

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**DISTÚRBIOS HEMATOPOIÉTICOS EM GATOS COM CARGA VIRAL E PRÓ-
VIRAL DO VÍRUS DA LEUCEMIA FELINA**

STÉPHANIE SILVA NUNES DE ALMEIDA

Porto Alegre

2021

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**DISTÚRBIOS HEMATOPOIÉTICOS EM GATOS COM CARGA VIRAL E PRÓ-
VIRAL DO VÍRUS DA LEUCEMIA FELINA**

Dissertação apresentada como requisito parcial
para obtenção do grau de Mestre em Ciências
Veterinárias.

Orientadora: Profa. Dra. Stella de Faria Valle

Porto Alegre

2021

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

CIP - Catalogação na Publicação

Almeida, Stéphanie Silva Nunes de
DISTÚRBIOS HEMATOPOIÉTICOS EM GATOS COM CARGA VIRAL
E PRÓ-VIRAL DO VÍRUS DA LEUCEMIA FELINA / Stéphanie
Silva Nunes de Almeida. -- 2021.
39 f.
Orientadora: Stella de Faria Valle.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa
de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto
Alegre, BR-RS, 2021.

1. medula óssea. 2. hematologia. 3. FeLV. 4.
síndrome mielodisplásica. 5. gatos. I. de Faria Valle,
Stella, orient. II. Título.

STÉPHANIE SILVA NUNES DE ALMEIDA

DISTÚRBIOS HEMATOPOIÉTICOS EM GATOS COM CARGA VIRAL E PRÓ-
VIRAL DO VÍRUS DA LEUCEMIA FELINA

Aprovada em 2 de junho de 2021

APROVADO POR:

Profa. Dra. Stella de Faria Valle
Orientadora e Presidente da Comissão

Profa. Dra Camila Serina Lasta
Membro da Comissão

Profa. Dra. Luciana Sonne
Membro da Comissão

Profa. Dra. Nicole Regina Capacchi Hlavac Vincenzi
Membro da Comissão

Porto Alegre
2021

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me cuidado e mantido minha família com saúde diante de todo o cenário pandêmico e caótico que vivemos no mundo, sobretudo no Brasil.

À minha orientadora, Prof^a Stella, pela oportunidade, paciência, incentivo e carinho que teve comigo durante todo o tempo!

Ao Bruno Almeida por ter realizado a estatística e ter somado forças para finalização da dissertação. Você foi fundamental e um grande incentivador nessa reta-final. Muito obrigada!!!

À Naila por ter contribuído e disponibilizado grande parte dos arquivos para estudo retrospectivo.

Aos meus amigos e colegas do LACVet, por toda parceria, estudos, discussões de caso, amizade e momentos de lazer durante esses dois anos! Em especial à Laura Quishpe (minha companheira de citologias, líquidos cavitários, b.o's, desabafos e lanches). À Lina, Daiana, Alejandra, Ana Paula, Bárbara, Kauana e Fernanda que tanto me ensinaram igualmente.

Aos meus pais, Maria Helena e Adilson, pelo amor incondicional, pela dedicação e apoio na minha decisão de trilhar novos caminhos (mesmo sabendo que o RS é tão longe de Goiás). À minha irmã, Carol, que me auxilia, me escuta e está sempre a postos para me ajudar em qualquer situação, mesmo estando em SP.

A todos os meus familiares e amigos (de Porto Alegre ou Goiânia), que sempre estiveram torcendo por mim e acompanharam essa trajetória.

À CAPES, pelo apoio financeiro concedido nestes dois anos.

Às universidades públicas que resistem ao desgoverno atual e produzem pesquisas brilhantes com poucos recursos!

*“À sós ninguém está sozinho É caminhando
que se faz o caminho”*

—Titãs. Como estão vocês?

RESUMO

Investigar a ocorrência de doença clínica em animais com carga viral e pró-viral para FeLV. Descrever os distúrbios hematopoiéticos mais comumente encontrados e relatar descritivamente uma série de casos de doenças clínicas. Foram selecionados 18 gatos com carga viral e pró-viral para FeLV, mensuradas através de PCR em tempo real. Os parâmetros hematológicos e de mielograma foram comparados entre os animais com doença clínica (n=6) e sub-clínicos (n=12). Foi realizada correlação entre a carga viral e pró-viral desses animais com a celularidade das linhagens linfóide, granulocítica, eritroide e megacariocítica. As cargas virais não diferiram entre os grupos de animais doentes e subclínicos e foi observada uma correlação positiva entre o RNA viral do soro e a celularidade da linhagem linfóide, mas não nas outras linhagens. Os animais doentes diferiram dos subclínicos, apresentando menores concentrações de eritrócitos, hematócrito, hemoglobina e plaquetas; enquanto o VCM, células da linhagem eritroide e linfócitos estavam maiores. No esfregaço de sangue periférico havia uma maior frequência de eritrócitos com microcitose e macrocitose, corpúsculos de Heinz, e neutrófilos e plaquetas gigantes. No mielograma, a celularidade geral estava aumentada nos animais doentes, além de mielócitos maduros, linfócitos e plasmócitos. Somente a contagem de megacariócitos estava diminuída nesses animais. Os distúrbios hematopoiéticos em pacientes com FeLV são variados, frequentemente são observadas alterações neoplásicas e síndrome mielodisplásicas que também alteram outros constituintes da medula óssea.

Palavras-chave: medula óssea, hematologia, FeLV.

ABSTRACT

Investigate the occurrence of clinical disease in animals with viral and proviral loads for FeLV. Describe the most commonly found hematopoietic disorders and report descriptively a series of cases of clinical diseases. Eighteen cats with viral and proviral loads for FeLV were selected, measured by real time PCR. Hematological and myelogram parameters were compared between animals with clinical disease (n=6) and sub-clinical (n=12). A correlation was made between the viral and pro-viral load of these animals with the cellularity of the lymphoid, granulocytic, erythroid and megakaryocytic strains. Viral loads did not differ between groups of sick and subclinical animals and a positive correlation was observed between serum viral RNA and the lymphoid cell line, but not in the other lines. The sick animals differed from the subclinics, with lower concentrations of erythrocytes, hematocrit, hemoglobin and platelets; while CMV, erythroid cells and lymphocytes were larger. In the peripheral blood smear there was a higher frequency of erythrocytes with microcytosis and macrocytosis, Heinz corpuscles, and giant neutrophils and platelets. In the myelogram, the general cellularity was increased in the sick animals, in addition to mature myelocytes, lymphocytes and plasmocytes. Only the megakaryocyte count was decreased in these animals. Hematopoietic diseases in patients with FeLV are varied, with neoplastic alterations and myelodysplastic syndrome frequently being observed, which also alter other bone marrow constituents.

Key words: bone marrow, hematology, FeLV

LISTA DE SIGLAS

%	Porcentagem
bpm	Batimentos por minuto
CHCM	Concentração de hemoglobina corpuscular média
CT	<i>threshold cycle</i>
DNA	Ácido desoxirribonucleico
FAB	<i>French-american-british</i>
FAIDS	Síndrome de Imunodeficiência Adquirida Felina
FeLV	Vírus da Leucemia Felina
FIV	Vírus da Imunodeficiência Felina
He	Hemácias
ICBS	Instituto de Ciências Básicas da Saúde
LACVet	Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias
LLA	Leucemia Linfóide Aguda
LMA	Leucemia Mieloide Aguda
M:E	Relação mieloide:eritroide
MedFel	Setor de Medicina Felina
mrpm	Movimentos respiratórios por minuto
° C	graus Celsius
PCR	<i>Polimerase Chain Reaction</i>
PCV	<i>Packed Cell Volume</i>
RNA	Ácido ribonucleico
SMD	Síndrome Mielodisplásica
SRD	Sem raça definida
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul
VCM	Volume corpuscular médio
WHO	<i>World Health Organization</i>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 OBJETIVOS	10
2.1 OBJETIVO GERAL.....	10
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	10
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
3.1 HISTÓRICO	11
3.2 ETIOLOGIA	11
3.3 EPIDEMIOLOGIA	12
3.4 PATOGENIA	13
3.4.1 Infecção Progressiva	13
3.4.2 Infecção Regressiva	13
3.4.3 Infecção Abortiva	14
3.4.4 Infecção Atípica	14
3.5 DISTÚRBIOS HEMATOPOIÉTICOS RELACIONADOS À INFECÇÃO PROGRESSIVA	14
4 MATERIAIS E MÉTODOS	16
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
5.1 ARTIGO CIENTÍFICO	18
6 CONCLUSÃO	31
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32

1 INTRODUÇÃO

O vírus da leucemia felina (FeLV) pertence à família *Retroviridae* e ao gênero *Gammaretrovirus*, infecta gatos domésticos e, esporadicamente, felídeos selvagens (HARTMANN, 2012). É um dos principais agentes infecciosos de gatos e apresenta ocorrência mundial (GLEICH & HARTMANN, 2009). Foi descrito pela primeira vez em 1964, quando pesquisadores observaram as partículas virais na superfície de linfoblastos malignos de um gato com linfoma (JARRET *et al.*, 1964).

A infecção pelo FeLV é associada a maior número de síndromes clínicas que qualquer outro agente infeccioso de gatos (ROJKO & HARDY, 1994). Os sinais clínicos apresentados pelos animais infectados pelo FeLV podem ser classificados em neoplasias, imunossupressão, doenças hematológicas, doenças imunomediadas, e outras síndromes (incluindo neuropatias, desordens reprodutivas e síndrome “*fading kitten*”) (HARTMANN, 2012). Ainda que a nomenclatura do vírus esteja relacionada com a doença mieloproliferativa (leucemia), a maior parte dos gatos exibem quadro clínico por alterações decorrentes de anemia e imunossupressão, e não por neoplasias (COTTER, 1991).

Em um estudo realizado com 104 gatos positivos para FeLV foi observado que estes apresentaram elevado risco para o desenvolvimento de citopenias, com número de hemácias, concentração de hemoglobina, hematócrito, número de plaquetas e neutrófilos diminuídos, quando comparados com os gatos negativos para os retrovírus (GLEICH & HARTMANN, 2009). As citopenias também estiveram presentes em outro estudo realizado com 37 gatos com FeLV, no qual observou-se anemia discretamente regenerativa, trombocitopenia e, dentre as doenças relacionadas, a micoplasmose hemotrópica foi a mais comum (HAGIWARA *et al.*, 1997).

O presente estudo objetivou apresentar as principais alterações hematológicas e em medula óssea de gatos doentes e subclínicos com cargas virais e pró-virais do FeLV em sangue periférico e medula óssea.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a ocorrência de doença hematopoiética em animais com carga viral e pró-viral para FeLV. Descrever as alterações hematológicas e distúrbios hematopoiéticos mais comumente encontrados e relatar descritivamente uma série de casos de doenças clínicas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Investigar as síndromes da medula óssea e alterações hematológicas dos gatos infectados com alta carga viral e pró-viral (doentes clínicos) e principais diferenças daqueles com apenas cargas viral e pró-viral na medula óssea e sem doença clínica (subclínicos).

Determinar correlações entre as cargas virais e pró-viral da medula óssea com as alterações de sangue periférico em animais progressivos (doentes e subclínicos).

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 HISTÓRICO

O vírus da Leucemia Felina (FeLV, *feline leukaemia virus*) foi descoberto há mais de 50 anos, em meados de 1964, e em pouco tempo já havia bastante pesquisa para encontrar meios diagnósticos para identificação do agente infeccioso (HOSIE & WILLET, 2006). Atualmente, mesmo com o advento de tecnologias de diagnóstico avançadas e vacinas comerciais, a infecção pelo FeLV ainda se faz presente cosmopolitamente. Em países em desenvolvimento, sua prevalência é ainda maior, acarretando em diversas síndromes clínicas e uma das maiores causas de morte em felinos domésticos (BIEZUS *et al.*, 2019; ALMEIDA *et al.*, 2019). Em contrapartida, nos países desenvolvidos, a incidência e prevalência seguem caindo desde os anos 1980, por meio da realização de testes em massa, adoção de programas de erradicação e vacinação maciça contra a FeLV, resultando na diminuição da ocorrência do vírus (ROJKO & HARDY, 1984; HOSIE & WILLET, 2013).

3.2 ETIOLOGIA

O FeLV é um vírus pertencente à família *Retroviridae*, subfamília *Oncovirinae* e gênero *Gammaretrovirus*. É um retrovírus envelopado e seu material genético é formado por fitas simples de ácido ribonucleico (RNA), com capacidade para transformação em ácido desoxirribonucleico (DNA) pela enzima transcriptase reversa, gerando o pró-vírus que se associa ao genoma da célula hospedeira pela ação de uma integrase. A capacidade desse retrovírus em se integrar ao material genético de seu hospedeiro é a principal causa das mutações e persistência do vírus por toda a vida do animal (HARTMANN, 2011; HARTMANN, 2012; POWERS *et al.*, 2018).

O vírus foi dividido em alguns subgrupos: FeLV-A, FeLV-B, FeLV-C, FeLV-D e FeLV-T de acordo com sua evolução e estrutura antigênica glicoproteica do

envelope gp70. Dentre todos, o FeLV-A é mais preocupante por ser infeccioso e transmissível horizontalmente. Os demais subgrupos são derivados de mutações e recombinações entre o FeLV-A e as sequências endógenas do enFeLV presente no DNA felino (STEWART *et al.*, 2011). Presente em aproximadamente 50% dos gatos infectados está o FeLV-B, cujo o aparecimento de 16 linfomas e leucemias costumam estar associados. O FeLV-C, por sua vez, causa as anemias arregenerativas e sua proporção nos gatos infectados é menor, aproximadamente 1 a 2%. Já o FeLV-T, tem preferência por linfócitos T ocasionando imunossupressão grave nos felinos acometidos (CHIU *et al.*, 2018; TANDON *et al.* 2008; TANDON *et al.* 2008). Além disso, o FeLV-A é capaz de se recombinar com outras variantes e causar uma síndrome de imunodeficiência adquirida felina (FAIDS), originada pela infecção dos linfócitos CD4+ e CD8+ e linfócitos B presentes no sangue, e órgãos linfoides como linfonodos e células mieloides da medula óssea (HARTMANN, 2012). Há a proposta de se incluir mais um subgrupo, FeLV-E, cujo aparecimento é supostamente associado à alta pressão e seletividade das mutações, como àqueles gerados pela vacinação, e ainda carece de mais estudos (MIYAKE, *et al.*, 2016).

3.3 EPIDEMIOLOGIA

O FeLV apresenta distribuição cosmopolita e sua prevalência é, em grande parte, influenciada pela densidade populacional. Nos Estados Unidos, estudos indicam uma prevalência de infecção de 2% em gatos saudáveis e até 15% em gatos em alto risco, isto é, abrigos ou acumuladores, além de animais doentes (CRAWFORD, 2011). Na Alemanha, de 17.462 gatos domiciliados testados, a prevalência foi de 3,6% (GLEICH & HARTMANN, 2009). No Brasil, vários estudos sobre a ocorrência do vírus da leucemia viral felina foram realizados. Em São Paulo, foram encontrados 12,5% de positividade ao avaliarem a infecção em 298 gatos (HAGIWARA, *et al.*, 1997). Uma frequência menor da infecção foi observada no interior do estado de São Paulo, em Araçatuba, onde apenas 0,33% dos gatos avaliados foram positivos para o FeLV (SOBRINHO *et al.*, 2011). Outra pesquisa demonstrou prevalência de 10,8% em gatos de Porto Alegre (SILVA, 2007). Em Minas Gerais, também foi observada variação na prevalência da infecção, em que

houve 47,5% de reatividade de 1072 gatos avaliados (COELHO *et al.*, 2011) e 12,6 % em 125 animais de Uberlândia (BARBOSA *et al.*, 2001).

3.4 PATOGENIA

A classificação da infecção pelo FeLV é baseada no tipo de resposta imune do hospedeiro, sendo definida como infecção progressiva, regressiva, abortiva e infecção focal ou atípica (HARTMANN, 2012; HARTMANN, 2020).

3.4.1 Infecção Progressiva

Nos gatos que cursam com a infecção progressiva, o vírus é incontrolado pelo sistema imunológico, acarretando em replicação viral. Inicialmente, nos tecidos linfóides e posteriormente medula óssea, mucosas e glândulas salivares. Se a viremia persiste por mais de 12 semanas, os animais tornam-se persistentemente virêmicos e são fontes de infecção para outros gatos. A condição de viremia persistente é o padrão típico dessa categoria e o vírus mantém sua replicação na medula óssea, baço, linfonodos e glândulas salivares (HARTMANN, 2020). Os animais progressivos apresentam baixa titulação de anticorpos neutralizantes (CHHETRI *et al.*, 2015).

3.4.2 Infecção Regressiva

Os gatos com certo grau de imunocompetência conseguem conter a replicação viral primária (dos tecidos linfóides) antes que atinjam a medula óssea. Esses animais não desenvolvem a viremia persistente, mas também não se curam do vírus, uma vez que o pró-vírus está integrado ao seu genoma, tornando-se portadores do DNA pró-viral (HUNGERBUEHLER *et al.*, 2015; CATTORI *et al.*, 2008). Estes animais não liberam partículas virais na saliva. No entanto, ao se tornarem doadores de sangue eletivos, são capazes de transmitir o vírus por meio da transfusão sanguínea (NESINA *et al.*, 2015; SANCHEZ *et al.*, 2020). Além disso, a infecção regressiva pode ser reativada em episódios imunossupressores. Em

alguns gatos, já foi relatado que a própria infecção regressiva (sem reativação) está associada a linfomas (STUTZER *et al.*, 2011) e supressão da medula óssea (STUTZER *et al.*, 2010).

3.4.3 Infecção Abortiva

Alguns gatos conseguem impedir a replicação viral nos tecidos linfoides da orofaringe em decorrência de imunidade celular e humoral competentes (ROJKOL, *et al.* 1984; HARTMANN *et al.*, 2012). Estes animais são negativos para a antigenemia p27, cargas virais e pró-virais e somente apresentam baixas titulações de anticorpos específicos contra a FeLV. Os gatos que conseguem deliberar o vírus do sistema imunológico apresentam expectativa de vida semelhante àqueles que nunca estiveram expostos ao vírus (LUTZ *et al.*, 2009).

3.4.4 Infecção Atípica

As infecções atípicas correspondem a menos de 10% das categorias e foram inicialmente observadas em experimentos. Nesses casos, a infecção pelo FeLV é restrita a alguns tecidos e órgãos como as glândulas mamárias, bexiga, olhos, baço, linfonodos e intestino 18 grosso (HOOVER *et al.*, 1991). Dessa forma, os gatos podem positivar de maneira branda nos testes *point-of-care*, pois a liberação de partículas virais é uma incógnita e costuma ser intermitente (LEVY *et al.*, 2018). Os gatos podem ter resultados discordantes em testes que detectam a p27 ou resultados negativos e positivos podem ser intercalados. Além disso, podem testar negativo para a detecção de DNA pró-viral dependendo da sensibilidade do ensaio (CHIU *et al.*, 2018).

3.5 DISTÚRBIOS HEMATOPOIÉTICOS RELACIONADOS À INFECÇÃO PROGRESSIVA

As infecções progressivas são responsáveis por diversas condições, tais como os distúrbios na medula óssea, principais causas das anemias, neoplasias, sendo mais comum os linfomas, seguido pelas leucemias, outros tumores

hematopoiéticos e tumores raros como osteocondromas, neuroblastomas e adenocarcinomas. Além disso, os animais são imunossuprimidos e tornam-se susceptíveis a infecções secundárias e outras síndromes relacionadas como as doenças imunomediadas, neuropatias e doenças reprodutivas (HARTMANN *et al.*, 2020; HARTMANN *et al.* 2011; STUTZER *et al.*, 2010). A maioria das anemias em gatos com FeLV são arregenerativas, oriundas da supressão da medula óssea, efeito da infecção primária das células progenitoras e células estromais de sustentação, as quais são essenciais para formação e maturação das células hematopoiéticas, ou em razão da infiltração neoplásica na medula óssea levando a anemia aplásica ou pancitopenia grave (HOFFMAN-LEHMANN *et al.*, 1997; JACKSON *et al.*, 1996).

Na anemia aplásica, as células da medula óssea estarão hipoplásicas ou aplásicas, com aumento de tecido adiposo e ligeira infiltração de linfócitos e plasmócitos. Suspeita-se que certo grau de necrose da medula óssea possa estar associada à infecção por FeLV, onde o mecanismo ainda não está bem esclarecido, entretanto sugere-se que a oclusão da microcirculação medular ou a presença de indutores de necrose, como o fator de necrose tumoral, desempenhem um papel nesta doença (SHIMODA *et al.*, 2000). A aplasia de células vermelhas provoca anemia arregenerativa grave (hematócrito < 15%) e ocorre em infecções pelo subgrupo FeLV-C (HARTMANN, 2020). Anemia por doença crônica ou inflamatória também pode ser observada e, nesse caso, é não regenerativa, sendo ocasionada pela produção excessiva de citocinas em gatos FeLV positivos em decorrência de inflamação (JACKSON *et al.*, 1996).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Os materiais e métodos estão descritos no artigo científico formatado de acordo com as normas para envio ao periódico Pesquisa Veterinária Brasileira.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados e a discussão estão descritos no artigo científico formatado de acordo com as normas para envio ao periódico Pesquisa Veterinária Brasileira.

5.1 ARTIGO CIENTÍFICO

Distúrbios hematopoiéticos em gatos com carga viral e pró-viral do Vírus da Leucemia Felina

Stephanie S. N. Almeida^{1*}, Naila C. B. Duda², Bruno A. Almeida³, Fernanda V. A. Costa⁴, Lucía C. Ortiz⁵, Ana Paula Mutterle⁵ and Stella F. Valle¹

Autor correspondente: Stephanie SN Almeida, Médica Veterinária, Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves 9090, CEP 90540-000, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. Phone: +55 51 3308 8033. E-mail: steps.vetufg@gmail.com

ABSTRACT.- Almeida S. S. N., Duda N. C. B., Almeida B. A., Costa F. V. A., Ortiz L. C., Mutterle A. P., Valle S. F. 2021 **Distúrbios hematopoiéticos em gatos com carga viral e pró-viral do Vírus da Leucemia Felina.** *Pesquisa veterinária Brasileira* 202. Departamento de Patologia Clínica Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil. Departamento de Medicina de Felinos, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil. ⁵ Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil. Av. Bento Gonçalves 9090, CEP 90540-000, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. Phone: +55 51 3308 8033. E-mail: steps.vetufg@gmail.com

Investigate the occurrence of clinical disease in animals with viral and pró-viral loads for FeLV. Describe the most commonly found hematopoietic disorders and report descriptively a series of cases of clinical diseases. Eighteen cats with viral and pro-viral loads for FeLV were selected, measured by real time PCR. Hematological and myelogram parameters were compared between animals with clinical disease (n=6) and sub-clinical (n=12). A correlation was made between the viral and pro-viral load of these animals with the cellularity of the lymphoid, granulocytic, erythroid and megakaryocytic strains. Viral loads did not differ between groups of sick and subclinical animals and a positive correlation was observed between serum viral RNA and the lymphoid cell line, but not in the other lines. The sick animals differed from the subclinics, with lower concentrations of erythrocytes, hematocrit, hemoglobin and platelets; while CMV, erythroid cells and lymphocytes were larger. In the peripheral blood smear there was a higher frequency of erythrocytes with microcytosis and macrocytosis, Heinz corpuscles, and giant neutrophils and platelets. In the myelogram, the general cellularity was increased in the sick animals, in addition to mature myelocytes, lymphocytes and plasmocytes. Only the megakaryocyte count was decreased in these animals. Hematopoietic diseases in patients with FeLV are varied, with neoplastic alterations and myelodysplastic syndrome frequently being observed, which also alter other bone marrow constituents.

INDEX TERMS: Bone marrow, hematology, FeLV.

RESUMO.- [**Distúrbios hematopoiéticos em gatos com carga viral e pró-viral do Vírus da Leucemia Felina**]. O estudo objetivou investigar a ocorrência de doença clínica em animais com carga viral e pró-viral para FeLV e descrever os distúrbios hematopoiéticos mais comumente encontrados e relatar descritivamente uma série de casos de doenças clínicas. Foram selecionados 18 gatos com carga viral e pró-viral para FeLV, mensuradas através de PCR em tempo real. Os parâmetros hematológicos e de mielograma foram comparados entre os animais com doença clínica (n=6) e sub-clínicos (n=12). Foi realizada correlação entre a carga viral e pró viral desses animais com a celularidade das linhagens linfóide, granulocítica, eritroide e megacariocítica. As cargas virais não diferiram entre os grupos de animais doentes e subclínicos e foi observada uma correlação positiva entre o RNA viral do soro e a celularidade da linhagem linfóide, mas não nas outras linhagens. Os animais doentes diferiram dos subclínicos, apresentando menores concentrações de eritrócitos, hematócrito, hemoglobina e plaquetas; enquanto o VCM, células da linhagem eritroide e linfócitos estavam maiores. No esfregaço de sangue periférico havia uma maior frequência de eritrócitos com microcitose e macrocitose, corpúsculos de Heinz, e neutrófilos e plaquetas gigantes. No mielograma, a celularidade geral estava aumentada nos animais doentes, além de mielócitos maduros, linfócitos e plasmócitos. Somente a contagem de megacariócitos estava diminuída nesses animais. Os distúrbios hematopoiéticos em pacientes com FeLV

são variados, frequentemente são observadas alterações neoplásicas e síndrome mielodisplásicas que também alteram outros constituintes da medula óssea.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Hematologia, mielograma, morfologia, SMD, leucemia.

INTRODUÇÃO

O vírus da leucemia felina (FeLV) pertence à família *Retroviridae* e ao gênero *Gammaretrovirus*, infecta gatos domésticos e, esporadicamente, felídeos selvagens (Hartmann 2012). É um dos principais agentes infecciosos de gatos e apresenta ocorrência mundial (Gleich & Hartmann 2009). Foi descrito pela primeira vez em 1964, quando pesquisadores observaram as partículas virais na superfície de linfoblastos malignos de um gato com linfoma (Jarrett et al. 1978).

A infecção pelo FeLV é associada à maior número de síndromes clínicas que qualquer outro agente infeccioso de gatos (Jarret et al. 1964). Os sinais clínicos apresentados pelos animais infectados pelo FeLV podem ser classificados em neoplasias, imunossupressão, doenças hematológicas, doenças imunomediadas, e outras síndromes (incluindo neuropatias, desordens reprodutivas e síndrome “*fading kitten*”), (Hartmann 2012). Ainda que a nomenclatura do vírus esteja relacionada com a doença mieloproliferativa (leucemia), a maior parte dos gatos exibem quadro clínico por alterações decorrentes de anemia e imunossupressão, e não por neoplasias (Cotter 1991). Em um estudo realizado com 104 gatos positivos para FeLV foi observado que estes apresentaram elevado risco para o desenvolvimento de citopenias, com número de hemácias, concentração de hemoglobina, hematócrito, número de plaquetas e neutrófilos diminuídos, quando comparados com os gatos negativos para os retro-viros (Gleich & Hartmann 2009). As citopenias também estiveram presentes em outro estudo realizado com 37 gatos com FeLV, no qual observou-se anemia discretamente regenerativa, trombocitopenia e, dentre as doenças relacionadas, a micoplasmose hemotrópica foi a mais comum (Hagiwara et al. 1997). O presente estudo objetivou apresentar as principais alterações hematológicas e em medula óssea de gatos doentes e subclínicos com cargas virais e pró-virais do FeLV em sangue periférico e medula óssea.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais, locais de estudo e coleta das amostras. Foi realizado um estudo retrospectivo com os dados clínicos laboratoriais de 51 gatos atendidos no Setor de Medicina Felina (*MedFel*) do Hospital de Clínicas Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande Do Sul durante o período de 2016 a 2018, que foram selecionados em um estudo anterior sobre análise laboratorial e molecular para o vírus da Leucemia Felina (FeLV).

Os gatos selecionados para o presente estudo tiveram a investigação das alterações na citologia da medula óssea, alterações hematológicas e *status* da carga viral e pró-viral na medula e no sangue periférico. Foram selecionados dados de 18 animais positivos para p27 (SNAP *Test FIV/FeLV*, *Idexx*) e divididos em dois grupos: (1) doentes que consistiu de 6 animais com síndrome mielodisplásica (SMD) ou leucemia e que apresentavam carga de RNA viral e DNA pró-viral em sangue periférico e medula óssea; (2) subclínicos que foram 12 gatos com carga de RNA viral e DNA pró-viral no sangue periférico e na medula óssea sem sinais clínicos, sem SMD e leucemias. Foram excluídos do estudo, 33 animais que não possuíam carga viral e 23 pró-virais em sangue periférico, medula óssea e alterações laboratoriais dignas de nota. Em todos os gatos, foi notada a ausência de histórico vacinal contra FeLV. Os gatos do estudo foram submetidos a exame clínico, físico e análises clínicas, dentre elas: teste rápido para presença da proteína p27 da FeLV, hemograma, bioquímica clínica, citologia de medula óssea e testes moleculares para avaliação da carga viral e carga pró-viral no sangue e na medula óssea. As análises de sangue e medula óssea foram realizadas no Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias (LACVet) da UFRGS e os testes moleculares no Laboratório de Virologia do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da UFRGS (ICBS-UFRGS). Os animais foram considerados jovens quando apresentavam até seis meses, jovens adultos de seis meses até três anos, adultos de três anos até 12 anos e idosos quando acima de 12 anos.

Avaliação hematológica e testagem antigênica do FeLV. Os hemogramas foram analisados em um contador hematológico automatizado (*ProCyte DX*, Laboratórios *IDEXX*, EUA) seguida da contagem diferencial de leucócitos pelo método manual e avaliação do esfregaço sanguíneo corado com panótico rápido ou *wright*. Todas as contagens diferenciais manuais de leucócitos, de reticulócitos e constatação das alterações morfológicas anormais foram executadas por um único patologista clínico treinado e experiente. Em algumas situações, foi realizada uma coloração citoquímica, com corante *Sudan Black B* para diferenciação de células imaturas mononucleares no esfregaço sanguíneo.

A antigenemia foi atestada utilizando-se um ensaio imunoenzimático rápido para o vírus da Imunodeficiência Felina (FIV) e FeLV (SNAP *Combo Teste*, Laboratórios *IDEXX*, EUA) que identifica simultaneamente o antígeno (proteína p27) da FeLV e anticorpos contra FIV. O remanescente das

amostras hematológicas foi destinado ao laboratório de virologia do ICBS para os testes moleculares.

Coleta, análise da medula óssea e critérios de classificação para SMD e Leucemias. A coleta de medula óssea foi realizada em todos os gatos sob anestesia e analgesia seguindo metodologia anteriormente descrita (Raskin & Messick 2012). O aspirado de medula óssea foi imediatamente colocado na placa de *Petri* para visualização e seleção das espículas ósseas e confecção das lâminas. O remanescente das medulas ósseas foi destinado aos testes moleculares. Todos os esfregaços de medula óssea foram corados com coloração de *Wright-Giemsa* (Raskin & Messick 2012). Sucessivamente, foram analisados sob microscopia óptica em objetiva de 10x para avaliação quanto à celularidade, sob objetiva de 100x (em óleo de imersão) para a análise citológica e as contagens diferenciais em 24 500 ou 1000 células nucleadas. A partir desta análise foi possível observar aspectos como a celularidade geral, porcentagem de gordura, estoques de ferro, megacariócitos, células estromais, células hematopoiéticas e outras, relação mielóide: eritroide (ME), ordem de sequência e maturação e avaliação morfológica das linhagens hematopoiéticas. Ademais, também foram contabilizadas outras células nucleadas, tais como linfócitos, plasmócitos, macrófagos, mastócitos e células anormais. Todas as análises de medula óssea foram comparadas com um hemograma recente (obtido até 24 horas antes da colheita da medula) dos pacientes. Também foram realizadas as colorações citoquímicas com mieloperoxidase ou *Sudan Black* quando necessário para identificação de células de origem indeterminada.

Para a classificação das alterações encontradas levou-se em consideração o consenso estabelecido pelo grupo de estudo em leucemias de cães e gatos (Jain et al. 1991) para classificação em Síndromes Mielodisplásicas (SMD) ou leucemias dos animais relatados. Os critérios foram embasados e adaptados para a medicina veterinária a partir do *French-American-British* (FAB) e *World Health Organization* (WHO), organizações que são referências para definição das SMD e leucemias nos humanos, baseadas principalmente nas alterações morfológicas e número de blastos em medula óssea e sangue periférico 9,10. Definiu-se que >20% de blastos mielóides na medula óssea são sugestivos de Leucemia Mielóide Aguda (LMA), >30% rubriblastos LMA de origem eritroide e >25% de blastos linfóides é sugestivo de Leucemia Linfóide Aguda (LLA). Já as SMD, também conhecidas por fase pré-leucêmica, estabeleceram-se pelo concomitante diagnóstico de citopenia periférica, medula óssea hiperplásica (inefetiva) e blastos <20%.

Análise molecular de carga viral e pró-viral. Todas as amostras destinadas para os testes moleculares tiveram o RNA extraído das amostras de sangue periférico e medula óssea usando o TRIzol (*Invitrogen*) seguindo as orientações do fabricante. O DNA pró-viral, por sua vez, foi obtido das amostras de medula óssea utilizando-se o *PureLink DNA Mini Kit* (*Invitrogen*). A quantificação de DNA foi obtida com o kit de ensaio Qubit dsDNA BR Assay Kit (*Thermo Fisher Scientific*). O RNA e DNA obtidos foram imediatamente armazenados a -80°C e -20°C, respectivamente.

Inicialmente, para o qPCR e RT-PCR, foi alcançada uma curva padrão mediante a construção e diluição de um vetor plasmidial¹¹, isto é, clonagem de *amplicons* de FeLV e transformação em vetor pCR2.1 da TOPO TA Cloning Vector (*Invitrogen*) de acordo com as instruções do fabricante. O *amplicon* foi obtido por PCR convencional^{12,13}. As cargas genômicas de RNA viral e DNA pró-viral foram avaliadas por qPCR. Para a obtenção da carga viral, o RNA extraído do sangue periférico e da medula óssea foi submetido à síntese de cDNA. As reações foram performadas com 10 µL de RNA, 200 µM de dNTPs, 0,2 µM de primers randomizados, 1 U de enzima transcriptase reversa SuperScript (*Invitrogen*) e água q.s.p 20 µL. Os ciclos foram realizados em termocicladora (*Eppendorf MasterCycler Personal*) seguindo as orientações do fabricante.

As cargas virais genômicas foram determinadas por qPCR: 15 µL contendo 3 µL da curva padrão ou 2 µL de cDNA, 1X *Fast EvaGreen* qPCR Master Mix (*Biotium*, EUA), 0,2 µM de cada primer (FeLV_U3-F (2) e FeLV_U3-exo_r), 1X ROX e água até completar o volume final. As reações foram performadas em sistema de PCR em tempo real *StepOneplus* (*Applied Biosystems, Life Technologies*) sob as seguintes condições: desnaturação inicial a 95°C por dois minutos, seguido por 45 ciclos de amplificação (5s a 95°C e 30s a 60°C), e a análise da curva de *melting* estendendo-se de 60°C a 95°C. Todas as reações foram realizadas em triplicata e os resultados transcritos em número médio de cópias/ml. As mensurações de fluorescência foram obtidas durante a fase de alongamento e o valor limiar de *threshold cycle* (Ct) foi calculado pela comparação com a curva padrão.

A carga pró-viral de DNA extraído das amostras de medula óssea (100 ng) foi obtida por meio de qPCR sob condições semelhantes às descritas acima.

Análise Estatística. Dos 18 felinos com carga viral, foi realizada divisão entre um grupo de animais apresentando doença clínica e outro grupo sem alteração clínica (considerados subclínicos). A comparação de variáveis hematológicas e do mielograma foi realizada utilizando o Teste T independente para dados paramétricos e o Teste U de *Mann Whitney* para dados não paramétricos. A comparação da frequência de alterações morfológicas nas células do esfregaço sanguíneo corado também foi comparada

entre grupos. Ainda, foi realizada correlação entre a carga viral da medula óssea (DNA e RNA) e do sangue (RNA) com a celularidade das linhagens granulocítica, eritroide e linfoide. A correlação de *spearman* utilizou o *software* IBM SPSS Statistics (versão 22.0). O nível de significância utilizado como critério de rejeição da hipótese nula foi de 5% ($P < 0.05$).

RESULTADOS

Um total de 18 gatos com carga viral foi incluído no presente estudo, onde seis apresentavam doença clínica, todos com antigenemia para FeLV. A população era composta por 14 fêmeas (77.8%) e quatro machos (22.2%), todos sem uma raça definida (SRD), comumente animais adultos jovens (77.8%, 14/18), mas também apresentando animais jovens (11.1%, 2/18), adultos até e idosos (5.6%, 1/18 cada).

Os distúrbios medulares mais frequentemente observados nos animais doentes foram à síndrome mielodisplásica e neoplasia (3/6, cada). As cargas virais não diferiram entre os grupos de animais doentes e subclínicos (Figura 1) e foi observada uma correlação positiva entre o RNA viral do soro e a celularidade da linhagem linfoide em toda população (Tabela 1).

Os animais doentes apresentaram hemogramas com valores menores de eritrócitos, hematócrito, hemoglobina e plaquetas (Tabela 2); enquanto o VCM, células nucleadas da linhagem eritroide e linfócitos apresentavam valores superiores (Figura 2). As células do esfregaço de sangue periférico de animais doentes apresentavam com maior frequência eritrócitos com microcitose e macrocitose, corpúsculos de *Heinz*, neutrófilos e plaquetas gigantes (Tabela 3).

Na citologia da medula óssea, a celularidade geral estava aumentada nos animais doentes, além de mielócitos maduros, linfócitos e plasmócitos. Somente a contagem de megacariócitos estava diminuída nesses animais (Figura 1). O diagnóstico final para os animais doentes pode ser observado nos casos descritos a seguir. Para os animais subclínicos, os diagnósticos foram hiperplasia (9/12) ou displasia (1/12) de alguma das linhagens hematopoiéticas, ou ainda inconclusivo (2/12), quando nenhuma alteração significativa foi observada. A hiperplasia frequentemente abrangia a linhagem eritroide (6/12), seguida da granulocítica (4/12) e megacariocítica (1/12).

DESCRIÇÃO DE CASOS

Caso 1. Macho, três anos, histórico de debilitação, hiporexia, litofagia e perda de peso progressiva. Adotado da rua e não vacinado, convivia com outros gatos e possuía acesso à rua. Apresentou apatia, hipotermia (36,6 °C), escore corporal e muscular regular, fraqueza muscular, mucosas hipocoradas, desidratação (6%), e linfadenomegalia de poplíteos e submandibulares. Anêmico (PCV: 10%, ref. 24 a 45), o paciente foi submetido à transfusão sanguínea com sangue total. Três dias depois, o hemograma revelou anemia normocítica hipocrômica arregenerativa, anisocitose, microcitose, desvio à esquerda, trombocitopenia, presença de hemácias fantasmas, *basket-cells* e linfócitos atípicos. A celularidade do mielograma estava discretamente reduzida (50%), hipoplasia megacariocítica e eritroide, diseritropoiese, disgranulopoiese, além de presença de infiltrado linfocítico neoplásico com predomínio de linfócitos médios a grandes, com formato de *hand-mirror*, citoplasma moderadamente basofílico, núcleos paracentrais com cromatina densa a fina e nucléolos múltiplos evidentes evidenciando ocasionalmente a presença de anisonucleólise. A interpretação diagnóstica final foi de LLA ou Linfoma

Caso 2. Fêmea, seis anos, atendida devido ao aparecimento de nódulos em face e membros com evolução de dois meses. Adotada da rua, ela possuía acesso à rua e era vacinada com antirrábica. No atendimento apresentou temperamento linfático, início de hipertermia (39,5° C), escore corporal e muscular regular, mucosas normocoradas, taquicardia (160 bpm) com sopro IV, estertores inspiratórios, linfadenomegalia dos submandibulares e nódulos redondos e macios, medindo 1,0 -2,0 cm, dispersos em região subpalpebral, plano nasal, membros e dígitos com citologia sugestiva de histoplasma spp. O hemograma apresentava anemia macrocítica hipocrômica, arregenerativa, trombocitopenia, neutrófilos tóxicos, neutrófilos hipersegmentados, *basket-cells* e alguns linfócitos atípicos. O mielograma exibiu elevada celularidade (95%), hiperplasia eritroide inefetiva diseritropoiese, presença de estoque de ferro, eritrofagia, dismegacariocitopoiese com presença de megacariócitos anões, disgranulopoiese. Além disso, os linfócitos eram atípicos, de tamanho médio com núcleos irregulares e nucléolos múltiplos evidentes. A interpretação diagnóstica final foi de SMD com predominância eritroide e início de neoplasia linfoide.

Caso 3 Fêmea, 11 anos, negativo para FIV e FeLV com histórico clínico indisponível. No hemograma, apresentava anemia macrocítica normocrômica, arregenerativa e com metarrubricitos, hipoproteinemia, com células da linhagem mieloide gigantes e contendo vacuolizações citoplasmáticas, ocasionais linfócitos atípicos, plaquetas grandes e bizarras, esquistócitos, acantócitos e corpúsculos de *Heinz*. O mielograma exibiu celularidade elevada (85%), hiperplasia eritroide inefetiva com diseritropoiese, dismegacariocitopoiese, disgranulopoiese, relação M:E reduzida e presença de estoque de ferro. A interpretação diagnóstica final foi de SMD com predominância eritroide.

Caso 4 Macho, dois anos, atendido com histórico de apatia por 30 dias anteriores, anemia (PCV: 9%, ref. 24 a 45) e presença de blastos no hemograma (2,36 %). O animal apresentava febre intermitente e tratamentos paliativos como antipiréticos e anti-inflamatórios foram utilizados. Adotado da rua, não era vacinado e possuía acesso à rua, além de conviver com outros quatro gatos, dos quais um era positivo para FIV e FeLV. Ao exame físico o animal estava alerta, com mucosas hipocoradas, escore corporal e muscular regular, taquicardia (>200 bpm) e hepatomegalia em ultrassonografia. O hemograma revelou anemia normocítica hipocrômica, arregenerativa, microcitose, trombocitopenia, leucocitose, linfocitose, neutrófilos segmentados gigantes, plaquetas grandes e bizarras, células blásticas de provável origem mieloide, corpúsculos de *Heinz* e plasma discretamente ictérico. O mielograma exibiu elevada celularidade (90%), diminuição da relação M:E, dismegacariocitopoiese, disgranulopoiese, diseritropoiese, além de aumento de blastos de origem mieloide e eritroide no *Sudan Black* (>30%). A interpretação diagnóstica foi de Leucemia Mieloide Aguda subtipo Eritroleucemia (LMA-M6).

Caso 5. Fêmea, quatro anos, atendida com histórico de hiporexia, apatia, vômito espumoso e urina de coloração amarronzada. Adotada da rua, não vacinada, possuía acesso à rua e contato com outros felinos, alguns positivos para FeLV. Ao atendimento apresentava-se assustada, escore corporal de sobrepeso e muscular regular, mucosas hipocoradas, taquicardia (196 bpm), 33 taquipneia (44 mrpm), além de hepatomegalia e esplenomegalia no ultrassom, com citologia característica de eritropoiese extramedular. Ao hemograma exibiu anemia macrocítica hipocrômica, metarrubricitose com discreta reticulocitose e policromasia, trombocitopenia, presença de neutrófilos segmentados e plaquetas gigantes, *basket-cells* e plasma discretamente ictérico. O mielograma apresentou elevada celularidade (90%), dismegacariocitopoiese, disgranulopoiese, diseritropoiese, além de discreta elevação na contagem de blastos. A interpretação diagnóstica final foi de SMD com predominância eritroide.

Caso 6 Fêmea, seis meses, atendida com histórico de adoção recente e dificuldade de movimentação em membro pélvico esquerdo, hipodipsia, constipação, oligúria e vômitos espumosos. A paciente tinha contato com mais outros dois gatos. No atendimento, estava alerta, com escore corporal e muscular regular, taquicardia (200 bpm), paraparesia em membro pélvico, movimentação da cauda ausente e dor em região toraco-lombar. No hemograma, exibiu leucocitose acentuada com predomínio de linfócitos médios e grandes atípicos. O mielograma apresentou celularidade discretamente aumentada (85%) e dismegacariocitopoiese. No entanto, a população predominante eram linfócitos atípicos de tamanho variado com elevada relação núcleo:citoplasma, citoplasma acentuadamente basofílico, raramente microvacuolizado, núcleos arredondados a irregulares, cromatina frouxa e nucléolos evidentes. Além disso, há presença de eritrofagia, hemossiderose, figuras de mitoses típicas e células do estroma. A interpretação diagnóstica final foi de infiltrado linfocítico neoplásico (LLA/Linfoma).

DISCUSSÃO

Todos os animais do presente estudo apresentaram elevadas cargas virais e pró-virais no sangue periférico e na medula óssea. Embora os doentes tivessem sinais clínicos, alterações hematológicas e na medula óssea mais exacerbada, não foram observadas diferenças significativas das cargas virais e pró-virais entre estes gatos e os subclínicos.

Pela característica da metodologia do presente estudo, não foi possível prever o momento e a idade de infecção pelo FeLV em ambos os grupos. O curso clínico e manifestação da doença estão associados a diversos fatores, principalmente àqueles próprios do hospedeiro e às variações genéticas do vírus. O desafio ambiental, pressão seletiva, exposição à quantidade de carga viral e, principalmente, a idade de infecção destes gatos são determinantes para progressão da doença (Willett & Hosie 2013). Os gatos que se infectam quando filhotes estão mais propensos às SMD e leucemias, uma vez que muitos desenvolvem marcada atrofia do timo, resultando em imunossupressão e menor capacidade de deliberar o agente nas primeiras semanas de vida (Hartmann 2020). Além disso, à medida que os felinos se tornam adultos, adquirem certa resistência, independente de vacinação ou contato prévio com o vírus, que é explicada pela diminuição dos receptores celulares necessários para a entrada do FeLV-A nas células-alvo, dificultando o estabelecimento da infecção (Hoover et al. 1991). Dessa forma, os adultos quando infectados, tendem a desenvolver a fase abortiva ou regressiva, apresentam sinais clínicos mais brandos e um período prolongado de aparência “saudável” (Hartmann 2020). No entanto, a relação vírus-hospedeiro é flutuante e a cinética da infecção pode favorecer tanto o hospedeiro quanto o vírus a qualquer momento, permitindo que a infecção regressiva se reative e cause a doença clínica (Helfer-Hungerbuehler 2015). Assim, é possível que os gatos subclínicos estivessem no início da reativação viral e apresentassem apenas alterações discretas restritas à medula óssea.

Na infecção pelo FeLV, a imunossupressão pode ser explicada por linfopenia e neutropenia transitórias que acontecem durante os estágios iniciais de viremia (fase primária) e ao efeito imunossupressivo da proteína p15E durante a infecção crônica (Lafrado et al. 1987). A linfopenia está

dentro das alterações mais encontradas na infecção pela FeLV (Linenberger & Abkowitz 1995; Hartmann 2012; Willett & Hosie 2013; Biezu et al. 2019; Da Costa et al. 2017). Em estudo prévio de infecção experimental de longa duração, foram avaliados os parâmetros hematológicos, bioquímicos e os subconjuntos de linfócitos (CD4+ e CD8+) para descrição da fase assintomática e patogênese da doença durante 6,5 anos. Ao contrário dos estudos anteriores, os animais não desenvolveram leucopenias persistentes, linfopenia ou neutropenia. No entanto, a quantidade de linfócitos CD4+ e em menor grau de CD8+ diminuíram ao longo do tempo da infecção (Hofmann-Lehmann et al. 1997). Contudo, a população linfóide parece variar na infecção pelo FeLV e a quantidade de linfócitos pode se manter inalterada, permanecendo dentro dos valores normais para a espécie (Lacerda et al. 2020). Além disso, há relato de linfocitose em animais infectados pelo FeLV quando comparados a animais negativos e que contesta os achados anteriores de linfopenia (Gleich & Hartmann 2009). Os valores acima da média de linfócitos podem ser explicados pelos diferentes subtipos do vírus, patogenicidade e progressão da doença. Além disso, infecções experimentais diferem àqueles naturais (Gleich & Hartmann 2009). Semelhantemente, os animais doentes e subclínicos compartilharam uma correlação positiva entre a carga viral RNA no sangue e a população linfóide.

A medida que as ferramentas diagnósticas foram evoluindo e as técnicas moleculares se tornaram recorrentes, detectando o RNA viral e o DNA pró-viral, a progressão da doença pôde ser dividida em quatro categorias: progressiva (antigenemia p27, cargas virais e sinais clínicos presentes), regressiva (ausência/transitoriedade de cargas virais e antigenemia, presença de carga pró-viral), abortiva (antigenemia e cargas virais e provirais ausentes, presença de anticorpos) e focal/atípica (antigenemia e cargas virais e provirais intermitentes, resultados discordantes) (Cattori 2008; Hartmann 2012; Hartmann & Hofmann 2020). Nas infecções progressivas é comum o desenvolvimento de anemias (arregenerativas, aplásicas e menos comumente, regenerativas), neutropenias (persistentes, transitórias ou cíclicas), trombocitopenias e pancitopenias (Hartmann 2011). Os gatos doentes deste estudo frequentemente apresentaram valores menores de eritrócitos, hematócrito, hemoglobina e ausência ou discreta reticulocitose, caracterizando um dos quadros de anemia comumente causado pelo vírus da FeLV (Abkowitz et al. 1987; Gleich & Hartmann, 2009). O VCM frequentemente se apresentou maior nos animais sintomáticos sem reticulocitose. Os gatos progressivos FeLV costumam apresentar maiores valores de VCM em virtude das hemácias macrocíticas, decorrentes da mutação nas células progenitoras da medula óssea que, por sua vez, está associada à divisão celular incompleta (Shimoda et al. 2000; Sellon & Hartmann 2006) que caracteriza a eritropoiese inefetiva observada na medula óssea da maioria dos animais doentes. Dentre os mecanismos de desenvolvimento de anemias na FeLV, há também a ocorrência de anemias hemolíticas imunomediadas (AHIM) e inflamação crônica (Mackey et al. 1975). A microcitose observada (2/6) e plasma icterico (1/6) nos doentes poderiam ser explicadas por possível AHIM desenvolvida. No entanto, em consenso recente, o FeLV foi considerado como baixo risco para desenvolvimento de AHIM, sugerindo que haja envolvimento de outros agentes concomitantes, como micoplasmas hemotrópicos (Garden et al. 2019). Os corpúsculos de *Heinz* (2/6) já foram descritos anteriormente em gatos com SMD, embora o mecanismo de formação não tenha sido ainda elucidado (Shimoda et al. 2019). Os corpúsculos de *Heinz* são agregados de hemoglobina oxidada e precipitada na superfície da membrana do eritrócito, sendo frequentemente visualizadas em gatos expostos a estresse oxidativo, toxinas, dietas com derivados de cebola e anestésicos (propofol). Animais com diabetes, hipertireoidismo e linfoma também estão mais predispostos à formação dos corpúsculos (Dondi et al. 2019).

A leucopenia, sendo esta por neutropenia ou linfopenia, não foi observada no presente estudo. Os animais infectados progressivamente pela FeLV geralmente desenvolvem neutropenias, que podem ser cíclicas, transitórias ou permanentes (Hartmann, 2011; Da Costa et al. 2017). Dessa forma, é possível que estivessem em período transitório, visto que alterações displásicas granulocíticas foram observadas em cinco animais doentes, como neutrófilos segmentados e bastonetes gigantes, vacuolização citoplasmática, hipersegmentação e *basket-cells*. Em alguns casos, a hipoplasia mieloide atinge todos os estágios granulocíticos, sugerindo que haja infecção citopática nos precursores dos neutrófilos (Hartmann, 2011).

Outra condição frequentemente encontrada nos animais doentes foi trombocitopenia (5/6) e plaquetas gigantes (2/6). Apenas um gato exibiu agregação plaquetária, inviabilizando a contagem total de plaquetas. As contagens plaquetárias diminuídas são efeitos de uma meia vida mais curta, menor produção, e ações imunossupressivas do vírus na medula óssea, além de infiltrações leucêmicas. As plaquetas abrigam as proteínas virais do FeLV e os megacariócitos são células-alvo durante a infecção progressiva (Gleich & Hartmann, 2009; Hisasue et al. 2009; Hartmann, 2011). Os linfócitos atípicos foram significativamente diferentes entre os grupos doentes e subclínicos. Ainda que, pelo menos 3/6 doentes tivessem infiltrados linfocíticos neoplásicos na medula óssea e sangue periférico, o caso do animal do caso

seis, especificamente, tinha exacerbada leucocitose por linfócitos atípicos ($>420 \times 10^3/\mu\text{L}$), de forma que esse valor numérico tão elevado pode ter influenciado esta diferença estatística.

Animais jovens que não conseguem impedir a segunda viremia causada pela FeLV, estão mais predispostos ao desenvolvimento de SMD e leucemias (Hartmann & Hofmann 2020). Isso acontece devido à capacidade do vírus se tornar parte do genoma do hospedeiro e à inserção do gene próximo ao *-myc*, que resulta na ativação e expressão desse oncogene, levando à proliferação incontrolada de células mutantes (Fujino et al. 2008). O vírus também possui capacidade para incorporar, rearranjar os oncogenes e formar um vírus recombinante, por exemplo, o FeLV-B (Powers et al. 2018). Este último, por sua vez, está ligado à formação de linfomas e leucemias (Jarrett et al. 1978). As SMD são caracterizadas por citopenias periféricas e alterações displásicas na medula óssea, sendo considerado um estágio pré-leucêmico das LMA (Hisasue et al. 2009). Dentre os gatos doentes, todos desenvolveram SMD com predominância eritroide (3/6) ou leucemias (3/6). Um estudo hematológico desenvolvido em 13 gatos com SMD, encontrou (9/13) sendo de predominância eritroide com excesso de blastos e alterações displásicas como diseritropoiese, dismegariocitopoiese e disgranulopoiese (Shimoda et al. 2019) segundo a classificação da FAB (Bennett et al. 1976) e SMD-Er (3/13) de acordo com a classificação proposta pelo grupo de estudo de leucemias em cães e gatos (Jain 1993). Outro estudo de 16 gatos com SMD, exibiu o diagnóstico de SMD com excesso de blastos em 5/16 e 8/16 deles se encaixavam em SMD com anemia refratária e todos apresentaram alterações displásicas em medula óssea como plaquetas e neutrófilos gigantes, micromegacariócitos ou macrocitose com ausência de estoque de ferro (Hisasue et al. 2001). Alguns animais apresentaram ainda aumento nas células estromais, que poderia caracterizar mielofibrose, ocasionalmente encontrada em gatos com SMD relacionadas ao FeLV (Blue 1988). Frequentemente, a maioria dos gatos doentes apresentou duas ou mais alterações displásicas em medula óssea como diseritropoiese, disgranulopoiese e dismegacariocitopoiese.

Os sinais clínicos dos doentes foram variados incluindo perda de peso progressiva, apatia, hiporexia, febre, linfadenomegalia, paraparesia de membros pélvicos e incontinência urinária. Os mais frequentes citados pela literatura incluem anorexia, apatia e linfadenomegalia (Hartmann 2011; Hartmann 2012; Biezus et al. 2019; Cristo 2019). Um doente apresentou nodulações sugestivas de *Histoplasma spp.*, doença fúngica oportunista, corroborando o efeito imunossupressivo do FeLV (Cavalcante et al. 2018). Com relação a idade dos 18 animais incluídos no estudo, o predomínio foi de animais adultos jovens (14/18), com a faixa etária variando entre meio ano até três anos de idade. Os animais infectados por FeLV possuem menor expectativa de vida em decorrência dos distúrbios hematopoiéticos, linfomas e síndromes desenvolvidas pela infecção (Hartmann & Hofmann 2020). Em estudos anteriores, a média de idade variou entre 2,3 anos (Da Costa et al. 2017), 3,2 anos (Biezus et al. 2019) e entre 1 e 5 anos (De Almeida 2012). O sexo predominante foi de fêmeas (14/18) do total e (4/6) nos doentes. Embora não haja predisposição por sexo, o resultado da quantificação das cargas pró-virais de enFeLV e FeLV exógeno demonstrou que há uma correlação inversa entre estes, os quais animais com maior carga de enFeLV apresentam mais defesas às formas exógenas, dessa forma estariam menos propensos ao desenvolvimento de infecção progressiva. Curiosamente, as fêmeas demonstraram menor carga pró-viral de enFeLV e conseqüentemente estavam mais susceptíveis às infecções mais graves (Fujino et al. 2008).

As limitações do estudo envolvem a ausência de investigações que pudessem determinar outras doenças correlacionadas que interferissem nos principais parâmetros hematológicos significantes, a exemplo das infecções por micoplasmas hemotrópicos, que são frequentemente associados às infecções por FeLV (Bergmann et al. 2016) e a falta de técnicas moleculares e imunocitoquímicas que viabilizassem a imunofenotipagem específica das células (Araghi et al. 2014).

CONCLUSÃO

A FeLV ainda é uma doença com alta mortalidade e associada a diversos distúrbios mieloproliferativos (Little et al. 2020). No estado do Rio Grande do Sul, apesar da existência da vacina contra a FeLV, a baixa aderência dos tutores à imunização dos gatos permite que a prevalência da doença permaneça elevada (Meinerz et al. 2010) e continue causando alterações hematológicas como anemias arregenerativas, diseritropoieses, disgranulopoieses, linfomas, SMD e leucemias dos mais variados tipos como observadas no presente estudo. Em muitos dos casos apresentados, os gatos, apesar de reagentes à antigenemia p27, eram aparentemente saudáveis por não apresentarem quaisquer sinais clínicos. No entanto, exibiram alterações displásicas em medula óssea e podem ser candidatos futuros às leucemias e SMD. O diagnóstico precoce e completo das leucemias e SMD nos gatos e cães ainda é difícil (Breuer et al., 1999). A imunofenotipagem por citometria de fluxo é uma ferramenta diagnóstica menos invasiva, mais rápida, precoce e comumente utilizada para caracterização completa das SMD e leucemias humanas (Gorczyca et al. 2011). No entanto, seu custo é elevado e, na maioria das vezes, é restrita às pesquisas acadêmicas. Aliado a isto, há escassos estudos destinados à pesquisa de marcadores espécie-específicos,

sobretudo relacionados à espécie felina para a imunofenotipagem por citometria de fluxo (Araghi et al. 2014). Portanto, com a ausência de tecnologias modernas e acessíveis à população, torna-se fundamental o conhecimento detalhado destes distúrbios em gatos doentes para identificação, intervenção e tratamento mais precoces.

Agradecimentos - À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos durante o período do mestrado acadêmico.

Conflitos De Interesse - Os autores declaram não haver conflitos de interesse no referido estudo.

REFERÊNCIAS

- ABKOWITZ, Janis L.; HOLLY, Richard D.; ADAMSON, John 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.
- ARAGHI, Atefeh et al. Imunofenotipagem por citometria de fluxo de células da medula óssea felina e células progenitoras hematopoiéticas utilizando anticorpos anti-humanos. **Revista de medicina e cirurgia felina**, v. 16, n. 4, pág. 265-274, 2014.
- ARBER, Daniel A. et al. A revisão de 2016 da classificação da Organização Mundial da Saúde de neoplasias mieloides e leucemia aguda. **Sangue, The Journal of the American Society of Hematology**, v. 20, pág. 2391-2405, 2016.
- BENNETT, John M. et al. Proposals for the classification of the acute leukaemias French-American-British (FAB) co-operative group. **British journal of haematology**, v. 33, n. 4, p. 451-458, 1976.
- BERGMANN, Michèle et al. Risk factors of different hemoplasma species infections in cats. **BMC Veterinary Research**, v. 13, n. 1, p. 1-6, 2016.
- BIEZUS, Giovana et al. Distúrbios clínicos e hematológicos em gatos com infecção natural e progressiva pelo vírus da leucemia felina (FeLV). ↑ **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 47, 2019.
- BLUE, J. T. Myelofibrosis in cats with myelodysplastic syndrome and acute myelogenous leukemia. **Veterinary Pathology**, v. 25, n. 2, p. 154-160, 1988.
- CATTORI, Valentino et al. Investigação de PCR em tempo real de cargas provirais e virais de RNA do vírus da leucemia felina em subconjuntos de leucócitos. **Imunologia veterinária e imunopatologia**, v. 123, n. 1-2, pág. 124-128, 2008.
- CAVALCANTE, Liliane TF et al. Clinical and molecular features of feline foamy virus and feline leukemia virus co-infection in naturally-infected cats. **Viruses**, v. 10, n. 12, p. 702, 2018.
- COTTER, Susan M. Manejo de gatos saudáveis positivos para o vírus da leucemia felina. **Jornal da Associação Médica Veterinária Americana**, v. 10, pág. 1470-1473, 1991.
- CRISTO, TG et al. Vírus da leucemia felina associado à leucemia em gatos em Santa Catarina, Brasil. **Revista de patologia comparativa**, v. 170, p. 21/10/2019.
- DA COSTA, Fernanda VA 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, p. 1531-1536, 2017.
- DE ALMEIDA, Nadia R. et al. Prevalência da infecção pelo vírus da leucemia felina em gatos domésticos no Rio de Janeiro. **Revista de Medicina e Cirurgia Felina**, v. 8, pág. 583-586, 2012.
- DONDI, Francesco et al. Heinz body-related interference with leukocyte and erythrocyte variables obtained by an automated hematology analyzer in cats. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 31, n. 5, p. 704-713, 2019.
- FUJINO, Yasuhito; OHNO, Koichi; TSUJIMOTO, Hajime. Patogênese molecular de doenças malignas induzidas pelo vírus da leucemia felina: mutagênese insercional. **Imunologia Veterinária e Imunopatologia**, v. 123, n. 1-2, pág. 138-143, 2008.
- GARDEN, Oliver A. et al. ACVIM consensus statement on the diagnosis of immune-mediated hemolytic anemia in dogs and cats. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 33, n. 2, p. 313-334, 2019.
- GLEICH, S.; HARTMANN, K. Hematology and serum biochemistry of feline immunodeficiency virus-infected and feline leukemia virus-infected cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 23, n. 3, p. 552-558, 2009. doi:10.1111/j.1939-1676.2009.0303.x
- HAGIWARA, Mitika K.; JÚNIOR, Archivaldo Reche; LUCAS, Silvia Regina Ricci. Estudo clínico da infecção de felinos pelo vírus da leucemia felina em São Paulo. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 4, n. 1, 1997.
- HARTMANN, Katrina. Aspectos clínicos dos retrovírus felinos: uma revisão. **Vírus**, v. 4, n. 11, pág. 2684-2710, 2012.

- HARTMANN, Katrina. Aspectos clínicos da imunodeficiência felina e da infecção pelo vírus da leucemia felina. **Imunologia veterinária e imunopatologia**, v. 143, n. 3-4, pág. 190-201, 2011.
- HARTMANN, Katrina; HOFMANN-LEHMANN, Regina. O que há de novo na infecção pelo vírus da leucemia felina. **Clínicas Veterinárias: Clínica de Pequenos Animais**, v. 50, n. 5, pág. 1013-1036, 2020.
- HELPER-HUNGERBUEHLER, A. Katrin et al. Acompanhamento de longo prazo da infecção pelo vírus da leucemia felina e caracterização de cargas virais de RNA utilizando métodos moleculares em tecidos de gatos com diferentes desfechos de infecção. **Pesquisa de vírus**, v. 197, p. 137-150, 2015.
- HISASUE, Masaharu et al. Hematologic abnormalities and outcome of 16 cats with myelodysplastic syndromes. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 15, n. 5, p. 471-477, 2001.
- HISASUE, Masaharu et al. Síndromes mielodisplásicas e leucemia mieloide aguda em gatos infectados com clone33 do vírus da leucemia felina contendo uma repetição terminal longa única. **Revista Internacional de Câncer**, v. 124, n. 5, pág. 1133-1141, 2009.
- HO, Chia-Fang et al. Desenvolvimento de um ensaio de reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa de sistema de mutação refratária de amplificação multiplex para o diagnóstico diferencial da vacina contra o vírus da leucemia felina e cepas selvagens. **Revista de Investigação Diagnóstica Veterinária**, v. 4, pág. 496-506, 2014.
- HOFMANN-LEHMANN, Regina et al. Parâmetros de progressão da doença em infecções experimentais de longo prazo por retrovírus felino (vírus da imunodeficiência felina e vírus da leucemia felina): hematologia, química clínica e subconjuntos de linfócitos. **Imunologia Laboratorial de Diagnóstico Clínico**, v. 1, pág. 33-42, 1997.
- HOOVER, Edward A.; MULLINS, James I. Feline leukemia virus infection and diseases. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 199, n. 10, p. 1287-1297, 1991
- JAIN, Nemi C. Classification of myeloproliferative disorders in cats using criteria proposed by the Animal Leukaemia Study Group: A retrospective study of 181 cases (1969-1992). **Comparative Haematology International**, v. 3, p. 125-134, 1993.
- JAIN, Nemi C. et al. Proposed criteria for classification of acute myeloid leukemia in dogs and cats. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 20, n. 3, p. 63-82, 1991.
- JARRETT, Oswald et al. A frequência de ocorrência de subgrupos do vírus da leucemia felina em gatos. **Revista Internacional de Câncer**, v. 21, n. 3, pág. 334-337, 1978.
- LACERDA, Luciana Carvalho et al. Hematological and biochemical aspects of cats naturally infected with feline immunodeficiency virus and feline leukemia. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v. 42, n. 1, p. e110020-e110020, 2020.
- LAFRADO, Louis J. et al. Supressão da função neutrófilo in vitro pelo vírus da leucemia felina (FeLV) e FeLV-p15E purificado. **Revista de virologia geral**, v. 68, n. 2, pág. 507-513, 1987.
- LINENBERGER, Michael L.; ABKOWITZ, Janis L. 4 Distúrbios hematológicos associados a infecções por retrovírus felinos. **Hematologia clínica de Baillière**, v. 1, pág. 73-112, 1995.
- MACKEY, Lindsay et al. Anemia associated with feline leukemia virus infection in cats. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 54, n. 1, p. 209-217, 1975.
- POWERS, Jordan 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. 10.1128/jvi.00649-18, 2018.
- RASKIN, Rosa E.; MESSICK, Joanne B. Biópsias citológicas e histológicas da medula óssea: indicações, técnica e avaliação. **Clínicas Veterinárias: Clínica de Pequenos Animais**, v. 1, pág. 23-42, 2012.
- ROJKO, Jennifer L.; HARDY JR, William D. Feline leukemia virus and other retroviruses. **The Cat: Diseases and Clinical Management**. New York, NY: Churchill Livingstone, p. 263-432, 1994.
- RUSSELL, David William; SAMBROOK, Joseph. **Molecular cloning: a laboratory manual**. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory, 2001.
- SELLON, Rance K.; HARTMANN, Katrin. Feline immunodeficiency virus infection. **Infectious diseases of the dog and cat**, v. 3, p. 131-42, 2006.
- SHIMODA, Tetsuya et al. Leucemia mielomonocítica crônica em gato. **Revista de Ciências Médicas Veterinárias**, v. 2, pág. 195-197, 2000.
- SHIMODA, Tetsuya et al. Um estudo hematológico em treze gatos com síndrome mielodisplásica. **Revista de Ciências Médicas Veterinárias**, v. 1, pág. 59-64, 2000.
- DONDI, Francesco et al. Interferência relacionada ao corpo de Heinz com variáveis leucocitárias e eritrocitárias obtidas por um analisador hematológico automatizado em gatos. **Revista de Investigação Diagnóstica Veterinária**, v. 5, pág. 704-713, 2019.
- TANDON, Ravi et al. Quantificação das cargas virais e provirais do vírus da leucemia felina pela reação em cadeia da polimerase em tempo real TaqMan®. **Revista de métodos virológicos**, v. 130, n. 1-2, pág. 124-132, 2005.

WILLETT, Brian J.; HOSIE, Margaret J. Vírus da leucemia felina: meio século desde sua descoberta. A *Revista Veterinária*, v. 195, n. 1, pág. 16-23, 2013.

Lista de Figuras

Figura 1: Carga viral e pró-viral de FeLV e parâmetros numéricos obtidos no mielograma comparados de acordo com a presença de doença clínica.

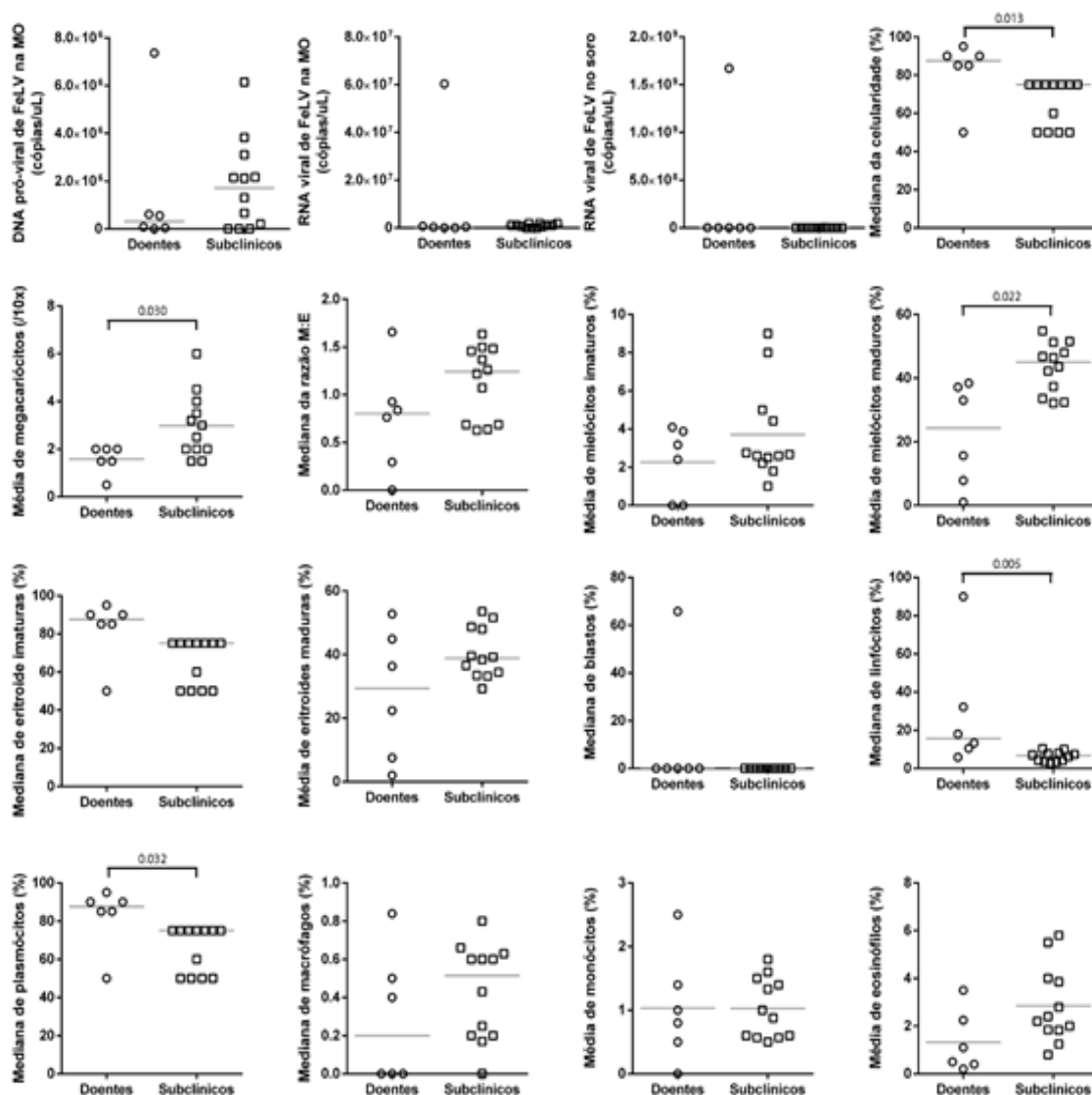
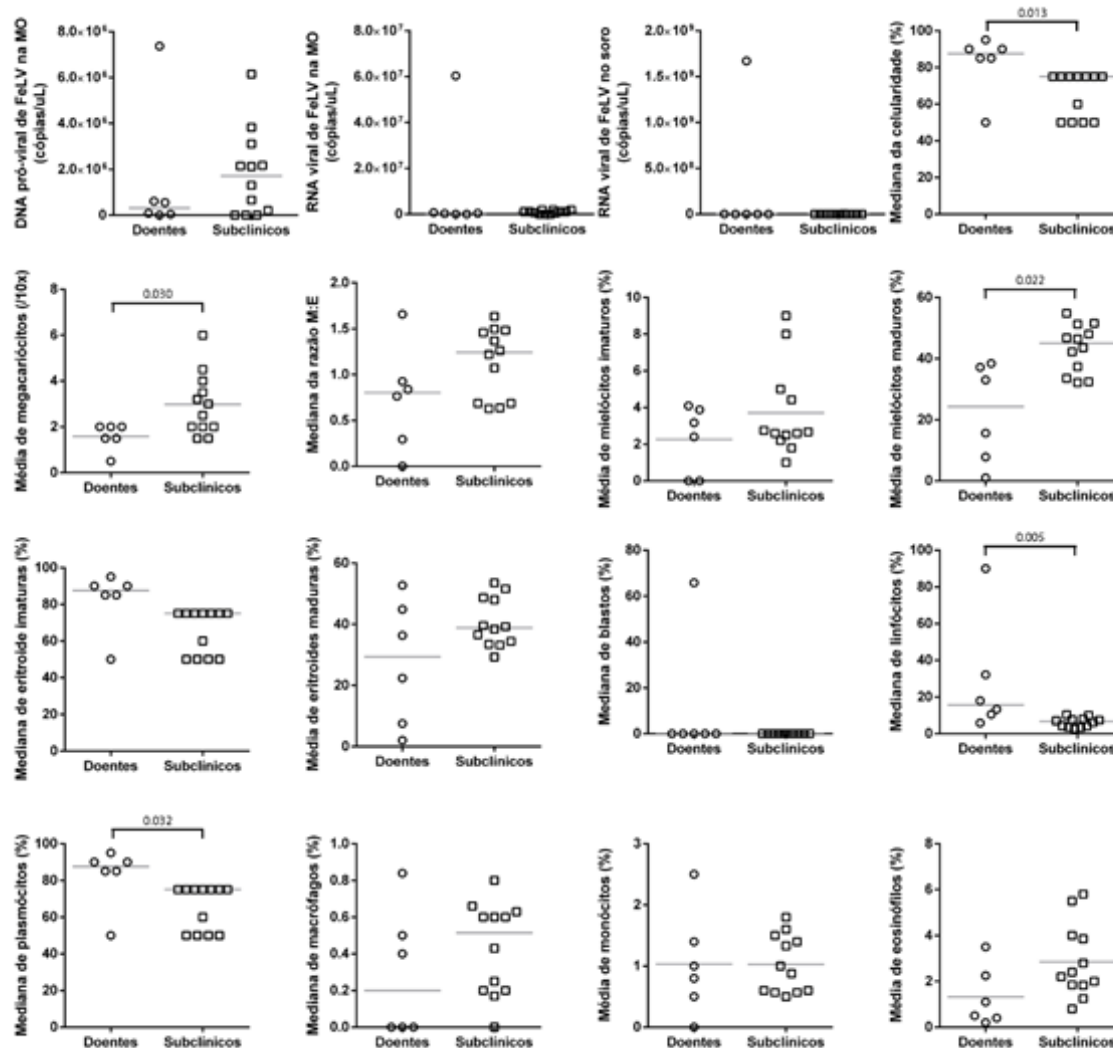


Figura 1: Parâmetros numéricos obtidos no hemograma comparados de acordo com a presença de doença clínica.



Lista de Tabelas

Tabela 1: Correlação de Spearman entre carga viral e a celularidade da linhagem eritroide, granulocítica e linfóide.

Carga Viral	Eritroide		Granulocítica		Linfóide		Megacariocítica	
	P-valor	ρ	P-valor	ρ	P-valor	ρ	P-valor	ρ
DNA MO	0.922	-0.025	-0.873	0.040	0.911	-0.028	0.303	0.257
RNA MO	0.304	-0.257	0.918	-0.026	0.770	0.074	0.644	0.117
RNA soro	0.219	-0.305	0.211	-0.310	0.019	0.545	0.927	0.023

MO, medula óssea.

Tabela 2: Variáveis dos hemogramas dos seis gatos doentes apresentando SMD e Leucemias em decorrência da infecção pelo FeLV.

Parâmetros	Ref.	1	2	3	4	5	6
He (x10 ⁶ /µL)	5 - 10,5	1,9	3,39	1,07	1,96	1,89	6,73
Hb (g/dL)	8 - 15	3	5,8	2,2	3,2	3,6	9,8
HT (%)	24 - 45	10	20	7	11	12	29
VCM (fL)	39 - 55	52,6	58,9	65,42	56,1	63,5	43,1
CHCM (g/dL)	31 - 35	30	29	31,4	29,1	30	33,8
Ret (%)	0 - 0,4 (basal) 0,5 - 2,0 (leve)	0,11	1,1	1,7	0,12	1,99	0
Céls. Lin. Eritr. (/100 leu.)	0 - 5	0	2	61	2	22	1
LT (x10 ³ /µL)	5,0 - 19,5	15,7	15,5	10,1	26,2	7,2	437
Bast. (/µL)	0 - 300	314	0	101	0	0	4370
Neutr. (/µL)	2500 - 12500	8007	11005	7979	6288	3816	4370
Linf. (/µL)	1500 - 7000	6437	4030	1313	15982	3096	423890
Mon. (/µL)	0 - 850	785	155	404	1310	216	0
Eosi. (/µL)	100 - 1500	157	310	0	262	72	4370
Plq (/µL)	300 - 800	88000	197000	*	82000	75000	45000

Ref. (referência), He (eritrócitos), Hb (hemoglobina), HT (hematócrito), VCM (volume corpuscular médio), CHCM (concentração de hemoglobina corpuscular média), Ret (reticulócitos), Céls. Lin. Eritr (células linhagem eritroide), LT (leucócitos totais), Bast (bastonetes), Neutr. (neutrófilos), Linf. (linfócitos), Mon (monócitos), Eosi (eosinófilos), Plq (plaquetas), * Plaquetas agregadas.

Tabela 3. Frequência das alterações morfológicas de acordo com a presença de doença clínica ocasionada pelo FeLV.

Variável		Grupos	
		Doentes Contagem (esperada)	Subclínicos Contagem (esperada)
<i>Basket cells</i>	Ausência	1 ^a (2.3)	6 ^a (4.7)
	Presença	5 ^a (3.7)	6 ^a (7.3)
S. Gumprecht	Ausência	5 ^a (5.7)	12 ^a (11.3)
	Presença	1 ^a (0.3)	0 ^a (0.7)
Anisocitose	Presença	6 ^a (6)	12 ^a (12)
Microcitose	Ausência	4 ^a (5.3)	12 ^b (10.7)
	Presença	2 ^a (0.7)	0 ^b (1.3)
Macrocitose	Ausência	2 ^a (4.7)	12 ^b (9.3)
	Presença	4 ^a (1.3)	0 ^b (2.7)
Linfócitos atípicos	Ausência	2 ^a (4.7)	12 ^b (9.3)
	Presença	4 ^a (1.3)	0 ^b (2.7)
RBC fantasma	Ausência	5 ^a (5.7)	12 ^a (11.3)
	Presença	1 ^a (0.3)	0 ^a (0.7)
Aglutinação RBC	Ausência	6 ^a (6)	12 ^a (12)
Eritrofagia	Ausência	6 ^a (6)	12 ^a (12)
População dupla de RBC	Ausência	5 ^a (5.7)	12 ^a (11.3)
	Presença	1 ^a (0.3)	0 ^a (0.7)
C. Heinz	Ausência	4 ^a (5)	11 ^a (10)
	1+	2 ^a (0.7)	0 ^b (1.3)
	2+	0 ^a (0.3)	1 ^a (0.7)
Linfócitos reativos	Ausência	5 ^a (5.3)	11 ^a (10.7)
	Presença	1 ^a (0.7)	1 ^a (1.3)
Neutrófilos hipersegmentados	Ausência	5 ^a (5.7)	12 ^a (11.3)
	Presença	1 ^a (0.3)	0 ^a (0.7)
Neutrófilos tóxicos	Ausência	4 ^a (4.7)	10 ^a (9.3)
	1+	1 ^a (1)	2 ^a (2)
	2+	1 ^a (0.3)	0 ^a (0.7)
Neutrófilos gigantes	Ausência	4 ^a (5.3)	12 ^b (10.7)
	Presença	2 ^a (0.7)	0 ^b (1.3)
Plaquetas gigantes	Ausência	4 ^a (5.3)	12 ^b (10.7)
	Presença	2 ^a (0.7)	0 ^b (1.3)
Acantócitos	Ausência	5 ^a (5.7)	12 ^a (11.3)
	Presença	1 ^a (1.3)	0 ^a (0.3)
Esquistócitos	Ausência	5 ^a (5.7)	12 ^a (11.3)
	Presença	1 ^a (0.3)	0 ^a (0.7)

Letras superescritas diferentes identificam subgrupos que a proporção variou entre as colunas.

6 CONCLUSÃO

A FeLV ainda é uma doença com alta mortalidade e associada a diversos distúrbios mieloproliferativos. No estado do Rio Grande do Sul, apesar da existência da vacina contra a FeLV, a baixa aderência dos tutores à imunização dos gatos permite que a prevalência da doença permaneça elevada e continue causando alterações hematológicas como anemias arregenerativas, diseritropoieses, disgranulopoieses, linfomas, SMD e leucemias dos mais variados tipos como observadas no presente estudo. Em muitos dos casos apresentados, os gatos, apesar de reagentes à antigenemia p27, eram aparentemente saudáveis por não apresentarem quaisquer sinais clínicos. No entanto, exibiram alterações displásicas em medula óssea e podem ser candidatos futuros às leucemias e SMD. O diagnóstico precoce e completo das leucemias e SMD nos gatos e cães ainda é difícil. A imunofenotipagem por citometria de fluxo é uma ferramenta diagnóstica menos invasiva, mais rápida, precoce e comumente utilizada para caracterização completa das SMD e leucemias humanas. No entanto, seu custo é elevado e, na maioria das vezes, é restrita às pesquisas acadêmicas. Aliado a isto, há escassos estudos destinados à pesquisa de marcadores espécie-específicos, sobretudo relacionados à espécie felina para a imunofenotipagem por citometria de fluxo. Portanto, com a ausência de tecnologias modernas e acessíveis à população, torna-se fundamental o conhecimento detalhado destes distúrbios em gatos doentes para identificação, intervenção e tratamento mais precoces.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABKOWITZ, Janis L.; HOLLY, Richard D.; ADAMSON, John 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.

ARAGHI, Atefeh et al. Flow cytometric immunophenotyping of feline bone marrow cells and haematopoietic progenitor cells using anti-human antibodies. **Journal of feline medicine and surgery**, v. 16, n. 4, p. 265-274, 2014.

ARBER, Daniel A. et al. A revisão de 2016 da classificação da Organização Mundial da Saúde de neoplasias mieloides e leucemia aguda. **Sangue, The Journal of the American Society of Hematology**, v. 20, pág. 2391-2405, 2016.

BARBOSA, Fernando Cristino; DE TULLIO CHRISTIANINE, Maria Paula; WALDEMARIN, Katia Cristina Andrade. Prevalência de leucemia felina em gatos domésticos de Uberlândia-MG. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 5, n. 2, 2002.

BENNETT, John M. et al. Propostas para a classificação das leucemias agudas do grupo cooperativo franco-americano-britânico (FAB). **Jornal Britânico de Hematologia**, v. 4, pág. 451-458, 1976.

BERGMANN, Michèle et al. Risk factors of different hemoplasma species infections in cats. **BMC Veterinary Research**, v. 13, n. 1, p. 1-6, 2016.

BIEZUS, Giovana et al. Clinical and haematological disorders in cats with natural and progressive infection by feline leukemia virus (FeLV). **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 47, 2019.

BLUE, JT Mielofibrose em gatos com síndrome mielodisplásica e leucemia mielóide aguda. **Patologia Veterinária**, v. 25, n. 2, pág. 154-160, 1988.

BREUER, W.; HERMANNNS, W.; THIELE, J. Síndrome mielodisplásica (SMD), leucemia mieloide aguda (LMA) e doença mieloproliferativa crônica (CMPD) em gatos. **Revista de patologia comparada**, v. 121, n. 3, pág. 203-216, 1999.

CATTORI, Valentino et al. Investigação de PCR em tempo real de cargas provirais e virais de RNA do vírus da leucemia felina em subconjuntos de leucócitos. **Imunologia veterinária e imunopatologia**, v. 123, n. 1-2, pág. 124-128, 2008.

CAVALCANTE, Liliane TF et al. Características clínicas e moleculares da coinfeção pelo vírus espumoso felino e pelo vírus da leucemia felina em gatos naturalmente infectados. **Vírus**, v. 10, n. 12, pág. 702, 2018.

CHHETRI, Bimal K. et al. Comparison of risk factors for seropositivity to feline immunodeficiency virus and feline leukemia virus among cats: a case-case study. **BMC veterinary research**, v. 11, p. 1-7, 2015.

CHIU, Elliott S.; HOOVER, Edward A.; VANDEWOUDE, Sue. A retrospective examination of feline leukemia subgroup characterization: viral interference assays to deep sequencing. **Viruses**, v. 10, n. 1, p. 29, 2018.

COELHO, Fabiana Magalhães et al. Infecções naturais dos subgrupos A e B do vírus da leucemia felina em gatos domésticos urbanos. **Revista de Virologia Geral**, v. 11, pág. 2799-2805, 2008.

COELHO, FM et al. Ocorrência do vírus da leucemia felina em *Felis catus* em Belo Horizonte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, p. 778-783, 2011.

COTTER, Susan M. Manejo de gatos saudáveis positivos para o vírus da leucemia felina. **Jornal da Associação Médica Veterinária Americana**, v. 10, pág. 1470-1473, 1991.

CRAWFORD, Cynda. Progressos no diagnóstico de infecções retrovirais. **Medicina interna de felinos**, 2011.

DA COSTA, Fernanda VA et al. Achados hematológicos e fatores associados à positividade para vírus da leucemia felina (FeLV) e vírus da imunodeficiência felina (FIV) em gatos do Sul do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, p. 1531-1536, 2017.

DE ALMEIDA, Nadia R. et al. Prevalence of feline leukemia virus infection in domestic cats in Rio de Janeiro. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 14, n. 8, p. 583-586, 2012.

DONDI, Francesco et al. Interferência relacionada ao corpo de Heinz com variáveis leucocitárias e eritrocitárias obtidas por um analisador hematológico automatizado em gatos. **Revista de Investigação Diagnóstica Veterinária**, v. 5, pág. 704-713, 2019.

FUJINO, Yasuhito; OHNO, Koichi; TSUJIMOTO, Hajime. Patogênese molecular de doenças malignas induzidas pelo vírus da leucemia felina: mutagênese insercional. **Imunologia Veterinária e Imunopatologia**, v. 123, n. 1-2, pág. 138-143, 2008.

GARDEN, Oliver A. et al. ACVIM consensus statement on the diagnosis of immune-mediated hemolytic anemia in dogs and cats. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 33, n. 2, p. 313-334, 2019.

GLEICH, S.; HARTMANN, K. Hematologia e bioquímica sérica de gatos infectados pelo vírus da imunodeficiência felina e infectados pelo vírus da leucemia felina. **Revista de Medicina Interna Veterinária**, v. 3, pág. 552-558, 2009.

GORCZYCA, Wojciech et al. Padrão imunofenotípico de populações mieloides por análise de citometria de fluxo. **Métodos em biologia celular** , v. 103, p. 221-266, 2011.

HAGIWARA, Mitika K.; JÚNIOR, Archivaldo Reche; LUCAS, Silvia Regina Ricci. Estudo clínico da infecção de felinos pelo vírus da leucemia felina em São Paulo. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 4, n. 1, 1997.

HARTMANN, Katrina. Aspectos clínicos da imunodeficiência felina e da infecção pelo vírus da leucemia felina. **Imunologia veterinária e imunopatologia** , v. 143, n. 3-4, pág. 190-201, 2011.

HARTMANN, Katrina. Aspectos clínicos dos retrovírus felinos: uma revisão. **Vírus** , v. 4, n. 11, pág. 2684-2710, 2012.

HARTMANN, Katrina; HOFMANN-LEHMANN, Regina. O que há de novo na infecção pelo vírus da leucemia felina. **Clínicas Veterinárias: Clínica de Pequenos Animais** , v. 50, n. 5, pág. 1013-1036, 2020.

HELPER-HUNGERBUEHLER, A. Katrin et al. Acompanhamento de longo prazo da infecção pelo vírus da leucemia felina e caracterização de cargas virais de RNA utilizando métodos moleculares em tecidos de gatos com diferentes desfechos de infecção. **Pesquisa de vírus** , v. 197, p. 137-150, 2015.

HELPER-HUNGERBUEHLER, A. Katrin et al. Quantificação e caracterização molecular do receptor A do vírus da leucemia felina. **Infecção, Genética e Evolução** , v. 11, n. 8, pág. 1940-1950, 2011.

HISASUE, Masaharu et al. Análise de clonalidade de vários distúrbios hematopoiéticos em gatos naturalmente infectados pelo vírus da leucemia felina. **Revista de Ciências Médicas Veterinárias** , v. 10, pág. 1059-1065, 2000.

HISASUE, Masaharu et al. Hematologic abnormalities and outcome of 16 cats with myelodysplastic syndromes. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 15, n. 5, p. 471-477, 2001.

HISASUE, Masaharu et al. Myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia in cats infected with feline leukemia virus clone33 containing a unique long terminal repeat. **International Journal of Cancer**, v. 124, n. 5, p. 1133-1141, 2009.

HO, Chia-Fang et al. Development of a multiplex amplification refractory mutation system reverse transcription polymerase chain reaction assay for the differential diagnosis of Feline leukemia virus vaccine and wild strains. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 26, n. 4, p. 496-506, 2014.

HOFMANN-LEHMANN, Regina; HARTMANN, Katrin. Feline leukaemia virus infection: A practical approach to diagnosis. **Journal of feline medicine and surgery**, v. 22, n. 9, p. 831-846, 2020.

HOFMANN-LEHMANN, Regina et al. Parameters of disease progression in long-term experimental feline retrovirus (feline immunodeficiency virus and feline leukemia virus) infections: hematology, clinical chemistry, and lymphocyte subsets. **Clinical Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 4, n. 1, p. 33-42, 1997.

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

JACKSON, Marion L. et al. Detecção do vírus da leucemia felina por ELISA e PCR no sangue periférico de 68 gatos com suspeita alta, moderada ou baixa de doença relacionada ao FeLV. **Revista de Investigação Diagnóstica Veterinária**, v. 1, pág. 25-30, 1996.

JAIN, Nemi C. Classification of myeloproliferative disorders in cats using criteria proposed by the Animal Leukaemia Study Group: A retrospective study of 181 cases (1969–1992). **Comparative Haematology International**, v. 3, p. 125-134, 1993.

JAIN, Nemi C. et al. Proposed criteria for classification of acute myeloid leukemia in dogs and cats. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 20, n. 3, p. 63-82, 1991.

JARRETT, Oswald et al. A frequência de ocorrência de subgrupos do vírus da leucemia felina em gatos. **Revista Internacional de Câncer**, v. 21, n. 3, pág. 334-337, 1978.

LACERDA, Luciana Carvalho et al. Hematological and biochemical aspects of cats naturally infected with feline immunodeficiency virus and feline leukemia. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v. 42, n. 1, p. e110020-e110020, 2020.

LAFRADO, Louis J. et al. Suppression of in vitro neutrophil function by feline leukaemia virus (FeLV) and purified FeLV-p15E. **Journal of general virology**, v. 68, n. 2, p. 507-513, 1987.

LEVY, Laura S. Avanços na compreensão dos determinantes moleculares na patologia do FeLV. **Imunologia veterinária e imunopatologia**, v. 123, n. 1-2, pág. 14-22, 2008.

LINENBERGER, Michael L.; ABKOWITZ, Janis L. 4 Distúrbios hematológicos associados a infecções por retrovírus felinos. **Hematologia clínica de Baillière**, v. 1, pág. 73-112, 1995.

LITTLE, Susan et al. Diretrizes de gerenciamento e teste de retrovírus felino da AAFP 2020. **Revista de Medicina e Cirurgia Felina**, v. 1, pág. 30/05/2020.

LUTZ, Hans et al. Leucemia felina. Diretrizes ABCD sobre prevenção e manejo. **Journal of Feline Medicine & Surgery**, v. 7, pág. 565-574, 2009.

MACKEY, Lindsay et al. Anemia associated with feline leukemia virus infection in cats. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 54, n. 1, p. 209-217, 1975.

MEINERZ, Ana Raquel Mano et al. FREQUÊNCIA DO VÍRUS DA LEUCEMIA FELINA (VLF_e) EM FELINOS DOMÉSTICOS (*Felis catus*) SEMIDOMICHTADOS NOS MUNICÍPIOS DE PELOTAS E RIO GRANDE. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 1, 2010.

MESA-SANCHEZ, I. et al. Patógenos transmissíveis por transfusão são prevalentes em gatos saudáveis elegíveis para se tornarem doadores de sangue. **Revista de Prática de Pequenos Animais**, v. 2, pág. 107-113, 2021

MIYAKE, Ariko et al. Novo grupo de interferência do vírus da leucemia felina baseado no gene env. **Revista de virologia**, v. 90, n. 9, pág. 4832-4837, 2016.

MORRISON, Jo Ann. Erythremic myelosis. **Compendium on continuing education for the practising veterinarian-north american edition-**, v. 23, n. 10, p. 880-887, 2001.

NESINA, Stefanie et al. DNA retroviral – o vencedor silencioso: a transfusão de sangue contendo provírus latente da leucemia felina causa infecção e doença em gatos receptores virgens de tratamento. **Retrovirologia**, v. 12, p. 1-18, 2015.

POWERS, Jordan A. et al. Resultados da doença pelo vírus da leucemia felina (FeLV) em uma colônia de criação de gatos domésticos: Relação com FeLV endógeno e outras infecções virais crônicas. **Revista de virologia**, v. 92, n. 18, pág. 10.1128/jvi. 00649-18, 2018.

RASKIN, Rosa E.; MESSICK, Joanne B. Biópsias citológicas e histológicas da medula óssea: indicações, técnica e avaliação. **Clínicas Veterinárias: Clínica de Pequenos Animais**, v. 1, pág. 23-42, 2012.

ROJKO, Jennifer L.; HARDY JR, William D. Feline leukemia virus and other retroviruses. **The Cat: Diseases and Clinical Management**. New York, NY: **Churchill Livingstone**, p. 263-432, 1994.

RUSSELL, David William; SAMBROOK, Joseph. **Molecular cloning: a laboratory manual**. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory, 2001.

SHIMODA, Tetsuya et al. A hematological study on thirteen cats with myelodysplastic syndrome. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 62, n. 1, p. 59-64, 2000.

SHIMODA, Tetsuya et al. Chronic myelomonocytic leukemia in a cat. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 62, n. 2, p. 195-197, 2000.

SILVA, Flávio Roberto Chaves da. Prevalência das infecções pelo vírus da leucemia viral felina e da imunodeficiência viral felina na cidade de Porto Alegre. 2007.

SOBRINHO, Ludmila Silva Vicente et al. Sorofrequência de infecção pelo vírus da imunodeficiência felina e vírus da leucemia felina em gatos do município de Araçatuba, São Paulo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 48, n. 5, p. 378-383, 2011.

STEWART, H. et al. Os vírus endógenos da leucemia felina são realmente endógenos?. **Imunologia veterinária e imunopatologia** , v. 143, n. 3-4, pág. 325-331, 2011.

STÜTZER, B. et al. Papel da infecção latente pelo vírus da leucemia felina nas citopenias não regenerativas de gatos. **Revista de medicina interna veterinária** , v. 24, n. 1, pág. 192-197, 2010.

STÜTZER, Bianca et al. Incidência de viremia persistente e infecção latente pelo vírus da leucemia felina em gatos com linfoma. **Revista de medicina e cirurgia felina** , v. 13, n. 2, pág. 81-87, 2011.

TANDON, Ravi et al. Associação entre cargas endógenas do vírus da leucemia felina e infecção exógena pelo vírus da leucemia felina em gatos domésticos. **Pesquisa de vírus** , v. 135, n. 1, pág. 136-143, 2008.

TANDON, Ravi et al. Quantificação de sequências endógenas e exógenas do vírus da leucemia felina por ensaios de PCR em tempo real. **Imunologia veterinária e imunopatologia** , v. 123, n. 1-2, pág. 129-133, 2008.

WEEDEN, Amy L. et al. Suspected myelodysplastic/myeloproliferative neoplasm in a feline leukemia virus-negative cat. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 45, n. 4, p. 584-593, 2016.

WESTMAN, M. E.; MALIK, Richard; 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.

WILLETT, Brian J.; HOSIE, Margaret J. Vírus da leucemia felina: meio século desde sua descoberta. **A Revista Veterinária** , v. 195, n. 1, pág. 16-23, 2013.