

Telma Paparotto

**“ACOMPANHAMENTO CLÍNICO-LABORATORIAL
DE GATOS DOMÉSTICOS NATURALMENTE
INFECTADOS COM O VÍRUS DA
IMUNODEFICIÊNCIA FELINA (FIV) TRATADOS
COM ZIDOVUDINA (AZT)”**

BOTUCATU

2007

Telma Paparotto

**“ACOMPANHAMENTO CLÍNICO-LABORATORIAL DE GATOS
NATURALMENTE INFECTADOS COM O VÍRUS DA
IMUNODEFICIÊNCIA (FIV) TRATADOS COM ZIDOVUDINA
(AZT)”**

Dissertação apresentada à
Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia,
Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”,
Campus de Botucatu, para
obtenção do título de Mestrado
em Medicina Veterinária.
Área: Clínica Veterinária

Orientador: Prof. Dr. João Pessoa Araújo Júnior

Botucatu
2007

Aos meus queridos pais, Oswaldo e Enide, que incondicionalmente viveram, apoiaram e acreditaram em meus sonhos mesmo quando eu duvidava. Embora com as faces cansadas e cabelos brancos sempre foram avante sem deixar o cansaço, desânimo e as preocupações se apossarem. Vocês são grandes guerreiros!

Muito Obrigada!

A João Pessoa, o Chefe! pois com muita dedicação e paciência me guiou neste incrível mundo da pesquisa, mostrando valores, éticas e bons princípios, tudo o que um bom profissional não dispensa!

Muito obriga por acreditar nessa viagem que agora chega ao fim.

Às proprietárias dos gatis visitados, obrigada pela colaboração realizando uma das partes mais importantes do experimento: abdicar de seus animais em prol da ciência, tendo como único afago a esperança do retorno.

Ao Camilo Bulla, não existem palavras suficientes para explicar o quão valiosa é sua amizade e parceria.

À Deus que criou a vida e nos abençoa todos os dias!

À minha família, que com muita paciência soube entender esses anos de ausência e hoje festejam comigo!

Aos meus queridos anjinhos Matheus, Marina, Gustavo e Vitória, obrigada por vocês existirem e fazerem todos os meus dias completos e iluminados, amo muito vocês!

Aos professores Dr. Raimundo S. Lopes e Dra. Regina K. Takahira que abriram as portas desta Universidade e assim deu-se o início de tudo!

Ao Professor Dr. João Candeias pela agradável companhia.

Ao Professor Dr. Paulo Ribolla e sua orientada Karina, pela ajuda nas reações de RAPD.

Aos professores da FMVZ/Unesp pelo apoio no crescimento profissional.

À Professora Dra. Renate FCA/Unesp pela ajuda com a microscopia eletrônica.

Ao Professor Dr. Reinaldo pelas valiosas e animadas conversas.

À Professora Dra. Lúcia Helena pela amizade.

À Márcia e ao Bixo, pela alegria contagiante.

Aos funcionários, pós-graduando e professores do Departamento de Microbiologia e Imunologia pelas pipocas à tarde e pelas confraternizações.

À Sônia e Nice pelos inúmeros favores, pela simpatia constante e alegria radiante.

Ao Lula, funcionário do Departamento de Microbiologia e Imunologia, pela ajuda na procura de gatis e pela valiosa prestação de serviço.

A todos os residentes da Clínica e Cirurgia de pequenos animais, aos pós-graduandos da oftalmologia da FMVZ/Botucatu que com muito carinho tratou dos nossos animais.

Aos residentes da zoonose e ao Professor Hélio Langoni pela ajuda indispensável no processamento das amostras sorológicas.

Aos meus queridos companheiros do Laboratório de Virologia: Gyrra, Smurf e Thiago (os macacos), Taís, Andreza, Michelle, Flávio, Aline, Sueli, Marcela, Jossimara, Márcia sem vocês não conseguiria rir quando tudo dava errado, quando somente o NO funcionava ou quando a curva mais bonita era a do controle negativo!

Aos meus amigos de residência e pós-graduando do Laboratório Clínico Veterinário que me ensinaram vários valores sobre o estudo e a vida.

Aos colegas e amigos de profissão Fábio Eduardo, Edgar, Marcela e Zé: sem vocês seria impossível realizar as colheitas, obrigada pela ajuda.

Às minhas eternas amigas naturalizadas botucatuenses Karina, Satie, Sandra, Érica, Eunice, Betina. Quantas histórias escrevemos juntas, quantas já tentamos apagar, quantos “empréstimos de ombros” fizemos, quantos sorrisos e quantas lágrimas... todos os momentos vividos com vocês foram inesquecíveis, vou leva-las sempre em meu coração.

Aos meus amigos pós-graduandos da parasitologia, vocês são demais!

Ao Silas, amigo para todas as horas.

Aos meus amigos piracicabanos Daniela, Amanda, Cristiano, Flávio, Marcus, Eduardo e Rui, se não fossem vocês, que graça teria as noites de sábado? E o que seriam dos corações partidos? O que faríamos das gargalhadas sozinhos? Vocês são muito especiais.

À minha eterna amiga Viviane, obrigada pela ajuda profissional e pessoal. Obrigada por fazer valer à pena os sacrifícios das viagens que pareciam eternas, por me fazer acreditar que quando nos tiram o chão ainda temos todo o céu para voar, pela alegria, alto astral, pelas noitadas e “happy hour”, e principalmente, pelas tequilas e brigadeiros!

Aos funcionários da Pós-graduação, da biblioteca, aos técnicos do laboratório, aos funcionários do canil do Hospital Veterinário e do Biotério Central, obrigada pela ajuda.

Sônia, Marlene e Marecília ... sem palavras!

A todas as pessoas que consciente ou inconscientemente fizeram parte da minha vida, seja me fazendo rir ou chorar, só tenho a agradecer, pois com sorrisos me alegrei e com as lágrimas aprendi.

A toda equipe Animal Labor pela união e agradável convívio.

A todas as clínicas veterinárias de Piracicaba e Laboratórios de Piracicaba e Região, por apoiarem o Animal Labor.

A Fapesp pela ajuda financeira.

A vida, porque ela é linda demais.

PAPAROTTO, T. “**Laboratory-clinical follow up of cats naturally infected with the immunodeficiency virus (FIV) treated with zidovudine (azt)**”. Botucatu, 2007. 55 P
Dissertation (Mester's Degree) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.

Abstract

The objective of this study was to follow up laboratory-clinical findings on twelve felines naturally infected with Feline Immunodeficiency Virus (FIV) treated with the zidovudine (AZT) antiretrovirus. Three hundred blood samples were collected from animals from several cities of the State of São Paulo and shipped to the virology laboratory of the Bioscience Institute, Department of Microbiology and Immunology at Universidade Estadual Paulista, Botucatu. Virus identification followed Nested-PCR technique. Twelve cats tested positive for FIV were kept in pens and allotted to either control or treated groups, based on the viral load, determined by Real Time-PCR. After the onset of AZT treatment animals were monitored for intoxication and medication side effects. Blood samples were analyzed for hemogram, total IgG, creatinine, cholesterol, alanine amino transferase (ALT), gama glutamyltransferase (GGT), total serum protein, albumin, globulins and triglycerides. There were statistical differences within each group as far as timing of sampling, but not between the treated and control groups, indicating AZT treatment was not effective.

Key words: Feline immunodeficiency virus; FIV; cats; AZT; IgG

Sumário

Lista de figuras

Lista de tabelas

Resumo

Abstract

1. Introdução.....	17
2. Objetivos.....	24
3. Material e Métodos	25
3.1 Delineamento experimental.....	25
3.2 Animais.....	26
3.3 Tratamento dos gatos com AZT.....	27
3.4 Processamento das amostras biológicas.....	28
4 Análise estatística	30
5 Resultados e Discussão	31
5.1 Quantificação relativa da carga viral e DNA proviral.....	32
5.2 Resultados laboratoriais	33
5.2.1 Hematimetria	33
5.2.2 Leucometria	39
5.2.3 Plaquetometria	46
5.2.4 Imunodifusão dupla em gel de agar a 1,5%	48
5.2.5 Bioquímica clínica	51
5.2.5.1 Albumina	51
5.2.5.2 Alanino aminotransferase (ALT).....	52
5.2.5.3 Colesterol	53
5.2.5.4 Creatinina	54

5.2.5.5 Gama glutamiltransferase (GGT).....	55
5.2.5.6 Globulina	56
5.2.5.7 Triglicérides	57
5.2.5.8 Proteína total sérica.....	58
5.3 Resultados clínicos	61
5.4 Considerações sobre o experimento	66
6 Conclusão	66
7 Referências Bibliográficas	67

Lista de figuras

Figura 1 - Esquema do Vírus da Imunodeficiência Felina.....	18
Figura 2. Distribuição da região geográfica do estado de São Paulo onde foram colhidas as amostras de sangue total dos 300 gatos domésticos selecionados para o diagnóstico da imunodeficiência felina.....	26
Figura 3. Ilustração da imunodifusão dupla em gel de agar a 1,5% onde observa-se as bandas de precipitação	29
Figura 4- Representação gráfica dos valores de FIV.....	32
Figura 5- Média e desvio padrão referentes as hemácias segundo momento e grupo. Letras minúsculas comparam momentos em cada grupo.....	33
Figura 6- Média e desvio padrão referentes a hemoglobina segundo momento e grupo. Letras minúsculas comparam momentos em cada grupo.....	34
Figura 7- Média e desvio padrão referentes ao hematócrito segundo momento e grupo. Letras minúsculas comparam momentos em cada grupo.....	35
Figura 8- Média e desvio padrão referentes ao VCM segundo momento e grupo.....	37
Figura 9- Média e desvio padrão referentes ao CHCM segundo momento e grupo.....	38
Figura 10- Gráfico referente aos leucócitos totais segundo momento e grupo.....	39
Figura 11- Box plot referente aos linfócitos segundo momento e grupo.....	41
Figura 12- Gráfico referente aos neutrófilos segundo momento e grupo.....	42
Figura 13- Gráfico referente aos monócitos segundo momento e grupo.....	43
Figura 14- Gráfico referente aos eosinófilos segundo momento e grupo.....	44
Figura 15- Box-plot referente às plaquetas segundo momento e grupo.....	46
Figura 16- Box plot referente à imunodifusão segundo momento e grupo.....	48
Figura 17- Média e desvio-padrão referentes à albumina segundo momento e grupo. Letras minúsculas comparam médias dos momentos em cada grupo. Não houve diferença entre os grupos em cada momento.....	50
Figura 18 – Média e desvio-padrão referentes ao ALT segundo momento e grupo. Não houve efeito de momento, grupo e nem da interação momento x grupo.....	51

Figura 19 – Média e desvio-padrão referentes ao colesterol segundo momento. Letras minúsculas comparam médias dos momentos.....	52
Figura 20 – e desvio-padrão referentes à creatinina segundo momento. Letras minúsculas comparam médias dos momentos.....	53
Figura 21 – Média e desvio-padrão referentes ao GGT segundo momento e grupo. Não houve efeito de momento, grupo e nem da interação momento x grupo.....	54
Figura 22 - Média e desvio-padrão referentes às globulinas segundo momento e grupo. Letras minúsculas comparam momentos em cada grupo.....	55
Figura 23 – Média e desvio-padrão referentes a triglicérides segundo momento e grupo. Letras minúsculas comparam médias de momentos em cada grupo. * Momento estatisticamente relevante.....	56
Figura 24 – Box plot referente à proteína total segundo momento e grupo	58
Figura 25 – A. Animal apresentando conjuntivite recidivante. B. Animal apresentando seqüela de conjuntivite, ocorreu aderência das conjuntivas.....	60
Figura 26 – Animal apresentando secreção ocular e espirros.....	60
Figura 27 – A. Região lombo-sacra com alopecia afetada pelo fungo; B. Região occipital com focos alopécicos; C. Região cervical dorsal apresentando alopecia e eritema.....	61
Figura 28 – Cultura do fungo presente o animal da figura 19. Fungo da família Zigomiceto.....	61
Figura 29 – Mesmo animal apresentando gengivite recidivante.....	61
Figura 30 – A. Animal se recuperando após tratamento; B e C. Crescimento do pêlo após tratamento.....	62

Lista de tabelas

Tabela 1- Mediana dos valores relativos de FIV obtidos calculados pelo programa SDS 1.2.3 (Applied Biosystems).....	32
Tabela 2- Valores referentes ao eritrograma segundo momento e grupo. (5,5 – 10,0 x 10 ⁶ /μL, referência segundo Schalm's 2000).....	33
Tabela 3- Valores referentes à hemoglobina segundo momento e grupo. (8 – 15 g/dL, referência segundo Kaneko, 1997).....	34
Tabela 4- Valores referentes à hematócrito segundo momento e grupo. (24 – 45 %, referência segundo Schalm's, 2000).....	35
Tabela 5 - Valores referentes ao VCM segundo momento e grupo. (39 – 55 fL, referência segundo Schalm's, 2000).....	37
Tabela 6 - Valores referentes ao CHCM segundo momento e grupo. (30 – 36 %, referência segundo Schalm's, 2000).....	38
Tabela 7 - Valores referentes aos leucócitos totais segundo momento e grupo. (5,5 – 19,5 x10 ³ /μL, referência segundo Schalm's, 2000).....	39
Tabela 8 - Mediana, 1 ^o e 3 ^o quartil, entre colchetes, referentes aos linfócitos segundo momento e grupo. (1500 - 7000 linfócitos/μL, referência segundo Schalm's, 2000).....	40
Tabela 9 - Valores referentes aos neutrófilos segundo momento e grupo. (2500 - 12500 neutrófilos/μL referência segundo Schalm's, 2000).....	41
Tabela 10 - Valores referentes aos monócitos segundo momento e grupo. (0 – 850 monócitos/μL, referência segundo Schalm's, 2000).....	42
Tabela 11 - Valores referentes aos eosinófilos segundo momento e grupo. (0 – 1500 eosinófilos/μL, referência segundo Schalm's, 2000).....	43
Tabela 12 - Mediana, 1 ^o e 3 ^o quartil, entre colchetes, referentes às plaquetas segundo momento e grupo. (300 – 800 x 10 ³ /μL, referência segundo Schalm's, 2000).....	45
Tabela 13 - Mediana, 1 ^o e 3 ^o quartil, entre colchetes, referentes à imunodifusão segundo momento e grupo.....	47
Tabela 14 - Valores referentes a albumina segundo momento e grupo. (2,1 – 3,3 g/dL, referência segundo Kaneko, 1997).....	50

Tabela 15 - Valores referentes atividade enzimática do ALT segundo momento e grupo. (6,7 – 39,5 U/dL, referência segundo Kaneko, 1997).....	51
Tabela 16 - Valores referentes a concentração do colesterol segundo momento e grupo. (25 – 130 mg/dL, referência segundo Kaneko, 1997).....	52
Tabela 17 - Valores referentes a concentração da creatinina segundo momento e grupo. (0,8 – 1,8 mg/dL, referência segundo Kaneko, 1997).....	53
Tabela 18 - Valores referentes a atividade enzimática da GGT segundo momento e grupo. (1,3 – 5,1 U/dL, segundo Kaneko, 1997).....	54
Tabela 19 - Valores referentes a atividade enzimática da GGT segundo momento e grupo. (2,6 – 5,1g/dL, referência segundo Kaneko, 1997).....	55
Tabela 20 - Valores referentes a concentração de triglicérides segundo momento e grupo. (200 mg/dL, referência segundo Kaneko, 1997).....	56
Tabela 21 - Mediana, 1 ^o e 3 ^o quartil, entre colchetes, referentes à proteína total segundo momento e grupo.....	57

PAPAROTTO, T. **“Acompanhamento clínico-laboratorial de gatos naturalmente infectados com o vírus da imunodeficiência (FIV) tratados com zidovudina (azt)”**. Botucatu, 2007. 55 P Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.

Resumo

O presente trabalho objetivou o acompanhamento clínico-laboratorial de doze felinos naturalmente infectados com o vírus da imunodeficiência Felina(FIV) durante o tratamento com o antiretroviral zidovudina (AZT). Para tanto, foram colhidas amostras sanguíneas de trezentos animais oriundos de diferentes cidades do Estado de São Paulo e encaminhadas para o laboratório de virologia do instituto de Biociência, Departamento de Microbiologia e Imunologia da Universidade Estadual Paulista para identificação do vírus pela técnica de Nested-PCR. Dessas, doze amostras foram positivas para FIV e os gatos referentes as amostras positivas foram mantidos no gatil da mesma universidade e separados homogeneamente em dois grupos, um tratado e outro controle, com base em suas cargas virais determinadas pelo Real Time-PCR. Com o grupo de animais completo, deu-se inicio ao tratamento com AZT com monitoração constante quanto a presença de intoxicação e efeitos colaterais do medicamento, controle laboratorial envolvendo hemograma, quantificação de imunoglobulina G (IgG) total e bioquímica clínica como creatinina, colesterol, alanino aminotransferase (ALT), gama glutamiltransferase (GGT), proteína total sérica, albumina, globulinas, triglicérides. Os resultados obtidos revelaram diferenças estatísticas entre momentos em cada grupo, mas não entre os grupos tratados e controle. Portanto, o tratamento não resultou em benefícios para os gatos.

Palavras-chave: Vírus da imunodeficiência felina; FIV; gatos; AZT; IgG

PAPAROTTO, T. “**Laboratory-clinical follow up of cats naturally infected with the immunodeficiency virus (FIV) treated with zidovudine (azt)**”. Botucatu, 2007. 55 P
Dissertation (Mester's Degree) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.

Abstract

The objective of this study was to follow up laboratory-clinical findings on twelve felines naturally infected with Feline Immunodeficiency Virus (FIV) treated with the zidovudine (AZT) antiretrovirus. Three hundred blood samples were collected from animals from several cities of the State of São Paulo and shipped to the virology laboratory of the Bioscience Institute, Department of Microbiology and Immunology at Universidade Estadual Paulista, Botucatu. Virus identification followed Nested-PCR technique. Twelve cats tested positive for FIV were kept in pens and allotted to either control or treated groups, based on the viral load, determined by Real Time-PCR. After the onset of AZT treatment animals were monitored for intoxication and medication side effects. Blood samples were analyzed for hemogram, total IgG, creatinine, cholesterol, alanine amino transferase (ALT), gama glutamyltransferase (GGT), total serum protein, albumin, globulins and triglycerides. There were statistical differences within each group as far as timing of sampling, but not between the treated and control groups, indicating AZT treatment was not effective.

Key words: Feline immunodeficiency virus; FIV; cats; AZT; IgG

1. INTRODUÇÃO

O Vírus da Imunodeficiência Felina (FIV) é um lentivirus que pertence à família *Retroviridae* (MIYAZAWA *et al.*, 1994). Foi descoberto por Niels Pedersen e colaboradores em 1987 em Davis, Califórnia (HARTMANN, 1998). Desde então, passou a ser um modelo de estudo para o Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) uma vez que desenvolve sinais imunossupressores semelhantes (BENDINELLI *et al.*, 1995). Após estudos mais aprofundados, descobriu-se que o FIV é um importante problema para a saúde dos felinos domésticos e selvagens, pois, quando imunodeprimidos, podem ser potentes transmissores de zoonoses (BARR *et al.*, 1995; BENDINELLI *et al.*, 1995; SELLON & HARTMANN, 2006).

A morfologia viral é semelhante a estruturas de outros lentivirus (figura 1). O vírion completo possui de 105 a 125 nm de diâmetro com 9400 pares de bases. Seu capsídeo possui formato de esférico a oval. Nele se encontra o núcleocapsídeo que contém o material genético constituído por duas fitas de RNA, carrega também as enzimas transcriptase reversa, protease e integrase. A matriz protéica circunda o capsídeo. Acima dela se encontra o envelope viral com suas glicoproteínas de membrana e transmembrana, conhecidas como gp 95 e gp 40, respectivamente. É através dessas glicoproteínas que o vírus se adsorve nas células mononucleares de sangue periférico, penetrando no citoplasma celular. Através da enzima transcriptase reversa, o RNA é transcrito em DNA e atinge o núcleo se inserindo, aleatoriamente, no genoma celular auxiliado pela enzima integrase. O intuito dessa inserção é manter o material genético do vírus na célula servindo de molde para constante produção de todos os RNAs virais. A montagem ocorre no citoplasma e o vírus adquire seu envelope por brotamento da membrana plasmática. Através da enzima protease, proteínas virais são clivadas tornando-o infectante. O RNA possui uma estrutura completa formada pelos genes *gag*, *pol* e *env*, que codificam o capsídeo, as enzimas e o envelope, respectivamente (HARTMANN, 1998; KNIPE *et al.*, 2001; JANEWAY *et al.*, 2002; STRAUSS *et al.*, 2002).

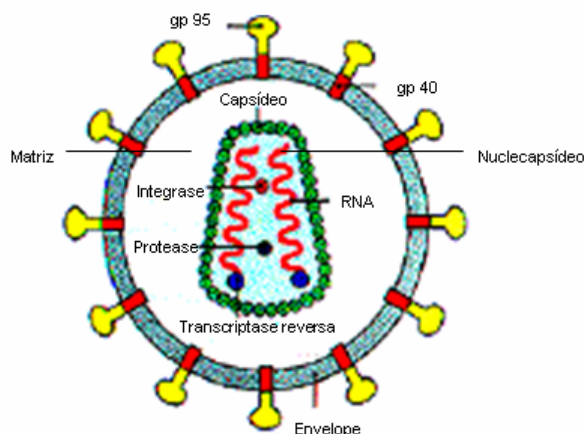


Figura 1 – Esquema do Vírus da Imunodeficiência Felina.

O FIV está amplamente distribuído em várias localidades geográficas como encontradas nos estudos sorológicos, diagnosticando cerca de 4 a 24% de felinos doentes nos Estados Unidos, porém esta diferença se dá em relação às regiões estudadas. No Japão e Itália, a ocorrência chega a 30%, esse dado é conferido devido á grande população de gatos de rua (SELLON & HARTMANN, 2006). Segundo Lara (2004) a infecção pelo FIV foi de 15,6% na população estudada compreendendo os animais do Estado de São Paulo com base em dados de biologia molecular utilizando a técnica de Nested-PCR.

A principal forma de transmissão é através da mordida, pois é na saliva que se encontra a maior concentração viral, uma vez que o vírus se aloja no epitélio da glândula salivar (SELLON & HARTMANN, 2006). Isso faz com que machos adultos sejam mais acometidos que as fêmeas, pois são os machos que lutam pelas conquistas de território e das fêmeas (BARR *et al.*, 1997). Considera-se grupo de risco os gatos de vida livre e que vivem em gatis com alta densidade populacional, porém, gatos mantidos dentro de casa, sem manter contato com outros gatos, não fazem parte deste grupo de risco (HARTMANN, 1998). A transmissão por contato não acontece, pois, esse vírus necessita ser inoculado através de mordida, transfusão de sangue ou seus subprodutos como plasma ou soro. A transmissão através da cobertura, via uterina, via leite ou inseminação artificial podem ocorrer, porém, essas não são as principais vias para manter o vírus na população felina (SELLON & HARTMANN, 2006).

Após inoculação viral no animal, o vírus atinge a circulação e começa a sua multiplicação em células mononucleares como linfócitos CD4⁺, CD8⁺, linfócitos B e monócitos (BARR *et al.*, 1997; HARTMANN, 1998; SELLON & HARTMANN, 2006). Segundo Hartmann (1998) a replicação nessas duas linhagens celulares é responsável por diferentes manifestações clínicas, sendo que a replicação em mononucleares está relacionada a alterações do sistema nervoso central, podendo ser resultado de seu predomínio no líquido encefaloraquidiano. Infectam também astrócitos e algumas cepas, quando adaptadas, infectam também células da linhagem Crandell Feline Kidney (CrFK) que são células derivadas de rim de gatos (PHILLIPS *et al.*, 1990; BROWN *et al.*, 1991). Imediatamente após o primeiro contato com o organismo animal, o FIV se dirige para os linfonodos regionais e começam a multiplicação maciça, causando linfadenopatia. Seguidas duas semanas, dá-se o pico de viremia, o qual já pode ser detectado pela reação em cadeia da polimerase, tanto para detecção de DNA proviral quanto para detecção de RNA viral, essa fase é conhecida como aguda (SELLON & HARTMANN, 2006). Quando ocorre o pico de viremia, o vírus se difunde para as células mononucleares de todo o organismo acometendo medula óssea, pulmões, intestinos, cérebro e rins, podendo gerar lesões diretas nesses órgãos. Após o pico virêmico, a concentração viral circulante diminui a níveis quase indetectáveis, secundária a uma resposta imune vigorosa montada pelo organismo animal. Acredita-se que o responsável por este evento é o CD8⁺. Geralmente, a produção de anticorpos acontece entre a segunda e quarta semanas pós pico viral (BARR *et al.*, 1997; HARTMANN, 1998; SELLON & HARTMANN, 2006). Mesmo com o sistema imune controlando a concentração viral na circulação, os vírus são continuamente produzidos e sua multiplicação vai acontecendo normalmente. Essa fase é conhecida como subclínica, e pode durar de dias a anos. Como a principal célula a ser atingida é o linfócito T CD4⁺, sua concentração começa a diminuir no sangue periférico e a principal causa é por apoptose, seguida de diminuição de sua produção pelos órgãos competentes, lise por efeito citopático (ação direta do vírus na célula) e destruição imunomediada (SELLON & HARTMANN, 2006). Secundário a perda dessas células, há inversão da relação CD4:CD8 e alteração na produção de citocinas controladas por ela, ficando, o sistema imune, desprovido de estímulos gerando falha na resposta

imune do animal facilitando o aparecimento de infecções oportunistas causando dermatites, periodontites, otites, conjuntivites dentre outras. Essa fase é conhecida como Complexo AIDS Felina (CAF) (BARR *et al.*, 1997; LEVY *et al.*, 2004; SELLON & HARTMANN, 2006). Quanto mais grave e persistente for a inversão CD4:CD8, maior será a produção e elevação da concentração viral no animal infectado e menor será a função do sistema imune. Conseqüentemente, o animal entra na fase da AIDS felina, onde há uma imunossupressão grave, podendo ir a óbito por infecção secundária generalizada bacteriana, viral ou fúngica (FIERRO Del, *et al.* 1995; BARR *et al.*, 1997; HARTMANN, 1998; SELLON & HARTMANN, 2006).

Assim sendo, a imunodeficiência felina é dividida em quatro fases: fase aguda, onde há multiplicação viral gerando linfadenopatia secundária a hiperplasia do tecido linfóide e apresentando os seguintes sinais clínicos: febre, diarreia, gengivite, lesões ulcerativas na mucosa oral, narinas e córneas, secundário a calicivirose e alterações dermatológicas, hepáticas, renais, neurológicas e hematológicas. A fase subclínica é aquela onde não há sinais clínicos evidentes. A fase do complexo AIDS felina é a terceira fase onde os sinais clínicos são evidentes e recorrentes e, finalmente a AIDS felina, onde há comprometimento total do sistema imune e aparecimento de doenças oportunistas, geralmente letais (BARR *et al.*, 1997; HARTMANN, 1998; SELLON & HARTMANN, 2006).

Segundo Sellon & Hartmann (2006) os sinais clínicos e gravidade da doença diferem quanto às clades virais conferida pela região de hipervariabilidade do gene *env* do envelope viral. Há cinco tipos de FIV, A, B, C, D e E. Os estudos de sorotipagem do FIV demonstram uma distribuição geográfica desigual. O genótipo A inclui as estirpes de FIV isoladas na Austrália, Europa e Estados Unidos (GREENE *et al.*, 1993; RIGBY *et al.*, 1993, SODORA *et al.*, 1994; PISTELLO *et al.*, 1997). O genótipo B foi isolado no Japão, região central e leste dos Estados Unidos e Europa (KAKINUMA *et al.*, 1994; BACHMANN *et al.*, 1997; PISTELLO *et al.*, 1997). O genótipo C inclui as estirpes isoladas no Canadá, Europa e Formosa (SODORA *et al.*, 1994; KAKINUMA *et al.*, 1994; FREY *et al.*, 2001; PEDERSEN *et al.*, 2001; REGGETI *et al.*, 2001). O FIV tipo D, até o presente momento, identificado no Japão e o E, na Argentina e Japão (SODORA *et al.*, 1994; KAKINUMA *et al.*, 1994).

No Brasil, já foi constatada a presença de infecção pelo tipo B, em Minas Gerais, e a sorotipagem foi realizada através da técnica “Restriction Fragment Length polymorphisms” (RFLP) (CAXITO *et al.*, 2003). Em Botucatu-SP, Figueiredo (2007) identificou FIV-B através da técnica de sequenciamento genético. Os FIV-A e FIV-B possuem patogenicidade semelhante e mais branda do que o FIV-C, que por sua vez, é mais raro. Os do tipo D e E precisam ser melhor estudados (FREY *et al.*, 2001; PEDERSEN *et al.*, 2001; REGGETI *et al.*, 2001).

Técnicas sorológicas são comercializadas como forma de triagem de animais doentes por ser uma forma mais rápida para se obter o resultado, mas há possibilidade de ocorrer falso-positivos, quando há erro de técnica, como utilização de amostra inadequada e também falso-negativo, se o animal estiver no período de “janela imunológica”. Portanto, uma outra ferramenta diagnóstica é a “Reação em Cadeia da Polimerase” (PCR) (NELSON & COUTO, 1994; SELLON & HARTMANN, 2006). A PCR embora tenha alta especificidade e sensibilidade, podem ocorrer falso-negativos, por ausência do DNA pesquisado na amostra colhida. Porém, falso-positivos não há possibilidades, desde que sejam descartados erros de técnicas (CRAWFORD *et al.*, 2005).

Uma vez diagnosticado, o cliente deve ser aconselhado sobre os aspectos mais importantes de possuir um gato FIV positivo, como por exemplo, esclarecer que o gato pode jamais desenvolver um distúrbio associado ao retrovírus, mas, se acontecer, este distúrbio precisa ser tratado adequadamente. O cliente deve estar consciente do fato de que o gato representa um risco para outros gatos, portanto, deve ser isolado. Para os animais contactantes devem-se indicar métodos profiláticos e um deles é, além de mantê-los separados, a vacina. Porém, esta necessita ser estudada com mais atenção para ver se confere proteção para os gatos do Brasil, já que a clade dominante é a B (NELSON & COUTO, 1994, HARTMANN, 1998).

Uma das maiores preocupações em relação à saúde pública, é que gatos FIV positivos e imunodeprimidos podem se tornar potentes transmissores de zoonoses como a criptococose e a toxoplasmose, principalmente os gatos errantes (SELLON & HARTMANN, 2006).

A imunodeficiência felina é uma retrovirose que tem tratamento sintomático, mas não elimina seu estado de portador, embora clinicamente sadio. Sendo,

portanto, de curso crônico e devido a isso gera alterações consideráveis no sistema imunológico do animal acometido. Há vários tipos de agentes antivirais disponíveis no mercado, porém, nem todos são aplicáveis em felinos. A sua utilização tem o objetivo de diminuir a concentração viral circulante favorecendo uma melhor qualidade de vida para o animal, na tentativa de preservar seu sistema imunológico, levando o paciente a condições crônicas da doença (ARAI *et al.*, 2002; CARDOSO, 2005). Esses quimioterápicos agem no ciclo de replicação do FIV. Os compostos disponíveis atualmente como fármacos anti-retrovirais atuam na inibição do sítio de ligação da enzima transcriptase reversa, inibição alostérica da transcriptase reversa ou na inibição competitiva da protease. Em humanos o tratamento é realizado empregando o coquetel, que diminui em cem vezes o ritmo de reprodução do HIV em relação à monoterapia. Porém, em Medicina Veterinária, especificamente no tratamento da FIV há restrições quanto à administração de medicamentos aos felinos, pois estes possuem uma taxa de metabolização de fármacos mais lenta do que outras espécies, tendo restrições em protocolos terapêuticos (NELSON & COUTO, 1994; ARAI *et al.*, 2002; BRISTOL-MYERS, 2003; ZHANG *et al.*, 2004; CARDOSO, 2005). Além disso, Cretton *et al.* (1990) alertam sobre o efeito citotóxico causado pelo catabólito do AZT, chamado de “agente metaazidopirimetamine” (AMT). Esse catabólito tem ação antitumoral e é capaz de causar doenças mielossupressivas em pacientes FIV positivos.

Os tipos de anti-retrovirais são:

- Inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleotídeos: zidovunina (AZT), estavudina (d4T), didanosina (ddI);
- Inibidores da transcriptase reversa não análogos de nucleotídeos: nevirapina, delavirdina;
- Inibidores de protease: atazanavir, saquinavir, ritonavir.

Cardoso (2005) relata alterações nutricionais em humanos com o uso do coquetel, conferindo dano maior com o uso dos inibidores de protease. Porém, relata que o AZT também possui esta propriedade. Esta alteração nutricional é caracterizada pela atrofia de tecido adiposo em algumas regiões e acúmulo em outras, recebendo o nome de lipodistrofia.

Diante de todos esses dados verificou-se a necessidade de estudos da síndrome da imunodeficiência felina com acompanhamento clínico-laboratorial

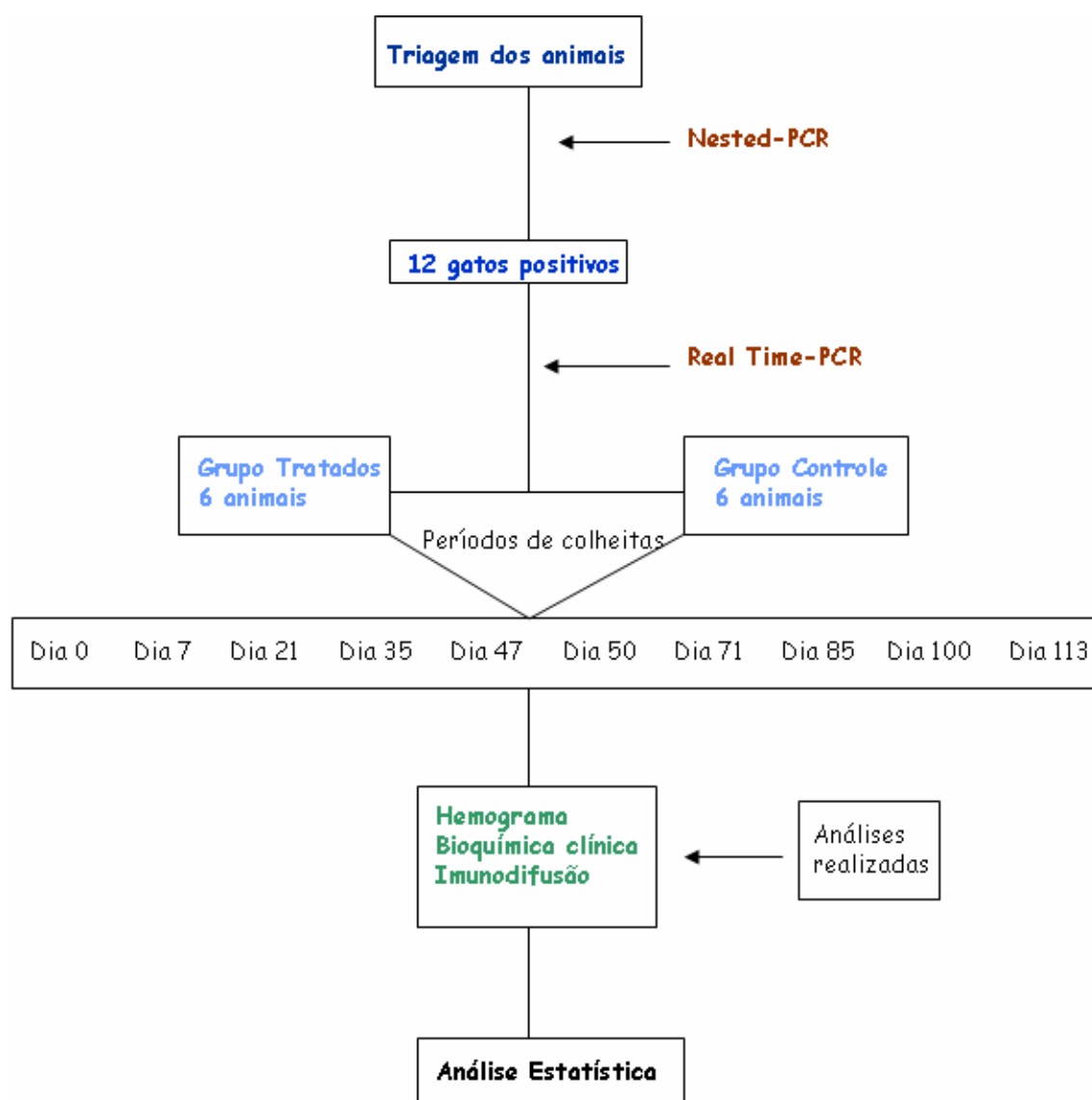
e imunológico de animais naturalmente infectados com o FIV, uma vez que não há publicações relacionadas a este assunto, especialmente no estado de São Paulo.

2. OBJETIVOS

Este trabalho tem o objetivo de comparar os parâmetros hematológicos, bioquímica clínica e IgG total de gatos naturalmente infectados com o FIV tratados ou não com zidovudina (AZT).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Delineamento experimental



3.2 Animais

No período de março de 2005 a maio de 2006 foram realizadas as colheitas de sangue de gatos domésticos, aleatoriamente e até que se completasse um grupo de 12 gatos, para isso um total de 200 animais foram triados. Esses residiam em abrigos de animais localizados em quatro cidades do Estado de São Paulo, como pode ser mostrado na figura 2. Esses animais recebiam tratamento de acordo com o costume de cada proprietária. Para se realizar a venipunção foi escolhida a veia jugular e a contenção dos animais foi mecânica, utilizando luvas contra arranhadura para proteção dos ajudantes. Como marcação dos animais era realizada tricotomia em regiões diferentes do corpo que correspondiam a dias diferentes de colheitas.

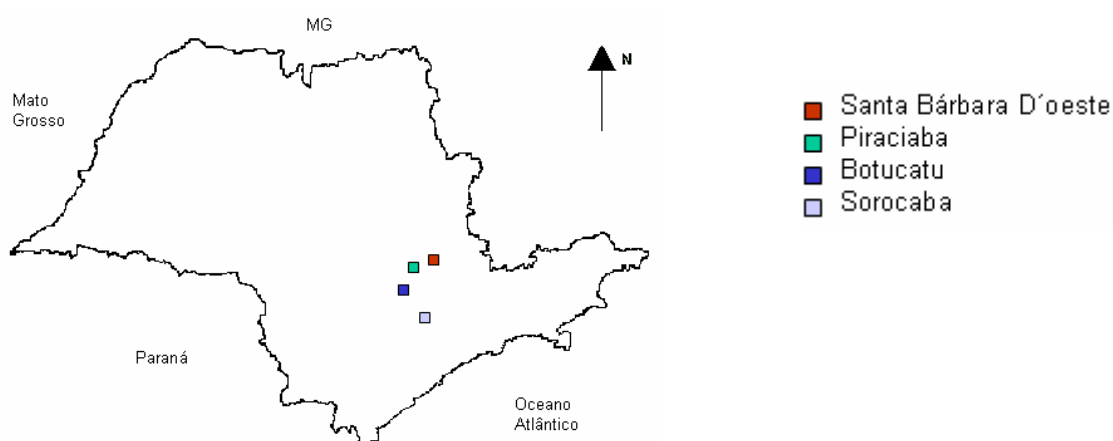


Figura 2. Distribuição da região geográfica do estado de São Paulo onde foram colhidas as amostras de sangue total dos 200 gatos domésticos selecionados para o diagnóstico da imunodeficiência felina.

As amostras colhidas foram encaminhadas para o Laboratório de Diagnóstico Molecular, do Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Biociência, da Universidade Estadual Paulista/Unesp, campus Botucatu-SP para realização de Nested-PCR. Os animais positivos foram identificados e encaminhados para o gatil da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, da mesma universidade, onde foram mantidos em quarentena. Durante a quarentena, os animais eram vermifugados, era

realizado controle de ectoparasitas. Os animais que apresentassem outros sintomas como rinotraqueíte ou infecções bacterianas eram tratados especificamente. Após este período, os animais passaram por uma adaptação no novo ambiente até iniciar o tratamento com AZT e completar o número de animais.

Depois de identificados, os gatos positivos foram testados, utilizando a mesma técnica, para o Vírus da Leucemia Felina (FeLV) e sorologia para toxoplasmose e leptospirose. Durante todo o experimento os animais foram avaliados segundo a presença de hemoparasitoses pela observação criteriosa no hemograma.

3.3 Tratamento dos gatos com AZT

Após serem divididos em dois grupos, com base em suas cargas virais relativas. O primeiro grupo foi o tratado onde os animais foram denominados de T1 a T6 sendo compostos por dois machos e quatro fêmeas e o segundo grupo foi o controle, no qual os animais receberam o nome de C1 a C6 sendo compostos por três machos e três fêmeas. Os animais foram classificados como sendo sem raça definida (SRD) e não utilizou-se como critério de separação para formação dos grupos o quadro clínico, apenas a quantificação viral. Para a quantificação do FIV tanto nas amostras de DNA quanto nas de RNA utilizou-se a curva padrão calculada com quatro pontos. Quantificação de DNA: a curva padrão para o FIV foi construída a partir da diluição do DNA do animal 5 por ter apresentado valores de “threshold cycle” (Ct) entre 26 e 29 e reprodutibilidade. Para a curva do GAPDH foi utilizada uma mistura de DNA dos animais.

Quantificação de RNA: a curva padrão para o FIV foi construída utilizando a mesma amostra de DNA do animal 5 e para o Poliovírus foi utilizado cDNA produzido a partir de RNA extraído de cultivo celular, Ct variando de 13 a 23.

A menor diluição do DNA e do cDNA das curvas recebeu o valor relativo igual a 100 e, seguindo a mesma razão da diluição, as outras três diluições foram determinadas como 50, 25 e 12,5. A quantidade de vírus nas amostras foi expressa em relação às curvas padrão que foram adicionadas em cada ensaio, sendo os valores fornecidos diretamente pelo programa SDS 1.2.3

(Applied Biosystems) (FIGUEIREDO, 2007). O tratamento foi iniciado utilizando o protocolo terapêutico de 10 mg/kg de AZT, a cada 24 horas durante 90 dias via oral, com o objetivo de se avaliar a atividade antiviral do AZT “*in vivo*” (ZHANG *et al.*, 2004). Antes da administração do medicamento, foram colhidas amostras sanguíneas que serviram de controle para o do tratamento durante o projeto e essa data foi considerada o dia zero. Como o AZT confere, muitas vezes, efeitos colaterais, os gatos que apresentassem anemia, leucopenia ou sinais de intoxicação como vômitos seriam retirados do tratamento (CRETTON *et al.*, 1990).

3.4 Processamento das amostras biológicas

Todos os animais foram avaliados com hemograma, bioquímica clínica (creatinina, ALT, GGT, proteína total sérica, albumina, globulinas, triglicérides e colesterol) e quantificação de IgG total. As amostras de sangue total foram colhidas com seringa descartável através de punção da veia jugular e colocadas, cerca de 2 mL, em tubos estéreis contendo anticoagulante EDTA a 10% e o restante, cerca de 1 mL, colocadas em tubo seco para obtenção de soro. Ambas foram mantidas à temperatura de 8°C.

Com a primeira amostra realizou-se hemograma, utilizando contador automático de células (CC 510 Celm) e hemoglobinômetro (Hb 520 Celm). A plaquetometria foi realizada por contagem manual em câmara de Neubauer, na diluição de 1:100 com fator de correção 2.525 e diluente brecher (oxalato de amônio à 1%).

O soro utilizou-se para realização da bioquímica sérica: creatinina (Celm[®]), Alanino aminotransferase (ALT) (Labor Lab[®]), gama glutamiltransferase (GGT) (Celm[®]), proteína total (Gold Analisa[®]), albumina (Gold Analisa[®]), globulina, triglicérides (Labor Lab[®]) e colesterol (Labor Lab[®]) seguindo o protocolo do fabricante. As globulinas foram obtidas subtraindo a albumina da proteína total (KANEKO *et al.*, 2007). Os valores de referência que este trabalho baseou-se foi segundo o proposto por Kaneko *et al.* (1997).

Ainda com o soro, realizou-se a imunodifusão radial em gel de agar a 1,5% para quantificação de IgG total (OUCHTERLONY, 1958). Nessa técnica utilizou-se, no orifício central, 10 µL soro de coelho anti IgG de gato e nas

cavidades da periferia, utilizou-se 10 μ L dos soro dos gatos nas diluições em seriada de razão meio, começando pela diluição 1:16, sendo a última, 1: 16284 (Figura 3) na base de log 2. O objetivo desta análise foi identificar o título de IgG em relação a carga viral pós tratamento com AZT.

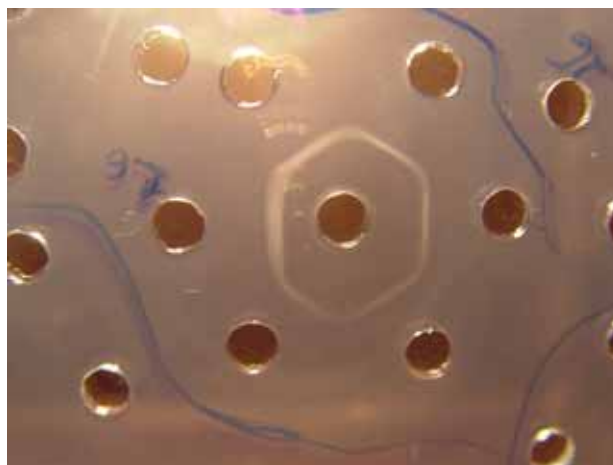


Figura 3 – Ilustração da Imunodifusão em gel de agar onde observa-se as bandas de imunoprecipitação.

4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para análise estatística foi utilizada a metodologia da Análise de Perfil para distribuição normal, caso contrário foram utilizados os testes de Mann-Whitney para comparação dos grupos em cada momento e o de Friedman para comparação de momentos em cada grupo.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 200 animais testados foi possível identificar apenas 12 gatos positivos sendo homogeneamente distribuídos de acordo com a concentração viral realizada através do Real Time-PCR. Todos os animais foram não reagentes para os sorovares de *Leptospira interrogans* (*australis*, *bratislava*, *autmnalis*, *canicola cynopteri*, *djasiman*, *gruppotifosa*, *copenhageni*, *icterohaemorrhagiae*, *pomona*, *pyrogenes* e *hardjo*) no teste de soroaglutinação microscópica. Porém, T1, T2 e T3 foram reagentes na imunofluorescência para toxoplasmose com títulos de 16, 16 e 64 respectivamente. Segundo Garcia *et al.* (1999) considera-se positivo o animal que apresentar título acima de 64. Nos casos de títulos de 64 sugere-se realizar testes pareados para se observar a evolução da doença quando não houver sinais clínicos. Nesse caso, T3 pode estar iniciando uma toxoplasmose secundária à imunossupressão causada pela FIV. O título de 16 indica que o animal teve contato com o protozoário em alguma fase de sua vida e se mantém controlado (GARCIA *et al.*, 1999). Com base nas citologias seriadas realizada no hemograma, não foram observadas sinais de *Mycoplasma haemofelis* em nenhum animal.

Devido à falência do sistema imunológico, os felinos positivos tornam-se susceptíveis a doenças oportunistas sendo a micoplasmose a bactéria mais comumente encontrada (ACKLEY *et al.*, 1990). Davidson *et al.* (1993) e Levy *et al.* (2004) relatam toxoplasmose aguda e generalizada em animais com sorologia positiva e imunodeprimidos pelo FIV, sendo a principal lesão apresentada a corioretinite. Relatam ainda os achados *postmortem* pneumonia intersticial e necrose hepática multifocal. Svobodová *et al.* (1998) demonstraram em seus trabalhos que os animais que possuem *Toxoplasma gondii* manifestam apenas as complicações clínicas da doença, não voltando a liberar oocistos nas fezes. Porém, Sellon & Hartmann (2006) previnem quanto à possibilidade de ocorrer a liberação de oocisto de *Toxoplasma gondii* oferecendo risco à saúde pública. Os três animais que foram reagentes para *Toxoplasma gondii*, não apresentaram sinais clínicos compatíveis com toxoplasmose durante todo o experimento.

5.1 Quantificação relativa da carga viral e DNA proviral

Na Tabela 1 estão relacionadas as medianas dos valores de FIV obtidos dos grupos tratado e controle.

Houve diferença estatisticamente significativa de carga viral de cada grupo em relação aos momentos (tratado $P = 0,035$ e controle $P = 0,002$), entretanto, entre grupos em cada momento não houve diferença.

Grupo	Dia 0	Dia 7	Dia 14	Dia 36	Dia 49	Dia 62	Dia 80	Dia 96	Dia 111	Dia 125
T1	67,58	3,62	3,78	2,16	1,07	4,75	1,30	7,70	17,57	32,07
T2	5,21	1,25	0,79	4,75	-	2,28	1,99	-	3,29	1,73
T3	7,43	0,80	0,48	2,87	0,71	1,57	0,39	-	-	-
T4	2,08	0,18	0,19	0,33	-	0,53	-	0,32	-	0,75
T5	0,21	0,55	0,24	1,33	-	0,70	-	-	1,71	0,50
T6	0,30	-	-	-	-	-	0,34	-	-	-
C1	14,46	1,09	1,17	3,90	1,02	1,25	0,49	2,81	1,18	2,16
C2	3,03	-	0,45	1,70	-	1,63	-	-	-	-
C3	1,35	0,57	0,20	0,78	0,39	0,57	0,20	-	0,74	0,43
C4	2,02	0,19	0,20	0,46	0,36	0,57	-	2,18	5,96	-
C5	1,92	1,05	0,19	24,11	0,82	-	0,37	-	1,18	1,76
C6	0,08	-	-	-	-	-	-	-	-	0,55

TABELA 1. Mediana dos valores relativos de FIV obtidos calculados pelo programa SDS 1.2.3 (Applied Biosystems).

A Figura 4 é a representação gráfica dos valores das medianas de grupos em relação a cada momento. A carga viral variou desde indetectável a 3,65. Pode-se observar uma tendência igual dos dois grupos ao longo do experimento.

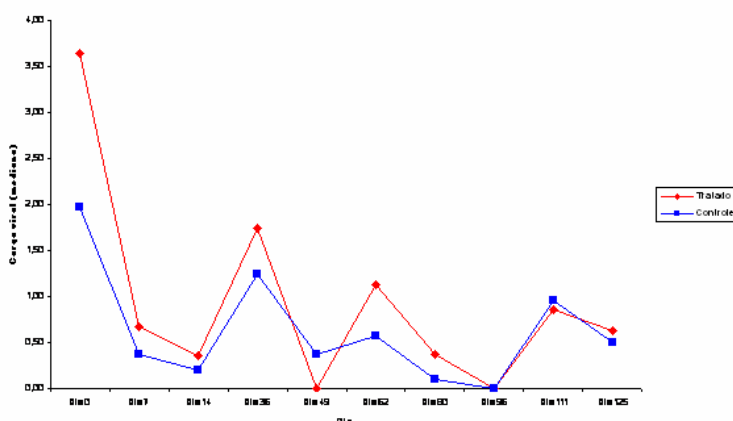


FIGURA 4 Representação gráfica dos valores de FIV.

5.2 Resultados Laboratoriais

5.2.1 Hematimetria

Na tabela 2 e na figura de 5 observam-se o eritrograma de acordo com os grupos e os momentos, respectivamente. Os valores de referências seguidos para o hemograma incluindo plaquetometria foi o sugerido para a espécie felina segundo Schalm's *et al* (2000).

Tabela2. Valores referentes ao eritrograma segundo momento e grupo. (5,5 – $10,0 \times 10^6/\mu\text{L}$, referência segundo Schalm's 2000).

Grupo\dia	Dia 0	Dia 7	Dia 35	Dia 47	Dia 50	Dia 71	Dia 85	Dia 100	Dia 113
T1	6,68	5,23	3,38	7,4	4,2	6,2	5	4,8	5,98
T2	9,25	7,45	6,95	6,8	6,4	7,94	7,9	7,8	7,6
T3	6,8	5,5	6,19	6,2	4,2	6,89	5	5,4	5,4
T4	6,82	6,06	5,95	4,8	4,4	5,25	6	5,6	5,6
T5	7,33	6,65	6,36	6,6	5,6	6	6,97	7,8	6,6
T6	8,05	6,98	8,2	7	5,8	7,6	7,65	7,8	6,2
C1	4,8	3,88	5,13	3,8	5,4	4,48	5,29	4,2	4
C2	7,53	7,05	8	7	6,6	7,63	7,73	5,6	5,2
C3	9,9	7,1	5,98	6,6	7,6	8,11	9,29	6,8	6
C4	5,88	5,99	6,94	5,8	5,6	6	5,19	4,4	5
C5	7,82	6,6	6,64	4,7	6,8	7	7,58	6,6	6
C6	8,2	6,68	5,51	5	7	6,93	8,5	7,8	6,8

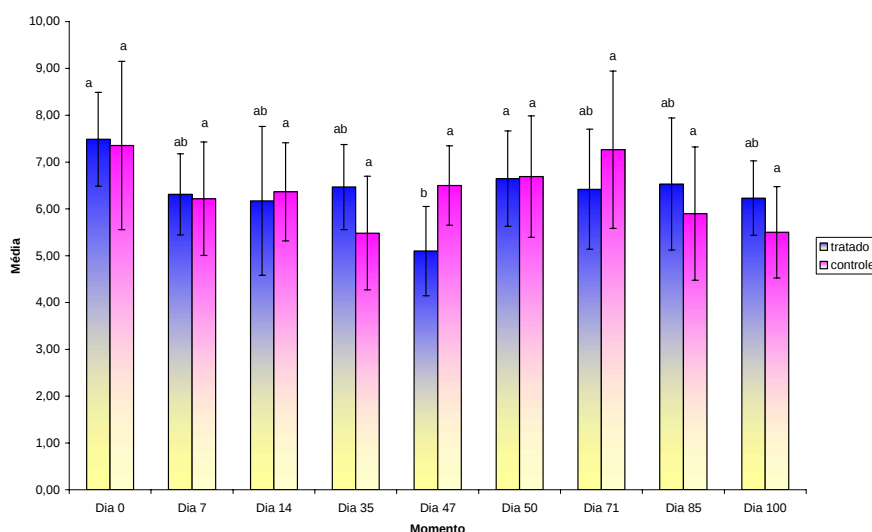


Figura 5- Média e desvio padrão referentes as hemácias segundo momento e grupo. Letras minúsculas comparam momentos em cada grupo.

Na tabela 3 e na figura de 6 observam-se a hemoglobina de acordo com os grupos e os momentos, respectivamente.

Tabela 3. Valores referentes à hemoglobina segundo momento e grupo. (8 – 15 g/dL, referência segundo Kaneko, 1997).

Grupo\dia	Dia 0	Dia 7	Dia 35	Dia 47	Dia 50	Dia 71	Dia 85	Dia 100	Dia 113
T1	11,1	7,5	6,9	11,8	7	11,2	7,6	8	9,6
T2	13,6	12	10	10,5	10,6	13	11,6	13	12,6
T3	10	8	9,5	10,3	7	10,4	7	9	9
T4	10,5	9,6	9,5	8	7,3	8	10	9,3	9,3
T5	11,4	10,5	10,1	11	9,3	8,3	11	13	11
T6	13	11	12	11,6	9,6	12,8	11,6	13	10,3
C1	6,3	6	8,1	6,3	9	5,9	7	7	6,6
C2	10,6	10,4	11,5	11,6	11	12,9	11,3	9,3	8,6
C3	14,2	12	10	11	12,6	13,6	12,6	11,3	10
C4	9,3	9,3	10,1	9,6	9,3	8	8,3	7,3	8,3
C5	13	10,5	10,5	7,8	11,3	10	12,3	11	10
C6	11	9,5	9,5	8,3	11,6	13,1	11,3	13	11,3

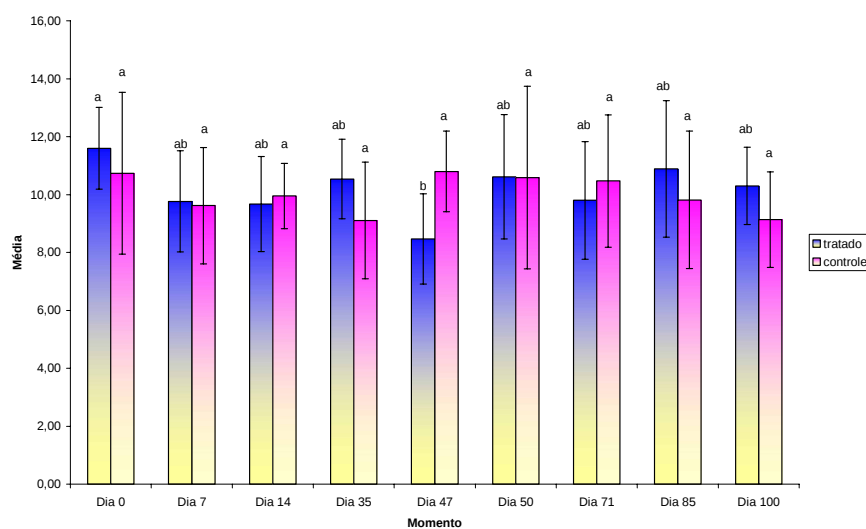


Figura 6- Média e desvio padrão referentes a hemoglobina segundo momento e grupo. Letras minúsculas comparam momentos em cada grupo.

Na tabela 4 e na figura de 7 observam-se o hematócrito de acordo com os grupos e os momentos, respectivamente.

Tabela 4. Valores referentes à hematócrito segundo momento e grupo.
(24 – 45 %, referência segundo Schalm's, 2000).

Grupo\dia	Dia 0	Dia 7	Dia 35	Dia 47	Dia 50	Dia 71	Dia 85	Dia 100	Dia 113
T1	25	21	20	37	21	24	23	24	29
T2	38	34	28	34	32	36	35	39	38
T3	30	22	27	31	21	23	21	27	27
T4	31	26	27	24	22	24	30	28	28
T5	32	29	28	33	28	25	33	39	33
T6	36	31	33	35	29	33	35	39	31
C1	18	17	23	19	27	21	21	21	20
C2	30	29	32	35	33	31	34	28	26
C3	39	34	30	33	38	37	38	34	30
C4	30	26	28	29	28	24	25	22	25
C5	36	29	29	23,5	34	30	37	33	30
C6	32	27	27	25	35	29	34	39	34

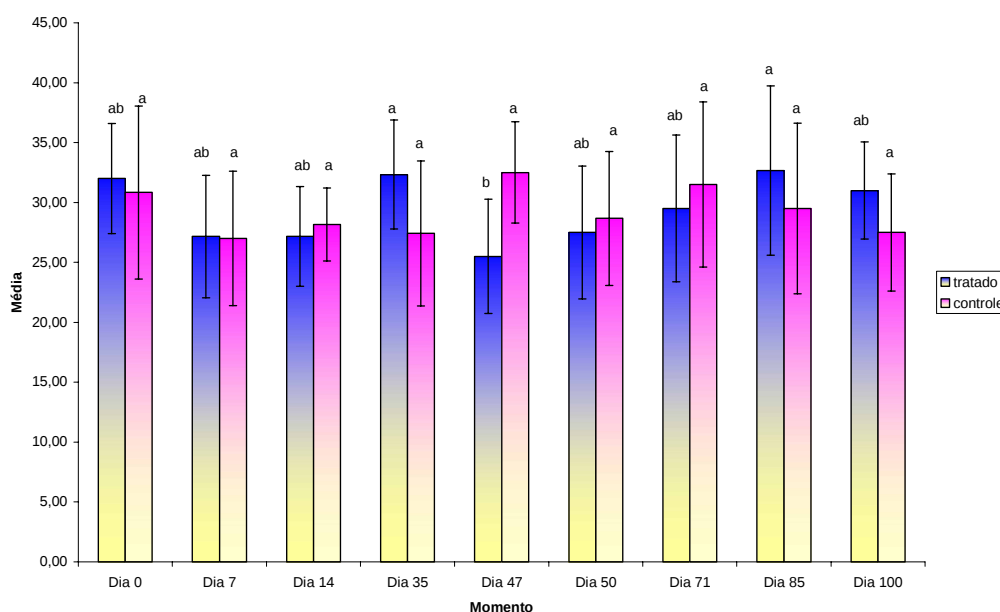


Figura 7- Média e desvio padrão referentes ao hematócrito segundo momento e grupo.
Letras minúsculas comparam momentos em cada grupo

A hematimetria demonstrou diferença estatisticamente relevante no dia 47 para os três parâmetros testados onde esse não indicou anemia. Observando individualmente os gatos, constatarem-se quatro dos seis animais

do grupo controle, que se encontravam na fase subclínica da doença não apresentaram anemia durante a fase experimental, enquanto que três dos seis animais do grupo tratado, que se apresentavam na mesma fase, apresentaram anemia concordando com o que descrevem Shelton *et al.* (1991). Sendo que um deles, o T1 se enquadrava no que relatam Shelton *et al.* (1991) e Rachid *et al.* (2003) quanto à evolução da anemia e a progressão da FIV.

Uma ampla gama de anormalidades hematológicas está associada à infecção pelo HIV (RACHID *et al.*, 2003). Em gatos FIV positivos as anormalidades são as mesmas (SHELTON *et al.*, 1991). Essas alterações podem ser encontradas em qualquer fase da infecção e envolvem a medula óssea, elementos celulares do sangue periférico e as vias de coagulação. Entre outras causas incluem-se o efeito supressivo do próprio vírus, hematopoiese ineficaz, doenças infiltrativas da medula óssea, consumo periférico secundário à esplenomegalia ou desregulação imune, deficiências nutricionais e efeitos colaterais de medicamentos (WEISS *et al.*, 1983; LINENBERGER *et al.*, 1995; RACHID *et al.*, 2003; OTTENJANN *et al.*, 2006).

Embora sejam múltiplas as possibilidades etiológicas, a maioria apresenta anemia da doença crônica, também conhecida como anemia da inflamação (RACHID *et al.*, 2003). Ottenjann *et al.* (2006) relata que para se classificar a anemia causas usuais devem ser descartadas, como perda sanguínea, infecção da medula por patógenos oportunistas e efeitos colaterais de drogas. Descreve ainda, que quando associada ao aumento de leucócitos pode estar associado um processo bacteriano como abscesso e piotórax, sendo esta anemia resultado do seqüestro de ferro, diminuição da vida média das hemácias e resposta ineficiente da medula óssea a eritropoetina. Shelton *et al.* (1991) descreve que na fase subclínica da FIV a anemia não ocorre enquanto que Rachid *et al.* (2003) e os autores anteriormente citados relatam que o agravamento da anemia acontece com o surgimento de sinais clínicos, evoluindo para CAF.

Na tabela 5 e na figura de 8 observam-se o desempenho do índice hematimétrico VCM (Volume Corpuscular Médio) de acordo com os grupos e os momentos, respectivamente.

Tabela 5 . Valores referentes ao VCM segundo momento e grupo.
(39 – 55 fL, referência segundo Schalm's, 2000).

Grupo\dia	Dia 0	Dia 7	Dia 35	Dia 47	Dia 50	Dia 71	Dia 85	Dia 100	Dia 113
T1	37,4	40,15	52,93	50	50	39	46	50	50
T2	35,78	45,63	40,3	50	50	45,64	44,3	50	50
T3	44,11	40	43,61	50	50	50	42	50	50
T4	45,45	42,9	45,37	50	50	45,71	50	50	50
T5	43,65	43,6	43,95	50	50	41,66	47,34	50	50
T6	44,72	44,41	40,34	50	50	43,42	45,75	50	50
C1	37,5	43,81	44,83	50	50	46,87	39,69	50	50
C2	39,084	41,13	40	50	50	40,62	43,98	50	50
C3	39,39	47,88	50,16	50	50	45,62	40,9	50	50
C4	51,02	43,4	40,34	80	50	40	48,16	50	50
C5	46,03	43,93	43,67	*	50	42,85	48,81	50	50
C6	39,02	40,41	49	50	50	41,84	40	50	50

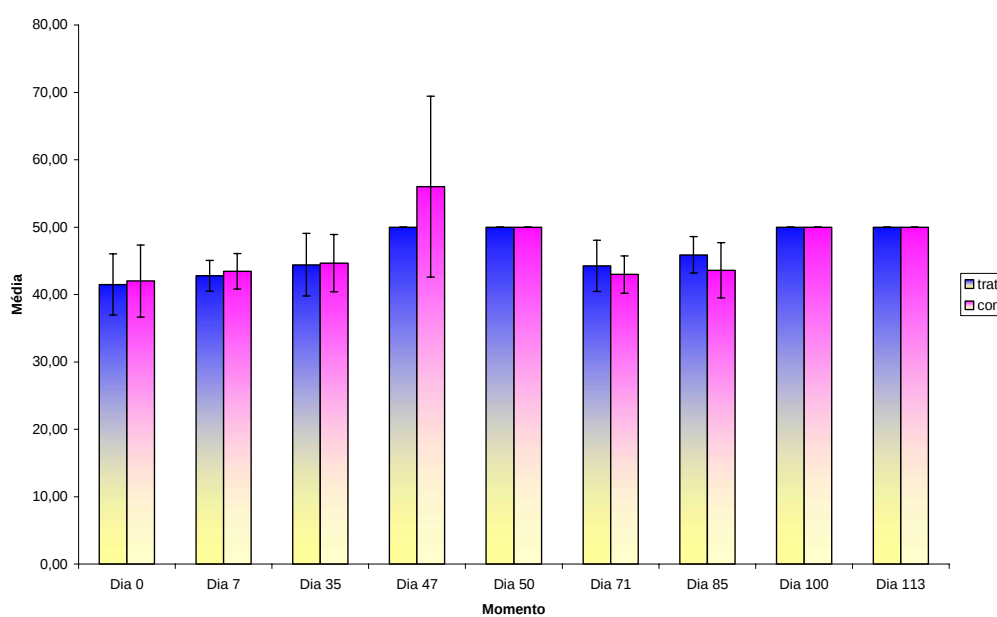


Figura 8- Média e desvio padrão referentes ao VCM segundo momento e grupo.

Na tabela 6 e na figura de 9 observam-se o índice hematimétrico CHCM (Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média) de acordo com os grupos e os momentos, respectivamente.

Tabela 6 . Valores referentes ao CHCM segundo momento e grupo.
(30 – 36 %, referência segundo Schalm's, 2000).

Grupo\dia	Dia 0	Dia 7	Dia 35	Dia 47	Dia 50	Dia 71	Dia 85	Dia 100	Dia 113
T1	36	35,71	34,5	31,89	33,33	35,41	33,04	33	33
T2	35,78	35,29	35,71	30,88	33,12	36,11	33,14	33	33
T3	33,33	36,36	35,18	33,22	33	34,78	33,33	33	33
T4	33,87	36,92	35,18	33,33	33	33,33	33,33	33	33
T5	35,62	34,48	36,07	33,33	33	33,2	33,23	33	33
T6	36,11	35,48	36,36	33,14	33	36,36	33,14	33	33
C1	35	35,29	35,23	33,15	33	33,33	33,33	33	33
C2	35,33	35,86	35,93	33,14	33	35,48	33,23	33	33
C3	36,41	35,29	33,33	32	33	36,75	33,15	33	33
C4	31	35,76	36,07	33,1	33	33,33	33,2	33	33
C5	36,11	36,2	36,2	*	33	33,33	33,24	33	33
C6	34,37	35,18	35,18	33,2	33	33,1	33,23	33	33

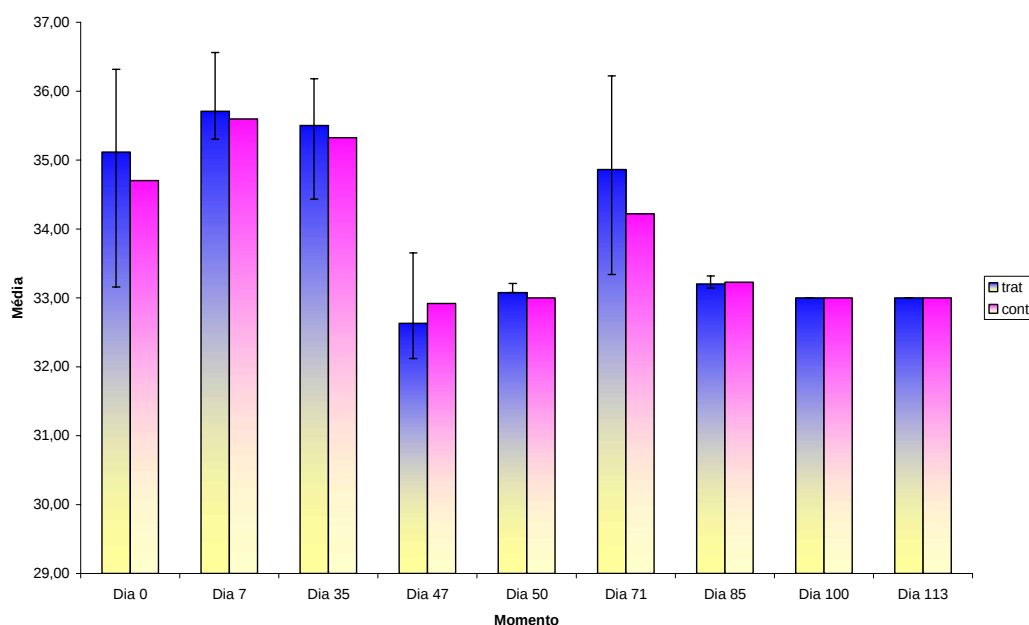


Figura 9- Média e desvio padrão referentes ao CHCM segundo momento e grupo.

5.2.2 Leucometria

Na tabela 7 e na figura 10 observam-se a contagem dos leucócitos totais de acordo com os grupos e os momentos.

Tabela 7- Valores referentes aos leucócitos totais segundo momento e grupo. ($5,5 - 19,5 \times 10^3/\mu\text{L}$, referência segundo Schalm's, 2000).

Grupo\dia	Dia 0	Dia 7	Dia 35	Dia 47	Dia 50	Dia 71	Dia 85	Dia 100	Dia 113
T1	8,7	6,6	4,85	5,1	6,77	6,3	5,6	4,35	4
T2	11,9	10,99	9,2	7,8	9,2	10,3	10,1	5,3	9,87
T3	16,3	11,6	19,1	9,8	10,55	17,8	31,3	8,2	11,87
T4	20,3	19,3	13,61	14,7	13,91	25,8	16,4	9,24	18,1
T5	9,2	13,1	16,33	9,4	11,2	11,6	12,2	9,03	9,1
T6	16,4	11,1	16,4	11,2	5,9	13,5	11,6	8,7	12,81
C1	30,4	39	21,1	14	28,35	32,1	14,6	18	25,2
C2	12,4	15,88	11,8	6,1	7,5	13	9,9	6,26	13,28
C3	15	18	7,5	10,5	11,5	15,2	15,7	7,56	13,44
C4	29,3	24,4	41	17	24,25	27,5	39,3	15,3	22,5
C5	12	8,2	10,5	11	6,26	8,5	11,3	8,15	8,66
C6	12,1	19,1	19	16,3	5,61	16,9	21,9	9,7	13,86

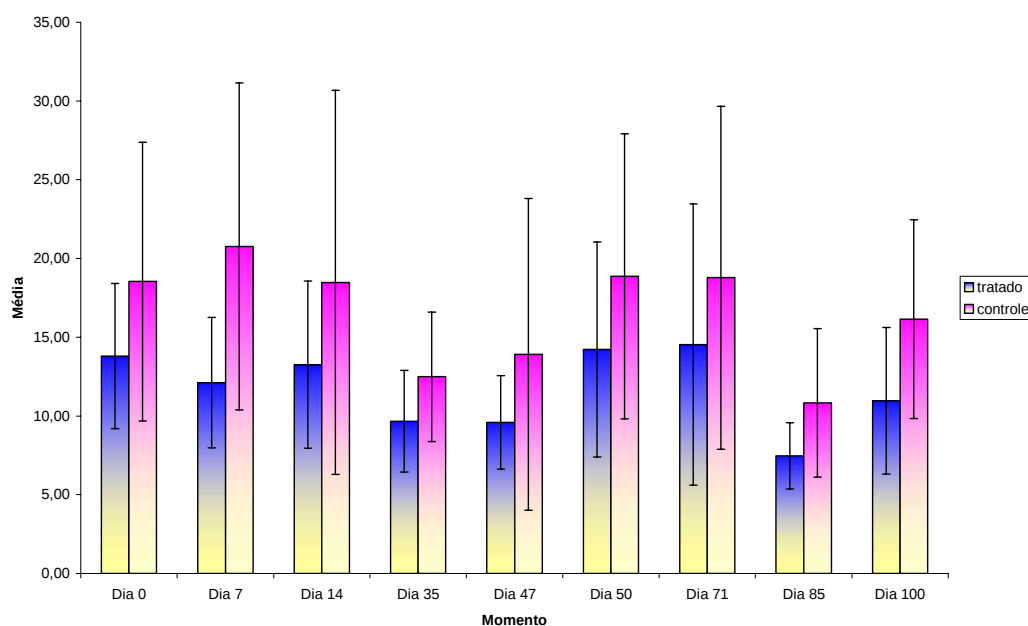


Figura 10- Gráfico referente aos leucócitos totais segundo momento e grupo

Na tabela 8 e na figura 11 observam-se a contagem dos linfócitos de acordo com os grupos e os momentos.

Tabela 8 - Mediana, 1^o e 3^o quartil, entre colchetes, referentes aos linfócitos segundo momento e grupo. (1500 - 7000 linfócitos/ μ L, referência segundo Schalm's, 2000).

	Grupo	
	Tratado	Controle
Dia 0	2393 [2088;3213]	3231 [1573;3968]
Dia 7	2175 [1276;2616]	2797 [1708;3438]
Dia 35	2875 [2313;3680]	2652 [1899;3420]
Dia 47	1792 [1176;2444]	1363[1220;2210]
Dia 50	2314 [844;4140]	2966 [2907;4365]
Dia 71	3033 [890;3193]	3394[2465;4494]
Dia 85	3525 [1640;4343]	4433[2465;4494]
Dia 100	1837 [1312;1896]	2081 [1224;3298]
Dia 113	3355 [2172;4737]	3750 [1992;4383]
P > 0,05		

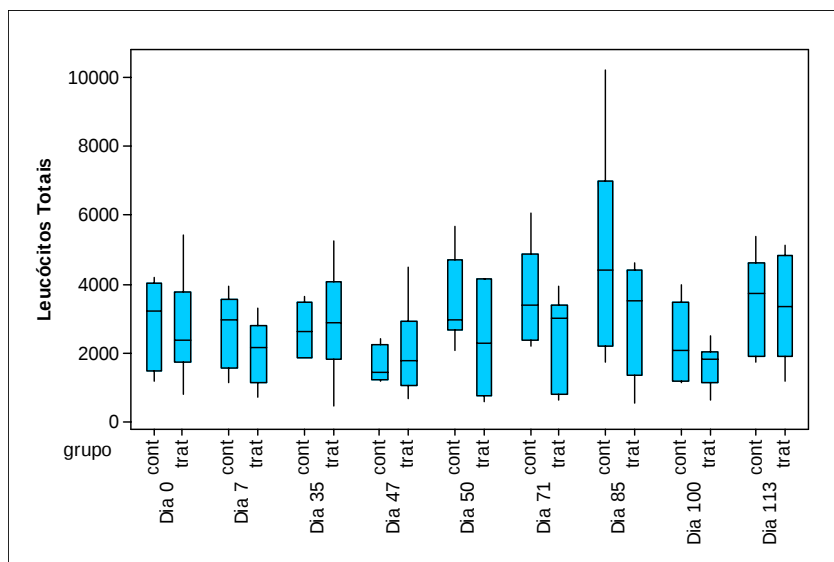


Figura 11- Box plot referente aos linfócitos segundo momento e grupo

Na tabela 9 e na figura 12 observam-se a contagem dos neutrófilos de acordo com os grupos e os momentos.

Tabela 9- Valores referentes aos neutrófilos segundo momento e grupo.
(2500 - 12500 neutrófilos/ μ L referência segundo Schalm's, 2000).

Grupo\dia	Dia 0	Dia 7	Dia 35	Dia 47	Dia 50	Dia 71	Dia 85	Dia 100	Dia 113
T1	4872	3762	4074	2448	5214	5544	4032	2744	2160
T2	7140	5559	3864	3900	3864	5253	3737	2014	3651
T3	12551	8932	13370	7546	7280	15130	25666	5986	6884
T4	18879	15633	10616	12936	8347	21414	13284	6930	14842
T5	4748	8909	11598	5922	7004	6148	6832	5869	5005
T6	8856	5883	8856	5264	3057	9180	4988	5916	6533
C1	25840	33150	17091	11900	19845	25359	9928	13500	19908
C2	7688	10958	6962	4148	4100	8710	6732	3569	7969
C3	7650	11160	4575	6405	6900	10336	8478	2570	7660
C4	22561	21716	36900	14280	18191	19250	27903	13617	17100
C5	7560	4674	6195	*	2817	5185	6102	6031	5890
C6	10164	15089	14060	13203	3145	13689	14892	5529	7623

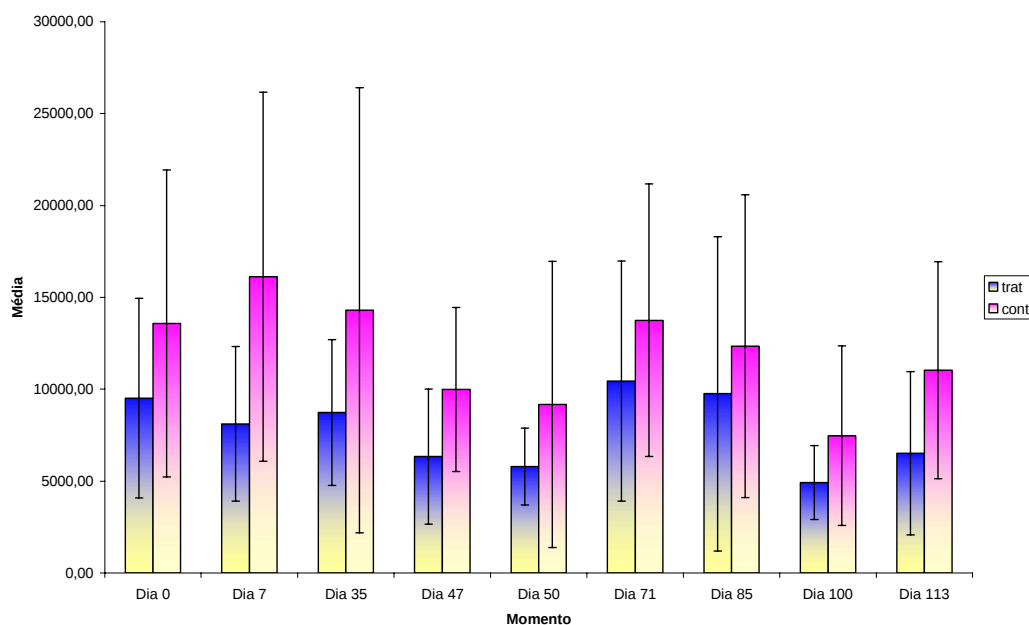


Figura 12- Gráfico referente aos neutrófilos segundo momento e grupo

Na tabela 10 e na figura 13 observam-se a contagem dos monócitos de acordo com os grupos e os momentos.

Tabela 10- Valores referentes aos monócitos segundo momento e grupo. (0 – 850 monócitos/ μ L, referência segundo Schalm's, 2000).

Grupo\dia	Dia 0	Dia 7	Dia 35	Dia 47	Dia 50	Dia 71	Dia 85	Dia 100	Dia 113
T1	522	726	145	1836	948	126	952	827	640
T2	238	763	552	312	276	309	909	256	197
T3	489	232	1337	392	211	356	1565	82	118
T4	203	965	544	147	695	774	984	369	1086
T5	644	131	163	470	335	348	1098	361	910
T6	492	444	164	448	176	270	812	435	384
C1	1216	1560	633	420	2551	321	146	2160	2520
C2	248	317	826	488	447	260	594	500	531
C3	600	540	150	630	575	456	942	226	672
C4	879	244	820	170	727	1650	786	459	675
C5	600	492	315	*	313	85	452	815	259
C6	121	0	380	978	168	338	876	679	277

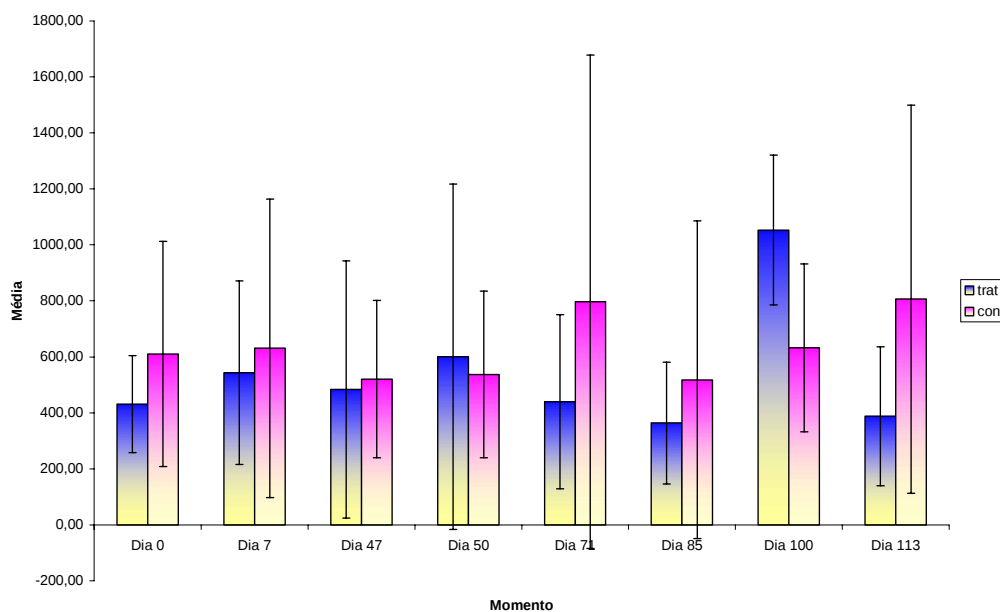


Figura 13- Gráfico referente aos monócitos segundo momento e grupo

Na tabela 11 e na figura 14 observam-se a contagem dos eosinófilos de acordo com os grupos e os momentos.

Tabela 11- Valores referentes aos eosinófilos segundo momento e grupo. (0 – 1500 eosinófilos/ μ L, referência segundo Schalm's, 2000).

Grupo\dia	Dia 0	Dia 7	Dia 35	Dia 47	Dia 50	Dia 71	Dia 85	Dia 100	Dia 113
T1	1218	1386	145	102	0	0	0	130	0
T2	1309	1962	1104	1326	920	1545	808	530	1283
T3	1141	1160	1910	686	2110	1424	131	820	1068
T4	406	579	136	294	695	516	492	92	0
T5	920	1834	1306	564	1230	1160	122	903	273
T6	1640	1443	2132	1008	588	1080	920	348	768
C1	2128	3120	1477	420	283	1926	2628	180	1008
C2	496	1270	354	244	0	130	198	187	398
C3	2550	2160	900	1050	920	1520	1256	756	1881
C4	2637	732	1230	340	970	550	393	0	450
C5	600	410	735	*	187	765	904	163	519
C6	242	573	1140	652	224	676	219	194	554

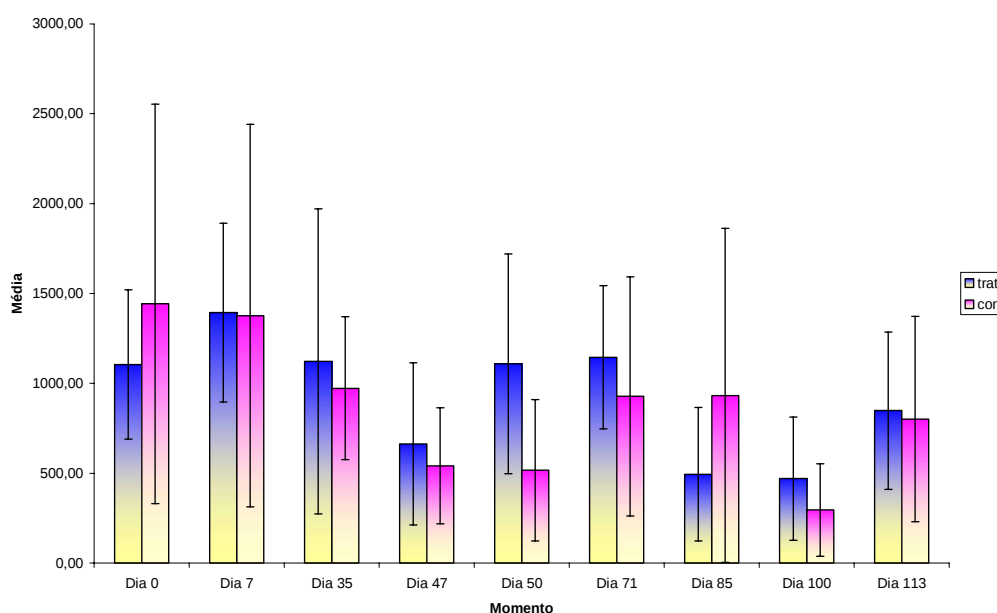


Figura 14- Gráfico referente aos eosinófilos segundo momento e grupo.

No estudo dos leucócitos totais observou-se que não houve diferenças estatísticas. Quando analisou-se individualmente os animais, observou-se que C4 e C9 apresentaram leucocitose em alguns momentos, secundário a enterite e rinotraqueíte, respectivamente.

As citopenias são os achados mais prevalentes, como linfopenia, neutropenia e trombocitopenia, mas são mais frequentes em animais com CAF. (SHELTON *et al.*, 1991). Granulocitopenias isoladas, não relacionadas ao uso de drogas, são relativamente comuns, embora raramente atinjam níveis críticos. Embora anticorpos antineutrófilos já tenham sido descritos, o mecanismo aparentemente mais comum é granulopoiese ineficaz. Também são comuns neutropenias induzidas por medicações, especialmente zidovudina. Outros análogos de nucleotídeos e os inibidores de protease associam-se menos frequentemente à toxicidade medular (RACHID *et al.*, 2003). Dentre os 12 animais, apenas um, o T1 apresentou leucopenia. Ele fez parte do grupo dos tratados, foi retirado do tratamento, após quinze dias do início do mesmo, por apresentar efeitos colaterais ao AZT como vômito, apatia e anorexia. Após melhora do quadro clínico apresentando ganho de peso e maior versatilidade optou-se por reintroduzi-lo ao tratamento, quando começou a apresentar CAF. Uma semana depois, o tratamento foi interrompido

novamente, e mesmo após um mês sem tratamento a leucopenia foi progredindo com neutropenia e linfopenia, sendo compatível com os relatos dos autores anteriormente citados. Hofmann-Lehmann *et al.* (1997) relataram as mesmas alterações quando realizado experimental.

5.2.3 Plaquetometria

Na tabela 12 e na figura 15 observam-se a concentração das plaquetas de acordo com os grupos e os momentos.

Tabela 12- Mediana, 1^o e 3^o quartil, entre colchetes, referentes às plaquetas segundo momento e grupo. ($300 - 800 \times 10^3/\mu\text{L}$, referência segundo Schalm's, 2000).

	Grupo	
	Tratado	Controle
Dia 0	224725a [156550;318150]	242400a [154025;459550]
	280275a [262600;318150]	386325a [328250;5151]
Dia 7	202000a [121200;277750]	285325a [171700;318150]
	244925a [156550;414100]	370052a [232300;459550]
Dia 35	194450a [126250;267650]	345950a [70700;398950]
	275225a [171700;358550]	368650a [272700;378750]
Dia 47	204525a [146450;227250]	101000b [75750;156550]
	170000a [160000;200000]	* 250000a [230000;58000]
Dia 71	220000a [220000;240000]	290000a [280000;400000]
Dia 85		
Dia 100		
Dia 113		

Letras minúsculas comparam grupos em cada momento

* Controle estatisticamente significativo.

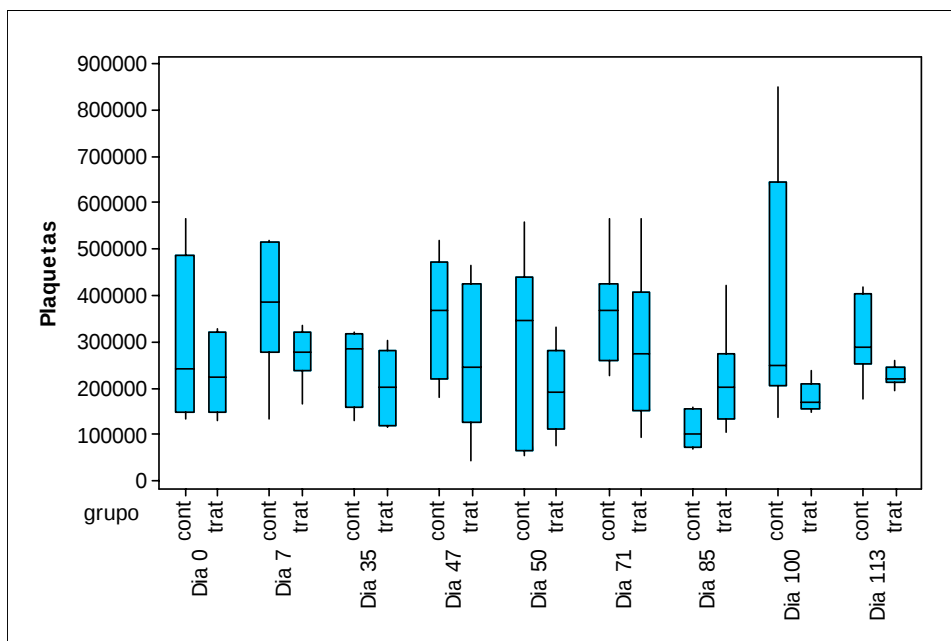


Figura 15- Box-plot referente às plaquetas segundo momento e grupo

Em relação à plaquetometria houve diferença apenas no dia 85 do grupo controle. Essa alteração pode ser devido à agregação plaquetária que gera uma falsa trombocitopenia e que em gatos normalmente acontece. Em humanos uma das principais causas de trombocitopenia é secundária a destruição imunomediada (RACHID *et al.*, 2003). Em gatos acredita-se estar relacionada à sua produção ineficaz pela medula óssea podendo ser secundária a vasculite (NELSON & COUTO, 1994; BARR *et al.*, 1997).

5.2.4 Imunodifusão Dupla em Gel de Agar à 1,5%

Na tabela 13 e na figura 16 observam-se a concentração da imunodifusão dupla em gel de agar a 1,5% de acordo com os grupos e os momentos.

Tabela 13- Mediana, 1^o e 3^o quartil, entre colchetes, referentes à imunodifusão segundo momento e grupo.

	Grupo	
	Tratado	Controle
	10 [10;10] A	10 [10;11] A
Dia 0	9[9;9] B	9[9;9] B
Dia 7	8[8;9] B	8[8;9] B
Dia 21	9[9;9] B	8[8;9] B
Dia 35	9[8;9] B	8[8;9] B
Dia 47	8[6;8] B	8 [7;9] B
Dia 50	9[7;9] B	8[8;9] B
Dia 71	8[7;8] B	7[6;8] B
Dia 85	7 [7;8] B	8[8;9] B
Dia 100	9[8;9] B	9[9;9] B
Dia 113		

Letras diferentes comparam momentos em cada grupo, onde há diferença estatística

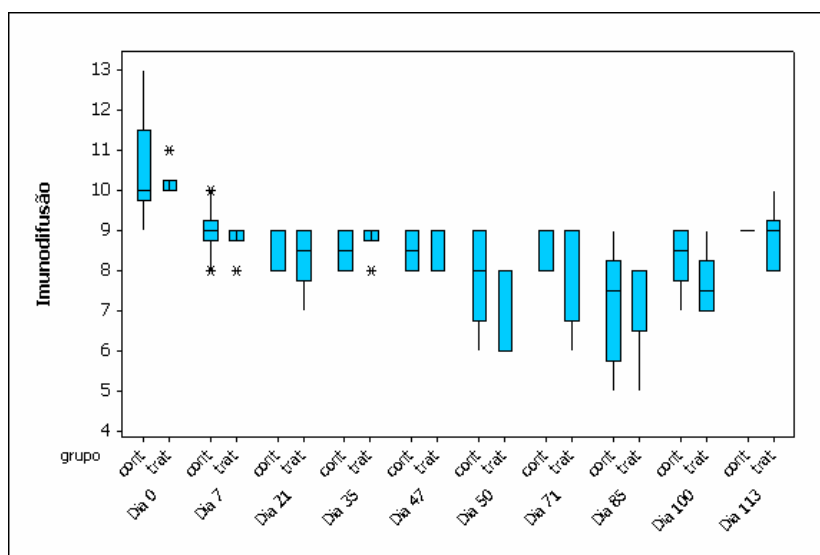


Figura 16- Box plot referente à imunodifusão segundo momento e grupo.

Na imunodifusão, não houve diferença significativa entre os grupos diante do tratamento com AZT. Houve diferença a partir do dia 7 que se manteve até o final do experimento, estando de acordo com os autores abaixo citados referendado a imunopatogênese. Não se adotou valor de referência para esta técnica, apenas acompanhamento durante o tratamento.

A imunopatogênese do FIV não está bem estabelecida. Sabe-se que durante a fase subclínica há produção de anticorpos anti-FIV e liberação de citocinas capazes de manter baixa circulação viral. Segundo Hohdatsu *et al.* (2005) essa supressão da viremia é conferida ao linfócito T CD8⁺, pois quando diminuíram a concentração dessa célula in vivo, aumentou a quantidade de DNA proviral levando os animais a apresentarem sinais clínicos da doença. O CD8⁺ é importante, pois libera citocinas específicas anti-fiv como Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF α) e células T liberam citocinas antivirais como Interferon gama (IFN γ). De uma forma geral, em gados FIV positivos encontramos o perfil de citocinas assim distribuídas: TNF α , IFN γ , Interleucina 10 (IL-10) aumentados e diminuição de IL-12, IL-2 e IL-4 (BARR *et al.*, 1997; DEAN *et al.*, 1998; CRAWFORD *et al.*, 2001; AVERY *et al.*, 2004; LEVY *et al.*, 2004; LI *et al.*, 2005; PAILLOT *et al.*, 2005). Matsumoto *et al.* (1997) quantificaram a circulação de imunocomplexo em gatos FIV positivos e relataram uma maior concentração de imunocomplexo em animais que

apresentavam sinais clínicos em relação aos assintomáticos, podendo utilizar esse dado para avaliar o prognóstico do animal. Ackley *et al.* (1990) dosou as concentrações de imunoglobulina G (IgG), IgM e IgA em gatos FIV positivos que tinham hiperglobulinemia e encontrou resultados opostos aos descritos em humanos HIV positivos, onde todas as imunoglobulinas se encontram em altas concentrações em humanos e nos gatos apenas IgG se elevou, mantendo IgM e IgA em concentrações normais. Este trabalho está de acordo com Ackley *et al.* (1990), pois constatou-se hiperglobulinemia com altos títulos de IgG tanto no animais assintomáticos quanto nos gatos que apresentavam sinais clínicos, de ambos os grupos.

5.2.5 Bioquímica Clínica

5.2.5.1 Albumina

Na tabela 14 e na figura 17 observam-se a concentração da albumina de acordo com os grupos e os momentos.

Tabela 14- Valores referentes a albumina segundo momento e grupo. (2,1 – 3,3 g/dL, referência segundo Kaneko, 1997).

Grupo\dias	Dia 0	Dia 7	Dia 14	Dia 35	Dia 47	Dia 50	Dia 71	Dia 85	Dia 100	Dia 113
T1	1,7	1,2	1,6	1,4	1,6	1,1	1	1,1	1,1	1,2
T2	2,4	1,5	2	1,3	1,9	1,3	1,3	1,7	1,6	1,6
T3	2	1,2	2	1,2	1,9	1	1,1	1,3	1,2	1,5
T4	2	1,7	1,7	1,1	1,5	1	1,7	1,2	1,1	1,2
T5	2,2	1,6	2	1,2	1,6	1,4	1,3	1,7	1,6	1,5
T6	1,9	1,6	2,4	1,7	1,9	1,6	2,4	1,6	1,7	1,6
C1	1,9	1	1,9	1,5	1,4	1,8	1,1	1,2	1	1,2
C2	1,9	1,3	1,7	1	1,5	1	1	1,3	1,2	1,2
C3	2,6	1,5	2,3	1,7	2	2,2	1,5	1,7	1,9	1,7
C4	1,9	1,1	4,1	1,4	1,4	1,1	1,2	1,2	1,6	1,2
C5	2,1	1,5	2,2	1,4	1,58	2	1,5	1,9	1,9	1,5
C6	1,3	1,1	2,7	1,1	1,6	1,3	1,1	1,3	1,2	1,3

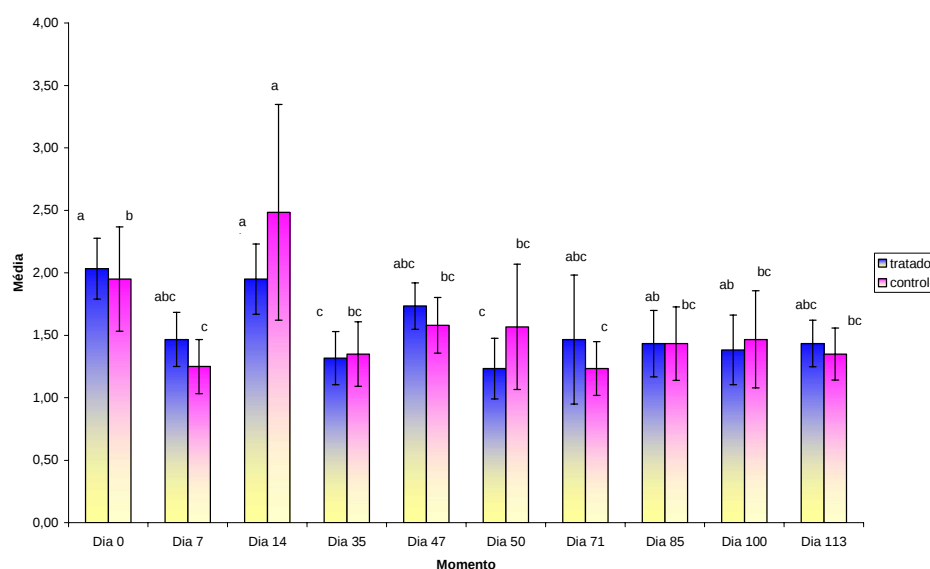


Figura 17- Média e desvio-padrão referentes à albumina segundo momento e grupo.

Letras minúsculas comparam médias dos momentos em cada grupo.

Não houve diferença entre os grupos em cada momento.

5.2.5.2 Alanina aminotransferase

Na tabela 15 e na figura 18 observam-se a atividade enzimática do ALT de acordo com os grupos e os momentos.

Tabela 15- Valores referentes atividade enzimática do ALT segundo momento e grupo. (6,7 – 39,5 U/dL, referência segundo Kaneko, 1997).

Grupo\dias	Dia 0	Dia 7	Dia 14	Dia 35	Dia 47	Dia 50	Dia 71	Dia 85	Dia 100	Dia 113
T1	10,5	13,1	17,5	22,2	32,8	13,4	19,4	15,7	33,7	26
T2	28	19,4	19,4	22,5	28	26	22,9	140,5	29,7	35
T3	18	11	23,9	34	35	30,9	13,8	32	24,8	33,9
T4	26	26,7	37	34,4	34	27,4	34,2	44,7	36,6	43,3
T5	44,5	31,3	34,4	65	43,3	139,2	39,5	93,9	276,6	59,5
T6	55,2	44,9	19,2	99,9	84	102	86,1	24,3	105,1	95,9
C1	46,5	32,8	59,9	35	56,5	44,7	27,9	35,6	29,2	28,8
C2	20,6	14,3	17,1	31,5	25	24,8	33,5	40,3	30,7	72,6
C3	74	103,2	95	28	38,8	0	98,6	74	63,2	88
C4	10,5	14	13,1	14,3	15,7	17,6	19	13,6	17,6	12,7
C5	43,1	43	54	0	0	180	75	43,5	40,2	52
C6	41,4	13,3	28,3	58,5	36	43,5	50	36,8	37,9	89

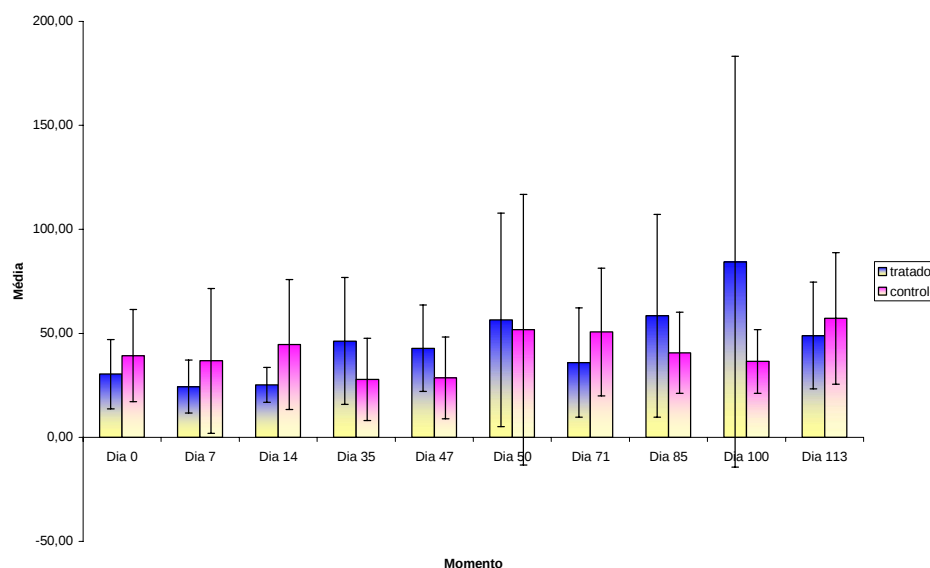


Figura 18- Média e desvio-padrão referentes ao ALT segundo momento e grupo. Não houve efeito de momento, grupo e nem da interação momento x grupo.

5.2.5.3 Colesterol

Na tabela 16 e na figura 19 observam-se a concentração do colesterol de acordo com os grupos e os momentos.

Tabela 16- Valores referentes a concentração do colesterol segundo momento e grupo. (25 – 130 mg/dL, referência segundo Kaneko, 1997).

Grupo\dias	Dia 0	Dia 7	Dia 14	Dia 35	Dia 47	Dia 50	Dia 71	Dia 85	Dia 100	Dia 113
T1	114	104	99	88	126	97	111	91	77	94
T2	116	120	111	105	106	110	108	124	91	85
T3	72	128	104	99	110	110	101	117	85	100
T4	104	71	81	106	102	102	100	126	91	109
T5	145	152	149	146	151	166	146	167	159	160
T6	116	124	136	136	133	154	154	153	141	140
C1	161	193	164	118	130	124	130	127	139	144
C2	132	138	137	115	128	124	118	133	97	120
C3	140	142	126	115	113	105,8	125	166	133	138
C4	113	119	131	131	99	124	110	135	111	110
C5	111	114	120	118,6	116	127	113	161	112	115
C6	100	128	129	114	110	136	111	136	109	141

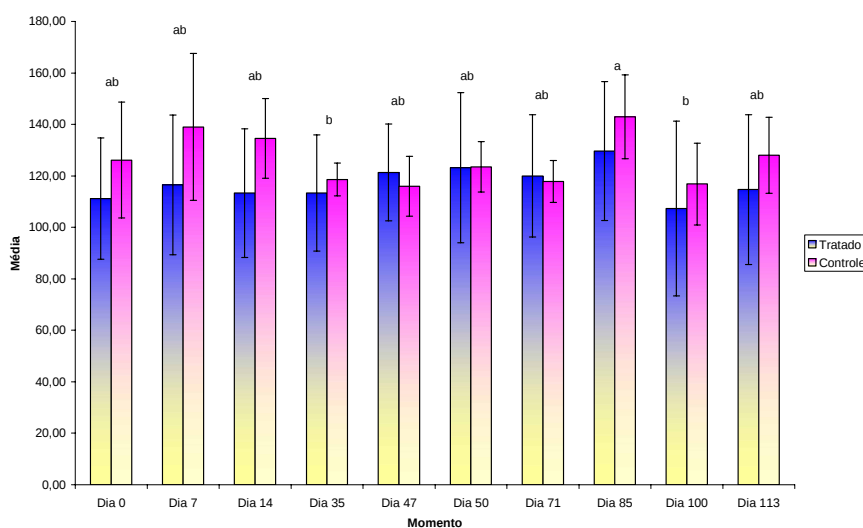


Figura 19- Média e desvio-padrão referentes ao colesterol segundo momento. Letras minúsculas comparam médias dos momentos.

5.2.5.4 Creatinina

Na tabela 17 e na figura 20 observam-se a concentração da creatinina de acordo com os grupos e os momentos.

Tabela 17- Valores referentes a concentração da creatinina segundo momento e grupo. (0,8 – 1,8 mg/dL, referência segundo Kaneko, 1997).

Grupo\dias	Dia 0	Dia 7	Dia 14	Dia 35	Dia 47	Dia 50	Dia 71	Dia 85	Dia 100	Dia 113
T1	1	0,9	1	0,6	0,8	0,9	1	0,9	1	1
T2	1	1,2	1	2	1,2	1	1	1	1,5	1,4
T3	1	1,2	1,6	1	1	1,4	1,6	1,6	1,7	1,8
T4	1,1	1	1	1	1,4	1,4	1,3	1,2	1,5	1,5
T5	1,1	0,8	0,8	1	1	1,2	1,2	1,1	1,3	1,2
T6	1,1	1,4	1	1,8	1,4	1	1,3	1,2	1,6	1,8
C1	0,8	0,8	0,8	1	0,8	1	1,2	1,1	1,3	1,1
C2	1,1	1,2	1,2	1	0,8	1,4	1,3	1,2	1,2	1,3
C3	1	2	1	2	1,6	0,91	1,8	1,8	2	1,9
C4	0,8	0,8	1	1	0,8	0,9	0,8	0,8	0,8	1,2
C5	1,1	1	1	1,2	1,08	1	1,4	1	0,9	1
C6	1,4	1,4	1	1	1,4	1,2	1,4	1,3	1,6	0,8

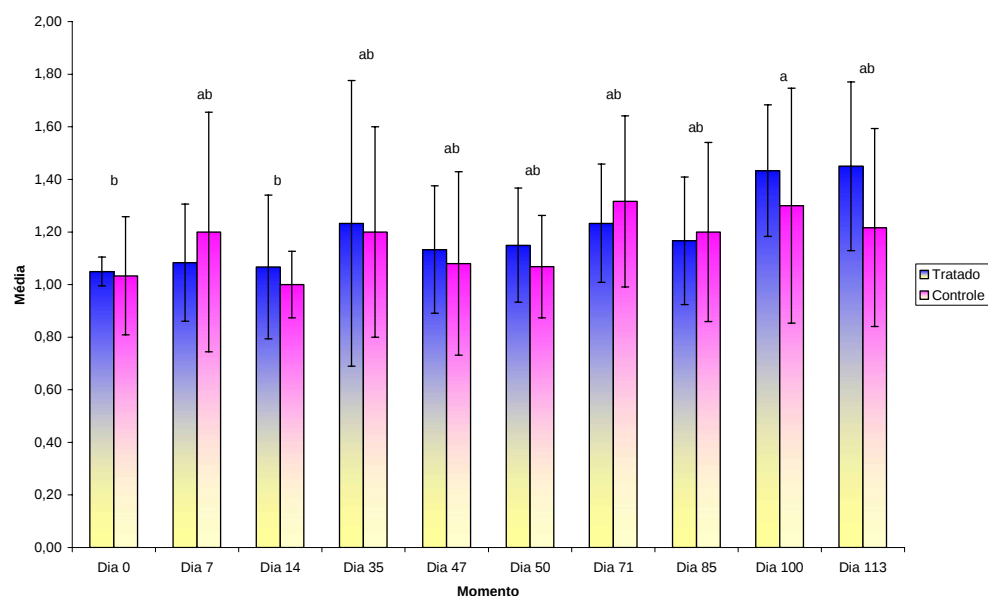


Figura 20- Média e desvio-padrão referentes à creatinina segundo momento. Letras minúsculas comparam médias dos momentos.

5.2.5.5 Gama glutamiltransferase

Na tabela 18 e na figura 21 observam-se a atividade enzimática da GGT de acordo com os grupos e os momentos.

Tabela 18- Valores referentes a atividade enzimática da GGT segundo momento e grupo. (1,3 – 5,1 U/dL, segundo Kaneko, 1997).

Grupo\dias	Dia 0	Dia 7	Dia 14	Dia 35	Dia 47	Dia 50	Dia 71	Dia 85	Dia 100	Dia 113
T1	1,3	1,42	0,6	1,89	2,19	2	2	1,5	2,5	1,5
T2	2	1,84	1,75	1,37	1,9	1,7	1,7	1,9	1,4	1,9
T3	3,7	1,43	1,33	1,58	2	2	2	1,4	1,7	1,4
T4	1	2	2,23	1,37	2,5	2	2	1,4	1,4	1,4
T5	1	2	2,14	1,38	1,34	1,35	1,4	1,7	1,4	1,7
T6	0,6	2,21	2,56	1,45	1,45	1,5	1,5	1,9	1,6	1,9
C1	1	1,77	1,75	1,42	1,87	1,6	1,6	1,3	1,2	1,3
C2	0,6	1,82	1,53	1,42	1,76	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
C3	1,2	2,14	2	1,46	2	0	1,5	1,7	1,7	1,7
C4	1	2,26	0,6	1,5	1,56	1,5	1,5	1,7	1,5	1,7
C5	1	2,17	2,09	1,48	1,76	2	2	1,6	1,6	1,6
C6	1	1,53	1,9	1,6	1,61	1,6	1,6	1,6	1,4	1,6

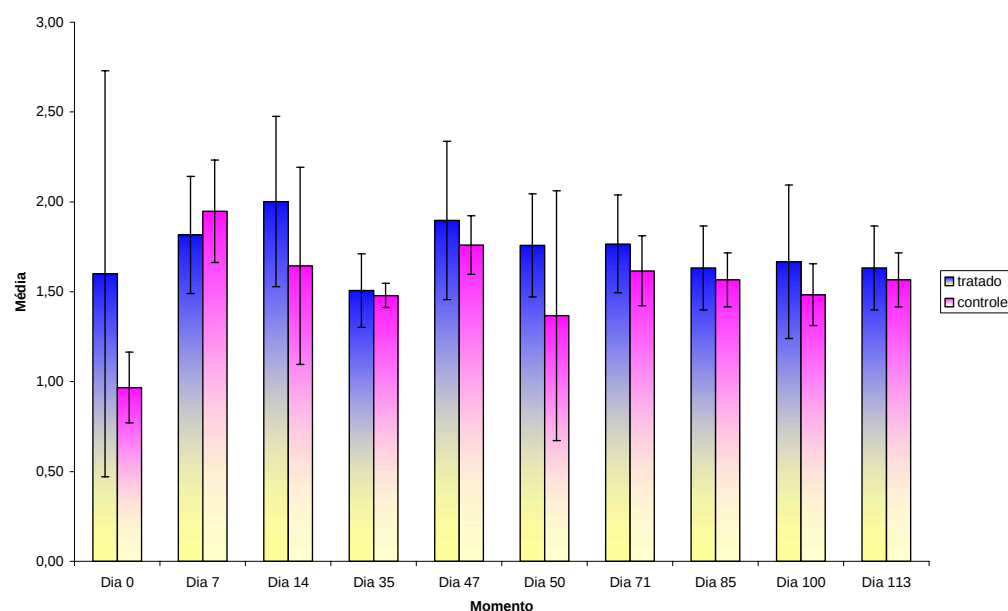


Figura 21. Média e desvio-padrão referentes ao GGT segundo momento e grupo. Não houve efeito de momento, grupo e nem da interação momento x grupo.

5.2.5.6 Globulinas

Na tabela 19 e na figura 22 observam-se a atividade enzimática da GGT de acordo com os grupos e os momentos.

Tabela 19- Valores referentes a atividade enzimática da GGT segundo momento e grupo. (2,6 – 5,1g/dL, referência segundo Kaneko, 1997).

Grupo\dias	Dia 0	Dia 7	Dia 14	Dia 35	Dia 47	Dia 50	Dia 71	Dia 85	Dia 100	Dia 113
T1	5,5	6	5,5	6,5	6,1	7	6,9	6,5	6,9	7,7
T2	4,7	5,7	5,1	6,4	6,1	6,8	6,3	6,8	6,2	5,9
T3	4,6	6,4	5,4	6,5	6,2	6,9	6,3	6,5	6,7	7,1
T4	4,5	5,1	5,4	6,9	6,5	7,2	5,6	7	6,9	6,8
T5	4,4	7,6	5,2	6,5	6,1	6,9	6,1	6,6	7	6,5
T6	4,5	5,2	4,1	8,2	5,5	5,7	4,8	5,9	5,3	4,9
C1	5,3	6,7	5,9	5,6	6,5	6,8	6,9	7,8	8	8,2
C2	5	5,9	5,2	6,5	6	6,5	7	6,7	8	6,1
C3	4,3	5,8	4,6	5,4	5,6	5,6	5,4	6,8	6,4	6,3
C4	5,4	6,2	3,1	6,5	6,7	7,3	6,6	7,3	7	7,4
C5	4,8	5,7	4,9	5,8	5,23	6,5	5,9	6,8	6,4	5,8
C6	5,9	6,1	4,7	6,4	6,6	7,3	6,4	7,2	7,6	8,1

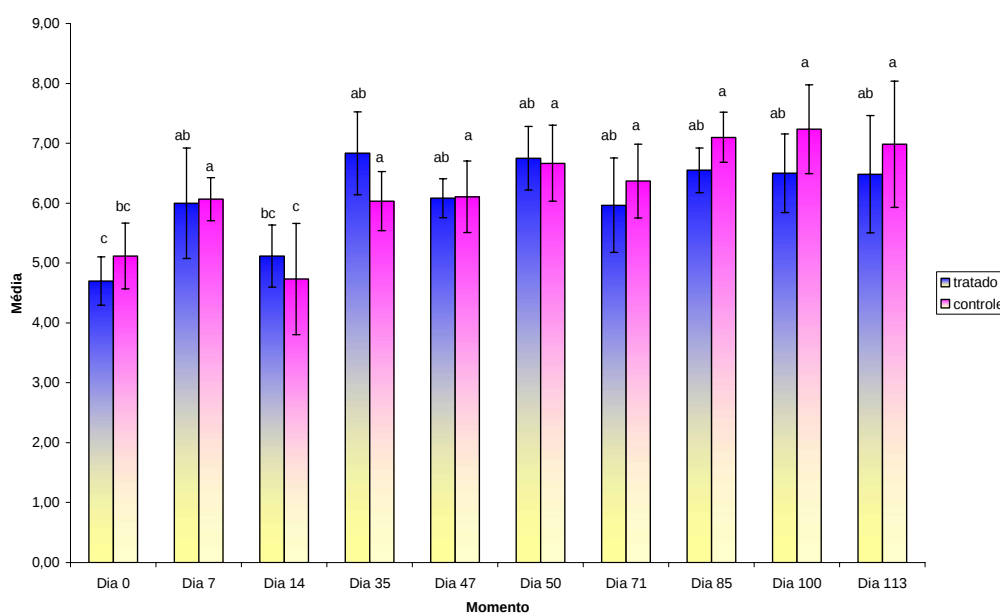


Figura 22-Média e desvio-padrão referentes às globulinas segundo momento e grupo. Letras minúsculas comparam momentos em cada grupo.

5.2.5.7 Triglicérides

Na tabela 20 e na figura 23 observam-se a concentração de triglicérides de acordo com os grupos e os momentos.

Tabela 20- Valores referentes a concentração de triglicérides segundo momento e grupo. (200 mg/dL, referência segundo Kaneko, 1997).

Grupo\dias	Dia 0	Dia 7	Dia 14	Dia 35	Dia 47	Dia 50	Dia 71	Dia 85	Dia 100	Dia 113
T1	76	53	36	32	54	35	44	44	25	13
T2	42	47	40	39	75	74	27	40	136	25
T3	26	61	33	38	44	41	14	44	80	31
T4	37	27	33	37	76	68	27	25	82	37
T5	40	42	28	28	30	57	18	53	117	39
T6	26	1	77	21	36	50	17	21	61	21
C1	42	39	48	44	43	40	28	11	80	108
C2	33	50	62	48	52	45	44	28	88	50
C3	56	49	66	37	37	48,4	72	43	84	91
C4	25	7	27	19	27	28	19	23	117	20
C5	25	1	37	32,6	36	73	36	113	120	61
C6	23	1	39	15	21	56	22	37	29	135

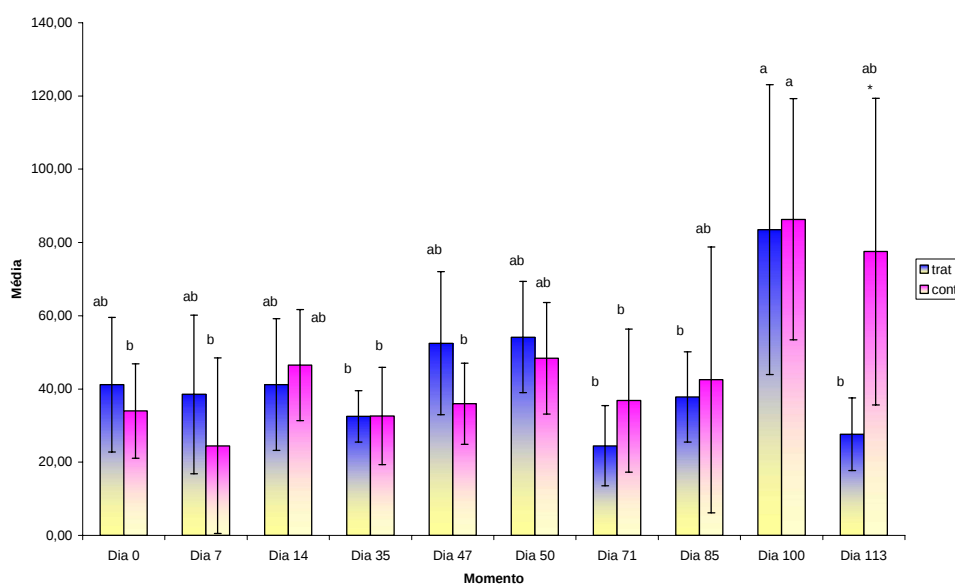


Figura 23 - Média e desvio-padrão referentes a triglicérides segundo momento e grupo.

Letras minúsculas comparam médias de momentos em cada grupo.

* Momento estatisticamente relevante.

5.2.5.8 Proteína total sérica

Na tabela 21 e na figura 24 observam-se o desempenho proteína total sérica de acordo com os grupos e os momentos.

Tabela 21- Mediana, 1^o e 3^o quartil, entre colchetes, referentes à proteína total segundo momento e grupo.

	Grupo	
	Tratado	Controle
	6,6 [6,5;7,1]a B	7,0 [6,9;7,2]a F
Dia 0		
	7,2 [6,8;7,6]a A	7,2 [7,2;7,3]a E
Dia 7		
	7,1[7,1;7,2]a B	7,2[6,9;7,4]a F
Dia 14		
	7,8[7,7;8,0]a A	7,4[7,1;7,5]b D
Dia 35		
	7,8[7,7;8,0]a A	7,9[7,6;8,1]a B
Dia 47		
	8,1[7,9;8,2]a A	8,4[7,8;8,6]a A
Dia 50		
	7,4[7,3;7,6]a A	7,6[7,4;8,0]a C
Dia 71		
	8,0[7,6;8,3]a A	8,5[8,0;8,7]a A
Dia 85		
	7,9[7,8;8,0]a A	8,4[8,0;8,8]a A
Dia 100		
	8,0[7,5;8,6]a A	8,3[7,3;9,4]a A
Dia 113		

Letras maiúsculas comparam momentos em cada grupo.

Letras minúsculas comparam grupos em cada momento.

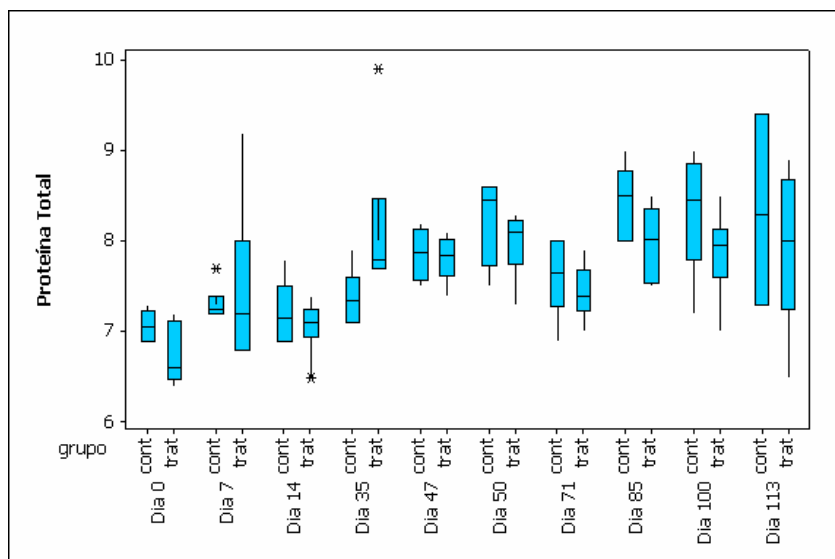


Figura 24- Box plot referente à proteína total segundo momento e grupo

Na análise da creatinina, tanto do grupo controle quanto do tratado, não houve diferença estatística. Individualmente, os doze animais apresentaram creatinina sérica dentro dos limites de referência para a espécie, durante o experimento. Segundo Poli *et al* (1995b) e Rachid *et al.* (2003) há dois tipos de lesão renal presente em pacientes com FIV. O primeiro tipo é por deposição de imunocomplexo levando a glomerulonefrite proliferativa e insuficiência renal. O segundo tipo tem como característica histológica a presença de glomeruloesclerose focal segmentar, associada à inflamação, fibrose intersticial, atrofia e dilatação tubular. Poli *et al.* (1995^a) confere também a lesão por ação direta do vírus que se replica no epitélio tubular renal.

Sellon & Hartmann (2006) relatam a importância da avaliação das atividades séricas das enzimas ALT e GGT, pois o FIV pode levar a uma hepatopatia. Lappin (1995) associa a hepatopatia a possibilidade da presença de linfoma hepático, lipidose hepática e necrose focal do fígado. Diz ainda, que o estado icterico pode não ter relação com o fígado e sim com destruição imunomediada das hemácias ou a presença de linfoma entérico. A icterícia hepática acontece quando há coinfeção do FIV com vírus da peritonite infecciosa felina ou com *Toxoplasma gondii*. Dos doze animais, apenas uma gata, a C4, apresentou plasma icterico com presença de enzimas hepáticas normais e hematimetria flutuando entre valor normal a anêmico e sendo não-reagente para toxoplasmose e leptospirose. Conferiu-se, então, a ela uma

icterícia pré-hepática. Neste estudo, não observou-se alterações estatisticamente relevantes nem quando analisou-se individualmente os gatos.

Segundo Cardoso (2005) o metabolismo lipídico é alterado tanto pela ação do vírus alterando citocinas do sistema imune como também através de fármacos como AZT e principalmente os inibidores de protease. As citocinas que são produzidas durante a infecção aumentam a síntese de ácidos graxos, lipoproteínas, triglicérides e colesterol. O aumento da lipogênese hepática inibe a enzima pós heparina e a atividade das lípases lipoprotéicas do tecido adiposo diminuindo a taxa de depuração de triglicérides. Com base nesse dado, foram dosados triglicérides e colesterol dos animais do grupo tratado e do grupo controle, observando-se apenas alterações significativas no último momento da dosagem de triglicérides, enquanto o colesterol não se alterou. Cardoso (2005) relacionou também a síndrome de lipodistrofia ao tempo de tratamento dos pacientes. Sellon & Hartmann (2006) conferem o aumento de triglicérides a diminuição e alteração do metabolismo lipídico, hipercortisolemia subclínica levando à hiperglicemia secundária a resistência periférica à insulina.

Outro tipo de alteração bioquímica descrita por Sellon & Hartmann (2006) é o aumento da proteína total secundário a hiperglobulinemia. Observou-se o aumento progressivo da proteína total e da globulina nos dois grupos testados, porém todos apresentavam albumina baixa. Isso acontece, pois o fígado percebe o aumento de globulina, fazendo feedback negativo para produção de albumina na tentativa de evitar a síndrome da hiperviscosidade sangüínea (STOCHKAM *et al.*, 2002). A albumina não diferiu entre os grupos apenas entre os momentos.

Hofmann-Lehmann *et al.* (1997) descrevem várias alterações bioquímicas, dentre elas a elevação da concentração de proteína total e globulina devido a constante estimulação antigênica viral que é dependente da concentração viral. Relata ainda, que após inoculação a globulina aumentou e começou a declinar a partir do mês cinqüenta e seis, onde houve diminuição de linfócitos B iniciando a fase de imunossupressão. O que observou-se nesse estudo, é que mesmo empregando o tratamento com AZT não houve diminuição da proteína total, da globulina e nem aumento da albumina. Sendo que a proteína total

sérica e a globulina não apresentaram diferenças entre os grupos, a diferença existiu apenas entre os momentos.

5.3 Resultados Clínicos

Durante o experimento, alguns animais do grupo controle apresentaram complicações secundárias desenvolvendo sinais de rinotraqueíte, conjuntivite (figura 25) e úlceras nasais. Nesse mesmo grupo, um animal apresentou diarreia profusa e algumas vezes com estrias de sangue, com perda de peso embora se alimentando normalmente. Essa diarreia não foi associada a protozoários nem parasitas intestinais. Não foi responsiva a antibioticoterapia nem a restrição dietética. Acredita-se que sua origem seja inflamatória pela ação direta do vírus no intestino (LAPPIN, 1995).

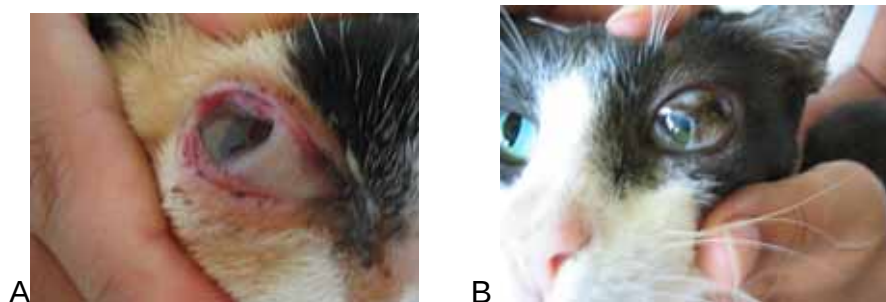


Figura 25 – A. Animal apresentando conjuntivite recidivante. B. Animal apresentando seqüela de conjuntivite, ocorreu aderência das conjuntivas.

No grupo dos animais tratados, apenas um animal apresentou sinais de rinotraqueíte (figura 26).



Figura 26 – Animal apresentando secreção ocular e espirros.

Apenas um animal apresentou efeitos colaterais da administração de AZT. Este foi retirado do tratamento, pois desenvolveu anemia, linfopenia e perda de peso progressiva. Após interrupção do tratamento, ele se restabeleceu, voltando a ganhar peso e adquirindo parâmetros hematológicos considerados dentro da referência. Porém, voltando ao tratamento, apresentou novamente anemia, com linfopenia, perda de peso grave e progressiva, com dermatite fúngica (figura 27), causada por fungo saprófita da família zigomiceto (figura 28) e gengivite (figura 29) caracterizando a CAF.



Figura 27 – A. Região lombo-sacra com alopecia afetada pelo fungo; B. Região occipital com focos alopécicos; C. Região cervical dorsal apresentando alopecia e eritema.



Figura 28 - Cultura do fungo presente o animal da figura 19. Fungo da família Zigomiceto.



Figura 29. Mesmo animal apresentando gengivite recidivante.

Novamente o tratamento foi interrompido e o tratamento de suporte foi recomendado, utilizando timomodulina como imunoestimulante, metronidazol (1 mg/kg/10 dias) como antibiotico e terapia fungicida com itraconazol (10 mg/kg/30dias), todos administrados via oral . Após trinta dias de tratamento, o pêlo voltou a crescer (figura 30), houve ganho de peso, restabelecimento da hematimetria, porém começou a apresentar um quadro progressivo de leucopenia com neutropenia e linfopenia, que caracteriza alterações clínicas da FIV podendo vir a apresentar o quadro FAIDS. A gengivite melhorou, porém recidivou quinze dias após término da antibioticoterapia. Hoje ele está sob monitoramento constante.



Figura 30 - A. Animal se recuperando após tratamento; B e C. Crescimento do pêlo após tratamento.

5.4 Considerações sobre o experimento

Na tentativa de se obter um estudo fidedigno dos diferentes momentos durante o tratamento, foi elaborado um modelo experimental não satisfatório para os parâmetros escolhidos na avaliação do tratamento com o AZT, podendo ter ocorrido interferência do estresse das colheitas “mascarando” o efeito do medicamento. Observamos ainda a necessidade de um novo modelo experimental no qual haja um maior espaçamento entre colheitas minimizando a interferência nos exames laboratoriais e sinais clínicos secundários ao estresse. Numa análise geral, o tratamento com AZT não ofereceu benefícios quanto a avaliação laboratorial considerando hemograma, bioquímica clínica e titulação de IgG.

6 Conclusões

- Pudemos conferir neste trabalho que o tratamento com AZT não resultou em melhora clínica dos animais tratados quando comparados com o grupo controle;
- O tratamento com AZT não alterou os parâmetros do hemograma, bioquímica clínica e quantificação de IgG total e quantificação viral quando comparados ao grupo controle;
- Tanto os animais do grupo tratado quanto os do grupo controle apresentaram sinais clínicos como gengivite, dermatite, otite, conjuntivite e enterite compatíveis com a infecção do FIV corroborando a ineficácia do AZT.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

ACKLEY, C. D.; YAMAMOTO, J. K.; LEVY, N.; PEDERSEN, N. C.; COOPER, M. D. Immunologic abnormalities in pathogen-free cats experimentally infected with feline immunodeficiency virus. *J. Virol.* Nov, p. 5652-55, 1990.

ARAI, M.; EARL, D.; YAMAMOTO, J. K. Is AZT/3TC therapy effective against FIV infection or immunopathogenesis?. *Vet. Immunol.Immunopathol.*, v. 85: p. 189-204, 2002.

AVERY, P. R.; HOOVER, E. A. Gamma interferon/interleukin 10 balance in tissue lymphocytes correlates with down modulation of mucosal feline immunodeficiency virus infection. *J. Virol.* Apr, p. 4011-19, 2004.

BACHMANN, M. H. *et al.* Genetic diversity of feline immunodeficiency virus: dual infection, recombination, and distinct evolutionaru rates among envelope sequence clades. *J. Virol.*, v. 71, p. 4241-53, 1997.

BARR, M. C.; OLSEN, C. W.; SCOTT, F. W. Moléstias virais felinas. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. *Tratado de Medicina Interna Veterinária*. São Paulo: Manole. Ed. 4 , v. 1, p. 592-99,1997.

BARR, M. C.; ZOU, L.; HOLZSCHU,D. L., PHILLIPS, L.; SCOTT, F. W.; CASEY, J. W.; AVERY, R. J. Isolation of a highly cytopathic lentivirus from a nondomestic cat. *J. virol*, v. 69, p.7371-74, nov, 1995.

BENDINELLI, M.; PISTELLO, M.; LOMBARDI, S.; POLI, A.; GARZELLI, C.; MATTEUCCI, D.; CECCHERINI-NELLI, L.; MALVALDI, G.; TOZZINI, F. *Clin. Microb. Rev.*, v. 08, n. 01, Jan, p. 87-112, 1995.

BORGES, D. A Guerra contra o Vírus. 2003. Disponível em: <http://www.bistil.com.br> Acesso em: 08.mar.2007.

BROWN, W. C.; BISSEY, L.; LOGAN, K. S.; PEDERSEN, N. C.; ELDER, J. J.; COLLISSON, E. W. Feline immunodeficiency virus infects both CD4⁺ and CD8⁺ T lymphocytes. *J. Virol*, v. 65, p. 3359-64, 1991.

BROWN, W. E.; OLMSTED, R. A.; MARTENSON, J. S. & O'BRIEN, S. J. Exposure to FIV and FIPV in wild and captive cheetahs. *Zoo biology*, v. 12, p. 135-142, 1993.

CARDOSO, L. C. R. P. **Perfil de citocinas e alterações clínico-metabólicas em indivíduos infectados pelo HIV-1 com e sem lipodistrofia.** Botucatu, 2005.132p. Tese (Doutorado). Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista.

CAXITO, F. A. *et al.* Study of feline immunodeficiency virus (FIV) in Minas Gerais by nested-PCR-RFLP analysis of the *gag* gene. In: XIV NATIONAL MEETING OF VIROLOGY, 8, 2003, Florianópolis. Anais ...Florianópolis: Santa Catarina, 2003, p. 209.

CRAWFORD, P. C., PAPADI, G. P.; LEVY, J. K.; BENSON, N. A.; MERGIA, A.; JOHNSON, C. M.; Tissue dynamics of CD8 lymphocytes that suppress viral replication in cats infected neonatally with feline immunodeficiency virus. *J. Infec. Dis.*, n. 184, p. 671-81, 2001.

CRAWFORD, P. C.; SLATER, M. R.; LEVY, J. K. Accuracy of polymerase chain reaction assays for diagnosis of feline immunodeficiency virus infection in cats. *JAVMA*, v. 226, n. 9, may 1, p. 1503-07, 2005.

CRETTON, E. M. *et al.* Catabolism of 3'-Azido-3'-deoxythymidine in hepatocytes and liver microsomes, with evidence of formation of 3'-Amino-3'-deoxythymidine, a highly toxic catabolite for human bone marrow cells. *Mol. Pharm.* v. 39, p. 25-66, 1990.

DAVIDSON, M. G.; ROTTMAN, J. B.; ENGLISH, R. V.; LAPPIN, M. R.; TOMPKINS, M. B. Feline immunodeficiency virus predisposes cats to acute generalized toxoplasmosis. *Am. J. Pathol.*, Nov, v.143, n.5, 1486-97,1993.

DEAN, G. A.; PEDERSEN, N. C. Cytokine response in multiple lymphoid tissues during the primary pahase of feline immunodeficiency virus infection. *J. Virol.* Dec, p. 9436-40, 1998.

FIERRO DEL, G. M.; MEERS, J.; THOMAS, J.; CHADWICK, B.; PARK, H. S.; ROBINSON, W. F. Quantification of lymphadenopathy in experimentally induced feline immunodeficiency virus infection in domestic cats. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, v.46, p. 03-12, 1995.

FIGUEIREDO, A. S. **Quantificação viral e seqüenciamento do gene da transcriptase reversa em gatos naturalmente infectados com o vírus da imunodeficiência felina tratados com azt.** 2007. 65f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootécnica, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

FREY, S. C. S., HOOVER, E. A.; MULLINS, J. I. Feline Immunodeficiency Virus Cell Entry. *Journal of Virology*, v. 75, n.11, p. 5433 – 5440, june, 2001.

GARCIA, J. L. et al. Soroepidemiologia da toxoplasmose em gatos e cães de propriedades rurais do município de Jaguapitã, Estado do Paraná, Brasil. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 29, n.1, p. 99-104, 1999.

GREENE, W. K. *et al.* Nucleotide sequences of Australian isolates of the feline immunodeficiency virus:comparison with other feline lentiviruses. *Arch: Virol.*, v. 132, p. 369-79, 1993.

HARTMANN, K. Feline immunodeficiency virus infection: an overview. *The Veterinary Journal*, n. 155, p 123-37, 1998.

HOFMANN-LEHMANN, R.; HOLZNAGEL, E.; OSSENT, P.; LUTZ, H. Parameters of disease progression in long-term experimental feline retrovirus (feline immunodeficiency virus and feline leukemia virus) infections: hematology, clinical chemistry, and lymphocyte. *Clin. Diag. Lab. Immunol.* Jan, p. 33-42, 1997.

HOHDATSU, T.; NAKANISHI, T.; SAITO, I.; KOYAMA, H. Ability of CD8⁺ T cell anti-feline immunodeficiency virus (FIV) activity and FIV proviral DNA load in mononuclear cells in FIV-infected cats. *J. Vet. Med. Sci.* v. 67, n. 1, p. 129-31, 2005.

JANEWAY, C. A.; TRAVERS, P.; WALPORT, M.; SHLOMCHIK, M. **Imunobiologia: o sistema na saúde e na doença.** Ed. 5, São Paulo: Artmed, p. 476-96, 2002.

KAKINUMA, S. *et al.* Nucleotide sequence of feline immunodeficiency virus: classification of Japanese isolates into two subtypes which are distinct from non-japanese subtypes. *J. Virol.*, v.69, p. 3639-46, 1995.

KANEKO, J. J. *et al.* **Clinical biochemistry of domestic animals.** New York: Academic Press, ed. 5, cap. 04, 05,13, 17, 1997.

KNIPE, D. M.; HOWLEY, P. M.; GRIFFIN, D. E.; LAMB, R. A.; MARTIN, M. A.; ROIZMAN, B.; STRAUS, S. E. **Fundamental Virology.** Ed. 4, New York: Lippincott-raven, capl 61, 2001.

LAPPIN, M. R. Opportunistic infections associated with retroviral infections in cats. *Sem. Vet. Med. Surg.* v. 10, n. 4, Nov, p. 244-50, 1995.

LARA, V. M.; ARAÚJO JR, J. P. Genetic subtyping of feline immunodeficiency vírus by gag gene sequencing... *Virus Reviws and Research*, São Paulo, v. 06, n. 2, p. 172 – 172, 2004.

LEVY, J. K.; LIANG, Y.; RITCHEY, J. W.; DAVIDSON, M. G.; TOMPKINS, W. A.; TOMPKINS, M. B. Failure of FIV-infected cats to control *Toxoplasma gondii* correlates with reduced IL-2, IL-6, and IL-12 and elevated IL-10 expression by lymph node T cells. *Vet. Immun. Immunol.*, v.98, p. 101-111, 2004.

LI, Z.; PHADKE, A.; WEAVER, E. V. A.; BALL, J. M.; COLLISSON, E. W. Feline CD8⁺ cells induced with FIV infected, irradiated T cells produce multiple anti-FIV factors. *Dev. Comp. Immunol.*, v. 29, 809-24, 2005.

LINENBERGER, M. L.; ABKOWITZ, J. K. Haematological disorders associated with feline retrovirus infections. *Bail. Clin Haematol.* Mar, v. 8, n. 1, p. 73-112, 1995.

MATSUMOTO, H.; TAKEMURA, N.; SAKO, T.; KOYAMA, H.; MOTOYOSHI, S.; INADA, Y. Serum concentration of circulating immune complexes in cats infected with feline immunodeficiency virus detected by immune adherence hemagglutination method. *J. Vet. Med. Sci.* v. 59, n. 5, p. 395-6, 1997.

MIYAZAWA, T.; TOMONAGA, K.; KAWAGUCHI, Y. & MIKAMI, T. The genome of immunodeficiency virus. *Archives of Virology*, v. 134, p. 221-234, 1994.

NELSON, R. W.; COUTO, C. G. Fundamentos de Medicina Interna de Pequenos Animais. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 702-05, 1994.

OTTENJANN, M.; WEINGART, C.; ARNDT, G.; KOHN, B. Characterization of the anemia of inflammatory disease in cats with abscesses, pyothorax, or fat necrosis. *J. Vet. Intern. Med.* Sep-Oct, v. 20, n. 5, p. 1143-50, 2006.

OUCHTERLONY, O. Diffusion-in-gel methods for immunological analysis. *Prog. Allergy*, v. 5, p. 1-78, 1958.

PAILLOT, R.; RICHARD, S.; BLOAS, F.; PIRAS, F.; POULET, H.; BRUNET, S.; ANDREONI, C.; JUILLARD, V. Toward a detailed characterization of feline

immunodeficiency virus-specific T cell immune responses and mediated immune disorders. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, v.106, p. 1 – 14, 2005.

PEDERSEN, N. C. *et al.* Virulence differences between two field isolates of feline immunodeficiency virus (FIV-Apetaluma and FIV-Cpgammar) in young adult specific pathogen free cats. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, v. 79, p. 53-67, 2001.

PHILLIPS, T. R.; TALBOTT, R. L.; LAMONT, C.; MUIR, S.; LOVELACE, K.; ELDER, J. Comparison of two host cell range variants of Feline Immunodeficiency Virus. *Virology*, v. 64, p. 4605-13, 1990.

PISTELLO, M. *et al.* Analysis of the genetic diversity and phylogenetic relationship of the Italian isolates of feline immunodeficiency virus indicates a high prevalence and heterogeneity of subtype B. *J. Gen. Virol.*, v. 78, p. 2247-57, 1997.

POLI, A.; ABRAMO, F.; MATTEUCCI, D.; BALDINOTTI, F.; PISTELLO, M.; LOMBARDI, S.; BARSOTTI, B.; BENDINELLI, M. renal involvement in feline immunodeficiency virus infection: p24 antigen detection, virus isolation and PCR analysis. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, n. 46, p. 13-20, 1995a.

POLI, A.; FALCONE, M. L.; BIGALLI, L.; MASSI, C.; HOFMANN-LEHMANN, R.; LOMBARDI, S.; BENDINELLI, M.; LUTZ, H. Circulating immune complexes and analysis of renal immune deposits in feline immunodeficiency virus-infected cats. *Clin. Exp. Immunol.* Aug, v. 101, n. 2, p. 254-8, 1995b.

RACHID, M.; SCHECHTER, M. Manual de HIV/AIDS. Revinter: Rio de Janeiro, ed. 7, p.124-27, 2003.

REGGETI, F.; BIENZLE, D. Feline immunodeficiency virus subtype A, B and C and intersubtype recombinants in Ontario, Canada. *J. Gen. Virol.*, v.85 (Pt 7), p. 1843 – 52, 2001.

RIGBY, M. A. *et al.* Evolution of structural proteins of feline immunodeficiency virus; molecular epidemiology and evidence of selection for change. *J. Gen. Virol.*, v.74, p. 425-36, 1993.

SELLON, R. K.; HARTMANN, K. Feline immunodeficiency virus infection. In: GREENE. **Infectious diseases of the dog and cat. ed.3, 2006, p.131-42**

SHELTON, G. H.; LINENBERGER, M. L.; ABKOWITZ, J. L. Hematologic abnormalities in cats seropositive for feline immunodeficiency virus. *JAVMA*, v. 199, n. 10, November 15, p. 1353-57, 1991.

SODORA, D. L. *et al.* Identification of three feline immunodeficiency viruses (FIV) *env* gene subtypes and comparison of the FIV and human immunodeficiency virus type 1 evolutionary patterns. *J. Virol.*, v. 68, p. 2230-38, 1994.

STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A. **Fundamentals of veterinary clinical pathology.** Iowa State Press, p. 461-86, 2002.

STRAUSS, J. H.; STRAUSS, E. G. **Viruses and human disease.** New York: Academic Press, 2002.

STRAUSS, J. H.; STRAUSS, E. G. **Viruses and human disease.** New York: Academic Press, 2002.

SVOBODOVÁ, V.; KNOTEK, K.; SVOBODA, M. Prevalence of IgG and IgM antibodies specific to *Toxoplasma gondii* in cats. *Vet parasitol*, 80, p. 173-76, 1998.

WEISS, D. J.; KREHBIEL, J. D.; LUND, J. E. Studies of the pathogenesis of anemia of inflammation: mechanism of impaired erythropoiesis. *Am. J. Vet. Res.* Oct, v. 44, n.10, p. 1832-5, 1983.

ZHANG, W. *et al.* Pharmacokinetics of zidovudine in cats. *AJVR*, v. 65, n. 6, june, p. 835-39, 2004.