

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
CURSO DE ESPECIALIZAÇÃO EM CLÍNICA MÉDICA DE FELINOS
DOMÉSTICOS**

**CALICIVIROSE SISTÊMICA: UMA ENFERMIDADE EMERGENTE DO
CALICIVÍRUS FELINO**

Autora: Alice Silveira Becker

PORTO ALEGRE

2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
CURSO DE ESPECIALIZAÇÃO EM CLÍNICA MÉDICA DE FELINOS
DOMÉSTICOS

CALICIVIROSE SISTÊMICA: UMA ENFERMIDADE EMERGENTE DO
CALICIVÍRUS FELINO

Autora: Alice Silveira Becker

Monografia apresentada à Faculdade de Veterinária como requisito parcial para obtenção do grau de Especialista em Clínica Médica de Felinos Domésticos.

Orientadora: Fernanda Vieira Amorim da Costa

Coorientadora: Silvia de Oliveira Hübner

PORTO ALEGRE

2019

CIP - Catalogação na Publicação

Becker, Alice Silveira
Calicivirose Sistêmica: uma enfermidade emergente
do calicivírus felino / Alice Silveira Becker. --
2019.
21 f.
Orientadora: Fernanda Vieira Amorim da Costa.

Coorientadora: Silvia de Oliveira Hübner.

Trabalho de conclusão de curso (Especialização) --
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade
de Veterinária, Curso de especialização em Clínica
Médica de Felinos Domésticos, Porto Alegre, BR-RS,
2019.

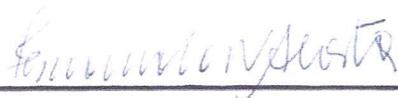
1. Calicivirose Sistêmica. 2. Calicivírus felino.
I. Costa, Fernanda Vieira Amorim da, orient. II.
Hübner, Silvia de Oliveira, coorient. III. Título.

Alice Silveira Becker

Calicivirose Sistêmica: Uma enfermidade emergente do calicivírus felino

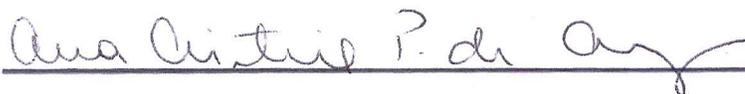
Aprovado em: 02 de Agosto de 2019

APROVADO POR:



Prof. Dr.^a Fernanda Vieira Amorim da Costa

Orientador e Presidente da Comissão



Prof. Dr.^a Ana Cristina Pacheco de Araújo

Membro da Comissão



Dr.^a Francielle Liz Monteiro

Membro da Comissão

RESUMO

O calicivírus felino é um patógeno distribuído mundialmente na população de gatos domésticos. É conhecido por ser o agente da clássica enfermidade denominada de complexo respiratório viral felino. Nas últimas décadas, diversos países relataram surtos envolvendo diferentes cepas de calicivírus, todas causando uma enfermidade nova, a calicivirose sistêmica. Tal quadro clínico tem mostrado altas taxas de morbidade e mortalidade na população felina, afetando inclusive animais adultos vacinados. Neste contexto, a calicivirose sistêmica vem se tornando uma preocupação cada vez maior na clínica veterinária, tendo um mecanismo complexo e ainda pouco compreendido. Esta revisão aborda informações recentes relacionadas à calicivirose sistêmica, com características do agente causador, características de cepas clássicas de calicivírus que poderiam atuar nesta nova enfermidade e possíveis novos tratamentos.

Palavras-chave: gato doméstico, calicivírus virulento sistêmico, VS-FCV.

ABSTRACT

Feline calicivirus is a pathogen distributed worldwide in the domestic cat population. It is known to be part of the classic disease known as feline respiratory disease complex. In the past decades, several countries have reported outbreaks involving different strains of calicivirus, all of them causing a new illness known as virulent systemic calicivirus disease. This new disorder has shown high rates of morbidity and mortality in the feline population, affecting even adults and vaccinated animals. Thus, its disease and agent have become a major concern in veterinary medicine, due to their complex and still poorly understood mechanism. The present study offers a review of recent information about the virulent systemic calicivirus disease, focusing on already elucidated characteristics of its agent, factors about the classical strains that could contribute to the disease, and new treatments.

Keywords: domestic cat, virulent systemic feline calicivirus, VS-FVC.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	5
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	6
2.1.	Etiologia	6
2.2.	Origem das cepas de VS-FCV	7
2.3.	Epidemiologia e patogenia	8
2.4.	Sinais clínicos	10
2.5.	Diagnóstico	12
2.6.	Tratamento	13
2.7.	Prevenção	15
3.	CONCLUSÃO	16
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	17

1. INTRODUÇÃO

O calicivírus felino (*Feline calicivirus* - FCV) é conhecido por causar, juntamente ao alfa herpesvírus felino 1 (*Felid alphaherpesvirus 1* - FeHV-1), doenças do trato respiratório anterior de gatos. Classicamente, a infecção pelo calicivírus causa ulcerações em cavidade oral e sinais clínicos de doenças do trato respiratório anterior, como espirros, tosse e secreção nasal, e formas menos comuns da enfermidade incluem claudicação associada a artrite aguda e pneumonia (PESAVENTO et al., 2008).

Contudo, surtos caracterizados por uma forma mais grave da doença tem sido descritos nos últimos anos, envolvendo a América do Norte (PEDERSEN et al., 2000; HURLEY, et al. 2004), Europa (COYNE et al., 2006a; REYNOLDS et al., 2009; MEYER et al., 2011; BATTILANI et al., 2013; DESCHAMPS et al., 2015; WILLI et al., 2016; CARINGELLA et al., 2019) e Ásia (GUO et al., 2018). Nestes surtos houve o isolamento de cepas de FCV altamente virulentas, as quais foram denominadas calicivírus virulentos associados a doença sistêmica (*virulent systemic feline calicivirus* - VS-FCV). Os animais envolvidos apresentavam sinais clínicos compatíveis com a calicivirose clássica, associado a edema facial e de membros, lesões crostosas e ulceradas na face, claudicação, febre, letargia e inapetência.

O VS-FCV afeta tanto animais jovens como adultos, vacinados e não vacinados, com uma alta taxa de mortalidade associada (FOLEY et al., 2006; WILLI et al., 2016). O presente estudo tem como objetivo fazer uma revisão acerca do calicivírus sistêmico, abordando as características já elucidadas sobre as cepas virulentas, e fatores das cepas clássicas que parecem ser mantidas neste novo agente, bem como abordar novas alternativas de tratamento e prevenção que vem sendo avaliadas nos últimos anos, além da conduta a ser tomada frente a um possível surto de VS-FCV.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Etiologia

O FCV pertence à família *Caliciviridae* e gênero *Vesivirus*. É um agente desprovido de envelope (PESAVENTO et al., 2008), e possui genoma RNA fita simples de polaridade positiva, com cerca de 7,7 kilobases (kb) (COYNE et al., 2012; ICTV, 2018). O genoma contém três fases abertas de leitura (*open reading frame* - ORF). A ORF1 codifica proteínas não estruturais, a ORF2 codifica a principal proteína do capsídeo (*viral protein 1/VP1*) e a ORF3 codifica uma proteína estrutural menor (VP2) (PESAVENTO et al., 2008). A ORF2 possui seis regiões distintas (A-F), sendo as regiões A, B, D e F mais conservadas, e C e E, as duas regiões mais variáveis. A região E é ainda composta por duas regiões hipervariáveis (HVR) nas porções 5' e 3', separadas por uma região mais conservada ao centro (*conE*) (PEREIRA et al., 2018).

A caracterização e análise das diferentes cepas de FCV ocorre pela diferença encontrada nas porções hipervariáveis da região E (PEREIRA et al., 2018). Além disso, esta região possui os principais epítomos reconhecidos por linfócitos B do hospedeiro, sendo alvo importante para a resposta imune contra o FCV (RADFORD et al., 2007; SATO et al., 2017). Assim, o FCV possui alta variabilidade genética e antigênica, que pode resultar na formação de cepas hipervirulentas e interferir no desenvolvimento de imunidade que confira proteção contra uma ampla variedade de cepas (RADFORD et al., 2007).

A caracterização molecular do FCV tem resultado na classificação das cepas em dois grupos genéticos distintos (I e II), sendo o segundo composto por cepas identificadas no Japão e China, e o primeiro composto por cepas de outros países (SUN et al., 2017). Apesar dos esforços para organizar as cepas em grupos, a grande diversidade encontrada gera uma árvore filogenética em formato de “estrela”, ou seja, cada nova variante encontrada não se encaixa em nenhum grupo com características semelhantes, não sendo possível agrupar nem mesmo as cepas causadoras da enfermidade sistêmica (POULET, 2016; GUO et al., 2018), pois ainda não foi possível encontrar uma relação entre suas sequências genéticas e a enfermidade causada (PRIKHODKO et al., 2014). No Brasil, o sequenciamento de cepas de calicivírus isolados em abrigos demonstrou uma divergência de 15,4% destas com a cepa F9, uma das principais cepas utilizada nas vacinas comerciais, quando considerada as regiões de C a F do vírus (PEREIRA et al., 2018).

2.2. Origem das cepas de VS-FCV

O mecanismo de formação das cepas hipervirulentas de FCV ainda é pouco compreendido, e diversas teorias já foram sugeridas. Sabe-se, contudo, que um único animal pode se infectar com diferentes cepas de FCV simultaneamente, cada uma proveniente de diferentes origens de infecção (SKYES, 2014), e que combinações entre as ORF's das duas cepas podem originar novas variantes (COYNE et al., 2012). O sequenciamento de cepas envolvidas nos diversos surtos de VS-FCV demonstra que estas parecem surgir de diferentes linhagens virais, visto que variam consideravelmente e, até o momento, não se identificou uma característica comum entre elas (FOLEY et al., 2006). As cepas virulentas produzem maiores títulos durante a replicação viral *in vitro* em comparação com cepas não virulentas, manifestando assim uma disseminação mais precoce em cultivo celular (OSSIBOFF et al., 2007).

Apesar de todas as cepas de FCV pertencerem a um mesmo sorotipo (PEREIRA et al., 2018), estudos sobre a permanência do agente no hospedeiro sugerem que o vírus desenvolva mecanismos para escapar do sistema imune e permanecer por mais tempo no organismo, através das mutações em regiões hipervariáveis do genoma. Com isso, mesmo gatos vacinados podem se infectar, posteriormente, com outra cepa heteróloga de campo (RADFORD et al., 2006).

A taxa de mutações ocorridas por substituição de nucleotídeos no FCV foi considerada uma das mais altas já relatadas entre todas as famílias de vírus (COYNE et al., 2012; RADFORD et al., 2007). Os mesmos autores também sugerem que locais de alta densidade populacional permitiriam uma maior circulação de cepas entre os animais e uma maior taxa de mutação associada, o que poderia levar ao surgimento das cepas hipervirulentas. Esta mutação parece ocorrer durante a replicação do agente, quando a RNA polimerase, enzima responsável pelo processo, pode “pular” da fita molde de um FCV para a de outro FCV, gerando, ao fim, partículas virais com um genoma composto pelas duas fitas (COYNE et al., 2006b).

A variabilidade entre cepas de FCV muda consideravelmente. Algumas comparações, como da cepa FCV-33585, por exemplo, identificada no ano 2000 no estado de Massachusetts/EUA, demonstrou uma similaridade que variava desde 96,8% com outra cepa identificada no mesmo ano e região, FCV-Diva 24, e até 66,7%, com a cepa UTCVM-H2 identificada no ano 2005 no estado de Tennessee/EUA. FCV-33585, FCV-Diva 24 e FCV-Diva 15, identificadas no mesmo estado e ano, ainda apresentavam como característica a presença de um resíduo de aminoácido em comum na sequência de proteínas do capsídeo, com uma metionina na posição 455 e uma serina na posição 458. Entretanto, tais aminoácidos não foram

identificados nas outras cepas descritas anteriormente (RONG et al., 2006). Outro estudo identificou uma glicosilação adicional de alguns aminoácidos do capsídeo viral, entre a região do nucleotídeo 398 a 592 em diferentes cepas de VS-FCV sequenciadas, também consequência de mutações genéticas que determinavam a alteração do aminoácido codificado, que por sua vez permitia a ocorrência desta glicosilação (FOLEY et al., 2006). Tais mutações, que ocorrem geralmente na porção hipervariável da região E (RADFORD et al., 2007; SATO et al., 2017), determinam a alteração dos epítomos alvo do sistema imunológico, atuando como um mecanismo de evasão viral frente a resposta do hospedeiro.

Além dos mecanismos de mutação de uma cepa ou recombinação entre cepas, o sistema imune do hospedeiro também parece interferir no aparecimento de novas variantes do vírus, através de respostas imunomediadas atuando como uma “seleção positiva” de cepas mais resistentes (COYNE et al., 2012). Além disso, a produção de citocinas pelo organismo podem interferir no desenvolvimento de vasculite sistêmica. Estudos identificaram a interleucina 10 (IL-10), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e a proteína inflamatória de macrófagos 1 alfa (MIP-1 α) como as citocinas mais expressas durante a infecção pelo VS-FCV (FOLEY et al., 2006). A ocorrência de infecções concomitantes com outros patógenos, como o vírus da imunodeficiência felina (FIV) e o vírus da panleucopenia felina (FPLV), também é citada como possível contribuinte para o desenvolvimento da forma sistêmica da enfermidade (BATTILANI et al., 2013; CARINGELLA et al., 2019).

2.3. Epidemiologia e patogenia

O FCV tem distribuição mundial, sendo que a forma sistêmica da enfermidade já foi descrita tanto em felinos domésticos quanto selvagens (HARRISSON et al., 2007). O primeiro relato de VS-FCV surgiu em 2000, no estado da Califórnia (EUA) (PEDERSEN et al. 2000). No Brasil, não existe até o momento um relato de VS-FCV, mas o FCV já foi detectado tanto em estudos sorológicos, quanto em ensaios moleculares (JOHANN et al., 2009; HENZEL et al., 2015; PEREIRA et al., 2018).

O FCV está associado principalmente a locais de alta densidade populacional, como colônias e abrigos, onde já foi identificada prevalência de até 90% de animais infectados (COYNE et al., 2012). Como fatores de risco, além da alta concentração de animais, ressalta-se também que animais não castrados tem uma maior chance de serem infectados, provavelmente pelo fato de se envolverem mais em brigas territoriais ou por acasalamento

(BERGER et al., 2015). Até mesmo animais adultos vacinados são acometidos pela forma grave da enfermidade, diferente do que se observa na forma clássica, que ocorre com maior frequência em animais não vacinados (FOLEY et al., 2006).

Assim como outros vírus não envelopados, o FCV possui resistência prolongada no ambiente, e sua inativação nem sempre ocorre com o uso de desinfetantes comuns (DESCHAMPS et al., 2015), podendo permanecer dias a semanas no ambiente, dependendo das condições de temperatura e umidade (RADFORD et al., 2007).

A transmissão do FCV ocorre pelo contato direto entre animais infectados e suscetíveis, principalmente por secreções nasais e orais. Na VS-FCV, há também a possibilidade de transmissão pelo contato direto com o animal, visto que partículas virais podem estar presentes na epiderme (REYNOLDS et al., 2009). A transmissão do FCV através da pulga *Ctenocephalides felis* também já foi demonstrada, pela ingestão das fezes ou do próprio ectoparasita, durante o comportamento de lambadura dos gatos (MENCKE et al., 2009).

Além disso, é importante ressaltar a transmissão através de fômites (SKYES, 2014), sendo a figura do médico veterinário ou até mesmo do tutor, uma possível causa de infecção entre felinos, como relatado em surtos recentes (DESCHAMPS et al., 2015), o que serve de alerta para a desinfecção rigorosa no ambiente, e da higienização das mãos de pessoas que estiveram em contato com animais possivelmente infectados.

O VS-FCV é capaz de infectar, além das células epiteliais do trato respiratório anterior, como o FCV clássico, células do endotélio de vasos, fígado, pâncreas e pulmões (SKYES, 2014). Tal capacidade ainda não pôde ser explicada. Contudo, sabe-se que a ligação do vírus às células se dá através de um receptor conhecido por fJAM-A (*feline junctional adhesion molecule A*), que se localiza nas junções entre células epiteliais e endoteliais, e que quando células não permissivas expressam tal receptor, estas se tornam suscetíveis à infecção (PESAVENTO et al., 2008).

Após a infecção, o FCV é excretado por cerca de 30 dias. Alguns gatos podem permanecer com o vírus mesmo após a cura clínica, eliminando-o continuamente por secreções da orofaringe, os quais são denominados gatos carreadores. Acredita-se que mecanismos de evolução do vírus permitam uma evasão mais eficiente do sistema imune nestes animais (RADFORD et al., 2007).

2.4. Sinais clínicos

O período de incubação descrito para o VS-FCV varia entre um e cinco dias dentro de ambiente hospitalar, a até 12 dias em animais a domicílio (RADFORD et al., 2009), provavelmente pelo fato de animais hospitalizados serem acometidos por alguma patologia debilitante que permita um desenvolvimento mais rápido da enfermidade e aparecimento dos sinais clínicos. A infecção clássica está associada a lesões na cavidade oral, na forma de vesículas e úlceras na língua, além de gengivoestomatite crônica (BERGER et al., 2015). Em alguns casos, há o envolvimento do trato respiratório posterior, caracterizado por pneumonia, pela ação viral em macrófagos alveolares (RODRIGUEZ et al., 2014), e menos comum, a infecção em trato gastrointestinal, onde o FCV já foi identificado juntamente com o norovírus felino, pertencente a outro gênero da família *Caliciviridae*, causando quadros de diarreia aguda em filhotes (CASTRO et al., 2015).

A calicivirose sistêmica, inicialmente, pode se manifestar como um quadro clínico mais grave do complexo respiratório viral felino em animais que não apresentam melhora clínica. Posteriormente, surgem sinais mais característicos da enfermidade sistêmica, manifestada por edema, principalmente em face e membros, e lesões ulcerativas, em plano nasal, margem de orelhas, ao redor dos olhos ou em região distal dos membros (RADFORD et al., 2009), além de febre e icterícia (COYNE et al., 2006a; MEYER et al., 2011). Como possíveis consequências do quadro clínico, também foram relatados falência múltipla de órgãos, sangramentos e coagulação intravascular disseminada (RADFORD et al. 2009; SKYES, 2014).

Os primeiros relatos de VS-FCV se referiam a febre hemorrágica, como uma referência à calicivirose hemorrágica que afeta coelhos (PEDERSEN et al. 2000). Entretanto, HURLEY et al. (2004) identificando poucos animais com distúrbios hemorrágicos durante um surto, sugeriram a VS-FCV como uma nova denominação para a enfermidade, termo utilizado atualmente.

Em exames histopatológicos, observa-se que, além da infecção de células epiteliais comumente afetadas pelas cepas clássicas, o VS-FCV atinge também o endotélio de vasos, células hepáticas, pulmonares e pancreáticas. Há descrições de vasculite necrotizante multifocal em vasos de tecido subcutâneo, dermatite ulcerativa e supurativa multifocal, afetando comumente a face, plano nasal, região das pinas e também de coxins. Úlceras orais podem ocorrer tanto na língua quanto em palato duro (SKYES, 2014). Focos hemorrágicos já foram encontrados no pâncreas, juntamente com necrose e saponificação da gordura subjacente, e

necrose e infiltração neutrofílica no baço. Lesões pulmonares caracterizam-se por uma pneumonia broncointersticial (MEYER et al., 2011; PESAVENTO et al., 2004).

Os surtos de VS-FCV afetam tanto animais jovens como adultos, com alta taxa de morbidade e mortalidade. Em um destes surtos envolvendo animais jovens e adultos, foi relatada a recuperação dos filhotes após alguns dias de tratamento sintomático, entretanto, grande parte dos animais adultos demonstrou agravamento clínico progressivo, independente das tentativas de tratamento, com conseqüente óbito ou realização de eutanásia (WILLI et al. 2016).

O caso relatado por MEYER et al. (2011), afetou um único filhote de seis meses de idade, sendo que seis outros animais que possuíam contato direto com este não manifestaram em nenhum momento a doença ou qualquer sinal clínico associado. Foi sugerido que uma debilidade imunológica no filhote, que havia recentemente desenvolvido parasitose intestinal, poderia ter desempenhado algum papel neste caso, favorecendo o desenvolvimento da VS-FCV por uma cepa não virulenta para animais imunocompetentes. Os outros seis animais, além disso, poderiam ser carreadores da cepa causadora da doença no filhote, mas resistentes a doença clínica. BATTILANI et al. (2013) também compartilha um caso semelhante, onde um único animal, portador do vírus da imunodeficiência felina (FIV), manifestou a VS-FCV e veio a óbito, sendo que diversos outros animais que conviviam com este não manifestaram nenhum sinal clínico. A identificação e sequenciamento viral evidenciou que os outros animais também eram portadores do FCV, e o animal que veio a óbito tinha mais de uma cepa em seus órgãos e tecidos, ambas diferentes daquelas encontradas nos outros animais.

HUANG et al. (2010) já reproduziu a enfermidade experimentalmente, infectando nove animais com uma cepa conhecidamente virulenta, para avaliação da resposta frente a uma vacina experimental. Oito dos animais manifestaram um quadro clínico compatível como VS-FCV, com o aparecimento de úlceras orais e de pele, febre alta, edema de face e membros, entre outros sinais. Um dos animais foi encontrado morto alguns dias após o desafio.

Em cada um dos surtos relatados, diferentes cepas pareciam estar envolvidas, todas causando sinais compatíveis com a calicivirose sistêmica (RADFORD & GASKELL, 2011). Alguns relatos identificaram ainda um agravamento clínico a cada novo caso envolvido nestas ocorrências, que poderia ser atribuído a um incremento da virulência das cepas conforme a progressão do surto (DESCHAMPS et al., 2015). Além disso, o início de cada surto foi associado ainda a introdução de um animal de abrigo dentro do ambiente hospitalar,

provavelmente carreador de uma cepa de FCV não virulenta a ele, mas extremamente agressiva para outros animais suscetíveis (HURLEY & SKYES, 2003).

O quadro clínico sistêmico induzido pelo FCV está sempre associado a um prognóstico desfavorável. Apesar de ser uma enfermidade ainda pouco compreendida, as taxas de mortalidade relatadas nos surtos são bastante altas (DESCHAMPS et al., 2015).

2.5. Diagnóstico

Quando acometidos pela doença clássica, os animais geralmente são diagnosticados pelo veterinário com base nos achados clínicos e na resposta positiva ao tratamento. Entretanto, ao suspeitar de um surto, é essencial a confirmação do diagnóstico através de exames laboratoriais. Os principais exames utilizados para diagnóstico são o isolamento viral em cultivo celular e a detecção viral por ensaios moleculares (MELI et al., 2018).

No isolamento viral, o efeito citopático observado na linhagem de rim felino (*Crandell Rees feline kidney* - CRFK) é caracterizado por arredondamento, agregação celular, cariopícnose e enfraquecimento da monocamada, que eventualmente pode se desprender (GUO et al., 2018).

A identificação molecular se dá através da técnica de reação em cadeia da polimerase via transcrição reversa (RT-PCR), onde a partir do genoma viral, composto de RNA, sintetiza-se uma fita de DNA complementar (cDNA), com subsequente amplificação exponencial de uma sequência de nucleotídeos característica do agente (RADFORD et al., 2009). Para detecção, recomenda-se utilizar regiões mais conservadas do genoma, como as regiões A-B da ORF2 (MARSILIO et al., 2005). Outras regiões que tendem a se manter conservadas entre cepas, como da ORF1, também já foram descritas para diagnóstico (MELI et al., 2018).

Como amostras, para ambas as técnicas, utiliza-se o material coletado através de suabes de mucosa (nasais, orais, conjuntivais ou de orofaringe) e, em casos de óbito, pequenas amostras de tecidos coletadas de órgãos, como fígado, pâncreas e pulmões (SKYES, 2014). Outros estudos já identificaram o agente também por microscopia eletrônica, onde foi possível observar partículas virais de morfologia icosaédrica e superfície formando estruturas semelhantes à cálices, típico do calicivírus (PESAVENTO et al., 2004).

A técnica de imuno-histoquímica, por sua vez, é tida uma forma mais confiável para confirmação de casos sistêmicos, pois faz a detecção de antígeno viral associado ao tecido avaliado, tanto em epitélio de mucosa nasal ou oral, quanto na pele, endotélio de vasos ou

células de órgãos como fígado, pâncreas e pulmões (PESAVENTO et al., 2004; CARINGELLA et al., 2019). Associado aos sinais clínicos característicos, este método de diagnóstico é capaz de diferenciar formas clássicas da enfermidade das formas sistêmicas.

2.6. Tratamento

Embora não exista um tratamento específico contra o FCV, a terapia para calicivirose sistêmica preconizada envolve medidas agressivas de suporte, incluindo fluidoterapia e antibioticoterapia. Sugere-se ainda que um melhor índice de sobrevivência parece ocorrer quando os animais são tratados em casa, visando tanto evitar o estresse dos animais, quanto impedir a infecção de animais suscetíveis. Lesões de descontinuidade na pele, como aquelas provocadas pelo uso de cateteres ou seringas durante a coleta de sangue, devem ser evitadas, pois podem predispor à distúrbios de hemostasia (DESCHAMPS et al., 2015).

Diversos estudos já foram desenvolvidos em busca de novas formas de tratamento para o FCV e VS-FCV, e embora a maioria destes sejam apenas testes *in vitro*, constituem-se como importantes alternativas para posteriores estudos *in vivo* e utilização na rotina clínica. Existe a possibilidade de uso de corticosteroides e interferon ômega recombinante felino (rFeIFN), tendo este último eficácia comprovada somente em estudos *in vitro* (OHE et al., 2008), apesar de ter sido demonstrada a redução de sinais clínicos em animais apresentando gengivoestomatite crônica, sinal clínico associado ao FCV, quando o rFeIFN era administrado na forma subcutânea (MATSUMOTO et al., 2018).

Compostos de ação molecular têm se mostrado efetivos em combater o FCV tanto em estudos *in vitro* quanto em surtos de VS-FCV. Um oligômero morfolino fosforodiamidato (PMO), análogo sintético de ácidos nucleicos, bloqueia a síntese do RNA viral por entrar na célula e ligar-se em sequências alvo. Quando utilizado experimentalmente em três diferentes surtos, resultou em 80% de sobrevivência em gatos filhotes tratados, em comparação a 10% dos não tratados com o PMO (SMITH et al., 2008). Além deste, o uso de siRNA (*small interfering RNA*), pequenos fragmentos de RNA que regulam a expressão de um gene alvo, frente a quatro regiões conservadas do genoma de seis cepas de FCV, mostrou redução do título viral de FCV *in vitro* (MCDONAGH et al., 2015).

A merfloquina, utilizada na medicina humana para tratamento da malária, apresentou efeito antiviral frente ao calicivírus *in vitro*, por redução do efeito citopático e da replicação viral, e quando associada ao rFeIFN, mostrou efeito sinérgico mesmo em menores concentrações, o

que poderia reduzir efeitos colaterais se utilizada *in vivo* (MCDONAGH et al., 2015). A germacrona, utilizada para tratamento do câncer e outras enfermidades em humanos, também demonstrou inibição da replicação viral de FCV *in vitro* (WU et al., 2016). O fator de regulação de interferon felino tipo 1 (fe-IRF-1), um fator de transcrição que atua regulando o sistema imune, também teve eficácia na inibição da replicação do FCV e outros agentes virais *in vivo*. Infecções pelo FCV parecem suprimir a produção endógena deste fator, como uma possível forma de evasão do sistema imune pelo agente (LIU et al., 2018).

Outros estudos demonstra a avaliação de fármacos frente a alvos não estruturais, como uma protease, enzima participante do processo replicativo, o que teria vantagem na possível redução dos efeitos colaterais *in vivo*, por não existirem genes homólogos a estas proteases no organismo hospedeiro. Como exemplo, já foi demonstrada a atividade antiviral *in vitro* do composto sintético GC376 (FUMIAN et al., 2018). Anteriormente, o composto NPI52, com a mesma forma de atuação, demonstrou atividade antiviral frente ao FCV e também ao VS-FCV, além de apresentar baixa citotoxicidade em células CRFK (KIM et al., 2015).

A nitazoxanida, utilizada na prática clínica como antiparasitário, associado a outro fármaco, a 2'C-Metilcitidina (2CMC), obteve efeito sinérgico na inibição da replicação do FCV *in vitro* e permitiu a utilização de menores doses dos fármacos, o que evitaria possíveis efeitos colaterais *in vivo* (FUMIAN et al., 2018). Este é um fator limitante que impede o uso de compostos de eficácia comprovada em serem utilizados na prática, como a ribavirina, antiviral utilizado na terapia da hepatite C e com capacidade de inibir o FCV *in vitro*, mas com potenciais efeitos colaterais na espécie felina (RADFORD et al., 2009). Além disso, a associação de fármacos evita também o desenvolvimento de resistência pelo FCV, que ocorre devido a sua rápida mutabilidade. Como exemplo, a fexaramina, um composto que bloqueia a entrada do agente na célula, quando associado a NPI52, inibidor da enzima protease, demonstraram boa capacidade em inibir a infecção pelo FCV *in vitro*, e redução no desenvolvimento da resistência (KIM & CHANG, 2018).

A utilização de vacinas intranasais, estudadas como forma de prevenção da enfermidade, também já foi avaliada como alternativa de tratamento de animais acometidos pelo FCV e FHV-1, tendo bons resultados seja por induzir uma imunidade específica mais robusta contra os agentes, ou por uma maior imunidade inata gerada pelo vírus vacinal, combatendo assim o FCV e também o FHV-1 (FENIMORE et al., 2015).

2.7. Prevenção

A vacinação contra o FCV é considerada essencial para os felinos, mas embora previna o desenvolvimento da doença clínica, não impede a infecção, nem garante eliminação total do agente (RADFORD et al., 2006). A grande diversidade de cepas circulantes exige a escolha de antígenos com alta capacidade de reação cruzada, protegendo contra a maior quantidade de variantes possíveis (HOU et al., 2016). O protocolo atual recomenda a primovacinação de filhotes entre 6 a 8 semanas de idade, com reforços a cada 3 a 4 semanas, até as 16 semanas de vida, e posteriores reforços do adulto trienalmente, quando considerados de “baixo risco” (animais que vivem de forma isolada ou sem acesso a rua), e reforços anuais em animais de “alto risco” (que convivem com diversos outros animais ou possuem acesso a rua). Juntamente com o FCV, FeHV-1 e FPLV e vírus da panleucopenia felina compõem as vacinas essenciais para os gatos (DAY et al., 2016).

Nos últimos anos, pesquisadores vêm buscando alternativas à imunização de felinos, e já existe uma vacina comercial disponível no Brasil que inclui uma das cepas causadoras da enfermidade sistêmica (Fel-O-Vax[®] LvK IV+ CaliciVax[®] - Zoetis Brasil), em uma tentativa de otimizar a resposta imune dos animais e proteger contra uma maior variedade de cepas de campo, incluindo as causadoras de VS-FCV (HUANG et al., 2010). Entretanto, a alta taxa de mutação do vírus dificulta esse processo, pois o surgimento de novas cepas faz as vacinas disponíveis atualmente falharem na proteção contra todas as variantes circulantes (RADFORD et al., 2007). Por outro lado, a cepa FCV-F9 ainda parece ser eficiente para a imunização dos animais, tendo atividade neutralizante contra 97% de cepas de campo isoladas na Europa, de um total de 98 cepas avaliadas em um estudo sorológico *in vitro* (AFONSO et al., 2017).

Resultados promissores foram obtidos na imunização de animais frente a cepas de campo de FCV e também de VS-FCV, em um estudo utilizando a cepa FCV-F9 em associação a uma cepa avirulenta que parece produzir uma ampla imunidade cruzada (RONG et al., 2014). Mais recentemente, SATO et al. (2017) desenvolveram testes com uma vacina inativada de aplicação intranasal, que parece induzir tanto a formação de anticorpos circulantes no sangue dos animais, como também de imunoglobulina A secretora (sIgA) associada à mucosas, que atuaria como uma primeira barreira de defesa no local de entrada e replicação primária do agente no organismo hospedeiro. Apesar disso, a durabilidade de sIgA nas mucosas é mais curta que a de anticorpos neutralizantes no sangue. Os autores descrevem ainda que esta via de aplicação

parece conferir uma resposta mais precoce frente a cepas heterólogas em comparação à utilizada na vacina.

Quanto a desinfecção ambiental, somente o uso de detergentes comuns ou álcool não são eficazes frente ao FCV. Para a eliminação completa do agente, pode-se utilizar hipoclorito de sódio a 5%, diluído na proporção 1:32 (RADFORD et al., 2009), e a utilização de radiação ultravioleta em LED também já foi descrita como uma possibilidade para eliminação do vírus (OGUMA, 2018).

A rápida identificação de um surto é essencial para evitar a disseminação do agente. Em alguns casos, o fechamento temporário de hospitais ou clínicas veterinárias é necessário para que se realize uma desinfecção ambiental completa e descarte de qualquer material possivelmente contaminado, a fim de evitar o contato de novos animais com o agente antes de sua eliminação total. Além disso, animais com suspeita de infecção que se mantenham internados devem permanecer isolados de outros gatos (REYNOLDS et al., 2009; DESCHAMPS et al., 2015).

3. CONCLUSÃO

O calicivírus causador da doença sistêmica gera novas preocupações acerca de um agente que anteriormente relacionava-se somente com uma enfermidade clássica e bem conhecida em felinos domésticos. Sendo uma patologia fatal e de rápida disseminação na população de gatos, diversos pesquisadores em todo o mundo vêm realizando esforços constantes para determinar qual a origem deste calicivírus mais patogênico. Espera-se que com as informações abordadas nesta revisão, novos estudos possam ser norteados acerca do calicivírus virulento sistêmico, a fim de melhor caracterizar estas cepas e a patogenia causada por elas, fator imprescindível para o desenvolvimento de medidas mais eficazes para tratamento, controle dos surtos e principalmente, prevenção da enfermidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AFONSO, M. et al. A multi-national European cross-sectional study of feline calicivirus epidemiology, diversity and vaccine cross-reactivity. **Vaccine**. v. 35, p. 2753-2760, 2017.
- BATTILANI, M. et al. Virulent feline calicivirus disease in a shelter in Italy: a case description. **Research in Veterinary Science**. v. 95, p. 283-290, 2013.
- BERGER, A. et al. Feline calicivirus and other respiratory pathogens in cats with Feline calicivirus-related symptoms and in clinically healthy cats in Switzerland. **BMC Veterinary Research**. 2015.
- CARINGELLA, F. et al. Feline calicivirus infection in cats with virulent systemic disease, Italy. **Research in Veterinary Science**. v. 124, p. 46-51, 2019.
- CASTRO, T. X. et al. Detection and molecular characterization of caliciviruses (vesivirus and norovirus) in an outbreak of acute diarrhea in kittens from Brazil. **The Veterinary Journal**. v. 206, p. 115-117, 2015.
- COHN, L. A. Feline Respiratory Disease Complex. **Veterinary Clinics of Small Animal: North America Practice**. v. 41, p. 1273-1289, 2011.
- COYNE, K. P. et al. Lethal outbreak of disease associated with feline calicivirus infection in cats. **The Veterinary Record**. v. 158, p. 544-550, 2006a.
- COYNE, K. P. et al. Recombination of feline calicivirus within an endemically infected cat colony. **Journal of General Virology**. v. 87, p. 921-926, 2006b.
- COYNE, K. P. et al. Large-scale spatial and temporal genetic diversity of feline calicivirus. **Journal of Virology**. v. 86, n. 20, p. 11356-11367, 2012.
- DAY, M. J. et al. Guidelines for the vaccination of dogs and cats. **World Small Animal Veterinary Association (WSAVA)**. v. 57, 2016.
- DESCHAMPS, J. Y. et al. Nosocomial feline calicivirus-associated virulent systemic disease in a veterinary emergency and critical care unit in France. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. p. 1-9, 2015.
- FENIMORE, A. et al. Evaluation of intranasal vaccine administration and high-dose interferon- α 2b therapy for treatment of chronic upper respiratory tract infections in shelter cats. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. p. 1-9, 2015.
- FOLEY, J. et al. Virulent systemic feline calicivirus infection: local cytokine modulation and contribution of viral mutants. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v. 8, p. 55-61, 2006.
- FUMIAN, T. M. et al. Potential therapeutic agents for feline calicivirus infection. **Viruses**. v. 10, p. 1-16, 2018.
- GUO, H. et al. Isolation and molecular characterization of a virulent systemic feline calicivirus isolated in China. **Infection, Genetics and Evolution**. v. 65, p. 425-429, 2018.
- HARRISON, T. M. et al. Systemic calicivirus epidemic in captive exotic felids. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**. v. 38, n. 2, p. 292-299, 2007.

- HENZEL, A.; LOVATO, L. T.; WEIBLEN, R. Epidemiological status of felid herpesvirus type-1 and feline calicivirus infections in Brazil. **Ciência Rural**. v. 45, n. 6, p. 1042-1049, 2015.
- HOU, J. et al. European molecular epidemiology and strain diversity of feline calicivirus. **Veterinary Record**. v. 178, p. 114-115, 2016.
- HUANG, C. et al. A dual-strain feline calicivirus vaccine stimulates broader cross-neutralization antibodies than a single-strain vaccine and lessens clinical signs in vaccinated cats when challenged with a homologous feline calicivirus strain associated with virulent systemic disease. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v. 12, p. 129-137, 2010.
- HURLEY, K. F.; SKYES, J. E. Update on feline calicivirus: new trends. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**. v. 33, p. 759-772, 2003.
- HURLEY, K. F. et al. An outbreak of virulent systemic feline calicivirus disease. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v. 224, n.2, p. 241-249, 2004.
- International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV), <<https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>>, 2018.
- JOHANN, J. M. et al. Serum survey for antibodies to coronavirus, herpesvirus, calicivirus, and parvovirus in domestic cats from Rio Grande do Sul, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 61, n. 3, p. 752-754, 2009.
- KIM, Y. et al. Broad-spectrum inhibitors against 3C-like protease of feline coronaviruses and feline caliciviruses. **Journal of Virology**. v. 89, n. 9, p. 4942-4949, 2015.
- KIM, Y; CHANG, K-O. Fexaramine as an entry blocker for feline caliciviruses. **Antiviral Research**. v. 152, p. 76-83, 2018.
- LIU, Y. et al. Identification of feline interferon regulatory factor 1 as an efficient antiviral factor against the replication of feline calicivirus and other feline viruses. **BioMed Research International**. p. 1-10, 2018.
- MARSILIO, F. et al. A novel nested PCR for the diagnosis of feline calicivirus infections in the cat. **Veterinary microbiology**. v. 105, 2005.
- MATSUMOTO H. et al. Evaluation of the efficacy of the subcutaneous low recombinant feline interferon-omega administration protocol for feline chronic gingivitis-stomatitis in feline calicivirus-positive cats. **Research in Veterinary Science**. v. 121, p. 53-58, 2018.
- MCDONAGH, P. et al. Antiviral effect of mefloquine on feline calicivirus in vitro. **Veterinary Microbiology**. v. 176, p.370-377, 2015.
- MCDONAGH, P. et al. In vitro inhibition of field isolates of feline calicivirus with short interfering RNAs (siRNAs). **Veterinary Microbiology**. v. 177, p. 78-86, 2015.
- MELI, M. et al. Molecular detection of feline calicivirus in clinical samples: A study comparing its detection by RT-qPCR directly from swabs and after virus isolation. **Journal of Virological Methods**. v. 251, p. 54-60, 2018.
- MENCKE, N. et al. Transmission of feline calicivirus via the cat flea (*Ctenocephalides felis*). **Parasitology Research**. v. 105, p. 185-189, 2009.

- MEYER, A. et al. Feline calicivirus-associated virulent systemic disease: not necessarily a local epizootic problem. **Veterinary Record**. v. 168, p. 1-2, 2011.
- OGUMA, K. Inactivation of feline calicivirus using ultraviolet light-emitting diodes. **FEMS Microbiology Letters**. v. 365, 2018.
- OHE, K. et al. Sensitivity of FCV to recombinant feline interferon (rFelIFN). **Veterinary Research Communications**. v. 32, p. 167-174, 2008.
- OSSIBOFF, R. J. et al. Feline caliciviruses (FCVs) isolated from cats with virulent systemic disease possess *in vitro* phenotypes distinct from those of other FCV isolates. **Journal of General Virology**. v. 88, p. 506-517, 2007.
- PEDERSEN, N. C. et al. An isolated epizootic of hemorrhagic-like fever in cats caused by a novel and highly virulent strain of feline calicivirus. **Veterinary Microbiology**. v. 73, p. 281-300, 2000.
- PEREIRA, J. J. et al. Molecular characterization of feline calicivirus variants from multicat household and public animal shelter in Rio de Janeiro, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 362, p. 1-8, 2018.
- PESAVENTO, P. A. et al. Pathologic, immunohistochemical, and electron microscopic findings in naturally occurring virulent systemic feline calicivirus infection in cats. **Veterinary Pathology**. v. 41, p. 257-263, 2004.
- PESAVENTO, P. A. et al. Molecular Virology of Feline Calicivirus. **Veterinary Clinics Small Animal Practice**. v. 38, p. 775-786, 2008.
- POULET, H. Feline calicivirus strain diversity in Europe – the ‘star-like’ tree. **Veterinary Record**. v. 178, p. 112-113, 2016.
- PRIKHODKO, V. G. et al. Genetic characterization of feline calicivirus strains associated with varying disease manifestations during an outbreak season in Missouri (1995-1996). **Virus Genes**. v. 48, p. 96-110, 2014.
- RADFORD, A. D. et al. The challenge for the next generation of feline calicivirus vaccines. **Veterinary Microbiology**. v. 117, p. 14-18, 2006.
- RADFORD, A. D. et al. Feline Calicivirus. **Veterinary Research**. v. 38, p. 319-355, 2007.
- RADFORD, A. D. et al. Feline calicivirus infection: ABCD guidelines on prevention and management. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v. 11, p. 556-564, 2009.
- RADFORD, A. D.; GASKELL, R. M. Dealing with a potential case of FCV-associated virulent systemic disease. **Veterinary Record**. v. 168, p. 585-586, 2011.
- REYNOLDS, B. S. et al. A nosocomial outbreak of feline calicivirus associated virulent systemic disease in France. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v. 11, p. 633-644, 2009.
- RODRIGUEZ, J. M. et al. Alveolar macrophages are the main target cells in feline calicivirus-associated pneumonia. **The Veterinary Journal**. v. 201, p. 156-165, 2014.
- RONG, S. et al. Characterization of a highly virulent feline calicivirus and attenuation of this virus. **Virus Research**. v. 122, p. 95-108, 2006.

RONG, S. et al. Characterization of an avirulent FCV strain with a broad serum cross-neutralization profile and protection against challenge of a highly virulent vs feline calicivirus. **Virus Research**. v. 188, p. 60-67, 2014.

SATO, H. et al. Intranasal immunization with inactivated feline calicivirus particles confers robust protection against homologous virus and suppression against heterologous virus in cats. **Journal of General Virology**. v. 98, p. 1730-1738, 2017.

SKYES, J. E. Pediatric feline upper respiratory disease. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**. v. 44, p. 331-342, 2014.

SMITH, A. W. et al. Virus-specific antiviral treatment for controlling severe and fatal outbreaks of feline calicivirus infection. **American Journal of Veterinary Research**. v. 69, n. 1, p. 23-32, 2008.

SUN, Y. et al. Genetic and phylogenetic analysis of feline calicivirus isolates in China. **The Veterinary Journal**. v. 220, p. 24-27, 2017.

WILLI, B. et al. Molecular characterization and virus neutralization patterns of severe, non-epizootic forms of feline calicivirus infections resembling virulent systemic disease in cats in Switzerland and in Liechtenstein. **Veterinary Microbiology**. v. 182, p. 202-212, 2016.

WU, H. et al. *In vitro* antiviral effect of gemacrone on feline calicivirus. **Archives of Virology**. v. 161, p. 1559-1567, 2016.