



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ**  
**FACULDADE DE VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**REGINALDO PEREIRA DE SOUSA FILHO**

**GENGIVITE- ESTOMATITE CRÔNICA EM GATOS E SUA CORRELAÇÃO  
CLÍNICO- MORFOLÓGICA COM O VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA FELINA**

**FORTALEZA-CEARÁ**

**2015**

REGINALDO PEREIRA DE SOUSA FILHO

GENGIVITE- ESTOMATITE CRÔNICA EM GATOS E SUA CORRELAÇÃO CLÍNICO-  
MORFOLÓGICA COM O VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA FELINA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Ciências Veterinárias.

Área de Concentração: Reprodução e Sanidade Animal.

Linha de Pesquisa: Reprodução e sanidade de carnívoros, onívoros, herbívoros e aves.

Orientadora: Profa. Dra. Janaina Serra Azul Monteiro Evangelista.

FORTALEZA-CEARÁ

2015

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação**  
**Universidade Estadual do Ceará**  
**Sistema de Bibliotecas**

Sousa Filho, Reginaldo Pereira de  
Gengivite- estomatite crônica em gatos e sua  
correlação clínico- morfológica com o vírus da  
imunodeficiência felina- Fortaleza, 2015.

1 CD-ROM: il. ; 4 ¾ pol.

CD-ROM contendo o arquivo no formato PDF do  
trabalho acadêmico com 51 folhas, acondicionado em  
caixa de DVD Slim (19 x 14 cm x 7 mm).

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Janaína Serra Azul  
Monteiro Evangelista

Monografia (Graduação em Medicina Veterinária)  
- Universidade Estadual do Ceará, Faculdade de  
Veterinária.

1. Retrovirose. 2. Inflamação Oral 3. Felino.  
I. Título.

**GENGIVITE- ESTOMATITE CRÔNICA EM GATOS E SUA CORRELAÇÃO  
CLÍNICO- MORFOLÓGICA COM O VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA  
FELINA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias.

Aprovada em 18/06/15

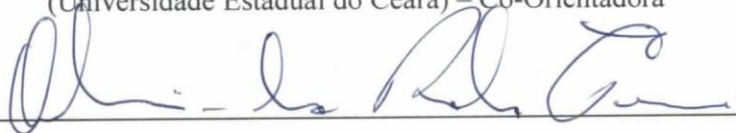
**BANCA EXAMINADORA**



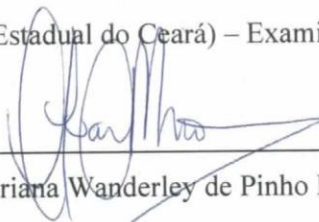
Profa. Dra. Janaína Serra Azul Monteiro Evangelista  
(Universidade Estadual do Ceará) – Orientadora



Profa. Dra. Marina Gabriela Monteiro Carvalho Mori da Cunha  
(Universidade Estadual do Ceará) – Co-Orientadora



Profa. Dra. Adriana da Rocha Tomé  
(Universidade Estadual do Ceará) – Examinadora



Profa. Dra. Adriana Wanderley de Pinho Pessoa  
(Universidade Estadual do Ceará) - Examinadora

“Põe quanto És no Mínimo que Fazes. Para ser grande, sê inteiro: Nada teu exagera ou exclui. Sê todo em cada coisa. Põe quanto és no mínimo que fazes.”

(Fernando Pessoa)

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, a Força Criadora, que a mim me confiou esta missão, dentre outras etapas importantes para a minha caminhada em direção à ele. Por me guiar sempre, mesmo sem eu às vezes perceber.

Agradeço profundamente aos meus pais por me possibilitarem a chegar até aqui e a continuar sonhando alto sempre.

Agradeço ao meu filho David, por me dar o verdadeiro sentido para seguir em frente, por me inspirar o valor e o sabor da vida. Sem você meu filho, não seria a metade do que sou.

Agradeço muito a Profa. Janaína Serra Azul Evangelista, minha orientadora, por ter me dado a oportunidade de desenvolver o projeto de mestrado e pela orientação e paciência que teve comigo em todas as etapas do trabalho

Agradeço à Profa. Marina Gabriela Monteiro Carvalho Mori da Cunha, minha co-orientadora, a Bia, não só pela orientação em todo o trabalho, mas pela amizade e por todas as horas que convivemos, adquirindo eu, uma profunda gratidão e admiração pela pessoa que é.

Agradeço também, até hoje não sei como e quanto agradecer , à Keytyanne de Oliveira Sampaio, por toda força e ajuda que prestou em todo o processo do trabalho, além do companheirismo e amizade até nas horas mais difíceis, em que parecia que nada era pra ser. Muito obrigado por tudo!

Agradeço à colega Glayciane Bezerra de Moraes, por ter sempre me apoiado e por ter aberto as portas do Laboratório de Histologia Veterinária, que juntamente com a Profa. Janaina me possibilitou a tal oportunidade.

Agradeço ao Prof. Didier Cagnini pela participação fundamental na avaliação histopatológica do trabalho, fico honrado em conhecer um grande profissional.

Agradeço também a participação da Tereza (USP) e Assis Montenegro (UFC) pela ajuda na imunohistoquímica e estatística, respectivamente.

Agradeço a Thaís Alencar Ferreira, pelo incentivo em me fazer “pular do aquário” e entrar na aventura do mestrado.

Agradeço a todos os gatos que participaram do projeto, juntamente com os seus responsáveis. Muito respeito a todos vocês.

Por último, também um sincero agradecimento a todos os meus colegas da Pós- Graduação, que derramaram suor para chegarem aqui, assim como eu. Abraço fraternal em todos.

## RESUMO

A gengivite estomatite crônica felina (GECF) é um quadro patológico complexo, com diversos agentes etiológicos relacionados, é comum em animais soropositivos para o Vírus da Imunodeficiência Felina (FIV), principalmente em fases intermediárias a tardias da retrovirose, cujo quadro geralmente não responde à terapêutica atual. Portanto, o objetivo desse estudo é avaliar e caracterizar a população de células inflamatórias na mucosa oral de gatos com GECF e positivos para FIV, a fim de elucidar pontos-chaves na resposta inflamatória adaptativa desses animais. Para isso serão realizadas biópsias incisionais da mucosa oral afetada de 25 gatos atendidos na Unidade Hospitalar Veterinária da Universidade Estadual do Ceará. Os animais foram divididos em três grupos compostos por animais soronegativos para FIV com gengivite-estomatite, soropositivo para FIV com gengivite-estomatite e grupo controle constituído de FIV-positivos e negativos sem gengivite-estomatite. Foi realizada a quantificação de infiltrado inflamatório, bem como a quantificação do nível de lesão, imunohistoquímica para anticorpo monoclonal do vírus FIV e quantificação do grau de imunomarcação, correlacionando-se com o grau de alterações histopatológicas. Os grupos foram analisados e comparados estatisticamente por métodos paramétricos e não paramétricos, como o de Spearman e Teste T, com o nível de significância menor que 0,05. De acordo com os resultados, a infecção pelo FIV não interfere na gravidade dos sinais clínicos e nem no grau das alterações histopatológicas da GECF.

**Palavras chaves:** Retrovirose. Inflamação Oral. Felino

## ABSTRACT

Gingivitis feline chronic stomatitis (GECF) is a complex pathological picture, with several related etiological agents, is common in seropositive animals for Feline Immunodeficiency Virus (FIV), especially at intermediate stages of the late retrovirus, whose condition usually does not respond to Current therapy. Therefore, the aim of this study is to evaluate and characterize the population of inflammatory cells in the oral mucosa of cats with GECF and positive for FIV, in order to clarify key points in adaptive inflammatory response of these animals. For it will be held incisional biopsy of the oral mucosa affected 25 cats treated at Hospital Veterinary Unit of the State University of Ceará. The animals were divided into three groups composed by animals seronegative for FIV with gingivitis, stomatitis, HIV positive for FIV with gengivite- stomatitis and control group consisting of FIV-positive and negative without gengivite- stomatitis. Quantitation of inflammatory infiltrate was performed, as well as the quantification of the level of injury, immunohistochemical monoclonal antibody for FIV virus and quantification of the degree of immunostaining, correlating with the degree of pathological changes. The groups were analyzed and compared statistically by parametric and non-parametric methods, such as Spearman and T test, with a significance level of 0.05. According to the results, infection with FIV does not affect the severity of clinical signs nor histopathological changes in the degree of the GECF.

**Keywords:** Retrovirus. Oral Inflammation. Feline.



## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - A) Felino com escore 1 de lesão macroscópica, hiperemia glossopalatina. B) Felino com escore 2 de lesão macroscópica, profleração de tecido granulomatoso no arco glossopalatino, sem ulceração. C) Felino com escore 3 de lesão macroscópica, intenso tecido proliferativo, com ulceração mas sem sangramento espontâneo. D) Felino com escore 4 de lesão macroscópica, tecido de granulação, ulceração e sangramento espontâneo. E) Microfotografia de mucosa oral de felino FIV positivo com GECE, Células de Mott na submucosa (seta), HE (40x). F) Microfotografia de mucosa oral de felino FIV positivo com GECE, infiltrado inflamatório com predomínio de plasmócitos (seta), HE (20x). G) Microfotografia de mucosa oral de felino FIV positivo com GECE, infiltrado granulocítico (seta), HE (40x). H) Microfotografia de mucosa oral de felino FIV positivo com GECE, presença de mastócitos na submucosa (seta), AT (20x). Microscópio Trinocular Motic® BA310 (Motic® 2000 2.0 MP Live Resolution) e software Motic Image Plus 2.0..... 44

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Escore clínico, grau de alterações histopatológicas e grau de imunomarcção em gatos com gengivite-estomatite testados para FIV .....	42
Tabela 2 - Quantificação de infiltrado inflamatório na mucosa oral de gatos afetados por gengivite- estomatite crônica .....	43

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>11</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>12</b>
2.1	MUCOSA ORAL E SUA IMUNOLOGIA .....	12
2.2	GENGIVITE FELINA .....	14
2.2.1	<b>Epidemiologia</b> .....	14
2.2.2	<b>Patogenia</b> .....	15
2.2.3	<b>Etiologia</b> .....	16
2.2.4	<b>Sinais Clínicos</b> .....	18
2.2.5	<b>Diagnóstico</b> .....	18
2.3	VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA FELINA .....	19
2.3.1	<b>Etiologia</b> .....	20
2.3.2	<b>Epidemiologia e Transmissão</b> .....	20
2.3.3	<b>Patogenia</b> .....	21
2.3.4	<b>Sinais Clínicos</b> .....	21
2.3.5	<b>Diagnóstico</b> .....	22
<b>3</b>	<b>JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>23</b>
<b>4</b>	<b>HIPÓTESE CIENTÍFICA</b> .....	<b>24</b>
<b>5</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>25</b>
5.1	OBJETIVO GERAL.....	25
5.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	25
<b>6</b>	<b>CAPÍTULO 1 - CORRELAÇÕES ENTRE A GENGIVITE- ESTOMATITE CRÔNICA E O VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA FELINA</b> .....	<b>26</b>
<b>7</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>40</b>
<b>8</b>	<b>PERSPECTIVAS</b> .....	<b>41</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>42</b>
	<b>APÊNDICE</b> .....	<b>50</b>
	<b>APÊNDICE A – COMITÊ DE ÉTICA</b> .....	<b>51</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A Gengivite-estomatite crônica felina (GECF) também relatada como estomatite gengivite linfocítica plasmática (LOMMER & VERSTRAETE, 2003) é a segunda patologia oral mais diagnosticada nos felinos seguida da doença periodontal (NIZA et al., 2004). Embora esta enfermidade seja mais observada em gatos, a sua incidência vem crescendo nos pacientes caninos (MEHL et al., 2003).

A etiologia da GECF ainda é desconhecida, no entanto acredita-se que a doença tenha origem multifatorial (ETTINGER & FELDMAN, 2005; ROBSON & CRYSTAL, 2011). Possivelmente vírus, como o Vírus da Imunodeficiência Felina (FIV), bactérias, reação auto-imune, genética, nutrição, ambiente e a domesticação em geral possam algum papel no desenvolvimento desta doença (LYON, 2005), o que torna o tratamento pouco eficiente (BAIRD, 2005; BELLEI et al., 2008).

A FIV é uma retrovírose comum, cuja incidência varia de 0,5 a 23% dos animais avaliados, dependendo da região ou país (BIENZLE et al., 2004). O quadro clínico da imunodeficiência nos animais acometidos é conhecido e os animais afetados são predispostos a infecções oportunistas ou a quadros inflamatórios graves, principalmente devido ao desequilíbrio progressivo da taxa de linfócitos CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> (CAXITO et al., 2006). Enfermidades como infecções bacterianas, fúngicas e por protozoários são comuns nas fases mais adiantadas da FIV. Cerca de 30 a 50% destes animais são afetados por GEF, a qual pode agravar o catabolismo comumente presente em animais FIV positivo, principalmente quando apresentam disfagia (SOBRINHO et al., 2011).

A população de células encontrada na mucosa normal do felino é bastante diversa. No epitélio são comuns linfócitos T CD3<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>, sendo menos presente os linfócitos CD4<sup>+</sup>. Células dendríticas MHC classe II também se distribuem no epitélio, como também na região subepitelial, onde formam grupos com os linfócitos T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>, chamados de “clusters”. Na lâmina própria e submucosa, os mastócitos são mais numerosos, além disso são encontradas também células CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> e plasmócitos em pequenas quantidades, sendo estes mais abundantes ao redor do estroma das glândulas salivares ( HARLEY et al., 2003).

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 MUCOSA ORAL E SUA IMUNOLOGIA

A função imunológica primária na cavidade bucal é desempenhada sumariamente pela mucosa oral, sulcos gengivais, saliva e glândulas salivares. O seu sistema imune faz parte de uma extensão do Tecido Linfóide Associado à Mucosa (MALT) (CZERKINSKY et al., 1999) que entram em contato diretamente com os antígenos estranhos.

A principal barreira mecânica contra microorganismos intra-orais é o epitélio escamoso estratificado, sustentado pela lâmina própria, da mucosa oral. A adesão íntima entre as células epiteliais e a contínua exfoliação do epitélio escamoso limitam a colonização microbiana da superfície. Células apresentadoras de antígenos periféricas e células dendríticas intraepiteliais (Células de Langerhans) se distribuem em grande quantidade em toda mucosa. São importantes de forma que realiza a intercomunicação entre o sistema imune, migrando para os linfonodos regionais, apresentando peptídeos antigênicos à células T helper através de moléculas do Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC)- Classe II (BRANDTZAEG et al., 2001).

O epitélio oral produz um variável número de substâncias com funções imunológicas, e está intimamente em interação com o sistema imune. As células epiteliais orais podem produzir citocinas como: Interleucinas-1 (IL-1), Interleucina-6 (IL-6), Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- alfa), Fator Estimulador de Colônias de Granulócitos e Macrófagos (GM-CSF), além do Fator Transformador de Crescimento beta (TGF-beta) (YE et al., 2003). A microflora oral bacteriana e citocina exógenas, como a Interleucina-8 (IL-8), podem induzir a expressão de moléculas MHC- Classe I e II pelas células do epitélio oral, adquirindo, assim, funções de células apresentadoras de antígenos (BRANDTZAEG et al., 2001).

A saliva, além de desempenhar uma função de remoção mecânica de microorganismos, através de seu fluxo contínuo, possui propriedades imunológicas de acordo com a sua composição. Geralmente é composta por vários agentes antimicrobianos, como Imunoglobulina A (IgA), lactoferrina, lisozimas, aglutininas, peroxidases, fatores do Complemento (C3) e neutrófilos (TENOVUO et al., 1994).

A IgA é o principal componente imunológico da saliva. Ela é sintetizada por plasmócitos associados à glândulas salivares. Essa IgA apresenta-se de forma dimérica e liga-

se a um receptor de imunoglobulinas poliméricas glicoproteicas (pIgR) na membrana celular do epitélio glandular salivar. Sendo assim, transportados em vacúolos por endocitose até a membrana plasmática na superfície da célula na face luminal dos ductos salivares, expondo o complexo para o lúmen. Posteriormente o pIgR é clivado por proteases e a IgA é liberada na saliva (KRAJCI et al., 1991; VUDHICHAMMONG et al., 1992). A IgA não é bactericida e não ativa o sistema complemento, mas é responsável pela chamada “exclusão imune”, evitando a aderência de bactérias e vírus às superfícies epiteliais, podendo neutralizar partículas virais e enzimas bacterianas (VUDHICHAMMONG et al., 1992). Os complexos IgA- antígeno podem se ligar a monócitos, macrófagos, neutrófilos e eosinófilos por meio de um receptor de baixa atividade (CD89), o que pode induzir a produção de superóxidos, opsonização, citotoxicidade celular mediada por anticorpos e liberação de mediadores inflamatórios (LIEW et al., 1984).

Em uma gengiva normal, ocorre um deslocamento contínuo de leucócitos, dentre eles neutrófilos e linfócitos, dos capilares para o sulco gengival, atraídos por peptídeos bacterianos e por IL-8 produzida pelo epitélio gengival (PAGE et al., 1998). Os neutrófilos ao chegarem na região do sulco gengival ativam a capacidade de fagocitose e destruição de microorganismos. Em humanos, a neutropenia pode resultar em pioras em quadros de placas dentárias e doenças periodontais, além de favorecer infecções orais oportunistas como a candidíase (VAN DYKE et al., 1990).

A ativação da resposta imune oral se inicia com a fagocitose de antígenos por macrófagos, células dendríticas ou Células de Langerhans na mucosa oral. Estas células processam os antígenos internamente e apresentam os fragmentos peptídeos através de moléculas de superfície da membrana plasmática, como as MHC-II, aos linfócitos T helper 1, o que desencadeiam o primeiro sinal de resposta imunológica (GERMAIN et al., 1994), ativando vários mecanismos, dentre eles a produção e liberação de IL-1, IL-6, TNF-alfa, IL-12 e IL-15, que possuem funções quimiotáticas e ativadoras de outros linfócitos, como as células T helper 2 e promove a proliferação de linfócitos B (WONG et al., 2003). Os linfócitos T helper 1, caracteristicamente secretam TNF- alfa, Interferon- gama e IL-2, ativando macrófagos e linfócitos citotóxicos, gerando imunidade contra microorganismos intracelulares, como os vírus (ROMAGNANI et al., 1994)

As células T citotóxicas são também ativadas por MHC- classe I, que apresentam antígenos virais na membrana de células infectadas, ocasionando a destruição destas através da lise direta ou indução de apoptose (MACDERMOTT et al., 1980).

Finalmente, outra célula que desempenha papel importante na imunidade antimicrobiana oral é o mastócito, que funciona também como célula sentinela. Possuem uma

grande variedade de receptores, bem como a capacidade de reconhecer antígenos. Além de desgranulação, podem produzir citocinas, leucotrienos, histamina, serotonina e peptídeos antimicrobianos, causando o aumento da permeabilidade vascular e atração de neutrófilos (HARLEY et al., 2002).

## 2.2 GENGVITE-ESTOMATITE FELINA

A Gengivo-estomatite crônica felina (GECF) ou estomatite gengivite linfocítica plasmocítica (LOMMER et al., 2003), é a segunda patologia oral mais diagnosticada nos felinos, ficando atrás da doença periodontal (NIZA et al., 2004). Os dados da prevalência da GECF ainda são pouco relatados, mas um estudo do Reino Unido descreveu a prevalência de 0,7% de todos os atendimentos felinos (HEALEY et al., 2007).

A GECF caracteriza-se por lesão proliferativa e ulcerativa na cavidade oral observada principalmente no arco glossopalatino e na gengiva bucal, podendo afetar áreas como faringe, língua e lábios (BELLEI et al., 2008). O formato irregular da lesão torna difícil a delimitação entre o tecido sadio e o tecido alterado (LEIRIÃO-RIVA et al., 2004).

As lesões inflamatórias crônicas presente em animais com GECF podem se estender pela cavidade oral chegando até a região do arco glossopalatino sendo então denominada de “estomatite caudal” (LOMMER et al., 2003; SOUTHERDEN et al., 2007 ). O complexo gengivite-estomatite é uma doença extremamente complexa, sem etiologia definida e sem tratamento definitivo eficaz (MATILDE et al., 2013). Alguns autores acreditam que possa estar associada com outras doenças: como infecções virais (LEE et al., 2010) e distúrbios autoimunes como lúpus eritematoso sistêmico e pênfigo.

### 2.2.1 Epidemiologia

Existe uma grande contradição entre a existência ou não de uma predisposição por idade, raça ou sexo. Gatos das Raças Siamês, Abissínia, Persa, Himalaia e Birmanesa são citadas como predispostas, por apresentarem lesões características da GECF normalmente de forma mais acentuada, o que poderia indicar predisposição genética (QUIMBY et al., 2007; HENNET et al., 2011). Foi demonstrado que não há correlação significativa entre a GECF e a idade, sexo e raça do animal (HEALEY et al., 2007). Por outro lado foi descrito que o complexo GECF acomete mais felinos com idade entre quatro e dezessete 17 anos (ROBSON et al., 2011) com média de oito anos (SPRANDEL et al., 2009).

### 2.2.2 Patogenia

Em casos de GEFC a resposta exuberante aos ativadores dos linfócitos B policlonais o que leva a uma resposta imunológica insuficiente para controlar os antígenos virais e bacterianos, mas suficientemente expressiva para produzir uma inflamação crônica local (HARLEY et al., 2003).

Casos de gengivite apresentaram aumento na expressão das citocinas relacionadas as células CD3+ e CD4+, e nas imunoglobulinas IgG e IgM, com intensa imunomarcção, quando comparados aos animais controles (HARLEY et al., 2003). Embora os níveis salivares de IgM e de IgG em animais com GEFC encontram-se aumentados, corroborando com os níveis séricos, as imunoglobulinas do tipo A apresentam níveis salivares inferiores comparados aos animais sadios (HARLEY et al., 2011). Os mesmos autores acreditam que a diminuição da IgA na saliva destes animais com GEFC seria em consequência do processo inflamatório intenso, o que poderia ocasionar mudanças na taxa de fluxo salivar da IgA, supressão do mecanismo de secreção ou mesmo destruição e perda ocasionada por proteases e toxinas bacterianas, e não estaria relacionado com a baixa produção, já que os níveis séricos estão aumentados nos indivíduos com GEFC. Entretanto, em resultado disso, acredita-se que a baixa concentração salivar de IgA seja um importante fator para a patogênese da doença, por predispor o animal à infecções orais persistentes (HARLEY et al., 2003).

A mucosa oral hígida apresenta predomínio de IL-2, IL-10, IL-12 e IFN- $\gamma$ , citocinas oriundas dos linfócitos T-helper 1, relacionadas a resposta imune melhor adaptada a flora oral bacteriana (HARLEY et al., 1999). Entretanto na GEFC, a qual apresenta resposta imunológica exacerbada observa-se a presença de linfócitos T-helper 1 e T-helper 2 (ADDIE et al., 2003). Assim, em casos de animais com GEFC é observado um aumento progressivo na expressão de IL-2, IL-10, IL-12 e IFN- $\gamma$ , associado à expressão de IL-6 e IL-4, de acordo com o aumento da intensidade das lesões (HARLEY et al., 1999). Em processos inflamatórios da cavidade oral em humanos há aumento na presença de linfócitos Th- 17+ (ADIBRAD et al., 2012; CARDOSO et al, 2009 ), algo ainda não descrito em felinos com GEFC.

O número de plasmócitos, de CD3+, com predominância de CD8+, e neutrófilos e a expressão de MHC classe II nos tecidos afetados estão diretamente relacionado com o grau de inflamação da lesão. Os plasmócitos encontrados são predominantemente do isotipo IgG, determinando assim, a maior quantidade desta imunoglobulina na saliva destes animais, já que a produção destas células atinge a cavidade oral através dos fluidos gengivais e por meio da



transudação através do epitélio danificado. A maior população de Linfócitos T CD8+ nas mucosas afetadas sugere a participação importante de patógenos intracelulares, como vírus, na etiopatogenia da doença (HARLEY et al., 2011).

Os granulócitos e monócitos são encontradas raramente na mucosa oral sadia de gatos, mas representa o segundo fenótipo celular mais comum em mucosas orais de gatos afetados por GEFC (HARLEY et al., 1999).

A expressão de MHC classe II tem sido relatada em vários tipos de células, incluindo as células dendríticas, linfócitos B, linfócitos T e monócitos-macrófagos, timócitos e células epiteliais (WALY et al., 2001). O aumento da população destas células nas mucosas afetadas pela GEFC sugere que altos níveis de apresentação de antígenos ocorrem nas lesões orais, o que pode contribuir para a indução e perpetuação da resposta inflamatória local.

### 2.2.3 Etiologia

A etiologia da Gengivo-estomatite crônica dos felinos é desconhecida. No entanto acredita-se que a doença tenha origem multifatorial (ETTINGER, 2005). Possivelmente vírus, bactérias, reação auto-imune, genética, nutrição e o ambiente possuem algum papel no desenvolvimento da doença (LYON, 2005). A falta de definição tanto da etiologia quanto da patofisiologia da GEFC, torna o tratamento dessa patologia limitado (BAIRD, 2005).

Estudo científicos reportam possíveis agentes infecciosos na etiologia da GEFC em gatos, sendo citado o vírus imunodeficiência felina (FIV), vírus da leucemia felina (FeLV) (COSTA et al., 2007) calicivírus felino (FCV) e herpesvírus felino 1 (FHV-1) (LOMMER et al., 2003) e bactérias (DOLIESLAGER et al., 2011).

Nenhum agente etiológico específico foi comprovado como desencadeador da resposta imunológica. Uma das hipóteses na etiopatogenia da doença é a de uma alteração imunológica do hospedeiro, que promove uma resposta exacerbada e a autodestruição dos tecidos orais envolvidos no processo inflamatório (COSTA et al., 2007).

#### a) Bactérias

A inflamação periodontal resulta do um desequilíbrio entre a formação da placa bacteriana e a resposta imunológica do hospedeiro decorrente da alteração no número e espécies de bactérias ou da imunidade do hospedeiro (LYON, 2005).

A associação entre a presença de bactérias, como *Prevotella sp*, com a doença periodontal humana já é bem estabelecida (KEIJSER et al., 2008). Portanto, a identificação e

caracterização das espécies bacterianas presentes na cavidade oral dos felinos saudáveis e com GECF é importante para elucidar o possível papel destas na patogênese da doença (DOLIESLAGER et al., 2013). Animais com GECF tem uma menor diversidade da microbiota bacteriana quando comparados com gatos normais, além de ser observado uma maior quantidade da espécie *Pasteurella multocida* na cavidade oral dos felinos afetados. Esse aumento na sua prevalência em casos de GECF sugere que pode ser um importante agente etiológico desta doença (DOLIESLAGER et al., 2011).

*Bartonella henselae* foi implicada como possível agente etiológico da GEFC13. Entretanto, sugere-se que as bactérias não sejam a causa primária da GECF e sim um fator perpetuante, visto que a antibioticoterapia não leva à cura desta doença (ROBSON et al., 2001) e a imunomodulação frequentemente leva à melhora do quadro.

#### b) Vírus

Doenças sistêmicas virais causadas pelo Vírus da Imunodeficiência Felina (FIV), Vírus da Leucemia Felina (FeLV), Herpesvírus (FHV) e Calicivírus (FCV), podem contribuir para o desenvolvimento da GECF, no entanto não foi claramente estabelecida totalmente uma relação entre a GECF e essas doenças (LOMMER et al., 2003).

Pesquisas tem relacionado agentes virais a GECF: 50% Cinquenta por cento de animais com GECF foram positivos para o vírus da imunodeficiência felina (FIV ) (HENNET, 2005). Correlacionou- se também, através da tecnologia do PCR de biópsias orais, gatos infectados com Calicivírus Felino (FCV) e com herpes vírus (FHV) e observou- se que 97% dos gatos com GECF eram infectados com Calicivírus Felino (FCV) e somente 15% destes eram infectados com Herpes Vírus (FHV) (HENNET, 2005). A correlação feita entre o Vírus da Leucemia Felina (FeLV) e a GECF ainda não se encontra bem estabelecida, sendo vista uma variação entre 0 e 17% entre as enfermidades (HARLEY et al., 2003). Esses dados sugerem que a presença desses vírus poderá está associada a ocorrência da GECF.

#### c) Fungos

A presença de lesões ulcerativas na mucosa da cavidade oral, língua e junções mucocutâneas, com subsequente dor, halitose, disfagia/anorexia, associadas à presença de *Candida* spp., determinada por swabs intraorais e cultura de células fúngicas (BIBERSTEIN et al., 2003). A associação de candidíase oral e o Virus da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida em humanos já é bem conhecida (CAVASSANI et al., 2002), o que torna

importante a investigação do papel da *Candida sp* em gatos portadores de FIV com lesões orais.

#### d) Alimentar

A resposta antigênica a algumas proteínas e à a deficiência de certos micronutrientes da dieta dos gatos é considerada um importante fator na etiopatogenia da GECF (NIZA et al., 2004). Em humanos esta mais diretamente relacionada com o consumo de alguns aditivos alimentares como carboidratos de alta ingestão e com a alteração do pH salivar ácidos (RAMAGE et al., 2004).

### 2.2.4 Sinais clínicos

Os sinais clínicos da GECF variam de acordo com o grau da lesão inflamatória . Pode-se observar disfagia, perda de peso, ptialismo, halitose, mudança no comportamento (diminuição da autohigienização), sialorréia, prurido, dor na abertura da cavidade oral e dificuldades de apreensão do alimento (SOUTHERDEN et al., 2007).

Clinicamente, observam-se lesões ulcerativas ou proliferativas nas regiões da faringe, arco glossopalatino, gengiva, mucosas alveolares, jugal e lingual. De acordo com a intensidade, tipo e proliferação da inflamação, a doença pode ser clinicamente classificada em quatro graus, de acordo com a extensão de área total acometida da cavidade oral, no qual 0 está relacionado à mucosa oral sem alteração; grau 1, ligeira inflamação, com hiperemia marcante somente na área glossopalatina e pouco tecido proliferativo; grau 2, moderada inflamação, com extensão para as áreas gengivais dos dentes pré- molares inferiores e superiores, com hiperplasia gengival e tecido proliferativo e grau 3 ,intensa inflamação, com as lesões atingido todos os quadrantes da cavidade oral e formação intensa de tecido proliferativo ao redor dos dentes molares e pré- molares inferiores e superiores.

Alguns animais demonstram-se tolerantes a dor mesmo apresentando o estagio mais avançado da doença (WIGGS et al., 1997). A inflamação encontrada nos tecidos laterais estendendo-se até o arco glossopalatino e/ou na sobreposição da mucosa na área do pré-molar e molar estendendo-se até a área vestibular da mucosa, são as formas mais graves e mais difíceis de se tratar (HENNET et al., 2011).

### 2.2.5 Diagnóstico

É importante a realização de criteriosa anamnese e de exame físico da cavidade oral. A doença periodontoal deverá ser excluída e a confirmação deverá ser realizada por meio de exame (NELSON & COUTO, 2001). Outros exames devem ser realizados para investigar possíveis agentes virais, bacterianos e fúngicos que possam estar associados.

#### e) Exames Laboratoriais

Os exames laboratoriais de rotina devem incluir exames como hemograma, perfil bioquímico sérico, urinálise e teste para diagnóstico de doenças sistêmicas, tais como nefropatias, além de cultura para anaeróbios (NELSON & COUTO, 2001).

As análises sorológicas e virológicas dirigidas à pesquisa dos agentes virais como Calicivírus Felino, Herpesvírus tipo 1, FeLV e FIV, que podem estar envolvidos na etiologia desta afecção, devem ser realizadas (HARVEY et al., 2006; CAMY, 2003). O proteinograma é um exame indicado, pois em quase metade dos gatos afetados ocorre hiperproteinemia devida a hipergamaglobulinemia (GIOSO, 2007).

#### f) Histopatológico

As alterações normalmente encontradas nos resultados da biópsia são ulceração, hiperplasia epitelial e infiltrado inflamatório difuso predominantemente linfoplasmocitário (COSTA et al., 2007). Relata-se ainda a presença de inflamação crônica, com um número variável de linfócitos, neutrófilos (LYON, 2005) e mastócitos (ARZI et al., 2010).

#### g) Diagnóstico diferencial

Os principais diagnósticos diferenciais são: doença periodontal severa, imunodepressão associada a infecção pelo FeLV, granuloma eosinofílico, diabetes melito, insuficiência renal e doenças auto-imunes, tais como penfigus vulgaris, necrose epidérmica tóxica, vasculite por hipersensibilidade, lúpus eritematoso e eritema multiforme (GIOSO, 2007).

### 2.3 VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA FELINA (FIV)

Doenças sistêmicas virais causadas pelo FIV, FeLV, FHV e FCV podem contribuir para o desenvolvimento da GEFC, no entanto ainda não foi estabelecida totalmente a relação da GEFC com estas doenças (LOMMER & VERSTRAETE, 2003). Entretanto, foi

reportada uma correlação de 50% entre o vírus da imunodeficiência da felina (FIV) e a GEF (COGNET et al., 2001).

### **2.3.1 Etiologia**

O FIV é um lentivírus que está correlacionado com o Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) e ao Vírus da Imunodeficiência Símia (SIV) (ELDER et al, 2010; STUMP & VANDEWOUDE, 2007) pois possuem características moleculares, ciclo de vida e patogenia similar ao HIV, não sendo transmitido ao homem e infectando apenas felinos domésticos e selvagens (HOSIE et al., 2009). O vírus já foi descrito em vários países, sendo a sua prevalência variável de acordo com as localizações geográficas (SELLON, 1998).

O FIV exibe uma variação genética entre os subtipos virais, bem como diferenças de distribuição geográficas dos subtipos, sendo classificado em subtipos A, B, C, D e E (DUNHAM, 2006; TILLEY e SMITH, 2003; CAXITO et al., (2006). A maioria já identificada pertence aos subtipos A e B (DUARTE; TAVARES, 2005; YAMAMOTO et al., 2007), sendo o subtipo B, o encontrado no Brasil (CALDAS et al., 2000). Entretanto a existência de mais de um subtipo é possível em um mesmo animal (REGGETI & BIENZLE, 2004).

### **2.3.2 Epidemiologia e transmissão**

O FIV é um vírus que causa uma alta incidência de mortalidade em gatos domésticos, tendo uma prevalência em torno de 28% (DUNHAM, 2006). O que varia de acordo com o país, densidade populacional dos gatos, estado reprodutivo, idade, gênero e o livre acesso a rua (NORRIS et al., 2007)

A transmissão não costuma ser comum entre espécies diferentes (O'BRIEN et al., 2006). A transmissão horizontal acontece normalmente através de mordeduras, já que o vírus é eliminado em altas concentrações na saliva, que também contém leucócitos infectados (ALLISON & HOOVER, 2003). Os fatores de risco para a infecção são felinos machos em idade adulta com acesso à rua, enquanto estilo de vida *indoor* e a esterilização estão associadas à redução as taxas de infecção (LEVY et al, 2006). Um outro fator que deve ser citado como predisposição é a condição de saúde do animal (SOUZA et al., 2002).

A transmissão também pode ocorrer via transplacentária ou transmamária, em casos de fêmeas gestantes portadoras do vírus (GRACE, 2004).

### 2.3.3 Patogenia

A infecção por FIV é acompanhada de uma disfunção do sistema imune, pois este é capaz de induzir uma perda progressiva de linfócitos CD4+ e CD8+, devido ao seu tropismo por linfócitos T CD4 e T CD8, linfócitos B, macrófagos e células do sistema nervoso central, o que permite a ocorrência de infecções crônicas e recorrentes devido à síndrome de imunodeficiência, que é caracterizada por um longo período de incubação, evolução clínica lenta e curso progressivo (CALDAS et al., 2000, ARJONA, 2000). BIENZLE e colaboradores (2004) relata ainda o seu tropismo por monócitos.

A detecção o vírus principalmente nos leucócitos indica uma infecção aguda, sendo observado um grande aumento no número de macrófagos/monócitos e diminuição no número de linfócitos T no auge dessa fase e na fase final da patogenia (BEEBE et al., 1994).

Atualmente há indícios de que a imunossupressão pelo FIV pode ser exacerbada por disfunção na síntese de hormônios esteróides, a partir do aumento na concentração de estradiol e testosterona. Estudos sugerem que essas alterações hormonais possam agravar o quadro de imunossupressão de pacientes positivos para FIV, diminuindo a expressão do MHC II, a apresentação de antígenos, e a expressão de citocinas pelas células linfóides (TEJERIZO et al., 2012)

### 2.3.4 Sinais Clínicos

Os sinais clínicos observados podem surgir por conta da infecção viral ou por consequência da síndrome da imunodeficiência que se associa com infecção (CHANDLER et al., 2006). Os sinais inespecíficos mais comumente observados são a linfadenopatia, mucosas pálidas, desidratação, gengivite/estomatite, perda de peso, apatia, linfadenomegalia, alterações nos sistemas digestório, tegumentar, oftálmico e nervoso (TEIXEIRA, 2003; ARJONA, 2000; SOBRINHO et al., 2011). A imunodeficiência pode gerar infecções secundárias e neoplasia, ou estimulação imunitária, resultando em doença imuno-mediada, incluindo problemas como gengivostomatite crônica, rinite crônica, adeno linfopatia, glomérulo nefrite imunomediada e perda de peso (PENNISI, 2002).

Enquanto alguns animais apresentam rápida evolução dos sinais clínicos, outros apresentam sintomatologia discreta, podendo permanecer assintomáticos por longos períodos. No entanto, na maioria dos gatos, à medida que a doença avança, os sinais clínicos se tornam mais persistentes e mais graves (CHANDLER et al., 2006). Durante o período assintomático

ocorre uma disfunção progressiva do sistema imune o que facilita a ocorrência de inflamações crônicas e infecções oportunistas, já que ocorre uma diminuição dos linfócitos T CD4 (GOTO et AL., 2002).

### **2.3.5 Diagnóstico**

O diagnóstico das infecções por FIV é feito através da associação do exame clínico com exames laboratoriais complementares. Os testes sorológicos para detecção de anticorpos específicos ou antígenos virais são muito utilizados na prática clínica, sendo estes o ensaio de imunoadsorção enzimática (ELISA) (MIYAZAWA, 2002) e o Western blot (HOSIE et al., 2009), no entanto gatos em estágio terminal da infecção podem apresentar títulos baixos de anticorpos ou mesmo serem negativos (GRACE, 2004).

A detecção do anticorpo anti-FIV acontece dentre 2 a 4 semanas após a inoculação, podendo variar de acordo com a quantidade de exposição ao vírus.

Testes moleculares, como a reação em cadeia da polimerase (PCR), são eficientes para a detecção do DNA proviral (CALDAS et al., 2000; MIYAZAWA, 2002). Essa técnica baseia-se na detecção do vírus no linfócito T ativado pela amplificação da sequência de ácidos nucleicos do FIV no sangue periférico ou em outras células infectadas pelo vírus, sendo extremamente sensível para a ampliação e detecção de pequenas quantidades de DNA ou de RNA viral (AVERY, 2001). No entanto pode apresentar falhas na detecção de vírus com variações genômicas (BIENZLE et al., 2004). HARTMANN e colaboradores (2007) compararam diversos testes comerciais de diagnóstico para o FIV e demonstraram que os testes que utilizam antígenos recombinantes de capsídeo e transmembranar apresentam maior sensibilidade.

A Cultura do vírus é o padrão-ouro para a identificação da infecção pelo FIV mas não é rotineiramente disponível (HARTMANN et al., 2001).

### **3 JUSTIFICATIVA**

A gengivite-estomatite felina é uma enfermidade que causa graves transtornos ao animal acometido, limitando a qualidade de vida e sanidade, cuja etiologia e o tratamento ideal ainda não está estabelecido, o que diminui as possibilidades de cura e controle da doença (BELLEI et al., 2008; MATILDE et al., 2013). A alta prevalência em gatos FIV-positivos exige uma avaliação aprofundada do padrão morfológico e microscópico das lesões orais, a fim de auxiliar e propor um diagnóstico, tratamento e prognóstico mais favorável da GEF no gato acometido (COSTA et al., 2007)



#### **4 HIPÓTESE CIENTÍFICA**

- a) Há uma exacerbação e maior gravidade do processo inflamatório na mucosa oral de gatos com gengivite-estomatite crônica e portadores do FIV.

## 5 OBJETIVOS

### 5.1 GERAL

- a) Estudar e caracterizar morfológicamente as lesões orais de pacientes felinos FIV positivos acometidos pela gengivite-estomatite, a fim de elucidar a participação do FIV na etiopatologia da doença.

### 5.2 ESPECÍFICOS

- a) Identificar e determinar as características histopatológicas da população de células inflamatórias na mucosa oral de gatos com GECF e positivos para FIV;
- b) Correlacionar o grau histopatológico de GECF com o grau de imunomarcção anti-FIV ;
- c) Correlacionar o escore de lesão clínica com o grau histopatológico;
- d) Correlacionar o grau de imunomarcção com o escore clínico.

## 6 CAPÍTULO 1:

### **Correlações entre a Gengivite- Estomatite Crônica e o Vírus da Imunodeficiência Felina**

(Correlations between Gengivite- Chronic Stomatitis Virus and Feline Immunodeficiency)

Periódico: Ciência Rural

(Submetido em: 05 de junho de 2015)

Correlações entre a Gengivite- Estomatite Crônica e o Vírus da Imunodeficiência Felina

Sousa Filho, R.P.; Sampaio, K.O.; Montenegro, A. R.; Cagnini, D. Q.; Cunha, M. G. M.  
C.M.; Evangelista, J. S. A. M.

#### RESUMO

A gengivite-estomatite crônica felina (GECF) representa um desafio para o clínico veterinário por apresentar etiologia e tratamentos ainda indefinidos. O presente estudo teve por objetivo investigar o papel do vírus da imunodeficiência felina (FIV) na severidade na GECF. Para isso foram realizadas biópsias incisionais da mucosa oral de 19 gatos com GECF, divididos em dois grupos, FIV positivos e FIV negativos, e depois correlacionados de acordo com os resultados histopatológicos e de imunohistoquímica para FIV. A maior parte dos animais apresentaram significativas alterações, entretanto não observou-se correlação com a intensidade de imunomarcção para FIV. Concluiu-se que a imunomarcção para o vírus da FIV e a soropositividade dos animais não parecem interferir na gravidade dos sinais clínicos e nem no grau das alterações histopatológicas, quando comparadas com o grupo soronegativo.

**PALAVRAS CHAVES:** Mucosa oral, imunossupressão, inflamação.

#### ABSTRACT

The feline chronic gingivitis-stomatitis (FCGS) is a challenge for the veterinary practitioner since its etiology and treatments remains undefined. The present study aimed to investigate the role of the feline immunodeficiency virus (FIV) in the severity of the FCGS. To this,

incisional oral mucosa biopsies were taken from 19 cats with FCGS and then divided into two groups, FIV positive and FIV negative. Further they were correlated with histopathology and immunohistochemistry results for FIV. Most of the animals had significative changes, although no correlation with the intensity of immunostaining for FIV was observed. It was concluded that the presence FIV infection or the seropositive status of the animals does not seem to interfere with the severity of clinical signs nor the degree of histopathological changes when compared to the seronegative group.

KEYBOARDS: oral mucosa, immunosuppression, inflammation.

## INTRODUÇÃO

A Gengivo-estomatite crônica felina (GECF) ou estomatite gengivite linfocítica plasmocítica (LOMMER et al, 2003) caracteriza-se por apresentar lesões proliferativas e ulcerativas na região do arco glossopalatino e na gengiva bucal, podendo afetar áreas como faringe, língua e lábios (HEALEY et al, 2007). É uma doença extremamente complexa, sem etiologia definida e sem tratamento definitivo eficaz (BELLEI et al, 2008). Parece estar relacionada com outras patologias, tais como como infecções virais e distúrbios autoimunes, como lúpus eritematoso sistêmico e pênfigo ( LEE et al, 2010). Uma das hipóteses na etiopatogenia da doença é a falha imunológica do hospedeiro, que promove uma resposta exacerbada e a autodestruição dos tecidos orais envolvidos no processo inflamatório (ARZI, et al 2009).

Evidencias científicas apontam diversos agentes virais na etiologia da GECF, como o Vírus da Imunodeficiência Felina (FIV), que foi reportada uma correlação de 50% com esta; o Vírus da Leucemia Felina (FeLV) (HEALEY et al., 2007); o Calicivírus Felino (FCV) e o Herpesvírus Felino 1 (FHV-1) (LOMMER et al, 2003).

O FIV é um lentivírus capaz de induzir uma perda progressiva de linfócitos CD4+ e CD8+, devido ao seu tropismo por linfócitos T CD4, linfócitos B, macrófagos e células do sistema nervoso central. Essa alteração permite a ocorrência de infecções crônicas e recorrentes devido à síndrome de imunodeficiência, caracterizada por um longo período de incubação, evolução clínica lenta e curso progressivo (ARJONA, 2000).

Devido à disfunção progressiva do sistema imune que ocorre nos animais FIV positivos, e a comum associação do vírus com a GECF, o objetivo desse trabalho, foi correlacionar o escore de lesão clínico, o grau histopatológico de lesões de GEFC e o grau de

imunomarcção anti-FIV apresentados por animais positivos para FIV, a fim de demonstrar uma provável associação da retrovirose com a maior gravidade da doença oral.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### 1- Animais e exame clínico:

Foram avaliados 19 gatos (*Felis catus*) com sinais clínicos de GECE por no mínimo seis meses e sem o uso de glicocorticoides por no mínimo dois meses. Os animais eram provenientes da rotina clínica da Unidade Hospitalar Veterinária (UHV) da Universidade Estadual do Ceará (UECE), dentre estes cinco eram da raça siamesa, três da raça persa e 11 não tinham raças definidas. No grupo haviam oito fêmeas e 11 machos, com idade variando de um ano e seis meses a oito anos. Foram selecionados mais seis animais que apresentaram morte por trauma ou receberam indicação de eutanásia e que não fossem portadores de doenças sistêmicas crônicas e/ou degenerativas, para a formação do grupo controle.

Todos os animais foram submetidos a teste imunocromatográfico<sup>a</sup> para FIV e FeLV com a utilização de uma amostra de sangue total. Em seguida os animais foram divididos em dois grupos de acordo com os resultados positivos ou negativos para o vírus nos testes.

Os animais foram submetidos à anestesia para avaliação clínica minuciosa da cavidade oral e posterior procedimento de biópsia. Posteriormente foram classificados de acordo com o escore de lesão macroscópica e divididos em 5 classes, no qual o escore zero (0) significava ausência de lesão; o escore 1: hiperemia glossopalatina, sem ulceração, sem proliferação e sem sangramento; escore 2: hiperemia glossopalatina, com proliferação, sem ulceração e sem sangramento; escore 3: hiperemia glossopalatina, com proliferação, ulceração e sangramento induzido por leve compressão digital, e escore 4: hiperemia glossopalatina, com proliferação, ulceração e sangramento espontâneo ( Figura 1A-D).

### 2- Biópsia e Processamento Histológico:

Realizou-se biópsia incisiva, retirando-se uma amostra de aproximadamente 4 mm de mucosa oral lesionada, sempre na região caudal do arco glossopalatino, com o uso de um *punch*. O material da biópsia foi fixado em solução de formalina tamponada neutra a 10% por

24 horas, para posterior processamento histológico. Os cortes foram realizados com 3µm de espessura, e corados com hematoxilina/eosina (H&E) e Azul de Toluidina .

### 3- Processamento imuno-histoquímica:

O material coletado foi submetido a processamento de imuno-histoquímica para detecção dos antígenos virais do FIV. Foram feitos cortes de 5µm em lâminas silanizadas e dado início ao procedimento de desparafinização para posterior hidratação e recuperação antigênica com tampão de ácido cítrico 0,005M, aquecido, sob pressão constante por 5 minutos, a incubação foi feita com solução de peróxido de hidrogênio 6% por 30 minutos para o bloqueio da peroxidase endógena. Os cortes foram incubados overnight com o anticorpo monoclonal para o vírus FIV<sup>b</sup>, diluído (PBS; 1% de albumina de soro bovino, 0,3% de Tween 20 e 0,1% de azida sódica) na concentração de 1:200, sendo posteriormente lavados em PBS e incubados com polímero<sup>c</sup>.

As áreas positivas para FIV foram evidenciadas após coloração com solução de diaminobenzidina, a contracoloração foi feita com hematoxilina de Harris. Os controles negativos foram realizados com a remoção do anticorpo primário. Os controles negativos foram realizados com a remoção do anticorpo primário.

### 4- Análise das Amostras:

#### 4.1- Histopatológico:

Uma análise quantitativa aleatória foi realizada de acordo com os tipos de células inflamatórias encontradas e posteriormente classificadas em uma escala de quatro pontos, com base no grau de inflamação, como preconizado por Harley e colaboradores (2003), em que 0 = ausência de inflamação (normal), 1 = inflamação leve, 2 = moderado, 3 = inflamação grave. Foram capturadas imagens digitalizadas de forma padronizada pelo microscópio trinocular Motic® BA310 com câmera acoplada (Motic® 2000 2.0 MP Live Resolution) e uso do software Motic Image Plus 2.0.

Foi realizada análise quantitativa aleatória com contagem de células inflamatórias: neutrófilos, macrófagos, plasmócitos, eosinófilos, linfócitos e mastócitos, entre os grupos com GECEF, positivos e negativos para FIV. A contagem foi realizada em 10 campos com aumento de 400x, contando no mínimo 500 células e fazendo-se o diferencial em percentual.

#### 4.2- Imunohistoquímica:

A quantificação de células inflamatórias imunomarcadas foi realizada utilizando-se o software Motic Image Plus 2.0 . A contagem foi realizada em um total de 20 campos, em aumento de 400x, de maneira aleatória, em cada animal e os resultados das somatórias das quantificações de todos os campos foram transformados em porcentagem através da fórmula seguinte:  $(\sum (A)/20) \times 100$

Onde (A) corresponde a área de células imunomarcadas em cada campo visualizado. Em seguida os animais foram classificados baseados nesta porcentagem, sendo distribuídos em graus de imunomarcaçã, aonde o grau 0 (zero) corresponde a uma marcação nula, o grau 1(um) a uma fraca marcação (até 10%), o grau 2(dois) a uma moderada marcação (de 10,01% a 50%), o grau 3(três) a uma forte marcação (50,01% a 70%) e o grau 4(quatro) a uma intensa marcação (acima de 70,01%).

#### 5- Análise estatística:

Todos os parâmetros foram submetidos à análise estatística por métodos não-paramétricos: o teste T para a comparação do número de células inflamatórias quantificadas no histopatológico entre o grupo FIV positivo e negativo e o de Spearman para a correlação do escore clínico de lesão e o grau de imunomarcaçã entre os dois grupos. Utilizou-se o programa Graph Pad Prism 5.0 (GraphPad Software, Inc., CA. USA), com P = 0,05.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados dos testes imunocromatográficos para FIV e FeLV, os animais foram divididos em dois grupos distintos, sendo oito animais FIV positivos, 11 FIV não-positivos. Entretanto, dois animais do grupo FIV negativo (animais 4 e 19) apresentaram imunomarcaçã para FIV.

Resultados falsos-negativos são possíveis nos exames imunocromatográficos, principalmente no início e em quadros terminais da infecção, em que não há ainda uma soroconversão, ou quando já ocorre uma imunodeficiência (HOSIE et al, 2009). Os dois gatos apresentavam quadros graves de gengivite-estomatite, com grau de lesão histopatológica e

escore clínico elevado e com histórico de conviverem com vários contactantes não testados para FIV, o que pode sugerir uma infecção crônica, em uma fase com baixa disponibilidade de anticorpos para reagir com o teste. Nenhum animal foi positivo para o FeLV, o que diverge da alta prevalência e associação deste com a GECF (QUIMBY et al, 2007).

Os principais sinais clínicos apresentados foram: hiperemia glossopalatina 100% (20/20), aumento de linfonodos submandibulares 95% (19/20), halitose 90% (18/20), disfagia 90% (18/20), dor ao abrir a boca 75% (15/20), sialorréia 75% (15/20), hiperplasia de mucosa oral 65% (13/20), sangramento oral espontâneo 50% (10/20), perda de peso 50% (10/20), anorexia 45% (9/20), ulceração oral 45% (9/20), lesões de reabsorção dentária 20% (4/20) como citados por BELLEI et al. (2008) . Não houve diferença significativa dos sinais clínicos entre os animais FIV positivo e FIV negativo.

Na classificação em escore de lesões macroscópicas, foi verificado que tanto no grupo dos gatos positivos para FIV quanto nos negativos a maioria dos animais eram classificados com escore três, sendo (33,33%) e (45,5%) respectivamente ( Tabela 1). Já em relação à classificação histopatológica verificou-se que 88,88% dos animais FIV positivos e 90, 9% dos FIV negativos eram classificados com grau 3.

Os resultados semelhantes nos dois grupos, em relação à distribuição dos animais nas classificações de escore clínico das lesões e grau histopatológico, provavelmente se deve ao fato de que a maior parte dos gatos utilizados no experimento apresentaram um estágio avançado da GECF, o que dificultou a análise comparativa e do possível papel agravante que a FIV provoca nesse quadro inflamatório ( HARTMANN, 2011).

As principais alterações histopatológicas encontradas em ambos os grupos foram: hiperplasia, paraqueratose, degeneração vacuolar do epitélio e ulceração. O infiltrado inflamatório era composto principalmente por plasmócitos (Fig.1F), linfócitos, neutrófilos(Fig. 1G) e mastócitos, acometendo a submucosa, regiões perivasculares e glândulas salivares, (HARLEY et al, 2011; HEALEY et al, 2007). Em três animais, dois FIV positivos e um FIV negativo, foram encontradas frequentes Células de Mott (Fig. 1E), plasmócitos com múltiplos vacúolos de imunoglobulina, principalmente IgM. Todos os três animais apresentavam um grau histopatológico considerado alto e graves de doenças periodontais associadas, como cálculos dentários e lesões de reabsorção dentária. Isso indica que a GECF pode se apresentar juntamente com a doença periodontal, que é comum em gatos FIV positivos (ELDER, 2010).

Não houve correlação na quantificação do infiltrado das células inflamatórias com o escore clínico ( $p > 0,05$ ), assim a apresentação dos sinais clínicos não parece ser um valor



preditivo importante e alguns animais com o escore clínico baixo, já apresentavam alterações histopatológicas importantes, como os resultados de HARLEY et al (2011).

O infiltrado inflamatório nos dois grupos era constituído principalmente por plasmócitos e neutrófilos, seguidos de linfócitos. Macrófagos e mastócitos foram encontrados em menor quantidade, e eosinófilos não estavam presentes nas amostras examinadas (Tabela 2), o que difere do trabalho já referenciado de HARLEY et al (2011), em que a quantidade de linfócitos foi considerada superior a de neutrófilos. Não observou-se diferença na média da quantificação de cada célula comparando-se os dois grupos ( $p > 0,05$ ).

Sabe-se que o vírus da FIV ocasiona um decréscimo na população de neutrófilos do felino acometido (YAMAMOTO et al, 2007;), entretanto não foi verificado diferença estatística do infiltrado neutrofílico entre os animais positivos e negativos para FIV. A grande quantidade de neutrófilos na mucosa dos animais avaliados pode refletir o componente bacteriano da etiopatogenia da GECF, cuja a presença de diversas bactérias orais associadas à doença foi referida (DOLIESLAGER et al, 2013).

A grande presença de plasmócitos no infiltrado inflamatório, juntamente com a diminuição de linfócitos pode ser explicada pela ação imunossupressora do vírus da FIV (MIYAZAWA, 2002), entretanto neste trabalho, o mesmo padrão histopatológico se repetiu nos animais soronegativos para o vírus. Os plasmócitos são linfócitos B diferenciados, presentes em inflamações orais crônicas, que possuem uma grande capacidade de produção de imunoglobulinas, o que pode explicar o aumento dos níveis de IgG e IgM nos animais com GECF (HARLEY et al, 2003; HARLEY, et al, 2011), o que é reforçado neste estudo, pela presença de Células de Mott.

Os mastócitos são importantes células sentinelas que participam da eliminação imune nas mucosas e já é relatada a sua participação nas doenças orais de felinos, e tem um importante papel na GECF (ARZI, et al 2009). No presente estudo, foi verificada a presença moderada destas células em 95% dos animais (Fig 1H), com infiltração principalmente na submucosa, sem diferenças estatísticas entre os dois grupos.

Nos resultados da imunohistoquímica para FIV observou-se imunomarcção citoplasmática, principalmente em plasmócitos, linfócitos e neutrófilos. (FIG...). Observou-se que no grupo soropositivo houve imunomarcção Grau 2 em 50% (4/8), seguida do Grau 4 em 35% dos animais. Apenas 15% dos animais apresentou imunomarcção Grau1). Os animais do grupo FIV negativo em que houve a imunomarcção( M4 e M19) obtiveram graus 2 e 4 respectivamente. Não houve correlação entre o grau de intensidade de imunomarcção

com o escore clínico do animal ( $p > 0,05$ ), demonstrando que, possivelmente, o grau de infecção viral pelo FIV, não prediz a gravidade da doença oral.

## CONCLUSÃO

Concluiu-se com o presente trabalho, que o infiltrado inflamatório na mucosa oral dos gatos com GEFC reflete a natureza viral, bacteriana etiopatogenia da doença. A presença da infecção pelo vírus da FIV e a soropositividade dos animais não parece interferir na gravidade dos sinais clínicos e nem no grau das alterações histopatológicas, quando comparadas com o grupo soronegativo. Sugere-se um maior aprofundamento no estudo da histopatologia e imunopatogenia em animais com quadros iniciais de GEFC com FIV, visto que as possíveis alterações podem contribuir para a elucidação da etiologia e tratamento da doença, já que em casos crônicos a resposta imunológica exacerbada dificulta a determinação do processo etiopatológico inicial.

## COMITÊ DE ÉTICA E BIOSSEGURANÇA

Este estudo foi realizado sob aprovação do Comitê de Ética para o Uso de Animais Universidade Estadual do Ceará, sob o número 0119213/2014, tendo sido respeitados todos os preceitos éticos de proteção aos animais.

## FONTES DE AQUISIÇÃO

a- Anigen Rapid FIV/FeLV Test, Bioeasy, São Paulo- SP

b- Anti-FIV p24 antibody [PAK3-2C1] ab65289, Abcam, EUA

c-Super Picture™ HRP Polymer Conjugate Broad Spectrum-Invitrogen Corporation, Frederick, MD 21704, USA.

## REFERÊNCIAS

ARJONA, A.; ESCOLAR, E.; SOTO, I.; BARQUERO, N.; MARTIN, D.; LUCIA, E. G. Seropidemiological survey of infection by leukemia virus and immunodeficiency virus in Madrid and correlation with some clinical aspects. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 38, n. 1, p. 3448-3449, 2000. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12703869> > . Acesso em: 10 mar. 2015.

ARZI, B.; MURPHY, B.; COX, D.P.; VAPNIARSKY, N.; KASS, P.H.; VERSTRAETE, F.J.M. Presence and quantification of mast cells in the gingiva of cats with tooth resorption, periodontitis and chronic stomatitis. **Archives of Oral Biology**. v.55, p.148–154, 2009. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003996909002933>>. Acesso em: 10 mar. 2015. doi: 10.1016/j.archoralbio.2009.11.004.

BELLEI, E.; DALLA, F.; MASETTI, L.; PISONI, L.; JOECHLER, M. Surgical therapy in chronic feline gingivostomatitis (FCGS). **Veterinary Research Communications**. v.32, p. 231-234, 2008 Disponível em: < [http://www.researchgate.net/publication/51432870\\_Surgical\\_therapy\\_in\\_chronic\\_feline\\_gingivostomatitis\\_%28FCGS%29](http://www.researchgate.net/publication/51432870_Surgical_therapy_in_chronic_feline_gingivostomatitis_%28FCGS%29)> . Acesso em: 10 mar. 2015. doi: 10.1007/s11259-008-9153-8.

DOLIESLAGER, S.M.J.; BENNETT, D.; JOHNSTON N.; RIGGIO, M.P. Novel bacterial phylotypes associated with the healthy feline oral cavity and feline chronic gingivostomatitis. **Research in Veterinary Science**. v.94, p.428–432, 2013. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0034528812003360>>. Acesso em: 11 mar. 2015. doi:10.1016/j.rvsc.2012.11.003

ELDER, J.H.; LIN, Y.C.; FINK, E.; GRANT, C.K., 2010. Feline immunodeficiency virus (FIV) as a model for study of lentivirus infections: parallels with HIV. **Current HIV Research**. v.8, p.73–80, 2010. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2853889/>> .Acesso em: 10 mar. 2015.

HARLEY, R., GRUFFYDD-JONES, T.J., DAY, M.J. Immunohistochemical characterization of oral mucosal lesions in cats with chronic gingivostomatitis. **Journal of Comparative Pathology**, v.144, p.239–250, 2011. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21084098>>. Acesso em 10 mar. 2015. doi: 10.1016/j.jcpa.2010.09.173.

HARLEY, R., GRUFFYDD-JONES, T.J.; DAY, M.J. Salivary and serum immunoglobulin levels in cats with chronic gingivostomatitis. **Veterinary Record**, v.152, p.125-129, 2003. Disponível em: < <http://europepmc.org/abstract/med/12585597>>. Acesso em: 10 mar. 2015. doi: 10.1136/vr.152.5.125.

HARTMANN, K. Clinical aspects of feline immunodeficiency and feline leukemia virus infection. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. v. 143, p.190- 201, 2011. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165242711002005>>. Acesso em : 10 mar. 2015. doi:10.1016/j.vetimm.2011.06.003.

HEALEY, K. A.; DAWSON, S.; BURROW, R.; CRIPPS, P.; GASKELL, C. J.; HART, C. A.; PINCHBECK, G. L.; RADFORD, A. D.; GASKELL, R. M. Prevalence of feline chronic gingivo-stomatitis in first veterinary practice. **Journal of feline medicine and surgery**, v.9, p 373-381, 2007. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1098612X07000605>>. Acesso em: 13 mar. 2015. doi:10.1016/j.jfms.2007.03.003.

HOSIE, M. J.; ADDIE, D.; BELAK, S.; BOUCRAUTBARALON, C.; EGBERINK, H.; FRYMUS, T.; GRUFFYDDJONES, T.; HARTMANN, K.; LLORET, A.; LUTZ, H.; MARSILIO, F.; PENNISI, M. G.; RADFORD, A. D.; THIRY, E.; TRUYEN, U.; HORZINEK, M. C. Feline immunodeficiency. ABCD guidelines on prevention and management. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 11, n. 7, p. 575-584, 2009. Disponível em: <http://jfm.sagepub.com/content/11/7/575.short>>. Acesso em: 12 mar. 2015. doi: 10.1016/j.jfms.2009.05.006

LEE, M.; BOSWARD, K.L.; NORRIS, J.M. Immunohistological evaluation of feline herpesvirus-1 infection in feline eosinophilic dermatoses or stomatitis. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v.12, p. 72-79, 2010. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20113951>>. Acesso em: 20 mar. 2015. doi: 10.1016/j.jfms.2009.

LOMMER, M.J.; VERSTRAETE, F.J.M. Concurrent oral shedding of feline calicivirus and herpesvirus 1 in cats with chronic gingivostomatitis. **Oral Microbiology and Immunology**, San Francisco, v.18, p.131-134, 2003. Disponível em:<

<http://pt.slideshare.net/danielgferro/2003-concurrent-calicivirus-e-gengivite>>. Acesso em: 10 mar. 2015.

MIYAZAWA, T. Infections of feline leukaemia virus and feline immunodeficiency virus. **Frontiers in bioscience**. v.7, p.504-518, 2002. Disponível em: < [http://www.researchgate.net/publication/11544871\\_Infections\\_of\\_feline\\_leukemia\\_virus\\_and\\_feline\\_immunodeficiency\\_virus](http://www.researchgate.net/publication/11544871_Infections_of_feline_leukemia_virus_and_feline_immunodeficiency_virus)>. Acesso em: 10 mar. 2015. doi: 10.2741/miyazawa.

QUIMBY, J. M.; ELSTON, T.; HAWLEY, J.; BREWER, M.; MILLER, A.; LAPPIN, M.. Evaluation of the association of Bartonella species, feline herpesvirus 1, feline calicivirus, feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus with chronic feline gingivostomatitis. **Journal of feline medicine and surgery**, , v. 10, p. 66-72, 2007. Disponível em: < <http://jfm.sagepub.com/content/10/1/66.short> >. Acesso em: 20 mar. 2015. doi: 10.1016/j.jfms.2007.05.007.

YAMAMOTO, J.K.; PU, R.; SATO, E.; HOHDATSU, T. Feline immunodeficiency virus pathogenesis and development of a dual-subtype. Feline-immunodeficiency-virus vaccine. **AIDS**. V. 21, n. 5, p. 547-63, 2007. Disponível em: < [http://journals.lww.com/aidsonline/Citation/2007/03120/Feline\\_immunodeficiency\\_virus\\_pathogenesis\\_and.1.aspx](http://journals.lww.com/aidsonline/Citation/2007/03120/Feline_immunodeficiency_virus_pathogenesis_and.1.aspx) >. Acesso em: 12 mar. 2015. doi: 10.1097/QAD.0b013e328013d88

**TABELA- 1 – Escore clínico, grau de alterações histopatológicas e grau de imunomarcção em gatos com gengivite- estomatite testados para FIV**

<b>Gato</b>	<b>Estado FIV</b>	<b>Escore clínico</b>	<b>Grau histopatologico</b>	<b>Grau imunomarcção</b>
1	Negativo	2	3	0
2	Positivo	1	3	2
3	Positivo	2	3	3
4	Negativo	2	3	2
5	Positivo	3	3	4
6	Negativo	3	3	0
7	Negativo	3	3	0
8	Negativo	3	3	0
9	Negativo	1	2	0
10	Negativo	2	3	0
11	Negativo	2	3	2
12	Positivo	1	3	1
13	Positivo	3	3	2
14	Positivo	4	2	1
15	Positivo	4	3	4
16	Positivo	3	3	2
17	Negativo	3	3	0
18	Negativo	4	3	0
19	Negativo	3	3	3

**TABELA-2** Quantificação de infiltrado inflamatório na mucosa oral de gatos afetados por gengivite- estomatite crônica

<b>Animal</b>	<b>Neutrófilos</b>	<b>Plasmócitos</b>	<b>Linfócitos</b>	<b>Macrófagos</b>	<b>Mastócitos</b>
M1	36,9%	61,5%	1,6%	0,0%	0,0%
M2	17,0	61,5	10,6	0,0	10,9
M3	38	44	8	0	10
M4	4,0	87,6	1,9	0,0	6,5
M5	7,9	81,0	2,5	1,5	7,1
M6	24,3	70,8	0,8	0,0	4,1
M7	27,5	65,7	1,4	0,3	5,1
M8	42,8	54,5	0,8	0,0	1,9
M9	7,3	45,9	34,5	0,0	12,3
M10	44,5	42,5	5,3	0,0	7,7
M11	39,2	51,2	7,1	0,0	2,5
M12	35,7	36,6	20,6	2,6	4,5
M13	35	45	8	5	7
M14	37,1	37,5	12,5	3,7	9,2
M15	34,0	59,6	1,5	0,2	4,7
M16	64,4	28,4	4,9	0,3	2,0
M17	12,4	62,2	20,2	0,4	4,7
M18	17	52	19	1	11
M19	51	42	4	1	2

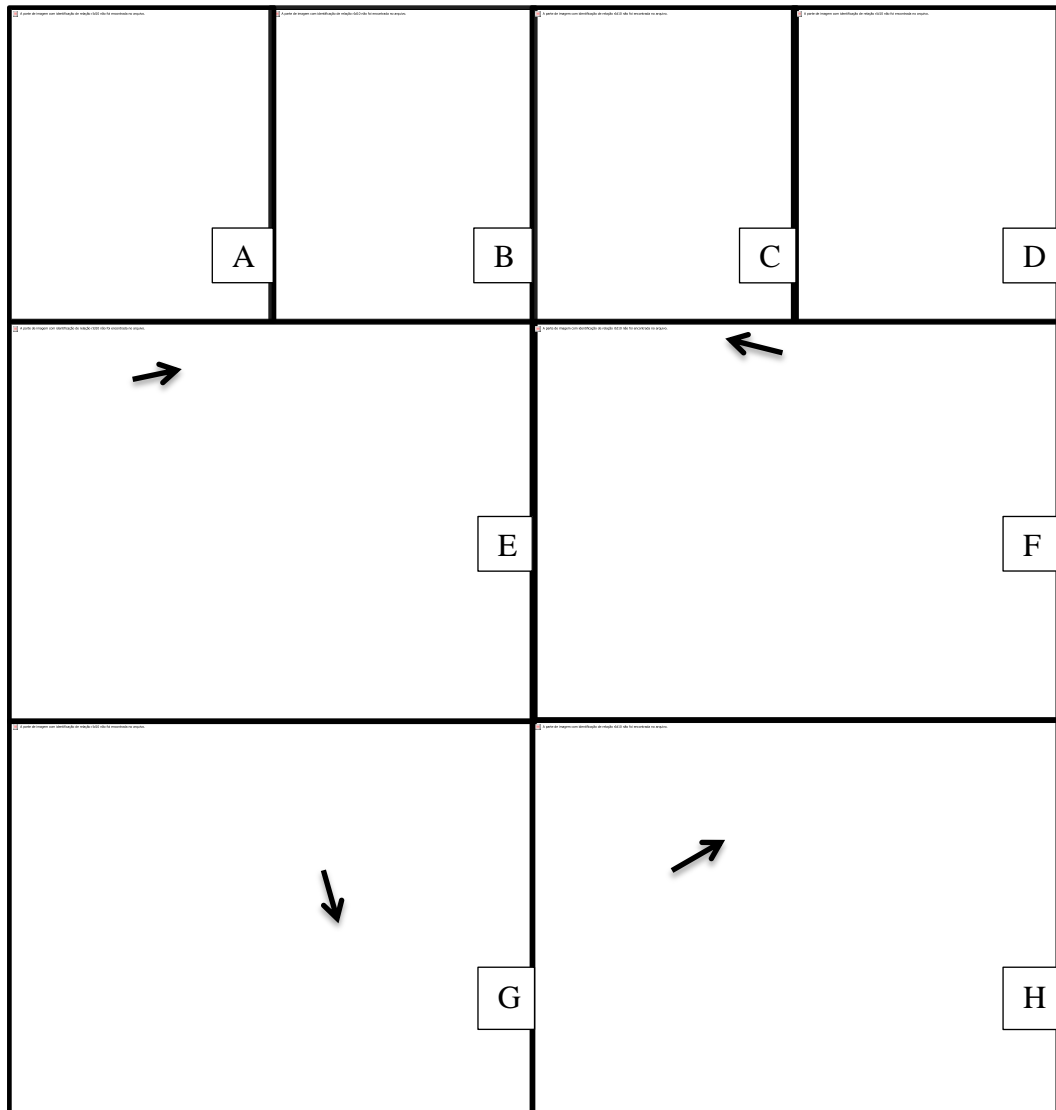


FIGURA-1: A) Felino com score 1 de lesão macroscópica, hiperemia glossopalatina. B) Felino com score 2 de lesão macroscópica, profileração de tecido granulomatoso no arco glossopalatino, sem ulceração. C) Felino com score 3 de lesão macroscópica, intenso tecido proliferativo, com ulceração mas sem sangramento espontâneo. D) Felino com score 4 de lesão macroscópica, tecido de granulação, ulceração e sangramento espontâneo. E) Microfotografia de mucosa oral de felino FIV positivo com GECE, Células de Mott na submucosa (seta), HE(40x). F) Microfotografia de mucosa oral de felino FIV positivo com GECE, infiltrado inflamatório com predomínio de plasmócitos (seta), HE( 20x). G) Microfotografia de mucosa oral de felino FIV positivo com GECE, infiltrado granulocítico (seta), HE( 40x). H) Microfotografia de mucosa oral de felino FIV positivo com GECE, presença de mastócitos na submucosa (seta), AT( 20x). Microscópio Trinocular Motic® BA310 (Motic® 2000 2.0 MP Live Resolution) e software Motic Image Plus 2.0.



## 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se que há correlação entre as alterações clínicas e as alterações histopatológicas nos animais com GEFC com alto escore de lesão clínica, aonde a severidade do infiltrado inflamatório também era proporcionalmente alta. Entretanto, em animais com sinais clínicos leves foram encontradas lesões histopatológicas significativas. Portanto, estudos utilizando gatos em fases iniciais da GEFC podem elucidar melhor a etiologia e patogenia da doença, sendo possível determinar as células e que tipo de resposta inflamatória desencadeadora da GEFC.

A avaliação histopatológica comprovou o caráter multifatorial da etiologia da GEFC, sendo determinado pelo tipo de infiltrado inflamatório, composto principalmente por plasmócitos, neutrófilos e linfócitos, podendo-se suspeitar de que a GEFC na realidade seja um padrão comum de resposta inflamatória a diversos agentes e não a uma doença.

Conclui-se também que a soropositividade para FIV, assim como a intensidade de imunomarcagem, não têm correlação com a severidade da GEFC. A imunossupressão causada pelo vírus da FIV parece não ser um fator agravante do quadro da GEFC Sugere-se um maior aprofundamento entre a correlação da GEFC e a FIV, utilizando-se animais em diversas fases da retrovirose.

## **8 PESPECTIVAS**

Utilizar os resultados e conclusões como base e realizar estudos com uma amostra maior de gatos afetados pela GECE e FIV, a fim de avaliar clinicamente e histopatologicamente animais em várias fases das duas doenças, recorrelacionando-as e aprofundando-se nas alterações histopatológicas. É necessário também estudos com a utilização de imunohistoquímica , para um maior esclarecimento do real papel de determinadas células inflamatórias na GECE, como os plasmócitos e os linfócitos T.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADDIE, D.D.; ADFORD, A.; YAM, P.S.; E TAYLOR, D.J. Cessation of feline calicivirus shedding coincident with resolution of chronic gingivostomatitis in a cat. *Journal of Small Animal Practice*, v.44, n.4, p.172-176, 2003.
- ADIBRAD, M.; DEYHIMI, P.; GANJALIKHANI HAKEMI, M.; et al. Signs of the presence of Th17 cells in chronic periodontal disease. *Journal of periodontal research*, v.47, n. 4, p. 525–31, 2012.
- ALLISON, R.W.; HOOVER, E.A. Covert vertical transmission of feline immunodeficiency virus. *AIDS Research and Human Retroviruses*, v. 19, p. 421-434, 2003.
- ARJONA, A.; ESCOLAR, E.; SOTO, I.; BARQUERO, N.; MARTIN, D.; LUCIA, E. G. Seropidemiological survey of infection by leukemia virus and immunodeficiency virus in Madrid and correlation with some clinical aspects. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 38, n. 1, p. 3448-3449, 2000.
- ARZI, B.; MURPHY, B.; COX, D.P.; VAPNIARSKY, N.; KASS, P.H.; VERSTRAETE, F.J.M. Presence and quantification of mast cells in the gingiva of cats with tooth resorption, periodontitis and chronic stomatitis. *Archives of Oral Biology*. v.55, p.148–154, 2010.
- AVERY, P.R. - Feline immunodeficiency virus. In: LAPPIN, M.R. *Feline internal medicine secrets*. 2. ed. Philadelphia: Hanley & Belfus. p. 391-397, 2011.
- BAIRD, K. Lymphoplasmacytic Gingivitis in a Cat. *The Canadian Veterinary Journal*. Guelph. v.46, p.530-532, 2005.
- BEEBE, A. M.; DUA, N.; FAITH, T.G.; MOORE, P.F; PEDERSEN, N.C.; DADEKAR, S. Primary stage of feline immunodeficiency virus infection: viral dissemination and cellular targets. *Journal of Virology*, v.68, n.5, p. 3080-3091, 1995.
- BELLEI, E.; DALLA, F.; MASETTI, L.; PISONI, L.; JOECHLER, M. Surgical therapy in chronic feline gingivostomatitis (FCGS). *Veterinary Research Communications*. v.32, p. 231-234, 2008.
- BIBERSTEIN, E.L. Candida. In D.C. Hirsh; Y.C. Zee. (Org.) *Microbiologia Veterinária*. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan S. A, p.103-105, 2003.
- BIENZLE, D., REGGETI, F., WEN, X., LITTLE, S., HOBSON, J., & KRUTH, S. The variability of serological and molecular diagnosis of feline immunodeficiency virus infection. *The Canadian Veterinary Journal*. v. 45, p. 753-757, 2004.
- BONELLO, D. Feline inflammatory, infectious and other oral conditions. In: TUTT, C.; DEEPROSE, J.; CROSSLEY, D.A. (Org.) *BSAVA Manual of Canine and Feline Dentistry*. British Small Animal Veterinary Association. Quedgeley, p. 137–144, 2007.

BRANDTZAEG P. Inflammatory bowel disease: clinics and pathology. Do inflammatory bowel disease and periodontal disease have similar immunopathogenesis? *Acta Odontol Scand.* v. 59, p. 253- 43, 2001.

CACCAVO, D.; PELLEGRINO, N.M.; ALTAMURA, M.; RIGON, A.; AMATI, L.; AMOROSO, A.; JIRILLO, E. Antimicrobial and immunoregulatory functions of lactoferrin and its potential therapeutic application. *Journal of Endotoxin Research*, v.8, n.6, p. 403-17, 2002.

CALDAS, A.P.F.; LEAL, E.S.; SILVA, E.F.A. RAVAZZOLO, A.P. Detecção do provírus da Imunodeficiência Felina em gatos domésticos pela técnica de reação em cadeia da polimerase. *PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA*, v.20, p.20-25, 2000.

CAMY, G. Management of a cat with chronic gingivitis stomatitis. *Le Point Veterinaire*, v.236, n. especial, jun. 2003.

CARDOSO, C. R.; GARLET, G. P.; CRIPPA, G. E.; et al. Evidence of the presence of T helper type 17 cells in chronic lesions of human periodontal disease. *Oral microbiology and immunology*, v. 24, n. 1, p. 1–6, 2009.

CAVASSANI V. G.; SOBRINHO J.; HOMEM M.G.N, RAPOPORT .A Candidíase oral como marcador de prognóstico em pacientes portadores do HIV. *Rev. Bras. Otorrinolaringol*, v. 68, n.5, 2002

CAXITO, F.A.; COELHO, F.M.; OLIVEIRA, M.E.; RESENDE, M. Phylogenetic analysis of feline immunodeficiency strains from State of Minas Gerais, Brazil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia*, v.58, n.6, p. 1222-1225, 2006.

CHANDLER, E. A.; GASKELL, C. J.; GASKELL, R. M. *Clínica e terapêutica em felinos*. 3.ed. Editora Roca, São Paulo, p.498, 2006.

CHAUDIEU, G. E BLAIZOT, A. Gingivites et stomatites félines. *Pratique Médicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie*, 34, 135-144, 1999.

CHENG, W.C.; HUGHES, F.J.; TAAMS, L.S. The presence, function and regulation of IL-17 and Th17 cells in periodontitis. *Journal of clinical periodontology*. v. 41, n. 6, p. 541–9, 2014.

COGNET, R.; MESNARD, E.; STAMBOULI, F.; GAUTHIER, O. Chronic gingivostomatitis and viral infections in a population of 54 cats. *Livro de Resumos 10th EVD Congress*, Berlin: Germany, 2001.

COSTA, P.R.S.; CONCEIÇÃO, L.G.; MORAES, M.P.; TSIOMIS, A.C.; DUARTE, T.S.; PRADO, R.F.S.; PENA, L.J.; BARRIOS, P.R.; PENA, D.A. Gengivite/Estomatite linfocítico-plasmocitária em gatos – relato de quatro casos. *Revista Clínica Veterinária*. São Paulo: Guará, v.66, n.12, p. 28-34, 2007.

CZERKINSKY C, ANJUERE F, MCGHEE JR, GEORGE-CHANDY A, HOLMGREN J, KIENY MP, ET AL. Mucosal immunity and tolerance: relevance to vaccine development. *Immunol. Rev.* v. 170, p. 197-222, 1999.

DEPERT, J.; PISCHON, N.; BURMESTER, G. R.; BUTTGEREIT, F. The association between rheumatoid arthritis and periodontal disease. *Arthritis research & therapy*, v. 12, n. 5, p. 218, 2010.

DOLIESLAGER, S.M.J., RIGGIO, M.P., LENNON, A., LAPPIN, D.F., JOHNSTON, N., TAYLOR, D., BENNETT, D., Identification of bacteria associated with feline chronic gingivostomatitis using culture-dependent and culture-independent methods. *Veterinary Microbiology*. v.148, n.1, p.93–98, 2011.

DOLIESLAGER, S.M.J.; BENNETT, D.; JOHNSTON N.; RIGGIO, M.P. Novel bacterial phylotypes associated with the healthy feline oral cavity and feline chronic gingivostomatitis. *Research in Veterinary Science*. v.94, p.428–432, 2013.

DOWERS, K.L.; LAPPIN, M.R. The association of Bartonella species infection with chronic stomatitis in cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine* v.471, n.19, p.56-59, 2005.

DUARTE A.; TAVARES L. Phylogenetic analysis of Portuguese feline immunodeficiency virus sequences reveals high genetic diversity. *Veterinary Microbiology*. v.114, p.25-33, 2005.

DUNHAM, S.P. Lessons from the cat: Development of vaccines against lentiviruses. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. v.112, p. 67-77, 2006.

DUNHAM, S.P. Lessons from the cat: development of vaccines against lentiviruses. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. v. 112, p. 67-77, 2006.

ELDER, J.H.; LIN, Y.C.; FINK, E.; GRANT, C.K., 2010. Feline immunodeficiency virus (FIV) as a model for study of lentivirus infections: parallels with HIV. *Current HIV Research*. v.8, p.73–80, 2010.

ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. 6. Ed., St Louis: Elsevier Saunders, 2005.

GERMAIN, R.N. MHC- dependent antigen processing and peptide presentation: providing ligands for T lymphocyte activation *Cell*. v. 76, p. 287-99, 1994.

GIL, S; LEAL, R.O.; DUARTE, A.; MCGAHIE, D.; SEPÚLVEDA, N.; SIBORRO, I.; CRAVO, J.; CARTAXEIRO, C.; TAVARES L.M. Relevance of feline interferon omega for clinical improvement and reduction of concurrent viral excretion in retrovirus infected cats from a rescue shelter. *Research in Veterinary Science*. Volume 94, Issue 3, 753–763, 2013.

GIOSO, M.A. Complexo Gengivite-estomatite. In: *Odontologia para o Clínico de Pequenos Animais 2.ed.*, São Paulo:Manole. p. 72-76, 2007.

GODFREY, D.R. Chronic gingivitis/stomatitis/pharyngitis in the cat. *Waltham Focus*, v. 4, n.10, p.2-3, 2000.

GOTO, Y.; NISHIMURA, Y.; BABA, K.; MIZUNO, T.; ENDO, Y.; MASUDA, K.; OHNO, K.; TSUJIMOTO, H.; Association of plasma viral RNA load with prognosis in cats naturally infected with feline immunodeficiency virus. *Journal of Virology*. v.76, p.10079-10083, 2002.

- GRACE, S.F. Infecção pelo Vírus da Imunodeficiência Felina. In: NORSWORTHY, G.D. O Paciente Felino: tópicos essenciais de diagnóstico e tratamento. São Paulo: Manole, 2004. P.244-247.
- HARLEY, R., GRUFFYDD-JONES, T.J., DAY, M.J. Immunohistochemical characterization of oral mucosal lesions in cats with chronic gingivostomatitis. *Journal of Comparative Pathology*, v.144, p.239–250, 2011.
- HARLEY, R., GRUFFYDD-JONES, T.J.; DAY, M.J. Salivary and serum immunoglobulin levels in cats with chronic gingivostomatitis. *Veterinary Record*, v.152, p.125-129, 2003.
- HARLEY, R., HELPS, C.R., HARBOUR, D.A., GRUFFYDD-JONES, T.J. E DAY, M.J. Cytokine mRNA expression in lesions in cats with chronic gingivostomatitis. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, v.4, n.6, p.471-480, 1999.
- HARTMANN, K.; GRIESSMAYR, P.; SCHULZ, B.; GREENE, C.E.; VIDYASHANKAR, A.N.; JARRETT, O.; EGBERINK, H.F. Quality of different in-clinic test systems for feline immunodeficiency virus and feline leukaemia virus infection. *Journal of Feline Medicine and Surgery*. v. 9, n. 6, p. 439-445, 2007.
- HARTMANN, K.; WERNER, R.M.; EGBERINK, H.; JARRETT, O. Comparison of six in-house tests for the rapid diagnosis of feline immunodeficiency and feline leukaemia virus infections. *Veterinary Record*. v.149, p.317-320, 2001.
- HARVEY, C.E. Cavidade Oral. In: Chandler, E.A.; Gaskell, C.J.; Gaskell, R.M. *Clínica e Terapêutica em Felinos*. São Paulo: Roca, 2006, p.312-325.
- HEALEY, K. A.; DAWSON, S.; BURROW, R.; CRIPPS, P.; GASKELL, C. J.; HART, C. A.; PINCHBECK, G. L.; RADFORD, A. D.; GASKELL, R. M.. Prevalence of feline chronic gingivo-stomatitis in first veterinary practice. *Journal of feline medicine and surgery*, v.9, p 373-381, 2007.
- HENNET, P. Chronic gingivo-stomatitis in cats: long-term follow-up of 30 cases treated by dental extractions. *Journal of Veterinary Dentistry*, v.14 ,p. 15-21, 1997.
- HENNET, P. R.; CAMY, G. A.; MCGAHIE, D. M.; ALBOUY, M. V. Comparative efficacy of a recombinant feline interferon omega in refractory cases of calicivirus-positive cats with caudal stomatitis: a randomized, multi-centre, controlled, double-blind study in 39 cats. *Journal of feline medicine and surgery*, v.13, p.577-587, 2011.
- HENNET, P. Relationship between oral calicivirus and herpesvirus carriage and “palatoglossitis” lesions. In: Annual veterinary dental forum & world veterinary dental congress IX, 2005, Orlando. Proceeding...Orlando, 2005. Academy of Veterinary Dentistry, American Veterinary Dental College, American Veterinary Dental Society, p.503.
- HIROTA, K.; DUARTE, J. H.; VELDHUEN, M.; et al. Fate mapping of IL-17-producing T cells in inflammatory responses. *Nature immunology*, v. 12, n. 3, p. 255–63, 2011. Nature Publishing Group.
- HOSIE, M. J.; ADDIE, D.; BELAK, S.; BOUCRAUTBARALON, C.; EGBERINK, H.; FRYMUS, T.; GRUFFYDDJONES, T.; HARTMANN, K.; LLORET, A.; LUTZ, H.;

- MARSILIO, F.; PENNISI, M. G.; RADFORD, A. D.; THIRY, E.; TRUYEN, U.; HORZINEK, M. C. Feline immunodeficiency. ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, v. 11, n. 7, p. 575-584, 2009.
- JOHNSTON, N. Acquired feline oral cavity disease. *In Practice*, v. 20, n.4, p.171-179, 1998.
- KEIJSER, B.J.F.; ZAURA, E.; HUSE, S.M.; VAN DER VOSSSEN, J.M.B.M.; SCHUREN, F.H.J.; MONTIJN, R.C.; TEN CATE, J.M.; CRIELAARD, W. Pyrosequencing analysis of the oral microflora of healthy adults. *Journal of Dental Research* v.87, p.1016–1020, 2008.
- KRAJCI P, GRZESCHIK K.H, GEURTS VAN KESSEL A.H, OLAISEN B, BRANDTZAEG P. The human transmembrane secretory component( poly-Ig receptor): molecular cloning, restriction fragment length polymorphism and chromosomal sublocalization. *Hum Genet.* v. 87, p. 642-8, 1991.
- LEE, M.; BOSWARD, K.L.; NORRIS, J.M. Immunohistological evaluation of feline herpesvirus-1 infection in feline eosinophilic dermatoses or stomatitis. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, v.12, p. 72-79, 2010.
- LEIRIÃO-RIVA, F.P.; KOWALESKY, J.; LEON-ROMAN, M.A.; GIOSO, M.A.; OMURA, C.M. ESTOMATITE Linfocítica Plasmocitária em Felinos. In: Congresso Paulista de Medicina Veterinária, 6, 2004. Santos (SP). Resumos de Trabalhos. 2004. p.37-8.
- LEWIS, J.R.; TSUGAWA, A.J.; REITER, A.M. Use of CO2 Laser as an Adjunctive Treatment for Caudal Stomatitis in a Cat. *Journal of Veterinary Dentistry*, v.24, n.4, p.240-249, 2007.
- LIEW, F.Y., RUSSEL, S.M., APLEYARD, G., BRAND, C.M., BEALE, J. Cross-protection in mice infected with influenza A virus by the respiratory route is correlated with local IgA antibody rather than serum antibody or cytotoxic T cell reactivity. *Eur. J. Immunol.* v. 14, p. 350-6, 1984.
- LOMMER, M.J.; VERSTRAETE, F.J.M. Concurrent oral shedding of feline calicivirus and herpesvirus 1 in cats with chronic gingivostomatitis. *Oral Microbiology and Immunology*, San Francisco, v.18, p.131-134, 2003.
- LOWE, A.D.; GRAVES, T.K.; CAMPBELL, K.L.; SCHAEFFER, D.J. A pilot study comparing the diabetogenic effects of dexamethasone and prednisolone in cats. *Journal of the American Animal Hospital Association*, v.45, p.215-224, 2009.
- LYON, K.F. Gingivostomatitis. *Veterinary Clinics Small Animal Practice*, v.35, p.891-911, 2005.
- MACDERMOTT, R.P., FRANKLIN, G.O., JENKINS, K.M., KODNER, I.J., NASH, G.S., WEINRIEB, I.J. Human intestinal mononuclear cells. Investigation of antibody-dependent lectin- induced and spontaneous cell-mediated cytotoxic capabilities. *Gastroenterology.* v. 78, p. 47-56, 1980.
- MATILDE K.S.; Lourenço, M.L.G.; Zahn, F.S.; Machado, L.H.A. Complexo gengivite estomatite felina: Revisão de Literatura. *Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.20, n.2, p.160-170, 2013.

MEHL, M.L.; KYLES, A.E.; CRAIGMILL, A.L. Disposition of cyclosporine after intravenous and multi-dose oral administration in cats. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, v.26, n.5, p.349-354, 2003.

MIHALJEVIC, S.Y. First clinical experiences with omega-Interferon in the treatment of chronic gingivitis-stomatitis-oropharyngitis of cats. *Der PraktischTierarzt*, v.5, n..84, p.350-361, 2003.

NELSON, R.W.; COUTO, C.G. *Medicina interna de pequenos animais*. Rio de janeiro: Guanabara Kogan, 2001.

NIZA, M. M. R. E.; MESTRINHO, L. A.; VIELA, C. L. Gengivo-estomatite crônica felina – um desafio. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*. v. 99, n. 551, p 127-135, 2004.

NORRIS, J.M., BELL, E.T., HALES, L., TORIBIO, J.A., WHITE, J.D., WIGNEY, D.I., BARAL, R.M., & MALIK, R. Prevalence of feline immunodeficiency virus infection in domesticated and feral cats in eastern Australia. *Journal of Feline Medicine and Surgery*. v. 9, p. 300-308, 2009.

O'BRIEN, S.J., TROYER, J.L., ROELKE, M., MARKER, L., & PECON-SLATTERY, J. Plagues and adaptation: lessons from the Felidae models for SARS and AIDS. *Biological Conservation*. v.131, p. 255-267, 2006.

OCHOA, T.J.; CLEARY, T.G. Effect of lactoferrin on enteric pathogens. *Biochimie*; v..30, n.91, 2009.

PAGE, R.C. The pathobiology of periodontal diseases may affect systemic diseases: inversion of a paradigm. *Ann, Periodontol*. v. 3, p. 108- 20, 1998.

PEDERSEN, N.C. Inflammatory oral cavity diseases of the cat. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v.22, n.6, p.1323-1345, 1992.

PENNISI MG. A high prevalence of feline leishmaniasis in southern Italy. *Proceedings of the Second International Leishmaniasis Forum*. Sevilla, Spain, 2002: 39–48.

QUIMBY, J. M.; ELSTON, T.; HAWLEY, J.; BREWER, M.; MILLER, A.; LAPPIN, M.. Evaluation of the association of Bartonella species, feline herpesvirus 1, feline calicivirus, feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus with chronic feline gingivostomatitis. *Journal of feline medicine and surgery*, , v. 10, p. 66-72, 2007.

RAMAGE G, TOMSETT K, WICKES BL, LOPEZ-RIBOT JL, REDDING SW. Denture stomatitis: a role for Candida biofilms. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004;98:53–9.

ROBSON, D. Review of the properties and mechanisms of action of cyclosporine with an emphasis on dermatological therapy in dogs, cats and people. *The Veterinary Record*, v.152, p.768-772, 2003.



ROBSON, M.; CRYSTAL, M.A. Gingivitis-stomatitis-pharyngitis. In: NORSWORTHY G. D., CRYSTAL M. A., GRACE S. F., TILLEY L. P. (Eds.) *The Feline Patient*. Iowa, EUA: Blackwell Science Ltd, 2011. p.199-201.

ROCHETTE, J. Treating the inflamed mouth. Livro de Resumos Congress World Small Animal Veterinary Association, Vancouver, Canada Bauvois, B. e Wietzerbein, J. (2002). Interferone: biologischeaktivitäten und klinischeanwendungen. *Interferone in der Veterinärmedizin(Virbac)*, 3-27, 2001.

ROMAGNANI, S. Lymphokine production by human T cells in disease states. *Annu Rev Immunol*. v. 12, p. 227- 57, 1994.

ROMAN, M. A. L. Dor de dente. Saiba mais sobre a lesão reabsortiva em felinos, conhecida como a cárie dos felinos e sobre o complexo gengivite-estomatite-faringite. *Revista o Pulo do Gato*, v.28, 2010.

SOUTHERDEN, P.; GORREL, C. Treatment of a case of refractory feline chronic gingivostomatitis with feline recombinant interferon Omega. *Journal of Small AnimalPractice*, n. 48, p.104-106, 2007.

SPRANDEL, L.; SILVA, C. C.; NUNES, F. C.; SCOPEL, D.; FORTES, T. P.; SILVA, F. S.; SALLIS, E. S. V.. Achados Histopatológicos da Gengivite Estomatite Felina. Universidade Federal de Pelotas. XVIII Congresso de Iniciação Científica, 2009.

TEIXEIRA, C. H. R.; SOUZA, H. J. M. Manifestações clínicas associadas à infecção pelo vírus da imunodeficiência felina. In: SOUZA, H. J. M. *Coletâneas em medicina e cirurgia felina*. Rio de Janeiro: L. F. Livros, 2003. p. 301-321.

TEJERIZO, G.; DOMÉNECH, A.; ILLERA, J.-C.; SILVÁN, G; GÓMEZ-LÚCIA, E. Altered plasma concentrations of sex hormones in cats infected by feline immunodeficiency virus or feline leukemia virus. *Domestic Animal Endocrinology*, v. 42, n. 2, p. 113-120, 2012.

TENOVUO J. LAGERLOF F. SALIVA. IN: THYLSTRUP A., FEJERSKOV O, editors. *Textbook of Clinical Cardiology*. Copenhagen: Munksgaard, p. 38-41, 1994.

THEYSE, L.F.H., LOGAN, E.I., PICA VET, P. Partial extraction in cats with gingivitis-stomatitis-pharyngitis-complex – Beneficial effects of a recovery food. Livro de resumoshill's european symposium on oral care, Amesterdão, p.64-65, 2003..

THRALL, D. E.. *Diagnóstico de Radiologia Veterinária*. 5º Ed. Rio de Janeiro: ABDR, 2010.

TILLEY, L.P.; SMITH Jr., F.W.K. *Consulta veterinária em 5 minutos*. São Paulo: Manole, 2003.

TILLEY, L.P.; SMITH Jr., F.W.K. *Consulta Veterinária em Cinco Minutos: espécies canina e felina*. 2.ed. Barueri – SP: Manole, 2003. p.694.

UENO H, HOHDATSU T, MURAMATSU Y, KOYAMA H, MORITA C. Does coinfection of Bartonellahenselae and FIV induce clinical disorders in cats?, *MicrobiolImmunol*, v.9, n.40, p.617–620, 1996.

VAN DYKE, T.E., HOOP, G.A. Neutrophil function and oral disease. *Crit. Rev Oral Biol Med.* v. 1, p. 117-33, 1990.

VUDHICHAMMONG K., WALKER, D.M., RYLEY, H.C. The effect of secretory immunoglobulin A on the in-vitro adherence of the yeast *Candida albicans* to human oral epithelial cells. *Arch Oral Biol.* v. 27, p. 617-21, 1992.

WALY, N.; GRUFFYDD-JONES, T.J.; STOKES, C.R., DAY, M.J. The distribution of leucocyte subsets in the small intestine of healthy cats. *Journal of Comparative Pathology*, v.124, p.172-182, 2001.

WALY, N.; GRUFFYDD-JONES, T.J.; STOKES, C.R., DAY, M.J. The distribution of leucocyte subsets in the small intestine of healthy cats. *Journal of Comparative Pathology*, v.124, p.172-182, 2001.

WIGGS, R.B.; LOBPRISE, H.B. *Veterinary dentistry - Principles e practice.* Philadelphia: Lippincott-Raven, 1997.

WONDERLING, R.; POWELL, T.; BALDWIN, S.; MORALES, T.; SNYDER, S.; KEISER, K.; HUNTER, S.; BEST, E.; MCDERMOTT, M.J.; MILHAUSEN, M. Cloning expression, purification, and biological activity of five type I interferons. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, v.89, p.13-27, 2002.

WONG, P., PAMER, E. G. CD8 T cell response to infectious pathogens. *Annu Rev Immunol.* v. 21, p.29-70, 2003.

YAMAMOTO, J.K.; PU, R.; SATO, E.; HOHDATSU, T. Feline immunodeficiency virus pathogenesis and development of a dual-subtype. *Feline-immunodeficiency-virus vaccine. AIDS.* V. 21, n. 5, p. 547-63, 2007.

YE P, SIMONIAN M, CHAPPLE CC, GIBBINS J, KUMAR RK, HUNTER N. Differential expression of transforming growth factors-beta 1, beta 2, beta 3 and type I, II, III receptors in the epithelia of inflamed gingiva. *Pathology.* v. 35, p. 384- 92, 2003.

**ANEXO**

## ANEXO A – Comitê de ética



**Comitê de Ética para o Uso de Animais**  
**Av. Paranjana, 1700- Itaperi, fone: 3101-9890**  
**e-mail: ceua.uece@uece.br**  
**página na internet: www.uece.br/ceua**



## CERTIFICADO

Certificamos, para os devidos fins, que o **Projeto de Pesquisa** intitulado: “Avaliação Histológica da Mucosa Oral de Gatos Positivos para o Vírus da Imunodeficiência Felina ( FIV) com Gengivite - estomatite Crônica.” registrado sob número **0119213/2014**, tendo como pesquisador principal **Janaína Serra Azul Monteiro** está de acordo com a legislação vigente e os **Princípios Éticos de Experimentação Animal** adotados pelo Comitê de Ética para o uso de Animais da Universidade Estadual do Ceará sendo aprovado em 09 de junho de 2014. Este certificado expira-se em 09 de junho de 2018.

**Fortaleza, 09 de junho de 2014**

Prof. Dr. Nilberto Robson Falcão do Nascimento

**Presidente CEUA- UECE**