

JULIANA JUNQUEIRA-JORGE

**Estudo dos fatores de risco da leucemia viral felina
no município de São Paulo**

São Paulo

2005

JULIANA JUNQUEIRA-JORGE

**Estudo dos fatores de risco da leucemia viral felina
no município de São Paulo**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária

Departamento:
Clínica Médica

Área de Concentração:
Clínica Veterinária

Orientadora:
Profa. Dra. Mitika Kuribayashi Hagiwara

São Paulo
2005

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T. 1494 Junqueira-Jorge, Juliana
FMVZ Estudo dos fatores de risco da leucemia viral felina no
 município de São Paulo / Juliana Junqueira-Jorge. – São Paulo : J.
 Junqueira-Jorge, 2005.
 42 f. : il.

 Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo.
 Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de
 Clínica Médica, 2005.

 Programa de Pós-graduação: Clínica Veterinária.
 Área de concentração: Clínica Veterinária.

 Orientador: Profa. Dra. Mitika Kuribayashi Hagiwara.

 1. Gatos. 2. Leucemia viral felina. 3. Fatores de risco.
 4. Epidemiologia. I. Título.




UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"
Comissão Bioética

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Estudo dos fatores de risco envolvidos na ocorrência da leucemia viral felina" Protocolo nº 243/2002, utilizando 500 gatos, sob a responsabilidade da Profª Drª Mitika Kuribayashi Hagiwara, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 11/12/2002.

(We certify that the Research "Study of risks factors of feline viral leukemie" protocol number 243/2002, utilizing 500 cats, under the responsibility of Profª Drª Mitika Kuribayashi Hagiwara, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commision of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechny of University of São Paulo and was approved in 12/11/2002 meeting.)

São Paulo, 12 de dezembro de 2002


Profª Drª Júlia Maria Matera
Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome do autor: JUNQUEIRA-JORGE, Juliana

Título: Estudo dos fatores de risco da leucemia viral felina no município de São Paulo

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Dedico...

... Ao meu filho Caio

"...eu continuo aqui,
com meu trabalho e meu amigos.
E me lembro de você em dias assim...
E nos dias de chuva... e nos dias de sol...
E o que sinto não sei dizer...
Vai com os anjos...
...vai em paz"

Você sempre estará no meu coração, sempre.

Agradecimentos especiais...

Aos meus filhos Rafael e Pedro, por serem o que Deus me deu de melhor e por me fazerem acreditar que tudo vale a pena.

Ao meu marido, por toda paciência e amor incondicional em todos os momentos de nossas vidas.

À minha mãe por sempre me ensinar a ser forte e por estar ao meu lado apesar da distância...

À Tia Diva e à Tia Carmem Sílvia por todo apoio, durante todo meu percurso até chegar aqui...

Ao meu irmão, minha sobrinha, meus tios, sogros, cunhados e primos, pelo amor que nos une e por sermos uma família de verdade.

Às grandes amigas Karina, Sílvia, Juliana e Viviane, por estarem sempre presentes em minha vida e por toda a paciência e compreensão nos meus momentos de ausência. "Bons amigos são como uma família que podemos escolher..."

Aos amigos e as amigas da graduação, pelas lembranças inesquecíveis, e pelo amor e amizade que sempre estarão vivos em nossos corações.

A todos os amigos, que ao longo da vida me ajudaram a seguir meu caminho.

A Deus por sempre guiar meus passos, apesar de minha constante teimosia...

"Se procurar bem, você acaba encontrando
não a explicação (duvidosa) da vida,
mas a poesia (inexplicável) da vida"

Carlos Drummond de Andrade

Agradecimentos

À minha Orientadora, Prof.a Dr.a Mitika Kuribayashi Hagiwara, pelas oportunidades que me ofereceu, pela orientação, experiência, apoio e afeto. Pelo empenho na idealização deste estudo e sobretudo pela paciência e compreensão nos momentos em que precisei.

Ao Prof. Dr. Fernando Ferreira pelo suporte indispensável desde o início deste projeto e por suas valiosas sugestões, fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho.

À Profa. Dra. Maria do Rosário Latorre pela minha iniciação ao estudo de regressão logística durante o curso de verão ministrado em fevereiro de 2004.

À Cláudia Regina Strignolo pelos ensinamentos referentes a técnica de Imunofluorescencia indireta e pela ajuda constante no decorrer de toda parte prática deste estudo.

A Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo suporte financeiro.

Aos funcionários do Departamento de Clínica Médica da FMVZ/USP, pelo suporte indispensável.

À empresa Royal Canin pela impressão dos folders, o que permitiu a divulgação deste estudo em todo Brasil.

RESUMO

JUNQUEIRA-JORGE, J. **Estudo dos fatores de risco da leucemia viral felina (LVF) no município de São Paulo.** [Study of the risk factors on the feline leukemia virus (FeLV) in the city of São Paulo]. 2005. 42 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

Este estudo visou identificar os fatores de risco da leucemia felina, em uma amostragem de 812 gatos provenientes do município de São Paulo. O teste usado para o diagnóstico da infecção foi a imunofluorescência indireta (IFI). Amostras de esfregaços sangüíneos de 812 gatos foram enviadas por clínicos veterinários de diferentes regiões da cidade. Cada animal teve uma ficha de identificação na qual pesquisou-se os seguintes fatores: sexo, idade, acesso à rua, vida reprodutiva, origem e número de contactantes. Os dados foram tabelados e armazenados para posterior análise estatística. O teste utilizado para identificar os felinos infectados pelo VLF foi a imunofluorescência indireta, utilizando-se anticorpos anti-VLF (Primary Reagent for FeLV IFA, VRMD, Inc.) e o conjugado anti-IgG FITC (Secondary Reagent for IFA, VRMD, Inc.). Foram obtidas 50 reações positivas, correspondendo a 6,16% da amostra estudada. O teste de χ^2 foi usado para triagem das variáveis a serem analisadas pela regressão logística. Os resultados obtidos pelo modelo múltiplo final demonstraram que na população estudada os fatores de risco para a leucemia felina foram: ter acesso à rua (RC=47,221; p<0,001), ter sido adotado na rua (RC=3,221; p=0,008) e ter idade entre 3 e 6 anos (RC=3,046; p=0,009), sendo o acesso à rua o fator de risco mais importante. Outros fatores associados à infecção na análise univariada, como sexo e vida reprodutiva, deixaram de ser significativos, tendo sido sobrepujados pela variável acesso a rua.

Palavras chaves: Gatos. Leucemia viral felina. Fatores de risco. Epidemiologia.

ABSTRACT

JUNQUEIRA-JORGE, J. Study of the risk factors on the feline leukemia virus (FeLV) in the city of São Paulo. [Estudo dos fatores de risco da leucemia viral felina (LVF) no município de São Paulo]. 2005. 42 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

This study aimed to identify the risk factors of feline leukemia in a sample of 812 cats from the city of São Paulo. Blood samples of 812 cats were sent by veterinary clinicians from different regions of the city. Each sample had an identification form with the following factors: sex, age, access to the street, reproductive status, origin, number of contactants and breed. These factors were assessed in the risk factors analysis. The test used to identify the infected animals was the indirect immunofluorescence, with antibodies anti-FeLV (Primary Reagent for FeLV IFA, VRMD, Inc.) and the conjugate anti-IgG FITC (Secondary Reagent for IFA, VRMD, Inc.). Fifty positive reactions were found, corresponding to 6,16% of the total sample. The χ^2 was used to select the variables to be analyzed by logistic regression. The results obtained through the final multiple model demonstrated that, in the studied population, the risk factors to feline Leukemia were: access to the street (OR=47,221; $p<0,001$), adoption from the street (OR=3,221; $p=0,008$) and age range between 3 and 6 years old (OR=3,046; $p=0,009$), with the first one considered the most important. Other factors associated with the infection in the univariate analysis, such as sex and reproductive status, became non-significant, having been overcome by the variable access to the street.

Key words: Cats. Virus, Feline leukemia virus. Risk factors. Epidemiology.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO DE LITERATURA	15
3	MATERIAL E MÉTODO	23
3.1	Material	23
3.2	Método	24
3.2.1	Técnica de Imunofluorescência.....	24
3.2.2	Definição das variáveis.....	25
3.2.3	Análise estatística.....	26
4	RESULTADOS	27
5	DISCUSSÃO	30
6	CONCLUSÃO	35
	REFERÊNCIAS	36
	APÊNDICES	41

1 INTRODUÇÃO

A leucemia viral felina (LVF) é uma doença contagiosa causada por um retrovírus pertencente à sub família *Oncornavirinae* que, como os demais retrovirus, vale-se da enzima transcriptase reversa para produzir seu material genético e se integrar no DNA do hospedeiro (HARDY et al., 1973). O vírus da leucemia felina (VLF) foi descoberto em 1964, na Escócia, em um gato oriundo de um abrigo de animais, onde vários deles apresentavam linfoma (JARRET et al., 1964). A partir do isolamento do agente e sua caracterização, foram desenvolvidos testes imunológicos para o diagnóstico da infecção (HARDY, 1971, HARDY et al., 1973). Os testes sorológicos baseados na pesquisa de anticorpos não se prestam ao diagnóstico de infecção atual, pois cerca de 40% dos gatos que se infectam com o VLF são capazes de eliminar a infecção tornando-se imunes (BARR, 1998; JARRET, 1999). Assim, o título de anticorpos pode indicar apenas uma infecção passada naqueles hospedeiros que foram capazes de eliminar a infecção (HARDY; ZUCKERMAN, 1991a). Desta forma, os testes empregados atualmente baseiam-se na pesquisa de antígenos nos fluídos corporais. O teste ELISA (Enzyme-Linked-Immunosorbent-Assay) baseia-se na pesquisa destes antígenos solúveis no plasma, soro, saliva ou lágrimas (AUGUST, 1992) enquanto o teste de imunofluorescência indireta (IFI) permite identificar as células infectadas presentes em esfregaços de sangue periférico (CHARREYRE; PERDENSEN, 1991; HARDY et al., 1973). Desde sua introdução, o teste de IFI para detecção do VLF vem sendo utilizado em pesquisas devido a sua especificidade, sensibilidade, acurácia e praticidade (LAPPIN, 1998). A IFI é considerada como teste de referência para o diagnóstico da infecção possuindo correlação de aproximadamente 100% com o isolamento viral (HARDY; ZUCKERMAN, 1991a).

Segundo diversos pesquisadores, alguns dos fatores associados à infecção pelo VLF são: idade, sexo, vida reprodutiva, origem e o acesso à rua. Aparentemente, os adultos jovens,

de um a cinco anos de idade (média de três anos de idade), costumam ser mais predispostos à infecção (HOSIE et al., 1989; KNOTEK et al., 1999; SHELTON et al., 1989). A taxa de infecção é maior entre os felinos que convivem em grupos quando comparada com aqueles que vivem sozinhos (BARR, 1995; BRALEY, 1994; KNOTEK et al., 1999; LEVY, 2000; O'CONNOR JR. et al., 1991). Em locais que abrigam um gato positivo para VLF, cerca de 30% dos gatos contactantes tornam-se persistentemente infectados em um curto período de tempo (LEVY, 2000). Animais castrados geralmente apresentam menores índices de infecção (KNOTEK et al., 1999). Aparentemente, os machos são mais predispostos à infecção (BARR, 1995; HAGIWARA et al., 1997, KNOTEK et al., 1999; LEVY, 2000; McMICHAEL et al., 1986). A incidência da infecção é significativamente maior em gatos que tem acesso à rua, em comparação com os confinados (BRALEY, 1994; KNOTEK et al., 1999; MARUYAMA et al., 2003; O'CONNOR JR. et al., 1991; SHERDIND, 1994).

A profilaxia da infecção baseia-se na imunização dos susceptíveis e isolamento dos gatos sabidamente infectados (HANLON et al., 2001; PERDENSEN et al., 1979; PEDERSEN, 1993). Entretanto o uso da vacina contra LVF pode estar associado ao desenvolvimento de fibrossarcomas, geralmente localizados no sítio da injeção (RICHARDS, 1998).

Assim a identificação dos fatores de risco envolvidos na infecção pelo VLF adquire importância na prevenção da doença possibilitando a indicação seletiva da imunização, específica para os animais que forem expostos ao risco.

A regressão logística é frequentemente usada em estudos que visam estimar os fatores de risco de uma doença quando existe mais de uma variável independente envolvida como fator predisponente. O método *stepwise* de regressão logística é um método sensível, acurado e de fácil aplicação para a avaliação de múltiplos fatores. Existem vários programas de computador que estão aptos a realizar este tipo de análise. Entre eles o programa SPSS *for*

Windows. Inicialmente, as variáveis devem ser analisadas por meio de um teste de associação univariado, recomendando-se que sejam testadas na análise múltipla variáveis com p entre 0,15 e 0,20. A permanência de uma variável em um modelo múltiplo é baseada na análise de sua “importância” no conjunto das variáveis. Para determinar a inclusão ou exclusão de uma variável é analisada a sua contribuição para a significância do modelo múltiplo final (HOSMER; LEMESHOW, 1989).

Constitui-se no objetivo deste trabalho evidenciar os fatores de risco envolvidos na leucemia viral felina, em uma área geográfica urbana com alta densidade demográfica de pessoas e de animais de companhia, especificamente felinos. Desta forma, foi escolhido o município de São Paulo, pela existência de uma população mista de gatos: os de rua ou lougradouros públicos, os de abrigos de animais e os domiciliados em grupos ou individualmente.

2 REVISÃO DE LITERATURA

O vírus da leucemia felina (VLF) é composto por uma série de proteínas que estão envolvidas em diferentes funções biológicas, podendo estar presentes no envelope ou no núcleo (AUGUST, 1992; ROJKO; HARDY, 1994). Os genes que codificam as proteínas estruturais apresentam-se da seguinte forma: 5'-gag-pro-pol-env-3'. O gene gag (antígeno específico de grupo) codifica as proteínas virais nucleares dentre as quais a p27 e outras proteínas estruturais como a p15, p12 e p10; o gene pro codifica uma protease; o gene pol codifica a enzima transcriptase reversa e o gene env codifica as glicoproteínas do envelope gp70 e p15E (VAN REGENMORTEL, 2000), das quais a primeira é responsável pela ligação do virion aos receptores de superfície das células do gato e a segunda está relacionada a imunossupressão e ao desenvolvimento da anemia (AUGUST, 1992; BARR, 1998, COFFIN, 1996).

O antígeno do oncornavirus felino associado à membrana celular (AOFAMC) é expresso nas células hematopoiéticas ou linfóides que sofreram transformação maligna pelo VLF ou VSF (vírus do sarcoma felino) (COUTO, 1994). A produção de anticorpos contra este antígeno protege o animal do desenvolvimento de linfomas e outras doenças mieloproliferativas. Baixos títulos de anticorpos anti-AOFAMC, em gatos que não apresentam infecção persistente pelo VLF, indicam que estes animais foram infectados transitoriamente pelo vírus em alguma época da vida (AUGUST, 1992).

O reservatório do VLF é o gato assintomático, persistentemente virêmico, que pode eliminar partículas virais através da saliva (ROJKO; KOCIBA, 1991). O gato pode excretar o vírus durante meses antes de adoecer ou vir a sucumbir (BARR, 1995). A infecção pelo VLF ocorre também em felídeos silvestres (DANIEL'S et al., 1999; FROMONT et al., 2000

MERIC, 1986; RASHEED; GARDNER, 1981), incluindo os brasileiros (SCHMITT et al., 2003).

A infecção ocorre principalmente pela via oronasal. A transmissão do VLF pela saliva infectada é facilitada pelo comportamento social dos felinos (HARDY et al., 1977; ROJKO; HARDY, 1994). O gato susceptível entra em contato com a saliva, secreções oculares e/ou secreções nasais de gatos infectados, como consequência do comportamento de lambeduras e/ou utilização conjunta de bebedouros e comedouros (ARJONA et al., 2000; LAPPIN, 1998). O VLF está presente em outros líquidos corporais incluindo plasma, urina, leite e lágrimas (COUTO, 1994; SHERDING, 1994). A transmissão transplacentária pode ocorrer em fêmeas na fase de viremia. Os neonatos que não se contaminarem por essa via ou pelo leite, poderão contaminar-se através da saliva da gata durante os cuidados de limpeza e higiene (AUGUST, 1992).

A evolução da LVF está na dependência de fatores virais, como dose inoculada, cepa viral, tempo de exposição e dos fatores intrínsecos ao hospedeiro como imunidade individual e idade (BARR, 1998). Após a exposição oronasal, o vírus alcança inicialmente os tecidos linfóides regionais, a seguir infecta as células mononucleares no sangue e, finalmente, a medula óssea e os tecidos epiteliais da bexiga urinária, trato gastrointestinal e glândulas salivares (CHARREYE; PERDENSEN, 1991).

O animal pode reagir de diferentes formas à infecção pelo VLF. Pode passar por um estágio de viremia transitória, se ocorrer a resposta imune com produção de anticorpos anti-gp70, capazes de neutralizar o vírus (ROJKO; KOCIBA, 1991). Neste caso, a eliminação do vírus ocorre após aproximadamente seis a oito semanas (BARR, 1995). De modo geral, os filhotes são protegidos por anticorpos maternos até seis semanas de idade, podendo apresentar infecção transitória caso entrem em contato com o vírus (COUTO, 1994, SHERDING, 1994). Muitas vezes, após a fase inicial de viremia, ocorre uma aparente recuperação do animal; os

testes ELISA (Enzyme-Linked-Immunosorbent-Assay) e IFI (Imunofluorescência Indireta) apresentam resultados negativos, entretanto, os gatos infectados mantêm o vírus sob a forma latente, pois existem células transformadas pelo vírus na medula óssea e linfonodos (ROJKO; HARDY, 1994). Pode haver uma reativação viral caso o animal passe por situações de estresse, doenças bacterianas ou virais, ou quando for submetido a altas doses de corticóides (AUGUST, 1992). Após esta reativação os gatos tornam-se persistentemente virêmicos. A latência ocorre devido à resposta imune parcial do animal, o que resulta na inativação e não na eliminação do vírus (BABYAK et al., 1998). Os animais que apresentam viremia persistente não são capazes de desenvolver resposta imune, resultando no óbito do animal três a cinco anos após o início da viremia. Apenas 30% dos gatos que entram em contato com o VLF apresentam viremia persistente (ROJKO; HARDY, 1994).

Como consequência da infecção persistente pelo VLF ocorrem alterações, principalmente nos mecanismos de defesa inespecíficos ou imunes do hospedeiro (COUTO, 1994), sendo observados neutropenia, disfunção neutrofílica, depleção dos linfócitos TCD^+_4 e TCD^+_8 , além da formação de complexos imunes, provocando depleção de anticorpos circulantes e diminuição dos componentes do sistema complemento (AUGUST, 1992). A maioria destes efeitos é mediada pela proteína gp70 (ROJKO; HARDY, 1994).

A leucemia viral felina está associada a doenças degenerativas e a doenças neoplásicas (LEVY, 2000). A maioria dos gatos infectados apresenta sintomas de doenças não neoplásicas, de caráter crônico, como enterites, periodontites, estomatites, gengivites, infecções respiratórias e dermatites, além de febre e perda de peso (HARDY et al, 1976, 1980, HARDY, 1981; JARRET, 1991; SHELTON et al., 1989).

As principais queixas dos proprietários referem-se a sintomas inespecíficos como anorexia, emagrecimento progressivo e depressão (BARR, 1993; BARR, 1995, LAPPIN, 1998). Alguns gatos apresentam claudicação ou fraqueza dos membros anteriores e

posteriores, devido a poliartrite neutrofílica, atribuída ao depósito de complexos imunes nas articulações (COUTO, 1994). Múltiplas exostoses cartilaginosas também podem ocorrer em alguns gatos (ROJKO; HARDY, 1994;). Problemas reprodutivos também são comuns. O VLF está associado à infertilidade, morte fetal e ao aborto (AUGUST, 1992). Também podem ocorrer distúrbios no sistema nervoso, como incontinência urinária, anisocoria, mielopatia e neuropatia periférica (HOOVER; MULLINS, 1991). Muitas doenças imunomediadas também são atribuídas a infecções pelo VLF, incluindo glomerulonefrites, poliartrites, lúpus eritematoso e anemia hemolítica imunomediada (LOAR, 1993). O linfoma é a neoplasia mais freqüentemente associada ao VLF, ocorrendo geralmente em 20% dos animais infectados (LOAR, 1993) e podendo se apresentar nas formas multicêntrica, alimentar e extranodal, de acordo com sua localização (ROJKO; HARDY, 1994).

Analisando-se uma série de estudos, concluiu-se que a prevalência de gatos infectados pelo VLF, nos EUA, está ao redor de 4% da população. Nos gatos doentes esta proporção sobe para aproximadamente 13%. Na Europa, em estudos realizados na Bélgica, França, Noruega, Suíça e Alemanha foi encontrado 10% de animais infectados pelo VLF, enquanto na Inglaterra, 5% dos animais sadios e 18,5% dos doentes foram positivos (BARR, 1995; BARR, 1998; BRALEY, 1994; HOSIE et al., 1989; KNOTEK et al., 1999; MALIK et al., 1997; (ROJKO; KOCIBA, 1991).

Gomez et al. (1999) pesquisaram a ocorrência de VLF e VIF (vírus da imunodeficiência felina) em 300 gatos na Argentina e encontraram a seguinte distribuição: 44% dos animais foram positivos para o VIF enquanto 5% foram positivos para o VLF.

No Brasil foi realizado um estudo clínico, com 298 gatos doentes ou que haviam tido contato com animais positivos para leucemia felina. Destes, 12,5% estavam infectados pelo VLF. A média de idade dos gatos infectados foi de 33 meses, e 67,5% dos animais infectados eram machos, não havendo, aparentemente, predisposição racial (HAGIWARA et al. 1997).

Souza et al. (2002) realizaram um estudo com 196 animais provenientes do município do Rio de Janeiro, utilizando um kit comercial (teste ELISA) para detecção do antígeno do VLF e de anticorpos para o VIF. Os resultados mostraram que 17,46% (22/126) dos gatos foram positivos para o VLF, 16,66% (21/126) foram positivos para o VIF e 1,58% (2/126) foram positivos para ambas as viroses.

Segundo diversos pesquisadores, alguns dos fatores associados à infecção pelo VLF são: idade, sexo, vida reprodutiva, origem e acesso à rua. Aparentemente, os adultos jovens, de um a cinco anos de idade (média de três anos de idade), costumam ser mais predispostos à infecção (HOSIE et al., 1989; KNOTEK et al., 1999; SHELTON et al., 1989). A taxa de infecção é maior entre os felinos que convivem em grupos quando comparada com aqueles que vivem sozinhos (BARR, 1996; BRALEY, 1994; KNOTEK et al., 1999; LEVY, 2000; O'CONNOR JR. et al., 1991). Em locais que abrigam um gato positivo para VLF, cerca de 30% dos gatos contactantes tornam-se persistentemente infectados em um curto período de tempo (LEVY, 2000). Animais castrados geralmente apresentam menores índices de infecção (KNOTEK et al., 1999). Aparentemente, os machos são mais predispostos à infecção (BARR, 1995; HAGIWARA et al., 1997, KNOTEK, et al., 1999; LEVY, 2000; McMICHAEL et al., 1986). A incidência de infecção é significativamente maior em gatos que tem acesso à rua, em comparação aos confinados (BRALEY, 1994; KNOTEK et al., 1999; MARUYAMA et al., 2003; O'CONNOR JR. et al., 1991; SHERDIND, 1994;).

Devido à multiplicidade de sintomas observados durante o curso da infecção, o diagnóstico da leucemia viral felina só pode ser estabelecido por meio de testes imunológicos específicos (HOOVER; MULLINS, 1991; ZENGER, 2000). Em muitos países o teste diagnóstico da infecção pelo VLF tornou-se um dos procedimentos mais freqüentes na rotina clínica veterinária. Os objetivos deste procedimento seriam: a elucidação diagnóstica de várias enfermidades que podem estar associadas a infecção pelo VLF, a identificação de

animais infectados porém assintomáticos e, finalmente, o controle da moléstia em gatis, por meio da identificação e segregação dos animais infectados. (SHERDING, 1994).

Anteriormente à padronização da técnica de imunofluorescência indireta (IFI) por Hardy et al. em 1973, o diagnóstico da LVF era feito por meio da pesquisa de partículas virais utilizando-se a microscopia eletrônica (LAIRD et al., 1968), ou por meio de testes sorológicos como a fixação de complemento (SARMA;HUERBNER, 1970) ou a imunodifusão (HARDY, 1971). Em 1980, o teste ELISA (Enzyme-Linked-Immunosorbent-Assay) foi introduzido na rotina hospitalar para o diagnóstico da infecção pelo VLF. Este, baseia-se na pesquisa de antígenos solúveis do VLF no plasma sanguíneo, lágrima e saliva (HARDY; ZUCKERMAN, 1991b), enquanto, pelo teste de IFI, são pesquisados antígenos ou partículas virais presentes em leucócitos e plaquetas (HARDY et al., 1973). São, portanto, testes de imunodeteção específicos e indicam infecção presente. Os testes sorológicos baseados na pesquisa de anticorpos não se prestam ao diagnóstico da infecção atual, pois podem indicar infecção passada naqueles hospedeiros que foram capazes de eliminar a infecção. (HARDY; ZUCKERMAN, 1991a).

As proteínas estruturais internas do VLF são produzidas em grande quantidade no citoplasma, sem causar danos significativos à célula infectada (SHERDING, 1994). A maioria destes antígenos não é incorporada nas partículas virais, permanecendo no citoplasma das células ou sob a forma solúvel no plasma, possibilitando sua detecção através das técnicas de IFI ou ELISA, respectivamente (HARDY; ZUCKERMAN, 1991a). Ambos detectam os antígenos nucleares do grupo p27, a maior proteína do core viral produzida em células infectadas. O ELISA detecta o antígeno p27 presente em fluidos como soro, plasma, saliva ou lágrima (HARDY; ZUCKERMAN, 1991b). Existem kits comerciais para uso em clínicas, sendo o resultado observado pela mudança na coloração da reação (SHERDING, 1994). A técnica de IFI detecta antígenos em esfregaços de sangue periférico, nos quais as células e as

plaquetas infectadas apresentam fluorescência, o que requer um microscópio de fluorescência (HARDY et al., 1973).

Desde sua introdução, a IFI para detecção do VLF vem sendo utilizada em pesquisas sendo, na maioria destes estudos, o único teste utilizado, devido a sua especificidade, sensibilidade, acurácia e praticidade (SHERDING, 1994). É considerado teste de referência para o diagnóstico da infecção, possuindo correlação de aproximadamente 100% com o isolamento viral (HARDY et al., 1973). Outra vantagem é que os animais diagnosticados positivos já tem a infecção estabilizada, desta forma os animais em viremia transitória não são considerados positivos (HARDY; ZUCKERMAN¹, 1991).

Devido à estabilidade, inclusive à temperatura ambiente, os antígenos virais podem ser detectados nos leucócitos mesmo após a perda da infectividade do vírus. Portanto, as lâminas de esfregaços sangüíneo podem ser enviadas aos laboratórios *in natura*, mesmo por via postal, sem que haja degradação do antígeno (HARDY; ZUCKERMAN, 1991a).

A confiabilidade de um teste é medida por dois índices: sensibilidade e especificidade. A sensibilidade de uma prova mede a sua capacidade de identificar como positivo um animal exposto ao vírus. A sensibilidade de um teste sorológico varia de acordo com o antígeno pesquisado, com as variantes do agente infeccioso e com o tempo necessário para que haja a produção de níveis detectáveis de anticorpos ou antígenos. Já a especificidade mede a capacidade que o teste possui de identificar como negativos os animais que não foram expostos ao agente em questão. Fatores que interferem na especificidade são reações cruzadas com agentes similares ou antigenicamente relacionados, presença de anticorpos não específicos após a vacinação e falhas no ensaio (HIETALA; GARDNER, 1999).

A concordância entre o ELISA e a IFI é 100% quando se trata de reações negativas, no entanto cai para 90% quando se consideram as reações positivas. Sendo assim, os animais considerados positivos pelo ELISA e que não apresentem sinais clínicos sugestivos da doença

devem ser reavaliados, utilizando-se a técnica de IFI antes de se estabelecer o diagnóstico definitivo de infecção pelo VLF (LAPPIN, 1998), pois, como o teste ELISA é capaz de detectar antígenos precocemente, estes animais podem estar apresentando virêmia transitória e serem capazes de debelar a infecção (AUGUST, 1992). Porém, deve-se estar atento ao fato de que é possível obter resultado falso negativo na IFI em animais que estejam apresentando leucopenia e trombocitopenia. Portanto, os dados do leucograma do animal são importantes na interpretação dos resultados discordantes entre o teste ELISA e a IFI (LAPPIN, 1998).

Na década de 70, anterior à produção de vacinas contra LVF em escala comercial, o controle da infecção baseava-se na eutanásia dos animais positivos ao teste de IFI. No entanto, esta conduta não levou a uma diminuição significativa dos casos de leucemia viral felina (PERDENSEN et al., 1979). Por outro lado, a identificação e o isolamento dos felinos reagentes seguidos da imunização dos gatos susceptíveis resultaram em considerável redução dos casos de infecção pelo VLF nos Estados Unidos e na Europa (HANLON et al., 2001; PEDERSEN, 1993).

Existem diferentes tipos de vacinas produzidas contendo vírus inativado, ou subunidades do virion, ou vacinas que utilizam proteínas (gp 70) do envelope viral, porém todas contêm adjuvantes (HINES et al., 1991; HOOVER et al., 1991; LEWIS et al., 1981; PEDERSEN, 1993; YORK; YORK 1991). Recentemente, o aumento dos casos de fibrossarcoma pós-vacinal e sua possível associação com uso de vacinas com adjuvantes, serviram de alerta para o uso indiscriminado da vacina contra leucemia felina, que deve ser utilizada preferencialmente naqueles animais expostos ao risco de se infectarem (RICHARDS, 1998). Recomenda-se ainda que a vacina seja aplicada exclusivamente nos animais sabidamente livres da infecção, o que torna imprescindível a realização do teste diagnóstico prévio principalmente nos felinos de origem desconhecida ou que foram adotados, originários da rua (LAPPIN, 1998).

3 MATERIAL E MÉTODO

3.1 Material

A micro-região escolhida para o estudo de identificação dos fatores de risco da infecção pelo VLF foi o município de São Paulo. Durante o período de janeiro de 2003 a dezembro de 2004, foram obtidas e processadas amostras provenientes de 812 felinos domésticos de ambos os sexos, com faixa etária variando dos seis meses aos vinte anos, com ou sem raça definida, domiciliados ou pertencentes a criatórios de animais, castrados ou não. Todos os animais submetidos ao teste foram atendidos em clínicas veterinárias deste município. As amostras de sangue foram colhidas por venopunção jugular ou cefálica. Os esfregaços de sangue foram preparados em duplicata, adequadamente acondicionados e enviados ao laboratório de Imunodiagnóstico do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. As lâminas foram acompanhadas de uma ficha de identificação (Apêndice A), preenchida pelo médico veterinário responsável pelo envio da material. Nesta ficha havia informações quanto a idade, sexo, raça, origem, vida reprodutiva, contactantes (no domicílio/ *gatil/ pet shop*), acesso à rua e outras informações quanto ao estado de higiene e antecedentes mórbidos ou familiares, quando pertinentes.

A amostra estudada foi composta por 427 fêmeas e 385 machos. Parte dos felinos padecia de algum problema de saúde (n=325), e os demais eram gatos aparentemente saudáveis (n= 487).

3.2 Método

3.2.1 Técnica de Imunofluorescência Indireta

Conforme as recomendações de Hardy et. al. (1973) e Kim Floyd et al. (1983) as lâminas foram secas ao ar livre, acondicionadas de forma a evitar lise celular e enviadas ao Laboratório de Imunodiagnóstico do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. da Universidade de São Paulo, em período não superior a sete dias. Imediatamente após o recebimento, as lâminas eram fixadas com a finalidade de preservar o antígeno viral presente nos leucócitos. Para a fixação utilizou-se uma mistura de acetona e metanol (Apêndice B). As lâminas permaneciam emergidas nesta solução durante 20 minutos, em temperatura ambiente. Após secarem, quando não processadas imediatamente, eram conservadas à temperatura de -70°C até o momento da utilização.

Em cada lâmina de esfregaço sangüíneo foram demarcadas duas áreas circulares de aproximadamente um centímetro de diâmetro, utilizando-se caneta esferográfica de tinta metálica. O círculo da esquerda correspondia ao controle negativo. Neste sítio de reação foram colocados 10 µl de tampão PBS com 1% de soroalbumina bovina (Apêndice B). No círculo da direita, foi realizado o teste para pesquisa do VLF utilizando 10µl de anticorpos anti VLF (Primary reagente for FeLV IFA,VMRD, Inc.). Além disso, para cada grupo de lâminas testadas utilizou-se uma lâmina sabidamente positiva, como controle positivo da reação.

As lâminas foram incubadas a 37°C em câmara úmida por 30 minutos (KIM FLOYD, 1983). A seguir foram mergulhadas rapidamente em tampão de lavagem (Apêndice B), diluído em água destilada na proporção 1:4, para remoção do excesso de reagente, permanecendo imersas neste tampão por mais 10 minutos. Posteriormente, foram lavadas em

água destilada e deixadas na posição inclinada para que fosse drenado o excesso de líquido. Após a secagem, foram adicionados 10µl do conjugado anti-IgG FITC Conjugate (Secondary reagent for IFA, VMRD Inc.) em cada sítio, repetindo-se as etapas de incubação e lavagem.

Terminada a reação, as lâminas foram cobertas com uma gota de glicerina tamponada (Apêndice B) e montadas com lamínulas de vidro. Para a leitura da reação utilizou-se um microscópio de fluorescência *OLYMPUS BX60* com epi-iluminação. A amostra foi considerada positiva quando os leucócitos e plaquetas apresentaram nítida fluorescência (HARDY et al., 1973).

3.2.2 Definição das variáveis

Considerou-se a variável dependente como o *status* do animal perante a infecção pelo VLF (os animais não infectados=0 e os animais infectados=1).

As variáveis independentes a serem analisadas foram categorizadas da seguinte forma:

Sexo: fêmeas=0, machos=1.

Faixa etária: gatos com idade inferior a três anos=0, gatos com idade entre três e seis anos=1, gatos com idade superior a seis anos=2.

Vida reprodutiva: inativa=0, ativa=1.

Origem: domicílio=0, gatil=1, *pet shop*=2, rua=3.

Contactantes no domicílio: nenhum=0, de um a cinco=1, de seis a quinze=2, mais de quinze=3.

Acesso à rua: não=0, sim=1.

Os números 0, 1, 2 e 3 apenas representavam a codificação das variáveis que foram transformadas em variáveis numéricas e alocadas em uma tabela a ser analisada pelos testes estatísticos.

2.2.3 Análise Estatística

O teste de quiquadrado (χ^2) foi utilizado para triagem das variáveis. Aquelas que apresentaram $p < 0,20$ foram selecionadas para análise pela regressão logística. O modelo multivariado foi construído pelo método stepwise-forward. Atráves do modelo multivariado final foi possível identificar os fatores de risco para a doença, o que permitiu avaliar a intensidade de associação entre as variáveis independentes e a variável dependente, por meio do cálculo das *ODDS RATIO*, ou razão de chances (RC). As variáveis mantidas no modelo múltiplo final apresentaram um valor de $p < 0,05$.

4 RESULTADOS

Dos animais testados, 6,16% do total da amostra foi positivo para o VLF. Esta porcentagem sobe para 12% quando se consideram apenas os gatos que apresentavam alguma doença relatada.

Todas as variáveis analisadas pelo teste de χ^2 apresentaram $p < 0,05$. A maioria dos animais positivos (74%) tinha até seis anos de idade, sendo a faixa etária mais afetada a de três a seis anos. Houve diferença significativa na ocorrência da infecção entre machos e fêmeas, sendo os machos mais afetados ($p = 0,015$), bem como entre os gatos oriundos da rua ($p = 0,001$). Maior número de gatos infectados foi observado entre os animais que tinham acesso à rua ($p < 0,001$) e naqueles que tinham vida reprodutiva ativa ($p < 0,001$). Com relação ao número de contactantes, a frequência de animais infectados foi maior entre aqueles que conviviam com até cinco animais no domicílio. Os resultados da análise univariada estão apresentados na tabela 1.

Devido aos valores de p obtidos pelo teste de χ^2 , todas as variáveis foram incluídas na análise de regressão logística, através da qual foi feito o cálculo da RC. As variáveis que se mantiveram significativas no modelo final foram acesso à rua, o fato do animal ser oriundo da rua e a faixa etária entre três e seis anos. As variáveis sexo, número de contactantes e a vida reprodutiva perderam a significância e não foram incluídas no modelo final.

Desta forma, na população estudada os fatores de risco para a infecção são: livre acesso à rua (RC= 47,252, $p < 0,001$), animais originários da rua (RC=3,221, $p = 0,008$) e a faixa etária entre três e seis anos (RC=3,046, $p = 0,009$). Na tabela 2 estão apresentados os valores de RC e de p obtidos pela regressão logística.

Tabela 1-. Presença de infecção pelo vírus da leucemia viral felina segundo as variáveis, sexo, faixa etária, origem, contactante, vida reprodutiva, acesso à rua, e valores de p obtidos pelo teste de χ^2 , São Paulo, 2003-2004.

Variável		VLF (-)		VLF (+)		Total		p
		No.	%	No.	%	No.	%	
Sexo	Fêmea	409	95,78	18	4,22	427	100,0	0,015
	Macho	353	91,59	32	8,31	385	100,0	
Faixa etária	< 3 anos	300	93,2	15	4,8	315	100,0	0,042
	3-6 anos	249	89,86	22	10,14	271	100,0	
	> 6 anos	213	94,83	13	5,17	226	100,0	
Origem	domicílio	183	95,82	8	4,18	191	100,0	0,001
	Gatil	197	98,50	3	1,50	200	100,0	
	Pet shop	50	94,0	3	6,00	53	100,0	
	Rua	332	89,16	36	10,84	368	100,0	
Contactantes	nenhum	84	84,85	15	15,15	99	100,0	<0,001
	1 a 5	161	92,0	14	8,00	175	100,0	
	6 a 15	153	96,84	5	3,16	158	100,0	
	Mais de 15	364	95,6	16	4,21	380	100,0	
Vida reprodutiva	Inativa	522	97,57	13	2,43	535	100,0	<0,001
	Ativa	240	86,64	37	13,36	277	100,0	
Acesso à rua	Não	617	99,20	5	0,80	622	100,0	<0,001
	Sim	145	76,3	45	23,70	190	100,0	
Total		762	93,84	50	6,16	812	100,0	

VLF(-): gato não infectado pelo vírus da leucemia, VLF(+): gato infectado pelo VLF

Tabela 2- Valores de RC e p das variáveis mantidas no modelo múltiplo final para identificação dos fatores de risco para a infecção pelo VLF em felinos do município de S. Paulo (n= 812). São Paulo, 2003-2004.

Variável	Categoria	OR	p
Idade (anos)	Inferior a três	0,953	0,871
	de três a seis	3,046	0,009
	superior a seis	1,000	
Origem	ND	1,000	
	Gatil	1,353	0,687
	<i>Pet shop</i>	0,868	0,849
	Rua	3,221	0,008
Acesso à rua	Não	1,000	
	Sim	47,252	<0,001

ND: nascido no domicílio.

5 DISCUSSÃO

Os gatos diagnosticados positivos eram virêmicos persistentes visto que, teste IFI é capaz de diagnosticar o VLF após a estabilização da infecção, não sendo considerados positivos aqueles animais que apresentavam viremia transitória. A frequência da infecção pelo VLF na amostra estudada foi 6,16%. Entretanto, quando se analisou a amostragem correspondente aos felinos que apresentavam alguma doença relatada, esta proporção aumentou para 12%. Esses valores são próximos aos relatados por diversos autores em diferentes partes do mundo (BARR, 1995; HOSIE et al., 1989; KNOTEK et al., 1999; MALIK et al., 1997; O'CONNOR JR. et al., 1991).

Nas diferentes variáveis analisadas pelo teste de χ^2 , observou-se que havia diferença na frequência da infecção nos animais que tinham acesso à rua ($p < 0,001$), vida reprodutiva ativa ($p < 0,001$), origem da rua ($p < 0,001$), sexo masculino ($p = 0,015$) e faixa etária entre três e seis anos de idade ($p = 0,042$). Esses resultados se assemelham aos de outros estudos que se baseavam na análise univariada (ARJONA et al., 2000; BARR, 1995; HAGIWARA, et al., 1997; KNOTEK et al., 1999; McMICHAEL et al., 1986; O'CONNOR JR. et al., 1991; SHELTON et al., 1989).

A forma de transmissão mais importante do VLF é a horizontal, pela via oronasal e ocorre através de contato dos gatos susceptíveis com os gatos infectados, que eliminam o vírus principalmente através da saliva (ROJKO; HARDY, 1994). A transmissão do VLF pela saliva é facilitada pelo comportamento social dos felinos, principalmente em locais com elevada densidade populacional, onde o desfrute dos mesmos fômites é frequente entre eles. Assim, a LVF é considerada uma doença mais comum nos gatos que vivem em grupos e mantém contato amigável (LAPPIN, 1998).

Diferentemente da maioria dos estudos consultados (BARR, 1995; BRALEY, 1994; KNOTEK et al., 1999; LEVY, 2000; O' CONNOR JR. et al., 1991), o fato do animal viver em grupos de alta densidade populacional não se apresentou como fator de risco da infecção, já que o maior número de animais positivos ao teste de IFI (58%) eram únicos ou conviviam com poucos gatos em ambiente domiciliar. Este fato também foi descrito por Hosie et al. (1989). A baixa associação entre o fato de viver em grupos e a positividade ao teste de leucemia felina pode ser explicada pela grande proporção de grupos fechados (52%) que formou a categoria dos animais que cohabitavam com mais de 15 indivíduos. Outro fato a se considerar é que estes animais tinham acesso freqüente a clínicas veterinárias. Neste grupo, as medidas de profilaxia instituídas pelos veterinários, incluindo o confinamento dos animais, podem justificar a baixa freqüência de animais reagentes. Por outro lado, dos 50 gatos infectados pelo VLF, 29 (58%) eram únicos ou viviam em pequeno número no território domiciliar, destes 27 (93%) mantinham acesso à rua, podendo “formar grupos” fora do ambiente domiciliar, e 40% destes gatos infectados que viviam sozinhos ou, com no máximo cinco animais, eram oriundos da rua.

Através análise de regressão logística foi possível avaliar a interação conjunta de todas as variáveis independentes com a ocorrência da infecção pelo VLF. Para esta análise foi preciso definir uma categoria de base para cada variável independente. O critério usado neste estudo baseou-se em dados obtidos na literaturatura consultada, sendo considerada como categoria de base aquela em que é relatada menor freqüência de infecção, as fêmeas, os gatos com idade superior a seis anos, os gatos com vida reprodutiva inativa, sem contactantes no domicílio, sem acesso à rua, e os nascidos em domicílio.

Os fatores de risco obtidos no modelo multivariado final foram o acesso a rua, a origem da rua e a faixa etária entre três e seis anos.

A importância do livre acesso à rua, onde há possibilidade de contato com outros gatos, de *status* sanitário desconhecido, foi fortemente ressaltada na análise de regressão logística (OR= 47,252). Diversos autores também consideraram o acesso à rua um dos fatores mais importantes na ocorrência da infecção pelo VLF (BRALEY, 1994; KNOTEK et al., 1999; MARUYAMA et al., 2003; O'CONNOR JR. et al., 1991; SHERDIND, 1994).

O fato do animal ser oriundo da rua também foi definido como um fator de risco. Os gatos oriundos da rua foram adotados e domiciliados como o único animal de estimação da espécie ou introduzidos em pequenos grupos, colônias ou abrigos de gatos. No entanto, 15% destes animais mantiveram o hábito de acessar a rua. Boa parte desses gatos (54%) havia sido adotada na faixa etária de um ano a três anos, assim haviam tido acesso à rua na fase adulta.

No Brasil, ainda não se conhece a frequência da infecção pelo VLF entre os gatos realmente errantes (abandonados ou ferais). Uma limitação deste estudo foi que, na amostra estudada, não haviam animais realmente errantes, visto que todo material analisado provinha de animais domiciliados e que tinham acesso a clínicas veterinárias. No entanto, estudos realizados com gatos de rua, em outros países, demonstram que a frequência relativa da infecção pelo VLF está em torno de 3,5 a 4,3% da população testada, semelhante ao que é descrito para os gatos domiciliados (DORNY et al., 2002; LEE et al., 2002; LURIA et al., 2003; MUIRDEN, 2002;).

Outro fator de risco foi a faixa etária. Observou-se que os adultos com idade entre três e seis anos foram mais frequentes entre os animais positivos. Nesta fase da vida, o animal apresenta maior vigor físico, atividade sexual e desta forma possui maior possibilidade e oportunidade de acesso à rua. Os adultos com idade superior a seis anos foram menos frequentes entre os infectados pelo VLF, o que pode ser explicado pelas próprias características da doença. Como é uma doença fatal e de curso relativamente curto, o gato virêmico persistente, sobrevive no máximo de três a cinco anos após o início da doença

(AUGUST, 1992; BARR, 1998; NORSWORTHY, 1993). Outra característica da infecção pelo VLF é a de que apenas 30% dos gatos que entram em contato com o VLF desenvolvem viremia persistente (AUGUST, 1992). Os demais são capazes de desenvolver imunidade e eliminar a infecção em sua fase inicial, ou ainda de extinguir a infecção após algumas semanas, tornando-se resistentes (LEVY, 2000). Assim, é possível que uma considerável parcela dos gatos com mais de seis anos de idade já tivesse adquirido imunidade contra o vírus, justificando-se o menor número de gatos infectados observado nessa faixa etária.

O sexo e a plena capacidade reprodutiva foram considerados por diversos autores como fatores associados à infecção pelo VLF (BARR, 1995; KNOTEK et al., 1999; LEVY, 2000; McMICHAEL et al., 1986; O'CONNOR JR. et al., 1991). Também neste estudo, quando consideramos a análise univariada, foi demonstrada a associação entre a infecção viral e os fatores sexuais e reprodutivos. Entretanto, estas variáveis perderam a significância na análise multivariada. Segundo a análise univariada, os machos eram mais afetados que as fêmeas. No entanto os machos apresentam o comportamento de acessar a rua mais marcante do que as fêmeas e, quando se analisam as variáveis em conjunto o fato do animal ter acesso à rua predomina sobre o fato do animal ser do sexo masculino. A vida reprodutiva também deixa de ser considerada fator de risco, possivelmente devido ao fato de que na amostragem estudada todos os gatos com vida reprodutiva ativa infectados pelo vírus tinham acesso à rua e os proprietários desconheciam a higidez dos contactantes para fins reprodutivos. Sendo assim, estas variáveis não foram incluídas no modelo múltiplo final e desta forma não foram consideradas como fatores de risco na amostra estudada.

A identificação dos fatores de risco na amostragem estudada pode contribuir para a instituição de medidas de prevenção e controle da infecção. Estas devem ser baseadas no cerceamento ao acesso à rua e aos gatos de *status* desconhecido quanto à infecção pelo VLF. Nos casos em que este fato é impossível, deve-se optar pela vacinação dos gatos pertencentes

ao grupo de risco para a infecção. O uso da vacina, ao qual está associado o risco desenvolvimento de sarcoma pós-vacinal, poderá ser indicado de forma mais seletiva, somente para os gatos mais expostos aos riscos de infecção.

6 CONCLUSÕES

Entre os gatos do município de São Paulo amostrados neste estudo, os fatores de risco associados à infecção pelo VLF foram: o acesso a rua, o fato do animal ser oriundo da rua e estar na faixa etária entre três e seis anos.

Outros fatores, como sexo e vida reprodutiva considerados fatores associados à infecção, pelo teste de χ^2 , não foram evidenciados na análise multivariada. Na análise múltipla, as variáveis sexo e atividade reprodutiva perderam a importância, devido à influência da variável acesso à rua.

REFERÊNCIAS

- AUGUST, J. R. Moléstias virais felinas. In: ETTINGER, S.J. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. São Paulo: Manole, 1992. p. 346-355.
- ARJONA, A.; ESCOLAR, E.; SOTO, I.; BARQUERO, N. Seroepidemiological survey of infection by feline leukemia virus in Madrid correlation with some clinical aspects. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 38, n. 9, p. 3448-3449, 2000.
- BABYAK, S.D; GROVES, M.V; DISMIK, D.S; TABOABA, J. Evaluation of a saliva test kit for feline leukemia virus antigen. **Journal of American Animal Hospital Association**, v. 32, n. 5, p. 397-400, 1998.
- BALTIMORE, D. Viral RNA-dependent DNA polymerase. **Nature**, v. 226, p. 1209-1211, 1970.
- BARR, F. Feline leukemia virus. **Journal of Small Animal Practice**, v. 39, p. 41-43, 1998
- BARR, M. C. Feline immunodeficiency virus tests and their interpretation. **Feline Health Topics for veterinarians**, v. 8, n. 3, p. 1-6, 1993.
- BARR, M. C. FIV, FELV and FIPV: interpretation and misinterpretation of serological tests results. **Seminary in Veterinary Medicine. Surgery**, v. 11, n. 3, p. 144-153, 1995
- BRALEY, J. FeLV and FIV: survey shows prevalence in the United States and Europe. **Feline practice**, v. 22, n. 2, p. 25-28, 1994.
- CHARREYRE, C.; PERDENSEN, N. C. Study of leukemia virus immunity. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 199, n. 10, p. 1316-1324, 1991.
- COFFIN, J. M. Retroviridae: the viruses and their replication . In: FIELDS, B. N.; KNIPE D. M.; HOWLEY, P. M.; CHANOCK, R. M. ; NELMICK, J. L.; MONATH, T. P.; ROZMAN. B.; STRAUS, S. E. (Ed). **Fields virology**, 3rd ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1996. p. 1767-1847.
- COUTO, C. G. Diagnóstico e tratamento das moléstias retrovirais em gatos. In: NELSON, R.W. **Fundamentos da Medicina Interna de Pequenos Animais**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.702-705, 1994.
- DANIEL'S, M. J.; GOLDR, M. C.; JARRET, O.; MACDONALD, D. W. Feline viruses in wildcats from Scotland. **Journal of Wildlife diseases**, v. 35, n. 1, p. 121-124, 1999.
- DORNY, P.; SPEYBROECK, N.; VERTRAETE, S.; BAEKE, M.; DE BECKER, A.; BERKVENS, D.; VERCRUYSSSE, J. Serological survey of Toxoplasma gondii, feline immunodeficiency virus and leukaemia virus in urban stray cats in Belgium. **Veterinary Record**, v. 151, n. 23, p. 626-629, 2002.
- FROMONT, E.; SAGER, A.; LÉGER, F.; BOURGUEMESTRE, F.; JOUQUELET, E.; STAHL, P; PONTIER, D.; ARTOIS, M. Prevalence of Retroviruses in Wildcats in France. **Veterinary Records**, v. 146, p. 317-319, 2000.

GOMEZ, N.; SCARAMAL, J.; MIRA, G. Prevalencia de VIF y VILeF en 300 felinos en Argentina. **Veterinaria Argentina**. v. 16, n. 160, p. 786-793, 1999.

HAGIWARA, M. K. AIDS Felina. **Ciência Hoje**, v. 12, n. 68, p. 62-64, 1990.

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

HANLON, L.; ARGYLE, D.; BAIN, D.; NICOLSON, L.; DUNHAM, S.; GOLDER, M. C.; MCDONALD, M.; MCGILLIVRAY, C.; JARRETT, O.; NEIL, J. C.; ONIONS, D. E. Feline leukemia virus DNA vaccine efficacy is enhanced by coadministration with interleukin-12 (IL-12) and IL-18 expression vectors. **Journal of Virology**, v. 75, n. 18, p. 8424-8433, 2001.

HARDY JR., W.D. Immunodifusion studies of feline leukemia and sarcoma. **Journal of the American Medical Association**. v. 158, p. 1060-1069, 1971.

HARDY, JR.W. D. The leukemia virus. **Journal of American Veterinary Hospital Association**, v. 17, p. 951-980, 1981

HARDY JR., W. D.; HIRSHAUT, Y; HESS, P. Dection of the feline leukemia vírus and other mammalian oncornaviruses by immunofluorescence. In: DUTCHER, R. M; CHIECO-BIANCHI, L. (Ed.): **Unifying Concepts of Leukemia Basal**, Switzerland: Skarger, 1973, p. 778-799.

HARDY JR., W. D.; McCLELLAND, A. J.; ZUCKERMAN, E. E. Prevention of the contagious spread of leukaemia virus and the development of leukaemia in pets cats. **Nature**, n. 203, p. 326-328, 1976.

HARDY JR., W. D.; McCLELLAND, J. A.; ZUCKERMAN, E. E. Development of virus non producer lymphosarcomas in pet cats. **Nature**, n. 288, p. 90-92, 1980.

HARDY JR., W. D.; ZUCKERMAN, E. E; McEWEN, E. G. A feline leukemia virus and sarcoma virus induced tumor specif antigen. **Nature**, n. 270, p .249-251, 1977.

HARDY JR., W. D.; ZUCKERMAN, E. E. Development of the immunofluorescence antibody for detection of leukemia virus infection in cats. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 199, n. 10, p. 1327-1335, 1991a.

HARDY JR., W. D.; ZUCKERMAN, E. E. Ten years study comparing enzyme linked immunosorbent assay with the immunofluorescent antibody test for detection of leukemia virus infection in cats. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 199, n. 10, p. 1365- 1372, 1991b.

HIETLA, S. K.; GARDNER, I. A. Validity odd using diagnostic test that are approved use in domestic animals for nondomestic species. In: FOWLER, M.E.; MILLER, R.E. **Zoo & Wild Animal: Current therapy**. Philadelphia, W.B. Saunders, 1999, p. 55-58.

HINES, D. L., CUTTING, J. A.; DIETRICH, D. L.; WALSH, J. A. Evaluation of efficacy and safety of an inactivated virus vaccine against feline leukemia virus infection. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 199, n. 10, p. 1428-1430, 1991

HOOVER, E. A.; MULLINS, J. I. Feline leukemia virus infection and diseases. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 199, n. 10, p. 1287-1297, 1991.

HOOVER, E. A., PERIGO, N. A.; QUACKENBUSH, S. L.; MATHIASON-DUBARD, C. K.; OVERBAUGH, J. M.; KLOETZER, W. S.; ELDER, J. H.; MULLINS, J. I.; Protection against feline leukemia virus infection by use of an inactivated virus vaccine **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 199, n. 10, p. 1392-1401, 1991.

HOSIE, M. J.; ROBERTSON, C.; JARRET, O. Prevalence of feline leukemia virus and antibodies to feline immunodeficiency virus in cats in the United Kingdom. **Veterinary Records**, v. 128, p. 293-297, 1989.

HOSMER JR., D. W.; LEMESHOW, S. Model-building strategies and methods for logistic Regression. In: HOSMER JR., D. W.; LEMESHOW. **Applied Logistic Regression**. New York, John Wiley & Sons Inc., 1989, p. 82-133.

JARRET, O. Overview of feline leukemia virus research. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 199, n. 10, p. 1279-1281, 1991.

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

JARRET, W. F.; MARTIN, W. B.; CRIGHTON, G. W. Leukemia in the cat. **Nature**, v. 202, p. 566-567, 1964.

KIM FLOYD, B. S.; SUTER, P. F.; LUTZ, H. Granules of blood eosinophils are stained directly by anti-immunoglobulin fluorescein isothiocyanate conjugates. **American Journal Veterinary Research**, v. 44, n. 11, p. 2060-2063, 1983.

KNOTEK, Z.; HADJOKOVA, P.; SVOBODA, M.; TOMAN, M.; RASKA, V. Epidemiology of feline leukaemia and feline immunodeficiency virus infections in the Czech Republic. **Journal of Veterinary Medicine Series** v. 46, n. 10, p. 665-671, 1999.

LAIRD, H. M.; JARRET, O.; CRIGHTON, G. W. An Electron Microscopy Study of Virus Particles in Spontaneous Leukemia in the Cat. **Journal of National Cancer Institute**, v. 41, p. 867-878, 1968.

LAIRD, H. M.; JARRET, O.; CRIGHTON, G. W. Replication of leukemogenic types virus in cats inoculated with feline lymphosarcoma extracts. **Journal of National Cancer Institute**. v. 41, p. 879-893, 1968.

LAPPIN, M. R. Feline Leukemia Virus. In: **Seminário Internacional de Doenças infecciosas**, 1998, São Paulo. Anais... p. 36-44.

LEE, I. T.; LEVY, J. K.; GORMAN, S. P.; CRAWFORD, P. C.; SLATER, M. R. Prevalence of feline virus infection and serum antibodies against feline immunodeficiency virus in

unowned free roaming cats. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 220, n. 5, p. 620-622, 2002.

LEWIS, M. G., MATHES, L. E.; OLSEN, R. G. Protection against feline leukemia by vaccination with a subunit vaccine. **Infectology and Immunology**. v. 34, n. 888-894, 1981.

LEVY, J. K. FeLV and non neoplastic FeLV related diseases. In: ETTINGER, S. J.; FELDMANN, E. C. **Textbook of veterinary internal medicine: Diseases of the Dog and the Cat**. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 2000. p. 424-432.

LOAR, A.S. Feline Leukemia virus-immunization and prevention. **Vet. Clin. North Am.: Small Animal Practice**. v. 23, n. 1, p. 193-211, 1993.

LURIA, B.J; LEVY, J.K.; LAPIN, M.R.; BREITSCHWERDT, E.B.; LEGENDRE, A. M.; HERNANDEZ, J.A.; GORMAN, S.P; LEE, I.T. Prevalence of infectious diseases in feral cats in Northern Florida. **Journal of Medicine and Surgery**, p. 1-10, 2004.

MALIK, R; KENDALL, K; CRIDLAND, J. Prevalences of leukemia virus and feline immunodeficiency virus in cats in Sydney. **Australian Veterinary Journal**, v. 75, n. 5, p. 323-327, 1997.

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

Mc MICHAEL, J. C; STIERS, S.; COFFIN, S. Prevalence of feline leukemia virus infection among adult cats at animal control center: association of viremia with phenotype and season. **American Journal of Veterinary Research**, v. 47, n. 4, p. 765-768, 1986.

MERIC, S. M. Suspected feline leukemia virus and pancytopenia in western cougar. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 185, p. 1390-1391, 1986.

MUIRDEN, A. Prevalence of feline leukemia virus and antibodies to feline immunodeficiency virus and feline coronavirus in stray cats sent to an RSPCA hospital. **Veterinary Records**, v. 150, p. 612-625, 2002.

NORSWORTHY, G. D. Feline leukemia virus diseases. -----**In: Feline Practice**, Philadelphia: Lippincott, 1993. p. 360-368.

O'CONNOR JR, T. P.; TONELLI, Q. J.; SCARLETT, J.M. Report of national FeLV/FIV awareness project. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 199, n. 10, 1991

PEDERSEN, N. C. Immunogenicity and efficacy of a commercial feline leukemia virus vaccine. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 7, p. 34-39, 1993.

PEDERSEN, N. C., THEILEN, G. H., WERNER, L. L. Safety and efficacy studies of live- and killed-feline leukemia virus vaccines. **American Journal Veterinary Research** v. 40, p. 1120-1126, 1979.

- RASHEED, M. E.; GARDER, M. B. Isolation of feline leukemia virus from a leopardcat cell line and research for retrovirus in wild felidae. **Journal of National Cancer Institute**, v. 67, p. 929-933, 1981.
- RICHARDS, J. R. Vaccine-associated sarcoma symposium held at AVMA. **Feline practice**, v. 24, n. 6, p. 5, 1998.
- ROJKO, J.L; HARDY, W.D. Feline leukemia virus and other retroviruses. In: SHERDING, R. G. **The Cat: Diseases and Clinical Management**, New York: Churchill Livingstone, 1994. p. 263-432.
- ROJKO, J. L.; KOCIBA, G. J. Pathogenesis of infection by feline leukemia virus. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 199, n. 10, p. 1305-1308, 1991.
- SARMA, P. S.; HUEBNER, R. J. Feline leukemia virus: detection of groups specific viral antigen and infectious virus by complement fixation tests. **Comparative Leukemia Research**, p. 368-378, 1970
- SCHMITT, A. C.; REISCHAK, D; CAVLAC, C. L; MONFORTE, C. H. L.; COUTO, F. T.; ALMEIDA, A. B. P. F; SANTOS, D. G. G.; SOUZA, L; ALVES, C.; VECCHI, K. Infecção pelos virus da leukemia felina e da peritonite infecciosa felina em felídeo de vida livre de cativeiro da região do pantanal matogrossense. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 31 n. 3, p. 185-188, 2003.
- SHELTON, G. H.; WALTIER, R. M.; CONNOR, S. C; GRANT, C. K. Prevalence of immunodeficiency virus and feline leukemia virus infection in pet cats. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 25, p. 7-12, 1989.
- SHERDING, R. C. Feline leukemia virus. In: BICHARD; SHERDING, **Saunders Manual of Small Animal Practice**. Philadelphia: Saunders, 1994. p. 94-99.
- SOUZA, H. J. M; TEIXEIRA, C. H. R.; GRAÇA, R. F. S. Estudo epidemiológico de infecções pelo vírus da leucemia felina e/ou imunodeficiência felina, em gatos domésticos do município do Rio de Janeiro. **Clínica Veterinária**, n. 36, p. 14-21, 2002.
- TELMIN, H. M.; MIZUTANI, S. RNA-dependent DNA polymerase in virion of sarcoma virus. **Nature**, v. 226, p. 1211-1213, 1970.
- VAN REGENMORTEL, J. Family Retroviridae. In: -----**Virus taxonomy**. Classification and Nomenclature of viruses. California: Academic Press, 2000.
- YILMAZ, H.; ILGAZ, A.; HARBOUR, D. A. Prevalence of FIV and FeLV infections in cats in Istanbul. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v. 2, n. 1 p. 69-70, 2000.
- YORK, S.M.; YORK, C.J. Development of a whole killed feline leukemia virus vaccine. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.199, n. 10, p 1419-1422, 1991.
- ZENGER, E. FIP, FELV, FIV: making a diagnosis. In: **Feline Practice**, v. 28, n. 1, p.16-18, 2000.

APÊNDICE A

Ficha de identificação:

Proprietário:

Endereço:

Clínica veterinária:

Veterinário Responsável:

1) Nome do animal:

2) Sexo:

3) Idade:

4) Raça:

5) Origem: () nascido em domicílio () gatil () pet shop () encontrou na rua () não relatada.

6) Convive com outros gatos em domicílio/criatório? Quantos?

7) Qual o estado de higiene dos contactantes?

8) Tem acesso à rua?

9) Tem vida reprodutiva ativa? O proprietário tem informações sobre a higiene dos contactantes nestes casos?

10) É vacinado para leucemia viral felina?

11) Anexar o maior número possível de informações sobre o histórico dos animal, incluindo exames realizados, enfermidades recentes....

APÊNDICE B

**Tampões e soluções usadas na técnica de
Imunofluorescência Indireta para detecção do VLF**

- 1) Solução de fixação: 3 partes de acetona (p.a), 1 parte de metanol (p.a).

- 2) Tampão PBS com 1% de soroalbumina bovina: $\text{NaH}_2\text{PO}_4=0,22\text{g}$; $\text{NaHPO}_4=1,19\text{g}$;
 $\text{NaCl}=8,55\text{g}$; $\text{BSA}=10\text{ g}$; $\text{NaHPO}_4\cdot 12\text{H}_2\text{O}=3\text{g}$; $\text{NaH}_2\text{PO}_4\cdot \text{H}_2\text{O}=0,25\text{g}$; H_2O qsp 1000 ml.

- 3) Tampão para lavagem 4 vezes concentrado: $\text{Na}_2\text{CO}_3 = 11,4\text{g}$; $\text{NaHCO}_3 = 33,6\text{g}$; $\text{NaCl} = 8,5\text{g}$; H_2O qsp 1000 ml.

- 4) Glicerina Tamponada: 9 partes de glicerina (p.a) e 1 parte de água destilada.