

USO DA IMUNOFENOTIPAGEM NA CARACTERIZAÇÃO DA SÍNDROME DA IMUNODEFICIÊNCIA ADQUIRIDA EM GATOS INFECTADOS PELO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA FELINA

FÁBIO DA SILVA E SILVA¹; DÉBORA SCOPEL E SILVA¹; ANTONIO SERGIO VARELA JUNIOR²; MARCELO DE LIMA³; SILVIA DE OLIVEIRA HÜBNER³

¹ Doutorandos do Programa de Pós-Graduação em Veterinária – PPGV/UFPel –

silvamedvet@hotmail.com / scopeldebora@yahoo.com.br

² Professor do Instituto de Ciências Biológicas da FURG

³ Professores do Departamento de Veterinária Preventiva da Faculdade de Veterinária da UFPel – sohubner@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

O vírus da imunodeficiência felina (FIV) pertence à família *Retroviridae*, gênero *Lentivirus* e apresenta estrutura molecular e patogenia similar ao vírus da imunodeficiência humana (HIV), entretanto, somente os felinos domésticos e selvagens são suscetíveis (HOSIE et al., 2009) e, assim como ocorre em humanos infectados pelo HIV, a infecção pelo FIV pode determinar síndrome de imunodeficiência adquirida (AIDS) em gatos (HARTMANN, 2012).

A infecção pelo HIV em indivíduos que não fazem adesão ao tratamento antirretroviral apresenta caráter progressivo, com estágios clínicos característicos que são: fase aguda, fase de portador assintomática, fase de linfadenomegalia generalizada e AIDS. Entretanto em gatos naturalmente infectados pelo FIV o estadiamento do paciente nem sempre é possível, pois o curso clínico não apresenta-se distinto, como ocorre na infecção pelo HIV (LICM et al., 2013).

Em geral os gatos podem manifestar gengivite, emaciação, linfadenomegalia, insuficiência renal crônica, déficits neurológicos, diarreia crônica e infecções bacterianas (ZANUTTO et al., 2011), além de alterações hematológicas como anemia, leucopenia e linfopenia (ARJONA et al., 2000).

O FIV se replica em linfócitos T auxiliares (CD4⁺), linfócitos T citotóxicos (CD8⁺), linfócitos B, monócitos e macrófagos. Sendo assim a avaliação da função imune em animais infectados pelo FIV pode ser obtida pela mensuração da relação entre linfócitos T CD4⁺ e linfócitos T CD8⁺, através de imunofenotipagem. Para determinação desta relação, células provenientes de amostra sanguínea são submetidas à marcação com anticorpos monoclonais específicos conjugados a fluoróforos, e logo após são quantificadas por citometria de fluxo (DOMÉNECH et al., 2010).

Considerando que o quadro de imunodeficiência nem sempre é evidente ao exame clínico em gatos infectados pelo FIV, a imunofenotipagem apresenta-se como exame complementar essencial na caracterização da AIDS felina. O presente trabalho tem o objetivo de relatar a análise do quociente CD4⁺/CD8⁺ em casos de síndrome da imunodeficiência adquirida em gatos infectados por FIV.

2. METODOLOGIA

Foram atendidos no Hospital de Clínicas Veterinária da Universidade Federal de Pelotas em maio de 2015, dois felinos domésticos, fêmeas, com idade superior a 10 anos e sem raça definida, com histórico de gengivite-estomatite crônica (Figura 1), sendo os mesmos submetidos ao teste de imunocromatografia (FIV Ab/ FeLV Ag- Bioeasy) para detecção de anticorpos anti-FIV, de acordo com as recomendações do kit diagnóstico.



Figura 1 – Gato FIV positivo acometido por gengivite estomatite-crônica, apresentando hiperemia e hiperplasia gengival (foto pertencente ao acervo do autor).

Para mensuração do quociente $CD4^+ / CD8^+$ realizou-se o teste de imunofenotipagem pela técnica de citometria de fluxo (Figura 2). Para execução das análises foram colhidas amostras de 1 mL de sangue total por punção venosa, e acondicionadas em frascos estéreis contendo anticoagulante EDTA. O processamento da amostra foi realizado a partir de 50 μ L de sangue total acrescido de 5 μ L de anticorpo monoclonal anti- $CD4^+$ -FITC e anti- $CD8^+$ -PE (AbD Serotec). Após 15 minutos de incubação no escuro em temperatura ambiente, acrescentou-se à amostra 450 μ L de solução de lise (Facslysing Solution- Becton and Dickinson) e realizou-se homogeneização em vórtex e incubação por mais 15 minutos. Em seguida foi realizada leitura no citômetro de fluxo (Attune- Life Technologies) com as subpopulações de linfócitos T $CD4^+$ e $CD8^+$ sendo apresentadas em valores relativos.

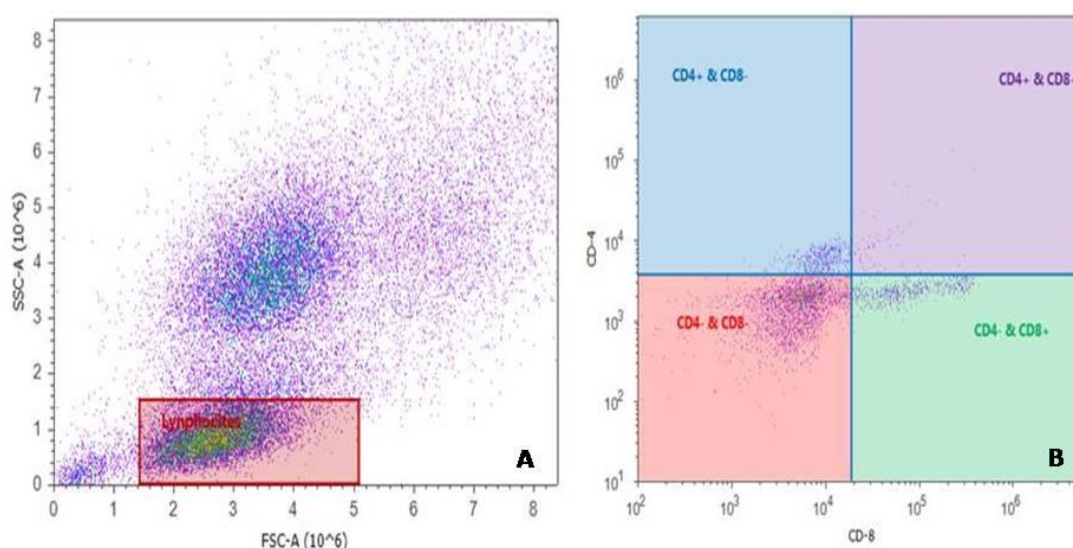


Figura 2 – Imunofenotipagem por citometria de fluxo. (A) Citograma com todas as células da linhagem branca. População de linfócitos selecionada pelo “gate” (área demarcada em vermelho). (B) Análise isolada da população de linfócitos T $CD4^+$ e $CD8^+$ (ilustrações gráficas pertencentes ao arquivo do autor).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ambos os animais avaliados apresentavam-se com gengivite-estomatite de curso crônico e com sinais clínicos severos, que consistiam em presença de hiperemia, ulceração e hiperplasia gengival, além de ptialismo, halitose e disfagia. A etiologia da gengivite-estomatite é desconhecida, acredita-se que seja multifatorial com um componente imunomediado, possivelmente representando uma hipersensibilidade aos antígenos bacterianos orais, contudo é improvável que a infecção bacteriana seja a causa primária, pois a antibioticoterapia não elimina a doença (CRYSTAL et al., 2009). Segundo HARTMANN (2012) a gengivite-estomatite é uma enfermidade comum em gatos acometidos por retrovírus e manifesta-se em aproximadamente 50% dos felinos infectados pelo FIV, sendo assim os gatos do presente relato foram submetidos ao teste imunocromatográfico, para detecção de anticorpos anti-FIV, e apresentaram-se positivos.

Considerando que a gengivite-estomatite seja uma doença multifatorial, se faz necessário o estadiamento da função imune em gatos FIV positivos que manifestam gengivite-estomatite, para que se possa estabelecer uma relação entre os sinais clínicos apresentados e a infecção retroviral. Para avaliação da função imune e caracterização de AIDS em gatos com FIV realiza-se o teste de imunofenotipagem para estabelecimento do quociente $CD4^+ / CD8^+$, pois o FIV se replica preferencialmente em linfócitos T $CD4^+$ e determina diminuição do valor dessas células na circulação sanguínea. O decréscimo de linfócitos T $CD4^+$ está associado ao desenvolvimento de infecções oportunistas e, em geral, um quociente $CD4^+ / CD8^+ < 1$ é indicativo de disfunção imune grave (DOMÉNECH et al., 2010). Os gatos do presente estudo apresentaram quocientes compatíveis com disfunção imune, pois um apresentou quociente $CD4^+ / CD8^+ = 0,6$ e o outro $CD4^+ / CD8^+ = 0,7$. Dessa maneira os gatos foram caracterizados como portadores de AIDS.

Assim como os gatos do presente relato, que apresentavam faixa etária geriátrica, a maioria dos felinos FIV positivos que manifestam sinais clínicos tem idade superior a 10 anos (SILVA et al., 2014), pois o período assintomático na infecção é em geral prolongado. Além disso, alguns animais apresentam-se em latência clínica permanente (DOMÉNECH et al., 2010).

4. CONCLUSÕES

Embora a imunofenotipagem ainda não seja uma análise clínica de rotina na medicina felina, constitui-se em um exame fundamental na caracterização da síndrome de imunodeficiência adquirida em pacientes portadores de FIV para monitoramento terapêutico e determinação prognóstica.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARJONA, A.; ESCOLAR, E.; SOTO, I. et al. Seroepidemiological survey of infection by feline leukemia virus and immunodeficiency virus in Madrid and correlation with some clinical aspects. **J. Clin. Microbiol.**, p. 3448-3449, 2000.

CRYSTAL, M.A. Gengivite/ estomatite/ faringite. In: NORSWORTHY, G.D.; CRYSTAL, M.A.; GRACE, S.F.; TILLEY, L.P. **O paciente feline - 3ª ed.** São Paulo: Editora Roca, 2009, cap. 51, p. 117-118.

DOMÉNECH, A.; GÓMEZ, N.; GISBERT, M.A.; GÓMEZ-LUCÍA, E. Virus de imunodeficiência felina. In: GÓMEZ, N. & GUIDA, N. **Enfermedades infecciosas de los caninos y felinos**. Buenos Aires: Editorial Inter-Médica, 2010, cap. 44, p. 353-366.

HARTMANN, K. Clinical aspects of feline retroviruses: a review. **Viruses**. v. 4, n. 11, p. 2684-2710, 2012.

HOSIE, M.J.; ADDIE, D.; BELÁK, S.; BOUCRAUT-BARALON, C.; EGBERINK, H.; FRYMUS et al. Feline immunodeficiency : ABCD guidelines on prevention and management. **J. Feline Med. Surg.**, v. 11, p. 575-584, 2009.

LICM, B.P.; DHAND, N.K.; PEPPER, A.E. et al. Clinical findings and survival in cats naturally infected whit feline immunodeficiency vírus. **J. Vet. Intern. Med.** v. 27, p. 798-805, 2013.

SILVA, F.S.; CASTRO, C.C.; FINGER, P.F. et al. Ocorrência do subtipo B do vírus da imunodeficiência felina em gatos domésticos da região sul do estado do Rio Grande do Sul. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 66, n. 1, p. 1-6, 2014.

ZANUTTO, M.S.; FROES, T.R.; TEIXEIRA, A.L.; HAGIWARA, M.K. Características clínicas da fase aguda da infecção experimental de felinos pelo vírus da imunodeficiência felina. **Pesq. Vet. Bras.**, v.31, n.3, p.255-260, 2011.