, 2006; Dunham & Graham, 2008; Hayward & Rodrigo, 2008; Hosie *et al.*, 2009; Samman *et al.*, 2011; Marçola *et al.*, 2013; Bęczkowski *et al.*, 2014).

1.2.2. Epidemiologia

1.2.2.1. Prevalência e distribuição

Têm sido efetuados estudos serológicos que demonstram que a infecção causada pelo FIV é endêmica em gatos domésticos em todo o Mundo (Hosie *et al.*, 2009; Lairmore, 2011). Este agente também já foi isolado em felinos silváticos, como o puma (*Puma concolor*), leão (*Panthera leo*), lince (*Lynx spp.*), ocelote (*Leopardus pardalis*), gato-maracajá (*Leopardus wiedii*), chita (*Acinonyx jubatus*), leopardo (*Panthera pardus*), gato-leopardo (*Prionailurus bengalensis*) e no gato-de-pallas (*Otocolobus manul*), gato-chileno (*Leopardus guigna*), entre outros (Lutz *et al.*, 1992; Barr *et al.*, 1997; Hosie *et al.*, 2009; Blanco *et al.*, 2011; O'Brien *et al.*, 2012; Teixeira *et al.*, 2012; Foley *et al.*, 2013; Mora *et al.*, 2015).

Os subtipos de FIV, A, B, C, D, E e F, estão distribuídos, de forma distinta, a nível mundial. A maioria dos vírus identificados são os subtipos A e B. O subtipo A é o único subtipo encontrado no Reino Unido, predomina na Austrália, tendo, ainda, já sido encontrado a Norte da Europa, na Suíça e na Alemanha, a Oeste dos Estados Unidos da América (EUA), incluindo na Califórnia, a Norte do Japão e a Sul de África. O subtipo B é o único subtipo encontrado no Brasil e foi identificado no Centro e a Este dos EUA, no Centro e Sul da Europa, incluindo Itália e Portugal, e a Este do Japão. O subtipo C é o menos comum e foi identificado nos EUA, na Califórnia, na Europa e na Ásia, na China. O subtipo D foi encontrado apenas no Japão; o subtipo E foi identificado no Japão e na Argentina; o subtipo F foi encontrado recentemente e apenas em Portugal (figura 2) (Sellon & Hartmann, 2006; Iwata & Holloway, 2008; Hosie *et al.*, 2009; Samman *et al.*, 2011; Marçola *et al.*, 2013; Bęczkowski *et al.*, 2014; Munro *et al.*, 2014).



Figura 4: Mapa Mundo com distribuição dos subtipos virais de FIV (Adaptado de Hosie *et al.*, 2009).

A nível mundial e epidemiológico, e ao contrário do que se verifica com a infeção por FeLV, cujo número de casos tem vindo a diminuir desde a década de 80, os valores da infeção por FIV não tem apresentado mudanças significativas desde a sua descoberta (Sellon & Hartmann, 2006; Levy *et al.*, 2008a; Meichner *et al.*, 2012). Levy *et al.* (2008a) referem que uma justificação válida para esta situação poderá estar relacionada com o facto da vacinação para FIV ter sido introduzida mais recentemente e apenas em alguns países (Levy *et al.*, 2008a).

A prevalência de infeção por FIV é influenciada pela densidade populacional, as suas características, como idade, sexo, estado reprodutivo, estilo de vida, a zona geográfica e o tipo de local (Sellon & Hartmann, 2006; Norris *et al.*, 2007; Gleich *et al.*, 2009; Little *et al.*, 2009).

Vários estudos de prevalência para a infeção por FIV têm sido efetuados e demonstrado que a distribuição deste vírus é mundial. A taxa de infeção de FIV é bastante variável de acordo com a localização geográfica do Mundo estudada (Hosie *et al.*, 2009; Chhetri *et al.*, 2013). Encontra-se descrito que, na América do Norte, os valores de infeção por este agente é, em média, de 2,5% em populações de gatos com proprietários e de 3,5 a 23% em gatos sem proprietários (Ortega-Pacheco *et al.*, 2013). Na Ásia têm sido descritas taxas de infeção entre 0 a 22% na Ásia, no Norte da Europa de 2 a 6% e de 10% no Sul da Europa (Gleich *et al.*, 2009; Spada *et al.*, 2012). Em média, uma população aparentemente saudável tem uma prevalência de infeção por FIV de 2 a 14%, valor bastante menor quando comparando com populações com apresentação clínica de doença, que apresentam um valor médio de 44% (Arjona *et al.*, 2000; Hartmann, 2005; Sellon & Hartmann, 2006; Levy *et al.*, 2008a; Hosie *et al.*, 2009).

Considerando apenas estudos realizados com recurso à técnica de ELISA para deteção de anticorpos anti-FIV, estima-se que as prevalências de doença sejam de 2,5% (446/18038), num estudo realizado numa população de gatos provenientes de colónias (n=8068) e que iam a consulta a clínicas veterinárias (n=9970), na América do Norte (Levy *et al.*, 2006), 2,5% (5/227) num estudo realizado numa população de gatos com proprietários, no México (Ortega-Pacheco *et al.*, 2013), 4,3% (480/11144) num estudo efetuado numa população de gatos composta por animais provenientes de colónias (n=1556) e que iam a consulta a clínicas veterinárias (n=9588), no Canadá (Little *et al.*, 2009) e 6,6% (13/196), num estudo realizado numa população de gatos errantes, na Finlândia (Sukura *et al.*, 1992).

Em Portugal, foram efetuados alguns estudos que indicam ocorrência de infecção por este retrovírus. Rosado (2009) estudou uma população de gatos do Canil Municipal de Lisboa, através do teste ELISA ViraCHEK® FIV (Synbiotics) e concluiu que a prevalência aparente de infecção por FIV foi de 18,0% (9/50). Outra investigação, realizada na área metropolitana de Lisboa, na qual foram testados gatos errantes provenientes de várias colónias, através da técnica de Western blot concluiu que a prevalência de infecção por FIV foi de 10,2% (23/226) (Duarte *et al.*, 2010). Ainda em Lisboa, Turras (2014), utilizando o teste rápido de imunocromatografia FeLV/FIV da sensPERT® (Venco) e a PCR como teste confirmatório, encontrou, numa população de gatos provenientes de várias colónias de animais errantes, uma prevalência de infecção de 8% (7/88). Na região de Setúbal, foi estudada uma população de animais de um gatil, através do teste rápido imunocromatográfico Speed® Duo FeLV/FIV (Virbac), tendo sido obtida uma prevalência real de infecção por FIV de 21,9% (11/50) (Rodrigues, 2012). Na Ilha de São Miguel, região autónoma dos Açores, através do método de ELISA ViraCHEK® FIV (Synbiotics), Botelho (2014) estudou uma população de gatos errantes e assilvestrados e detetou uma prevalência real de 14,2% (12/90) para a ocorrência de infecção por FIV.

Na Ilha de Faro, local objeto do presente estudo, nunca foi realizado nenhum estudo acerca desta infecção, pelo que a prevalência de doença é, ainda, desconhecida (Diário Digital & Agência Lusa, 2014).

1.2.2.2. Transmissão

O FIV pode ser transmitido horizontalmente ou verticalmente, apesar de a última via ser menos comum (Sellon & Hartmann, 2006).

A principal forma de transmissão na natureza é a horizontal, sobretudo através de mordeduras, uma vez que este retrovírus é eliminado em grandes concentrações pela saliva (Medeiros *et al.*, 2012). A transmissão deste retrovírus ocorre, frequentemente, em lutas e durante o acasalamento, devido ao comportamento agressivo do macho (Arjona *et al.*, 2000; Hosie *et al.*, 2009; Medeiros *et al.*, 2012).

Desta forma, entende-se que a transmissão entre gatos que coabitem e socializem, mas que não lutem, seja incomum. No entanto, está descrito que, mesmo assim, poderá ocorrer (Hosie *et al.*, 2009).

A transmissão venérea é incomum na natureza; no entanto, o vírus já foi isolado em sémen de gatos infetados (Levy *et al.*, 2008a). Experimentalmente, os animais podem ser infetados por inoculação do vírus no nariz, na boca, na vagina e no reto (Dean, 2003; Hosie *et al.*, 2009). Apesar de existirem estas evidências, não há indícios de que estas formas de transmissão tenham um papel importante na manutenção da infecção natural; no entanto, não é possível excluir a probabilidade de ocorrer ocasionalmente (Sellon & Hartmann, 2006; Levy *et al.*, 2008).

A transmissão iatrogénica pode ocorrer por contaminação de agulhas, instrumentos, fômites e transfusão sanguínea; no entanto, é muito improvável porque o retrovírus é inativado em poucos segundos no ambiente (Hartmann, 2006; Munro *et al.*, 2014).

Em relação à transmissão vertical, esta é bastante incomum na natureza, mas está descrito que pode ocorrer; contudo, só alguma descendência se torna persistentemente infetada, dependendo a respetiva proporção da carga viral da mãe, durante a gravidez e o parto. A transmissão pode ocorrer transplacentariamente e por ingestão de leite materno (O’Neill *et al.*, 1995; Hosie *et al.*, 2009; Medeiros *et al.*, 2012; Litster, 2014).

É importante realçar que o Homem não é susceptível à infecção por FIV (Sellon & Hartmann, 2006).

1.2.2.3. Fatores de risco

Encontra-se descrito que a idade do animal, sexo, comportamento, estilo de vida e estado de saúde poderão ser fatores de risco para adquirir esta infecção (Natoli *et al.*, 2005; Hosie *et al.*, 2009; Bande *et al.*, 2012).

Os gatos adultos, especialmente com mais de cinco anos, têm maior prevalência de doença, quando comparados com animais mais jovens. Tal evidência pode ser justificada pelo longo período de incubação do retrovírus, até que se desenvolva a doença clínica, e pelo facto de um animal, uma vez infetado por FIV, ser positivo para o resto da sua vida (Sellon & Hartmann, 2006; Murray *et al.*, 2009; Hellard *et al.*, 2011; Sukhumavasi *et al.*, 2012; Liem *et al.*, 2013; Garigliany *et al.*, 2016).

Em relação ao sexo do animal, existem vários estudos que afirmam que gatos machos têm um risco significativamente maior de ter uma infecção por FIV do que as

fêmeas (Levy *et al.*, 2006; Danner *et al.*, 2007; Little *et al.*, 2009; Hellard *et al.*, 2011; Bande *et al.*, 2012; Sukhumavasi *et al.*, 2012; Liem *et al.*, 2013; Garigliany *et al.*, 2016). No entanto, foram descritos dados epidemiológicos noutra estudo que contradizem esta afirmação. Bandecchi *et al.* (2006) descrevem que o sexo do animal não tem influência na infecção por FIV. Tais resultados podem ser justificados pelo facto do estudo ter incluído apenas animais sem acesso ao exterior.

Relativamente ao comportamento animal, a agressividade é um fator de risco que tem vindo a ser descrito por vários autores, uma vez que a maior forma de transmissão de FIV é por mordeduras e lutas (Natoli *et al.*, 2005; Goldkamp *et al.*, 2008; Gleich *et al.*, 2009; Bande *et al.*, 2012). Também está descrito que os animais com acesso à rua têm maior risco de contrair esta infecção (Bande *et al.*, 2012).

Os gatos que tenham doença concomitantes possuem, também, maior risco de contrair uma infecção por FIV (Hosie *et al.*, 1989; Little *et al.*, 2009; Bande *et al.*, 2012).

1.2.3. Patogenia

A doença clínica causada pelo FIV é dependente da idade, do estado de saúde do animal quando infetado, da dose e via de inoculação do vírus, do subtipo viral e da competência imunológica do gato (Pedersen *et al.*, 1990; Hartmann, 2005).

O vírus é transmitido a um hospedeiro susceptível e, posteriormente, através de vários processos, persiste nos linfócitos sanguíneos, mesmo que exista uma forte resposta imune. A evolução da infecção por FIV pode ser caracterizada pela transição gradual de três fases (fase aguda, fase assintomática e fase terminal) que são definidas pelas alterações dos sinais clínicos, o nível de virémia, a imunidade antiviral e a proporção entre linfócitos T auxiliares CD4+ e linfócitos T citotóxicos/supressores CD8+ (CD4+:CD8+) no sangue periférico (Kolenda-Roberts *et al.*, 2007).

Inicialmente, a glicoproteína gp120, presente no envelope de FIV, liga-se a um receptor primário, o CD134, na superfície celular de linfócitos T auxiliares CD4+, linfócitos B e macrófagos. Depois, é permitida a fusão membranar, a entrada do retri-vírus e a sua integração proviral no genoma do hospedeiro (Shimojima *et al.*, 2004; Dunham & Graham, 2008; Hosie *et al.*, 2009).

A fase aguda da infecção dura, geralmente, semanas a meses após exposição ao vírus (Kolenda-Roberts *et al.*, 2007; Dunham & Graham, 2008). Nos primeiros

dias da infecção, o retrovírus replica com rapidez, principalmente, em linfócitos T auxiliares CD4+ e são produzidas novas partículas virais que disseminam por todo o organismo (Kolenda-Roberts et al., 2007; Dunham & Graham, 2008; Levy et al., 2008a; Hosie et al., 2009). Na terceira semana de infecção, o retrovírus está presente em tecidos linfóides do organismo e replica no timo, nos linfonodos regionais e no tecido linfoide associado ao intestino. Nesta fase, o vírus já é excretado na saliva (Kolenda-Roberts *et al.*, 2007).

Durante as primeiras semanas da infecção por FIV, os níveis de linfócitos T auxiliares CD4+ e linfócitos T citotóxicos CD8+ descem. Mais tarde, oito a 12 semanas após a exposição, a carga viral no plasma e proviral nas células mononucleares sanguíneas aumenta, ocorrendo um pico de virémia (Diehl *et al.*, 1995; Dunham & Graham, 2008; Hosie *et al.*, 2009). De seguida, é desencadeada uma resposta imune, que é caracterizada pela produção de anticorpos, supressão dos níveis virais em circulação e aumento dos linfócitos T citotóxicos CD8+ (Beebe *et al.*, 1994; Levy et al., 2008a). O rácio CD4+:CD8+ inverte-se e persiste para o resto da vida do animal (Kolenda-Roberts *et al.*, 2007; Levy et al., 2008a).

Sellon & Hartmann (2006) descobriram que níveis elevados de virémia durante a fase aguda da infecção estão associados com a rápida progressão da doença na fase terminal.

Os gatos infetados entram numa fase assintomática. Este período tem duração variável e, em alguns animais, pode durar vários anos ou até mesmo a vida inteira; no entanto, outros poderão nunca passar por este período, saltando diretamente da fase aguda para a terminal. A duração desta fase depende de vários fatores, como a idade do animal quando infetado, o subtipo viral, a respetiva patogenia e a exposição do animal a outros agentes (Sellon & Hartmann, 2006; Dunham & Graham, 2008; Hosie *et al.*, 2009; Hartmann, 2011).

Na fase assintomática, a carga viral no plasma é estável e baixa e existe uma resposta imune específica contra o vírus. Contudo, gradualmente, verifica-se um declínio progressivo dos linfócitos T auxiliares CD4+ e linfócitos T citotóxicos/supressores CD8+ (Diehl *et al.*, 1995; Dunham & Graham, 2008; Levy *et al.*, 2008a; Hartmann, 2011).

A terceira e última fase da infecção por FIV, a fase terminal, é caracterizada pela SIDA, que coincide com o restabelecimento da circulação viral, uma diminuição marcada do número de linfócitos T citotóxicos/supressores CD8+ em circulação e a

persistência da deficiência de linfócitos T auxiliares CD4⁺ (Kolenda-Roberts *et al.*, 2007; Hartmann, 2011). Esta fase ocorre, geralmente, em gatos com idade compreendida entre quatro e seis anos (Hosie *et al.*, 2009).

Está descrito que os animais, na terceira fase, podem voltar à fase assintomática, se tratados apropriadamente (Hartmann, 2011).

1.2.4. Sinais clínicos

Os sinais clínicos da infecção por este agente são variáveis e dependem de vários fatores, como a idade do animal na altura da infecção, o subtipo viral, a dose, a via de transmissão do vírus e a exposição a outros agentes secundários. Alguns sinais clínicos são o resultado do efeito direto do vírus por si só; no entanto, a maioria não é causada pela infecção de FIV (Hosie *et al.*, 2009; Sampaio Ferreira *et al.*, 2011).

Na fase aguda de doença, os primeiros sinais clínicos são inespecíficos, leves a moderados e transitórios que, muitas vezes, passam despercebidos. Alguns deles são febre transitória, depressão, letargia, anorexia e sinais de linfadenopatia generalizada, que estão associados ao crescimento viral inicial não inibido (Sellon & Hartmann, 2006; Kolenda-Roberts *et al.*, 2007; Dunham & Graham, 2008; Levy *et al.*, 2008a; Hosie *et al.*, 2009; Hartmann, 2011; Sampaio Ferreira *et al.*, 2011; Hartmann, 2012).

Depois da fase aguda, os animais infetados entram na fase assintomática, uma fase subclínica, onde parecem clinicamente saudáveis, podendo, no entanto, existir sinais de linfadenopatia generalizada, uveíte, gengivite e estomatite (Sellon & Hartmann, 2006; Kolenda-Roberts *et al.*, 2007; Hosie *et al.*, 2009; Sampaio Ferreira *et al.*, 2011).

A fase terminal é a etapa onde se desenvolve a doença clínica e ocorre a SIDA, que é caracterizada por níveis virais elevados e sinais clínicos graves relacionados com infeções secundárias, doenças degenerativas e neoplasias (Kolenda-Roberts *et al.*, 2007; Hartmann, 2011; Hartmann, 2012). Nesta fase, os animais têm grande probabilidade de desenvolver infeções virais, bacterianas, fúngicas e protozoárias secundárias, uma vez que este retrovírus causa imunossupressão (Levy *et al.*, 2008a; Hosie *et al.*, 2009; Hartmann, 2011; Hartmann, 2012; Sobrinho *et al.*, 2012). Encontra-se descrita a ocorrência de uveíte, conjuntivite, rinite crónica, doença periodontal crónica, estomatite, traquebronquite, abscessos, doença dermatológica, como demodicose e dermatofitose, distúrbios gastro-intestinais por sobrecrecimento

bacteriano e falhas reprodutivas (Hosie *et al.*, 2009; Reche *et al.*, 2010; Hartmann, 2012; Stiles, 2014; Weese *et al.*, 2015). A gengivo-estomatite crônica felina é uma das mais frequentes apresentações clínicas de gatos infetados com FIV (Hofmann-Lehmann *et al.*, 1998; Quimby *et al.*, 2008; Hartmann, 2012; Kornya *et al.*, 2014).

Para além de causar imunossupressão, este vírus é responsável por imunoestimulação, resultando, muitas vezes, em doença imunomediada. Os anticorpos não são neutralizados e são produzidos complexos antígeno-anticorpo, que vão depositar-se em capilares, causando poliartrite, uveíte, vasculite e glomerulonefrite (Callanan *et al.*, 1992; Hosie *et al.*, 2009; Hartmann, 2012; Asproni *et al.*, 2013; Stiles, 2014).

Os animais infetados com este vírus também têm maior probabilidade de desenvolver neoplasias, geralmente linfoma, em especial de células B, e leucemia (Levy *et al.*, 2008a; Hartmann, 2012). No entanto, também estão descritas outras neoplasias associadas a uma infeção por FIV, nomeadamente carcinoma de células escamosas, carcinoma broncoalveolar, fibrossarcoma, mastocitoma e adenocarcinoma da glândula mamária (Sellon & Hartmann, 2006; Hartmann, 2012).

Da mesma forma, têm vindo a ser descritos sinais neurológicos, associados ao sistema nervoso central e periférico, como agressividade, incontinência fecal e urinária, alterações do ciclo do sono, nistagmus, ataxia e convulsões, entre outros (Hosie *et al.*, 2009; Sampaio Ferreira *et al.*, 2011; Hartmann, 2012).

1.2.5. Diagnóstico

Os animais infetados com FIV têm cargas virais bastante reduzidas durante a maior parte das suas vidas. Desta forma, o desenvolvimento de testes de triagem, para deteção de antígeno, não é vantajoso. Os animais infetados por este agente têm uma infeção persistente, pelo que os métodos que detetam anticorpos no sangue periférico são os mais indicados para os testes de triagem de rotina, caso o animal não tenha sido vacinado para FIV anteriormente (Kolenda-Roberts *et al.*, 2007; Levy *et al.*, 2008a; Sand *et al.*, 2009).

Existem vários testes de triagem para identificar uma infeção por FIV, que se baseiam na deteção de anticorpos contra antígenos retrovirais, principalmente para o antígeno p24 (Levy *et al.*, 2008a; Hosie *et al.*, 2009). A imunocromatografia e a ELISA são as técnicas utilizadas nos testes de triagem em clínica (Crawford & Levy,

2007; Hosie *et al.*, 2009). A ELISA é um teste serológico indireto, que deteta a presença de anticorpos para as proteínas p15 (da matriz) e/ou p24 (da cápside) e/ou glicoproteína transmembranar gp41, que tem elevada sensibilidade e especificidade. Alguns laboratórios disponibilizam a técnica de ELISA em microplacas, bastante utilizada para estudar o estado de infecção por este agente, em populações. A imunocromatografia é uma técnica que deteta anticorpos para a proteína p15 e/ou glicoproteína gp41 (Reid *et al.*, 1992; Crawford & Levy, 2007; Hosie *et al.*, 2009; Ammersbach *et al.*, 2013; Westman *et al.*, 2015).

Os testes positivos que detetam anticorpos anti-FIV, em gatos com menos de seis meses, devem ser interpretados com alguma cautela (Levy *et al.*, 2008a). Os anticorpos de mães vacinadas ou infetadas são transmitidos à descendência e persistem após a idade de desmame (oito semanas), em mais de metade da descendência (MacDonald *et al.*, 2004; Levy *et al.*, 2008a; Levy *et al.*, 2008b). Estes gatos bebês testam positivo para anticorpos anti-FIV, mas podem não estar infetados e ter resultados negativos quando reavaliados após os seis meses de idade. No entanto, apesar da infecção por FIV de gatos bebês ser incomum, pode ocorrer ocasionalmente e estes animais, quando reavaliados após os seis meses de idade, continuam a ter resultados positivos para anticorpos anti-FIV; nesse caso, devem ser considerados verdadeiro infetados (Levy *et al.*, 2008a).

A maioria dos animais faz a seroconversão 60 dias após a exposição inicial; no entanto, alguns gatos poderão só apresentar anticorpos detetáveis após um período mais prolongado, o que deve ser considerado aquando do diagnóstico (Goldkamp *et al.*, 2008; Levy *et al.*, 2008a). Está descrita a possibilidade de ocorrerem resultados falso negativos na primeira fase de infecção, quando os animais são seronegativos, mas já têm provírus integrado. Assim, quando o resultado deste teste é negativo, mas não pode ser descartada uma recente exposição ao retrovírus, deve ser repetido, após um período mínimo de 60 dias da última potencial exposição (Levy *et al.*, 2008a). Para além do referido, também poderão existir resultados falso negativos, em animais que estejam na fase terminal de doença, com imunodeficiência, que apresentem uma carga viral tão elevada, que sequestre os anticorpos, formando complexos antigénio-anticorpo (Hosie *et al.*, 2009).

Quando os resultados dos testes que detetam anticorpos anti-FIV são positivos está recomendado efetuar confirmação, uma vez que podem ser resultados menos exatos quando comparando com os negativos e, especialmente, se se tratarem

de animais com risco reduzido e clinicamente assintomáticos (Hartmann *et al.*, 2007; Levy *et al.*, 2008a; Hosie *et al.*, 2009). Para a confirmação, existem várias opções disponíveis, como o isolamento retroviral, a IFA indireta, o Western Blot e a PCR. Também se pode optar por um segundo teste de anticorpo, de preferência, de um fabricante diferente (Levy *et al.*, 2008a).

O isolamento retroviral em cultura é o método de diagnóstico padrão para a identificação da infecção por FIV, todavia, os laboratórios não o disponibilizam comercialmente (Levy *et al.*, 2008a; Levy *et al.*, 2008b; Hosie *et al.*, 2009).

A IFA indireta é um teste que deteta anticorpos contra uma variedade de antígenos retrovirais, sendo, no entanto, menos sensíveis e específicos do que os testes de triagem efetuados na clínica (Andersen & Tyrrell, 2004; Hartmann *et al.*, 2007; Levy *et al.*, 2008a; Levy *et al.*, 2008b).

O Western blot é um teste que deteta anticorpos específicos para proteínas retrovirais que é muito útil na confirmação de resultados inconclusivos (Levy *et al.*, 2008b).

A PCR convencional deteta o DNA províral duas semanas após a infecção inicial e tem sido promovido como um método para determinar o verdadeiro estado de infecção num animal (Bienzle *et al.*, 2004; Crawford *et al.*, 2005; Levy *et al.*, 2008a; Levy *et al.*, 2008b).

Em Julho de 2002, foi licenciada, em alguns países, a primeira vacina para este agente (Levy *et al.*, 2008b). Algumas semanas após a vacinação, os animais produzem anticorpos que são detetados nos testes de triagem e dificilmente distinguidos de anticorpos induzidos pela infecção natural (Levy *et al.*, 2004; Levy *et al.*, 2008a; Levy *et al.*, 2008b; Westman *et al.*, 2015). A PCR em tempo real pode ser utilizada para diferenciar entre uma verdadeira infecção e uma situação de presença de anticorpos vacinais (Crawford *et al.*, 2005; Levy *et al.*, 2008a; Ammersbach *et al.*, 2013). Em 2007, foi desenvolvido um método experimental baseado no princípio de ELISA, que deteta anticorpos para vários antígenos de FIV permitindo a distinção de animais vacinados dos infetados por este agente, com uma precisão acima dos 97% (Kusuhara *et al.*, 2007; Levy *et al.*, 2008b). Outro método desenvolvido, de forma a distinguir um animal infetado de um vacinado, foi a mensuração do rácio de linfócitos T CD4⁺:CD8⁺ (Litster *et al.*, 2014). Mais recentemente, em 2015, foram desenvolvidos novos testes baseados no princípio de imunocromatografia, que detetam anticorpos para vários antígenos de FIV, com elevada sensibilidade e

especificidade, que permitem a diferenciação entre gatos verdadeiramente infetados com FIV dos vacinados (Westman *et al.*, 2015).

1.3. Controlo das retroviroses

Os gatos infetados com retroviroses precisam de cuidado e tratamento especiais, de forma a melhorar o seu bem-estar (Levy *et al.*, 2008a; Lutz *et al.*, 2009).

Os medicamentos disponíveis para o tratamento dos casos de retroviroses em gatos são antiretrovirais e imunomoduladores (McCaw *et al.*, 2001; Hosie *et al.*, 2009; Lutz *et al.*, 2009).

A azidotimidina (AZT) é um medicamento antiretroviral que tem a capacidade de impedir a ação da transcriptase reversa. O AZT reduz os níveis de FeLV e FIV no sangue periférico, melhorando o estado imunológico e clínico de animais infetados (Smith *et al.*, 1998; Bisset *et al.*, 2002; Hosie *et al.*, 2009; Lutz *et al.*, 2009; Mohammadi & Bienzle, 2012; Schwartz *et al.*, 2014; Hartmann, 2015). Outro exemplo de medicamento antirretroviral é o Raltegravir, um inibidor da enzima integrase (Morais de Almeida & Pedroso, 2015).

O tratamento de suporte, em gatos com infeções por retroviroses, deve ser instituído logo que possível, adequado à necessidade de cada caso, de forma a melhorar a qualidade de vida do animal (Hartmann, 2005; Levy & Crawford, 2005; Levy *et al.*, 2008a; Hosie *et al.*, 2009; Lutz *et al.*, 2009).

Em animais com retroviroses está recomendada uma alimentação completa nutricionalmente equilibrada. Também se deve evitar a administração de carne e produtos lácteos crus (Hartmann, 2005; Levy & Crawford, 2005; Levy *et al.*, 2008a).

A implementação de medidas profiláticas é, também, muito importante, de forma a maximizar a prevenção das infeções causadas por retroviroses, devendo existir uma parceria entre os médicos veterinários e os proprietários. Os protocolos de análises laboratoriais, vacinação, educação pessoal e programas de lembrete do proprietário podem ajudar na profilaxia destas doenças (Levy *et al.*, 2008a).

A primeira etapa para prevenir infeções causadas pelas retroviroses é ter o conhecimento do estado de infeção do animal. A *American Association of Feline Practitioners* (AAFP) e a *European Advisory Board on Cat Diseases* (ABCD)

recomendam testar todos os gatos para as infeções de FeLV e FIV (Levy *et al.*, 2008a; Möstl *et al.*, 2013).

Outra medida muito importante para a prevenção destas doenças é o isolamento dos animais infetados, impedindo a disseminação dos retrovírus e restringindo o contato com outros agentes, prevenindo o agravamento do estado clínico. Da mesma forma, em gatis, devem existir espaços diferenciados para os animais (Levy *et al.*, 2008a; Lutz *et al.*, 2009; Möstl *et al.*, 2013).

Na Europa, está disponível a vacinação para o FeLV. A vacinação providencia uma boa proteção devendo, por isso, ser considerada, caso a caso (Hosie *et al.*, 2009). No entanto, para o FIV, ainda não está disponível a vacina na Europa. Alguns estudos experimentais têm mostrado que os animais sem infeção ou infetados nas primeiras fases por FIV, que estejam assintomáticos, desenvolvem uma forte resposta imune se forem vacinados. Ainda não se sabe se o mesmo acontece nos gatos que estão nas fases mais tardias de infeção, com imunodeficiência associada (Lutz *et al.*, 2009).

O objetivo geral do presente estudo foi determinar a prevalência de infeção por FeLV e por FIV numa população de gatos errantes residentes da Ilha de Faro, península do Ancão, no ano de 2014.

Os objetivos específicos do estudo foram:

- a) Caracterizar a população de gatos errantes da Ilha de Faro, península do Ancão, quanto às variáveis intrínsecas, sexo e idade e variáveis extrínsecas, sinais clínicos;
- b) Através da técnica ELISA, testar os gatos em estudo para a presença, em circulação, do antigénio p27 de FeLV e de anticorpos anti-p24 de FIV;
- c) Avaliar uma eventual relação entre os casos positivos para FeLV e FIV e algumas variáveis epidemiológicas intrínsecas, como idade, sexo e extrínsecas, como alguns sinais clínicos dos animais.

2. Material e Métodos

2.1. Projeto

A Associação Animais de Rua, a Câmara de Faro e a *Change for Animals Foundation*, em colaboração com a Faculdade de Medicina Veterinária (FMV) da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias (ULHT), promoveram um projeto pioneiro, em Portugal, de esterilização cirúrgica, vacinação e desparasitação de uma população de gatos errantes da Ilha de Faro, península do Ancão. A equipa era composta por cinco médicos veterinários voluntários e o projeto decorreu no período de 10 a 28 de Outubro de 2014 (A Voz do Algarve, 2014; Diário Digital & Agência Lusa, 2014).

O objetivo do programa era controlar e reduzir significativamente a população de animais errantes que vive livremente na praia, promovendo a sua qualidade de vida e saúde, encorajando a adoção responsável e a convivência saudável entre os animais e os moradores e, também, recolher amostras biológicas de forma a, posteriormente, se efetuarem estudos epidemiológicos em relação a algumas doenças (A Voz do Algarve, 2014).

2.2. Amostra populacional

Estima-se que a população de gatos errantes na Ilha de Faro, península do Ancão, seja de 230 (Diário Digital & Agência Lusa, 2014) a 250 (A Voz do Algarve, 2014) animais, aproximadamente.

No total, foram incluídos no programa, 164 gatos errantes. No entanto, quatro das amostras não estavam identificadas, pelo que foram excluídas. Oito amostras tinham soro insuficiente para o diagnóstico das infeções pelos dois retrovírus e também foram excluídas. E ainda, duas amostras biológicas eram insuficientes para diagnóstico da infeção por FeLV, pelo que foram excluídas para a avaliação da presença deste retrovírus. Assim, a amostra populacional, para avaliação da presença de antigénio p27 de FeLV foi de 150 animais e para avaliação da presença de anticorpos anti-p24 de FIV, foi de 152 animais.

Posteriormente, foi efetuado o cálculo de amostragem, com um erro amostral definido de 5% e um intervalo de confiança de 95%. O número amostral

estatisticamente calculado para o presente estudo seria de 145 a 152 animais (Santos, 2016).

O número de amostras foi alcançado por questão de conveniência do trabalho experimental, mas sendo coincidente com o número amostral apropriado para o trabalho, permite-se, assim, a extrapolação para a população do qual foram retiradas as amostras.

Cada animal foi submetido a um *check-up* geral tendo sido preenchida uma ficha clínica (anexo 1). A ficha tinha informações de preenchimento rápido e os dados relevantes para a realização do presente estudo foram a idade, o sexo e alguns sinais clínicos.

A idade foi dividida em três classes: os juvenis, animais com menos de um ano (<1 ano), os adultos, animais com idade compreendida entre um e 10 anos (>1 ano) e, por último, os seniores, animais com mais de 10 anos (>10 anos). O sexo foi dividido em duas classes: macho e fêmea. Finalmente, os sinais clínicos analisados foram: lesões dérmicas, linfadenopatia, lesões oculares, atrofia muscular, epistaxis, palidez das mucosas e diarreia.

Depois de preenchida a ficha, foi realizada a venopunção nas veias jugulares dos gatos e foram colhidos cerca de 2 ml de sangue periférico para um tubo seco. Após retração do coágulo, foi efetuada centrifugação, a 3500 rpm, durante 10 minutos. O soro foi recolhido para um microtubo limpo, devidamente identificado e armazenado a uma temperatura de -20 °C, até processamento.

Cada ficha clínica foi associada à amostra biológica por identificação numérica.

2.3. Métodos de diagnóstico

2.3.1. Vírus da leucemia felina

O diagnóstico da infecção por FeLV foi realizado através do teste de ELISA ViraCHEK®/FeLV (Synbiotics), desenvolvido nos Estados Unidos da América (EUA). Este, é um teste de ELISA sandwich direta, em placa, com micropoços que contêm anticorpos para pesquisa do antígeno p27 e que apresenta uma sensibilidade de 94,9% (IC de 95%: 83,1-98,6%) e uma especificidade de 98,4% (IC de 95%: 96,8-99,2%) (Hartmann *et al.*, 2007).

Em cada ensaio foram analisadas 10 amostras com os respectivos controlo positivo e negativo. Para tal, era destacada uma tira com 12 micropoços, que se colocava num suporte apropriado.

Inicialmente, foi colocada uma gota do controlo positivo no primeiro micropoço e uma gota do controlo negativo no segundo micropoço. Nos dez micropoços subsequentes foram adicionados 50 µl de soro de cada amostra. Em seguida, foi adicionada uma gota do reagente 1, o anticorpo conjugado de peroxidase de raiz forte ou rábano-bastardo (*Armoracia rusticana*) (HRP, do inglês “horseradish peroxidase”), em todos os poços, após o que se davam pequenas pancadas laterais no suporte para promover a homogeneização. A esta etapa, seguiu-se uma incubação, à temperatura ambiente, durante cinco minutos. A seguir, o sobrenadante foi desprezado e todos os micropoços foram lavados diretamente e vigorosamente com uma solução de lavagem, em quantidades generosas. Este ponto foi repetido cinco vezes, seguido de uma remoção final da solução de lavagem por inversão do suporte para um papel absorvente. A solução de lavagem consistia em tampão fosfato salino (PBS, do inglês “Phosphate Buffered Saline”), a uma concentração de 1×. Em seguida, foram colocadas, em todos os micropoços, duas gotas do reagente 2, o substrato cromogénico, tendo-se agitado o suporte com pequenas pancadas laterais para promover a homogeneização. Seguiu-se uma incubação à temperatura ambiente, durante cinco minutos. Após a última etapa, a incubação, os resultados foram imediatamente lidos qualitativamente. O teste era considerado válido se o controlo positivo apresentava cor azul e o controlo negativo se mantivesse transparente. De acordo com a bula do teste, as amostras consideradas positivas eram as que apresentavam cor azul (a intensidade do azul podia variar com a quantidade de antigénio p27 de FeLV presente na amostra) e as amostras consideradas negativas eram as que tinham uma coloração igual à do controlo negativo (figura 5).

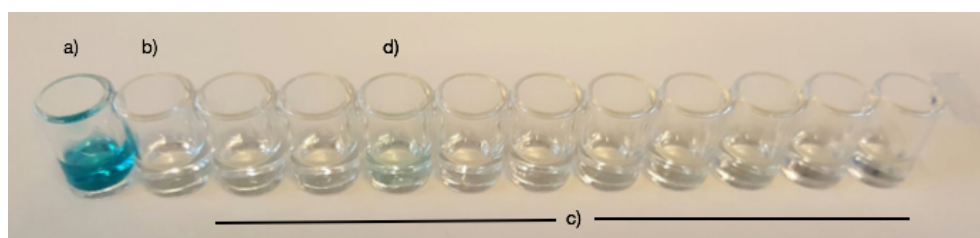


Figura 5: Fotografia retirada durante o trabalho laboratorial como exemplo de um teste válido. a) controlo positivo; b) controlo negativo; c) amostras biológicas a testar; d) amostra positiva.

2.3.2. *Vírus da imunodeficiência felina*

O diagnóstico da infecção por FIV foi realizado através do teste de ELISA ViraCHEK® FIV (Synbiotics) desenvolvido nos EUA. É um teste de ELISA indireta em placa, com micropoços que contêm o péptido sintético antigénico p24 de FIV para pesquisa de anticorpos contra o vírus, e que tem uma sensibilidade de 92,6% (IC de 95%: 82,4-97,1%) e uma especificidade de 99,8% (IC de 95%: 98,8-100%) (Hartmann *et al.*, 2007).

Em cada ensaio foram analisadas 10 amostras com os respetivos controlos positivo e negativo. Para tal, foi destacada uma tira com 12 micropoços que se colocou num suporte apropriado.

Inicialmente foram colocadas, em cada micropoço, quatro gotas (aproximadamente 160 μ l) do reagente A, o anticorpo conjugado de HRP. Posteriormente, foi adicionada, no primeiro micropoço, uma gota (aproximadamente 40 μ l) do frasco B, o controlo positivo, que contém anticorpos anti-FIV e, no segundo micropoço, uma gota (aproximadamente 40 μ l) do frasco C, o controlo negativo. Nos restantes 10 micropoços foram adicionados 10 μ l de soro de cada amostra. Em seguida, agitou-se o suporte para promover a mistura dos reagentes, sendo, depois, deixado a incubar, durante 10 minutos, à temperatura ambiente. Após esta etapa, o sobrenadante foi desprezado e os micropoços lavados direta e vigorosamente com uma solução de lavagem (PBS 1 \times), em quantidades generosas. A lavagem foi repetida cinco vezes seguida de uma remoção final da solução de lavagem por inversão do suporte para um papel absorvente. Subsequentemente, foram colocadas, em cada micropoço, duas gotas (aproximadamente 80 μ l) do reagente D, o substrato, e deram-se pequenas pancadas laterais no suporte para promover a mistura. Por fim, seguiu-se uma incubação, durante cinco minutos, à temperatura ambiente. Imediatamente após esta última etapa, os resultados foram lidos de duas formas:

- i. Análise qualitativa: o teste era válido se o controlo positivo apresentava cor azul e o controlo negativo se mantinha transparente.
- ii. Análise quantitativa: a absorvância em cada micropoço foi lida num espectrofotómetro Multiskan FC, (Thermo Scientific) a um comprimento de onda (λ) de 595 nm. O teste era válido se o controlo positivo apresentasse uma absorvância superior a 0,150.

A interpretação dos resultados foi efetuada de acordo com as duas análises: i) as amostras que apresentavam cor azul e uma absorvância superior a 0,040 foram consideradas positivas (a intensidade da coloração das amostras consideradas positivas varia de acordo com a quantidade de anticorpo para p24 de FIV presente na amostra); ii) as amostras que não apresentavam cor e com uma absorvância superior a 0,040 foram consideradas duvidosas e iii) as amostras que não apresentavam cor e com uma absorvância igual ou inferior a 0,040 foram consideradas negativas.

O *cut off* considerado foi de 0,040, dado que foi o maior valor obtido de absorvância para o controlo negativo nos vários ensaios realizados.

2.4. Análise estatística

Com recurso ao programa informático Microsoft Office Excel 2010, foi construída uma base de dados onde foi introduzida a informação descritiva dos 152 gatos analisados.

A análise estatística dos resultados foi realizada com o programa IBM SPSS, versão 22. Foi efetuada uma análise descritiva da população em estudo, quanto às variáveis de caracterização intrínseca, sexo e idade, e de caracterização extrínseca, sinais clínicos. Foram calculadas as prevalências aparentes das infeções por FeLV e FIV. Utilizando o teste chi-quadrado, foram avaliadas as relações entre os resultados dos testes ELISA e as variáveis epidemiológicas referidas.

Posteriormente, foram calculadas as prevalências reais das infeções por FeLV e FIV.

3. Resultados

3.1. Caracterização da amostra populacional

A amostra populacional em estudo foi de 152 animais. Em alguns deles, a ficha clínica não se encontrava preenchida na totalidade, pelo que não foi possível conhecer toda a amostra populacional (tabela 2).

Tabela 2: Resumo da ausência de informação de variáveis epidemiológicas em parte dos animais estudados.

	S	I	SCLD	SCL	SCLO	SCAM	SCE	SCPM	SCD
Válidos	124	119	109	109	108	109	108	111	106
Ausência de informação	28	33	43	43	44	43	44	41	46

S – sexo; I – idade; SCLD – sinal clínico de lesões dérmicas; SCL – sinal clínico de linfadenopatia; SCLO – sinal clínico de lesões oculares; SCAM – sinal clínico de atrofia muscular; SCE – sinal clínico de epistaxis; SCPM – sinal clínico de palidez das mucosas; SCD – sinal clínico de diarreia.

Por existir falta de informação, a caracterização da amostra populacional quanto às variáveis intrínsecas, sexo e idade e às variáveis extrínsecas de sinais clínicos, lesões dérmicas, linfadenopatia, lesões oculares, atrofia muscular, epistaxis, palidez das mucosas e diarreia deve ser assumida como a percentagem válida, ou seja, a percentagem de animais cuja informação em relação a determinada variável é conhecida.

A tabela 3 apresenta a caracterização da população em estudo, em relação às variáveis intrínsecas, sexo e idade. De entre os animais cuja informação relativa ao sexo era conhecida, 48,4% eram machos e 51,6% eram fêmeas. Assumindo a percentagem dos animais cuja informação relativa à idade que era conhecida, 26,1% eram juvenis, 73,9% eram adultos e 0,0% eram seniores.

Tabela 3: Caracterização da amostra populacional em relação às variáveis intrínsecas, sexo e idade, em frequência absoluta, percentagem e percentagem válida.

		Frequência Absoluta	Percentagem (%)	Percentagem Válida (%)
S	Masculino	60	39,5	48,4
	Feminino	64	42,1	51,6
I	Juvenil	31	20,4	26,1
	Adulto	88	57,9	73,9
	Sénior	0	0,0	0,0

S – sexo; I – idade.

A tabela 4 apresenta a caracterização da população em estudo relativamente à variável extrínseca sinais clínicos. Dos animais cuja informação era conhecida, 1,8% apresentava lesões dérmicas, 0,9% linfadenopatia, 25,2% palidez de mucosas e 3,8% diarreia.

Tabela 4: Caracterização da amostra populacional em relação às variáveis extrínsecas sinais clínicos em frequência absoluta, percentagem e percentagem válida .

		Frequência Absoluta	Percentagem (%)	Percentagem Válida (%)
SCLD	Ausência	107	70,4	98,2
	Presença	2	1,3	1,8
SCL	Ausência	108	71,1	99,1
	Presença	1	0,7	0,9
SCLO	Ausência	108	71,1	100,0
SCAM	Ausência	109	71,7	100,0
SCE	Ausência	108	71,1	100,0
SCPM	Ausência	83	54,6	74,8
	Presença	28	18,4	25,2
SCD	Ausência	102	67,1	96,2
	Presença	4	2,6	3,8

SCLD – sinal clínico de lesões dérmicas; SCL – sinal clínico de linfadenopatia; SCLO – sinal clínico de lesão ocular; SCAM – sinal clínico de atrofia muscular; SCE – sinal clínico de epistaxis; SCPM – sinal clínico de palidez das mucosas; SCD – sinal clínico de diarreia.

3.2. Prevalências de infecção por FeLV e FIV

Após realização do teste ELISA ViraCHEK®/FeLV (Synbiotics), foram identificados 13 animais positivos e 137 negativos. Dos 137 resultados negativos, para infecção por FeLV, 27 eram animais juvenis. A prevalência aparente de infecção por FeLV foi de 8,7% (13/150), como apresentado na figura 3.

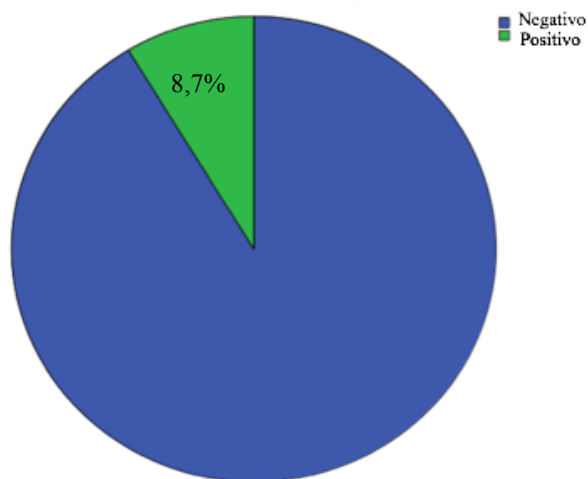


Figura 6: Prevalência aparente de infecção por FeLV.

Sabendo que o teste de ELISA utilizado apresenta uma sensibilidade de 94,9% (IC de 95%: 83,1-98,6%) e uma especificidade de 98,4% (IC de 95%: 96,8-99,2%) (Hartmann *et al.*, 2007), e que a prevalência aparente de doença foi de 8,7% (13/150), foi calculada a prevalência real de infecção por FeLV de acordo com a equação 1 (Thrusfield, 1991):

$$PR = \frac{PA + Esp - 1}{Se + Esp - 1} \quad \text{(Equação 1)}$$

PR: Prevalência real

PA: Prevalência aparente

Esp: Especificidade

Se: Sensibilidade

A prevalência real de infecção por FeLV calculada foi de 7,6%.

Após realização do teste de ELISA ViraCHEK® FIV (Synbiotics), foram identificados 21 animais positivos, 112 negativos e 19 duvidosos. Dos 21 resultados positivos, 16 eram animais adultos (> 1 ano) e cinco não tinham informação relativa à idade. Dos 19 resultados duvidosos, sete eram animais juvenis (< 1 ano), oito eram animais adultos (> 1 ano) e quatro animais não tinham informação relativa à idade.

A figura 4 apresenta, de forma esquemática, a prevalência aparente de infecção por FIV, que foi de 13,8% (21/152). Foram considerados os resultados duvidosos, que correspondem a 12,5% (19/152) da amostra populacional.

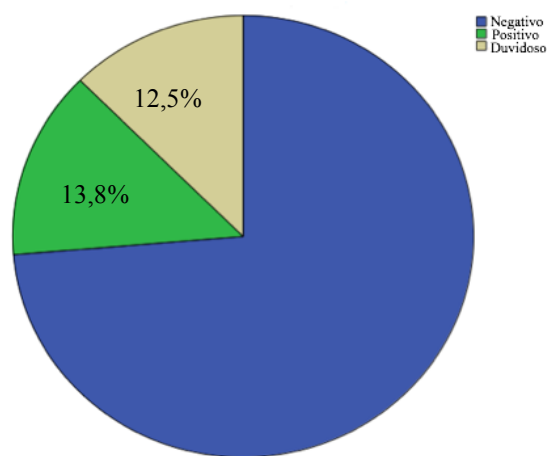


Figura 7: Prevalência aparente de infecção por FIV.

Sabendo que o teste de ELISA utilizado apresenta uma sensibilidade de 92,6% (IC de 95%: 82,4-97,1%) e uma especificidade de 99,8% (IC de 95%: 98,8-100%) (Hartmann *et al.*, 2007) e que a prevalência aparente foi de 13,8%, foi calculada a prevalência real de infecção por FIV, de acordo com a equação 1 (Thrusfield, 1991), tendo sido obtido um valor de 14,7%.

3.3. Relações estatísticas

Foram procuradas relações estatísticas entre os resultados obtidos nos testes de ELISA ViraCHEK®/FeLV e ELISA ViraCHEK® FIV e as variáveis de caracterização intrínseca e extrínseca dos animais.

Não foram encontradas relações estatisticamente significativas, exceto entre a positividade de FIV e a idade e entre a positividade de FIV e a linfadenopatia.

Parece existir uma relação entre idade e positividade no teste de FIV, que sugere

que os animais mais velhos têm maior prevalência da doença (chi-quadrado (1, N=119) = 9,014, p=0,011). Essa relação pode ser mais facilmente observada na figura 8.

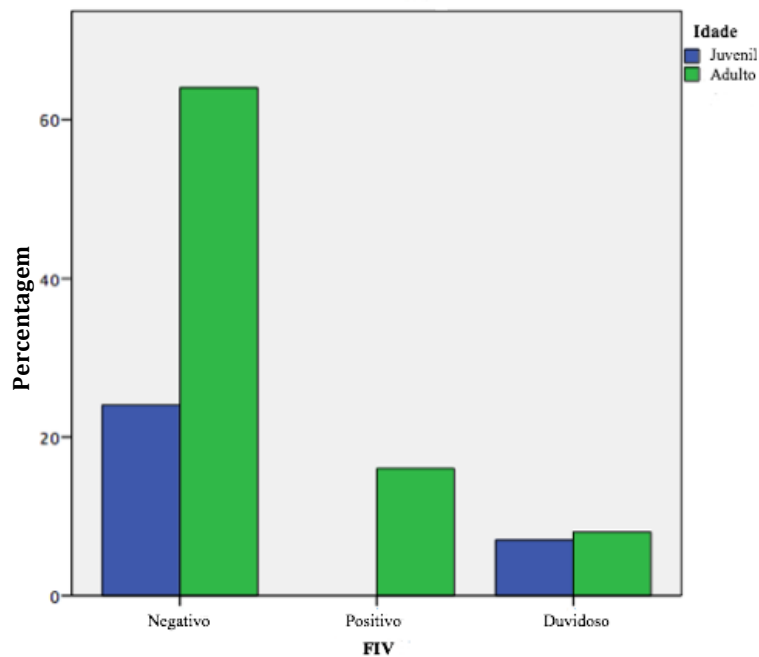


Figura 8: Relação entre o estado de infecção por FIV e a idade.

Também parece existir uma relação entre o sinal clínico linfadenopatia e a positividade no teste de FIV, que sugere que os animais com linfadenopatia têm maior prevalência da doença (chi-quadrado (2, N=109) = 7,453, p=0,024). Essa relação pode ser mais facilmente observada na figura 9.

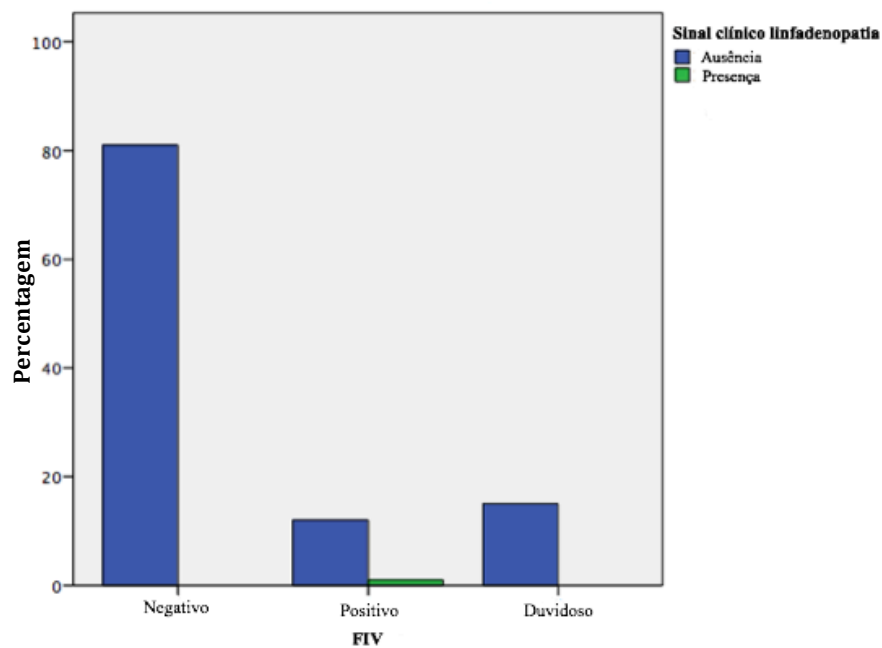


Figura 9: Relação entre o estado de infecção por FIV e o sinal clínico linfadenopatia.

4. Discussão

A Ilha de Faro, península do Ancão, está ligada ao continente apenas por uma estrada/ponte. Devido à existência de um único acesso, a população de gatos errantes tem uma migração voluntária muito reduzida, restringindo-se o seu habitat ao areal (A Voz do Algarve, 2014; Diário Digital & Agência Lusa, 2014).

Os gatos reproduziram-se a um ritmo elevado, tendo a colónia crescido. Com uma densidade populacional elevada, um território pequeno e de difícil acesso, a população torna-se fechada (Diário Digital & Agência Lusa, 2014). Assim, a população estudada apresenta elevado risco de contrair doenças infetocontagiosas.

Os hábitos de vida desta população variam de acordo com a estação do ano. No Verão, os animais têm ao seu dispor excesso de comida, porque a atividade piscatória é relativamente grande, sendo que os pescadores alimentam-nos. A adicionar a este facto, é uma época com estadia de muitos turistas, que também lhes disponibilizam alimento. Pelo contrário, no Inverno, os animais têm dificuldade em encontrar comida, passam alguma fome e ingerem apenas restos de peixe fornecido pelos pescadores (Diário Digital & Agência Lusa, 2014).

Assim, no Inverno, os animais estão mais imunocomprometidos e, pelo facto de existir menos alimento disponível, existe maior probabilidade de lutas por disputa do mesmo. Sendo uma população constituída por animais errantes, também existem lutas entre os gatos machos que, até à data do estudo, eram todos inteiros, por acasalamento e disputa de território. Estes comportamentos aumentam a probabilidade de transmissão de FIV.

Para além do referido, durante todo o ano, os animais coabitam sem restrição e, assim, existe grande risco de transmissão de FeLV.

O tipo de estudo realizado apresenta algumas limitações. O facto de a apreciação da idade e dos vários sinais clínicos terem sido efetuados por várias pessoas é disso exemplo, uma vez que, apesar do protocolo ser igual, poderão, eventualmente, existir ligeiras diferenças na consideração final.

Ainda, é importante referir que, segundo a bula dos testes utilizados, as amostras de soro muito lipémicas e hemolisadas podem ter resultados falso positivos, no entanto, macroscopicamente não foram identificadas amostras turvas e leitosas características de lipémia nem amostras rosadas, características de hemólise.

Os valores de prevalência obtidos no presente trabalho podem ser extrapolados para a totalidade da população. Apesar do número de amostras ter sido alcançado por questão de conveniência do trabalho experimental, coincide com o número amostral apropriado para o trabalho, calculado posteriormente.

Em relação à investigação realizada para avaliação da infecção por FeLV na amostra populacional considerada (n=150), foi pesquisado o antígeno p27 de FeLV, no sangue periférico.

Os animais com infecção progressiva têm resultados positivos neste teste; os animais com infecção regressiva, numa fase inicial, têm resultados positivos, mas, posteriormente, testam negativo porque já não apresentam virémia nem antigenemia; os animais com uma infecção abortiva têm um resultado negativo neste teste; por fim, os animais com infecção focal têm resultados variáveis neste teste (Levy *et al.*, 2003; Hartmann, 2006; Arjona *et al.*, 2007; Levy & *et al.*, 2008; Little *et al.*, 2011; Hartmann, 2012). Desta forma, conclui-se que poderão existir resultados falso negativos devido à patogenia da presente doença.

Na maioria dos animais, o desenvolvimento da antigenemia tem uma duração média de 28 dias após a exposição inicial; no entanto, este é um processo variável, podendo ter uma duração maior (Levy *et al.*, 2008a; Little *et al.*, 2011). Assim, os animais que foram positivos neste teste terão tido contato com este agente pelo menos 28 dias antes da data de recolha da amostra. Ainda de salientar que, animais numa fase muito inicial de infecção, teriam resultados falso negativos, no presente teste.

Assim, existe a possibilidade de um animal estar infetado com este retrovírus, mas ter um resultado negativo em testes que detetam antígeno (Hofmann-Lehmann *et al.*, 2001; Lutz *et al.*, 2009). A deteção de DNA de provírus, por PCR, seria uma forma de confirmar estes resultados, aumentando, assim, a sensibilidade de diagnóstico.

Os gatos bebés, embora possam ser testados em qualquer idade, quando infetados por transmissão materna, podem apresentar resultados falso negativos, até alguns meses após o nascimento (Levy *et al.*, 2008a; Little *et al.*, 2011). Assim, é possível colocar a hipótese que os 27 animais juvenis (< 1 ano) negativos no teste possam ser resultados falso negativos. Esta situação seria resolvida testando, meses mais tarde, estes animais; no entanto, dada a natureza do projeto, tal não foi possível.

O valor de prevalência real de FeLV obtido no presente estudo foi de 7,6% (13/150), podendo ser extrapolado para a totalidade da população de gatos errantes da

Ilha de Faro, uma vez que o número de animais estudados coincide com o número amostral que foi estatisticamente calculado. Este valor encontra-se de acordo com o descrito na Europa. Segundo a literatura, na Europa, a prevalência de infecção por FeLV varia entre 3,5 a 15,6% (Gleich *et al.*, 2009; Spada *et al.*, 2012; Chhetri *et al.*, 2013).

Considerando apenas estudos realizados com recurso à técnica de ELISA, para deteção de antigénio de FeLV, as prevalências de infecção encontradas foram de 2,3% (409/18038), na América do Norte, numa população de gatos provenientes de colónias (n=8068) e com proprietários (n=9970) (Levy *et al.*, 2006), de 7,5% (17/227), no México, numa população de gatos com proprietários (Ortega-Pacheco *et al.*, 2013), de 3,4% (383/11144), no Canadá, numa população mista de gatos errantes (n=1556) e com proprietários (n=9588) (Little *et al.*, 2009) e de 1,0% (2/196), na Finlândia, em gatos errantes (Sukura *et al.*, 1992). Estes valores são inferiores a semelhantes aos obtidos no presente estudo.

O valor de prevalência obtido no presente trabalho é semelhante ao de outros estudos realizados em Portugal. O estudo português cujo resultado da prevalência de FeLV mais se aproxima do obtido no presente estudo foi realizado por Duarte *et al.* (2010), na área metropolitana de Lisboa, no qual foram testados gatos errantes provenientes de várias colónias, tendo sido descrita uma prevalência aparente de infecção de 7,1% (14/198). Trata-se de uma população com características semelhantes à que foi estudada e o meio de diagnóstico utilizado foi o mesmo, apesar de não ter sido calculada a prevalência real, ajustada à sensibilidade e especificidade do teste (Duarte *et al.*, 2010).

Em relação à investigação realizada para avaliação da infecção por FIV na amostra populacional considerada (n=152), foram pesquisados anticorpos anti-p24 de FIV, no sangue periférico.

Os resultados duvidosos obtidos no teste são aqueles em que as amostras não manifestaram cor azul, mas apresentaram uma absorvância superior a 0,040, valor considerado como *cut off*. Este resultado duvidoso indica que a amostra analisada tem níveis de anticorpos tão baixos, que se encontram no limite entre a positividade e a negatividade para a infecção por este agente. Uma hipótese que poderia justificar este resultado seria a de os gatos se encontrarem numa fase inicial de infecção e, por isso, apresentarem baixos níveis de anticorpos. O ideal teria sido fazer a repetição dos

ensaios de ELISA para estas amostras, contudo, devido a restrições orçamentais, tal não foi possível.

O teste utilizado no presente estudo deteta anticorpos, conforme já referido. A maioria dos animais infetados por este retrovírus produz anticorpos que são detetáveis cerca de 60 dias após a exposição inicial; no entanto, alguns gatos poderão só apresentar anticorpos detetáveis mais tarde (Goldkamp *et al.*, 2008; Levy *et al.*, 2008a). Esta situação impede o diagnóstico por um período relativamente prolongado, existindo, assim, a possibilidade de ocorrerem de alguns resultados falso negativos.

Assim, a realização de um teste molecular, como a PCR, para a deteção de provírus, seria uma forma de confirmar os resultados da serologia.

Os testes positivos que detetam anticorpos anti-FIV, em gatos com menos de seis meses, devem ser interpretados com alguma cautela (Levy *et al.*, 2008a). Em mais de metade da descendência, os anticorpos de mães infetadas são transmitidos aos gatos bebés e persistem após a idade de desmame (oito semanas) (MacDonald *et al.*, 2004; Levy *et al.*, 2008a; Levy *et al.*, 2008b). Assim, a maioria destes gatos bebés têm resultados positivos em testes que pesquisam anticorpos anti-FIV, mas podem não estar infetados e ter resultados negativos quando reavaliados após os seis meses de idade (Levy *et al.*, 2008a). No entanto, apesar da infeção por FIV em gatos bebés ser incomum, pode ocorrer ocasionalmente; estes animais, quando reavaliados após os seis meses de idade, continuam a apresentar resultados positivos para anticorpos anti-FIV, devendo, então, ser considerados verdadeiro infetados (Levy *et al.*, 2008a).

Nenhum animal juvenil (< 1 ano) evidenciou resultado positivo; no entanto, sete animais juvenis (< 1 ano) apresentaram resultados duvidosos no teste realizado. É possível elaborar a hipótese de estes animais terem obtido anticorpos da progenitora, mas não estarem infetados com FIV. Pela limitação do estudo (impossibilidade de reavaliar os animais após os seis meses) é difícil determinar o seu estatuto em relação a esta infeção. Tendo estes sete animais idades compreendidas até um ano e um resultado duvidoso no teste de ELISA, considerou-se que a apreciação do estatuto destes animais seria indeterminado.

A prevalência real de FIV obtida no presente estudo foi de 14,7% (21/152), podendo ser extrapolado para a totalidade da população de gatos errantes da Ilha de Faro, uma vez que o número de animais estudados coincide com o número amostral que foi estatisticamente calculado. Este valor é superior ao descrito noutros países da

Europa. Segundo a literatura, no Norte de Europa, a prevalência de infecção por FIV varia entre 2 a 6%, sendo no Sul de 10% (Gleich *et al.*, 2009; Spada *et al.*, 2012).

Considerando apenas estudos realizados com recurso à técnica de ELISA para deteção de anticorpos anti-FIV, foram descritas seroprevalências de 2,5% (446/18038), na América do Norte, numa população gatos provenientes de colónias (n=8068) e com proprietários (n=9970) (Levy *et al.*, 2006), de 2,5% (5/227), no México, em gatos com proprietários (Ortega-Pacheco *et al.*, 2013), de 4,3% (480/11144), no Canadá, numa população mista de gatos errantes (n=1556) e com proprietários (n=9588) (Little *et al.*, 2009) e de 6,6% (13/196), na Finlândia, em gatos errantes (Sukura *et al.*, 1992). Estes valores são bastante mais baixos, comparando com o obtido no presente estudo.

Em Portugal, foram efetuados alguns estudos epidemiológicos. O estudo português, cujo resultado da seroprevalência para FIV mais se aproxima do obtido no presente estudo, foi realizado na Ilha de São Miguel, região autónoma dos Açores, por Botelho (2014). Este autor estudou uma população de gatos errantes e assilvestrados, tendo encontrado uma prevalência real de 14,2% (12/90). Trata-se de uma população com características semelhantes à estudada, tendo o meio de diagnóstico utilizado sido o mesmo que no presente trabalho.

O valor obtido para a prevalência de FIV foi bastante superior ao de FeLV, quase o dobro. Uma possível justificação poderá estar relacionada com as diferenças de patogenia das duas doenças. Um animal exposto ao FIV irá manter-se infetado durante toda a vida, enquanto que a patogenia de infecção por FeLV é bastante variável. Apesar de alguns gatos infetados por FeLV poderem ganhar resistência à infecção (infecção regressiva), outros desenvolvem infecção progressiva e, nesse caso, apresentam maior morbidade e mortalidade (Dunham & Graham, 2008). Por outro lado, a maioria dos animais em estudo eram adultos (73,9%), facto que poderá justificar a diferença dos valores calculados para a percentagem de infecção por estes retrovírus, dado que, segundo a literatura, os gatos mais novos são mais susceptíveis à infecção por FeLV quando comparados com os adultos. Em relação à infecção por FIV, os gatos adultos têm maior risco de infecção que os jovens.

O presente estudo sugere a existência de uma possível relação entre a positividade para FIV e a idade (figura 8), ou seja, os resultados sugerem que os animais adultos (> 1 ano) têm maior probabilidade de se encontrarem infetados por FIV, o que está de acordo com a literatura. Segundo alguns estudos consultados, a

idade é um fator de risco para a infeção por FIV, sendo que os gatos adultos, especialmente com mais de cinco anos, têm maior prevalência de doença do que animais mais jovens, o que pode ser justificado pelo longo período de incubação, que medeia a infeção e o desenvolvimento da doença clínica (Sellon & Hartmann, 2006; Murray *et al.*, 2009; Hellard *et al.*, 2011; Sukhumavasi *et al.*, 2012; Liem *et al.*, 2013; Garigliany *et al.*, 2016).

No entanto é, também, de salientar que os grupos inicialmente estipulados para a idade dos animais são desiguais, uma vez que o grupo dos adultos apresenta um intervalo de idade superior a qualquer outro (juvenis: < 1 ano; adultos: > 1 ano; e seniores: > 10 anos). Desta forma, existem mais animais que pertencem a esta categoria. No entanto, tratando-se de uma colónia de animais errantes, classificar a idade exata de um gato não é tarefa fácil.

Neste estudo, os resultados apontam para uma eventual relação entre a positividade de FIV e o sinal clínico de linfadenopatia (figura 9), dado que todos os animais com linfadenopatia também tinham uma infeção por este retrovírus. De facto, segundo a literatura, este sinal clínico é comum aparecer na primeira fase (fase aguda) de patogenia, podendo persistir na fase assintomática. No entanto, é de salientar que apenas um animal tinha linfadenopatia neste estudo.

O presente documento constituiu o primeiro estudo epidemiológico sobre a infeção por FeLV e FIV efetuado na população de gatos errantes da Ilha de Faro, tendo as prevalências encontradas sido significativas.

5. Conclusão

O FeLV e o FIV são dois retrovírus felinos com grande importância em Medicina Veterinária. No entanto, em Portugal existem, ainda, poucos estudos epidemiológicos sobre as infeções por estes agentes. O presente trabalho constitui um pequeno contributo para a comunidade científica, uma vez que permitiu conhecer a prevalência de infeção pelos dois retrovírus felinos, numa população nunca antes estudada.

O estudo que aqui se descreve e apresenta, constitui o primeiro estudo epidemiológico realizado na ilha de Faro, península do Ancão, não existindo, por isso, termos comparativos nem evolutivos sobre as infeções por FeLV e FIV nesta região.

A prevalência real obtida para a infeção por FeLV e FIV foi, respetivamente, de 7,6% (13/150) e de 14,7% (21/152). Foi, ainda, encontrada uma relação estatisticamente significativa entre a positividade para FIV e as variáveis idade e presença de linfadenopatia.

Na sequência dos valores de prevalência obtidos, seria recomendável, a implementação de medidas preventivas, de forma a impedir ou minimizar a transmissão de retrovírus; no entanto, devido à natureza do projeto, a concretização da mesma, nesta população, torna-se impossível. Ainda assim, no caso de adoção de um gato proveniente desta colónia, no que diz respeito à profilaxia destas duas retrovirose felinas, salienta-se que é recomendada a realização de testes que esclareçam o estado de infeção do animal. Caso seja positivo para infeção(ões) por estes retrovírus, é recomendado o isolamento do animal, impedindo o contato com outros gatos e acompanhamento médico-veterinário.

Para o futuro, seria interessante, realizar novo estudo epidemiológico para clarificar os resultados duvidosos e avaliar a evolução das prevalências de infeção por FeLV e FIV nesta população.

6. Referências Bibliográficas

A Voz do Algarve (2014). Península do Ancão (Praia de Faro) – Projecto de Controlo Populacional de Animais Errantes. Acedido a 16 de Junho de 2016 em <http://www.avozdoalgarve.pt/detalhe.php?id=4221>

Almeida, N.R., Danelli, M.G.M., da Silva, L.H.P., Hagiwara, M.K., & Mazur, C. (2012). Prevalence of feline leukemia virus infection in domestic cats in Rio de Janeiro. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 14(8), 583–6.

Ammersbach, M., Little, S., & Bienzle, D. (2013). Preliminary evaluation of a quantitative polymerase chain reaction assay for diagnosis of feline immunodeficiency virus infection. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 15(8), 725–9.

Anai, Y., Ochi, H., Watanabe, S., Nakagawa, S., Kawamura, M., Gojobori, T., & Nishigaki, K. (2012). Infectious endogenous retroviruses in cats and emergence of recombinant viruses. *Journal of Virology*, 86(16), 8634–44.

Andersen, P.R., & Tyrrell, P. (2004). Feline immunodeficiency virus diagnosis after vaccination. *Animal Health Research Reviews / Conference of Research Workers in Animal Diseases*, 5(2), 327–30.

Arjona, A., Barquero, N., Doménech, A., Tejerizo, G., Collado, V.M., Toural, C., Martín, D. *et al.* (2007). Evaluation of a novel nested PCR for the routine diagnosis of feline leukemia virus (FeLV) and feline immunodeficiency virus (FIV). *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 9(1), 14–22.

Arjona, A., Escolar, E., Soto, I., Barquero, N., Martín, 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(9), 3448–9.

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(4), 300–6.

Baltimore, D. (1970). RNA-dependent DNA polymerase in virions of RNA tumour viruses. *Nature*, 226(5252), 1209-1211.

Bande, F., Arshad, S.S., Hassan, L., Zakaria, Z., Sopian, N.A., Rahman, N.A., & Alazawy, A. (2012). Prevalence and risk factors of feline leukaemia virus and feline immunodeficiency virus in peninsular Malaysia. *BMC Veterinary Research*, 8, 33.

Bandecchi, P., Dell'Omodarme, M., Magi, M., Palamidessi, A., & Prati, M.C. (2006). Feline leukaemia virus (FeLV) and feline immunodeficiency virus infections in cats in the Pisa district of Tuscany, and attempts to control FeLV infection in a colony of domestic cats by vaccination. *The Veterinary Record*, 158(16), 555–7.

Barr, M.C., Zou, L., Long, F., Hoose, W.A., & Avery, R.J. (1997). Proviral organization and sequence analysis of feline immunodeficiency virus isolated from a Pallas' cat. *Virology*, 228(1), 84–91.

Bęczkowski, P.M., Hughes, J., Biek, R., Litster, A., Willett, B.J., & Hosie, M.J. (2014). Feline immunodeficiency virus (FIV) env recombinants are common in natural infections. *Retrovirology*, 11, 80.

Beebe, A.M., Dua, N., Faith, T.G., Moore, P.F., Pedersen, N.C., & Dandekar, S. (1994). Primary stage of feline immunodeficiency virus infection: viral dissemination and cellular targets. *Journal of Virology*, 68(5), 3080–91.

Bendinelli, M., Pistello, M., Lombardi, S., Poli, A., Garzelli, C., Matteucci, D., Ceccherini-Nelli, L. *et al.* (1995). Feline immunodeficiency virus: an interesting model for AIDS studies and an important cat pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*, 8(1), 87–112.

Bienzle, D., Reggeti, F., Wen, X., Little, S., Hobson, J., & Kruth, S. (2004). The variability of serological and molecular diagnosis of feline immunodeficiency virus infection. *The Canadian Veterinary Journal. La Revue Vétérinaire Canadienne*, 45(9), 753–7.

Bisset, L.R., Lutz, H., Böni, J., Hofmann-Lehmann, R., Lüthy, R., & Schüpbach, J. (2002). Combined effect of zidovudine (ZDV), lamivudine (3TC) and abacavir (ABC) antiretroviral therapy in suppressing in vitro FIV replication. *Antiviral Research*, 53(1), 35–45.

Blanco, K., Peña, R., Hernández, C., Jiménez, M., Araya, L. N., Romero, J.J., & Dolz, G. (2011). Serological Detection of Viral Infections in Captive Wild Cats from Costa Rica. *Veterinary Medicine International*, 2011, 1–3.

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 detection based on antibodies to p15E. *Journal of Clinical Microbiology*, 52(6), 2046–52.

Botelho, S.M.A. (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. Dissertação apresentada para obtenção de grau de Mestre em Medicina Veterinária conferido pela Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa, orientada por Maria Petronella e Elisabeth Oels, Lisboa.

Callanan, J.J., Thompson, H., Toth, S.R., O’Neil, B., Lawrence, C.E., Willett, B., & Jarrett, O. (1992). Clinical and pathological findings in feline immunodeficiency virus experimental infection. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 35(1-2), 3–13.

Castejon, M.J., Yamashiro, R., Oliveira, C.C., Oliveri, J.C. Oliveira, C.A.F. & Ueda, M. (2012). Assessing the effect of multiple freeze-thaw cycles on stability of serum samples for anti-HIV antibody detection. *Revista Instituto Adolfo Lutz*, 71(3), 573-81

Chhetri, B.K., Berke, O., Pearl, D.L., & Bienzle, D. (2013). Comparison of the geographical distribution of feline immunodeficiency virus and feline leukemia virus infections in the United States of America (2000–2011). *BMC Veterinary Research*, 9(1), 2.

Chhetri, B.K., Berke, O., Pearl, D.L., & Bienzle, D. (2015). Comparison of risk factors for seropositivity to feline immunodeficiency virus and feline leukemia virus among cats: a case-case study. *BMC Veterinary Research*, 11(1), 339.

Crawford, P.C., & Levy, J.K. (2007). New challenges for the diagnosis of feline immunodeficiency virus infection. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 37(2), 335–50.

Crawford, P.C., Slater, M.R., & Levy, J. K. (2005). Accuracy of polymerase chain reaction assays for diagnosis of feline immunodeficiency virus infection in cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 226(9), 1503–7.

Danner, R.M., Goltz, D.M., Hess, S.C., & Banko, P.C. (2007). Evidence of feline immunodeficiency virus, feline leukemia virus, and *Toxoplasma gondii* in feral cats on Mauna Kea, Hawaii. *Journal of Wildlife Diseases*, 43(2), 315–8.

Dean, M.J.B., & A., G. (2003). Transmission and Immunopathogenesis of FIV in Cats as a Model for HIV. *Current HIV Research* 1(1) 15-29.

Diário Digital & Agência Lusa (2014). Ilha de Faro: Esterilizados 161 dos 230 gatos errantes. Acedido a 16 de Junho de 2016 em http://diariodigital.sapo.pt/news.asp?id_news=741187

Diehl, L.J., Mathiason-Dubard, C.K., O’Neil, L.L., Obert, L.A., & Hoover, E.A. (1995). Induction of accelerated feline immunodeficiency virus disease by acute-phase virus passage. *Journal of Virology*, 69(10), 6149–57.

Doménech, A., Miró, G., Collado, V.M., Ballesteros, N., Sanjosé, L., Escolar, E., Martin, S. *et al.* (2011). Use of recombinant interferon omega in feline retrovirocic: from theory to practice. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 143(3-4), 301–6.

Duarte, A., Castro, I., Pereira da Fonseca, I.M., Almeida, V., Madeira de Carvalho, L.M., Meireles, J., Fazendeiro, M.I. *et al.* (2010). Survey of infectious and parasitic diseases in stray cats at the Lisbon Metropolitan Area, Portugal. *Journal of Feline Medicine & Surgery*, 12(6), 441–446.

Dunham, S. P., & Graham, E. (2008). Retroviral Infections of Small Animals. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 38(4), 879–901.

Filoni, C., Catão-Dias, J.L., Cattori, V., Willi, B., Meli, M.L., Corrêa, S.H.R., Marques, M.C. *et al.* (2012). Surveillance using serological and molecular methods for the detection of infectious agents in captive Brazilian neotropic and exotic felids. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation : Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 24(1), 166–73.

- Foley, J.E., Swift, P., Fler, K.A., Torres, S., Girard, Y.A., & Johnson, C.K. (2013). Risk factors for exposure to feline pathogens in California mountain lions (*Puma concolor*). *Journal of Wildlife Diseases*, 49(2), 279–93.
- Garigliany, M., Jolly, S., Dive, M., Bayrou, C., Berthemin, S., Robin, P., Godenir, R. *et al.* (2016). Risk factors and effect of selective removal on retroviral infections prevalence in Belgian stray cats. *The Veterinary Record*, 178(2), 45.
- German, A.C., Harbour, D.A., Helps, C.R., & Gruffydd-Jones, T.J. (2008). Is feline foamy virus really apathogenic? *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 123(1-2), 114–8.
- Gil, S., Leal, R.O., Duarte, A., McGahie, D., Sepúlveda, N., Siborro, I., Cravo, J. *et al.* (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(3), 753–763.
- Gleich, S. E., 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 & Surgery*, 11(12), 985–992.
- Gleich, S., & Hartmann, K. (2009). Hematology and serum biochemistry of feline immunodeficiency virus-infected and feline leukemia virus-infected cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 23(3), 552–8.
- Goldkamp, C.E., Levy, J.K., Edinboro, C.H., & Lachtara, J.L. (2008). Seroprevalences of feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus in cats with abscesses or bite wounds and rate of veterinarian compliance with current guidelines for retrovirus testing. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 232(8), 1152–8.
- Gomes-Keller, M.A., Gönczi, E., Tandon, R., Riondato, F., Hofmann-Lehmann, R., Meli, M.L., & Lutz, H. (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(3), 916–22.

Hardy, W.D., Hess, P.W., MacEwen, E.G., McClelland, A.J., Zuckerman, E.E., Essex, M., Cotter, S.M. *et al.* (1976). Biology of feline leukemia virus in the natural environment. *Cancer Research*, 36(2 pt 2), 582–8.

Hardy, W.D., Old, L.J., Hess, P.W., Essex, M., & Cotter, S. (1973). Horizontal transmission of feline leukaemia virus. *Nature*, 244(5414), 266–9.

Hartmann, K. (2005). Feline Immunodeficiency Virus Infection and Related Diseases. In: S.J. Ettinger & E.C. Feldman, *Textbook of Veterinary Internal Medicine Diseases of the Dog and Cat* (6^a Ed., pp. 659-662). Elsevier Saunders.

Hartmann, K. (2006). Feline Leukemia Virus Infection. In: C.E. Greene, *Infectious Diseases of the Dog and Cat* (3^a Ed., pp. 105-131). Saunders Elsevier.

Hartmann, K., Griessmayr, P., Schulz, B., Greene, C.E., Vidyashankar, A.N., Jarrett, O., & Egberink, H.F. (2007). Quality of different in-clinic test systems for feline immunodeficiency virus and feline leukaemia virus infection. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 9(6), 439–45.

Hartmann, K. (2011). Clinical aspects of feline immunodeficiency and feline leukemia virus infection. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 143(3-4), 190–201.

Hartmann, K. (2012). Clinical aspects of feline retroviruses: a review. *Viruses*, 4(11), 2684–710.

Hartmann, K. (2015). Efficacy of antiviral chemotherapy for retrovirus-infected cats: What does the current literature tell us? *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 17(11), 925–39.

Hayward, J.J., & Rodrigo, A.G. (2008). Recombination in feline immunodeficiency virus from feral and companion domestic cats. *Virology Journal*, 5, 76.

Helfer-Hungerbuehler, A.K., Cattori, V., Boretti, F. S., Ossent, P., Grest, P., Reinacher, M., Henrich, M., *et al.* (2010). Dominance of highly divergent feline leukemia virus A progeny variants in a cat with recurrent viremia and fatal lymphoma. *Retrovirology*, 7, 14.

Hellard, E., Fouchet, D., Santin-Janin, H., Tarin, B., Badol, V., Coupier, C., Leblanc, G. *et al.* (2011). When cats' ways of life interact with their viruses: a study in 15 natural populations of owned and unowned cats (*Felis silvestris catus*). *Preventive Veterinary Medicine*, 101(3-4), 250–64.

Hofmann-Lehmann, R., Berger, M., Sigrist, B., Schawalder, P., & Lutz, H. (1998). Feline immunodeficiency virus (FIV) infection leads to increased incidence of feline odontoclastic resorptive lesions (FORL). *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 65(2-4), 299–308.

Hofmann-Lehmann, R., Huder, J.B., Gruber, S., Boretti, F., Sigrist, B., & Lutz, H. (2001). Feline leukaemia provirus load during the course of experimental infection and in naturally infected cats. *The Journal of General Virology*, 82(Pt 7), 1589–96.

Hoover, E.A., Olsen, R.G., Hardy, W.D., Schaller, J.P., & Mathes, L.E. (1976). Feline leukemia virus infection: age-related variation in response of cats to experimental infection. *Journal of the National Cancer Institute*, 57(2), 365–9.

Hosie, M.J., Addie, D., Belák, S., Boucraut-Baralon, C., Egberink, H., Frymus, T., Gruffydd-Jones, T. *et al.* (2009). Feline immunodeficiency. ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11(7), 575–84.

Hosie, M.J., Robertson, C., & Jarrett, O. (1989). Prevalence of feline leukaemia virus and antibodies to feline immunodeficiency virus in cats in the United Kingdom. *The Veterinary Record*, 125(11), 293–7.

Iwata, D., & Holloway, S.A. (2008). Molecular subtyping of feline immunodeficiency virus from cats in Melbourne. *Australian Veterinary Journal*, 86(10), 385–9.

Jackson, M.L., Haines, D.M., Meric, S.M., & Misra, V. (1993). Feline leukemia virus detection by immunohistochemistry and polymerase chain reaction in formalin-fixed, paraffin-embedded tumor tissue from cats with lymphosarcoma. *Canadian Journal of Veterinary Research = Revue Canadienne de Recherche Vétérinaire*, 57(4), 269–76.

Jarrett, W. F. H., Crawford, E. M., Martin, W. B., & Davie, F. (1964). A virus-like particle associated with leukemia (lymphosarcoma). *Nature*, 202, 567-569.

- Kawakami, T. G., Theilen, G. H., Dungworth, D. L., Munn, R. J., & Beall, S. G. (1967). "C"-Type viral particles in plasma of cats with feline leukemia. *Science*, 158, 1049-1050.
- Kim, W.-S., Chong, C.-K., Kim, H.-Y., Lee, G.-C., Jeong, W., An, D.-J., Jeoung, H.-Y. *et al.* (2014). Development and clinical evaluation of a rapid diagnostic kit for feline leukemia virus infection. *Journal of Veterinary Science*, 15(1), 91–7.
- Kolenda-Roberts, H.M., Kuhnt, L.A., Jennings, R.N., Mergia, A., Gengozian, N., & Johnson, C. M. (2007). Immunopathogenesis of feline immunodeficiency virus infection in the fetal and neonatal cat. *Frontiers in Bioscience : A Journal and Virtual Library*, 12, 3668–82.
- Kornya, M.R., Little, S.E., Scherk, M.A., Sears, W.C., & Bienzle, D. (2014). Association between oral health status and retrovirus test results in cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 245(8), 916–922.
- Kusuhara, H., Hohdatsu, T., Seta, T., Nemoto, K., Motokawa, K., Gemma, T., Koyama, H. *et al.* (2007). Serological differentiation of FIV-infected cats from dual-subtype feline immunodeficiency virus vaccine (Fel-O-Vax FIV) inoculated cats. *Veterinary Microbiology*, 120(3-4), 217–25.
- Lairmore, M.D. (2011). *Retroviridae*. In: N.J. Lachlan & E.J. Dubovi, *Fenner's Veterinary Virology* (4^a Ed., pp. 243-272). Elsevier Inc.
- Lappin, M.R. (2003). Polysystemic Viral Diseases. In: R.W. Nelson & C.G. Couto, *Small Animal Internal Medicine* (3^aEd. pp. 1278-1284). Mosby.
- Levy, J., Richards, J., Edwards, D., Elston, T., Hartmann, K., Rodan, I., Thayer, V. *et al.* (2003). 2001 Report of the American Association of Feline Practitioners and Academy of Feline Medicine Advisory Panel on feline retrovirus testing and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 5(1), 3–10.
- Levy, J.K., Crawford, P.C., & Slater, M.R. (2004). Effect of vaccination against feline immunodeficiency virus on results of serologic testing in cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 225(10), 1558–61.

Levy, J.K. & Crawford, P.C. (2005). Feline Leukemia Virus. In: S.J. Ettinger & E.C. Feldman, *Textbook of Veterinary Internal Medicine Diseases of the Dog and Cat* (6^a Ed., pp. 653-659). Elsevier Saunders.

Levy, J.K., Scott, H.M., Lachtara, J.L., & Crawford, P.C. (2006). 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(3), 371–6.

Levy, J., Crawford, C., Hartmann, K., Hofmann-Lehmann, R., Little, S., Sundahl, E., & Thayer, V. (2008a). 2008 American Association of Feline Practitioners' feline retrovirus management guidelines. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 10(3), 300–16.

Levy, J.K., Crawford, P.C., Kusuhara, H., Motokawa, K., Gemma, T., Watanabe, R., Arai, S. *et al.* (2008b). Differentiation of feline immunodeficiency virus vaccination, infection, or vaccination and infection in cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 22(2), 330–4.

Levy, J.K., Crawford, P.C., Lappin, M.R., Dubovi, E.J., Levy, M.G., Alleman, R., Tucker, S.J. *et al.* (2008c). Infectious diseases of dogs and cats on Isabela Island, Galapagos. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 22(1), 60–5.

Liem, B.P., Dhand, N.K., Pepper, A.E., Barrs, V.R., & Beatty, J.A. (2013). Clinical findings and survival in cats naturally infected with feline immunodeficiency virus. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 27(4), 798–805.

Litster, A.L. (2014). Transmission of feline immunodeficiency virus (FIV) among cohabiting cats in two cat rescue shelters. *Veterinary Journal (London, England: 1997)*, 201(2), 184–8.

Litster, A., Lin, J.-M., Nichols, J., & Weng, H.-Y. (2014). Diagnostic utility of CD4%:CD8 low% T-lymphocyte ratio to differentiate feline immunodeficiency virus (FIV)-infected from FIV-vaccinated cats. *Veterinary Microbiology*, 170(3-4), 197–205.

Little, S. (2011). A review of feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus seroprevalence in cats in Canada. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 143(3-4), 243–5.

Little, S., Bienzle, D., Carioto, L., Chisholm, H., O'Brien, E., & Scherk, M. (2011). Feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus in Canada: recommendations for testing and management. *The Canadian Veterinary Journal. La Revue Vétérinaire Canadienne*, 52(8), 849–55.

Little, S., Sears, W., Lachtara, J., & Bienzle, D. (2009). Seroprevalence of feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus infection among cats in Canada. *The Canadian Veterinary Journal. La Revue Vétérinaire Canadienne*, 50(6), 644–8.

Lutz, H., Addie, D., Belák, S., Boucraut-Baralon, C., Egberink, H., Frymus, T., Gruffydd-Jones, T., *et al.* (2009). Feline leukaemia. ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11(7), 565–74.

Lutz, H., Isenbügel, E., Lehmann, R., Sabapara, R.H., & Wolfensberger, C. (1992). Retrovirus infections in non-domestic felids: serological studies and attempts to isolate a lentivirus. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 35(1-2), 215–24.

MacDonald, K., Levy, J.K., Tucker, S.J., & Crawford, P.C. (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(10), 1554–7.

Marçola, T.G., Gomes, C.P.C., Silva, P.A., Fernandes, G.R., Paludo, G.R., & Pereira, R.W. (2013). Identification of a novel subtype of feline immunodeficiency virus in a population of naturally infected felines in the Brazilian Federal District. *Virus Genes*, 46(3), 546–50.

McCaw, D.L., Boon, G.D., Jergens, A.E., Kern, M.R., Bowles, M.H., & Johnson, J.C. (2001). Immunomodulation therapy for feline leukemia virus infection. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 37(4), 356–63.

Medeiros, S. de O., Martins, A.N., Dias, C.G.A., Tanuri, A., & Brindeiro, R. de M. (2012). Natural transmission of feline immunodeficiency virus from infected queen to kitten. *Virology Journal*, 9, 99.

- Meichner, K., Kruse, D.B., Hirschberger, J., & Hartmann, K. (2012). Changes in prevalence of progressive feline leukaemia virus infection in cats with lymphoma in Germany. *The Veterinary Record*, 171(14), 348.
- Mohammadi, H., & Bienzle, D. (2012). Pharmacological inhibition of feline immunodeficiency virus (FIV). *Viruses*, 4(5), 708–24.
- Mora, M., Napolitano, C., Ortega, R., Poulin, E., & Pizarro-Lucero, J. (2015). Feline immunodeficiency virus and feline leukemia virus infection in free-ranging guignas (*Leopardus guigna*) and sympatric domestic cats in human perturbed landscapes on Chiloé Island, Chile. *Journal of Wildlife Diseases*, 51(1), 199–208.
- Morais de Almeida, P., & Pedrodo, L. (2015). Relato clínico sobre o tratamento de um gato infectado com vírus da leucemia felina (FeLV) com o antivirico inibidor da integrase - Raltegravir. *Veterinary Medicine*, 16(99), 9-12.
- Möstl, K., Egberinl, H., Addie, D., Frymus, T., Boucraut-Baralon, C., Truyen, U., Hartmann, K. *et al.* (2013). Prevention of infectious diseases in cat shelters: ABCD guidelines. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 15(7), 546-54.
- Munro, H.J., Berghuis, L., Lang, A.S., Rogers, L., & Whitney, H. (2014). Seroprevalence of feline immunodeficiency virus (FIV) and feline leukemia virus (FeLV) in shelter cats on the island of Newfoundland, Canada. *Canadian Journal of Veterinary Research = Revue Canadienne de Recherche Vétérinaire*, 78(2), 140–4.
- Murray, J.K., Roberts, M.A., Skillings, E., Morrow, L.D., & Gruffydd-Jones, T.J. (2009). Risk factors for feline immunodeficiency virus antibody test status in Cats Protection adoption centres (2004). *Journal of Feline Medicine & Surgery*, 11(6), 467–473.
- Natoli, E., Say, L., Cafazzo, S., Bonanni, R., Schmid, M., & Pontier, D. (2005). Bold attitude makes male urban feral domestic cats more vulnerable to Feline Immunodeficiency Virus. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 29(1), 151–7.
- Nemzek, J.A., Arnoczky, S.P., & Swenson, C.L. (1994). Retroviral transmission by the transplantation of connective-tissue allografts. An experimental study. *The Journal of Bone and Joint Surgery. American Volume*, 76(7), 1036–41.

Nesina, S., Helfer-Hungerbuehler, A.K., Riond, B., Boretti, F.S., Willi, B., Meli, M.L., Grest, P., *et al.* (2015). Retroviral DNA--the silent winner: blood transfusion containing latent feline leukemia provirus causes infection and disease in naïve recipient cats. *Retrovirology*, 12, 105.

Norris, J.M., Bell, E.T., Hales, L., Toribio, J.-A.L.M.L., White, J.D., Wigney, D.I., Baral, R.M., *et al.* (2007). Prevalence of feline immunodeficiency virus infection in domesticated and feral cats in eastern Australia. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 9(4), 300–8.

O'Brien, S.J., Troyer, J.L., Brown, M.A., Johnson, W.E., Antunes, A., Roelke, M.E., & Pecon-Slattery, J. (2012). Emerging viruses in the Felidae: shifting paradigms. *Viruses*, 4(2), 236–57.

O'Neil, L.L., Burkhard, M.J., Diehl, L.J., & Hoover, E.A. (1995). Vertical transmission of feline immunodeficiency virus. *Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (small Animal)*, 10(4), 266–78.

Ortega-Pacheco, A., Aguilar-Caballero, A.J., Colin-Flores, R.F., Acosta-Viana, K.Y., 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 and Surgery*, 16(6), 460–464.

Pedersen, N.C., Ho, E.W., Brown, M.L., & Yamamoto, J.K. (1987). Isolation of a Tlymphotropic virus from domestic cats with an immunodeficiency-like syndrome. *Science*, 235, 790-793.

Pedersen, N.C., Torten, M., Rideout, B., Sparger, E., Tonachini, T., Luciw, P. A., Ackley, C., *et al.* (1990). Feline leukemia virus infection as a potentiating cofactor for the primary and secondary stages of experimentally induced feline immunodeficiency virus infection. *Journal of Virology*, 64(2), 598–606.

Policicchio, B.B., Pandrea, I., & Apetrei, C. (2016). Animal Models for HIV Cure Research. *Frontiers in Immunology*, 7, 12.

Quimby, J.M., Elston, T., Hawley, J., Brewer, M., Miller, A., & Lappin, M.R. (2008). Evaluation of the association of Bartonella species, feline herpesvirus 1, feline calicivirus, feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus with chronic

- feline gingivostomatitis. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 10(1), 66–72.
- Ramírez, H., Autran, M., García, M.M., Carmona, M.Á., Rodríguez, C., & Martínez, H.A. (2016). Genotyping of feline leukemia virus in Mexican housecats. *Archives of Virology*, 161(4), 1039-1045.
- Reche, A., Daniel, A.G.T., Strauss, T.C.P.L., Taborda, C.P., Marques, S.A.V., Haipek, K., Oliveira, L.J. *et al.* (2010). Cutaneous mycoflora and CD4:CD8 ratio of cats infected with feline immunodeficiency virus. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 12(4), 355–8.
- Reid, R.W., Barr, M.C., & Scott, F.W. (1992). Retrospective serologic survey for the presence of feline immunodeficiency virus antibody: a comparison of ELISA and IFA techniques. *The Cornell Veterinarian*, 82(4), 359–69.
- Rodrigues, C.V.B. (2012). Prevalência de vírus da imunodeficiência felina, vírus da leucemia felina, calicivírus felino, herpesvírus felino tipo q e *Candida* spp. em felinos errantes e possível associação a gengivo-estomatite crônica felina e a doença respiratória felina. Dissertação apresentada para obtenção de grau de Mestre em Medicina Veterinária conferido pela Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa, orientada por Ana Fernandes, Lisboa.
- Romen, F., Pawlita, M., Sehr, P., Bachmann, S., Schröder, J., Lutz, H., & Löchelt, M. (2006). Antibodies against Gag are diagnostic markers for feline foamy virus infections while Env and Bet reactivity is undetectable in a substantial fraction of infected cats. *Virology*, 345(2), 502–8.
- Rosado, R.C. (2009). Rastreamento virológico de carnívoros errantes e caracterização genética viral. Dissertação apresentada para obtenção de grau de Mestre em Medicina Veterinária conferido pela Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa, orientada por Ana Duarte, Lisboa.
- Samman, A., McMonagle, E.L., Logan, N., Willett, B.J., Biek, R., & Hosie, M.J. (2011). Phylogenetic characterisation of naturally occurring feline immunodeficiency virus in the United Kingdom. *Veterinary Microbiology*, 150(3-4), 239–47.
- Sampaio Ferreira, G., I.H. Masson, G.C., Baptista Galvao, A.L., Léga, E., & Loraine Pinto, M. (2011). Feline immunodeficiency virus: a clinical challenge. *Nucleus*

Animalium. Fundação Educacional Ituverava, 3(1), 85-98.

Sand, C., Englert, T., Egberink, H., Lutz, H., & Hartmann, K. (2009). Evaluation of a new in-clinic test system to detect feline immunodeficiency virus and feline leukemia virus infection. *Veterinary Clinical Pathology*, 39(2), 210–214.

Santos, Glauber Eduardo de Oliveira. Cálculo amostral: calculadora on-line. Disponível em <http://www.publicacoesdeturismo.com.br/calculoamostral/>. Acesso em 24 de Janeiro de 2016.

Schwartz, A.M., McCrackin, M.A., Schinazi, R.F., Hill, P.B., Vahlenkamp, T.W., Tompkins, M.B., & Hartmann, K. (2014). Antiviral efficacy of nine nucleoside reverse transcriptase inhibitors against feline immunodeficiency virus in feline peripheral blood mononuclear cells. *American Journal of Veterinary Research*, 75(3), 273–81.

Sellon, R.K. & Hartmann, K. (2006). Feline Immunodeficiency Virus Infection. In: C.E. Greene, *Infectious Diseases of the Dog and Cat* (3^a Ed., pp. 131-144). Saunders Elsevier.

Shimajima, M., Miyazawa, T., Ikeda, Y., McMonagle, E.L., Haining, H., Akashi, H., Takeuchi, Y., *et al.* (2004). Use of CD134 as a primary receptor by the feline immunodeficiency virus. *Science (New York, N.Y.)*, 303(5661), 1192–5.

Smith, R.A., Remington, K.M., Preston, B.D., Schinazi, R.F., & North, T.W. (1998). A novel point mutation at position 156 of reverse transcriptase from feline immunodeficiency virus confers resistance to the combination of (-)-beta-2',3'-dideoxy-3'-thiacytidine and 3'-azido-3'-deoxythymidine. *Journal of Virology*, 72(3), 2335–40.

Sobrinho, L.S.V., Rossi, C.N., Vides, J.P., Braga, E.T., Gomes, A.A.D., de Lima, V.M.F., Perri, S.H.V., *et al.* (2012). Coinfection of *Leishmania chagasi* with *Toxoplasma gondii*, Feline Immunodeficiency Virus (FIV) and Feline Leukemia Virus (FeLV) in cats from an endemic area of zoonotic visceral leishmaniasis. *Veterinary Parasitology*, 187(1-2), 302–306.

Spada, E., Proverbio, D., della Pepa, A., Perego, R., Baggiani, L., DeGiorgi, G.B., Domenichini, G., *et al.* (2012). Seroprevalence of feline immunodeficiency virus,

feline leukaemia virus and *Toxoplasma gondii* in stray cat colonies in northern Italy and correlation with clinical and laboratory data. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 14(6), 369–77.

Stewart, H., Adema, K.W., McMonagle, E.L., Hosie, M.J., & Willett, B.J. (2012). Identification of novel subgroup A variants with enhanced receptor binding and replicative capacity in primary isolates of anaemogenic strains of feline leukaemia virus. *Retrovirology*, 9(1), 48.

Stiles, J. (2014). Ocular manifestations of feline viral diseases. *Veterinary Journal (London, England : 1997)*, 201(2), 166–73.

Sukhumavasi, W., Bellosa, M.L., Lucio-Forster, A., Liotta, J.L., Lee, A.C.Y., Pornmingmas, P., Chungpivat, S., *et al.* (2012). Serological survey of *Toxoplasma gondii*, *Dirofilaria immitis*, Feline Immunodeficiency Virus (FIV) and Feline Leukemia Virus (FeLV) infections in pet cats in Bangkok and vicinities, Thailand. *Veterinary Parasitology*, 188(1-2), 25–30.

Sukura, A., Salminen, T., & Lindberg, L.A. (1992). A survey of FIV antibodies and FeLV antigens in free-roaming cats in the capital area of Finland. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 33(1), 9–14.

Teixeira, B.M., Hagiwara, M.K., Cruz, J.C.M., & Hosie, M.J. (2012). Feline immunodeficiency virus in South America. *Viruses*, 4(3), 383–96.

Temin, H.M., & Mizutani, S. (1970). RNA-dependent DNA polymerase in virions of rous sarcoma virus. *Nature*, 226(5252), 1211-1213.

Thrusfield, M. (1991). Serological epidemiology. In: M. Thrusfield, *Veterinary epidemiology* (3^a Ed., pp. 180-185). Butterworth Heinemann.

Turras, M.C.C.D. (2014). Estudo de prevalência de FIV/FeLV numa população de 88 gatos errantes da região metropolitana de Lisboa. Dissertação apresentada para obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária conferido pela Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, orientada por Ana Godinho, Lisboa.


Weese, S.J., Nichols, J., Jalali, M., & Litster, A. (2015). The oral and conjunctival

microbiotas in cats with and without feline immunodeficiency virus infection. *Veterinary Research*, 46, 21.

Westman, M.E., Malik, R., Hall, E., Sheehy, P.A., & Norris, J.M. (2015). Determining the feline immunodeficiency virus (FIV) status of FIV-vaccinated cats using point-of-care antibody kits. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 42, 43–52.

7. Anexos

7.1. Anexo 1 – Ficha de identificação adaptada e registo de dados clínicos dos animais envolvidos no estudo

UNIVERSIDADE LISBOA de Biociências e Tecnologias |  faculdade de medicina veterinária

Projecto "Gatos da Ilha de Faro"

Id. do animal _____ Data colheita ____ / ____ / 2014

Idade aproximada Juvenil (< 1 ano) Adulto (> 1 ano) Sénior (>10 anos)

Sexo: M F Espécie: Gato Cão

Presença de carraças Não Sim Presença de pulgas Não Sim

Sinais clínicos presentes:

	Sim	Não
Lesões dérmicas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Linfadenopatia	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Lesões oculares	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Atrofia muscular	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Epistáxis	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Palidez das mucosas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Diarreia	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Produto recolhido:

	Sim	Não
Sangue em EDTA	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sangue em tubo seco	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Fezes	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Órgãos genitais	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Pele da Orelha	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Carraças	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Pulgas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Outros sinais clínicos: _____ Outras amostras: _____