



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Faculdade de Medicina Veterinária
Câmpus de Araçatuba

Jessica Thomé de Andrade

Eficácia da imunização profilática na Leucemia Viral Felina: Revisão Sistemática

**Araçatuba – São Paulo
2017**

Jessica Thomé de Andrade

Eficácia da imunização profilática na Leucemia Viral Felina: Revisão Sistemática

Trabalho Científico, como parte do Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado à Faculdade de Medicina Veterinária, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, câmpus de Araçatuba, para obtenção do grau de Médico Veterinário.

Orientadora: Prof. Adjunto Marion Burkhardt de Koivisto

**Araçatuba – São Paulo
2017**

ENCAMINHAMENTO

Encaminhamos o presente Trabalho Científico para que a Comissão de Estágios Curriculares tome as providências cabíveis.

Jessica Thomé de Andrade
Estagiária

Profa. Adjunto Marion Burkhardt de Koivisto
Orientadora

Araçatuba – São Paulo
Junho / 2017

EFICÁCIA DA IMUNIZAÇÃO PROFILÁTICA NA LEUCEMIA VIRAL FELINA: REVISÃO SISTEMÁTICA

Jessica Thomé de Andrade

RESUMO

A leucemia viral felina, causada pelo vírus da leucemia felina (FeLV), apresenta-se entre as doenças infecciosas mais comuns dos gatos levando a efeitos imunossupressores. Uma importante forma profilática para a doença é a vacinação dos felinos. Atualmente há vários tipos vacinais disponíveis para a prevenção da infecção. São comercializadas vacinas contendo o vírus inativado com ou sem adjuvante (Nobivac[®], Merck; Fel-O-Vax[®], Fort Dodge; Leukocell-2[®], Pfizer; Fevaxyn[®] FeLV, Schering-Plough; Fel-O-Guard[®] Plus 4+Lv-K, Fort Dodge; Eclipse[®]4+FeLV Schering-Plough; Versifel[®] FeLV, Zoetis), vacinas recombinantes com vírus vetorizados *canarypox* sem adjuvante (Purevax[®] e Eurifel[®], Merial) e vacina de subunidade recombinante adjuvada (Leucogen[®], Virbac). O objetivo do presente trabalho foi selecionar os tipos de imunização profilática na leucemia viral felina e avaliar se há eficácia comprovada pela literatura. Utilizou-se 14 artigos retirados dos bancos de dados PubMed, Science Direct e Google acadêmico para essa revisão sistemática. Os trabalhos foram classificados de acordo com as escalas de Jadad et al. (1996) e de Cook et al. (1995). A imunização contra a leucemia viral felina tem demonstrado eficácia na literatura. Dessa forma, as vacinas que obtiveram maior proteção contra a leucemia felina foram as inativadas, destacando-se Versifel[®] FeLV, Nobivac[®]-2-FeLV e Fel-O-Vax[®], sendo que vacina inativada em combinação com a recombinante também se demonstrou bastante eficaz. Contudo, divergências quanto ao protocolo de cada estudo devem ser levadas em consideração.

Palavras-chave: Vírus da leucemia felina, Gammaretrovirus, Vacinação, Gatos.

EFFECTIVENESS OF PROFILATIC IMMUNIZATION IN FELINE VIRAL LEUKEMIA: SYSTEMATIC REVIEW

Jessica Thomé de Andrade

SUMMARY

The Feline viral leukemia, caused by the feline leukemia virus (FeLV), is among the most common infectious diseases of cats leading to immunosuppressive effects. An important prophylactic form for the disease is the vaccination of felines. There are currently several vaccine types available for infection prevention. Vaccines containing the virus inactivated with or without adjuvant (Nobivac®, Merck; Fel-O-Vax®, Fort Dodge; Leukocell-2®, Pfizer; Fevaxyn® FeLV, Schering-Plow; Fel-O-Guard® Plus 4 LV-K, Fort Dodge, Eclipse®4 + FeLV Schering-Plow, Versifel® FeLV, Zoetis), non-adjuvanted canarypox vector viruses (Purevax® and Eurifel®, Merial) and adjuvanted recombinant subunit vaccine (Leucogen® , Virbac). The objective of the present study was to select the types of prophylactic immunization in feline viral leukemia and to evaluate if there is efficacy proven in the literature. We used 14 articles from the PubMed, Science Direct and Google academic databases for this systematic review. The work was classified according to the scales of Jadad et al. (1996) and Cook et al. (1995). Immunization against feline viral leukemia has been shown to be effective in the literature. Thus, the vaccines that obtained the greatest protection against feline leukemia were inactivated, namely Versifel® FeLV, Nobivac®-2-FeLV and Fel-O-Vax®, and inactivated vaccine in combination with the recombinant was also demonstrated quite effective. However, disagreements over the protocol of each study should be taken into account.

Key words: Feline leukemia virus, Gammaretrovirus, Vaccination, Cats.

LISTA DE TABELAS

TRABALHO CIENTÍFICO

Tabela 1. Classificação dos trabalhos quanto a sua confiabilidade, utilizando-se as escala de Jadad et al. (1996) e de Cook et al. (1995) 16

Tabela 2. Resumo dos experimentos incluindo Autor, número amostral, tipo vacinal, protocolos, desafio e resultados obtidos nos diferentes estudos..... 19

LISTA DE GRÁFICOS

TRABALHO CIENTÍFICO

Gráfico 1. Número de trabalhos selecionados em relação a cada tipo vacinal utilizado.....	15
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CTL	Linfócitos T citotóxicos
FeLV	Vírus da Leucemia Felina
gp70	Glicoproteína 70 do envelope viral
ICGA	Ensaio Imunocromatográfico
IFI	Imunofluorescência Indireta
IL-12	Interleucina 12
IL-18	Interleucina 18
IP	Intraperitoneal
p27	Proteína 27 do nucleocapsídeo viral
RIM	Imunomigração Rápida
SC	Subcutâneo
SPF	Livre de patógenos específicos
TD	Transdérmico

SUMÁRIO

RESUMO

SUMMARY

1. INTRODUÇÃO	10
2. MATERIAIS E MÉTODOS	14
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	15
4. CONCLUSÃO	25
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26

1. INTRODUÇÃO

A leucemia viral felina está entre as doenças infecciosas mais comuns dos gatos (LEVY et al., 2008). A patologia é causada pelo vírus da leucemia felina (FeLV) e apresenta principalmente efeitos supressores na medula óssea e sistema imunológico (HARTMANN, 2011). A taxa de infecção por FeLV varia de 1 a 8% em gatos saudáveis e até 21% em doentes (HARTMANN, 2006). A soroprevalência é altamente variável dependendo da idade, sexo, estilo de vida, condição física e localização geográfica, sendo os gatos adultos, machos intactos, errantes e que vivem em alta densidade, os mais susceptíveis ao risco de soropositividade (LEVY et al., 2008; LEVY et al., 2006).

O FeLV é um gammaretrovírus que apresenta genoma viral constituído por duas cópias de RNA de fita simples. Após ligar-se aos receptores específicos da superfície celular do hospedeiro, o vírus penetra no citoplasma da célula e ocorre a transcrição em DNA através da enzima transcriptase reversa. O DNA viral se integra ao genoma celular do hospedeiro sob a forma de um provírus. Assim, a síntese de proteínas virais ocorre com a produção de vírions na membrana celular por brotamento na célula. (HARTMANN, 2012a). O provírus é persistente na célula hospedeira, ou seja, uma vez infectado, o felino torna-se portador permanente (HARTMANN, 2012b). O genoma do provírus apresenta em suas extremidades 5' e 3' sequências repetitivas (LTR) que possuem função de controlar os genes virais; e na porção intermediária encontram-se os genes *gap*, *pol* e *env* que codificam diversas proteínas. O gene *env* é responsável por codificar a proteína p15e, responsável por causar imunossupressão, e a Gp70 (glicoproteína do envelope 70) que promove a absorção do vírus pela célula hospedeira. As enzimas transcriptase reversa e integrase são codificadas pelo gene *pol*. A partir do gene *gap* são codificadas as p10, p15c, p12 e p27; sendo esta última presente no citoplasma das células infectadas, sangue periférico, saliva e lágrimas de gatos infectados (HAGIWARA; JUNIOR, 2016; HARTMANN, 2006)

A transmissão ocorre entre um gato saudável e um susceptível por meio da saliva, sangue, leite materno e outros fluidos, além da via transplacentária e a possibilidade de via iatrogênica (PACITI et al., 1986; HARDY et al., 1976). A via horizontal representa maior importância para transmissão do FeLV, principalmente por

meio da saliva que apresenta alto número de partículas virais o que ocorre geralmente pelo hábito de *grooming* e compartilhamento de vasilhames (LEVY et al., 2008). A infecção inicial ocorre pela via oronasal seguida pelos tecidos linfoides, progride para a medula óssea e infecta as células precursoras hematopoiéticas (HARTMANN, 2012a; ROJIKO et al., 1979). Desordens hematopoiéticas, particularmente citopenias causadas por supressão da medula óssea são observados frequentemente em felinos FeLV positivos. Esses animais podem apresentar, portanto, anemia (principalmente não regenerativa), linfopenia, neutropenia, síndrome de panleucopenia, anormalidades plaquetárias e pancitopenia. Além disso, podem desenvolver neoplasias, sendo a mais comum o linfoma, estados inflamatórios crônicos e susceptibilidade a infecções secundárias e oportunistas (HARTMANN 2012b, HOOVER; MULLINS 1991).

O FeLV foi classificado em quatro subgrupos de acordo com as sequências de nucleotídeos de superfície (A, B, C e T). As diferentes linhagens do vírus estão associadas à infecciosidade, virulência e doença, sendo que apenas o FeLV-A é contagioso e transmitido horizontalmente entre os susceptíveis; e os demais são resultantes da mutação ou recombinação deste. (HARTMANN, 2006). Quanto à infecção, encontra-se classificada atualmente em infecção abortiva – anteriormente denominada de regressiva - (o hospedeiro apresenta resposta imune humoral e celular eficazes em nível de tecido orofaríngeo), infecção regressiva – antiga viremia transitória seguida de infecção latente - (o hospedeiro apresenta resposta imune eficaz com interrupção da viremia antes ou logo após infecção da medula óssea), infecção progressiva – antiga viremia persistente - (extensa replicação viral) e infecção focal (replicação viral focal atípica persistente). O tipo de infecção depende de fatores individuais como a idade que o animal foi exposto ao vírus, à carga viral, o subtipo viral e doenças concomitantes. (LUTZ et al., 2009; HARTMANN, 2012b; LEVY et al., 2008).

O diagnóstico pode ser realizado pela detecção do antígeno viral principal p27, que é abundante na maioria dos gatos infectados. Utilizam-se testes de detecção de antígenos como: ELISA, imunomigração rápida (RIM), ensaios imunocromatográficos (ICGA) e imunofluorescência indireta (IFI). A detecção de ácido nucleico pela técnica de PCR também é bastante utilizada. (HAGIWARA; JUNIOR, 2016). O tratamento das retroviroses baseia-se em terapia de suporte, tratamento sintomático das infecções

secundárias induzidas pela imunossupressão e em uma terapia antiviral e imunomoduladora. Vale ressaltar que o tratamento não eliminará o vírus do organismo portador, pois o felino torna-se portador permanente depois de infectado (HARTMANN, 2012b).

A infecção por FeLV tem sido controlada pelo uso de vacinas. A primeira vacina comercial contra a leucemia viral felina foi introduzida nos Estados Unidos em 1984 e apresentava métodos convencionais preparados a partir de antígenos de FeLV conferindo proteção contra a viremia (LUTZ et al., 2009; LEWIS et al., 1981). Atualmente há varios tipos vacinais disponíveis para a prevenção da infecção. São comercializadas vacinas contendo o vírus inativado com ou sem adjuvante (Nobivac®, Merck; Fel-O-Vax®, Fort Dodge; Leukocell-2®, Pfizer; Fevaxyn® FeLV, Schering-Plough; Fel-O-Guard® Plus 4+Lv-K, Fort Dodge; Eclipse®4+FeLV Schering-Plough; Versifel® FeLV, Zoetis), vacinas recombinantes com vírus vetorizados *canarypox* sem adjuvante que incorporam os genes *env* e *gag* de FeLV (Purevax® e Eurifel®, Merial); e uma vacina de subunidade recombinante que contém a proteína P45, a forma não glicosilada de gp70 (Leucogen®, Virbac) (SYKES; HARTMANN, 2014; RICHARDS et al., 2006).

As vacinas podem ser administradas profilaticamente, ou seja, antes da exposição ao patógeno, ou terapeuticamente, após a exposição. O princípio fundamental da vacinação é administrar uma forma morta ou atenuada de um agente infeccioso ou um componente de um microrganismo que não causa a doença, mas provoca resposta imune fornecendo proteção contra a infecção pelo microrganismo patogênico vivo (ABBAS et al., 2015). A iniciação de respostas dependentes de células T imunológicas contra os antígenos de proteínas requer que os antígenos sejam administrados com adjuvantes. A maioria dos adjuvantes provoca a resposta imune inata, com aumento da expressão de coestimuladores e da produção de citocinas, tais como a IL-12, que estimula o crescimento e a diferenciação das células T. As bactérias mortas pelo calor são adjuvantes poderosos comumente utilizados (ABBAS et al., 2015).

As vacinas inativadas são compostas por microrganismos mortos por agentes químicos ou físicos e conferem a ausência do poder infeccioso do agente, mantendo poder imunogênico. Porém, várias doses de reforço podem ser necessárias para induzir resposta imunitária adequada (ABBAS et al., 2015). A vacina inativada contra

a leucemia viral felina é produzida a partir de cultivos em linhagens celulares dos subgrupos A e B, e o vírus é quimicamente inativado e combinado ou não com um adjuvante concebido para aumentar a resposta imunitária (NOBIVAC, 2016).

A vacina recombinante se caracteriza por introduzir os genes que codificam antígenos microbianos em um vírus não citopático e infectar o indivíduo com este vírus (ABBAS et al., 2015). Assim, o vírus funciona como uma fonte de antígeno em um indivíduo inoculado. A grande vantagem de vetores virais é que, tal como outros vírus vivos, induzem o complemento total das respostas imunológicas, incluindo respostas CTL (linfócitos T citotóxicos) fortes (ABBAS et al., 2015). A vacina recombinante contra FeLV e vírus *canarypox* carrega os genes *env* e *gag* para a glicoproteína gp70 do envelope, e a proteína de nucleocápsideo p27 (TARTAGLIA et al., 1993). Após a aplicação da injeção ocorre uma única fase de replicação do poxvírus, que é suficiente para a expressão do gene FeLV inserido. O efeito protetor é conseguido com estímulo da imunidade celular, o que leva ao rápido desenvolvimento de anticorpos quando gatos vacinados encontram o vírus (HOFMANN-LEHMANN et al., 2006). A vacina disponível na Europa é produto diferente do licenciado para uso nos Estados Unidos (LUTZ et al., 2009).

As vacinas de subunidades são compostas de antígenos purificados a partir de microrganismos ou toxinas inativadas. Quando se utiliza proteína purificada ocorre estimulação das células T auxiliares e as respostas de anticorpos, mas elas não geram CTLs potentes. A vacina de subunidade recombinante FeLV contém o antígeno purificado p45 do invólucro viral do FeLV obtido por recombinação genética de uma estirpe de *Escherichia coli*. A suspensão antigênica é adjuvada com um gel de hidróxido de alumínio e com um extrato purificado de Quillaja saponária. (LEUCOGEN, 2009).

A vacinação contra o vírus da leucemia felina (FeLV) é relatada como não essencial. Nenhuma vacina proporciona 100% de proteção contra a infecção pelo FeLV, e mesmo quando a proteção contra a infecção progressiva ocorre, infecções regressivas ainda podem ocorrer. No entanto, uma vez que os filhotes são mais propensos do que os adultos a tornarem-se persistentemente virêmicos, a American Association of Feline Practitioners (AAFP) recomenda que todos os gatinhos recebam uma série primária de duas doses, começando com 8 semanas de idade e um reforço um ano após completar a série inicial. Não existem estudos publicados que

documentem a duração da vacina da imunidade para além de 1 ano. Por conseguinte, os adultos considerados em risco sustentado de exposição (por exemplo, gatos com acesso às ruas) devem ser vacinados anualmente. É critério do clínico se o risco de exposição num gato individual justifica a administração da vacina (SYKES; HARTMANN, 2014; FORD, 2009; SCHERK et al., 2013).

A documentação de um teste negativo de FeLV (antígeno) é recomendada antes da administração da vacina FeLV. As vacinas devem ser administradas em animais saudáveis, não sendo indicado a administração de vacinas em animais positivos para a infecção, já que não existe nenhum valor terapêutico conhecido (FORD, 2009; SCHERK et al., 2013).

A vacina ideal deve proteger contra o estabelecimento de viremia e infecção latente. No entanto, verificou-se que a proteção proporcionada por diferentes vacinas comerciais varia consideravelmente (HANLON et al., 2001).

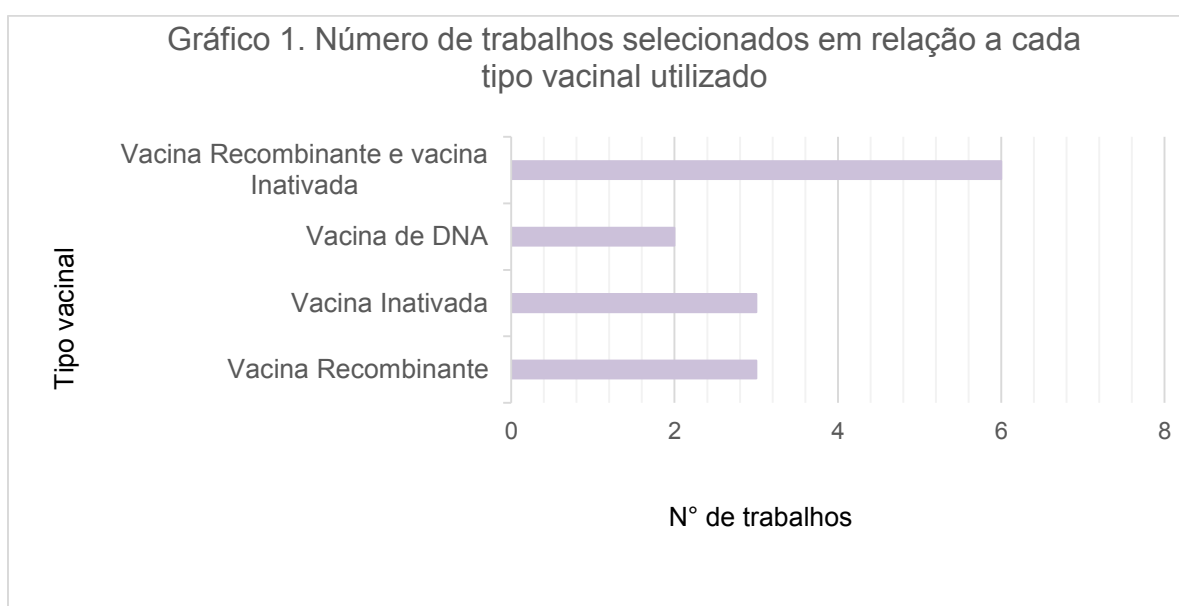
A literatura apresenta variadas vacinas a serem utilizadas para a imunização profilática de filhotes contra a leucemia viral felina, com diversas variáveis a serem mensuradas para se atingir tal objetivo. No entanto, não há nela um consenso geral a respeito da eficácia de todas essas ferramentas. Diversos autores podem apresentar opiniões distintas sobre a viabilidade de um determinado tipo vacinal. Desse modo, é interessante avaliar, com base em uma pesquisa literária, as opiniões predominantes a respeito de cada vacina bem como sua eficácia para que se tenha um parecer mais fidedigno sobre o assunto e se possa direcionar melhor o clínico ao tipo de imunização contra FeLV mais indicado para os felinos e o resultado esperado. O objetivo desse trabalho foi selecionar os tipos de imunização profilática na leucemia viral felina e avaliar se os mesmos possuem ou não eficácia comprovada pela literatura.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa científica foi realizada nos meses de abril e maio de 2017 com uma revisão sistemática de literatura. Os artigos utilizados para a confecção deste trabalho foram obtidos através dos bancos de dados PubMed, Google Acadêmico e Science Direct, o primeiro acessado por meio do portal periódicos Capes. A estratégia de busca aplicada, inicialmente, foi a seguinte: FeLV[Title/Abstract] AND "vaccines"[MeSH Terms]. Desse modo, foram selecionados apenas artigos que

abordavam a vacinação na leucemia viral felina, com qualquer tipo de vacina. O primeiro filtro empregado foi a seleção de trabalhos que utilizavam a vacinação como meio profilático e não aqueles que utilizavam como método terapêutico. Foram realizadas duas novas estratégias de busca: FeLV[Title/Abstract] AND "vaccines, inactivated"[MeSH Terms] e FeLV[Title/Abstract] AND (("vaccines"[MeSH Terms] OR "vaccines"[All Fields]) AND "genetic vectors"[MeSH Terms]) com os mesmos critérios da pesquisa anterior. Além disso, outro critério de seleção foi selecionar apenas trabalhos cujo experimento foi randomizado, para que os artigos analisados apresentassem maior confiabilidade. Assim, o número total de artigos selecionados reduziu-se para 8. Uma quarta estratégia de busca foi aplicada: FeLV [Title/Abstract] AND "recombinant vaccine"[MeSH Terms]. A nova pesquisa resultou em 23 artigos com os mesmos critérios de seleção aplicados anteriormente, foi possível selecionar mais 6 novos artigos que, somados aos 8 já obtidos, totalizaram 14 trabalhos. Foram selecionados apenas trabalhos em inglês e que apresentavam ano de publicação de no máximo 15 anos a partir da data da presente pesquisa. Os trabalhos foram classificados de acordo com as escalas de Jadad et al. (1996) e de Cook et al. (1995), e as informações obtidas dos artigos pesquisados foram avaliadas, tabuladas e comparadas entre os estudos referentes ao mesmo tipo vacinal, proporcionando a base necessária para a confecção da discussão e conclusão final do trabalho.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO



O Gráfico 1 demonstra o número de trabalhos encontrados na literatura referentes a cada tipo de vacina pesquisada. É possível observar que há relativamente um equilíbrio entre a quantidade de trabalhos sobre vacina inativada e vacina recombinante (três trabalhos cada – 21,5% dos artigos encontrados para cada um). A maioria dos estudos (seis trabalhos – 42,9%) já realiza pesquisa comparando os dois tipos vacinais. É interessante perceber que foram encontrados dois trabalhos (14,3% dos artigos) que utilizaram vacina de DNA, que não apresenta disponibilidade comercial atualmente, o que indica que novas pesquisas estão sendo feitas tal qual é a importância da imunização profilática na leucemia viral felina.

A Tabela 1 expõe a classificação dos artigos selecionados de acordo com a escala de Jadad et al. (1996) e de Cook et al. (1995). A primeira consiste na atribuição de uma nota ao trabalho avaliado com base na presença ou não de fatores que atribuem maior confiabilidade ao mesmo, como um estudo duplo-cego ou randomizado. Cook et al. (1995) classificam produções científicas que indicam níveis de evidência relacionados à qualidade metodológica, de acordo com o tipo de estudo realizado.

Além disso, os trabalhos datam desde 2001 a 2015, ou seja, as pesquisas foram bem distribuídas ao longo do tempo, o que sugere que o tema está sempre em discussão e sendo estudado. Tal informação pode ser uma das justificativas para a maior quantidade de trabalhos encontrados que comparam a vacina inativada com a recombinante, pois há a necessidade de se comprovar a eficácia de cada vacina.

Tabela 1. Classificação dos trabalhos quanto a sua confiabilidade, utilizando-se as escala de Jadad et al. (1996) e de Cook et al. (1995).

Autores	Ano de publicação	Tipo de vacina	Tipo de estudo	Escala de Jadad	Escala de Cook
Sparkes et al.	2015	Recombinante	Estudo experimental controlado randomizado	2	II
Patel et al.	2015	Recombinante/ Inativada	Estudo experimental controlado randomizado	1	II

Schlecht-Louf et al.	2014	Recombinante	Estudo experimental controlado randomizado	1	II
Stuke et al.	2014	Recombinante/ Inativada	Estudo experimental controlado randomizado	0	II
Wilson et al.	2012	Inativada	Estudo experimental controlado randomizado	1	II
Jirjis et al.	2010	Inativada	Estudo experimental controlado randomizado	2	II
Torres et al.	2010	Inativada	Estudo observacional analítico Cohort	0	III
Grosenbaugh et al.	2006	Recombinante/ Inativada	Estudo experimental controlado randomizado	0	II
Hofmann-Lehmann et al.	2006	Recombinante/ Inativada	Estudo experimental controlado randomizado	1	II
Brunner et al.	2005	Recombinante/ Inativada	Estudo observacional analítico Cohort	1	III
O' Donovan et al.	2005	DNA	Estudo experimental controlado randomizado	0	II
Grosenbaugh et al.	2004	Recombinante/ Inativada	Estudo experimental controlado randomizado	1	II
Poulet et al.	2003	Recombinante	Estudo experimental controlado randomizado	0	II
Hanlon et al.	2001	DNA	Estudo experimental controlado randomizado	0	II

Todos os artigos selecionados realizaram estudo clínico randomizado, que representa uma das ferramentas mais poderosas para a obtenção de evidências para

o cuidado à saúde. Apesar de algumas possíveis variações, os estudos clínicos randomizados baseiam-se na comparação entre duas ou mais intervenções, as quais são controladas pelos pesquisadores e aplicadas de forma aleatória em um grupo de participantes (JADAD; ENKIN, 2007).

Na classificação estabelecida por Jadad et al. (1996), as notas aplicadas variam de 0 a 5, sendo 0 correspondente a uma baixa qualidade do estudo e 5 a uma alta qualidade e confiabilidade. Artigos com nota menor que 3 são considerados de qualidade inferior. Seis dos quatorze artigos escolhidos, o que corresponde ao percentual de 42,9%, receberam a nota 1. Essa nota foi atribuída à maioria dos artigos porque nestes eram descritas as perdas e exclusões, os trabalhos eram randomizados e duplo-cegos, porém, estes últimos não eram descritos. Seis artigos que receberam a nota 0, ou seja, 42,9% eram apenas randomizados, ou randomizados e duplo-cegos ou não eram descritos perdas nem exclusões de indivíduos dos grupos amostrais, nem as informações de cada método. Apenas dois artigos (Jirjis et al., 2010 e Sparkes et al., 2015) apresentavam randomização descrita e adequada, além de descritas as perdas e exclusões de indivíduos dos grupos amostrais.

De acordo com a classificação de Cook et al. (1995), a maioria dos trabalhos ficaram na posição II (dois) e dois trabalhos ocuparam a posição III (três) de uma escala de I (um) a VII (sete), sendo que a posição I representa maior e a posição VII menor nível de confiança e validade dos estudos. Esse tipo de classificação está relacionada à qualidade metodológica em que os tipos de estudo são hierarquizados e distribuídos de acordo com o seu grau de confiança. Os tipos de estudo encontrados na maioria dos artigos selecionados foram classificados como ensaios clínicos randomizados com menos de 1000 pacientes, os quais ocupam a posição II nessa classificação. Os dois artigos classificados na posição III realizaram estudo de Cohort. Desse modo, segundo a escala de Cook et al. (1995), os trabalhos utilizados para a confecção desta revisão demonstram uma boa confiabilidade e qualidade.

É interessante notar que os artigos quando analisados pela escala de Jadad et al. (1996) apresentaram-se com qualidade insatisfatória, enquanto que na escala de Cook et al. (1995) os mesmos artigos apresentaram uma boa classificação. Levando-se em consideração as duas classificações, as informações obtidas demonstraram, portanto, uma qualidade razoável dos artigos. Tendo isso em vista, podemos concluir que a classificação dos trabalhos sugere que a maioria dos artigos encontrados na

literatura sobre a vacinação profilática contra FeLV não possui uma qualidade e confiabilidade satisfatórias. No entanto, nenhum artigo de melhor qualidade foi encontrado para que se pudesse substituí-los, demonstrando que ainda é escassa a quantidade de trabalhos de alta qualidade voltada ao tema na literatura presente. Desse modo, faz-se necessária a realização de novos estudos que avaliem as vacinas contra FeLV, atribuindo-se maior importância e preocupação quanto à qualidade dos mesmos.

A Tabela 2 expõe resumo dos experimentos realizados por trabalho, incluindo o tamanho da amostra, o protocolo utilizado e os resultados obtidos.

Tabela 2. Resumo dos experimentos incluindo Autor, número amostral, tipo vacinal, protocolos, desafio e resultados obtidos nos diferentes estudos.

Autores	Amostra	Tipo de vacina	Protocolo vacinal	Desafio	Resultados
Sparkes et al., 2015	N=71 (SPF) gatos 8-9 semanas de idade	Recombinante	n=24: vacina recombinante não adjuvada (Purevax® FeLV) com reforço após 4 semanas. n=24: vacina recombinante adjuvada (Leucogen®) e reforço após 3 semanas. n=23: placebo (solução salina tamponada).	n=18 fonte de desafio natural inoculados com estirpe 61E/FeLV-A via oronasal	Proteção contra viremia persistente: vacina recombinante não adjuvada: 79%; vacina recombinante adjuvada: 68%. Controle: 78% apresentaram-se persistentemente virêmicos.
Patel et al., 2015	N=32 (SPF) Gatos de 9 a 12 semanas de idade	Recombinante/Inativada	Vacinados via sc. n=11: vacina inativada com adjuvante (Nobivac® 2-FeLV), n=10: vacina recombinante não adjuvada (Purevax® FeLV). n=11: controle não vacinados. Reforço após 21 dias	Desafio com estirpe 61E/FeLV-A via oronasal após 3 meses.	<u>Proteção contra antigenemia persistente:</u> Inativada: 100%; Recombinante: 45%
Schlechtloulf et al., 2014	N=30 (SPF) gatos de 8 a 12 semanas de idade	Recombinante	Vacina recombinante (ALVAC-FeLV) via SC em duas doses com intervalo de 28 dias. n=10: gene <i>env</i> nativo com dose de $10^{5.7}$ e $10^{6.8}$ ou $10^{6.8}$ com dose infectante de 50%. n=10: gene <i>env</i> mutado, n=10: controle nas mesmas dimensões.	Após 2 semanas com estirpe 61E/FeLV-A via oronasal	<u>Proteção contra viremia:</u> Vacina gene <i>env</i> nativo: 78% na dose de $10^{6.4}$ ou $10^{6.8}$. Vacina <i>env</i> mutado: 89% na dose de $10^{6.4}$ ou $10^{6.8}$.

Stuke et al., 2014	N=50 (SPF) Gatos de 8-9 semanas de idade	Recombinante/Inativada	n=20: vacina via SC inativada (Versifel® FeLV, Zoetis), n=20: recombinante (Purevax® FeLV, Merial), n=10: placebo (NaCl 0,9%). Reforço após 3 semanas	Após 3 semanas da 2ª dose vacinal com estirpe 61E/FeLV-A via IP	<u>Proteção contra antigenemia persistente:</u> Inativada: 89,5%; Recombinante: 20%. <u>Proteção contra integração do DNA proviral na medula ossea:</u> inativada: 94%; Recombinante: 35%. Resultados após 15 semanas do desafio.
Wilson et al., 2012	N=32 (SPF) Gatos de 7 a 9 semanas de idade	Inativada	n=16: 1ml via SC inativada adjuvada (Versifel® FeLV, Zoetis), n=11: placebo (1ml de água de injeção via SC), N= 5: sem tratamento incluídos nos grupos. Reforço após 21 dias	8, 20 ou 36 meses após a vacinação, 2ml de estirpe 612E/FeLV-A via IP	<u>Presença de antigenemia persistente:</u> Desafio com 8 meses: placebo: 36,4%; Inativada: 6,7%; Sem tratamento: 80%. Desafio com 20 meses: placebo: 45,5%; Inativada: 0%; sem tratamento: 100%. Desafio com 36 meses: placebo: 10%; Inativada: 0%; sem tratamento: 100%
Jirjis et al., 2010	N=23 (SPF) gatos com 8 a 9 semanas de idade	Inativada	n=12: vacina inativada (Nobivac® FeLV) por via SC na região interescapular. 2ª dose após 21 dias. n=11 controle	Após 2 anos do reforço, estirpe 61E/FeLV-A com 1 ml da solução via oronasal em dois dias consecutivos.	<u>Proteção contra a viremia persistente:</u> animais vacinados: 83%; animais controle: 0%
Torres et al., 2010	N=40 (SPF) gatos com 15 a 16 semanas de idade	Inativada	4 grupos de 8 gatos receberam vacinas inativadas de diferentes fabricantes, e reforço depois de 3 semanas.	Após 4 meses do reforço, com 200 µL de 5 × 10 ⁴ TCID ₅₀ /mL FeLV-A/61E via IP	<u>Proteção contra antigenemia e viremia persistente:</u> Vacina Fel-O-Vax®: 100%; Vacina FEVAXYN-FeLV®: 100%; Vacina Leukocell-2®: 57%; Vacina Protex-FeLV®: 29%
Grosenbaugh et al., 2006	N=32 (SPF) gatos de 9 semanas de idade.	Recombinante/Inativada	n=11: 2 doses de vacina inativada (FeLV-K) 1ml via SC; n=11: 1 dose de FeLV-K 1ml via sc e outra dose de recombinante (rCP-FeLV) 0,25ml via TD. Intervalos entre as doses: 21 dias.	Após 4 semanas da 2ª dose, desafio com 1ml de solução com 61E-A, 1x ao dia por 2 dias via oronasal.	<u>Presença de antigenemia persistente:</u> controle: todos; grupo que receberam duas doses de inativada: 1 animal; grupo q receberam 1 dose de inativada e 1 dose de recombinante: 0 animais

Hofmann-Lehmann et al., 2006	N=30 (SPF) gatos com 11 semanas de idade	Recombinante/Inativada	n=10 vacina recombinante (Eurifel®) via SC. n=10: vacina inativada polivalente (Fel-O-Vax®-Fort Dodge) via SC. n=10: não receberam vacina. Reforço após 21 dias.	Após 4 semanas com estirpe 61E/FelV-A via IP.	<u>Proteção contra antigenemia persistente:</u> Recombinante: 78%.; Inativada: 44%. <u>Proteção contra infecção latente:</u> Recombinante: 3 gatos; Inativada: 6 gatos. As vacinas não conduziram à imunidade esterilizadora.
Brunner et al., 2005	N=30 (SPF) 8 a 9 semanas de idade	Recombinante	n=10: 1ml via SC vacina viva modificada polivalente sem adjuvante (Nobivac®-Forcat). n=10 vacina recombinante adjuvada (Nobivac®-FelV). Todos receberam reforço após 21 dias	<i>In vitro</i>	O uso de uma vacina polivalente em combinação com a vacina recombinante de FelV garantiu antigenicidade e resultou em maior resposta de anticorpos.
O' Donovan et al., 2005	N=35 (SPF) Gatos de 13 a 15 semanas de idade	DNA	Grupos de 5 ou 6 gatos foram vacinados com vacina de DNA via IM com nível de endotoxina <50UE/mg. Grupo A: vacina com vírus FelV + IL12+IL18. Grupo B: vacina com vírus FelV + IL12. Grupo C: vacina com vírus FelV+IL18. Grupo D: vacina com vírus FelV. Grupo E: vacina com IL12+IL18. Grupo F: sem vacina	Estirpe 61E/FelV-A via oronasal, monitorados por 15 semanas.	<u>Número de animais que apresentaram infecção latente +persistente:</u> Grupo A: 2/6; Grupo B: 3/5; Grupo C: 1/6; Grupo D: 5/6; Grupo E: 5/6; Grupo F: 6/6.
Grosenbaugh et al., 2004	N=30 (SPF) Gatos de 9 semanas de idade.	Recombinante/Inativada	n=10: 1ml de vacina inativada (Fel-O-Vax®-Fort Dodge) via SC, n=10: 0,25ml de recombinante (Purevax® FelV, Merial) via TD e n=10: placebo 1 ml de NaCl 0,9% via SC. Reforço após 21 dias.	Após 4 semanas do reforço com 1 ml de estirpe 61E-A via oronasal em 2 dias consecutivos	Todos os gatos de ambos os grupos resistiram ao desafio com FelV; 90% dos animais do grupo controle desenvolveram antigenemia persistente.

Poulet et al., 2003	N=42 (SPF) gatos de 7 a 8 semanas de idade.	Recombinante	Vacina recombinante (EURIFEL® FeLV; Merial) com título de 10^7 ; n=18: vacina monovalente. n=12: vacina polivalente. n=12: placebo. Reforço após 28 dias.	Desafio após 1 ano do reforço com estirpe 61E/FeLV-A via oronasal	Proteção contra antigenemia persistente: Monovalente: 81%. Polivalente: 80%. Controle : 92% se tornaram persistentemente infectados. Proteção em 70% contra a infecção latente. Imunidade induzida por canarypox-FeLV durou 1 ano.
Hanlon et al., 2001	N=29 (SPF) gatos de 13 a 15 semanas de idade	DNA	Vacinados com 100mg de cada DNA construído via IM em três doses. Grupo A: (n=6) vacina com vírus FeLV; Grupo B: (n=5) vacina com vírus FeLV + IFN-gama. Grupo C: (n=6): vacina com vírus FeLV+IL12. Grupo D: (n=6): vacina com vírus FeLV+IL12+IL18. Grupo E: (n=6): sem vacina	Desafio com 2×10^5 FFU de FeLV-A/61E via IP.	Número de animais que apresentaram infecção latente + persistente: Grupo A: 4/6; Grupo B: 2/5; Grupo C: 4/6; Grupo D: 1/6; Grupo E: 5/6

SPF: Livre de patógenos específicos; SC: Subcutâneo; TD: Transdêmica; IP: Intraperitoneal

A imunização contra FeLV com a utilização da vacina inativada foi avaliada como eficaz na maioria dos artigos analisados nessa revisão sistemática. Wilson et al. (2012) concluíram que a vacinação com a vacina inativada adjuvada de marca comercial Versifel® FeLV foi eficaz em 100% contra viremia persistente por até 3 anos. Jirjis et al. (2010) analisaram 23 gatos, vacinados com a inativada Nobivac® da Intervet num grupo de 12 animais e observaram proteção de 83% contra viremia persistente em animais vacinados.

Podemos perceber, portanto, que a eficácia de uma vacina pode variar dentro de um mesmo tipo vacinal, sendo que uma marca comercial pode apresentar-se mais eficaz do que outra. Para determinar se todas as vacinas FeLV inativadas disponíveis diferenciam na capacidade protetora podemos analisar o estudo de Torres et al. (2010) que testou quatro marcas comerciais de vacinas inativadas adjuvadas ou não. Foram testadas nesse experimento as vacinas adjuvadas: Fel-O-Vax®-FeLV e Fevaxyn®-FeLV e vacinas não adjuvadas: Leukocell-2®-FeLV e Protex®-FeLV – esta última não mais disponível comercialmente. Os animais utilizados no experimento foram imunizados com as diferentes vacinas via subcutânea e receberam reforço após

3 semanas. Os grupos tratados com Fel-O-Vax®-FeLV e Fevaxyn®-FeLV resultaram em total prevenção contra antigenemia e viremia persistente. Em contraste, o grupo tratado com Leukocell-2®-FeLV resultou em proteção de 57% e de apenas 29% nos animais que receberam vacina Protex®-FeLV. Sugere-se que os adjuvantes podem causar influência benéfica para a eficácia da vacina. Entretanto, os animais utilizados neste estudo apresentavam idade entre 15 a 16 semanas, o que difere dos demais estudos, que utilizam animais entre 8 e 9 semanas. Tal fato pode influenciar os resultados para pesquisa de antigenemia, pois pode haver resistência à infecção a partir de 10 meses de idade (WILSON et al., 2012). Tal característica gera dúvidas sobre a veracidade das informações apresentadas.

Vacina recombinante *canarypox*-FeLV não adjuvada (Eurifel- Purevax® FeLV) foi estudada por Sparkes et al. (2015) e comparada a uma vacina comercial com adjuvante (Leucogen®) com reforço com intervalos de 4 e 3 semanas, respectivamente. O grupo tratado com a vacina *canarypox*-FeLV obteve proteção de 79% para viremia persistente, enquanto que os animais que receberam a vacina adjuvada Leucogen® obtiveram proteção de 68% seis meses após o desafio. Vale ressaltar que esses animais foram desafiados com fonte natural de gatos FeLV positivos, que, embora uma infecção natural seja o mais próximo da realidade, difere dos demais estudos em que o desafio consiste basicamente na inoculação da estirpe de FeLV via oronanal ou intraperitonealmente.

Os efeitos imunoestimuladores dos adjuvantes contidos na vacina FeLV recombinante (Nobivac®-FeLV) resultaram numa resposta maior a anticorpos aos componentes de uma vacina combinada quando administradas em conjunto. O experimento realizado por Brunner et al. (2005) utilizou vacina recombinante e uma vacina polivalente aplicadas em conjunto numa única seringa em um grupo de 10 animais e outros dois grupos foram vacinados somente com uma vacina cada. Foram observados compatibilidade *in vitro* das vacinas, mantendo seus títulos. O que indica que essa combinação é segura e eficaz.

A vacina recombinante do vírus *canarypox*-FeLV apresentou-se eficaz sem auxílio de adjuvantes, com proteção contra o desafio oronasal um ano após a vacinação inicial e foi eficaz contra um desafio natural (POULET et al., 2003). Este parâmetro de avaliação representa condições naturais de infecção e o desafio convencional utilizado em outros estudos. Este experimento também obteve sucesso

quando administrado combinado com outras vacinas felinas (contra Rinotraqueíte, Calicivirose, Clamidiose e Panleucopenia) apresentando uma proteção de 81%, corroborando com o achado de Brunner et al. (2005). A eficácia de vacinas FeLV pode ser aumentada inibindo a atividade imunossupressora por meio de uma mutação apropriada do gene *env* de FeLV. O experimento foi descrito por Scheencht-Louf et al. (2014) que utilizaram vacina recombinante *canarypox*-FeLV com mutação desse gene em diferentes doses. A vacina conferiu proteção de 89%, portanto, mais eficaz do que a vacina com gene não mutado na mesma dose.

A comparação da eficácia de vacinas recombinantes e de vacinas inativadas foi avaliada por diferentes pesquisadores, que testaram diferentes marcas comerciais. Ao comparar vacina recombinante *canarypox*-FeLV (Purevax®- Merial) de uma vacina inativada (Fel-O-Vax® – Ford Dodge), Grosenbaugh et al. (2004) demonstraram eficácia equivalente para ambas as vacinas. Semelhante resultado foi observado por Grosenbaugh et al. (2006) em que uma dose única de vacina inativada seguida por administração de dose única de vacina recombinante foi semelhante à obtida após administração de duas doses de vacina inativada. Complementando esse resultado, o trabalho de Hofmann-Lehmann et al. (2006) concluiu que as vacinas FeLV comumente utilizadas, inativada (Fel-O-Vax®) ou recombinante *canarypox*-FeLV (Eurifel®) são modelos bem sucedidos de vacinas antirretrovirais de proteção contra a leucemia viral felina quando julgada por parâmetros convencionais de antigenemia e isolamento viral, contudo não conferem imunidade esterilizadora independente da viremia e do estado de vacinação, com presença RNA viral em animais imunizados.

Em contrapartida, a vacina inativada mostrou-se mais eficaz que a recombinante num experimento realizado por Stuke et al. (2014) que testaram as vacinas Versifel® - Zoetis (inativada) e Purevax® - Merial (recombinante *canarypox*-FeLV). A primeira mostrou-se eficiente na prevenção tanto do antígeno p27 de FeLV(89,5%) quanto da integração do DNA proviral em células da medula óssea (94%) de gatos desafiados, enquanto que a segunda conferiu baixa proteção em ambos os testes (20 e 35% de proteção, respectivamente).

Semelhantemente, a vacina inativada mostrou-se novamente mais eficaz, desta vez, porém, de nome comercial Nobivac®-2-felv e adjuvada. Os gatos vacinados com esta vacina estavam totalmente protegidos contra antigenemia persistente e apresentavam quantidades significativamente menores de DNA proviral e carga

plasmática de RNA viral do que gatos vacinados com a vacina recombinante Purevax® FeLV (PATEL et al., 2015).

Vacinas de DNA administradas isoladamente ou adjuvadas com citocinas foram testadas em experimentos descritos por Hanlon et al. (2001) e O'Donovan et al. (2005). Em ambas pesquisas, utilizaram vacina com dois plasmídeos, um que expressa os genes *gag/pol* e um que expressa o gene *env* de FeLV-A. Observou-se que a vacina constituída por DNA de FeLV com os as citocinas IL-12 E IL-18 conferiu imunidade significativa, protegendo completamente contra viremia transitória e persistente e parcialmente contra a infecção latente por um período de 15 semanas. Embora os resultados tenham sido favoráveis, ainda é escassa a quantidade de trabalhos para esse tipo vacinal, sendo necessárias novas pesquisas nesse ramo.

Vale ressaltar que todos os trabalhos analisados nessa revisão sistemática apresentaram pobre qualidade de estudo, segundo Jadad et al. (1996), o que leva a uma perda de autenticidade das informações neles obtidas. Além disso, não há protocolo vacinal pariforme em todos os estudos, o que torna a análise dos artigos difícil. Nem todos os estudos expõe exatamente o protocolo, sendo evidente a falta de informações que prejudicam sua veracidade. Ademais, poucos trabalhos fizeram pesquisa em um longo período para comprovar a duração de cada vacina e testes para comprovar ausência de infecção latente.

4. CONCLUSÃO

A imunização contra a leucemia viral felina tem demonstrado eficácia na literatura. Dessa forma, as vacinas que obtiveram maior sucesso de proteção contra a leucemia felina foram as inativadas Versifel® FeLV, Nobivac®-2-FeLV e Fel-O-Vax®, enquanto que a vacina inativada em combinação com a recombinante também se mostrou bastante eficaz. Vacinas recombinantes *canarypox*- FeLV apresentam boa eficácia quando associada a mutação do gene *env* de FeLV e quando utilizadas isoladas apresentam eficácia questionável. Contudo, as divergências quanto ao protocolo de cada estudo devem ser levadas em consideração.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. Imunidade aos microorganismos. In: **Imunologia Celular e Molecular**. 8.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p. 339-358, 2015.

BRUNNER, C.; KANELLOS, T.; MELI, M. L.; SUTTON, D. J.; GISLER, R.; GOMES-KELLER, M. A.; HOFMANN-LEHMANN, R. LUTZ, H. Antibody induction after combined application of an adjuvanted recombinant FeLV vaccine and a multivalent modified live virus vaccine with a chlamydial component. **Vaccine**, v.24 (11), p.1838-1846, 2005.

COOK, D. J.; GUYATT, G. H.; LAUPACIS, A.; SACKETT, D. L.; GOLDBERG, R. J. Clinical recommendations using levels of evidence for antithrombotic agentes. **Chest**, v. 108, n. 4, p.227-239, 1995.

FORD, R. B. Feline Vaccination Guidelines. In: BONAGURA, J.D; TWEDT, D. C. **Kirk's Current Veterinary Therapy XIV**. 14.ed. St. Louis: Saunders Elsevier, p. 1275-1278, 2009.

GROSENBAUGH, D. A.; LEARD, T.; PARDO, M. C.; MOTES-KREIMEYER, L.; ROYSTON, M. Comparison of the safety and efficacy of a recombinant feline leukemia virus (FeLV) vaccine delivered transdermally and an inactivated FeLV vaccine delivered subcutaneously. **Veterinary Therapeutics**, v.5, p.258–262, 2004.

GROSENBAUGH, D. A.; LEARD, T.; PARDO, M. C. Protection from challenge following administration of a canarypox virus-vectored recombinant feline leukemia virus vaccine in cats previously vaccinated with a killed virus vaccine. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.228, p.726–727, 2006.

HAGIWARA, M. K.; JUNIOR, A. R. Retrovíroses dos Felinos/ Leucemia Viral Felina. In: MEGID, J. **Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia**. 1. ed. Rio de Janeiro: Roca, p.825-835, 2016.

HANLON, L.; ARGYLE, D.; BAIN, D.; NICOLSON, L.; DUNHAM, S.; GOLDER, M. C.; 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.8428-8433, 2001.

HARDY, W. D. JR.; MCCLELLAND, A. J.; ZUCKERMAN, E. E.; HESS, P.W.; ESSEX, M.; COTTER, S. M.; MACEWEN, E.G.; HAYES, A. A. Prevention of the contagious spread of feline leukaemia virus and the development of leukaemia in pet cats. **Nature**, v. 263, p. 326–328, 1976.

HARTMANN, K. Clinical aspects of feline immunodeficiency and feline leukemia virus infection. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 143, n. 3-4, p.190-201, 2011.

HARTMANN, K. Clinical aspects of feline retroviruses: a review. **Viruses**, v.4, p. 2684–710, 2012(b)

HARTMANN, K. Feline Leukemia Virus infection. In: GREENE, C. E. **Infectious diseases of dogs and cats**. 3. ed. St. Louis: Saunders Elsevier, p.105-31, 2006.

HARTMANN, K. Feline Leukemia Virus infection. In: GREENE, C. E. **Infectious diseases of the dog and cats**. 4. ed. St. Louis: Saunders Elsevier, cap.11, p.108-136, 2012(a).

HOFMANN-LEHMANN, R.; TANDON, R.; BORETTI, F. S.; MELI, M. L.; WILLI, B.; CATTORI, V.; GOMES-KELLER, M. A.; OSSENT, P.; GOLDER, M. C.; FLYNN, J. N.; LUTZ, H. Reassessment of feline leukaemia virus (FeLV) vaccines with novel sensitive molecular assays. **Vaccine**, v. 24, p.1087–1094, 2006.

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

JADAD, A. R.; ENKIN, M. W. **Randomized controlled trials. Questions, answers, and musings**. 2. ed. London: Blackwell Publishing/BMJ Books, 160 p., 2007.

JADAD, A. R.; MOORE, R. A.; CARROLL, D.; JENKINSON, C.; REYNOLDS, D. J.; GAVAGHAN, D. J.; MCQUAY, H. J. Assessing the quality of reports of randomized clinical trials: is blinding necessary? **Controlled Clinical Trials**, v.17, p. 1–12, 1996.

JIRJIS, F.; DAVIS, T.; LANE, J.; CARRITT, K.; SWEENEY, D.; WILLIAMS, J.; Protection against feline leukemia virus challenge for at least 2 years after vaccination with an inactivated feline leukemia virus vaccine. **Veterinary Therapeutics**, v.11, p. E1-6, 2010.

LEUCOGEN: suspensão injetável para gatos. Carros- FRA: Virbac, [2009]. Bula de Remédio. Disponível em:
<https://ec.europa.eu/health/documents/communityregister/2015/20151127133563/annex_133563_pt.pdf>.

LEVY, J.; CRAWFORD C.; HARTMANN, K.; HOFMANN-LEHMANN, R.; LITTLE, S.; SUNDAHL, E.; THAYER, V. 2008 American Association of Feline Practitioners' feline retrovirus management guidelines. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v.10, p. 300-316, 2008.

LEVY, J. K.; SCOTT, H. M.; LACHTARA, J. L.; CRAWFORD, P. C. Seroprevalence of feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus infection among cats in North America and risk factors for seropositivity. **Journal of The American Veterinary Medical Association**, v. 228, n. 3, p.371-376, 2006.

LEWIS, M. G.; MATHES, L. E.; OLSEN, R. G. Protection against feline leukemia by vaccination with a subunit vaccine. **Infection and Immunity**, v.34, p. 888–894, 1981.

LUTZ, H.; ADDIE, D.; BELÁK, S.; et al. Feline leukaemia: ABCD Guidelines on prevention and management. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v.11, p. 565–574, 2009.

NOBIVAC FeLV: Vacina de Vírus inativado, New Jersey - EUA: Merck, [2016]. Bula de Remédio. Disponível em: <http://www.merck-animal-health-usa.com/products/130_163307/productdetails_130_163571.aspx>.

O'DONOVAN, L.H.; MCMONAGLE, E.L.; TAYLOR, S.; BAIN, D.; PACITTI, A. M.; GOLDER, M.C.; MCDONALD, M.; HANLON, L.; ONIONS, D.E.; ARGYLE, D.J.; JARRETT, O.; NICOLSON, L. A vector expressing feline mature IL-18 fused to IL-1beta antagonist protein signal sequence is an effective adjuvant to a DNA vaccine for feline leukaemia virus. **Vaccine**, v. 23, p. 3814–3823, 2005.

PACITTI, A.M.; JARRETT, O.; HAY, D. Transmission of feline leukaemia virus in the milk of a non-viraemic cat. **Veterinary Record**, v.118, p. 381–384, 1986.

PATEL, M.; CARRITT, K.; LANE, J.; JAYAPPA, H.; STAHL, M.; BOURGEOIS, M. Comparative efficacy of feline leukemia virus (FeLV) inactivated whole-virus vaccine and canarypox virus-vectored vaccine during virulent FeLV challenge and immunosuppression. **Clinical and Vaccine Immunology**, v. 22, p.798–805, 2015.

POULET, H.; BRUNET, S.; BOULARAND, C.; GUIOT, A. L.; LEROY, V.; TARTAGLIA, J.; MINKE, J.; AUDONNET, J. C.; DESMETTRE, P. Efficacy of a canarypox virus-vectored vaccine against feline leukaemia. **Veterinary Record**, v.153, p.141–145, 2003.

RICHARDS J.R., ELSTON T.H., FORD R.B., GASKELL R.M., HARTMANN K., HURLEY K.F., LAPPIN M.R., LEVY J.K., RODAN I., SCHERK M., SCHULTZ R.D., SPARKES A.H. The 2006 American Association of Feline Practitioners Feline Vaccine Advisory Panel report. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 229, p.1405–1441, 2006.

ROJIKO, J. L.; HOOVER, E. A.; MATHES, L. E.; OLSEN, R. G; SCHALLER, J. P. Pathogenesis of experimental feline leukemia virus infection. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 63, p. 759–768, 1979.

SCHERK, M.; FORD, R. B.; GASKELL, R. M. 2013 AAFP Feline Vaccination Advisory Panel Report. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v.15, p. 785–808, 2013.

SCHLECHT-LOUF, G.; MANGENEY, M.; EL-GARCH, H.; LACOMBE, V.; POULET, H.; HEIDMANN, T. A targeted mutation within the feline leukemia virus (FeLV) envelope protein immunosuppressive domain to improve a canarypox virus-vectored felv vaccine. **Journal of Virology**, v. 88, p. 992–1001, 2014.

SPARKES, A. H.; TASKER, S.; THIBAUT, J. C.; POULET, H. A Comparative Study of the Efficacy of a Canarypox Based Recombinant Leukemia Vaccine against a Natural Contact Felv Challenge in Cats. **Journal of Vaccines and Vaccination**, v.6, p. 300-306, 2015.

STUKE, K.; KING, V.; SOUTHWICK, K.; et al. Efficacy of an inactivated FeLV vaccine compared to a recombinant FeLV vaccine in minimum age cats following virulent FeLV challenge. **Vaccine**, v.32, p.2599–2603, 2014.

SYKES, J. E.; HARTMANN, K. Feline Leukemia Virus Infection. In: SYKES, J. E. **Canine and Feline Infectious Diseases**. Califórnia: Elsevier, p. 224-238, 2014.

TARTAGLIA, J.; JARRETT, O.; NEIL, J. C.; DESMETTRE, P.; PAOLETTI, E. Protection of cats against feline leukemia virus by vaccination with a canarypox virus recombinant, ALVAC-FL. **Journal of Virology**, v. 67, p. 2370–2375, 1993.

TORRES, A. N., O'HALLORAN, K. P.; LARSON, L. J.; SCHULTZ, R. D.; HOOVER, E. A. Feline leukemia virus immunity induced by whole inactivated virus vaccination. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 134, p.122–131, 2010.

WILSON, S.; GREENSLADE, J.; SAUNDERS, G.; HOLCROFT, C.; BRUCE, L.; SCOBAY, A.; CHILDERS, T.; STURE, G.; THOMPSON, J. Difficulties in demonstrating long term immunity in FeLV vaccinated cats due to increasing age-related resistance to infection. **Bmc Veterinary Research**, v. 8, n. 1, p.125-134, 2012.

