

**UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL  
ÁREA DO CONHECIMENTO DE CIÊNCIAS DA VIDA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE ANIMAL**

**LAURA PANCICH DIESEL**

**LEUCEMIA VIRAL FELINA EM GATOS DOMÉSTICOS DE CAXIAS DO SUL,  
BRASIL**

**CAXIAS DO SUL**

**2023**

**Laura Pancich Diesel**

**LEUCEMIA VIRAL FELINA EM GATOS DOMÉSTICOS DE CAXIAS DO SUL,  
BRASIL**

Dissertação apresentada à Universidade de  
Caxias do Sul – Programa de Pós-Graduação  
em Saúde Animal, para obtenção do Título de  
Mestre em Saúde Animal.

Área de Concentração: Diagnóstico Molecular

**Orientador:**

Prof. Dr. Vagner Ricardo Lunge

**Coorientador:**

Prof. Dr. André Felipe Streck

Caxias do Sul  
2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Universidade de Caxias do Sul  
Sistema de Bibliotecas UCS - Processamento Técnico

D564l Diesel, Laura Pancich

Leucemia viral felina em gatos domésticos de Caxias do Sul, Brasil  
[recurso eletrônico] / Laura Pancich Diesel. – 2023.

Dados eletrônicos.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de Caxias do Sul, Programa de  
Pós-Graduação em Saúde Animal, 2023.

Orientação: Vagner Ricardo Lunge.

Coorientação: André Felipe Streck.

Modo de acesso: World Wide Web

Disponível em: <https://repositorio.ucs.br>

1. Vírus da leucemia felina. 2. Retrovírus. 3. Reação em cadeia de  
polimerase. 4. Gatos - Infecções - Caxias do Sul (RS). I. Lunge,  
Vagner Ricardo, orient. II. Streck, André Felipe, coorient. III. Título.

CDU 2. ed.: 578.828:636.8

Catalogação na fonte elaborada pela(o) bibliotecária(o)  
Márcia Servi Gonçalves - CRB 10/1500

**Laura Pancich Diesel**

**LEUCEMIA VIRAL FELINA EM GATOS DOMÉSTICOS DE CAXIAS DO SUL,  
BRASIL**

Dissertação apresentada à Universidade de  
Caxias do Sul – Programa de Pós-  
Graduação em Saúde Animal, para  
obtenção do Título de Mestre em Saúde  
Animal.

Área de Concentração: Diagnóstico  
Molecular

**Orientador:**

Prof. Dr. Vagner Ricardo Lunge

**Coorientador:**

Prof. Dr. André Felipe Streck

**Aprovada em 05/09/2023**

**Banca Examinadora**

Prof. Dr. Fabrício Souza Campos  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Dr. Matheus Viezzer Bianchi  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. MSc. Gustavo Brambatti  
Universidade de Caxias do Sul

## Dedicatória

Aos peludos de olhos curiosos e ronronares suaves que nos ensinam a ser pacientes e compreensivos com suas personalidades únicas e afetuosas, nos mostram a importância do vínculo entre humano e felino.

Aos tutores devotados e preocupados, que confiaram em nós para zelar pelos seus amados, compreendendo que seu bem-estar está em nossas mãos, sou grata por toda confiança depositada. Aos momentos de alegria e superação, quando testemunhamos a resiliência desses seres incríveis, que enfrentam adversidades com valentia e determinação.

Aos momentos difíceis e despedidas dolorosas, quando os olhares se encontram e se despedem, sabendo que fizemos tudo o que estava ao nosso alcance, para oferecer conforto e dignidade em seus últimos suspiros.

Aos gatos que já partiram, mas deixaram marcas eternas em nossos corações e memórias, seus legados permanecem, eternamente lembrados como amigos fiéis e companheiros leais, seu espírito felino continua a nos inspirar e guiar.

Esta dedicatória é um tributo sincero também a todos os gatos que passaram pelo meu lar, Felícia, Filha, Bisnaga, Bartolomeu, Manjar, Sushi, Tequila, Tomilho e Alecrim. À conexão profunda entre humanos e felinos, que nos ensinam sobre amor incondicional e empatia. Porque vocês, amados companheiros, são o motivo que me impulsiona a dedicar minha vida e meu trabalho a vocês.

Com gratidão e carinho,

Aos gatos e seus tutores.

## **Agradecimentos**

À minha querida família, agradeço do fundo do meu coração pelo amor incondicional, apoio e paciência que vocês demonstraram durante toda a minha trajetória acadêmica. Obrigada por me possibilitarem priorizar os meus estudos, sem vocês, nada disso seria possível.

Ao Pedro, meu namorado, seu apoio constante, encorajamento e compreensão foram fundamentais para o sucesso da minha dissertação. Sou extremamente grata por ter você ao meu lado como meu maior incentivador. Você é minha força e minha inspiração.

Aos meus queridos 6 gatos, vocês trouxeram conforto e alegria durante os dias cansativos da minha pesquisa. Agradeço por todo o amor e afeto, que foram fundamentais nesse processo. Vocês são membros especiais da minha família.

Ao meu prezado orientador, Prof. Dr. Vagner Ricardo Lunge, sua orientação excepcional, paciência e dedicação foram fundamentais para o desenvolvimento da minha dissertação. Sou grata por sua expertise e contribuição valiosa. Obrigada por acreditar em mim e no meu potencial.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Com apreço e gratidão,

Laura Pancich Diesel

**“Educação não transforma o mundo. Educação muda as pessoas. Pessoas transformam o mundo.”**

**(Paulo Freire)**

## Resumo

O vírus da leucemia felina (FeLV) representa um desafio significativo nas clínicas veterinárias em todo o mundo. Diversos estudos têm demonstrado alta prevalência de FeLV em vários locais no Brasil. A transmissão ocorre através do contato próximo entre gatos infectados e suscetíveis. Já a detecção pode ser feita por meio de testes imunológicos (rápidos) e técnicas moleculares, como a reação em cadeia da polimerase quantitativa (qPCR ou qRT-PCR) que também permite avaliar a carga viral. Esta dissertação teve como objetivo (1) estudar a frequência de infecções por FeLV em gatos domésticos no município de Caxias do Sul e (2) avaliar os dados de carga viral dos animais infectados. A amostragem inicial consistiu de 598 gatos atendidos sequencialmente em 7 clínicas e 2 hospitais veterinários de janeiro de 2022 a março de 2023. Foram obtidas informações gerais (motivo da consulta, local de residência, idade, sexo, estado reprodutivo, acesso à rua, vacinação), avaliada a condição clínica geral e coletadas amostras de sangue total. A partir dessa população, foram selecionados 366 animais que possuíam resultados de testes rápidos para a detecção do antígeno p27 usando kits comerciais no momento da consulta e tiveram amostras de sangue coletadas adequadamente. Essas amostras foram submetidas à extração de DNA/RNA e detecção/quantificação do DNA proviral usando qPCR. As amostras positivas para o DNA proviral do FeLV também foram testadas para detectar/quantificar o RNA viral usando RT-qPCR. Os resultados demonstraram um total de 112 (30,6%) positivos no teste rápido e/ou qPCR, incluindo machos (n=64/112, 57,1%) e fêmeas (n=48/112, 42,9%), castrados (n=80/112, 71,3%) e gatos sexualmente intactos (n=32/112, 28,6%), com acesso ao exterior (n=76/112, 67,9%) ou não (n=34/112, 30,4%), vacinados (n=36/112, 32,1%) ou não (n=74/112, 66,1%). A avaliação comparativa das diferentes categorias demonstrou que gatos não vacinados (OR 2,52,  $p < 0,001$ ), clinicamente doentes (OR 2,88,  $p < 0,001$ ), com acesso ao exterior (OR 2,70,  $p < 0,001$ ) e com comportamento apático (OR 3,06,  $p < 0,001$ ) tiveram maiores chances de estarem infectados pelo FeLV. Entre as manifestações clínicas letargia (OR 3,09,  $p < 0,001$ ), anemia (OR 13,  $p < 0,001$ ) e neoplasias (OR 5,9,  $p < 0,001$ ) foram mais frequentes nos animais positivos para FeLV. A análise multivariada foi realizada para verificar a correlação dos fatores de risco com a infecção por FeLV e observou-se significância estatística para gatos não vacinados (OR 9,67; IC 95%: 1,85-23,69) e gatos vacinados com tríplice (OR 9,67, IC 95%: 3,37-27,76) e quádrupla (OR 2,74, IC 95%: 1,53-4,89), além de gatos com acesso ao exterior (OR 2,52, IC 95%: 1,49-4,23). Anemia e neoplasia estavam associadas à infecção por FeLV (OR 9,11, IC 95%: 2,41, 29,49 e OR 4,14, OR 95%: 1,42-12,11, respectivamente). Amostras de 103 gatos foram submetidas à análise de carga proviral e viral. As análises de carga viral e proviral possibilitaram a classificação preliminar das infecções, sendo classificadas como progressivas altas (n=12/109, 11%), progressivas baixas (n=35/109, 32,1%) e regressivas (n= 11/109, 10,1%). A alta prevalência de FeLV demonstrada neste estudo destaca a necessidade de estabelecer estratégias eficazes de controle e prevenção na região para reduzir os fatores de risco de transmissão.

**Palavras-chave:** Retrovírus; FeLV; Prevalência; PCR; qPCR



## Abstract

The feline leukemia virus (FeLV) represents a significant challenge in veterinary clinics worldwide. Several studies have demonstrated a high prevalence of FeLV in various locations in Brazil. Transmission occurs through close contact between infected and susceptible cats. Detection can be performed through immunological (rapid) tests and molecular techniques such as quantitative polymerase chain reaction (qPCR or qRT-PCR), which also allows for viral load assessment. This dissertation aimed to (1) study the frequency of FeLV infections in domestic cats in the municipality of Caxias do Sul and (2) evaluate the viral load data of infected animals. The initial sampling consisted of 598 sequentially attended cats in 7 clinics and 2 veterinary hospitals from January 2022 to March 2023. General information was collected (reason for consultation, residence, age, sex, reproductive status, outdoor access, vaccination), general clinical condition was evaluated, and samples of total blood were collected. From this population, 366 animals with rapid test results for p27 antigen detection using commercial kits at the time of consultation and properly collected blood samples were selected. These samples underwent DNA/RNA extraction and detection/quantification of proviral DNA using qPCR. Samples positive for FeLV proviral DNA were also tested for viral RNA detection/quantification using RT-qPCR. The results showed a total of 112 (30.6%) positive cases in the rapid test and/or qPCR, including males (n=64/112, 57.1%) and females (n=48/112, 42.9%), neutered (n=80/112, 71.3%) and sexually intact cats (n=32/112, 28.6%), with outdoor access (n=76/112, 67.9%) or not (n=34/112, 30.4%), vaccinated (n=36/112, 32.1%) or not (n=74/112, 66.1%). Comparative evaluation of different categories demonstrated that unvaccinated cats (OR 2.52,  $p < 0.001$ ), clinically ill cats (OR 2.88,  $p < 0.001$ ), cats with outdoor access (OR 2.70,  $p < 0.001$ ), and cats with apathetic behavior (OR 3.06,  $p < 0.001$ ) had higher odds of being infected with FeLV. Among clinical manifestations, lethargy (OR 3.09,  $p < 0.001$ ), anemia (OR 13,  $p < 0.001$ ), and neoplasms (OR 5.9,  $p < 0.001$ ) were more frequent in FeLV-positive animals. Multivariate analysis was performed to verify the correlation of risk factors with FeLV infection, showing statistical significance for unvaccinated cats (OR 9.67; 95% CI: 1.85-23.69) and cats vaccinated with triple (OR 9.67, 95% CI: 3.37-27.76) and quadruple (OR 2.74, 95% CI: 1.53-4.89) vaccines, as well as cats with outdoor access (OR 2.52, 95% CI: 1.49-4.23). Anemia and neoplasia were associated with FeLV infection (OR 9.11, 95% CI: 2.41-29.49 and OR 4.14, 95% CI: 1.42-12.11, respectively). Samples from 103 cats underwent proviral and viral load analysis. Viral and proviral load analyses allowed for preliminary classification of infections as high progressive (n=12/109, 11%), low progressive (n=35/109, 32.1%), and regressive (n=11/109, 10.1%). The high FeLV prevalence demonstrated in this study emphasizes the need to establish effective control and prevention strategies in the region to reduce transmission risk factors.

**Keywords:** Retrovirus; FeLV; Prevalence; PCR; qPCR.

## Lista de figuras

### Figuras da Dissertação:

Figura 1- Ilustração esquemática da partícula viral do FeLV e suas respectivas estruturas.....	4
Figura 2- Estrutura genômica do FeLV.....	5
Figura 3- Esquema representativo da replicação viral do FeLV na célula hospedeira.....	8
Figura 4- Esquema representativo da patogênese do FeLV no felino hospedeiro.....	9

### Figuras do Capítulo I:

Figure 1 – Flowchart summarizing the selection process of the samples included in the study.....	32
Figure 2 – Map of Caxias do Sul, Rio Grande do Sul, Brazil, with the respective veterinary facilities, positive and negative cats in each neighborhood.....	34
Figure 3 – Factors associated with FeLV infections after multivariate analysis .....	38
Figure 4 – Scatter plot correlating proviral and viral RNA loads. The red diamonds were the cats categorized as Progressive High and the blue diamonds the Progressive Low and Regressive .....	40

## **Lista de quadros**

Quadro 1. Prevalência das infecções por FeLV em diferentes estados e regiões do Brasil.....19

## Lista de tabelas

### **Tabelas da Dissertação:**

Tabela 1 – Prevalência estimada do FeLV em diferentes regiões do mundo baseada na detecção do antígeno p27 (ELISA).....	16
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

### **Tabelas do Capítulo I:**

Table 1 – Risk Factors associated with FeLV infections.....	36
Table 2 – Clinical manifestations presented by FeLV infected cats in comparison with uninfected cats.....	37
Table 3 - Major clinical problems presented by FeLV infected and uninfected cats.....	38
Table 4 – The outcome of FeLV exposure in 109 cats based on viral load and provirus or p27 results.....	39

## Lista de abreviaturas, siglas e símbolos

% – Porcento

< – Menor

> – Maior

°C – Graus Celsius

CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais

DNA – Ácido desoxiribonucleico

EDTA – Ácido etilenodiamino tetra-acético

ELISA – Ensaio de Imunoabsorção Enzimática

EnFeLV – Vírus da Leucemia Felina endógena

*env* – Gene associado ao Envelope

ExFeLV – Vírus da Leucemia Felina exógena

FeLV – Vírus da Leucemia Felina

g – Grama

*gag* – Gene associado ao Antígeno Específico de Grupo (*Group AntiGen*)

h – Hora

IC – Intervalo de confiança

IFA – Imunofluorescência Direta

IN – Integrase

LTR – Regiões de Repetição Terminal Longa

MA – Matriz

Min – Minuto

ml – Mililitro

nm – Nanômetro

pb – Pares de base

PCR – Reação em Cadeia pela Polimerase

*pol* – Gene associado a Polimerase

qPCR – Reação em Cadeia pela Polimerase Quantitativa em Tempo Real

RNA – Ácido ribonucleico

RS – Rio Grande do Sul

RT – Transcriptase Reversa

RT-PCR – Reação em Cadeia pela Polimerase pela Transcriptase Reversa

RT-qPCR – Reação em Cadeia pela Polimerase pela Transcriptase Reversa em Tempo Real

SU – Superfície

TM – Transmembrana

u – Unidade

UCS – Universidade de Caxias do Sul

μL – Microlitro

## Sumário

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>2</b>
2.2 OBJETIVO GERAL .....	2
2.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	2
<b>3 REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>3</b>
3.1 TAXONOMIA E ESTRUTURA .....	3
3.2 TRANSMISSÃO .....	6
3.3 PATOGÊNESE .....	7
3.4 EVOLUÇÃO DA INFECÇÃO .....	9
<b>3.4.1 Infecção Progressiva .....</b>	<b>9</b>
<b>3.4.2 Infecção Regressiva .....</b>	<b>10</b>
<b>3.4.3 Infecção Abortiva .....</b>	<b>11</b>
<b>3.4.4 Infecção Focal, Localizada ou Atípica .....</b>	<b>11</b>
3.5 DIAGNÓSTICO .....	12
<b>3.5.1 Detecção de Anticorpos.....</b>	<b>12</b>
<b>3.5.2 Isolamento viral .....</b>	<b>12</b>
<b>3.5.3 Imunofluorescência direta.....</b>	<b>12</b>
<b>3.5.4 Ensaio de Imunoabsorção Enzimática e Ensaio Imunocromatográficos.....</b>	<b>12</b>
<b>3.5.5 Diagnóstico Molecular.....</b>	<b>13</b>
<b>3.5.1 Detecção de Anticorpos.....</b>	<b>14</b>
3.6 CONTROLE E PREVENÇÃO.....	14
3.7 EPIDEMIOLOGIA.....	15
<b>4 METODOLOGIA.....</b>	<b>20</b>
4.1 POPULAÇÃO E LOCAL.....	20
4.2 COLETA DE AMOSTRAS E DADOS EPIDEMIOLÓGICOS.....	20

4.3 EXTRAÇÃO DE DNA E ENSAIOS DE qPCR.....	21
4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	21
<b>5 RESULTADOS.....</b>	<b>23</b>
<b>Capítulo I .....</b>	<b>24</b>
<b>6 DISCUSSÃO.....</b>	<b>50</b>
<b>7 CONCLUSÕES .....</b>	<b>55</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>56</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>67</b>



## 1 INTRODUÇÃO

O vírus da leucemia felina (FeLV, do inglês *feline leukemia virus*) infecta gatos domésticos (*Felis catus*) e ocasionalmente felinos selvagens (*Felis silvestris*, *Felis margarita*, *Puma concolor coryi*, *Panthera tigris*, entre outros) em todo mundo (BROWN, *et al.*, 2008; FROMONT, *et al.*, 2000; OSTROWSKI, *et al.*, 2003; TANGSUDJAI, *et al.*, 2010). O FeLV é um retrovírus que pode causar alterações hematológicas e neoplásicas no hospedeiro, principalmente anemia, imunossupressão, linfoma e leucemia (HARTMANN, 2015; ADDIE, *et al.*, 2000).

A transmissão do FeLV ocorre principalmente pelo contato próximo entre felinos infectados e susceptíveis, assim como da mãe contaminada para os filhotes (DEZUBIRIA, *et al.*, 2023). Após a contaminação, existem três possíveis desfechos no processo infeccioso: progressivo, regressivo ou abortivo (LITTLE *et al.*, 2020). A infecção progressiva, na qual os gatos apresentam viremia persistente e constantemente eliminam partículas virais no ambiente, é a de maior preocupação na clínica de felinos (HARTMANN; HOFMANN-LEHMANN, 2020).

A detecção do FeLV é amplamente realizada com testes imunológicos rápidos, como o ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA, do inglês *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*) (PARRY; HOLLOWAY; STUDERT, 1989; HARTMANN, 2015). A confirmação da infecção por FeLV pode ser realizada por isolamento viral ou de técnicas de biologia molecular, como a reação em cadeia da polimerase (PCR, do inglês *Polymerase Chain Reaction*). Diferentes modalidades de PCR permitem a detecção do RNA viral ou do DNA proviral e constituem as metodologias mais recentes de detecção do FeLV (TORRES; MATHIASON; HOOVER, 2004; GOMES-KELLER, *et al.*, 2006; TANDON, *et al.*, 2005).

Os dados epidemiológicos relativos à frequência do FeLV nas populações de gatos domésticos e principais fatores de risco ainda são escassos no Brasil. Também existe uma grande variação entre resultados dos estudos existentes devido a diferenças nas populações investigadas e nos métodos de detecção (ALMEIDA, 2009; BIEZUS 2017). Informações epidemiológicas consistentes são fundamentais para conhecer a prevalência dessa importante infecção, bem como identificar fatores de risco e estabelecer medidas adequadas de controle (HARTMANN; HOFMANN-LEHMANN, 2020).

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Estudar a frequência das infecções pelo FeLV em gatos domésticos (*Felis catus*) de Caxias do Sul.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar a frequência de FeLV em gatos domésticos nos bairros de Caxias do Sul.
- Identificar possíveis fatores de risco para a infecção por FeLV.
- Estabelecer critérios preliminares para classificação dos processos infecciosos (progressivo, regressivo, abortivo) nos animais infectados com base nas análises de carga proviral e viral (qPCR e qRT-PCR).

### 3 REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1 TAXONOMIA E ESTRUTURA

O FeLV foi descoberto em 1964 por William Jarrett, que identificou partículas virais ligadas à membrana celular de linfoblastos em um gato que apresentava linfoma de ocorrência natural ao desenvolver um estudo a respeito da transmissão de linfomas em gatos (JARRETT, 1964).

Em relação à sua classificação taxonômica, o FeLV pertence à família *Retroviridae*, à subfamília *Orthoretroviridae* e ao gênero *Gammaretrovirus*. Trata-se de um retrovírus envelopado com RNA de fita simples (JARRETT; NEIL, 2012). O processo de replicação envolve a síntese de DNA proviral e integração ao DNA do hospedeiro pela ação das enzimas transcriptase reversa, integrase e protease (HARTMANN, 2015; WILLETT; HOSIE, 2013). Entre os retrovírus de gatos domésticos, o FeLV é o de maior potencial patogênico (ABCD, 2019).

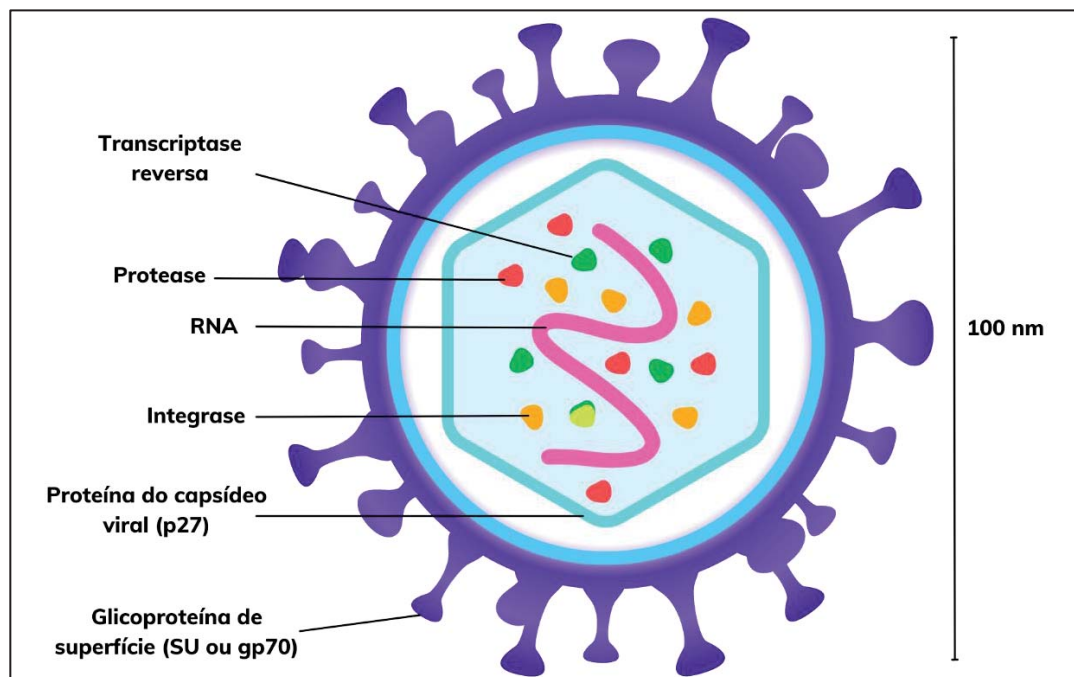
A transcriptase reversa (TR, do inglês *reverse transcriptase*) trata-se de uma enzima essencial para o ciclo de replicação dos retrovírus. Essa enzima tem função de catalisar a síntese de DNA a partir de um molde de RNA, ao contrário do fluxo convencional das informações genéticas na biologia, que seria de DNA para RNA. A transcriptase reversa permite que o retrovírus tenha o seu genoma de RNA de fita simples convertido em duas fitas de DNA, para então poder integrar o genoma do hospedeiro através da enzima integrase e formar o provírus (VARMUS, 1988; TEMIN, 1992; COFFIN; FAN, 2016).

A integrase é responsável pela integração do DNA viral ao genoma do hospedeiro. Ela desempenha um papel crucial na formação de um reservatório viral permanente dentro da célula hospedeira. A integrase realiza duas etapas principais: processamento 3' e transferência de cadeia. No processamento 3', a enzima remove um dinucleotídeo das extremidades 3' do DNA viral, expondo extremidades reativas necessárias para a integração. Em seguida, ocorre a transferência de cadeia, onde a integrase insere covalentemente o DNA viral em um cromossomo da célula hospedeira, formando um provírus. Essa integração permite que o material genético retroviral seja mantido e transcrito juntamente com o DNA da célula hospedeira (BUSHMAN, *et al.*, 2005).

A protease desempenha um papel vital na maturação viral e na capacidade de infectar células hospedeiras. Sua função principal é clivar ligações peptídicas específicas dentro da

poliproteína viral, que é sintetizada durante o processo de replicação do vírus. A protease realiza a clivagem da poliproteína em componentes funcionais, como proteínas estruturais e enzimas, permitindo a montagem de novas partículas virais infecciosas. Ao cortar a poliproteína nos locais adequados, a protease assegura a formação correta e a funcionalidade das proteínas virais necessárias para a montagem do vírus e sua capacidade de infectar células (KOHL *et al.*, 2006).

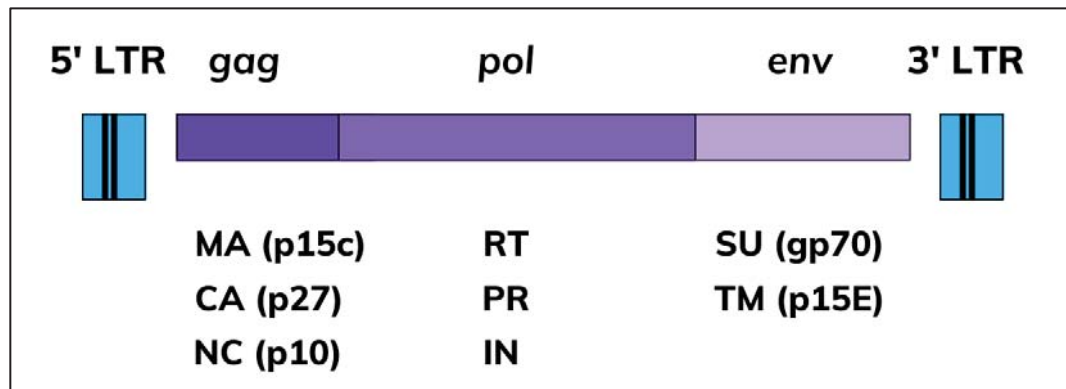
Figura 1- Ilustração esquemática da partícula viral do FeLV e suas respectivas estruturas.



Fonte: Adaptado de HARTMANN; HOFMANN-LEHMANN, 2020.

O genoma do FeLV apresenta os genes *gag*, *pol* e *env*, além de regiões de repetições terminais longas (LTR: do inglês, *long terminal repeats*) (Figura 2). O gene *gag* codifica os precursores das proteínas estruturais do retrovírus, sendo p15, p12 e p27 (JARRETT; NEIL, 2012). O gene *pol* codifica proteínas de função enzimática, incluindo a protease, integrase e transcriptase reversa, fundamentais no processo de replicação (JARRETT; NEIL, 2012). O gene *env* codifica a glicoproteína de superfície (SU) gp70 do envelope e a proteína p15E. A gp70 representa um papel importante na definição do subgrupo viral e o consequente tropismo celular, além de ser o alvo de anticorpos neutralizantes (RAMSEY; SPIGBEY; JARRETT, 1998; RIEDEL, *et al*, 1986).

Figura 2- Estrutura genômica do FeLV.



Fonte: Adaptado de DUNHAM; GRAHAM, 2008.

Os gatos domésticos também apresentam sequências de DNA muito semelhantes ao DNA proviral do FeLV, que se trata de elementos endógenos do *endogenous feline leukemia virus* (enFeLV). Em um processo de infecção ativa, o FeLV pode sofrer interações com elementos endógenos, ocorrendo eventos de recombinação, e assim, culminando na geração de muitas novas variantes virais (POLANI *et al.*, 2010; CHIU; HOOVER; VANDEWOUDE, 2018; POWERS *et al.*, 2018).

A classificação do FeLV inclui diversos subgrupos que consideram a interação com enFeLVs. Os subgrupos virais considerados de maior importância incluem o FeLV-A, B, C, D e T. Acredita-se que as variantes virais resultantes da recombinação estejam relacionadas às diferentes manifestações clínicas apresentadas pelos felinos infectados (HARTMANN; HOFMANN-LEHMANN, 2020; JARRETT; NEIL, 2012; STEWART *et al.*, 1986; RIGBY *et al.*, 1994; SYKES; HARTMANN, 2014).

O subgrupo FeLV-A é transmitido quase que exclusivamente de forma horizontal entre os felinos (ERBECK *et al.*, 2021; WILLETT; HOSIE, 2013). No entanto, a recombinação do genoma do FeLV-A com genomas celulares ou genes do enFeLV no genoma do hospedeiro é capaz de provocar o surgimento dos outros subgrupos virais, sendo FeLV-B o mais comum (ERBECK *et al.*, 2021, STEWART, *et al.*, 1986). A disseminação do FeLV-B entre os gatos só ocorre com a presença do FeLV-A (JARRETT; NEIL, 2012). O FeLV-B é geralmente associado a maior virulência e oncogenicidade, podendo resultar em neoplasias malignas, principalmente as hematopoiéticas, como o linfoma e a leucemia (ERBECK *et al.*, 2021; JARRETT; NEIL, 2012).

Outros eventos de recombinação entre FeLV-A e elementos endógenos podem ocorrer. O FeLV-C possui potencial altamente patogênico e está relacionado à anemia arregenerativa (frequentemente fatal), por promover o bloqueio da diferenciação de células da linhagem eritróide através da interferência em vias de transdução de sinais fundamentais para a eritropoiese (HOOVER; *et al.*, 1987; RIEDEL; *et al.*, 1986; ABKOWITZ; HOLLY; ADAMSON, 1987). Há relatos de outros subgrupos virais como o FeLV-T, que possui tropismo por linfócitos T está associado à imunossupressão. O FeLV-D, de patogenicidade pouco elucidada até o momento, foi identificado em animais portadores de linfoma e leucemia (KAWASAKI; NISHIGAKI, 2018; CHENG; ANDERSON; OVERBAUGH, 2007; OVERBAUGH, *et al.*, 1988).

Apesar da existência da classificação em subgrupos virais, estudos mais recentes reportam que a grande quantidade de sítios de recombinação, somada à grande variabilidade genética e à possibilidade de mais de um evento de recombinação em um mesmo indivíduo, pode levar ao desenvolvimento de inúmeras variantes dentro dos subgrupos virais previamente estabelecidos. A grande variabilidade genética funciona como um mecanismo evolutivo do FeLV e contribui para a perpetuação do vírus (ERBECK, *et al.*, 2021; KOMINA, *et al.*, 2019; LE, *et al.*, 2023).

### 3.2 TRANSMISSÃO

Em gatos com infecção progressiva, ocorre a eliminação constante de partículas virais no ambiente por meio da saliva, mesmo na ausência de manifestações clínicas, o que possibilita a transmissão horizontal do vírus (FRANCIS; ESSEX; GAYZAGIAN, 1979; HARTMANN; HOFMANN-LEHMANN, 2020). A presença do FeLV também é detectada em outras secreções e excreções, incluindo urina, fezes, secreção nasal e leite, sendo o leite relacionado à transmissão vertical (HARDY, *et al.*, 1973). A transmissão geralmente ocorre durante o contato próximo entre gatos infectados e gatos saudáveis pela via oronasal, por meio de lambedura ou mordedura. O compartilhamento de utensílios como comedouros, bebedouros e caixas de areia também representa risco de transmissão (HARDY, *et al.*, 1977; HARDY, *et al.*, 1976). Além disso, estudos *in vitro* demonstraram que pulgas são potenciais vetores do FeLV (VOBIS, *et al.*, 2003).

A transmissão iatrogênica pode ocorrer através de agulhas e instrumentos contaminados, além da transfusão sanguínea. A transmissão através da transfusão sanguínea é relatada até mesmo quando o gato doador é portador de infecção regressiva, de forma que todos os doadores

devem ser comprovadamente negativos para FeLV por meio de técnicas de diagnóstico molecular (HARTMANN, 2015; NESINA, *et al.*, 2015).

A transmissão vertical é mais comum em fêmeas com infecção progressiva, mas também pode ocorrer em fêmeas regressivamente infectadas, especialmente se a infecção for reativada durante a gestação (PACITTI; HAY, 1986). O FeLV pode ser transmitido por via transplacentária ou durante a amamentação e lambedura dos filhotes pela mãe. As infecções comumente provocam abortos e natimortos, mas a prole pode sobreviver em até 20% dos casos, gerando adultos com viremia persistente (HARTMANN, 2015, LEVY, *et al.*, 2000).

Os gatos que apresentam maior risco de infecção são machos jovens, não castrados, que possuem livre acesso à rua e convivem com outros gatos. Estes animais possuem maior tendência ao contato próximo prolongado com gatos infectados por meio da socialização, mas também devido ao comportamento territorial, que favorece a transmissão de lesões provenientes de interações antagonistas com outros gatos (HARTMANN; HOFMANN-LEHMANN, 2020; WESTMAN *et al.*, 2019).

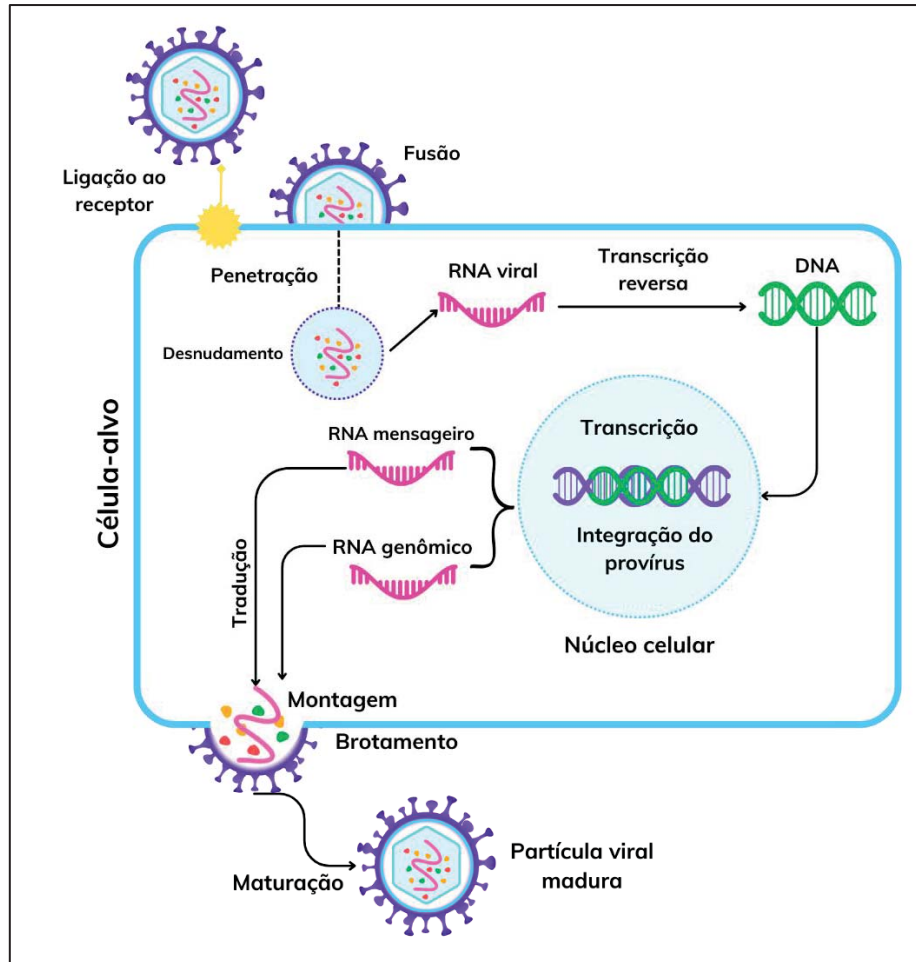
### 3.3 PATOGÊNESE

Após a exposição inicial ao FeLV, a replicação viral é iniciada em linfócitos e macrófagos na orofaringe e tecido linfoide local. Para possibilitar a entrada do vírus na célula, há a ligação da proteína de superfície (SU, gp70) com receptores da membrana celular. Após a adsorção e penetração, ocorre o desnudamento do vírus e posterior transcrição reversa por meio da enzima transcriptase reversa (RT, do inglês *reverse transcriptase*), fazendo com que o RNA viral seja copiado em uma fita simples de DNA complementar (cDNA, do inglês *complementary desoxirribonucleic acid*). O DNA sintetizado serve como molde para a formação do provírus, que é integrado ao genoma do hospedeiro por meio da ação da enzima integrase. A síntese e integração do provírus ocorre somente em células que passam por síntese de DNA. Após a integração, o RNA é transcrito do provírus integrado por RNA polimerases dependentes do DNA, e então, traduzido nos ribossomos do hospedeiro, a fim de gerar precursores estruturais e poliproteínas do envelope, que passam por clivagem por meio da protease viral. Tais proteínas migram para a membrana plasmática e inicia-se o processo de montagem e brotamento. Após a maturação, novas partículas de FeLV são liberadas através da membrana da célula hospedeira e assim perpetua-se o ciclo biológico do vírus (Figura 3). (ROJKO; OLSEN, 1984; JARRETT; NEIL, 2012; HARTMANN; HOFMANN-LEHMANN,



2020). A proteína ou antígeno p27 é produzida em grande quantidade durante a replicação viral (PARRY; HOLLOWAY; STUDDERT, 1989).

Figura 3 - Esquema representativo da replicação viral do FeLV na célula hospedeira.

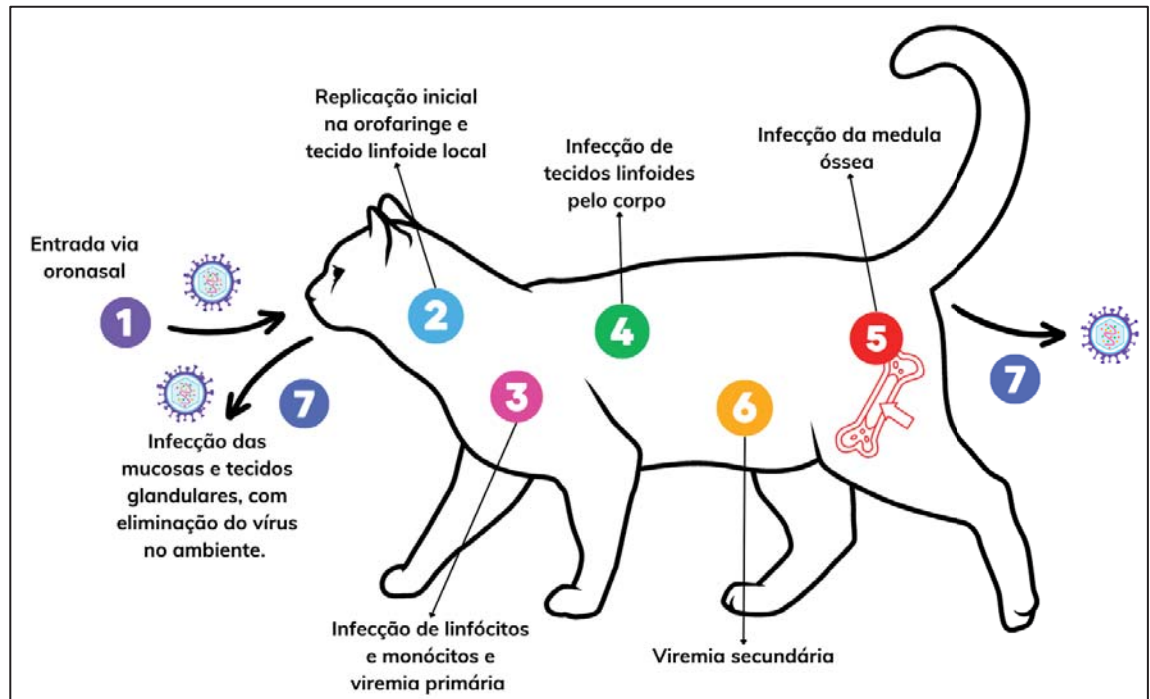


Fonte: adaptado de HARTMANN; HOFMANN-LEHMANN (2020).

A replicação viral inicial na orofaringe resulta na infecção de linfócitos e monócitos periféricos, que por possuírem caráter circulante, provocam a viremia primária e a consequente disseminação do vírus para os tecidos linfoides sistêmicos, com infecção da medula óssea. Uma vez que ocorre a integração do material genético viral às células-tronco hematopoiéticas e na ausência de resposta imune, o vírus passa a ser liberado no sangue, resultando na viremia secundária e persistente. Nos animais com viremia persistente, o vírus é disseminado nas mucosas e tecidos glandulares (ROJKO, *et al.*, 1979). Sendo assim, partículas virais passam a ser eliminadas no ambiente por meio das secreções e excreções, especialmente a saliva (Figura 4) (FRANCIS; ESSEX; HARDY, 1977; GOMES-KELLER, *et al.*, 2006).



Figura 4- Esquema representativo da patogênese do FeLV no felino hospedeiro.



Fonte: Adaptado de HARTMANN; HOFMANN-LEHMANN (2020).

### 3.4 EVOLUÇÃO DA INFECÇÃO

A infecção por FeLV pode seguir diferentes cursos: infecção progressiva, regressiva ou abortiva. Alguns autores descrevem também a infecção focal ou atípica. A evolução da doença tem como principais fatores determinantes o estado imunológico do animal e com a dose de vírus à qual este foi exposto (MAJOR, *et al.*, 2009; LITTLE, *et al.*, 2020)

#### 3.4.1 Infecção Progressiva

A infecção progressiva tem como principal característica a presença de viremia persistente no hospedeiro (HARTMANN, HOFMANN-LEHMANN, 2020). Nos gatos com infecção progressiva, a resposta imune é insuficiente para conter a replicação do FeLV, e são detectados baixos níveis de anticorpos neutralizantes (BEALL *et al.*, 2021). Sendo assim, ocorre a viremia primária devido à replicação viral no tecido linfóide da orofaringe, seguida da viremia secundária após a infecção da medula óssea, que persiste durante toda a vida do animal (ROJKO, *et al.*, 1979, HARTMANN, 2015). Devido à infecção das mucosas e tecidos glandulares, animais com infecção progressiva são capazes de eliminar grandes quantidades de partículas virais no ambiente por meio de suas secreções e excreções, sendo considerados a

principal fonte de transmissão do vírus (FRANCIS; ESSEX; HARDY, 1977; GOMES-KELLER, *et al.*, 2006)).

O desenvolvimento de infecção progressiva é mais comum em filhotes, enquanto gatos adultos geralmente desenvolvem infecções regressivas ou abortivas após a exposição ao vírus (COTTER, 1991). A resistência relacionada à idade não é absoluta, porém o risco de infecção progressiva após o contato com um animal virêmico é menor em animais mais velhos (HARTMANN; HOFMANN-LEHMANN, 2020). Aparentemente, o número de receptores celulares necessários para a entrada do FeLV-A nas células-alvo pode diminuir com o passar do tempo. Outra hipótese é que a maior resistência nos adultos esteja relacionada à maturação da função dos macrófagos (HOOVER; MULLINS, 1991).

A infecção progressiva está associada à ocorrência de manifestações clínicas graves, como neoplasias, anemia e imunossupressão, que frequentemente levam ao óbito. Os felinos que apresentam este curso de infecção têm prognóstico reservado a ruim, com sobrevida estimada de até três anos após o diagnóstico (KENT, *et al.*, 2022; ADDIE, *et al.*, 2000; HARTMANN).

### **3.4.2 Infecção Regressiva**

Alguns gatos expostos ao FeLV podem apresentar infecção regressiva. Nesses casos, há ocorrência de resposta imune parcialmente efetiva antes ou pouco após a infecção da medula óssea. Ocorre a produção de anticorpos neutralizantes, que impedem a continuidade da replicação viral e o desenvolvimento da viremia secundária, porém sem eliminar completamente a infecção, visto que o provírus permanece integrado ao genoma do hospedeiro (ROJKO, *et al.*, 1982; MADEWELL; JARRETT, 1983).

Nesses animais, testes de detecção de antígeno p27 frequentemente apresentam resultados negativos (exceto durante a viremia primária ou transitória), porém a detecção do DNA proviral do FeLV no sangue é possível por meio de PCR (HARTMANN, 2015; CATTORI, 2006; TORRES, *et al.*, 2005).

Normalmente, os gatos com infecção regressiva não são passíveis de transmissão horizontal, exceto durante a viremia primária (com duração em média de 3 a 6 semanas, podendo durar até 16 semanas) ou pela realização de transfusão sanguínea, na qual o provírus pode ter potencial infectante (NESINA, *et al.*, 2015; HARTMANN, 2012).

O desenvolvimento de manifestações clínicas graves não é comum em animais regressivamente infectados (HARTMANN, 2015). Todavia, existem relatos de ocorrência de linfoma, anemia e panleucopenia nesses pacientes (JACKSON, *et al.*, 1993; SUNTZ, *et al.*, 2010; NESINA, *et al.*, 2015);

Historicamente, as infecções regressivas foram denominadas “infecções latentes”, havendo relatos de reativação da infecção após a imunossupressão, geralmente associada a eventos estressantes, gestação ou à administração de glicocorticoides (PARDI, *et al.*, 1991; ROJKO, *et al.*, 1982; PACITTI, 1987). Uma vez que a infecção é reativada, é estabelecida a viremia secundária e a infecção passa a ser considerada progressiva (HARTMANN, 2012).

### **3.4.3 Infecção Abortiva**

Em gatos imunocompetentes, ocorre a produção de anticorpos neutralizantes após o contato inicial com o vírus. A replicação viral é contida pela resposta imune humoral e celular no seu estágio inicial no tecido linfóide local na orofaringe, o que impede o estabelecimento da viremia e evolução da infecção (HARTMANN; HOFMANN-LEHMANN, 2020). Acredita-se que a infecção abortiva seja o desfecho mais comum após a exposição natural ao FeLV, sendo caracterizada por resultados negativos em testes de detecção de antígeno p27, ausência de RNA viral ou DNA proviral e ausência de vírus cultivável (HOFMANN-LEHMANN *et al.*, 2007). O único indicador da ocorrência deste desfecho é a presença de anticorpos neutralizantes (LITTLE *et al.*, 2020).

### **3.4.4 Infecção Focal, Localizada ou Atípica**

A infecção focal, também denominada localizada ou atípica, é considerada rara, na qual a replicação do FeLV permanece restrita em determinados tecidos, incluindo glândulas mamárias, baço, linfonodos ou intestino delgado. Animais com infecção focal podem apresentar resultados discordantes nos testes, como a detecção de antígeno p27 no sangue na ausência de resultados positivos no isolamento viral, PCR e RT-PCR (JARRETT, *et al.*, 1991; LUTZ; PEDERSEN; THEILEN, 1983; HARTMANN; HOFMANN-LEHMANN, 2020; MIYAZAWA; JARRETT, 1997;).

Aparentemente, a infecção focal não é de grande importância epidemiológica (HARTMANN; HOFMANN-LEHMANN, 2020), com apenas um relato de transmissão de uma gata não virêmica para a ninhada através do leite (PACITTI; JARRETT; HAY, 1986). Sendo assim, o diagnóstico é difícil e a literatura a respeito deste desfecho é variável, visto que alguns

autores classificam os cursos apenas em infecção progressiva, regressiva e abortiva (LITTLE, *et al.*, 2020; HARTMANN; HOFMANN-LEHMANN, 2020).

### 3.5 DIAGNÓSTICO

Entre as metodologias empregadas para auxiliar no diagnóstico das infecções por FeLV, existem métodos de detecção direta ou indireta do vírus. A maioria dos métodos utilizados na rotina clínica são diretos. Entre estes, destacam-se o isolamento viral, ensaios de imunofluorescência direta (IFA: do inglês *immunofluorescence assays*), ensaios de imun absorção enzimática (ELISA: do inglês *enzyme-linked immunosorbent assays*), incluindo ensaios imunocromatográficos, e modalidades biologia molecular de reação em cadeia da polimerase (PCR: do inglês *polymerase chain reaction*). A detecção indireta de anticorpos também pode ser realizada, mas é pouco empregada na rotina clínica (HARTMANN, 2015).

#### 3.5.2 Isolamento Viral

O isolamento viral foi o primeiro método direto de detecção do FeLV e é considerado eficiente devido à capacidade de detectar a presença do virion em amostras de sangue total. No entanto, requer instalações especiais e a realização da técnica é considerada complexa e demorada. Por conta dessas desvantagens, não é um método utilizado frequentemente na rotina (HARTMANN, 2015; HOFMANN-LEHMANN; HARTMANN, 2020).

#### 3.5.3 Imunofluorescência direta

Ensaio de IFA podem ser aplicados para a detecção do antígeno p27 intracelular em esfregaços sanguíneos ou da medula óssea. No entanto, atualmente a técnica não é recomendada como um método de triagem, visto que possui menor sensibilidade que os testes ELISA e a detecção do antígeno p27 só é possível após a infecção da medula óssea e o estabelecimento da viremia secundária. Sendo assim, esta metodologia é capaz de estabelecer o diagnóstico somente das infecções progressivas, com possibilidade de resultados falso-negativos em animais que apresentam leucopenia (LITTLE, *et al.*, 2020).

#### 3.5.4 Ensaio de Imun absorção Enzimática e Ensaio Imunocromatográficos

No diagnóstico de infecções por FeLV, o ELISA tem como função detectar concentrações do antígeno p27 no soro ou plasma de animais infectados, indicando a presença de viremia (transitória ou persistente) (HARTMANN, *et al.*, 2001; LUTZ, *et al.*, 1983). Quando

comparados à IFA, os métodos baseados no ELISA apresentam maior sensibilidade, detectando concentrações mais baixas de p27 solúvel (LOPEZ; *et al.*, 1989).

O primeiro ELISA comercial foi aprovado em 1979 e com o passar do tempo, a metodologia foi aperfeiçoada, sendo aplicado como base para a produção de ensaios imunocromatográficos (ICGA: do inglês, *immunochemical chromatographic assays*), nos quais ocorre a produção de cor em consequência da reação imunológica (HARTMANN, *et al.*, 2001); HARTMANN, 2015; LUTZ, *et al.*, 1983). Os ICGA estão disponíveis comercialmente como testes rápidos, que podem ser utilizados com amostras de sangue total no local de assistência ao animal (*point-of-care tests*) e são amplamente aplicados na triagem de rotina para o FeLV atualmente (GISELBRECHT, 2023). No entanto, na ausência de viremia, a concentração de antígeno p27 solúvel no sangue pode encontrar-se abaixo do limite de detecção desses testes e ocasionar resultados falso-negativos, como é o caso das infecções regressivas, nas quais não há viremia persistente, mas o provírus permanece integrado ao genoma dos animais (LITTLE *et al.*, 2020).

### 3.5.5 Diagnóstico Molecular

Ensaio de PCR e RT-PCR possibilitam a detecção de sequências de DNA proviral no sangue e do RNA viral no sangue ou na saliva de gatos infectados, respectivamente, e constituem as metodologias mais recentes utilizadas no diagnóstico das infecções por FeLV (GISELBRECHT, 2023; TORRES; MATHIASON; HOOVER, 2004; GOMES-KELLER, *et al.*, 2006; TANDON, *et al.*, 2005). Quando comparada a outros métodos de diagnóstico do FeLV, como IFA, ELISA e isolamento viral, a PCR apresenta maior sensibilidade e especificidade (GOMES-KELLER, *et al.*, 2006; HOFMANN-LEHMANN, *et al.*, 2008).

A qPCR para detecção do DNA proviral no sangue é o método de diagnóstico mais recomendado atualmente, por possuir alta sensibilidade e especificidade e possibilitar a quantificação de cópias de DNA proviral do FeLV, tornando possível o diagnóstico mesmo em casos de infecções regressivas, ou seja, mesmo na ausência de viremia no momento da coleta da amostra (HOFMANN-LEHMANN, *et al.*, 2001; TANDON *et al.*, 2005; CATTORI; HOFMANN-LEHMANN, 2008; BEALL, *et al.*, 2021).

Estudos demonstram que infecções progressivas estão associadas a cargas de DNA proviral mais altas, enquanto animais com infecção regressiva geralmente apresentam cargas mais baixas (HOFMANN-LEHMANN, *et al.*, 2001; HOFMANN-LEHMANN, *et al.*, 2008).

Sendo assim, a qPCR também pode ser empregada na classificação dos cursos da infecção e no monitoramento dos animais infectados (BEALL, *et al.*, 2021).

### 3.5.1 Detecção de Anticorpos

A detecção de anticorpos específicos contra o FeLV pode ser realizada por métodos de ELISA e imunofluorescência, mas que não são amplamente utilizados na rotina clínica (MAJOR, *et al.*, 2010; HARTMANN, 2015). A presença de anticorpos anti-FeLV pode ser um indicativo de exposição prévia ao vírus (infecção abortiva) ou vacinação (MAJOR, *et al.*, 2010). No entanto, animais com infecções regressivas também podem apresentar anticorpos, sendo assim, é necessária a associação com outros testes para estabelecer o diagnóstico e a classificação dos cursos das infecções (WESTMAN, *et al.*, 2019).

## 3.6 CONTROLE E PREVENÇÃO

Entre as principais medidas de prevenção do FeLV, destacam-se a implementação de protocolos de testagem e vacinação. A educação sanitária de tutores e de funcionários de estabelecimentos veterinários e o manejo do ambiente com o objetivo de minimizar fatores de risco associados às infecções por FeLV também são ações preventivas para reduzir a disseminação do FeLV (LITTLE *et al.*, 2020).

Nas primeiras décadas após a descoberta do FeLV, a principal medida de prevenção consistia na implementação de programas de identificação e remoção de animais positivos do ambiente, a fim de evitar o contato destes com gatos saudáveis e assim, impedir a transmissão (WEIJER *et al.*, 1976; HARDY *et al.*, 1976). Tais programas contribuíram para a redução da prevalência na Europa e na América do Norte e são aplicados efetivamente até os dias atuais. No entanto, a prevalência do FeLV permaneceu estagnada em vários países, sugerindo a necessidade da adoção de estratégias de controle adicionais (BURLING *et al.* 2017; HOFMANN-LEHMANN *et al.*, 2018; WEIJER 1989; STUDER *et al.*, 2019).

A testagem é uma medida essencial para o controle e prevenção do FeLV, pois permite a identificação precoce dos gatos portadores do vírus. Sendo assim, algumas estratégias de prevenção devem ser adotadas durante o manejo dos gatos infectados a fim de evitar a transmissão. Em domicílios, recomenda-se que todos os gatos sejam testados individualmente e que os animais positivos sejam isolados dos negativos, que devem ser vacinados (LITTLE *et al.*, 2020). O compartilhamento de utensílios como tigelas de alimento e caixas de areia deve

ser evitado, o acesso à rua não deve ser permitido e os gatos devem ser castrados (HARDY, *et al.*, 1977; HARDY, *et al.*, 1976). Em estabelecimentos veterinários, gatos infectados por FeLV podem permanecer no mesmo ambiente que gatos não infectados, desde que permaneçam em gaiolas separadas e sejam realizados os procedimentos rotineiros de higiene e desinfecção (TERPSTRA *et al.*, 2007; KRAMER; SCHWEBKE; KAMPF; 2006, LITTLE *et al.*, 2020). Animais doadores de sangue devem ser comprovadamente negativos para DNA proviral do FeLV por meio de PCR (NESINA, *et al.*, 2015).

A vacinação é outra estratégia de grande importância na prevenção de infecções por FeLV. Atualmente existem algumas vacinas disponíveis comercialmente, incluindo vacinas de vírus inativado, com vírus vetores recombinantes e de subunidades (LITTLE *et al.*, 2020; HARTMANN, 2015). Entre as vacinas contra o FeLV disponíveis no Brasil, as duas mais frequentemente utilizadas são as de vírus inativado, sendo as principais a Fel-O-Vax LvK IV + CaliciVax (Zoetis Inc., Parsippany-Troy Hills, New Jersey, United States) e a Nobivac Feline 1-HCPCh+FeLV (Merck Sharp & Dohme, Rahway, New Jersey, United States). Essas vacinas são eficazes na prevenção das infecções progressivas e, conseqüentemente, de enfermidades graves associadas ao FeLV (HOFMANN-LEHMANN *et al.*, 2008; HOFMANN-LEHMANN *et al.*; 2007). A *American Association of Feline Practicioners* (AAFP) recomenda que todos os filhotes de até um ano de idade e adultos em risco de transmissão sejam vacinados (SCHERK *et al.*, 2013).

### 3.7 EPIDEMIOLOGIA

Dados de prevalência em diferentes locais do mundo demonstram que o FeLV é um dos agentes infecciosos mais frequentemente detectados em gatos domésticos, ocorrendo importantes variações de acordo com a região geográfica (Tabela 1). No entanto, também é perceptível uma variação no número de amostras testadas em cada região (BUCH *et al.*, 2017; HARTMANN; HOFMANN-LEHMANN, 2020; STUDER *et al.*, 2019; BURLING *et al.*, 2017, GLEICH; KRIEGER; HARTMANN, 2009; HOFMANN-LEHMANN *et al.*, 2018).



**Tabela 1 – Prevalência estimada do FeLV em diferentes regiões do mundo baseada na detecção do antígeno p27 (ELISA).**

Região	N	Ag FeLV (sangue total)
América do Norte	2.500.000	4%
América Latina	9984	13%
Caribe	6882	9%
Norte da Europa	95.800	7%
Sul da Europa	206.157	12%
Oriente Médio e África	4787	14%
Ásia e Pacífico	81.201	6%

Fonte: Adaptado de BUCH, *et al.* (2017).

A prevalência geral na Europa foi de aproximadamente 2,3% tendo como método de detecção a RT-PCR para RNA viral do FeLV em amostras de saliva. Os países com o maior número de animais positivos foram Portugal (8,8%), Hungria (5,9%) e Itália/Malta (5,7%). Os dados somados demonstram que o sul da Europa apresenta maior prevalência (12%) (Tabela 1). Os fatores de risco identificados neste estudo incluíram machos adultos sexualmente intactos, com acesso ao exterior, vivendo em grupos de  $\geq 5$  gatos e estando clinicamente doentes no momento do teste (STUDER *et al.*, 2019).

Entre os estudos realizados na África, a frequência de detecção do antígeno p27 do FeLV por ELISA foi de 41% dos gatos avaliados no Zimbábue, 14,5% em Moçambique e em contraste, não foram relatadas infecções por FeLV no Quênia e Etiópia. Em relação aos fatores de risco, foi observado que gatos clinicamente doentes, sexualmente intactos, com acesso à rua, vivendo em domicílios com vários gatos e em áreas suburbanas tinham maior probabilidade de infecção (MUCHAAMBA *et al.*, 2014; TCHAMO, 2019; TIAO *et al.*, 2012; SCHULTZ, 2023).

Na América do Norte, aproximadamente 4% dos gatos eram positivos (BUCH *et al.*, 2017). Estudos que incluíram gatos de propriedade privada e abrigos nos Estados Unidos (EUA) e no Canadá em 2006 e 2010 identificaram positividade (ELISA) em 2,3% e 3,1% dos gatos, respectivamente (LEVY *et al.*, 2006; BURLING *et al.*, 2017). Ao avaliar gatos de clínicas veterinárias, abrigos, programas de resgate e programas de manejo de gatos de rua no Canadá, a prevalência do FeLV foi de 3,4% (LITTLE *et al.*, 2009). Nos três estudos, os machos adultos sexualmente intactos com acesso à rua e clinicamente doentes no momento do teste tinham maior probabilidade de serem soropositivos (LEVY *et al.*, 2006; LITTLE *et al.*, 2009;



BURLING *et al.*, 2017). A presença abscessos cutâneos e/ou feridas de mordida também foram considerados como um fator de risco nos EUA (GOLDKAMP *et al.*, 2008).

Na América Latina, a prevalência geral do FeLV é de aproximadamente 13% (BUCH *et al.*, 2017). No México, 7,5% dos gatos eram positivos para o antígeno p27 do FeLV por ELISA, e a idade adulta foi identificada como fator de risco (ORTEGA-PACHECO *et al.*, 2013). Na Costa Rica e na Colômbia, 16,7% e 22% dos gatos eram soropositivos, respectivamente. Gatos de raça mista eram mais frequentemente infectados pelo FeLV na Colômbia, enquanto gatos em idade adulta foram descritos como em risco no México (BLANCO *et al.*, 2009; MOLINA, 2019).

No que diz respeito ao Brasil, vários estudos de frequência do FeLV foram realizados e mostraram resultados altamente variáveis, variando de 0,33% em Araçatuba, São Paulo, a 47,5% em Belo Horizonte, Minas Gerais (Quadro 1) (SOBRINHO *et al.*, 2011; COELHO *et al.*, 2011). Essa variação pode ser devido a diferenças nas populações de gatos estudadas, visto que a maioria dos estudos utilizou de amostragem por conveniência e uma maior prevalência foi observada entre populações com um maior número de gatos doentes (ALMEIDA *et al.*, 2012; BIEZUS *et al.*, 2019). Outro fator importante pode ser o método diagnóstico aplicado em cada estudo, pois sua sensibilidade e especificidade podem levar a resultados diferentes. Uma prevalência especialmente alta do FeLV (47,5%) foi identificada em Belo Horizonte, Minas Gerais, em um estudo em que a PCR foi utilizada para a detecção, em comparação com outro estudo realizado em São Paulo (6,2%), onde ensaios de IFA foram utilizados (COELHO *et al.*, 2011; JORGE; FERREIRA; HAGIWARA, 2011).

Apesar das diferenças, a maioria dos estudos brasileiros concordou quanto aos fatores de risco identificados, incluindo gatos machos, idade adulta, acesso à rua, domicílios com vários gatos e estar doente no momento do teste. No Brasil, é comum que os gatos possuam acesso à rua, fator que somado ao comportamento reprodutivo e territorial frequentemente apresentado por gatos machos adultos jovens, propicia a disseminação do vírus. Aglomerações de animais em domicílios também contribuem para a transmissão, visto que o contato próximo com animais infectados é considerado como a principal forma de transmissão. Adicionalmente, como uma das manifestações mais comuns da infecção por FeLV é a imunossupressão, o vírus é mais frequentemente detectado em populações de animais clinicamente doentes, o que contribui com a alta prevalência em animais atendidos em clínicas e hospitais veterinários

(ALMEIDA *et al.*, 2012; JORGE; FERREIRA; HAGIWARA, 2011; MEINERZ *et al.*, 2010; FEITOSA *et al.*, 2021; HARTMANN, 2015; LITTLE, *et al.*, 2020).

Quadro 1- Prevalência das infecções por FeLV em diferentes estados e regiões do Brasil.

Estado	Região / Município	Período	N	População	Método de diagnóstico	Prevalência de FeLV	Referência
Rio de Janeiro	Rio de Janeiro	2007-2008	1094	Gatos atendidos em clínicas veterinárias, hospitais, abrigos ou domicílios privados.	IFA	11,52%	ALMEIDA, <i>et al.</i> , 2012
Minas Gerais	Belo Horizonte	2002-2008	1072	Gatos atendidos em estabelecimentos veterinários particulares.	PCR DNA Proviral	47,5%	COELHO, <i>et al.</i> , 2011
Espírito Santo	Grande Vitória	2014-2016	388	Gatos atendidos em um hospital veterinário universitário e em uma clínica veterinária privada especializada em gatos.	ELISA	33%	ALMEIDA, <i>et al.</i> , 2021
Espírito Santo	Vila Velha	2020	70	Gatos atendidos em um hospital veterinário universitário.	ELISA	43%	GONÇALVES, <i>et al.</i> , 2021
São Paulo	São Paulo	2003-2004	812	Gatos atendidos em estabelecimentos veterinários particulares.	IFA	6,2%	JORGE; FERREIRA; HAGIWARA, 2011
São Paulo	Araçatuba	NI*	302	Gatos recebidos em um centro de controle de zoonoses ou provenientes de duas residências particulares que atuavam como abrigos.	ELISA	0,33%	SOBRINHO, <i>et al.</i> , 2011
Mato Grosso	Cuiabá	NI	88	Gatos atendidos em um hospital veterinário universitário.	ELISA	4,5%	POFFO, <i>et al.</i> , 2017
Paraíba	Sousa	2019-2020	103	Gatos atendidos em consultas veterinárias domiciliares.	ELISA	0,9%	FEITOSA, <i>et al.</i> , 2021
Paraná, Rio Grande do Sul e Santa Catarina	Região Sul do Brasil	NI	1263	Metanálise de dados de prevalência de estudos anteriores.	NI	23,08%	GÓIS, <i>et al.</i> , 2020
Santa Catarina	Lages	2015-2016	274	Gatos atendidos em um hospital veterinário universitário.	ELISA	22,26%	BIEZUS, <i>et al.</i> , 2019
Rio Grande do Sul	Porto Alegre	2010-2014	493	Gatos atendidos em um hospital veterinário universitário.	ELISA	31%	COSTA, <i>et al.</i> , 2017
Rio Grande do Sul	Porto Alegre	2020-2021	195	Gatos atendidos em um laboratório veterinário particular.	ELISA	14%	SANTOS, <i>et al.</i> , 2021
Rio Grande do Sul	Pelotas e Rio Grande	NI	120	Gatos ferais provenientes de 13 colônias com pelo menos 5 gatos cada.	IFA	38,3%	MEINERZ, <i>et al.</i> , 2010

\*NI: não informado

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 POPULAÇÃO E LOCAL

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética em Uso de Animais da Universidade de Caxias do Sul (CEUA; protocolo nº006/2022) e foi conduzido de janeiro de 2022 a março de 2023 no município de Caxias do Sul, no estado do Rio Grande do Sul, no Sul do Brasil, e incluiu gatos pertencentes a tutores, atendidos em clínicas e hospitais veterinários particulares.

Durante a anamnese e o exame clínico geral, foram coletados dados relativos à localidade onde o animal vivia, idade, sexo, status reprodutivo, status vacinal e acesso à rua, assim como alterações clínicas presentes. Tais informações foram priorizadas com base nos principais fatores de risco associados à disseminação do FeLV em estudos antecedentes, nos quais foi observada maior frequência em machos jovens, não castrados e com acesso à rua (HOFMANN-LEHMANN, 2020; WESTMAN *et al*, 2019).

### 4.2 COLETA DE AMOSTRAS E DADOS EPIDEMIOLÓGICOS

Durante a anamnese e exame clínico, os proprietários de gatos responderam à uma ficha de anamnese que continha perguntas sobre os seguintes dados: idade, sexo, status reprodutivo, estado de saúde e principais manifestações clínicas apresentadas, status vacinal, acesso à rua e o bairro de residência. A coleta dessas informações foi priorizada com base nos principais fatores de risco associados à disseminação do FeLV em estudos anteriores, nos quais uma maior frequência foi observada em machos adultos jovens, sexualmente intactos, com acesso ao exterior (HOFMANN-LEHMANN, 2020; WESTMAN *et al*, 2019; STUDER *et al*, 2019).

Utilizando técnicas de abordagem *cat friendly* para a contenção física (RODAN *et al*, 2022), foi realizada a coleta de sangue por punção das veias cefálica ou jugular externa. O sangue total coletado de cada animal foi acondicionado em tubos de 0,5 mL, previamente identificados, contendo anticoagulante ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e mantidos refrigerados (2 a 8 °C) até a chegada ao laboratório.

No laboratório foi procedida a centrifugação das amostras (12.000 rpm por 3 minutos) para possibilitar a separação dos componentes do sangue (plasma, capa leucocitária e hemácias). Tais hemocomponentes foram separados manualmente com o auxílio de um

micropipetador e posteriormente armazenados em criotubos e congelados (-20 °C) até a realização das etapas seguintes.

Foram selecionadas 252 amostras de gatos saudáveis ou doentes a incluir no estudo. Todos os animais selecionados foram previamente submetidos à triagem para retrovírus felinas com o uso de testes imunocromatográficos individuais (testes rápidos) SNAP FIV/FeLV Combo<sup>®</sup> Test (IDEXX Laboratories, Westbrook, Maine, United States).

#### 4.3 EXTRAÇÃO DE DNA E ENSAIOS DE QPCR

A extração do DNA das amostras de sangue foi realizada com a utilização dos kits NewGene<sup>®</sup> Prep e PreAmp (Simbios Biotecnologia, Cachoeirinha, RS, Brasil). Para a detecção e quantificação do DNA proviral de FeLV, o DNA extraído das amostras foi submetido ao ensaio de qPCR, com o uso de NewGene<sup>®</sup> FeLV Amp Mastermix (Simbios Biotecnologia, Cachoeirinha, RS, Brasil). Ambos os processos foram realizados de acordo com as instruções do fabricante dos reagentes. As reações foram procedidas sob as seguintes condições: desnaturação a 95 °C por 3 minutos, e 40 ciclos de 95 °C por 15 segundos, e então anelamento e extensão a 60 °C por 60 segundos. Para a determinação da carga de DNA proviral e de RNA viral, a extração do DNA do sangue total com anticoagulante EDTA e do RNA do plasma sanguíneo foi realizada utilizando os kits comerciais NewGene<sup>®</sup> Prep e PreAmp (Simbios Biotecnologia, Cachoeirinha, RS, Brasil), de acordo com as instruções do fabricante. Os resultados foram considerados positivos quando abaixo do valor limite de Ct=38 (BIONDO, *et al.*, 2023).

Para a obtenção dos dados quantitativos, utilizou-se amostras padrão com carga viral pré-definida e a concentração de FeLV foi convertida em log<sub>10</sub> e então o alcance linear foi analisado por meio da representação dos dados em *scatter plots* e comparação com uma linha de equidade. Os cálculos de coeficiente de correlação e análises de regressão linear foram realizados com o uso do *software* Microsoft Excel (Microsoft Corp., Redmond, WA, USA) (BIONDO *et al.*, 2023).

#### 4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados no *software* IBM SPSS<sup>®</sup>, versão 23.0 e no R studio. Para os dados contínuos, a normalidade foi avaliada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov, com correção Lilliefors. As variáveis quantitativas não paramétricas foram apresentadas como mediana mínimo e máximo, sendo os valores de p obtidos pelo teste U de Mann-Whitney. As análises

bivariadas foram realizadas para avaliar a associação entre variáveis categóricas e o desfecho, bem como para obtenção do *odds ratio* (OR) bruto com o respectivo intervalo de confiança de 95% (IC 95%). As frequências absolutas e relativas foram estimadas para os dados categórico através do teste qui-quadrado de Pearson ou teste exato de Fisher, conforme apropriado. Valores de  $p < 0,20$  na análise bivariada, foram inseridos na análise multivariada. No modelo multivariado final, realizado pela regressão de logística binária, foram considerados significativos os valores de  $p < 0,05$ .

## 5 RESULTADOS

Os resultados da presente dissertação estão organizados em um manuscrito com o título **“Prevalence and preliminary characterization of Feline Leukemia Virus (FeLV) infections in domestic cats in South Brazil”**, que está apresentado na sua forma preliminar nas próximas páginas e será submetido para publicação na revista Preventive Veterinary Medicine (ISSN 0167-5877, fator de impacto 3.372, classificação Qualis A1).

1 **Prevalence and preliminary characterization of feline leukemia virus (FeLV) infections**  
2 **in domestic cats in southern Brazil**

3 Laura Pancich Diesel<sup>1</sup>, Lauren Santos de Mello<sup>2</sup>, Weslei de Oliveira Santana<sup>3</sup>, Nilo Ikuta<sup>2</sup>,  
4 André Salvador Kazantzi Fonseca<sup>2</sup>, Diéssy Kipper<sup>2</sup>, Vagner Reinaldo Zingali Bueno Pereira<sup>5</sup>,  
5 André Felipe Streck<sup>4</sup>, Vagner Ricardo Lunge<sup>1,2,4</sup>

6 <sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Saúde Animal, Universidade de Caxias do Sul (UCS), Caxias  
7 do Sul, RS, Brazil. <sup>2</sup>Simbios Biotecnologia, Cachoeirinha, RS, Brazil. <sup>3</sup>Fundação Universidade  
8 de Caxias do Sul - Hospital Geral; Caxias do Sul; Rio Grande do Sul; Brasil. <sup>4</sup>Laboratório de  
9 Diagnóstico em Medicina Veterinária, Universidade de Caxias do Sul (UCS), Caxias do Sul,  
10 RS, Brazil.

11 CORRESPONDENCE: Prof. Dr. Vagner Ricardo Lunge, Laboratório de Diagnóstico em  
12 Medicina Veterinária, Universidade de Caxias do Sul, Travessão Solferino, 610-782, Bloco 57,  
13 Cruzeiro, CEP 95070-560, Caxias do Sul, RS, Brazil.

14

15 **Abstract**

16 Feline leukemia virus (FeLV) is a prevalent retrovirus in domestic cats worldwide. FeLV  
17 infection risk groups are young adults, non-castrated males, animals with outdoor access and  
18 living with many other cats. FeLV positive cats can also have different disease outcomes,  
19 including progressive, regressive, and abortive infections. Progressive infection frequently  
20 results in severe clinical manifestations, as anemia, immunosuppression, leukemia, lymphoma,  
21 and death. Even cats with regressive infections carry FeLV provirus and the disease can  
22 reactivate anytime. The present study aimed to perform an epidemiological survey of FeLV  
23 prevalence as well as to evaluate the main risk factors and disease outcomes in southern Brazil.  
24 A total of 366 cats with p27 FeLV antigen result (negative and positive) and sociodemographic



25 information (age, health and reproductive status, neighborhood of residence, behavior, clinical  
26 manifestations, vaccination history) were included in the study. Blood samples were collected  
27 and FeLV infection was detected by quantitative polymerase chain reaction (qPCR). FeLV  
28 positive available plasma samples were further submitted for analysis of proviral (DNA) and  
29 viral (RNA) loads by qPCR and reverse transcription – qPCR (RT-qPCR), respectively. The  
30 results demonstrated a total of 112 (30.6%) positive cats by the rapid test and/or qPCR,  
31 including males (n=64/112, 57.1%) and females (n=48/112, 42.9%), castrated (n=80/112,  
32 713.4%) and sexually intact cats (n=32/113, 28.6%), with outdoor access (n=76/112, 67.9%) or  
33 not (n=34/112, 30.4%), with immunization care (n=36/112, 32.1%) or unvaccinated (n=74/112,  
34 66.1%). Cats without receiving any vaccine in the life (OR 2.52,  $p < 0.001$ ), clinically ill (OR  
35 2.88,  $p < 0.001$ ), with access to outdoors (OR 2.70,  $p < 0.001$ ) and exhibiting apathetic behavior  
36 (OR 3.06,  $p < 0.001$ ) were more likely to be FeLV positive. FeLV infected cats also present  
37 lethargy (OR 3.09,  $p < 0.001$ ), anemia (OR 13,  $p < 0.001$ ), and neoplasia (OR 5.9,  $p < 0.001$ ).  
38 After multivariate analysis, higher risk to FeLV infection included non-vaccination (OR 9.67;  
39 95% CI: 1.85-23.69) and outdoor access (OR 2.52, 95% CI: 1.49-4.23). Fifty-eight FeLV  
40 positive cats could be evaluated for RT-qPCR. A total of 11 (19%) animals present regressive  
41 infection (FeLV RNA negative), 35 (60.3%) progressive infection with low FeLV RNA loads  
42 ( $< 10^3$  particles / mL) and 12 (20.7%) progressive infection with high FeLV RNA loads ( $> 10^3$   
43 particles / mL). The high prevalence of FeLV, including many progressive infections, highlights  
44 the need to establish effective control and prevention strategies to reduce transmission and  
45 progressive infections in South Brazil.

46 **Keywords:** FeLV, prevalence, Brazil, PCR, proviral load, viral load

47

## 48 **Introduction**

49 Feline Leukemia Virus (FeLV) is a retrovirus with worldwide distribution that infects domestic  
50 cats (*Felis catus*). FeLV belongs to the family *Retroviridae*, subfamily *Orthoretrovirinae* and  
51 genus *Gammaretrovirus*. It is an enveloped virus with single-stranded RNA (JARRETT; NEIL,  
52 2012). FeLV replication requires proviral integration into the host's DNA (CATTORI, et al.,  
53 2006; WILLETT; HOSIE, 2013). FeLV genome contains the genes *gag*, *pol*, and *env*, along  
54 with long terminal repeat regions (LTRs). The *gag* gene encodes precursor proteins for the  
55 retrovirus's structural proteins, including p15, p12, and p27 (JARRETT; NEIL, 2012), while  
56 *pol* gene synthesizes the viral enzymes protease, integrase, and reverse transcriptase  
57 (JARRETT; NEIL, 2012). The *env* gene encodes the surface glycoprotein (SU) gp70 of the  
58 envelope and the protein p15E. gp70 plays a significant role in defining viral subgroups and  
59 cellular tropism, and it is the main target of neutralizing antibodies (RAMSEY; SPIGBEY;  
60 JARRETT, 1998).

61 FeLV prevalence studies in North America and Europe have demonstrated 1 to 4% of infected  
62 cats (BUCH et al., 2017; STUDER et al.; 2019). In Latin America, the estimated prevalence is  
63 much higher, approximately 13% (BUCH et al., 2017). In Brazil, previous reports demonstrated  
64 highly variable FeLV infection frequencies (ALMEIDA et al., 2012, BIEZUS et al., 2019).  
65 More recent studies in the general cat populations have shown FeLV prevalence approaching  
66 20% in some urban perimeters (BIEZUS et al., 2019; COSTA et al., 2017; ALMEIDA et al.,  
67 2021).

68 FeLV transmission occurs through close contact between infected and naïve cats, typically by  
69 social behavior such as licking or biting as well as sharing foods and utensils (HARDY, et al.,  
70 1976a, 1976b). Iatrogenic transmission, resulting from medical procedures, can occur through  
71 contaminated needles, instruments, and blood transfusions (HARTMANN, 2015; NESINA, et

72 al., 2015). Vertical transmission, from mother to offspring, is also common and transmission  
73 can occur through the placenta, nursing, or licking of offspring (HARTMANN, 2015; LEVY,  
74 et al., 2000). Most studies around the world reported that the cats at the highest risk of FeLV  
75 infection are typically young, unneutered males with access to the outdoors and living in multi-  
76 cat households. These cats are more likely to engage in territorial behavior, increasing the risk  
77 of transmission through fighting-related injuries (HARTMANN; HOFMANN-LEHMANN,  
78 2020; WESTMAN, et al., 2019). Additionally, the main risk factors identified in Brazilian  
79 studies also include young and adult cats, non-neutered males, cats with outdoor access or  
80 rescue cats, and households with numerous cats (ALMEIDA et al., 2012; JORGE et al., 2011;  
81 SOBRINHO et al., 2011; COELHO et al., 2011).

82 FeLV infected cats can course with different outcomes: progressive, regressive, and abortive.  
83 Progressive infection is the most clinically important because it usually results in severe clinical  
84 manifestations such as anemia, immunosuppression, and the development of neoplasia,  
85 frequently progressing to death. Even cats with regressive infections carry FeLV provirus and  
86 the disease can reactivate anytime. Finally, abortive infection represents the best prognosis, as  
87 animals can spontaneously clear FeLV (HARTMANN; HOFMANN-LEHMANN, 2020;  
88 LITTLE, *et al.*, 2020).

89 Successful programs have been implemented to remove FeLV-positive animals from the  
90 environment and prevent contact with healthy cats (WEIJER, et al., 1976; HARDY, et al., 1976;  
91 STUDER, et al., 2019). Individual testing and isolation of positive cats, along with vaccination  
92 of negative cats, are the most recommended preventive measures (LITTLE, et al., 2020). FeLV  
93 can be detected in the cat's blood by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), mainly  
94 with immunochromatographic method (rapid test), and polymerase chain reaction (PCR). FeLV  
95 proviral (DNA) and viral (RNA) loads can be determined by quantitative PCR (qPCR) and  
96 reverse transcription – qPCR (RT-qPCR), respectively (TORRES; MATHIASON; HOOVER,

97 2004; GOMES-KELLER, et al., 2006; TANDON, et al., 2005). In addition, immunization  
98 against FeLV can be achieved using available vaccines (LITTLE et al., 2020).

99 The present study aimed to investigate the frequency of FeLV infection, to identify the risk  
100 factors associated with this infection and to determine the main disease outcomes in domestic  
101 cats from South Brazil.

102

### 103 **Material and Methods**

#### 104 *Population, data and sample collection*

105 The whole study included privately owned cats attended in private veterinary facilities in the  
106 municipality of Caxias do Sul (Rio Grande do Sul state, South Brazil) from March 2021 to  
107 March 2023. Prior to the clinical examination, cat tutors answered a questionnaire with the  
108 following information: age (years), sex, reproductive status (intact or neutered), behavior (alert  
109 or apathetic), health status and clinical signs and/or diseases presented, vaccination status,  
110 external access (yes or no) and neighborhood where the cat lived. Clinical signs information  
111 was used to determine the health status (clinically healthy or sick). The major clinical  
112 manifestations were sorted by biological systems for further analysis. Samples with missing  
113 data information were categorized as “not informed”. According to age, animals were divided  
114 into four categories, based on the definition of feline life stages by the American Association of  
115 Feline Practitioners: kitten (up to one year), young adult (1-6 years), mature adult (7-10 years)  
116 and senior (>10 years) (QUIMBY et al, 2021).

117 Using cat-friendly approach techniques for physical restraint, blood was collected by puncture  
118 of the cephalic or external jugular veins (RODAN et al, 2022). Feline retroviruses screening  
119 was performed using individual SNAP FIV/FeLV Combo® Test (IDEXX Laboratories,  
120 Westbrook, Maine, United States). Additionally, a 0.5 mL whole blood sample was collected

121 from each animal and placed in tubes containing EDTA (ethylenediamine tetra acetic acid)  
122 anticoagulant and after kept refrigerated (2 to 8 °C) to transport to the laboratory. All samples  
123 were further centrifuged (12000 rpm for 3 minutes) to separate to separate the general layers of  
124 the blood components: red blood cells at the bottom, the buffy coat (containing the various  
125 white blood cells and platelets) in the middle, and the blood plasma at the top of the tube. All  
126 layers were removed with a micropipette to be stored in separate cryotubes at the freezer (-20  
127 °C) for all other laboratorial analyses.

### 128 *DNA Extraction and qPCR Assays*

129 DNA extraction from blood cells with EDTA anticoagulant was performed using the  
130 commercial kits NewGene® Prep and PreAmp (Symbios Biotecnologia, Cachoeirinha, RS,  
131 Brazil), according to the manufacturer's instructions.

132 For detection and quantification of FeLV provirus, extracted DNA was evaluated by qPCR  
133 assays with the use of NewGene® FeLVamp-qPCR Mastermix (Symbios Biotecnologia,  
134 Cachoeirinha, RS, Brazil) in a Step One Plus™ Real-Time PCR System Thermal Cycler  
135 (Applied Biosystems, Norwalk, CT, USA) under the following conditions: denaturation at 95°C  
136 for 3 minutes, 40 cycles of 95°C for 15s, and then annealing/extension at 60°C for 60s. Samples  
137 results were considered positive when below the threshold value of Ct=38.

138 Quantitative data were obtained using standard samples with pre-defined amounts of specific  
139 gene targets in the DNA synthetic constructs (U3 for FeLV). Standard curve was generated  
140 based on a serial dilution of the gBlock and used to convert real-time PCR crossing points for  
141 FeLV DNA to quantitative values of proviral loads. The linear range was examined by plotting  
142 the data and comparing them to a line of equality. FeLV virus concentrations were log<sub>10</sub>-  
143 transformed for analysis.

#### 144 ***RNA Extraction and RT-qPCR Assays***

145 RT-qPCR was performed on all samples considered positive by qPCR (Ct<38). RNA from  
146 blood plasma was performed using the commercial kits NewGene® Prep and PreAmp (Simbios  
147 Biotecnologia, Cachoeirinha, RS, Brazil), according to the manufacturer's instructions.

148 To detect and quantify plasma FeLV viral loads, extracted RNA samples were evaluated by RT-  
149 qPCR using the NewGene® FeLVamp-RT-qPCR Kit (Simbios Biotecnologia, Cachoeirinha,  
150 RS, Brazil) in a Step One Plus™ Real-Time PCR System Thermal Cycler (Applied Biosystems,  
151 Norwalk, CT, USA) under the following conditions: reverse transcription at 37°C for 30  
152 minutes, denaturation at 95°C for 3 minutes, 40 cycles of 95°C for 15s, and then  
153 annealing/extension at 55°C for 60s. No-template control were included as negative control in  
154 each independent run.

155 Viral load quantitative data were obtained using standard samples with pre-defined amounts of  
156 specific gene targets in the DNA synthetic constructs (U3 for FeLV). Standard curve was  
157 generated based on a serial dilution of the gBlock and used to convert real-time PCR crossing  
158 points for FeLV DNA to quantitative values of provirus and viral loads. The linear range was  
159 examined by plotting the data and comparing them to a line of equality. FeLV virus  
160 concentrations were log<sub>10</sub>-transformed for analysis. No-template control were included as  
161 negative control in each independent run. The FeLV viral load was quantified as described  
162 above.

#### 163 ***FeLV disease outcomes***

164 FeLV infection outcomes were divided into four categories according to the rapid test and  
165 molecular biology laboratorial analyses: not infected (SNAP and qPCR negative / RT-qPCR  
166 negative), regressive (SNAP or qPCR positive / RT-qPCR negative), progressive with low viral

167 load (SNAP or qPCR positive / RT-qPCR positive with  $<10^3$  virus / mL), progressive with high  
168 viral load (SNAP or qPCR positive / RT-qPCR positive and  $>10^3$  virus / mL).

### 169 *Statistical Analysis*

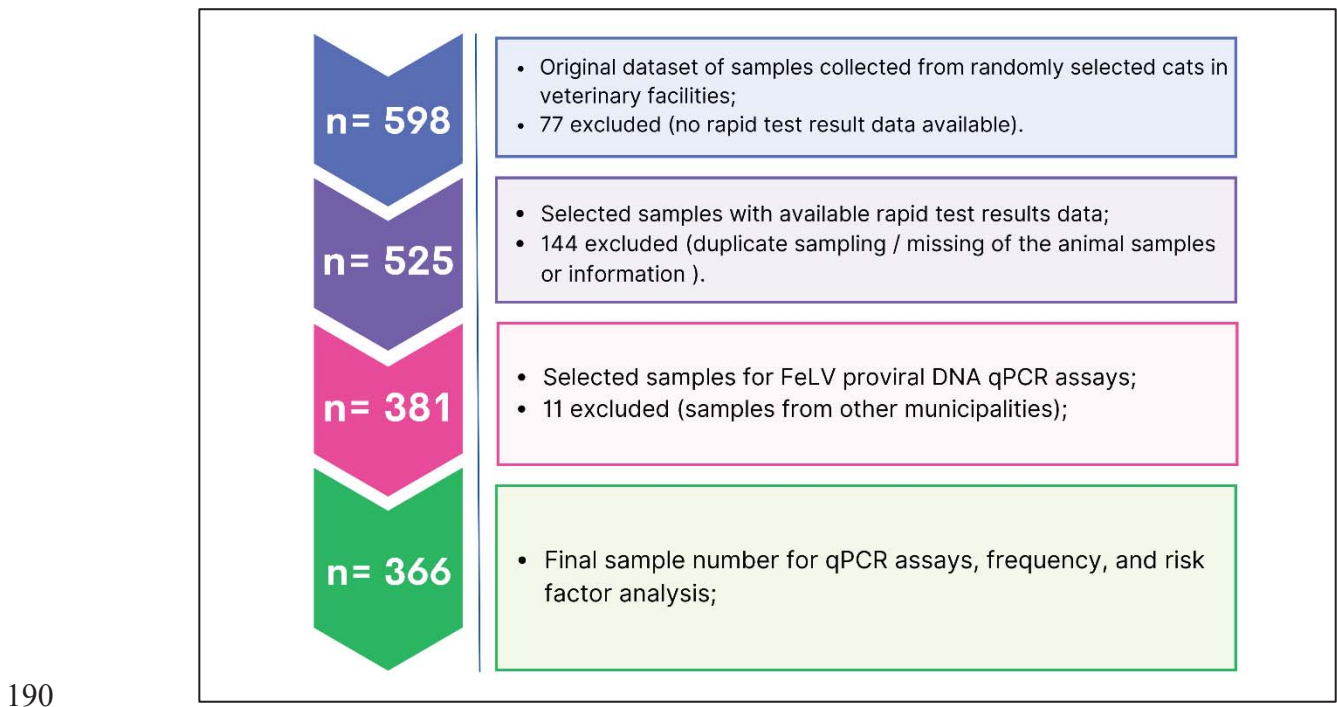
170 All evaluated data were analyzed using IBM SPSS® software, version 23.0, and R Studio. For  
171 continuous data, normality was assessed using the Kolmogorov-Smirnov test with Lilliefors  
172 correction. Non-parametric quantitative variables were presented as median, minimum, and  
173 maximum values, with p-values obtained using the Mann-Whitney U test. Bivariate analyses  
174 were conducted to assess the association between categorical variables and the outcome, as well  
175 as to obtain the crude odds ratio with its respective 95% confidence interval (CI 95%). Absolute  
176 and relative frequencies were estimated for categorical data using either the Pearson chi-square  
177 test or Fisher's exact test, as appropriate. Variables with p-values  $<0.20$  in the bivariate analysis  
178 were included in the multivariate analysis. In the final multivariate model, performed using  
179 binary logistic regression, p-values  $<0.05$  were considered statistically significant.

180

## 181 **Results**

### 182 *Sample selection*

183 A total of 598 samples were obtained from seven animals care clinics and two veterinary  
184 hospitals in the urban perimeter of Caxias do Sul. Seventy-three cats did not undergo the SNAP  
185 test and were excluded from the study. Another 144 animal samples were also excluded from  
186 the study due to missing important information in the questionnaires answered by the tutors.  
187 Finally, 11 cats were excluded because they resided in other municipalities (and not in Caxias  
188 do Sul). Therefore, the final number was 366 cats and blood samples from them were further  
189 evaluated by molecular assays (Figure 1).



191 Fig. 1. Flowchart summarizing the selection process of the samples included in the study.

192 ***Population characteristics***

193 The total sampling population included 200 males (54.6%) and 166 females (45.4%) cats from  
 194 44 different neighborhoods in Caxias do Sul, Rio Grande do Sul, Brazil (Figure 2). Information  
 195 regarding reproductive status was available for 363 cats (99.2%), with 250 (68.3%)  
 196 spayed/castrated animals and 113 (30,9%) sexually intact. Age data was available for 359  
 197 (98.1%) cats and 206 (56.3%) were young adults (1-6 years), 83 (22,7%) kittens, 36 (9.8%)  
 198 mature adults and 34 (9,3%) seniors (Table 1). Approximately half of all cats had outdoor access  
 199 (n= 187, 51.1%), while 168 (45.9%) not (missing information for 11, 3%). Most animals were  
 200 also clinically sick (n= 202, 55.2%), while 159 (43.4%) cats were healthy at the time of  
 201 veterinary consultation (health status was not informed for 5 animals, 1.4%). Finally, 185  
 202 (50.5%) cats had never received any immunization vaccine, while 172 (47%) had been  
 203 vaccinated at least once (vaccination history was not informed for 9 cats, 2.5%). Importantly,

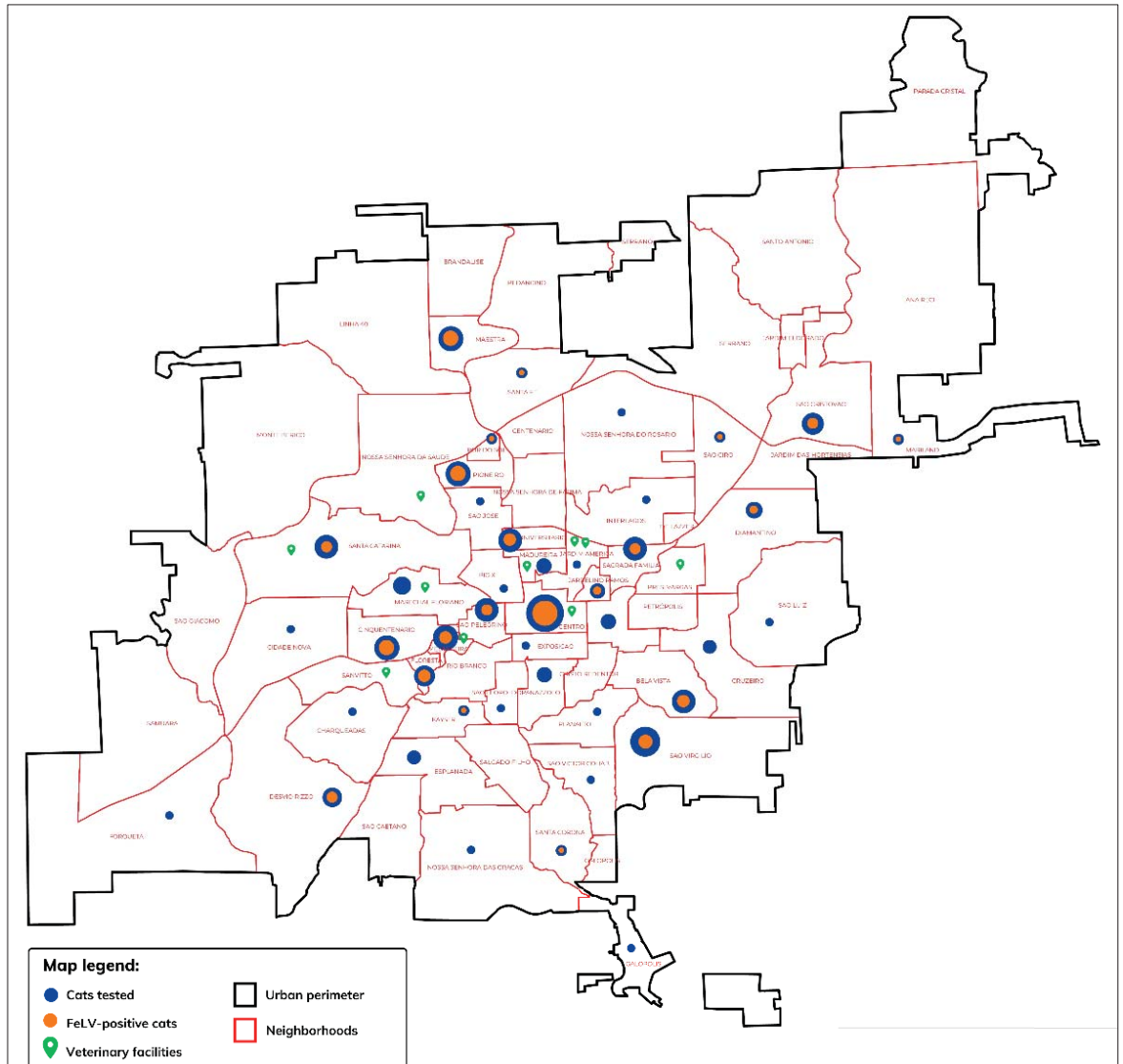


204 the type of vaccine administered (with or without FeLV protection) was available for only 97  
205 cats. Of these, 62 (63.9%) were vaccinated against FeLV.

### 206 *FeLV frequency and risk factors*

207 A total of 112 cats (30.6%) were positive for FeLV in the SNAP test and/or the qPCR. There  
208 were FeLV positive cats in 24 different neighborhoods of the city, highlighting Centro (n=29 /  
209 79, 36.7%), Santa Catarina (n=6 / 26, 23.1%), Cinquentenário (n=9 / 20, 45%), Pioneiro (n=7 /  
210 19, 36.8%), and São Pelegrino (n=7 / 19, 36.8%) (Figure 2). FeLV was frequent in males (n=  
211 64, 32%) and females (n= 48, 29%) (OR 1.16, p=0.524). Also, FeLV infection occurred in  
212 neutered cats (n=80, 21%) as well as sexually intact cats (n=32, 40%) (OR 0.84, p=0.482).  
213 Regarding age, young adults (1-6 years) were affected more frequently (n=63, 31%) than kittens  
214 ( $\leq 1$  year; n= 23, 28%), mature adults (7-10 years; n=15, 42%), and seniors (n=8, 23.5%). Being  
215 a mature adult or a senior cat were identified as protective factors (OR 0.09,  $p < 0.001$  and OR  
216 0.06,  $p < 0.001$ , respectively). Clinically sick cats were more frequently FeLV-infected (n=81,  
217 40%) than clinically healthy cats (n=30, 19%) OR 2.88,  $p < 0.001$ ). A high prevalence of FeLV  
218 was observed among cats that had outdoor access (n= 76 41%) than in those that remained  
219 exclusively indoors (n=34, 20%) (OR 2.70,  $p < 0.001$ ) (Table 1).

220



221

222 Fig. 2- Map of Caxias do Sul, Rio Grande do Sul, Brazil, with the respective veterinary  
 223 facilities, positive and negative cats in each neighborhood.

224 Animals never vaccinated for any disease were more frequently infected with FeLV (n=74,  
 225 40.0%) and had higher odds of being FeLV-infected (OR, 9.67,  $p < 0.001$ ) than those receiving  
 226 any vaccine in their lifetime (n=36, 20.9%). Information regarding the nature of the  
 227 administered vaccine was available for 97 cats (26.5%). Cats that were vaccinated with  
 228 quadruple and triple vaccines (n=8, 44% and n=7, 41.2%, respectively) were more frequently  
 229 FeLV-infected than those that had received quintuple vaccines (n=4, 6.5%).

230 In the evaluation of the clinical signs presented by the sick animals, FeLV-positive cats  
231 commonly presented lethargy (n=32, 52.5%), anemia (n=19, 8%, and neoplasia (n=14, 70%)  
232 (Table 1). FeLV-infected cats also had higher odds of presenting all these three main clinical  
233 manifestations (lethargy: OR 3.09, p <0.001; anemia: OR 13, p <0.001; neoplasia: OR 5.9, p  
234 <0.001) (Table 1).

235 All risk factors associated with FeLV infection were compared in a multivariate analysis (Figure  
236 3). Variables with statistically significant results were non-vaccinated cats (OR 9.67; 95% CI:  
237 1.85-23.69) and cats that were vaccinated with triple (OR 9.67, 95% CI: 3.37-27.76) and  
238 quadruple (OR 2.74, 95% CI: 1.53-4.89) vaccines, and cats that were allowed outdoor access  
239 (OR 2.52, 95% CI: 1.49-4.23). Anemia and neoplasia were associated with FeLV infection (OR  
240 9.11, 95% CI: 2.41, 29.49 and OR 4.14, 95% CI: 1.42-12.11, respectively).

#### 241 *Comparison between FeLV proviral and viral loads*

242 A total of 109 cat's blood samples (51 negative and 58 FeLV positive) could also be evaluated  
243 by RT-qPCR to determine FeLV DNA and RNA loads. All 51 previously negative samples were  
244 also FeLV RNA negative, while 47 from the 58 (81%) FeLV DNA positive samples were also  
245 FeLV RNA positive. The remaining eleven FeLV DNA positive samples presented FeLV RNA  
246 negative result in the RT-qPCR. Therefore, these eleven animals were considered with  
247 regressive infection. In the analysis of the RT-qPCR results of the remaining 47 animals, 35  
248 presented less than 1000 copies/mL, so they were classified as progressive with low FeLV viral  
249 load, and 12 presented more than 1000 copies/mL, so they were classified as progressive with  
250 high FeLV viral load (Table 5). The comparison of all FeLV DNA and RNA viral loads can be  
251 seen in the scatterplot in Figure 4.

252

253 **Table 1** – Risk factors associated with FeLV infections.

Variable	FeLV-positive		FeLV-negative		OR (95% CI)	p
	n	%	n	%		
Age (years)	2 <sup>a</sup> (0.16 <sup>b</sup> -15 <sup>c</sup> )		3 <sup>a</sup> (0.16 <sup>b</sup> -18 <sup>c</sup> )		-	0.665 <sup>d</sup>
<b>Sex</b>						
Male	64	32	136	68	1,16 (0,74-1,81)	0,524
Female	48	29	118	71	1,00 Ref.	
<b>Reproductive status</b>						
Intact	32	40	81	60	0,84 (0,15-1,37)	0,482
Neutered	80	21	170	79	1,00 Ref.	
<b>Vaccination</b>						
Non vaccinated	74	40	111	60	2,52 (1,57-4,03)	<0,001 <sup>e</sup>
Vaccinated	36	21	136	79	1,00 Ref.	
<b>Vaccine</b>						
Non-vaccinated	74	40	111	60	9,67 (3,36-27,76)	<0,001
Triple	7	41.2	10	58.8	10,15 (2,50-41,15)	0,001
Quadruple	8	44	10	56	11,60 (2,93-45,88)	0,001
Quintuple	4	6,5	58	93.5	1,00 Ref.	
<b>Health status</b>						
Sick	81	40	121	60	2,88 (1,77-4,68)	<0,001
Healthy	30	19	129	81	1,00 Ref.	
<b>Outdoor access</b>						
Yes	76	41	111	59	2,70 (1,68-4,34)	<0,001
No	34	20	134	80	1,00 Ref.	
<b>Behavior</b>						
Apathetic	32	52.5	29	47.5	3,06 (1,74-5,38)	<0,001
Alert	80	26.5	222	73.5	1,00 Ref.	
<b>Age</b>						
Young adult (1-6 years)	63	31	143	69	1,14 (0,65-2,02)	0,629
Mature adult (7-10 years)	15	42	21	58	0,09 (0,04-0,21)	<0,001
Senior (>10 years)	8	23.5	26	76.5	0,06 (0,2-0,15)	<0,001
Kitten (>1 year)	23	28	60	72	1,00 Ref.	

254 a Chi-Square Test; b Fisher's Exact Test; c Mann-Whitney's U Test; OR: Odds ratio.  $p \leq 0,20$  values are shown in bold.

**Table 2** – Clinical manifestations presented by FeLV-infected cats in comparison with uninfected cats.

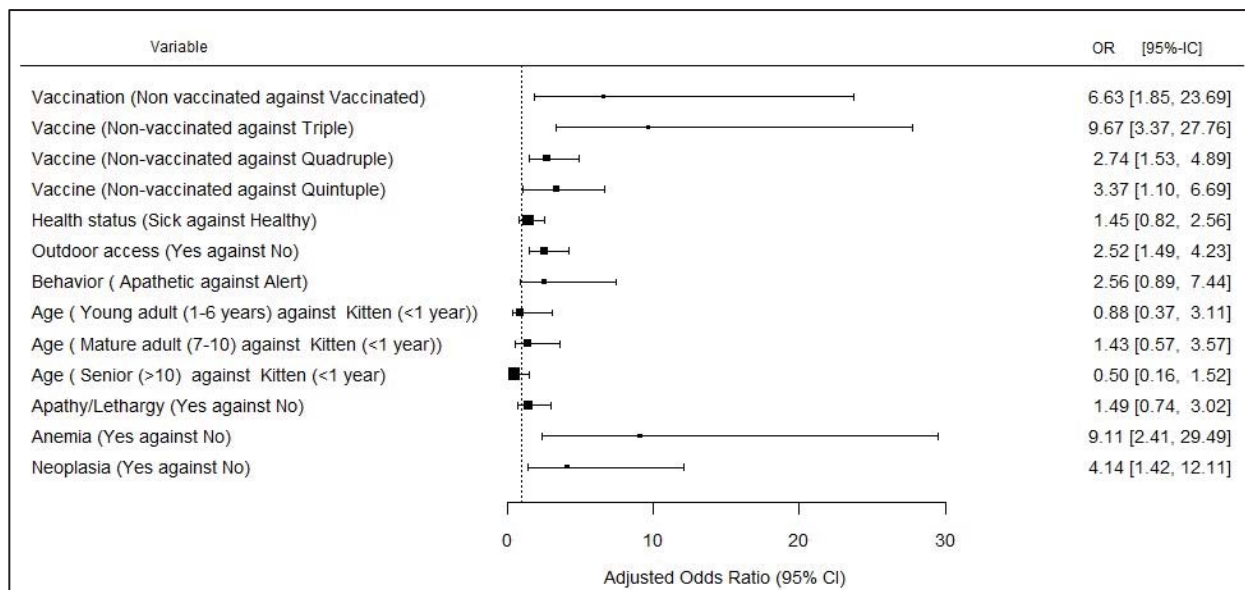
Clinical Manifestations	FeLV-infected		Uninfected		Odds ratio (95% CI)	<i>p</i>
	n	%	n	%		
<b>Apathy/Lethargy</b>						
Yes	32	52.5	29	47.5	3.09 (1.76-5.43)	<b>&lt;0.001<sup>a</sup></b>
No	80	26	224	74.0	1.00 Ref.	
<b>Anemia</b>						
Yes	19	83	4	17	13 (4.23-38.52)	<b>&lt;0.001</b>
No	93	27	250	73	1.00 Ref.	
<b>Neoplasia</b>						
Yes	14	70	6	30	5.9 (2.20-15.80)	<b>&lt;0.001</b>
No	98	28	248	72	1.00 Ref.	

<sup>a</sup> Mann-Whitney's U Test; OR: Odds ratio.  $p \leq 0,20$  values are shown in bold.

**Table 3 – Major clinical problems presented by FeLV-infected and uninfected cats.**

Major clinical problem	FeLV-infected (n=112)	%	FeLV-uninfected (n=254)	%	OR	p
Nonspecific clinical signs	12	54,55	10	45,45	2.928 (1.226-6.995)	0.012 <sup>b</sup>
Other	12	50,00	12	50,00	2.420 (1.052-5.569)	0.033 <sup>b</sup>
Lymphoma	11	84,62	2	15,38	13.723 (2.989-63.009)	0.000 <sup>a</sup>
Renal disease	7	33,33	14	66,67	1.143 (0,448-2.913)	0.078 <sup>b</sup>
Respiratory disease / signs	7	43,75	9	56,25	1.815 (0.658-5.002)	0.243 <sup>b</sup>
Skin disease	7	46,67	8	53,33	2.050 (0.725-5.799)	0.168 <sup>b</sup>
Mycoplasmosis	5	100,00	0	0,00	3.374 (2.878-3.955)	0.003 <sup>a</sup>
Trauma	3	25,00	9	75,00	0.749 (0.199-2.822)	>0.999 <sup>a</sup>
Gastrointestinal disease / signs	3	16,67	15	83,33	0.439 (0.124-1.546)	0.293 <sup>a</sup>
Oral disease	3	50,00	3	50,00	2.303 (0.458-11.590)	0.375 <sup>a</sup>
Neurological disorders	3	60,00	2	40,00	3.468 (0.571-21.048)	0.170 <sup>a</sup>
Hepatobiliary disease	1	20,00	4	80,00	0.563 (0.062-5.095)	>0.999 <sup>a</sup>
Endocrinopathies / Metabolic diseases	1	16,67	5	83,33	0.449 (0.052-3.885)	0.671 <sup>a</sup>
Leukemia	1	100,00	0	0,00	0.76 (0.03-18.82)	0.867 <sup>a</sup>
Ocular disease	0	0,00	1	100,00	0.75 (0.03-18.58)	0.861 <sup>a</sup>
Other neoplasias	0	0,00	5	100,00	0.202 (0.011-3.678)	0.280 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Fisher's Exact Test; <sup>b</sup> Chi-Square Test



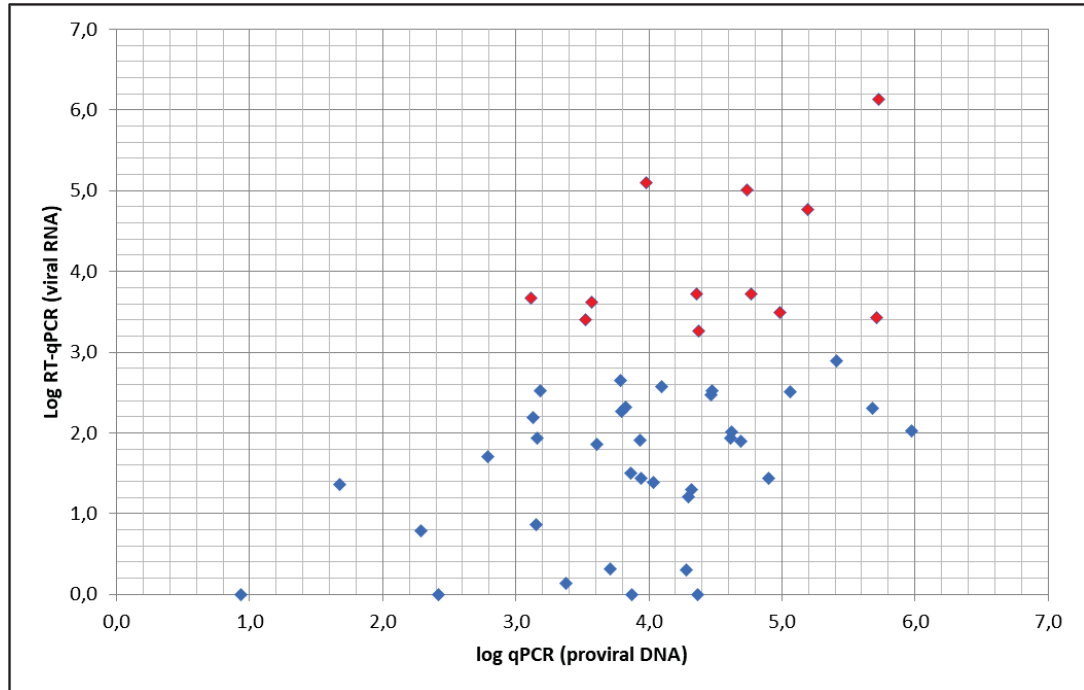
**Fig. 3 – Factors associated with FeLV-infections after multivariate analysis.**

260 **Table 4.** The outcome of FeLV exposure in 109 cats based on viral load and provirus or p27  
 261 results.

<b>Outcome of Exposure</b>	<b>P27 or qPCR</b>	<b>RT-qPCR (Viral RNA)</b>	<b>No. of cats /total</b>	<b>% of cats</b>
Uninfected	Negative	Negative	51/109	46,8%
Regressive	Positive	Negative	11/109	10,1%
Progressive High	Positive	>1000	12/109	11,0%
Progressive Low	Positive	< 1000	35/109	32,1%

262

263 In most qPCR-positive cats, the proviral load was concentrated in logs greater than 3.0  
 264 and less than 6.0, while the viral load was concentrated between logs 1.0 to 4.0. In cats whose  
 265 viral loads had logs greater than 3.0 (progressive high) were also followed by proviral loads  
 266 also greater than 3.0, although this relationship is not necessarily proportional. In cases where  
 267 the log viral load was less than 1.0, a wide variation in the log proviral load from 0.9 to 6.0 was  
 268 observed.



269

270 Fig. 4. Scatter plot correlating proviral and viral RNA loads. The red diamonds were the cats  
 271 categorized as progressive high and the blue diamond the progressive low and regressive.

272

### 273 Discussion

274 FeLV is one of the main pathogenic viruses infecting domestic cats (HARTMANN;  
 275 HOFMANN-LEHMANN, 2020). Previous scientific studies demonstrated prevalence data  
 276 from 2.4% to 3.6% in countries in the north hemisphere, such as the United States, Canada and  
 277 Germany (LEVY et al., 2006; LITTLE et al. 2009; GLEICH; KRIEGER, HARTMANN, 2009).  
 278 On oppose, studies in Brazil have reported much higher FeLV prevalence values, including in  
 279 the south region of the country. In Porto Alegre, the prevalence values oscillated from 14% to  
 280 31%, while in other cities even higher prevalence values were observed (MEINERZ, et al, 2017;  
 281 COSTA, et al, 2017; SANTOS, et al; 2021). However, these studies were performed with  
 282 specific populations, mainly cats examined at university veterinary hospitals. In the present  
 283 study, which sampled animals domiciled in the city of Caxias do Sul, in the Serra Gaúcha



284 region, 30.6% of the cats were infected with FeLV. This high FeLV prevalence in domestic cats  
285 in Brazil and Latin America is concerning due to several factors: (1) there is no available  
286 treatment at the moment; (2) transmission is frequent through close contact between susceptible  
287 and infected cats, and (3) morbidity and mortality rates are high. Thus, FeLV infection is one  
288 of the major challenges in feline medicine (LITTLE, et al, 2020, COELHO, et al, 2011, BUCH  
289 et al, 2017).

290 The high FeLV prevalence identified in Caxias do Sul agrees with the prevalence reported in  
291 some previous studies in other brazilian municipalities and regions (14%-47.5%) (BIEZUS et  
292 al, 2019; COELHO et al, 2011; ALMEIDA et al, 2021). However, it is significantly higher than  
293 previously reported in Latin America (13%) and some other brazilian studies that used other  
294 methodologies such as IFA, for example (BUCH et al, 2017; JORGE; FERREIRA;  
295 HAGIWARA, 2011).

296 In this study, no significant association was observed between FeLV and sex or reproductive  
297 status, as previously reported (MUIRDEN et al., 2002, LEE et al., 2002, COSTA et al., 2017).  
298 However, there are studies in which sex and reproductive status were considered a risk for FeLV  
299 infection. Despite this, it was described that this risk is higher for FIV infection (GLEICH et  
300 al., 2009, LITTLE et al., 2009, BIEZUS et al., 2019). It probably occurs because FIV  
301 transmission occurs mainly by blood inoculation, observed in fights, and more frequently  
302 attributed to intact males. While close friendly contact is the main route of FeLV transmission  
303 (MEDEIROS et al., 2012, LITSTER, 2014).

304 Regarding age, no age group was a risk factor, but mature adults (7-10 years) and senior (>10  
305 years) ages were protective factors, agreeing with previous studies that have shown that FeLV  
306 infections are less frequent in older animals. Also, cats become less susceptible to FeLV  
307 infection with age (ZANUTTO; COSTA; ARAUJO, 2023; HARTMANN; HOFMANN

308 LEHMANN, 2020; HOOVER et al, 1976). In the present study, over half of the cats were young  
309 adults (1-6 years), which could be related to the high prevalence identified.

310 Cats with outdoor access were more frequently infected and had a higher likelihood of FeLV  
311 contamination. This observation is consistent with previous studies that found higher FeLV  
312 prevalence among cats with free access to the outdoors, as it increases the occurrence of direct  
313 contact between healthy and infected cats, which is essential for virus transmission (LEVY et  
314 al., 2006; GELICH; HARTMANN, 2009a, 2009b; HOFMANN-LEHMANN et al., 2018).

315 Cats that had never been vaccinated were more frequently infected and had a higher probability  
316 of FeLV infection. Vaccination is considered the main preventive measure against the virus, but  
317 only a small parcel of the cats included in the study was vaccinated against FeLV (LUTZ et al,  
318 2009). In addition, data regarding FeLV vaccination rates in Brazil is scarce, which highlights  
319 the need to establish measures to increase FeLV vaccination in Brazil. Although information  
320 about the specific vaccine used was not available for all animals, vaccination has been  
321 significantly associated with receiving veterinary advice in a previous study, contributing to  
322 proper health status (HABACHER; GRUFFYDD-JONES; MURRAY, 2010).

323 Approximately one third of the cats included in the study were clinically sick. FeLV frequency  
324 was higher in these animals, and they also had higher odds of being FeLV-infected. Previous  
325 studies conducted in Brazil and around the world have identified higher FeLV prevalence  
326 among clinically sick cats too (BIEZUS et al, 2019; STUDER et al, 2019). FeLV-infected cats  
327 can be asymptomatic, but data demonstrates that they frequently present clinical manifestations,  
328 including mainly lethargy, anemia and neoplasia, which were reported in this study (LITTLE  
329 et al, 2020).

330 Regarding the clinical manifestations presented, FeLV-infected cats had higher odds of  
331 presenting lethargy, anemia and neoplasia. Lethargy is an unspecific clinical sign that can be

332 secondary to other alterations caused by FeLV, such as immunosuppression, which makes the  
333 infected cats susceptible to other opportunistic pathogens (LUTZ et al, 2009, LITTLE; 2020;  
334 HARTMANN; HOFMANN-LEHMANN, 2020). Anemia is another frequent clinical  
335 manifestation presented by FeLV-positive cats (COSTA et al, 2017; HARTMANN, 2015). It is  
336 suggested that it occurs due to FeLV-C subgroup, which interferes in mechanisms that are  
337 essential for erythropoiesis and leads to severe non-regenerative anemia and often causes death  
338 (HARTMANN, 2012). However, anemia can also be a secondary alteration due to other  
339 infirmities, including neoplasia. Cats with progressive FeLV infection have higher odds of  
340 presenting neoplasia, especially lymphoma and leukemia, since the virus plays an essential role  
341 in oncogenesis through mechanisms that include insertional mutagenesis, transduction,  
342 transactivation and immunosuppression (PARISI et al., 2023).

343 The qPCR analysis results were considered confirmatory, as the technique provides higher  
344 sensitivity and specificity compared to other methods used for FeLV detection (HARTMANN;  
345 HOFMANN-LEHMANN, 2020). These results demonstrated a high prevalence of FeLV in the  
346 studied region, similar to previous studies in nearby regions such as the Metropolitan Region  
347 of Porto Alegre, Pelotas, and Rio Grande, where prevalence ranged from 14% to 38.3%  
348 (COSTA et al., 2017; MEINERZ, 2010; SANTOS et al., 2021). Despite differences in the  
349 studied populations and methodologies used (some studies used IFA, while others preferred  
350 ELISA), they all indicate active circulation of the virus among felines within the state of Rio  
351 Grande do Sul, since several FeLV-infected cats were identified in several neighborhoods and  
352 veterinary facilities. This highlights the need for control and prevention measures, such as  
353 testing and vaccinating cats, as well as preventing outdoor access, to mitigate the identified risk  
354 factors.

355

## 356 **Conclusion**

357 In conclusion, a high FeLV frequency was observed in Caxias do Sul, South Brazil. This high  
358 prevalence seems to be the current scenario in other cities in these region, highlighting the needs  
359 for more measures to control and prevent the spread of this virus. Laboratorial methodologies  
360 can be useful to detect FeLV as well as to monitor DNA and RNA viral loads in progressive and  
361 regressive disease outcomes.

362

## 363 **Funding**

364 This work was supported by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior  
365 (CAPES), process number: 88887.629629/2021-00.

366

## 367 **Acknowledgments**

368 We offer our thanks to the University of Caxias do Sul, which provided technical support for  
369 this article.

370

## 371 **Declaration of Interest**

372 The authors declare no conflict of interest.

373

## 374 **References**

375 Almeida, I. O., et al. (2021). Retrospective study of retroviruses by immunoenzymatic test on  
376 cats in Grande Vitória (ES, Brazil) and associated neoplasms. Brazilian Journal of Veterinary  
377 Medicine, 43(1), e104220. <https://doi.org/10.29374/2527-2179.bjvm114220>

- 378 Almeida, N. R., et al. (2012). Prevalence of feline leukemia virus infection in domestic cats in  
379 Rio de Janeiro. *Journal of feline medicine and surgery*, 14(8), 583-586.  
380 <https://doi.org/10.1177/1098612X12444693>
- 381 Beall, M. J., et al. (2021). Feline Leukemia Virus p27 Antigen Concentration and Proviral  
382 DNA Load Are Associated with Survival in Naturally Infected Cats. *Viruses*, 13(2), 302.  
383 <https://doi.org/10.3390/v13020302>
- 384 Biezus, G., et al. (2019). Prevalence of and factors associated with feline leukemia virus  
385 (FeLV) and feline immunodeficiency virus (FIV) in cats of the state of Santa Catarina, Brazil.  
386 *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 63, 17–21.  
387 <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2018.12.004>
- 388 Cattori, V., & Hofmann-Lehmann, R. (2008). Absolute quantitation of feline leukemia virus  
389 proviral DNA and viral RNA loads by TaqMan real-time PCR and RT-PCR. *Methods in*  
390 *Molecular Biology*, 429, 73-87. [https://doi.org/10.1007/978-1-60327-040-3\\_6](https://doi.org/10.1007/978-1-60327-040-3_6)
- 391 Cattori, V., et al. (2006). Rapid detection of feline leukemia virus provirus integration into  
392 feline genomic DNA. *Molecular and Cellular Probes*, 20(3-4), 172-181.  
393 <https://doi.org/10.1016/j.mcp.2005.11.007>
- 394 Coelho, F. M., et al. (2011). Ocorrência do vírus da leucemia felina em *Felis catus* em Belo  
395 Horizonte. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 63(3), 778-783.  
396 <https://doi.org/10.1590/S0102-09352011000300037>
- 397 Costa, F. V. A. da, et al. (2017). Hematological findings and factors associated with feline  
398 leukemia virus (FeLV) and feline immunodeficiency virus (FIV) positivity in cats from  
399 southern Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 37(12), 1531-1536.  
400 <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2017001200028>
- 401 Gleich, S. E., Krieger, S., & Hartmann, K. (2009). Prevalence of feline immunodeficiency  
402 virus and feline leukaemia virus among client-owned cats and risk factors for infection in

- 403 Germany. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11(12), 985–992.
- 404 <https://doi.org/10.1016/j.jfms.2009.05.019>
- 405 Gomes-Keller, M. A., et al. (2006). Shedding of feline leukemia virus RNA in saliva is a  
406 consistent feature in viremic cats. *Veterinary Microbiology*, 112(1), 11-21.
- 407 <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2005.10.027>
- 408 Hartmann, K. (2012). Clinical aspects of feline retroviruses: a review. *Viruses*, 4(11), 2684-  
409 2710. <https://doi.org/10.3390/v4112684>
- 410 Hartmann, K. (2015). Infecção pelo Vírus da Leucemia Felina. In C. E. Greene (Ed.),  
411 Doenças Infecciosas em Cães e Gatos. Guanabara Koogan. Retrieved from  
412 <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/978-85-277-2725-9/>
- 413 Hartmann, K., & Hofmann-Lehmann, R. (2020). What's New in Feline Leukemia Virus  
414 Infection. *The Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice*, 50(5), 1013-1036.  
415 <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2020.05.006>
- 416 Hartmann, K., Werner, R. M., Egberink, H., & Jarrett, O. (2001). Comparison of six in-house  
417 tests for the rapid diagnosis of feline immunodeficiency and feline leukaemia virus infections.  
418 *The Veterinary Record*, 149(11), 317–320. <https://doi.org/10.1136/vr.149.11.317>
- 419 Hofmann-Lehmann, R., et al. (2007). Vaccination against the feline leukaemia virus: outcome  
420 and response categories and long-term follow-up. *Vaccine*, 25(30), 5531-5539.  
421 <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2006.12.022>
- 422 Hofmann-Lehmann, R., et al. (2008). How molecular methods change our views of FeLV  
423 infection and vaccination. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 123(1-2), 119-123.  
424 <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2008.01.017>
- 425 Hofmann-Lehmann, R., et al. (2018). Die feline Leukämievirus-Infektion: Bedeutung und  
426 aktuelle Situation in der Schweiz [Feline leukemia virus infection: importance and current

- 427 situation in Switzerland]. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*, 160(2), 95–105.
- 428 <https://doi.org/10.17236/sat00146>
- 429 Hofmann-Lehmann, R., Huder, J. B., Gruber, S., Boretti, F., Sigrist, B., & Lutz, H. (2001).
- 430 Feline leukaemia provirus load during the course of experimental infection and in naturally
- 431 infected cats. *The Journal of General Virology*, 82(Pt 7), 1589–1596. <https://doi.org/10.1099/>
- 432 Jarrett, O., & Neil, J. C. (2012). Feline Leukaemia Virus. *Encyclopedia of Life Sciences*.
- 433 <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0001021.pub2>
- 434 Jorge, J. J., Ferreira, F., & Hagiwara, M. K. (2011). Risk factors for feline leukemia virus
- 435 (FeLV) infection in cats in São Paulo, Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and*
- 436 *Animal Science*, 48(5), 392-398. <https://doi.org/10.11606/S1413-95962011000500006>
- 437 Levy, J. K. (2009). Feline Leukemia Virus and Feline Immunodeficiency Virus. In J. Miller, S.
- 438 Janeczko, & K. F. Hurley (Eds.), *Infectious Disease Management in Animal Shelters* (1st ed.).
- 439 John Wiley & Sons.
- 440 Little, S., et al. (2009). Seroprevalence of feline leukemia virus and feline immunodeficiency
- 441 virus infection among cats in Canada. *The Canadian Veterinary Journal = La Revue*
- 442 *Vétérinaire Canadienne*, 50(6), 644–648.
- 443 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2684053/>
- 444 Little, S., et al. (2020). 2020 AAFP Feline Retrovirus Testing and Management Guidelines.
- 445 *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 22(1), 5-30.
- 446 <https://doi.org/10.1177/1098612X19895940>
- 447 Meinerz, A. R. M., et al. (2010). Frequência do vírus da leucemia felina (VLFe) em felinos
- 448 domésticos (*Felis catus*) semidomiciliados nos municípios de Pelotas e Rio Grande. *Ciência*
- 449 *Animal Brasileira*, 11(1), 90-93. <https://revistas.ufg.br/vet/article/view/438/8063>
- 450 Meinerz, A. R. M., et al. (2010). Frequência do vírus da leucemia felina (VLFe) em felinos
- 451 domésticos (*Felis catus*) semidomiciliados nos municípios de Pelotas e Rio Grande. *Ciência*

- 452 Animal Brasileira, 11(1), 90-93.  
453 <https://www.revistas.ufg.br/vet/article/download/438/8063?inline=1>
- 454 Nesina, S., et al. (2015). Retroviral DNA—the silent winner: blood transfusion containing  
455 latent feline leukemia provirus causes infection and disease in naïve recipient cats.  
456 *Retrovirology*, 12, 105. <https://doi.org/10.1186/s12977-015-0231-z>
- 457 Parisi, F., Fonti, N., Millanta, F., & et al. (2023). Exploring the link between viruses and  
458 cancer in companion animals: A comprehensive and comparative analysis. *Infectious Agents  
459 and Cancer*, 18(1), 40. <https://doi.org/10.1186/s13027-023-00518-7>
- 460 Santos, A. P., et al. (2022). Ocorrência do Vírus de Imunodeficiência Felina (FIV) e Vírus da  
461 Leucemia Felina (FeLV) em Felinos Submetidos a Teste Rápido Em Porto Alegre. *Anais do  
462 IX Congresso de Pesquisa e Extensão do Centro Universitário da Serra Gaúcha (FSG)*, 9(9),  
463 1-10. Retrieved from <https://ojs.fsg.edu.br/index.php/pesquisaextensao/article/view/5070>
- 464 Sobrinho, L. S. V., Vides, J. P., Braga, E. T., Gomes, A. D., Rossi, C. N., & Marcondes, M.  
465 (2011). Serofrequency of feline immunodeficiency virus and feline leukemia virus in cats of  
466 Araçatuba, São Paulo. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 48(5),  
467 378-383. <https://doi.org/10.11606/S1413-95962011000500004>
- 468 Studer, N., et al. (2019). Pan-European Study on the Prevalence of the Feline Leukaemia  
469 Virus Infection - Reported by the European Advisory Board on Cat Diseases (ABCD Europe).  
470 *Viruses*, 11(11), 993. <https://doi.org/10.3390/v11110993>
- 471 Tandon, R., Cattori, V., Gomes-Keller, M. A., Meli, M. L., Golder, M. C., Lutz, H., &  
472 Hofmann-Lehmann, R. (2005). Quantitation of feline leukaemia virus viral and proviral loads  
473 by TaqMan real-time polymerase chain reaction. *Journal of Virological Methods*, 130(1-2),  
474 124-132. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2005.06.017>



- 475 Tandon, R., et al. (2005). Quantitation of feline leukaemia virus viral and proviral loads by  
476 TaqMan real-time polymerase chain reaction. *Journal of Virological Methods*, 130(1-2), 124-  
477 132. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2005.06.017>
- 478 Torres, A. N., O'Halloran, K. P., Larson, L. J., Schultz, R. D., & Hoover, E. A. (2008).  
479 Development and application of a quantitative real-time PCR assay to detect feline leukemia  
480 virus RNA. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 123(1-2), 81-89.  
481 <https://doi.org/10.1016%2Fj.vetimm.2008.01>
- 482 Zanutto, M. S., Costa, S. C., Araujo, F. Z. (2023). Prevalência da leucemia e imunodeficiência  
483 viral felina e fatores de risco em gatos atendidos em um hospital escola de Londrina, Paraná.  
484 *Medicina Veterinária (UFRPE)*, 17(1), 27-36. <https://doi.org/10.26605/medvet-v17n1-51>

## 6 DISCUSSÃO

A alta prevalência de FeLV em felinos no Brasil e América Latina é preocupante devido a uma série de fatores: (1) não existe tratamento disponível até o presente momento, (2) o contágio é frequente pelo contato próximo entre gatos susceptíveis e infectados, e (3) a morbidade e mortalidade são elevadas. Assim, a infecção pelo FeLV é um dos grandes desafios na medicina de felinos (LITTLE, *et al*, 2020, COELHO, *et al*, 2011, BUCH *et al*, 2017).

Contribuições científicas anteriores demonstraram alta prevalência de FeLV em regiões e municípios do Rio Grande do Sul. Em Porto Alegre, a prevalência varia entre 14% e 31%, enquanto em Pelotas e Rio Grande, a prevalência foi de 38,3% (MEINERZ, *et al*, 2017; COSTA, *et al*, 2017; SANTOS, *et al*; 2021). O presente estudo permitiu determinar a prevalência das infecções por FeLV e fornecer uma caracterização inicial das infecções progressivas e regressivas em Caxias do Sul, Rio Grande do Sul, sendo o primeiro estudo desse tipo no município.

A elevada prevalência de FeLV identificada em Caxias do Sul nesse estudo (31%) está de acordo com estudos anteriores em outros municípios e regiões brasileiras, que variaram entre 14% e 47,5% (BIEZUS *et al.*, 2019; COELHO *et al.*, 2011; ALMEIDA *et al.*, 2021). No entanto, é significativamente maior do que a prevalência relatada anteriormente na América Latina (13%) e em alguns outros estudos brasileiros que usaram outras metodologias, como IFA, por exemplo (BUCH *et al.*, 2017; JORGE; FERREIRA; HAGIWARA, 2011).

Neste estudo, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas na frequência das infecções por FeLV entre os sexos e o estado reprodutivo. No entanto, o sexo e o estado reprodutivo são considerados aspectos importantes na epidemiologia do FeLV. Estudos anteriores mostraram que os gatos machos não castrados podem ser mais frequentemente infectados devido ao seu comportamento territorial e agressivo, o que facilita a transmissão e disseminação do vírus (GOLDKAMP *et al.*, 2008; GELICH; HARTMANN, 2009a; LEVY *et al.*, 2006; HOFMANN-LEHMANN *et al.*, 2018).

Quanto à idade, nenhum grupo etário foi identificado como fator de risco, mas os gatos adultos maduros (7-10 anos) e idosos (>10 anos) foram considerados fatores de proteção. Estudos anteriores identificaram maior frequência de FeLV em filhotes (<1 ano) e adultos jovens (1-6 anos), possivelmente devido ao comportamento reprodutivo ativo desses grupos, especialmente os adultos jovens, e à transmissão vertical (ZANUTTO; COSTA; ARAUJO, 2023; CITAÇÕES). Gatos adultos maduros e idosos foram considerados menos suscetíveis à

infecção, o que concorda com estudos que mostraram que as infecções por FeLV são menos frequentes em animais mais velhos (ZANUTTO; COSTA; ARAUJO, 2023; HARTMANN; HOFMANN-LEHMANN, 2020).

Gatos com acesso ao exterior foram mais frequentemente infectados e tiveram maior probabilidade de contrair FeLV. Essa observação é consistente com estudos anteriores que encontraram maior prevalência de FeLV entre gatos com livre acesso ao exterior, pois isso aumenta o contato direto entre gatos saudáveis e infectados, o que é essencial para a transmissão do vírus (LEVY et al., 2006; GELICH; HARTMANN, 2009a, 2009b; HOFMANN-LEHMANN et al., 2018).

Gatos que nunca foram vacinados foram mais frequentemente infectados e apresentaram maior probabilidade de contrair FeLV. A vacinação é considerada a principal medida preventiva contra o vírus, mas apenas uma pequena parcela dos gatos incluídos no estudo foi vacinada contra o FeLV (LUTZ et al., 2009). Além disso, informações sobre as taxas de vacinação contra FeLV no Brasil são escassas, o que destaca a necessidade de medidas para aumentar a vacinação no país. Embora informações específicas sobre a vacina usada não estivessem disponíveis para todos os animais, a vacinação foi significativamente associada a receber orientação veterinária em um estudo anterior, contribuindo para o estado de saúde adequado (HABACHER; GRUFFYDD-JONES; MURRAY, 2010).

Aproximadamente um terço dos gatos incluídos no estudo estavam clinicamente doentes. A frequência de FeLV foi maior nesses animais, que também apresentaram maior probabilidade de estar infectados pelo FeLV. Estudos anteriores no Brasil e em todo o mundo identificaram maior prevalência de FeLV entre gatos clinicamente doentes (BIEZUS et al., 2019; STUDER et al., 2019). Gatos infectados pelo FeLV podem ser assintomáticos, mas os dados demonstram que frequentemente apresentam manifestações clínicas, incluindo principalmente letargia, anemia e neoplasia, que foram relatadas neste estudo (LITTLE et al., 2020).

Quanto às manifestações clínicas, gatos infectados pelo FeLV tiveram maior probabilidade de apresentar letargia, anemia e neoplasia. A letargia é um sinal clínico inespecífico que pode ser secundário a outras alterações causadas pelo FeLV, como imunossupressão, tornando os gatos infectados suscetíveis a outras patologias oportunistas (LUTZ et al., 2009; LITTLE; 2020; HARTMANN; HOFMANN-LEHMANN, 2020). A anemia é outra manifestação clínica frequente em gatos positivos para FeLV (COSTA et al., 2017;

HARTMANN, 2015). Sugere-se que ocorra devido ao subgrupo FeLV-C, que interfere em mecanismos essenciais para a eritropoiese e leva a anemia grave não regenerativa e muitas vezes fatal (HARTMANN, 2012). No entanto, a anemia também pode ser uma alteração secundária a outras doenças, incluindo a neoplasia (REINACHER, 1989). Gatos infectados pelo FeLV têm maior probabilidade de apresentar neoplasias, especialmente linfoma e leucemia, pois o vírus desempenha um papel essencial na oncogênese por meio de mecanismos como mutagênese por inserção, transdução, transativação e imunossupressão (PARISI et al., 2023).

Os resultados da análise de qPCR foram considerados confirmatórios, pois essa técnica oferece maior sensibilidade e especificidade em comparação com outros métodos usados para detecção de FeLV (HARTMANN; HOFMANN-LEHMANN, 2020). Esses resultados demonstraram uma alta prevalência de FeLV na região estudada, similar a estudos anteriores em regiões próximas, como a Região Metropolitana de Porto Alegre, Pelotas e Rio Grande, onde a prevalência variou entre 14% e 38,3%. Apesar das diferenças nas populações estudadas e nas metodologias utilizadas (alguns estudos utilizaram IFA, enquanto outros preferiram ELISA), todos eles indicam uma circulação ativa do vírus entre os felinos no estado do Rio Grande do Sul. Isso destaca a necessidade de medidas de controle e prevenção, como testar e vacinar os gatos, bem como evitar o acesso ao exterior, para mitigar os fatores de risco identificados (COSTA et al., 2017; MEINERZ, 2010; SANTOS et al., 2021).

Técnicas de biologia molecular podem ser empregadas no diagnóstico e caracterização das infecções por FeLV. A RTq-PCR permite a detecção do RNA viral em amostras de plasma ou saliva após uma semana da exposição, enquanto a qPCR possibilita a detecção do DNA proviral no sangue após duas semanas da exposição (LITTLE, et al, 2020, HOFMANN-LEHMANN, et al, 2006).

Gatos com infecção progressiva por FeLV comumente apresentam altas cargas de RNA viral e DNA proviral, sendo o RNA viral um indicador de viremia e eliminação do vírus no ambiente (GOMES-KELLER, et al, 2006). Esses felinos normalmente apresentam doenças associadas ao FeLV, que acarretam o óbito. Sendo assim, o prognóstico desses gatos é desfavorável e a expectativa de vida é reduzida (LITTLE, et al, 2020; MCCLELLAND, et al, 1980; HELFER-HUNGERBUEHLER, et al, 2015).

Diferentemente das infecções progressivas, as infecções regressivas são caracterizadas por baixas cargas de RNA viral e DNA proviral (LITTLE et al, 2020). Gatos com infecção regressiva não eliminam o vírus no ambiente, normalmente não apresentam qualquer sinal

clínico e possuem prognóstico mais favorável em comparação com gatos com infecção progressiva, uma vez que não ocorra a reativação da infecção (STÜTZER, et al, 2011).

A avaliação da carga viral e proviral pode contribuir para a caracterização da infecção e consequentemente para o prognóstico do paciente (LITTLE et al 2020). Adicionalmente, estudos demonstraram que o DNA proviral do FeLV possui potencial infeccioso via transfusão sanguínea, de forma que o emprego da técnica de qPCR torna-se imprescindível para gatos doadores de sangue (NESINA, et al, 2015).

Entre as limitações desse estudo, destacaram-se a dificuldade na obtenção dos dados completos de todos os gatos, além da impossibilidade de acompanhamento dos pacientes após a coleta das amostras. O presente estudo também apresenta limitação geográfica, visto que foi conduzido somente no Município de Caxias do Sul, sendo necessários estudos mais abrangentes para a determinação da prevalência do FeLV na Região Metropolitana da Serra Gaúcha.

O presente estudo possibilitou a determinação de perspectivas futuras. Entre estas, destaca-se a possibilidade da realização de um estudo de coorte a fim de acompanhar as cargas virais de um grupo de gatos naturalmente infectados por FeLV no decorrer do processo infeccioso a longo prazo. Em tal estudo, deverá ser realizada a observação das cargas provirais e virais (com o emprego das técnicas de qPCR e RTq-PCR) junto ao quadro clínico dos animais infectados em um período de três anos, com o objetivo de demonstrar a correlação das cargas virais e provirais com o prognóstico de felinos infectados por FeLV.

Outro aspecto importante a ser considerado para pesquisas futuras é a investigação mais aprofundada dos fatores de risco associados à transmissão do vírus FeLV entre os gatos, bem como a avaliação da eficácia de medidas preventivas para limitar sua disseminação. Estudos epidemiológicos abrangendo diferentes áreas geográficas e populações de felinos poderiam fornecer uma visão mais abrangente sobre os determinantes da prevalência e incidência da infecção. Além disso, o desenvolvimento de estratégias de conscientização e programas de testagem para FeLV em populações de gatos em risco poderia contribuir para a redução do impacto do vírus nas populações de felinos da região. A combinação de estudos clínicos, epidemiológicos e de prevenção poderia, portanto, fornecer informações valiosas para melhorar o manejo e o controle do vírus FeLV em escala regional.

## 7 CONCLUSÕES

Em conclusão, o FeLV ainda é um grande desafio na clínica veterinária de felinos. A alta prevalência do vírus observada em Caxias do Sul e em diversos outros locais, somada às manifestações clínicas graves causadas por este, frequentemente levam os gatos infectados ao óbito, visto que o tratamento é sintomático e não há tratamento antirretroviral estabelecido para a causa base. Sendo assim, a alta prevalência indica que o enfoque nas medidas de controle e prevenção da disseminação do vírus é essencial, e que tais estratégias ainda necessitam ser mais bem estabelecidas a fim de mitigar fatores de risco efetivamente.

As metodologias de diagnóstico molecular são altamente recomendadas para a confirmação do diagnóstico de FeLV, a fim de evitar resultados falso-negativos principalmente nos casos de infecção regressiva. Os ensaios de qPCR possibilitam a quantificação da carga de DNA proviral nos animais infectados. Entre as perspectivas futuras, pode-se considerar possível o monitoramento a longo prazo de animais infectados e estudos futuros sobre a efetividade de tratamentos antirretrovirais sob a carga de DNA proviral, o que pode proporcionar maior longevidade e melhor qualidade de vida aos animais portadores do vírus no futuro.

## REFERÊNCIAS

- ABCD (European Advisory Board on Cat Diseases). **Guideline for Feline Leukaemia Virus Infection**. 2019. Disponível em: <https://www.abcdcatsvets.org/guideline-for-feline-leukaemia-virus-infection/>. Acesso em: 14 jun. 2023.
- ABKOWITZ, J.L.; HOLLY, R.D.; ADAMSON, J.W. Retrovirus-induced feline pure red cell aplasia: the kinetics of erythroid marrow failure. **Journal of Cellular Physiology**, v. 132, n. 3, p. 571-577, 1987. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jcp.1041320322>. Acesso em 14 jun. 2023.
- ADDIE, D. D. *et al.* Long-term impact on a closed household of pet cats of natural infection with feline coronavirus, feline leukaemia virus and feline immunodeficiency virus. **The Veterinary Record**, v. 146, n. 15, p. 419-424, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1136/vr.146.15.419>. Acesso em: 14 jun. 2023.
- ALMEIDA, I. O. *et al.* Retrospective study of retroviruses by immunoenzymatic test on cats in Grande Vitória (ES, Brazil) and associated neoplasms. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v. 43, n. 1, p. e104220, 2021. DOI: 10.29374/2527-2179.bjvm114220. Disponível em: <https://doi.org/10.29374/2527-2179.bjvm114220>. Acesso em: 15 jun. 2023.
- ALMEIDA, N. R. *et al.* Prevalence of feline leukemia virus infection in domestic cats in Rio de Janeiro. **Journal of feline medicine and surgery**, vol. 14, no. 8, pp. 583-586, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/1098612X12444693>. Acesso em: 15 jun. 2023.
- ALMEIDA, N. R. **Ocorrência da infecção pelo vírus da leucemia felina FeLV em gatos domésticos do município do rio de janeiro e baixada fluminense e análise dos fatores de risco para a infecção**. 2009. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Veterinária) – Universidade Federal do Rio de Janeiro. Seropédica. 2009. Disponível em: <https://tede.ufrj.br/jspui/handle/tede/877>. Acesso em: 14 jun. 2023.
- BEALL, M. J. *et al.* Feline Leukemia Virus p27 Antigen Concentration and Proviral DNA Load Are Associated with Survival in Naturally Infected Cats. **Viruses**, v. 13, n. 2, p. 302, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/v13020302>. Acesso em: 15 jun. 2023.
- BIEZUS, G. *et al.* Prevalence of and factors associated with feline leukemia virus (FeLV) and feline immunodeficiency virus (FIV) in cats of the state of Santa Catarina, Brazil. **Comparative immunology, microbiology and infectious diseases**, v. 63, p. 17–21, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2018.12.004>. Acesso em: 15 jun. 2023.
- BIEZUS, G. **Infecção pelos vírus da leucemia felina (FeLV) e imunodeficiência (FIV) em gatos do Planalto de Santa Catarina: prevalência, fatores associados, alterações clínicas e hematológicas**. 2017. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade do Estado de Santa Catarina. Lages. 2017. Disponível em: [https://www.udesc.br/arquivos/cav/id\\_cpmenu/1288/GIOVANA\\_15671783851512\\_1288.pdf](https://www.udesc.br/arquivos/cav/id_cpmenu/1288/GIOVANA_15671783851512_1288.pdf). Acesso em: 14 jun. 2023.
- BIONDO, D. **Análises de diversidade genética e padronização de diagnóstico molecular para detecção e quantificação de retrovírus felinos**. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade de Caxias do Sul. Caxias do Sul. 2023. Disponível em: <https://repositorio.ucs.br/11338/11652>. Acesso em: 15 jun. 2023.



- BLANCO, K., *et al.* Seroprevalence of Viral Infections in Domestic Cats in Costa Rica. **Journal of Veterinary Medical Science**, vol. 71, no. 5, pp. 661-663, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1292/jvms.71.661>. Acesso em: 14 jun. 2023.
- BROWN, M. A., *et al.* Genetic characterization of feline leukemia virus from Florida panthers. **Emerging Infectious Diseases**, v. 14, n. 2, p. 252, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.3201%2F1402.070981>. Acesso em 14 jun. 2023.
- BUCH, J. *et al.* Worldwide Clinic-Based Serologic Survey of FIV Antibody and FeLV Antigen in Cats. In: 2017 ACVIM Forum Research Abstract Program. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.31, n. 4, p. 1225-1361. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jvim.14778>. Acesso em: 14 jun. 2023.
- BURLING, A. N. *et al.* Seroprevalences of feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus infection in cats in the United States and Canada and risk factors for seropositivity. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 251, n. 2, p. 187-194, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.2460/javma.251.2.187>. Acesso em: 14 jun. 2023.
- BUSHMAN, F. *et al.* Genome-wide analysis of retroviral DNA integration. *Nature Reviews. Microbiology*, v. 3, n. 11, p. 848–858, 2005. DOI: 10.1038/nrmicro1263.
- CATTORI, V. *et al.* Rapid detection of feline leukemia virus provirus integration into feline genomic DNA. **Molecular and cellular probes**, v. 20, n. 3-4, p. 172–181, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mcp.2005.11.007>. Acesso em: 13 jun. 2023.
- CATTORI, V., & HOFMANN-LEHMANN, R. Absolute quantitation of feline leukemia virus proviral DNA and viral RNA loads by TaqMan real-time PCR and RT-PCR. **Methods in molecular biology**, v. 429, p. 73–87, 2008. Disponível em: [https://doi.org/10.1007/978-1-60327-040-3\\_6](https://doi.org/10.1007/978-1-60327-040-3_6). Acesso em 15 jun. 2023.
- CHENG, H. H., ANDERSON, M. M., OVERBAUGH, J. Feline leukemia virus T entry is dependent on both expression levels and specific interactions between cofactor and receptor. **Virology**, v. 359, p. 170-178, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.virol.2006.09.004>. Acesso em: 17 jul. 2023.
- CHIU, E. S.; HOOVER, E. A.; VANDEWOUDE, S. A retrospective examination of feline leukemia subgroup characterization: viral interference assays to deep sequencing. **Viruses**, v. 10, n. 1, p. 29, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/v10010029>. Acesso em 14 jun. 2023.
- COELHO, F. M. *et al.* Ocorrência do vírus da leucemia felina em *Felis catus* em Belo Horizonte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 3, p. 778–783, jun. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0102-09352011000300037>. Acesso em: 15 jun. 2023.
- COFFIN, J. M.; FAN, H. The Discovery of Reverse Transcriptase. **Annual Review of Virology**, v. 3, n. 1, p. 29–51, 2016. DOI: 10.1146/annurev-virology-110615-035556. Acesso em 15 jun. 2023.
- COSTA, F. V. A. *et al.* Hematological findings and factors associated with feline leukemia virus (FeLV) and feline immunodeficiency virus (FIV) positivity in cats from southern Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 12, p. 1531–1536, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2017001200028>. Acesso em 15 jun. 2023.



- COTTER, S. M. Management of healthy feline leukemia virus-positive cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 199, n. 10, p. 1470-1473, 1991. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1666105/>. Acesso em: 15 jun. 2023.
- DEZUBIRIA, P. *et al.* Animal shelter management of feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus infections in cats. **Frontiers in veterinary science**, v. 9, p. 1003388, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.1003388>. Acesso em: 14 jun. 2023.
- ERBECK, K. *et al.* Feline Leukemia Virus (FeLV) Endogenous and Exogenous Recombination Events Result in Multiple FeLV-B Subtypes during Natural Infection. **Journal of Virology**, v. 95, n. 18, p. e0035321, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/JVI.00353-21>. Acesso em 14 jun. 2023.
- FEITOSA, T. F. *et al.* High rate of feline immunodeficiency virus infection in cats in the Brazilian semiarid region: Occurrence, associated factors and coinfection with *Toxoplasma gondii* and feline leukemia virus. **Comparative immunology, microbiology and infectious diseases**, v. 79, p. 101718, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2021.101718>. Acesso em: 15 jun. 2023.
- FRANCIS, D. P., ESSEX, M., & HARDY, W. D. Excretion of feline leukaemia virus by naturally infected pet cats. **Nature**, v. 269, n. 5625, p. 252–254, 1977. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/269252a0>. Acesso em: 15 jun. 2023.
- FRANCIS, D. P.; ESSEX, M.; GAYZAGIAN, D. Feline leukemia virus: survival under home and laboratory conditions. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 9, n. 1, p. 154-156, 1979. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/jcm.9.1.154-156.1979>. Acesso em: 14 jun. 2023.
- FROMONT, E., *et al.* Prevalence and pathogenicity of retroviruses in wildcats in France. **Veterinary Record**, v. 146, n. 11, p. 317-319, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1136/vr.146.11.317>. Acesso em 14 jun. 2023.
- GISELBRECHT, *et al.* Prevalence of Different Courses of Feline Leukaemia Virus Infection in Four European Countries. **Viruses**, v. 15, n. 8, p. 1718. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/v15081718> <https://doi.org/10.3390/v15081718>. Acesso em 14 jun. 2023.
- GLEICH, S. E.; KRIEGER, S.; HARTMANN, K. Prevalência do vírus da imunodeficiência felina e do vírus da leucemia felina entre gatos de propriedade de clientes e fatores de risco para infecção na Alemanha. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 11, n. 12, p. 985–992, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jfms.2009.05.019>. Acesso em: 14 jun. 2023.
- GÓIS, D. Metanálise da Prevalência de FeLV na Região Sul do Brasil. **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, v. 12, n. 2, 4 dez. 2020. Disponível em: <https://periodicos.unipampa.edu.br/index.php/SIEPE/article/view/106962>. Acesso em 15 jun. 2023.
- GOLDKAMP, C. E. *et al.* Seroprevalences of feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus in cats with abscesses or bite wounds and rate of veterinarian compliance with current guidelines for retrovirus testing. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 232, n. 8, p. 1152–1158, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.2460/javma.232.8.1152>. Acesso em: 14 jun. 2023

GOMES-KELLER, M. A. *et al.* Shedding of feline leukemia virus RNA in saliva is a consistent feature in viremic cats. **Veterinary Microbiology**, v. 112, n. 1, p. 11-21, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2005.10.027>. Acesso em :14 jun. 2023.

GONÇALVES, H. J. *et al.* Prevalência de Leucemia Viral Felina (FeLV) e principais alterações hematológicas em felinos domésticos em Vila Velha, Espírito Santo. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 6, p, 1-8 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i6.15694>. Acesso em: 15 jun. 2023.

HARDY, W. D. *et al.* Horizontal Transmission of Feline Leukaemia Virus. **Nature**, v. 244, n. 5414, p. 266-269. 1973. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/244266a0>. Acesso em 15 jun. 2023.

HARDY, W. D. *et al.* Biology of feline leukemia virus in the natural environment. **Cancer Research**, v. 36, n. 2, p. 582-588, 1976. Disponível em: [https://aacrjournals.org/cancerres/article/36/2\\_Part\\_2/582/481192/Biology-of-Feline-Leukemia-Virus-in-the-Natural](https://aacrjournals.org/cancerres/article/36/2_Part_2/582/481192/Biology-of-Feline-Leukemia-Virus-in-the-Natural). Acesso em 15 jun. 2023.

HARDY, W. D. *et al.* The epidemiology of the feline leukemia virus (FeLV). **Cancer**, v. 39, n. 4, p. 1850-1855, 1977. Disponível em: [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(197704\)39:4+%3C1850::AID-CNCR2820390817%3E3.0.CO;2-S](https://doi.org/10.1002/1097-0142(197704)39:4+%3C1850::AID-CNCR2820390817%3E3.0.CO;2-S). Acesso em 15 jun. 2023.

HARTMANN, K. Clinical aspects of feline retroviruses: a review. **Viruses**, v. 4, n. 11, p. 2684-2710, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/v4112684>.

HARTMANN, K. Infecção pelo Vírus da Leucemia Felina. In: GREENE, C. E. **Doenças Infeciosas em Cães e Gatos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. *E-book*. ISBN 978-85-277-2725-9. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/978-85-277-2725-9/>. Acesso em: 14 jun. 2023.

HARTMANN, K., WERNER, R. M., EGBERINK, H., & JARRETT, O. Comparison of six in-house tests for the rapid diagnosis of feline immunodeficiency and feline leukaemia virus infections. **The Veterinary record**, v. 149, n. 11, p. 317–320, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1136/vr.149.11.317>. Acesso em 15 jun. 2023.

HARTMANN, K.; HOFMANN-LEHMANN, R. What's New in Feline Leukemia Virus Infection. **The Veterinary clinics of North America small animal practice**, v. 50, n. 5, p. 1013-1036, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2020.05.006>. Acesso em: 14 jun. 2023.

HOFMANN-LEHMANN, R. *et al.* Die feline Leukämievirus-Infektion: Bedeutung und aktuelle Situation in der Schweiz [Feline leukemia virus infection: importance and current situation in Switzerland]. **Schweizer Archiv für Tierheilkunde**, v. 160, n. 2, p. 95–105, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.17236/sat00146>. Acesso em: 13 jun. 2023.

HOFMANN-LEHMANN, R. *et al.* How molecular methods change our views of FeLV infection and vaccination. **Veterinary immunology and immunopathology**, v. 123, n. 1-2, p. 119-123, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2008.01.017>. Acesso em: 14 jun. 2023.

HOFMANN-LEHMANN, R. *et al.* Vaccination against the feline leukaemia virus: outcome and response categories and long-term follow-up. **Vaccine**, v. 25, n. 30, p. 5531-5539, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2006.12.022>. Acesso em 15 jun. 2023.

- HOFMANN-LEHMANN, R., HUDER, J. B., GRUBER, S., BORETTI, F., SIGRIST, B., & LUTZ, H. Feline leukaemia provirus load during the course of experimental infection and in naturally infected cats. **The Journal of general virology**, v. 82, Pt 7, p. 1589–1596, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/0022-1317-82-7-1589>. Acesso em 15 jun. 2023.
- HOOVER, E. A.; MULLINS, J. I. Feline leukemia virus infection and diseases. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 199, n. 10, p. 1287-1297, 1991. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1666070/>. Acesso em 15 jun. 2023.
- HOOVER, E. A.; MULLINS, J. I. Feline leukemia virus infection and diseases. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 199, n. 10, p. 1287–1297, 1991. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1666070/>. Acesso em 15 jun. 2023.
- HOOVER, E.A. *et al.* Experimental transmission and pathogenesis of immunodeficiency syndrome in cats. **Blood**, v. 70, n. 6, p. 1880-1892, 1987. Disponível em: <https://doi.org/10.1182/blood.V70.6.1880.1880>. Acesso em 14 jun. 2023.
- JACKSON, M. L. *et al.* Feline leukemia virus detection by immunohistochemistry and polymerase chain reaction in formalin-fixed, paraffin-embedded tumor tissue from cats with lymphosarcoma. **Canadian journal of veterinary research = Revue canadienne de recherche veterinaire**, v. 57, n. 4, p. 269–276, 1993. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1263639/>. Acesso em: 15 jun. 2023.
- JARRETT, O. Overview of feline leukemia virus research. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 199, n. 10, p. 1279–1281, 1991. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1666069/>. Acesso em: 15 jun. 2023.
- JARRETT, O.; LAIRD, H. M.; HAY, D. Determinants of the host range of feline leukaemia viruses. **The Journal of General Virology**, v. 20, n. 2, p. 169-175, 1973. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/0022-1317-20-2-169>. Acesso em: 14 jun. 2023.
- JARRETT, O.; NEIL, J. C. Feline Leukaemia Virus. **Encyclopedia of Life Sciences**. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0001021.pub2>. Acesso em: 14 jun. 2023.
- JARRETT, W. F. *et al.* A virus-like particle associated with leukemia (lymphosarcoma). **Nature**, v. 202, p. 567-569, 1964. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/202567a0>. Acesso em: 14 jun. 2023.
- JORGE, J. J.; FERREIRA, F.; HAGIWARA, M. K. Risk factors for feline leukemia virus (FeLV) infection in cats in São Paulo, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 48, n. 5, p. 392-398, 2011 Disponível em: <https://doi.org/10.11606/S1413-95962011000500006>. Acesso em: 15 jun. 2023.
- KAWASAKI, J., NISHIGAKI, K. Tracking the continuous evolutionary processes of an endogenous retrovirus of the domestic cat: ERV-DC. **Viruses**, v. 10, p. 179, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/v10040179>. Acesso em: 17 jul. 2023.
- KENT, M. S. *et al.* Longevity and mortality in cats: A single institution necropsy study of 3108 cases (1989-2019). **PloS one**, v. 17, n. 12, p. e0278199, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0278199>. Acesso em: 13 jun. 2023.
- KOHL, N. E. *et al.* Active Human Immunodeficiency Virus Protease Is Required for Viral Infectivity. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 85, n. 13, p. 4686-4690, 1988.

KOMINA, A. *et al.* Genetic diversity of feline leukemia virus. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, v. 315, n. 4, 2019. Disponível em: <http://doi.10.1088/1755-1315/315/4/042038>. Acesso em 24 jun. 2023.

KRAMER, A., SCHWEBKE, I., & KAMPF, G. (2006). How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review. **BMC Infectious Diseases**, 6, 130. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1471-2334-6-130>. Acesso em 15 jun. 2023.

LE, S. *et al.* Genetic Diversity and Evolution of Viruses Infecting Felis catus: A Global Perspective. **Viruses**, v. 15, n. 6, p. 1338, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/v15061338>. Acesso em: 24 jun. 2023.

LEVY, J. K. Feline Leukemia Virus and Feline Immunodeficiency Virus. *In*: MILLER, JANECKO, S.; L.; HURLEY, K. F. **Infectious Disease Management in Animal Shelters**. John Wiley & Sons, 1. Ed. 2009.

LEVY, J. K. *et al.* 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. Disponível em: <https://doi.org/10.2460/javma.228.3.371>. Acesso em 14 jun. 2023.

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, n. 3, p. 300-316, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jfms.2008.03.002>. Acesso em 15 jun. 2023.

LITTLE, S. *et al.* 2020 AAFP Feline Retrovirus Testing and Management Guidelines. **Journal of feline medicine and surgery**, v. 22, n. 1, p. 5-30, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/1098612X19895940>. Acesso em: 14 jun. 2023.

LITTLE, S. *et al.* Seroprevalence of feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus infection among cats in Canada. **The Canadian veterinary journal = La revue veterinaire canadienne**, v. 50, n. 6, p. 644–648, 2009. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2684053/>. Acesso em 14 jun. 2023.

LOPEZ, N. A., JACOBSON, R. H., SCARLETT, J. M., CENTER, S. A., RANDOLPH, J. F., & SCOTT, F. W. Sensitivity and specificity of blood test kits for feline leukemia virus antigen. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 195, n. 6, p. 747–751, 1989. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2551864/>. Acesso em: 15 jun. 2023.

LUTZ, H., PEDERSEN, N. C., & THEILEN, G. H. Course of feline leukemia virus infection and its detection by enzyme-linked immunosorbent assay and monoclonal antibodies. **American journal of veterinary research**, v. 44, n. 11, p. 2054–2059, 1983. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6316819/>. Acesso em 15 jun. 2023.

MADEWELL, B. R.; JARRETT, O. Recovery of feline leukaemia virus from non-viraemic cats. **The Veterinary record**, v. 112, n. 15, p. 339–342, 1983. Disponível em: <https://doi.org/10.1136/vr.112.15.339>. Acesso em: 13 jun. 2023.

MAJOR, A., CATTORI, V., BOENZLI, E., RIOND, B., OSSENT, P., MELI, M. L., HOFMANN-LEHMANN, R., & LUTZ, H. Exposure of cats to low doses of FeLV: seroconversion as the sole parameter of infection. **Veterinary research**, v. 41, n. 2, p. 17, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1051/vetres/2009065>. Acesso em: 15 jun. 2023.

- MEINERZ, A. R. M. *et al.* Frequência do vírus da leucemia felina (VLF<sub>e</sub>) em felinos domésticos (*Felis catus*) semidomiciliados nos municípios de Pelotas e Rio Grande. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 1, p. 90-93, 2010. Disponível em: <https://www.revistas.ufg.br/vet/article/download/438/8063?inline=1>. Acesso em: 14 jun. 2023.
- MIYAZAWA, T., & JARRETT, O. Feline leukaemia virus proviral DNA detected by polymerase chain reaction in antigenaemic but non-viraemic ('discordant') cats. **Archives of virology**, v. 142, n. 2, p. 323–332, 1997. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s007050050079>. Acesso em 15 jun. 2023.
- MOLINA, Víctor M.. Prevalencia del virus de la leucemia felina (ViLeF) en el sur del Valle de Aburrá, Colombia. **Revista de Medicina Veterinaria.**, v.1, n. 40, p. 9-16, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.19052/mv.vol1.iss40.2>. Acesso em 14 jun. 2023.
- MUCHAAMBA, F. *et al.* A survey of feline leukaemia virus infection of domestic cats from selected areas in Harare, Zimbabwe. **Journal of the South African Veterinary Association**, v. 85, n. 1, p. 1126, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.4102/jsava.v85i1.1126>. Acesso em: 13 jun. 2023.
- NESINA, S. *et al.* Retroviral DNA—the silent winner: blood transfusion containing latent feline leukemia provirus causes infection and disease in naïve recipient cats. **Retrovirology**, v. 12, p. 105, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12977-015-0231-z>. Acesso em: 14 jun. 2023.
- ORTEGA-PACHECO, A. *et al.* Seroprevalence of feline leukemia virus, feline immunodeficiency virus and heartworm infection among owned cats in tropical Mexico. **Journal of feline medicine and surgery**, v. 16, n. 6, p. 460–464, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/1098612X13509995>. Acesso em 14 jun. 2023.
- OSTROWSKI, S., *et al.* A serologic survey of wild felids from Central West Saudi Arabia. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 39, n. 3, p. 696-701, 1 July 2003. Disponível em: <http://doi.10.7589/0090-3558-39.3.696>. Acesso em 24 jun. 2023.
- OVERBAUGH, J., *et al.* Molecular cloning of a feline leukemia virus that induces fatal immunodeficiency disease in cats. **Science**, v. 239, p. 906-910, 1988. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.2893454>. Acesso em: 17 jul. 2023.
- PACITTI, A. M. Latent feline leukaemia virus infection: a review. **Journal of Small Animal Practice**, v. 28, p. 1153-1159, 1987. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.1987.tb01339.x>. Acesso em: 15 jun. 2023.
- PACITTI, A. M.; JARRETT, O.; HAY, D. Transmission of feline leukaemia virus in the milk of a non-viraemic cat. **The Veterinary record**, v. 118, n. 14, p. 381–384, 1986. Disponível em: <https://doi.org/10.1136/vr.118.14.381>. Acesso em: 15 jun. 2023.
- PARDI, D. *et al.* Selective impairment of humoral immunity in feline leukemia virus-induced immunodeficiency. **Veterinary immunology and immunopathology**, v. 28, n. 3-4, p. 183–200, 1991. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0165-2427\(91\)90114-r](https://doi.org/10.1016/0165-2427(91)90114-r). Acesso em 13 jun. 2023.
- PARRY, B. W.; HOLLOWAY, S. A.; STUDDERT, M. J. Diagnosis of feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus infections. **The Veterinary clinics of North America**.



- Small animal practice**, v. 19, n. 4, p. 719-727, 1989. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0195-5616\(89\)50080-9](https://doi.org/10.1016/s0195-5616(89)50080-9). Acesso em: 14 jun. 2023.
- POFFO, D. *et al.* Feline immunodeficiency virus (FIV), feline leukaemia virus (FeLV) and Leishmania sp. in domestic cats in the Midwest of Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 5, p. 491–494, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2017000500011>. Acesso em 15 jun. 2023.
- POWERS, J. A. *et al.* Feline Leukemia Virus (FeLV) Disease Outcomes in a Domestic Cat Breeding Colony: Relationship to Endogenous FeLV and Other Chronic Viral Infections. **Journal of Virology**, v. 92, n. 18, p. e00649-18, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/JVI.00649-18>. Acesso em 14 jun. 2023.
- RAMSEY, I. K.; SPIBEY, N.; JARRETT, O. The receptor binding site of feline leukemia virus surface glycoprotein is distinct from the site involved in virus neutralization. **Journal of Virology**, v. 72, n. 4, p. 3268-3277, 1998. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/jvi.72.4.3268-3277.1998>. Acesso em: 14 jun. 2023.
- RIEDEL, N. *et al.* Molecular analysis and pathogenesis of the feline aplastic anemia retrovirus, feline leukemia virus C-Sarcoma. **Journal of Virology**, v. 60, n. 1, p. 242-250, 1986. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/jvi.60.1.242-250.1986>. Acesso em 14 jun. 2023.
- RIGBY, M. A. *et al.* Partial dissociation of subgroup C phenotype and in vivo behaviour in feline leukaemia viruses with chimeric envelope genes. **Journal of General Virology**, v. 73, n. 11, p. 2839, 1992. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/0022-1317-73-11-2839>. Acesso em 14 jun 2023.
- RIGBY, M. A. *et al.* Partial dissociation of subgroup C phenotype and in vivo behaviour in feline leukaemia viruses with chimeric envelope genes. **Journal of General Virology**, v. 73, n. 11, p. 2839, 1992. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/0022-1317-73-11-2839>. Acesso em: 14 jun. 2023.
- ROJKO, J. L. *et al.* Pathogenesis of Experimental Feline Leukemia Virus Infection. **JNCI: Journal of the National Cancer Institute**, v. 63, n. 3, p. 759–768, 1979. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jnci/63.3.759>. Acesso em: 15 jun. 2023.
- ROJKO, J. L. *et al.* Reactivation of latent feline leukaemia virus infection. **Nature**, v. 298, n. 5872, p. 385–388, 1982. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/298385a0>. Acesso em: 15 jun. 2023.
- SANTOS, A. P. *et al.* Ocorrência do Vírus de Imunodeficiência Felina (FIV) e Vírus da Leucemia Felina (FeLV) em Felinos Submetidos a Teste Rápido Em Porto Alegre. **Anais do IX Congresso de Pesquisa e Extensão do Centro Universitário da Serra Gaúcha (FSG)**, v. 9, n. 9, p. 1-10, 2022. Disponível em: <https://ojs.fsg.edu.br/index.php/pesquisaextensao/article/view/5070>. Acesso em 15 jun. 2023.
- SARMA, P. S. *et al.* Differential host range of viruses of feline leukemia-sarcoma complex. **Virology**, v. 64, n. 2, p. 438-446, 1975. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0042-6822\(75\)90121-x](https://doi.org/10.1016/0042-6822(75)90121-x). Acesso em: 14 jun. 2023.
- SCHERK, M. A., FORD, R. B., GASKELL, R. M., HARTMANN, K., HURLEY, K. F., LAPPIN, M. R., LEVY, J. K., LITTLE, S. E., NORDONE, S. K., & SPARKES, A. H. 2013 AAFP Feline Vaccination Advisory Panel Report. **Journal of feline medicine and surgery**, v.

15, n. 9, p. 785–808, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/1098612x13500429>. Acesso em 15 jun. 2023.

SCHULTZ, Emilia. **The occurrence of FeLV, FIV and FeCoV in free-roaming cats in Mara North Conservancy, Kenya: a possible threat to wild felids?** Second cycle, A2E. Uppsala: SLU, Dept. of Clinical Sciences, 2023. Disponível em: <https://stud.epsilon.slu.se/18619/>. Acesso em 14 jun. 2023.

SILVA, M. R. **Prevalência da leucemia viral felina (FeLV) em felinos atendidos no hospital veterinário zoológico em Divinópolis-MG, no período de 2015 e 2016.** Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) – Centro Universitário de Formiga. Formiga. 2017. Disponível em: <https://repositorioinstitucional.uniformg.edu.br:21074/xmlui/handle/123456789/466>. Acesso em: 14 jun. 2023.

SOBRINHO, L. S. V.; VIDES, J. P.; BRAGA, E. T.; GOMES, A. D.; ROSSI, C. N.; MARCONDES, M. Serofrequency of feline immunodeficiency virus and feline leukemia virus in cats of Araçatuba, São Paulo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 48, n. 5, p. 378-383, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.11606/S1413-95962011000500004>. Acesso em: 15 jun. 2023.

STEWART, M. A. *et al.* Nucleotide sequences of a feline leukemia virus subgroup A envelope gene and long terminal repeat and evidence for the recombinational origin of subgroup B viruses. **Journal of Virology**, v. 58, n. 3, p. 825-834, 1986. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/JVI.58.3.825-834.1986>. Acesso em: 14 jun. 2023.

STUDER, N. *et al.* Pan-European Study on the Prevalence of the Feline Leukaemia Virus Infection - Reported by the European Advisory Board on Cat Diseases (ABCD Europe). **Viruses**, v. 11, n. 11, p. 993, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/v11110993>. Acesso em: 14 jun. 2023.

SYKES, J. E.; HARTMANN, K. Feline Leukemia Virus Infection. *In*: **Canine and Feline Infectious Diseases**. São Paulo: Elsevier, 2014. p. 224-238. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7152252/>. Acesso em 28 jun. 2023.

TANDON, R. *et al.* Quantitation of feline leukaemia virus viral and proviral loads by TaqMan real-time polymerase chain reaction. **Journal of Virological Methods**, v. 130, n. 1-2, p. 124-132, dez. 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2005.06.017>. Acesso em 14 jun. 2023.

TANDON, R., CATTORI, V., GOMES-KELLER, M. A., MELI, M. L., GOLDBERGER, M. C., LUTZ, H., & HOFMANN-LEHMANN, R. Quantitation of feline leukaemia virus viral and proviral loads by TaqMan real-time polymerase chain reaction. **Journal of virological methods**, v. 130, n. 1-2, p. 124–132, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2005.06.017>. Acesso em: 13 jun. 2023.

TANGSUDJAI, S. *et al.* Feline Leukemia Virus (FeLV) in Captive Wild Felids in Thailand During 2004-2005. **Journal of Applied Animal Science**, v. 3, n. 1-3, 2010. Disponível em: [https://www.researchgate.net/profile/Krudsada-Chaichoun/publication/234839354\\_Feline\\_Leukemia\\_Virus\\_FeLV\\_in\\_Captive\\_Wild\\_Felids\\_in\\_Thailand\\_during\\_2004-2005/links/0fcfd51017189aea83000000/Feline-Leukemia-Virus-FeLV-in-Captive-Wild-Felids-in-Thailand-during-2004-2005.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Krudsada-Chaichoun/publication/234839354_Feline_Leukemia_Virus_FeLV_in_Captive_Wild_Felids_in_Thailand_during_2004-2005/links/0fcfd51017189aea83000000/Feline-Leukemia-Virus-FeLV-in-Captive-Wild-Felids-in-Thailand-during-2004-2005.pdf). Acesso em 29 jun. 2023.

TCHAMO, C. C.; DE RUGERIIS, M.; NOORMAHOMED, E. V. Occurrence of feline immunodeficiency virus and feline leukaemia virus in Maputo city and province, Mozambique: a pilot study. *JFMS open reports*, v. 5, n. 2, p. 2055116919870877, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/2055116919870877>. Acesso em: 13 jun. 2023.

TEMIN, H. M. Origin and General Nature of Retroviruses. In: LEVY, J. A. (Ed.). **The Retroviridae**. The Viruses. Boston, MA: Springer, 1992. DOI: 10.1007/978-1-4615-3372-6\_1. Acesso em 13 jun. 2023.

TERPSTRA, F.G., VAN DEN BLINK, A.E., BOS, L.M., VAN REMMERDEN, Y., SCHUITEMAKER, H., & VAN 'T WOUT, A.B. Resistance of surface-dried virus to common disinfection procedures. *Journal of Hospital Infection*, vol. 66, no. 4, pp. 332-338, August 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2007.05.005>. Acesso em 15 jun. 2023.

TIAO, N. *et al.* An investigation into the seroprevalence of *Toxoplasma gondii*, *Bartonella* spp., feline immunodeficiency virus (FIV), and feline leukaemia virus (FeLV) in cats in Addis Ababa, Ethiopia. *Epidemiology & Infection*, v. 141, n. 5, p. 1029-1033, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S0950268812001707>. Acesso em 13 jun. 2023.

TORRES, A. N., O'HALLORAN, K. P., LARSON, L. J., SCHULTZ, R. D., & HOOVER, E. A. Development and application of a quantitative real-time PCR assay to detect feline leukemia virus RNA. *Veterinary immunology and immunopathology*, v. 123, n. 1-2, p. 81-89, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2008.01.013>. Acesso em 15 jun. 2023.

TORRES, A. N.; MATHIASON, C. K.; HOOVER, E. A. Re-examination of feline leukemia virus: host relationships using real-time PCR. *Virology*, v. 332, n. 1, p. 272-283, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.virol.2004.10.050>. Acesso em: 14 jun. 2023.

VARMUS, H. Retrovirus. *Science (New York, N.Y.)*, v. 240, n. 4858, p. 1427-1435, 1988. DOI: 10.1126/science.3287617.

VOBIS, M. *et al.* Evidence of horizontal transmission of feline leukemia virus by the cat flea (*Ctenocephalides felis*). *Parasitology Research*, v. 91, n. 6, p. 467-470, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00436-003-0949-8>. Acesso em: 15 jun. 2023.

WEIJER, K., & DAAMS, J. H. The presence of leukaemia (lymphosarcoma) and feline leukaemia virus (FeLV) in cats in The Netherlands. *The Journal of small animal practice*, v. 17, n. 10, p. 649-659, 1976. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.1976.tb06925.x>. Acesso em 15 jun 2023.

WEIJER, K., UYTDEHAAG, F. G., & OSTERHAUS, A. D. Control of feline leukaemia virus. *Veterinary immunology and immunopathology*, v. 21, n. 1, p. 69-83, 1989. DOI: 10.1016/0165-2427(89)90131-1. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0165-2427\(89\)90131-1](https://doi.org/10.1016/0165-2427(89)90131-1). Acesso em 15 jun. 2023.

WESTMAN, M. E.; MALIK, R.; NORRIS, J. M. Diagnosing feline immunodeficiency virus (FIV) and feline leukaemia virus (FeLV) infection: an update for clinicians. *Australian veterinary journal*, v. 97, n. 3, p. 47-55, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/avj.12781>. Acesso em: 15 jun. 2023.

WILLETT, B. J.; HOSIE, M. J. Feline leukaemia virus: half a century since its discovery. *Veterinary Journal*, v. 195, n. 1, p. 16-23, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.07.004>. Acesso em: 14 jun. 2023.



## Anexos

Anexo 1 – Ficha de anamnese aplicada pelos médicos veterinários previamente à coleta de amostras.



**PROJETO: DETERMINAÇÃO DA PREVALÊNCIA DE INFECÇÕES  
PROGRESSIVAS E REGRESSIVAS PELO VÍRUS DA LEUCEMIA FELINA (FeLV)  
EM GATOS NA REGIÃO DA SERRA GAÚCHA**

Responsável: Prof. Dr. Vagner Ricardo Lunge

Mestranda em Saúde Animal: Laura Pancich Diesel

**FICHA DE ANAMNESE**

**Clínica (Nome/Cidade):** \_\_\_\_\_

**Endereço onde o animal reside:**

\_\_\_\_\_

**Bairro:** \_\_\_\_\_

**Nome do felino:** \_\_\_\_\_ **Raça:** \_\_\_\_\_ **Idade:** \_\_\_\_\_ **Sexo** \_\_\_\_\_

**Possui acesso à rua?** ( ) SIM ( ) NÃO **Castrado(a)?** ( ) SIM ( ) NÃO

**Vacinado?** ( ) SIM ( ) NÃO **Data da última vacinação:** \_\_\_\_\_

**Qual vacina?** ( ) Tríplice Felina ( ) Quádrupla Felina ( ) Quíntupla felina

**O animal convive com outros gatos?** ( ) SIM ( ) NÃO

**O animal já realizou teste rápido de FIV/FeLV?** ( ) SIM ( ) NÃO

**Resultado e data do último teste:** \_\_\_\_\_

**O animal apresenta algum sinal clínico durante o exame físico? Qual(is)?**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Anexo 2 – Termo de consentimento livre e esclarecido assinado pelos tutores dos animais previamente à coleta de amostras.

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título da Pesquisa: **DETERMINAÇÃO DA PREVALÊNCIA DE INFECÇÕES PROGRESSIVAS E REGRESSIVAS PELO VÍRUS DA LEUCEMIA FELINA (FeLV) EM GATOS DOMICILIADOS NA REGIÃO DA SERRA GAÚCHA**

Nome do ou Orientador(a): Prof. Dr. Vagner Ricardo Lunge

Nome do(s) Pesquisadores: Laura Pancich Diesel

1. **Natureza da pesquisa:** *o sra (sr.) está sendo convidada (o) a participar desta pesquisa que tem como finalidade determinar a prevalência de infecções progressivas e regressivas pelo Vírus da Leucemia Felina (FeLV) em gatos domiciliados na região da Serra Gaúcha.*
2. **Participantes da pesquisa:** 148 gatos domésticos domiciliados selecionados aleatoriamente em clínicas veterinárias particulares em municípios da Serra Gaúcha
3. **Envolvimento na pesquisa:** *ao participar deste estudo a sra (sr) permitirá que o (a) pesquisador (a) realize a coleta de sangue do seu gato e submeta a amostra à análises laboratoriais de ELISA e PCR para detecção do FeLV. A sra (sr.) tem liberdade de se recusar a participar e ainda se recusar a continuar participando em qualquer fase da pesquisa, sem qualquer prejuízo para a sra (sr.). Sempre que quiser poderá pedir mais informações sobre a pesquisa através do telefone do (a) pesquisador (a) do projeto e, se necessário através do telefone do Comitê de Ética em Pesquisa.*
4. **Sobre as entrevistas:** Será preenchida uma ficha de anamnese relativa ao gato contendo o nome do animal, município onde reside, raça, idade, sexo, se este possui acesso à rua, se é castrado, status de vacinação e se este já realizou teste rápido de FIV/FeLV.
5. **Riscos e desconforto:** *a participação nesta pesquisa não traz complicações legais. Os possíveis riscos e desconfortos ao animal ocorrerão apenas durante o processo de venopunção para coleta de sangue, sendo um procedimento rápido e minimamente invasivo. Os procedimentos adotados nesta pesquisa obedecem aos Critérios da Ética em Pesquisa com Seres Humanos conforme Resolução no. 196/96 do*

*Conselho Nacional de Saúde. Nenhum dos procedimentos usados oferece riscos à sua dignidade.*

6. **Confidencialidade:** *todas as informações coletadas neste estudo são estritamente confidenciais. Somente o (a) pesquisador (a) e o (a) orientador (a) terão conhecimento dos dados.*
7. **Benefícios:** *ao participar desta pesquisa a sra (sr.) não terá nenhum benefício direto. Entretanto, esperamos que este estudo traga informações importantes sobre a determinação da prevalência de infecções progressivas e regressivas pelo vírus da leucemia felina (FeLV) em gatos domiciliados na região da Serra Gaúcha, de forma que o conhecimento que será construído a partir desta pesquisa possa trazer resultados relativos à frequência da doença nessa região, onde pesquisador se compromete a divulgar os resultados obtidos.*
8. **Pagamento:** *a sra (sr.) não terá nenhum tipo de despesa para participar desta pesquisa, bem como nada será pago por sua participação.*

Após estes esclarecimentos, solicitamos o seu consentimento de forma livre para participar desta pesquisa. Portanto preencha, por favor, os itens que se seguem.

Obs: Não assine esse termo se ainda tiver dúvida a respeito.

#### **Consentimento Livre e Esclarecido**

Tendo em vista os itens acima apresentados, eu, de forma livre e esclarecida, manifesto meu consentimento em participar da pesquisa. Declaro que recebi cópia deste termo de consentimento, e autorizo a realização da pesquisa e a divulgação dos dados obtidos neste estudo.

\_\_\_\_\_  
Nome do Participante da Pesquisa

\_\_\_\_\_  
Assinatura do Participante da Pesquisa

\_\_\_\_\_  
Assinatura do Pesquisador

\_\_\_\_\_  
Assinatura do Orientador

**Pesquisador Principal : Laura Pancich Diesel**  
**Telefone para contato (54) 99134-8115**  
**Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade de Caxias do Sul -**  
**CEUA-UCS**  
**Telefone da Comissão: (54) 3218-2118**