

LEUCEMIA FELINA (FeLV)

Infezione virale dei gatti caratterizzata da manifestazioni cliniche neoplastiche e non

Sequenze nt correlate a FeLVs ancestrali sono presenti nel genoma dei gatti domestici

Epidemiologia FeLV

Gatti domestici: 3%

Gatti randagi: 11%

Gatti domestici con libera uscita: 70%

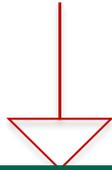
Gatti che vivono in aree urbane: 40%

Gatti che vivono in aree rurali: 6%

- ✓ Interessa prevalentemente gatti pregiati
 - ✓ Maggiormente interessati i **maschi**
 - ✓ Più predisposti all'infezione i **giovani**
- ✓ A maggiore rischio i gatti che **vivono in collettività**
(allevamenti, gattili)
- ✓ Minore rischio per i gatti che vivono in casa e per randagi

Due forme:

- guarigione e solida immunità (+++)**
- infezione persistente (viremia e morte)**



Disordini emopoiesi (linfomi e leucemie), immunodepressione, anemia

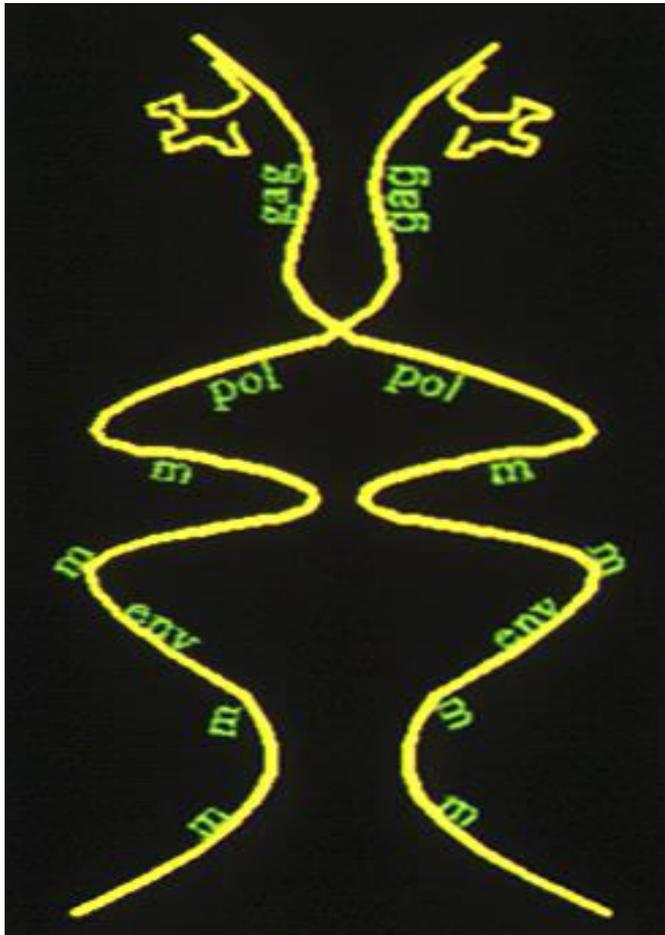


EZIOLOGIA

Famiglia: *Retroviridae*

Sottofamiglia: *Orthoretrovirinae*

Genere: *Gammaretrovirus*



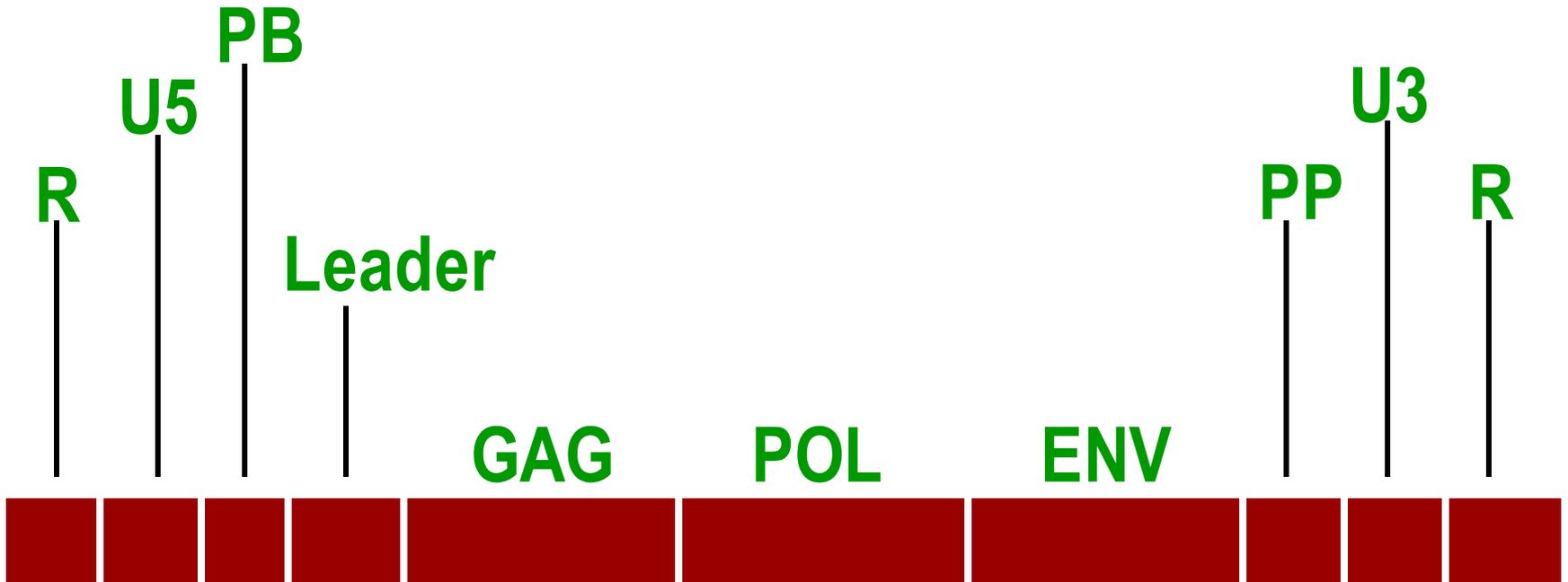
GENOMA

RNA/1 (2 subunità 35s)

**Costituito da 3 geni:
gag pol env**

2 regioni non codificanti (LTR)
contengono geni che se attivati da
enzimi cellulari permettono
espressione dei geni virali

EZIOLOGIA



EZIOLOGIA

RNA codifica tre gruppi di proteine:

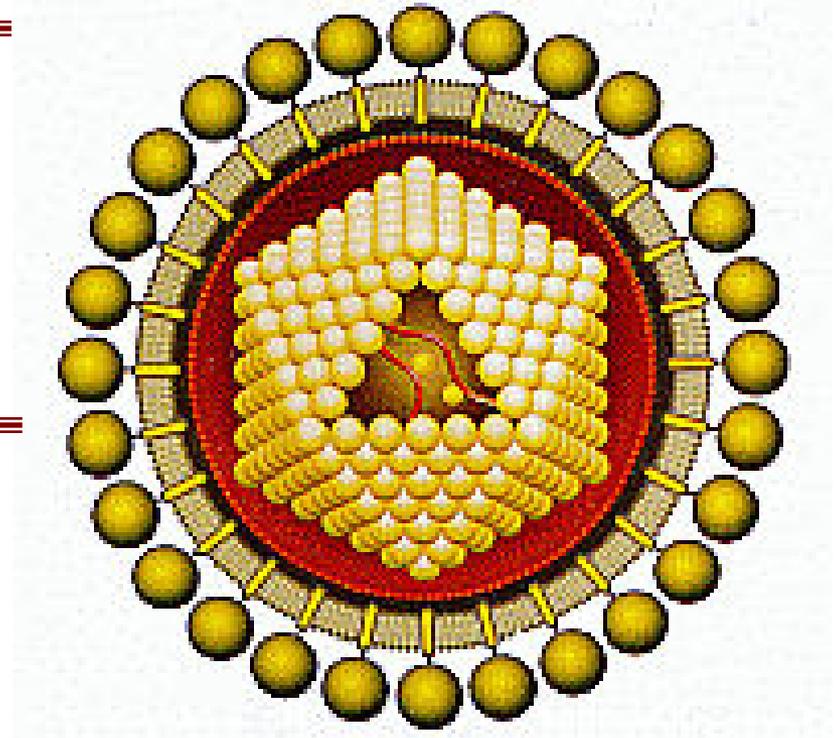
GAG (gruppo specifiche) p15 (MA), pp12, p27 (CA), p10 (NC)

POL (RT)

ENV (envelope)

P15(E)

gp70

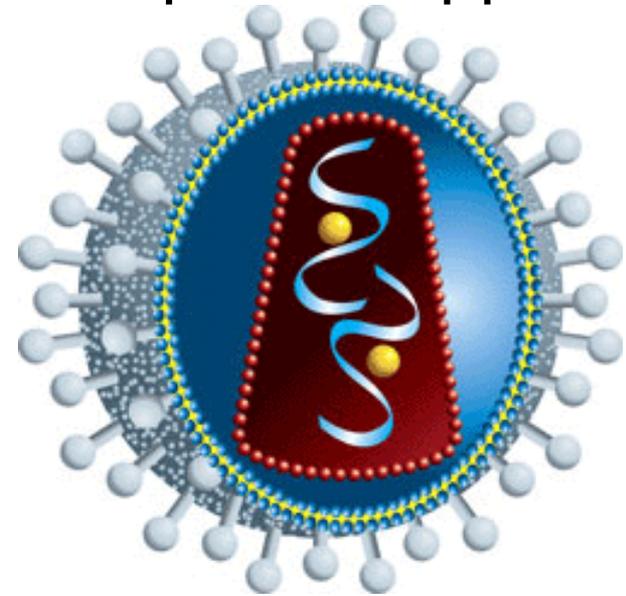
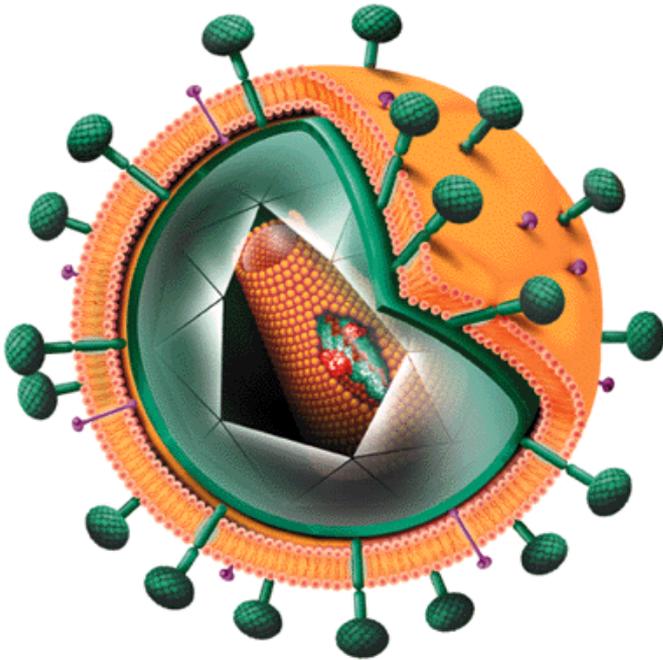


EZIOLOGIA

PROTEINE DEL CORE

p15 (MA), p27 (CA), p10 (NC) + RT

Il core è avvolto da proteina pp12

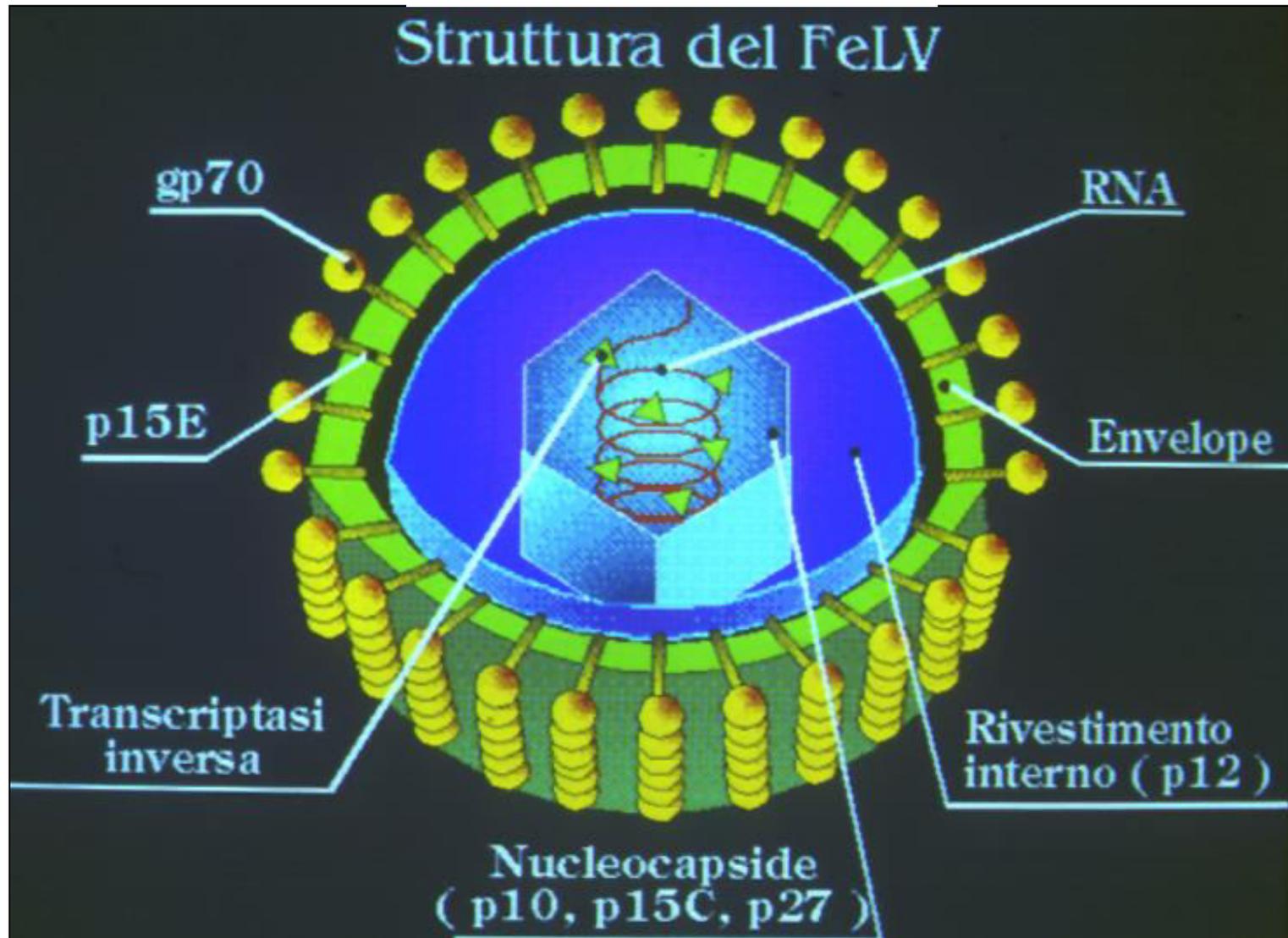


PROTEINE ENVELOPE

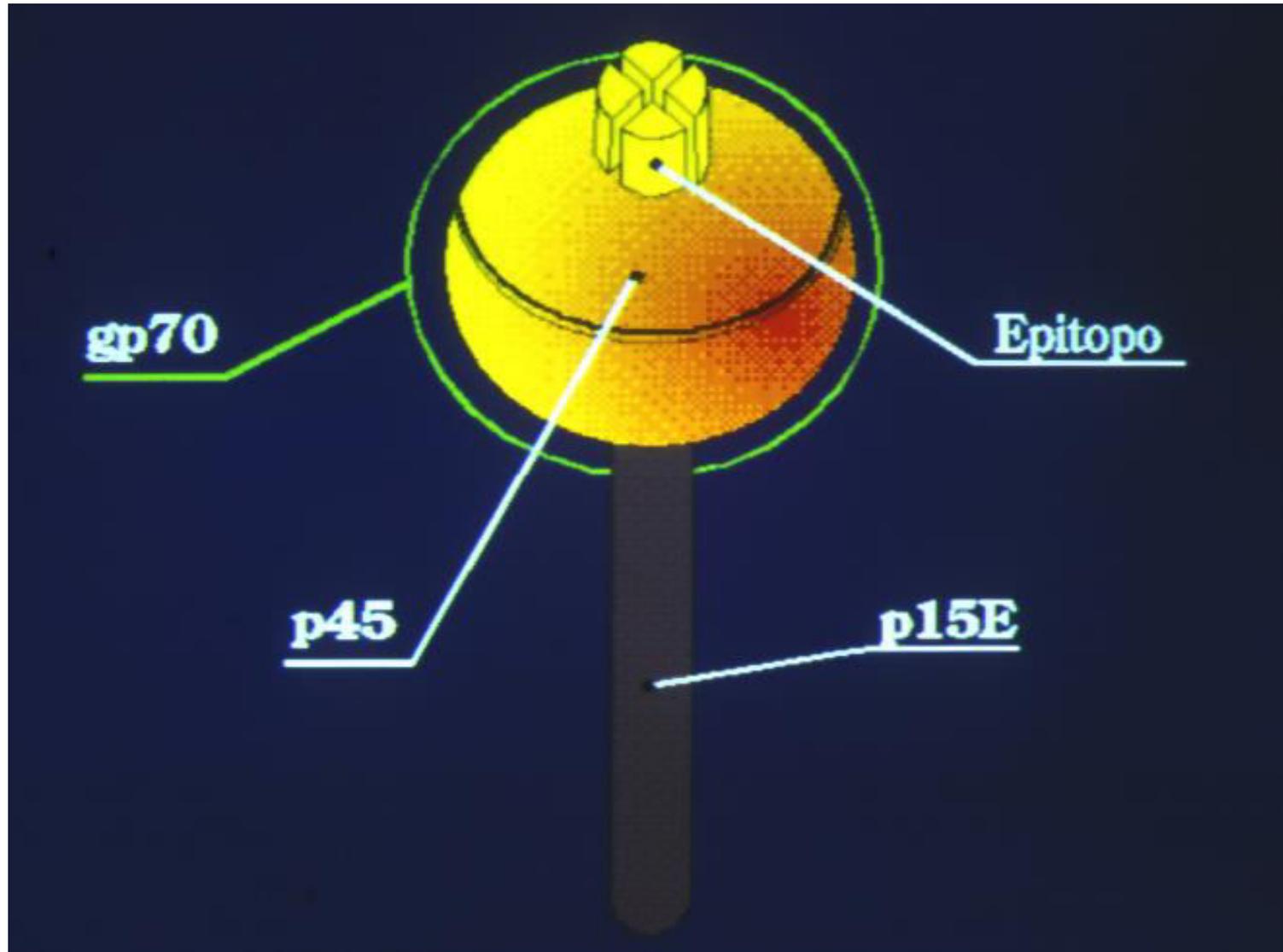
proteina glicosilata (gp70) ⇨ spike

proteina transmembranaria di ancoraggio ⇨ p15(E)

EZIOLOGIA



EZIOLOGIA



Replicazione *Retroviridae*

RNA VIRUS classe VI RNA diploide +

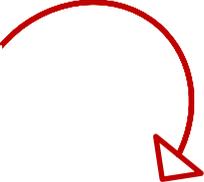
2 MOLECOLE IDENTICHE (+) A FORMARE UN DIMERO

Replicano mediante intermedi di DNA!!!!!!

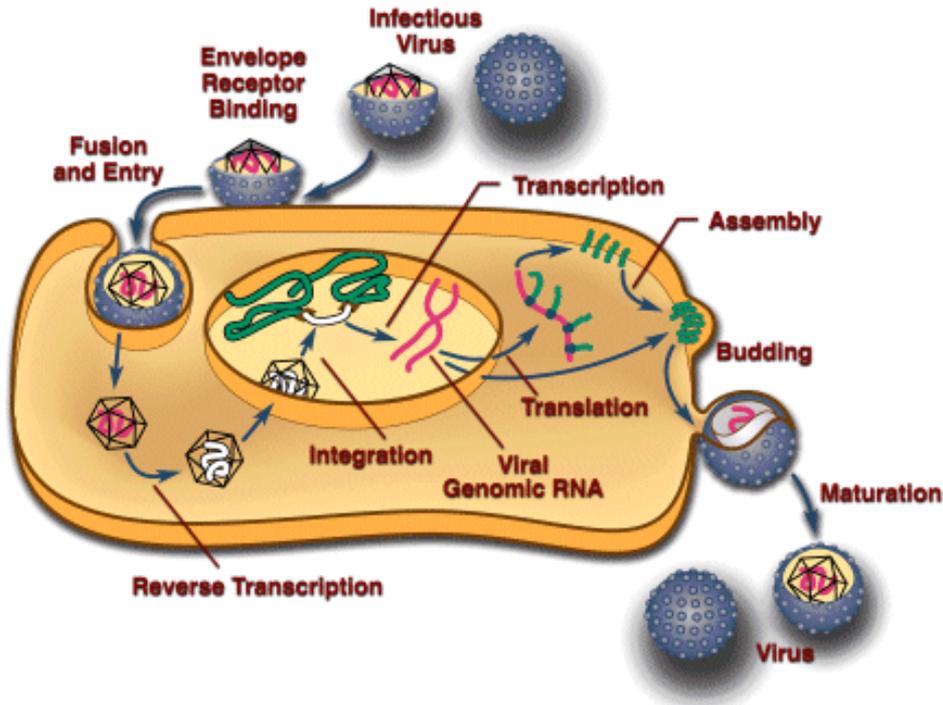
DNA polimerasi RNA dipendente

**TRASCRIPTASI INVERSA:
RNA+ retrotrascritto in DNA-**

Nel citoplasma



Replicazione



- ✓ adsorbimento
- ✓ penetrazione
- ✓ liberazione RNA
- ✓ copia di DNA complementare (c-DNA) per azione di RdDP

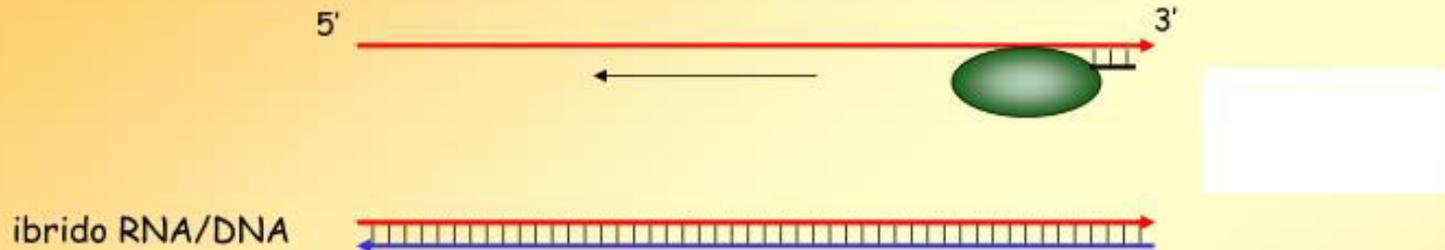
DNA/2 \implies circularizza \implies si integra nel genoma cellulare

RNA virale è trascritto a partire dal provirus integrato e viene tradotto in proteine strutturali e non

Replicazione

La trascrizione inversa

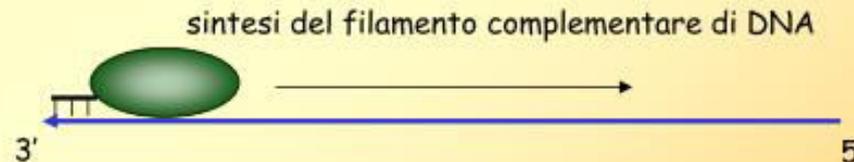
1. RT copia RNA e forma ibrido RNA/DNA



2. Poi RNA+ viene degradato e si libera DNA-



3. RT copia filamento DNA- per produrre



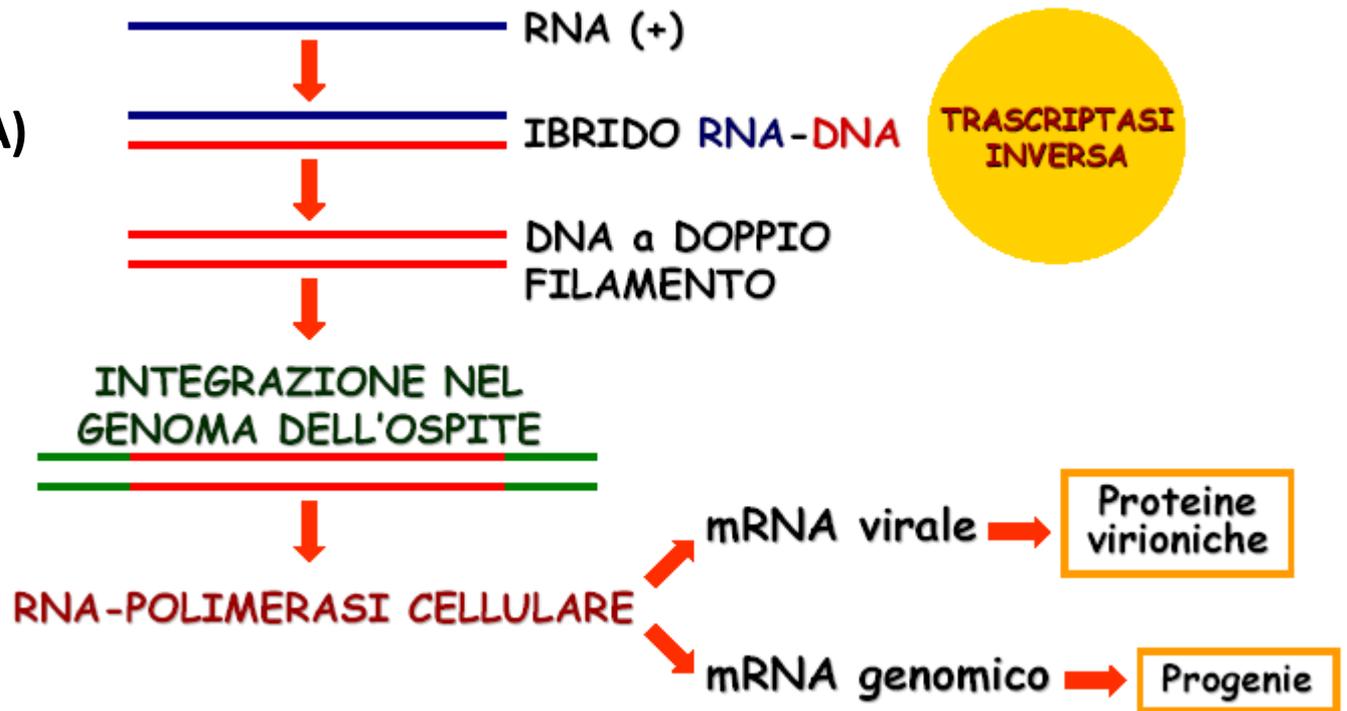
4. DNA doppio filamento (DNA provirale)



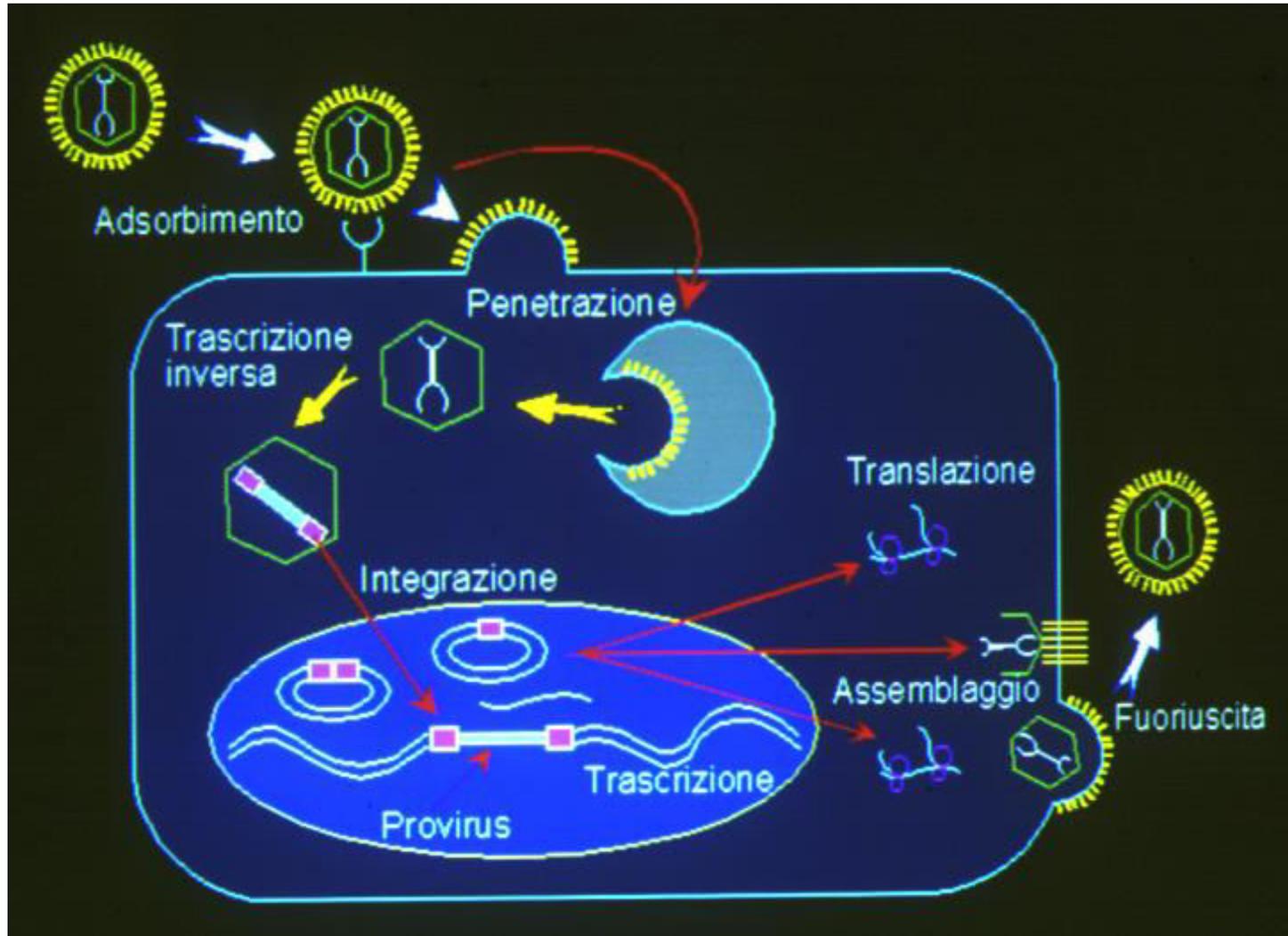
DNA provirale migra in nucleo, circularizza e si integra (**integrasi virale**) in DNA cellula ospite

Replicazione

(intermedio a DNA)



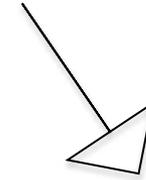
Replicazione



Biologia

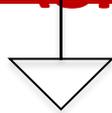
❖ p27 CA è il target dei test diagnostici.

Ciò è possibile perché i gatti non rispondono sierologicamente vs p27



Sono IT vs p27 attraverso esposizione a proteina endogena

❖ gp Env (gp70 SU, p15E): acquisita dopo budding



gp70 è target di Ac e componente di vaccini a subunità espressi nei batteri (p45)

PROPRIETÀ BIOLOGICHE DELLE PROTEINE DI FeLV

❖ P27 CA

Presente in citoplasma dei neutrofili e delle piastrine (test IF)

Presente in siero di gatti infetti (svelabile con ELISA)

✓ 3 forme antigeniche

✓ Veicola determinanti dei subgruppi: FeLV-A, FeLV-B, FeLV-C

✓ Responsabile di host-range

✓ Produzione Ac neutralizzanti

❖ gp 70 SU

❖ p15E

Reprime funzionalità linfociti T



SOTTOGRUPPI FeLV: A, B, C

- Differenze nella replicazione *in vitro* (cellule sensibili) in base a gp70
- **B** e **C** provengono da **A** (ricombinazione o mutazione DNA provirale)

FeLV - endogeni

- Non patogeni
- Non replicanti
- RD-114, enFeLV, MAC-1
- Si ricombinano con DNA di FeLV-**A** → FeLV-**B** aumento di patogenicità



SOTTOGRUPPI FeLV

FeLV-A

- Ausiliario per replicazione **B** e **C**
- Più diffuso tra gatti domestici
- Responsabile di trasmissione da un animale all'altro
 - Solo vaccino vs FeLV-A induce immunità
- Replica in cellule di gatto (ecotropico)
 - 50% CASI ISOLATO DA SOLO
 - 49% CASI ISOLATO CON FeLV-B
 - 1% CASI ISOLATO CON FeLV-B e FeLV-C

FeLV-B e FeLV-C originano in gatti FeLV-A infetti

FeLV-B

FeLV - B e C ➤ Sempre in associazione con A

- ORIGINE: ricombinazione tra FeLV-A e FeLV endogeno (env)

Livello di FeLV endogeno espresso in sangue periferico:
variabile (razza e sesso), influenzando la probabilità che FeLV-B si origini *in vivo*

- Esteso host range *in vitro* (anfotropico) (cane, gatto, visone, suino, scimmia)

- Replica a basso titolo

- Citopatogeno per cellule midollari

- Origina nel singolo gatto

- È presente solo con FeLV-A

**Gatti infetti con FeLV-A e FeLV-B:
> probabilità di sviluppo linfoma**

- Dovrebbe esaurirsi → Non succede perché si formano nuovi FeLV-B

FeLV-C

➤ Raro in natura → MUTAZIONE FeLV-A

➤ Si sviluppa raramente e solo in gatti con sintomi

➤ Origine: virus FeLV-A con mutazioni in sito recettoriale

➤ Non si trasmette tra gatti

➤ Determina aplasia eritrociti e anemia letale

➤ Replica in cellule di cane, gatto, cavia (anfotrofico), non suino e scimmia

➤ Isolato con FeLV-B

FeLV-C



MUTAZIONE GENE ENV DI FeLV-A

- È presente solo nel 2% dei gatti infetti
- È presente nel 30% dei gatti con anemia
- Diversa sequenza aa in gp 70 rispetto a FeLV-A
- Infetta le cellule di midollo bloccando la differenziazione

Blocco di differenziazione eritroide



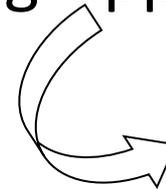
DUE TIPI DI VIRUS “NUOVI”

1. Ricombinante tra FeLV-A e geni cellulari

- a) Con geni FeLV endogeni
- b) Con proto-oncogeni

2. Mutanti FeLV a livello di gene ENV

Produzione di nuovo sottogruppo



FeLV-C

Responsabile dell'anemia



ESISTONO DUE GENI CELLULARI CORRELATI A FeLV

a) VIRUS FeLV ENDOGENO

✓ 8-10 copie di genoma di cellule di gatto sono identiche a genoma FeLV

Differenze nel gene ENV



✓ Non viene mai espresso come virus intero

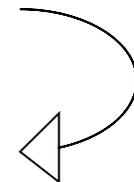
**RICOMBINAZIONE DI FeLV-A
CON FeLV ENDOGENO**



FeLV-B

Nuovo sottogruppo: modificazioni geni env

Recettori diversi sulla cellula



b) PROTO-ONCOGENI CELLULARI

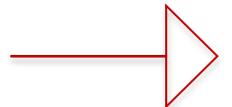
✓ Codificano per proteine che controllano replicazione cellulare

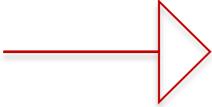
✓ Funzionano per brevi periodi



Ciclo di crescita delle cellule

✓ Eccessiva attività: cancro???





b) PROTO-ONCOGENI CELLULARI



LINFOSARCOMA

Manifestazione clinica diffusa
Frequente linfosarcoma timico



Presenza nel 90% di LT di virus FeLV correlato

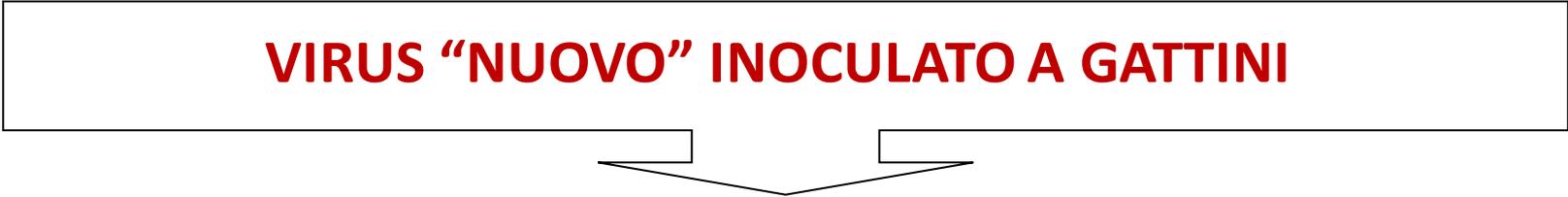
IL VIRUS PRESENTA:

- ✓ Sequenza di geni identica
 - ✓ Delezione di parte del genoma
- ✓ Inserimento di un oncogene cellulare



myc

VIRUS “NUOVO” INOCULATO A GATTINI



Riproduce linfo sarcoma in tempi rapidissimi

In condizioni naturali

Riproduce linfo sarcoma in tempi lunghissimi

2-3 ANNI

VIRUS “NUOVO” TRASFORMA LE CELLULE IN MALIGNI

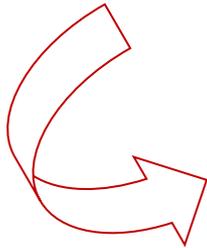
Gene myc controllato da LTR

Elevata produzione di gene myr

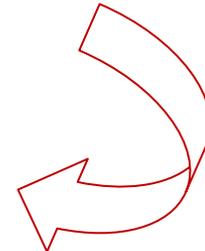
Elevata produzione di proteina myr nelle cellule

Feline Sarcoma Virus (FeSV):
Virus ricombinante tra FeLV e oncogeni cellulari
(oncogene fes)

Virus ricombinante non si trasmette orizzontalmente



DEAD AND HOST



SI ORIGINA NEL GATTO, INDUCE TUMORE
MUORE CON GATTO

Feline Sarcoma Virus (FeSV)

- ❖ Mutante defettivo di FeLV (richiede FeLV per replicare)
- ❖ Si forma raramente
- ❖ Si forma in gatti infetti in maniera persistente → ricombinazione di geni FeLV e geni cellulari oncogeni e delezione di parte del genoma
- ❖ Lesioni cutanee ulcerose o nodulari recidivanti

FeLV-B

- ❖ Associato a neoplasie

FeLV-C

- ❖ Associato con anemia non rigenerativa

GATTI INFETTI SOLO CON FeLV-A

28% dei gatti hanno viremia e
42% dei gatti sviluppano linfosarcoma

GATTI INFETTI CON FeLV-A e FeLV-B

Alta % di gatti con viremia e
57% sviluppa linfosarcoma

PATOLOGIA INDOTTA DA FeLV

DERIVA DA GENERAZIONE DI “NUOVI” VIRUS

- Scarsamente patogeno

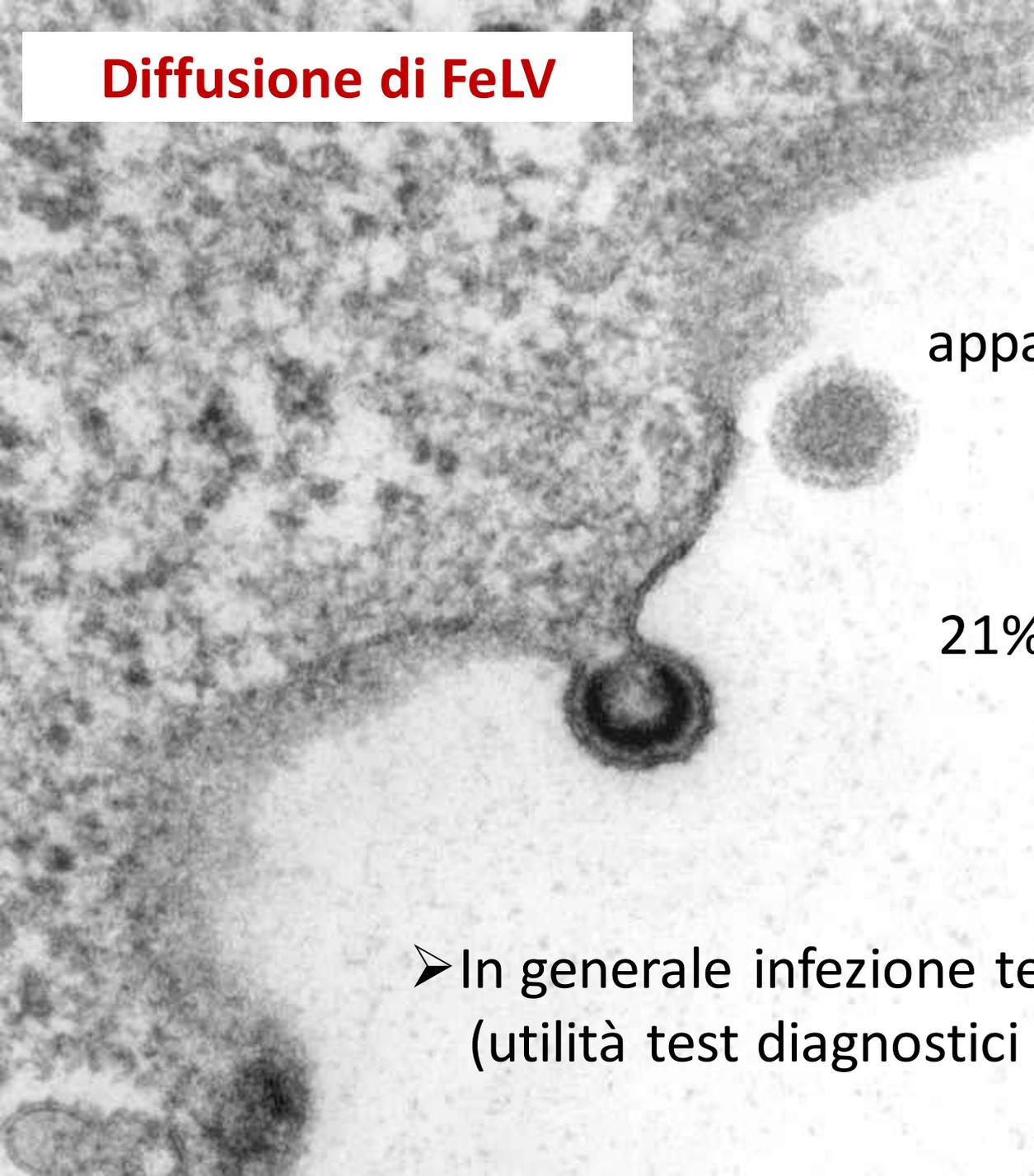
- Stabile 
 - Geneticamente
 - Antigenicamente

- Scarse differenze Ag fra i ceppi

MALATTIA DA “NUOVI VIRUS”

- Non diffondono in natura
- Si esauriscono con l'animale nel quale si sono formati

Diffusione di FeLV

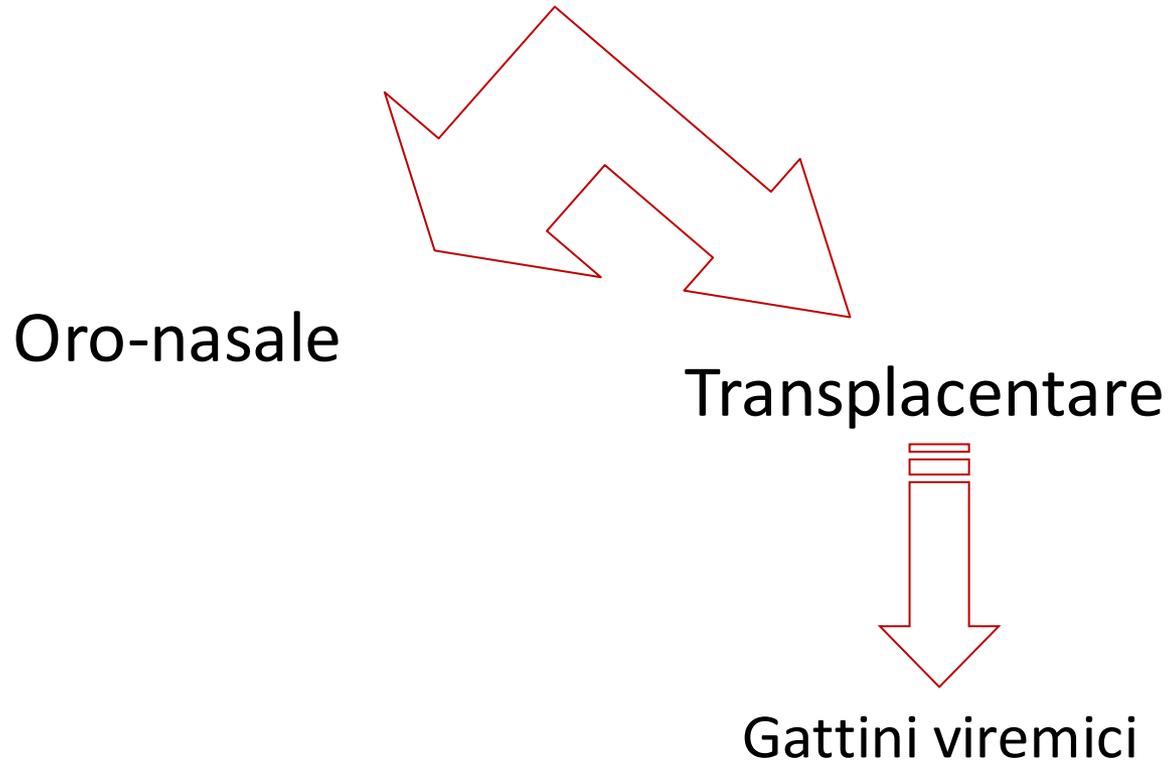
An electron micrograph showing several spherical virus particles. One particle is particularly prominent in the lower center, showing a dark outer shell and a lighter, granular interior. Other particles are visible in the upper right and lower left areas, though less distinct.

1-8%: in gatti
apparentemente sani

21% in gatti malati

- In generale infezione tende a diminuire
(utilità test diagnostici e vaccinazioni)

PENETRAZIONE VIRUS



Trasmissione orizzontale

Via oronasale

- Malattia contagiosa
- Gatti viremici eliminano con saliva, urine, feci
Virus presente in epitelio faringe, vescica, intestino



- Saliva più infettante del plasma
- Concentrazione virus è simile in gatti ancora sani e in gatti malati
- Contatto intimo (virus labile)
- Ciotole, lettiere, combattimento, pulizia, ecc.
latrogena: aghi, strumenti, trasfusioni

Trasmissione verticale

Da gatta viremica ai gattini

Neonati infetti:

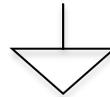


- Via placentare
- Subito dopo la nascita (contatti con saliva madre)
- Può avvenire da gatta con infezione latente (negativa a test di routine)
→ Riattivazione in gravidanza
- Può avvenire da gatta con localizzazione FeLV atipica in mammella (negativa ai test) → Trasmissione con latte

Infezione FeLV a livello uterino

20% di gattini infettati per via verticale sopravvivono e diventano **persistentemente viremici**

Elevata sensibilità dei neonati dipende da > sensibilità dei macrofagi



in vitro: 5 volte più sensibili rispetto a quelli di adulto

Alterazioni della riproduzione:

- Riassorbimento
- Aborto
- Mortalità neonatale



Trasmissione

SALIVA

FeLV

Condivisone di
ciotole, lettiera



Latte materno, saliva
madre



FIV

Morso



Via iatrogena (aghi, strumenti, trasfusioni)

Via transplacentare

Via venerea?

PATOGENESI

Evoluzione VARIABILE da soggetto a soggetto

Fattori condizionanti

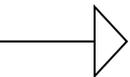
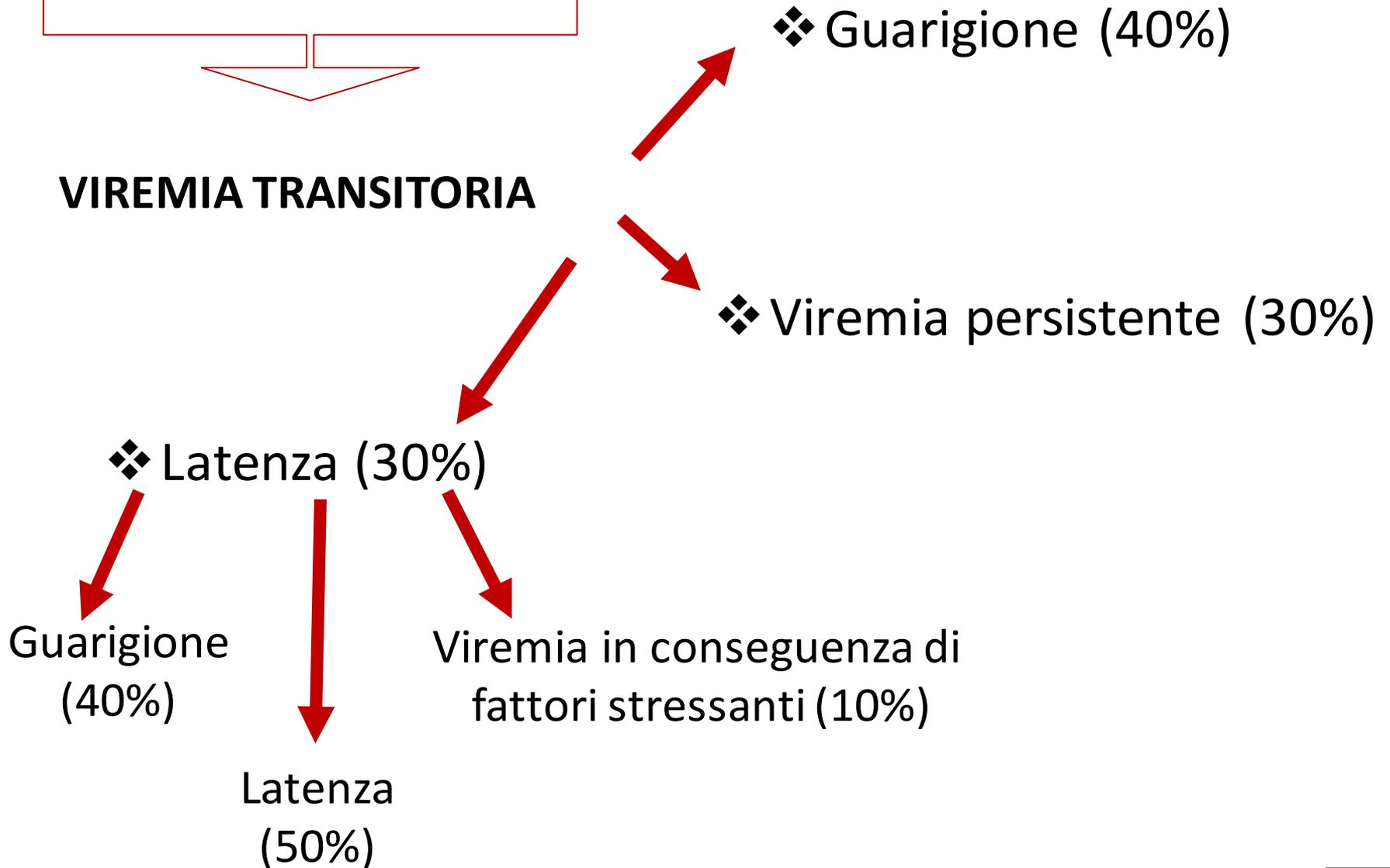
- a) Stato immunitario
- b) Età (giovani più sensibili → più probabile viremia persistente)
- c) Patogenicità ceppo virale
- d) Dose infettante
- e) Pressione di infezione (ambiente) → più probabilità viremia persistente

Infezione

- Penetrazione virus (generalmente oro-nasale);
- Replicazione nei tessuti oro-faringei.

INFEZIONE

VIREMIA TRANSITORIA



PATOGENESI

Penetrazione per via oro-faringea

Replicazione nei linfonodi regionali

Viremia con diffusione negli organi linfoidei
(milza, linfonodi, placche di Peyer)

- Produzione di Ac neutralizzanti che bloccano il virus (*Regressor*-40%)
- Coinvolgimento del midollo osseo
 - matrice granulocitopoietica e megacariocitica
 - viremia di origine midollare
 - animali *Progressor* con infezione persistente

PATOGENESI

Localizzazione del virus su diversi epiteli

- apparato respiratorio
- apparato digerente
- apparato urinario

- *animali escretori di virus*

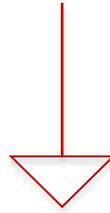
Durata patogenesi fino a insorgenza dell'infezione persistente 24-42gg

- Tale forma interessa circa il 30% dei casi

Nel 30% dei casi situazione intermedia con portatori asintomatici

INFEZIONE PER VIA ORONASALE

In 2 giorni —▶ recettori linfociti dei follicoli
di **tonsille faringee e palatine**



Replicazione in linfonodi regionali e poi trasportato da
linfociti e macrofagi in **organi linfoidei secondari**:
midollo, tessuti linfoidei, GALT



Amplificazione massiva in organi linfoidei

Inizio viremia monocitaria

In milza, linfonodi e GALT, FeLV presente
tra 3 e 12 giorni p.i.

P27 presente in cellule linfoidi in piena mitosi dei
centri germinativi dei follicoli corticali

Dopo 7 - 21 giorni p.i.



FeLV infetta le cellule emopoietiche non linfoidi
nel midollo osseo

Megacariociti contengono molto virus in citoplasma

Infezione delle piastrine



PATOGENESI

Risposta immunitaria valida

↓
In molti gatti FeLV è bloccato da
ottima risposta immune

↓
**Virus eliminato prima che
invada midollo ed epiteli**

**GATTO REGRESSOR
(infezione abortiva)**

→ Mancata presenza di virus
in epiteli e midollo

Elisa negativo
IF negativo
Abs positivo

↓
Protetto da reinfezioni successive anche in assenza di Ac



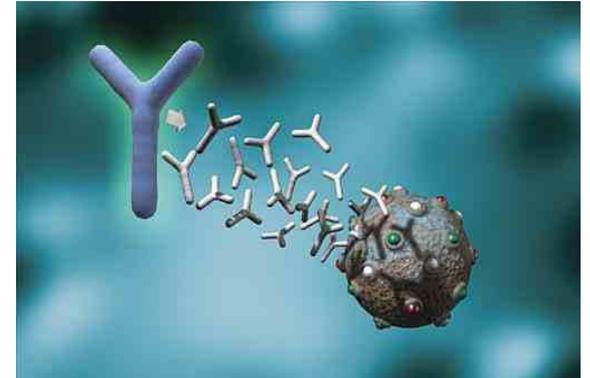
Gatti che sviluppano immunità
tra 28-40 gg p.i. producono Abs VN

PATOGENESI

Risposta immunitaria abbastanza valida

↓
FeLV diffonde per via sistemica nelle cellule mononucleari (linfociti e monociti)

↓
Gatti positivi al test per p27 libera (Elisa)



- ↓
- Depressione, febbre, linfoadenopatia → Virus presente in timo, milza, linfonodi, ghiandole salivari
 - Gatti contagiosi per altri soggetti → Viremia può essere bloccata dopo 3-16 sett con eliminazione virus

↓
Viremia transitoria

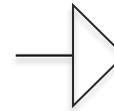
PATOGENESI

Risposta immunitaria poco valida



Se la viremia persiste oltre 16 settimane ...

... VIREMIA PERSISTENTE



**Progressiv
infection**

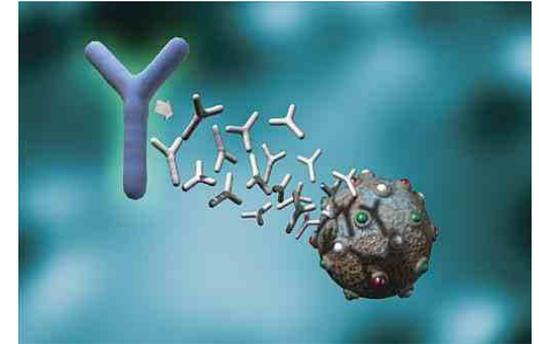
➤ Questi soggetti sviluppano le malattie FeLV associate e muoiono entro 3 anni

VIREMIA PERSISTENTE dipende da:

- 1) Qualità della risposta immune
- 2) Età del gatto
- 3) Pressione di infezione

PATOGENESI

Risposta immunitaria poco valida



Generalmente dopo 3 settimane di viremia, FeLV colonizza midollo osseo e infetta cellule precursori emopoiesi



Granulociti e piastrine infette vengono immessi in circolo
Neutrofili e piastrine circolanti sono positivi a P27

FeLV non abbandona più il gatto anche se temporaneamente termina la VIREMIA



PATOGENESI

Risposta immunitaria poco valida

↓
FeLV diffonde in epitelio di mucose e ghiandole

Localizzazione del virus su diversi epitelio

- apparato respiratorio
- apparato digerente
- apparato urinario

Bocca, naso, faringe, laringe,
trachea, ghiandole salivari,
stomaco, pancreas, vescica

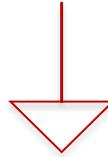
- ***animali escretori di virus con secrezioni***

Durata patogenesi fino a insorgenza dell'infezione persistente 24-42gg

- Tale forma interessa circa il 30% dei casi

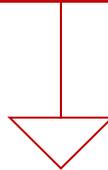
Nel 30% dei casi situazione intermedia con portatori asintomatici

Infezione di epitelio di cripte intestinali



FeLV presente in cellule basali.
Assente in cellule dei villi

VIRUS NON CITOPATOGENO



Blocca però il normale turnover delle cellule

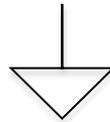


Inizia atrofia delle cellule

**Siamo nella fase viremica di origine midollare
(INFEZIONE PROGRESSIVA) che interessa cellule precursori
E inizia la patologia FeLV-correlata**

Clinicamente:
neutropenia, linfopenia, trombocitopenia (21-50 gg p.i.)

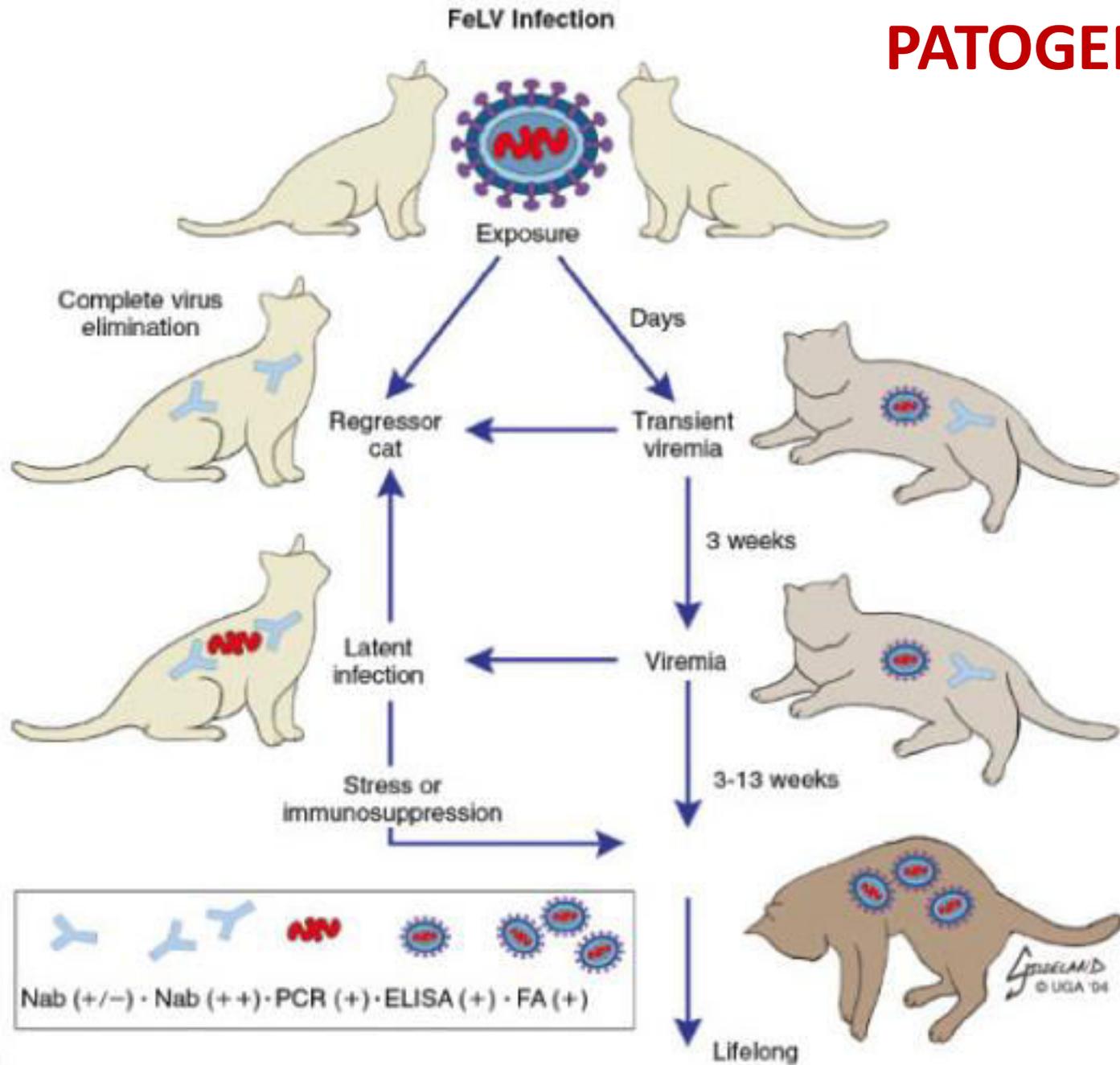
In alcuni gatti si ha reversione quadro clinico



Eliminazione virus, produzione Abs VN

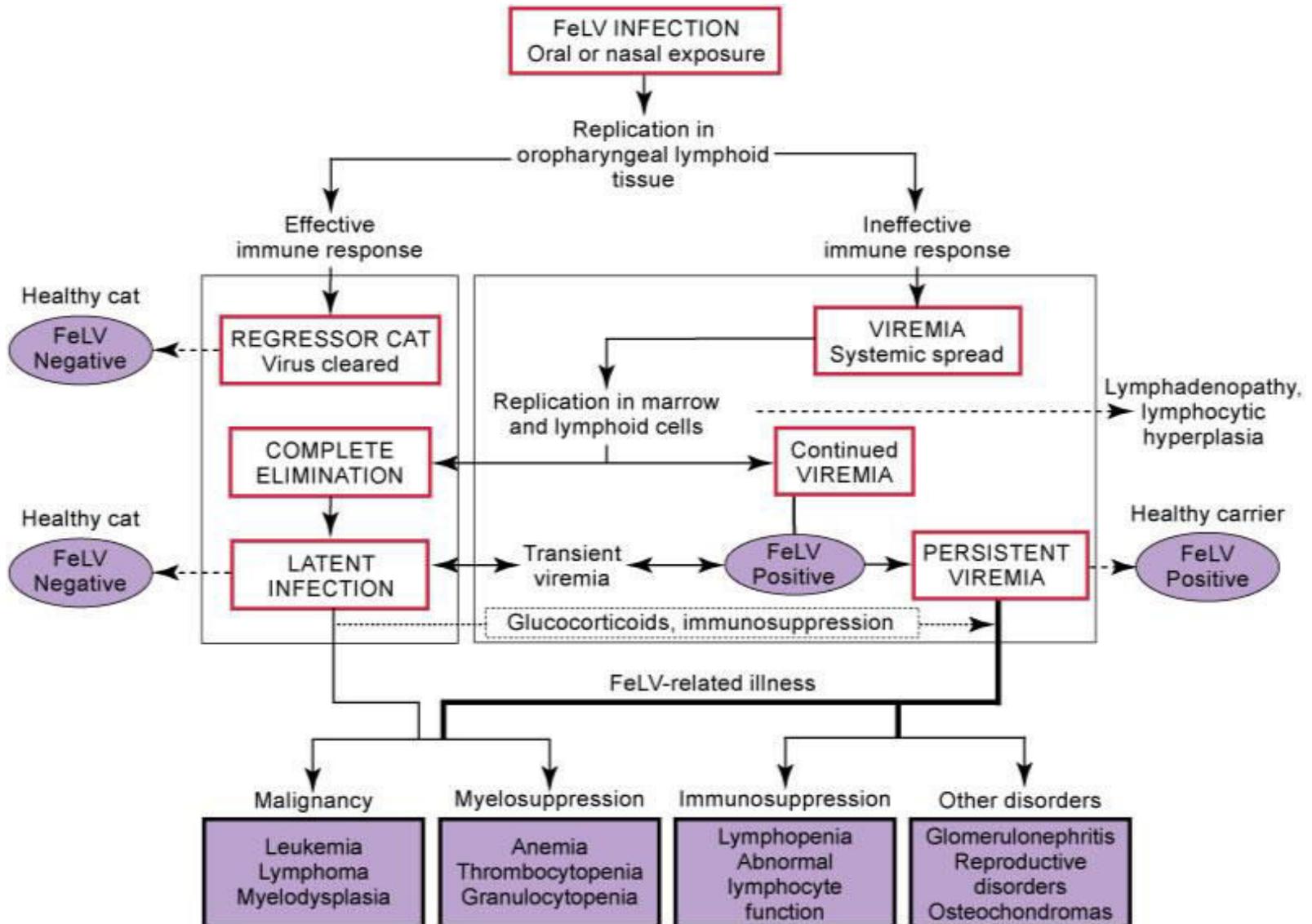
Rischio di probabile riattivazione di FeLV e di antigenemia (p27)

PATOGENESI

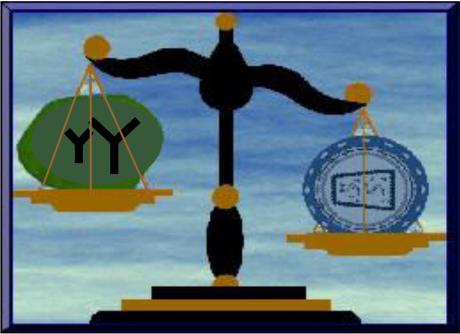


A

PATOGENESI



PATOGENESI



Pochi soggetti possono avere una replicazione persistente atipica e localizzata in **ghiandola mammaria, vescica, occhio**

- Produzione intermittente o bassa di p27
- Deboli positivi o discordanti al test antigenico
- Positivi e negativi in modo alterno

Gatta con infezione FeLV in mammella può infettare gattini con latte pur risultando negativa al test per p27



INFEZIONE LATENTE



- Gatti negativi ai test per p27 libera
-
- Virus riattivabile presente nel midollo
- FeLV può riattivarsi spontaneamente o per immunosoppressione
- Gatti nuovamente viremici
- Gatte gravide riattivano virus e lo trasmettono ai gattini

Segni clinici

Nelle prime fasi decorre in modo asintomatico

I sintomi compaiono dopo mesi/anni di viremia persistente e sono variabili da soggetto a soggetto

➤ Mortalità gatti viremici:
50% in 2 anni e 80% in 3 anni



➤ Tipo di virus: FeLV-**B** è associato a tumori
FeLV-**C** è associato a anemia non rigenerativa

❖ 20% NEOPLASIE ❖ 80% MALATTIE NON NEOPLASTICHE

Per immunosoppressione

❖ MALATTIE NEOPLASTICHE

TUMORI LINFOIDI:

linfosarcoma, leucemia linfoide



Linfosarcoma: 30% tumori gatti

SINTOMI:

condizioni generali scadenti, ipertermia, anemia

CLASSIFICAZIONE IN BASE A LOCALIZZAZIONE TUMORI

TUMORI	LESIONI	SINTOMI
Mesenterico (30%)	Infiltrazioni perilinfonodali	Diarrea emorragica vomito, Sindrome occlusione
Mediastinico (30%)	Infiltrazioni linfonodi, timo, cuore	Dispnea, versamento pleurico
Linfosarcoma Multicentrico (10%)	Fegato, milza, cuore, polmoni	Correlati alle lesioni
Linfosarcoma renale	Mono o bilaterale	Insufficienza renale

Infiltrazioni in:
cervello, pelle, ovaio, occhio

❖ MALATTIE NON NEOPLASTICHE

COINVOLGONO TESSUTI:

1. LINFOPOIETICI

2. MIELOIDI

4. APPARATO RIPRODUTTORE

3. RENALI

1. Alterazioni degenerative e necrotiche dei tessuti linfoidei

a) Atrofia timica gattini → Conseguenza di infezione congenita o immediatamente post-natale

Anoressia, letargia, linfopenia, atrofia timo e altre strutture linfoidei

↪ Superinfezioni da virus, batteri, funghi

b) Immunodepressione adulti → In gatti con infezione cronica

INSORGENZA INFEZIONI:

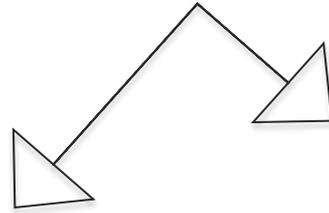
FIP, FVR, FPL, stomatiti, gengiviti, piodermiti, polmoniti, toxoplasmosi

Decorso malattia correlato a condizioni ambientali

2. Alterazioni degenerative e necrotiche dei **tessuti mieloidi**

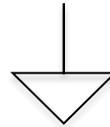
a) Anemia

RIGENERATIVA:
con eritroblastosi



NON RIGENERATIVA:
con eritroblastopenia,
o leucopenia e trombocitopenia

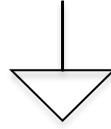
b) Alterazioni midollari



Panleucopenia

Febbre, anoressia, ipertermia, linfoadenopatia, vomito e diarrea sanguinolenta

3. Tessuto renale: glomerulonefrite



Insufficienza renale

Deposito immunocomplessi su membrana basale glomerulo

4. Apparato riproduttore

- ✓ ABORTO: 75% aborti gatti sono riferibili a infezioni FeLV
- ✓ ENDOMETRITI
- ✓ RIASSORBIMENTO

Segni clinici

1) Neoplasie

Linfoproliferative

- Linfoma maligno (timico, intestinale)
- Leucemia linfatica

Mieloproliferative

- Leucemia linfoide
- Leucemia mieloide

Altre forme

- Fibrosarcoma
- Osteocondroma

2) Soppressione midollare

- Anemia
- Trombocitopenia
- Neutropenia
- Pancitopenia

Segni clinici

3) Immunosoppressione

- Infezioni secondarie batteriche, virali, parassitarie (FIP, Toxoplasmosi, Calicivirosi)

4) Malattie immunomediate

- Anemia emolitica autoimmune
- Glomerulonefrite
- Uveite
- Poliartrite

5) Altre patologie

- Neuropatie
- Patologie della riproduzione

APPROCCIO DIAGNOSTICO

Occorre testare:

- I gatti comunque malati
- I gatti di nuova introduzione
- I gatti con storia sconosciuta per FeLV
- I gatti a rischio di infezione
- I gatti prima della vaccinazione per FeLV

Per i gatti di nuova introduzione occorre ripetere il test dopo 90 giorni dal primo

Principi generali

- I gatti infetti possono vivere per anni: eutanasia va decisa non solo sulla base di test;
- Test positivo significa solo infezione da FeLV. Non necessariamente le patologie in gatto positivo FeLV sono dovute a questa infezione;
- Il test non è affidabile al 100% sempre e in tutte le situazioni: bisogna interpretarlo con dati clinici e con patogenesi FeLV

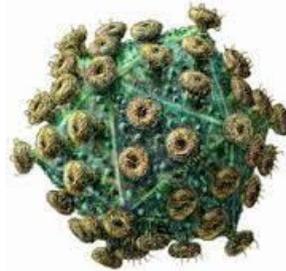
DIAGNOSI

FIV o FeLV: cosa facciamo?

Virologica

Vaccinazioni, infezioni abortive o regressive

FeLV

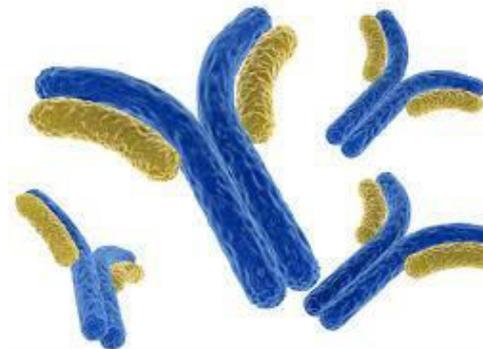


VIRUS O PARTI DI ESSO
(p27, DNA provirale, RNA virale)

Sierologica

No vaccini
(USA, Nuova Zelanda,
Australia, Giappone)

FIV



ANTICORPI

Quale test? Quale campione?

Elisa, Immunocromatografia (ICGA), IF

SANGUE INTERO

- Elisa, ICGA → p27 libera (test rapidi ambulatoriali)
- IF → p27 nel citoplasma (in genere negativa in viremia iniziale)

Frequenti → FALSI POSITIVI

Rari → FALSI NEGATIVI

Bassi livelli di replicazione
Infezioni latenti, infezioni focali

Importante:

Test di conferma per positivi (PCR, isolamento) → costosi

Si può ovviare ripetendo il test immediatamente solo per aumentare l'affidabilità del test

Quale test? Quale campione?

PCR e Real Time PCR

SANGUE INTERO (PMBC)

- Non svela antigeni virali (p27) ma DNA provirale
- Elevata sensibilità e specificità
- Molto affidabile in caso di test positivo
- Richiede laboratori attrezzati
- Da usare per sospette infezioni latenti in gatti con linfomi o sindromi da soppressione del midollo osseo (infezioni latenti, infezioni focali)

Quale test? Quale campione?

PCR e Real Time PCR

TAMPONE ORALE

- Ricerca RNA virale (virus in replicazione)
- Elevata sensibilità e specificità
- Richiede laboratori attrezzati
- Da abbinare a PCR/real-time PCR su sangue per sospette infezioni regressive

Positività persistente solo in fase acuta di infezioni regressive (viremia transitoria) ed in infezioni progressive (viremia persistente)

Specialized equipment and training is needed to accurately run the **ELISA test**. The bottle with the dark blue top is the reagent used to start the chemical reaction needed to read the test. A few drops of blood are all that is needed. The test kit the blood will be placed into is called a Snap test, because the right hand side of it is snapped down to complete the test.



After being placed in the reagent solution, the blood is transferred to the diagnostic test kit well. The blood immediately starts flowing towards the white circle in the center of the test kit. It takes 30-60 seconds to reach the white circle



When the blood flow reaches the center circle the kit is activated by pushing down on the elevated area on the right side of the test kit. After a few seconds the blood starts flowing back to the left.



The blood eventually flows all the way back to its starting point. After 10 minutes a blue dot appears, signifying that this cat is negative for both FeLV and FIV.



The three different types of positive results that are possible:

FeLV Positive



FeLV and FIV Positive

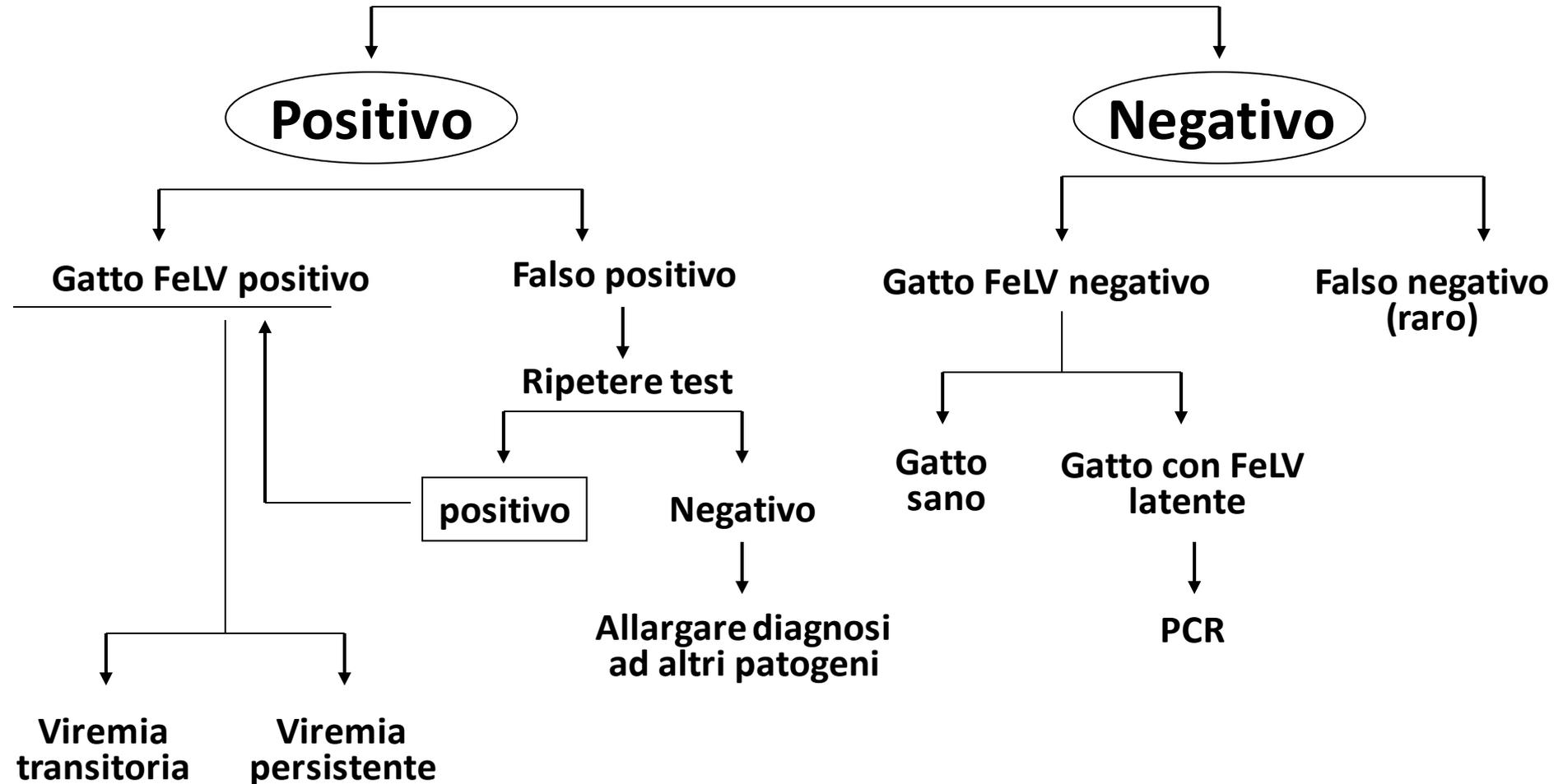


FIV Positive



Algoritmo diagnostico

Test per p27 (Elisa, ICGA)



Quale test/campione per FIV?

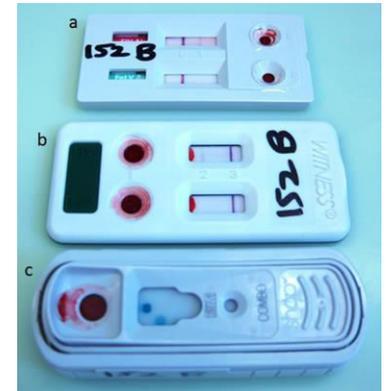
Elisa, ICGA, WB

SIERO (SANGUE INTERO)

- WB → Ab tutte proteine virus ('gold standard' sierologico)
- Elisa → Ab p24 o gp41
- ICGA → Ab peptidi gp41, p15, p24 (a volte mix)

Frequenti → FALSI POSITIVI

Si può ovviare ripetendo il test immediatamente
per aumentare la specificità del test



Positività in gattini fino a 16 settimane per Abs colostrali
Eccezionalmente fino a 6 mesi

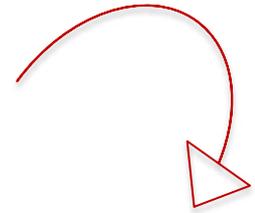
RITESTARE IL GATTO 2 MESI DOPO LE 16 SETT

Elisa, ICGA, WB

Quale test/campione per FIV?

VACCINAZIONI PER FIV → PROBLEMI INTERPRETATIVI

Vaccini al momento disponibili solo in USA,
Australia, Nuova Zelanda, Giappone



Non raccomandati da WSAVA per interferenza con test diagnostici

Possibili → FALSI NEGATIVI

- Stadi precoci (Ab non presenti, bassi titoli) **60-70 gg (6 mesi)**
- Stadi tardivi (immunodepressione grave)
- Elevata replicazione virale (sequestro di Ab da parte di FIV)

ICGA, SANGUE

Quale test/campione per FIV?

Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases 42 (2015) 43–52

Determining the feline immunodeficiency virus (FIV) status of FIV-vaccinated cats using point-of-care antibody kits



Mark E. Westman^{a,*}, Richard Malik^b, Evelyn Hall^a, Paul A. Sheehy^a, Jacqueline M. Norris^{a,*}

Table 5

Summary of results from FIV-unvaccinated cats (n = 239), highlighting general trends as well as discrepant results. Cat #126, cat #259 and cat #277 were negative with FIV RealPCR™ testing. Discordant cats were re-tested at a later date using thawed plasma stored at -80 °C, ++ positive, -- negative, NP = not performed.

Category	SNAP Combo	Witness	Anigen Rapid	PCR (initial)	Virus isolation
FIV-unvaccinated/FIV-uninfected (n = 209)	-	-	-	-	NP
FIV-unvaccinated/FIV-infected (n = 21)	+	+	+	+	NP
<u>FIV-unvaccinated/FIV-uninfected discordant cats (n = 9)</u>					
Cat #60	Faint +	-	-	-	NP
Cat #263	Faint +	-	-	-	NP
Cat #280	Faint +	-	-	-	NP
Cat #326	Faint +	-	-	-	NP
Cat #335	+	-	-	-	NP
Cat #305	+	Faint +	-	-	-
Cat #126	-	-	-	+	NP
Cat #259	-	-	-	+	NP
Cat #277	-	-	-	+	NP

Specificità

97,2%

Sensibilità

87,5%

FALSI POSITIVI/NEGATIVI CON TEST ICGA

ICGA, SALIVA

Quale test/campione per FIV?

Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases 46 (2016) 66–72

Diagnosing feline immunodeficiency virus (FIV) infection in FIV-vaccinated and FIV-unvaccinated cats using saliva



Mark E. Westman^{a,*}, Richard Malik^b, Evelyn Hall^a, Jacqueline M. Norris^{a,*}

Table 2

(FIV-unvaccinated cohort): Results of testing using three point-of-care FIV antibody kits and a commercial real-time PCR assay in FIV-unvaccinated cats using saliva ($n = 239$; comprising 218 FIV-uninfected and 21 FIV-infected cats). PPV = positive predictive value, NPV = negative predictive value. Confidence intervals (95%) are given in brackets.

Test kit	SNAP Combo	Witness	Anigen Rapid	FIV Real PCR
True positive	8	21	20	16
False negative	13	0	1	5
True negative	217	218	218	218
False positive	1	0	0	0
Sensitivity (%)	8/21 – 38 (17–59)	21/21 – 100	20/21 – 95 (86–100)	16/21 – 76 (58–94)
Specificity (%)	217/218 – 99.5 (99–100)	218/218 – 100	218/218 – 100	218/218 – 100
PPV (%)	8/9 – 89 (68–100)	21/21 – 100	20/20 – 100	16/16 – 100
NPV (%)	217/230 – 94 (91–97)	218/218 – 100	218/219 – 99.5 (99–100)	218/223 – 98 (96–100)

Sensibilità variabile
Specificità maggiore

Quale test/campione per FIV?

PCR/Real-time PCR SANGUE INTERO (PBMC)

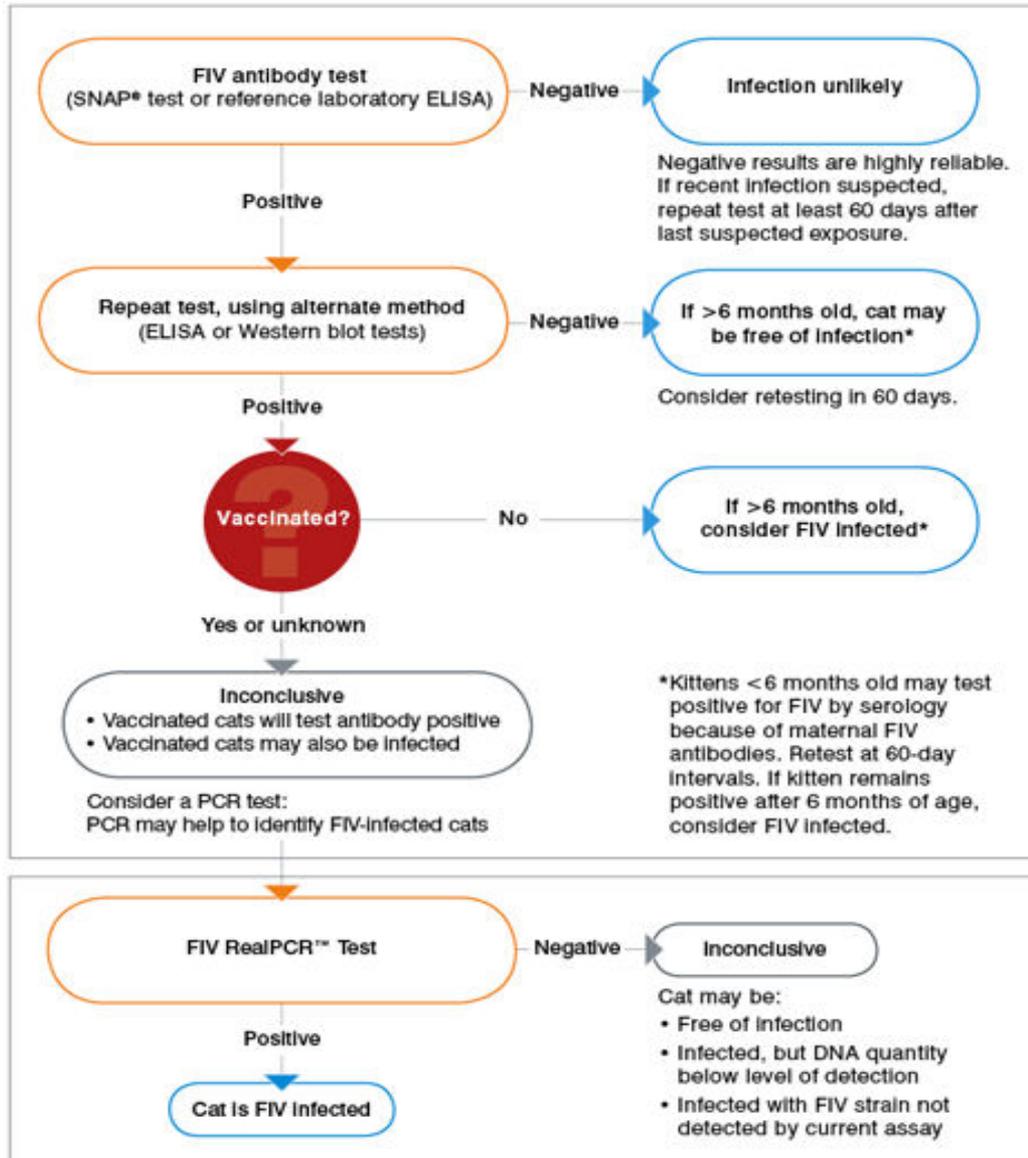
- Ricerca DNA provirale (integrato in DNA leucociti)
- Elevata specificità, non elevata sensibilità
- Richiede laboratori attrezzati
- Da usare per sospette infezioni in stadi precoci o terminali, in gattini <16 sett positivi a ICGA

Possibili → FALSI NEGATIVI

- Notevole variabilità genetica dei clade FIV (OK per clade A)
- Discrepanze dei risultati tra laboratori

Algoritmo diagnostico

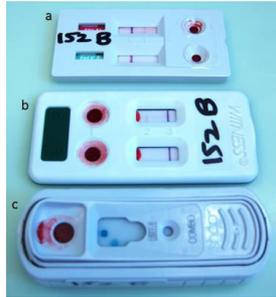
FIV



Diagnosi FeLV/FIV

Cosa fare?

FeLV/FIV



TEST RAPIDI

p27 FeLV
Ab FIV

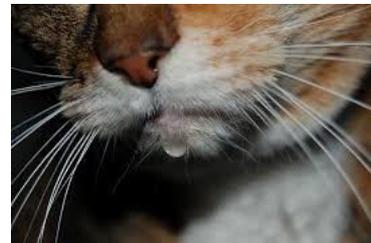
REAL-TIME PCR



DNA
PROVIRALE

FeLV

REAL-TIME RT-PCR



RNA VIRALE

FIV

REAL-TIME PCR



DNA
PROVIRALE

Diagnosi FeLV/FIV

Cosa fare?

- Rapportare risultati test diagnostici ad esami emato-biochimici
 - Sintomi non sempre dovuti ad infezione FIV/FeLV
 - Elevata proporzione di gatti FIV+ non hanno sintomi

Quali gatti testare?

Diagnosi FeLV/FIV

- I gatti comunque malati
- I gatti di nuova introduzione
- I gatti con storia sconosciuta per FIV/FeLV
- I gatti a rischio di infezione (colonie, gattili)
- I gatti prima della vaccinazione per FeLV

Impedire trasmissione dei retrovirus a gatti negativi

ISOLARE I GATTI FeLV/FIV+
CASTRARE I MASCHI FIV+
VALUTARE TERAPIA ANTIVIRALE

Impedire trasmissione di altri patogeni a gatti positivi

PROFILASSI

- Test diagnostico (p27)
- Isolamento positivi e abbattimento
- Test su gatti negativi dopo 1 e 3 mesi
- Vaccinazione

VACCINI

• INATTIVATI

Virus intero coltivato su cellule (2 inoculazioni)

Nomi commerciali: Leucat (Pierzoo Rhone Merieux)

Fevaxyn FeLV (Fort dodge animal health S.p.A.)

• SUB-UNITÀ

Glicoproteina gp70 ottenuta da cellule di linfoma felino FL74 infette in maniera persistente con FeLV A, B, C (3 inoculazioni)

Nomi commerciali: Leukocell 2 (Pfizer Italiana)

• RICOMBINANTI

-p45 (frazione della gp70) espressa in *E. coli*

-Virus vaiolo del canarino (canaripox) che esprime gag e env

Nomi commerciali: Leucofeligen (Virbac)

Eurifel FeLV (Merial Italia S.p.A.)