

**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA**  
**VETERINÁRIA**  
**PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS**

**DISSERTAÇÃO**

**Doenças de gatos domésticos (*Felis catus*) durante os primeiros anos da pandemia de COVID-19: um estudo retrospectivo multi-institucional de necropsias do Mato Grosso e Rio de Janeiro, Brasil**

**Gabriela Oliveira Pereira**

**2023**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO**  
**INSTITUTO DE VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA**  
**VETERINÁRIA**  
**PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS**

Doenças de gatos domésticos (*Felis catus*) durante os primeiros anos da pandemia de COVID-19: um estudo retrospectivo multi-institucional de necropsias do Mato Grosso e Rio de Janeiro, Brasil

**GABRIELA OLIVEIRA PEREIRA**

*Sob a Orientação do Professor*  
**Daniel Guimarães Ubiali**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Medicina Veterinária**, no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (Patologia e Ciências Clínicas), Área de Concentração em Patologia Animal.

Seropédica, RJ

Julho, 2023

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

P436d      Pereira, Gabriela Oliveira , 1994-  
Doenças de gatos domésticos (Felis catus) durante os primeiros anos da pandemia de COVID-19: um estudo retrospectivo multi-institucional de necropsias do Mato Grosso e Rio de Janeiro, Brasil / Gabriela Oliveira Pereira. - Rio de Janeiro, 2023.  
55 f.: il.

Orientador: Daniel Guimarães Ubiali.  
Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Pós graduação em medicina veterinária, 2023.

1. doenças de felinos. 2. SARS-CoV-2. I. Ubiali, Daniel Guimarães, 1985-, orient. II Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Pós graduação em medicina veterinária III. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO**  
**INSTITUTO DE VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**GABRIELA OLIVEIRA PEREIRA**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Medicina Veterinária**, no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (Patologia e Ciências Clínicas), Área de Concentração Patologia Animal.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 28/07/2023

---

Daniel Guimarães Ubiali (Dr.) UFRRJ  
(Orientador)

---

André Felipe Andrade dos Santos (Dr.) UFRJ

---

Edson Moleta Colodel (Dr.) UFMT

---

Luciana Sonne (Dra.) UFRGS



Emitido em 2023

**TERMO Nº 882/2023 - PPGMV (12.28.01.00.00.00.51)**

**(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)**

*(Assinado digitalmente em 03/08/2023 16:36 )*

DANIEL GUIMARAES UBIALI  
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR  
DESP (12.28.01.00.00.00.52)  
Matrícula: ###017#8

*(Assinado digitalmente em 04/08/2023 09:46 )*

ANDRÉ FELIPE ANDRADE DOS SANTOS  
ASSINANTE EXTERNO  
CPF: ###.###.317-##

*(Assinado digitalmente em 03/08/2023 17:18 )*

EDSON MOLETA COLODEL  
ASSINANTE EXTERNO  
CPF: ###.###.439-#

*(Assinado digitalmente em 03/08/2023 17:14 )*

LUCIANA SONNE  
ASSINANTE EXTERNO  
CPF: ###.###.880

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrrj.br/documentos/> informando seu número: **882**, ano:  
**2023**, tipo:

**TERMO**, data de emissão: **03/08/2023** e o código de verificação: **91613119c4**

## DEDICATÓRIA

*“Suba o primeiro degrau com fé.  
Não é necessário ver toda escada.  
Apenas dê o primeiro passo.”  
(Martin Luther King)*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por todas oportunidades até aqui, e todas que estão por vir. Quando menina, aos 16 anos, assistia bancas de dissertação e teses de pós-graduação, à convite da professora Sandra Barros (*in memorian*). E assim me inspirei para este objetivo, hoje concluído.

Aos meus pais que mesmo sem entender com detalhes a escolha da minha trajetória, nunca mediram esforços para me ajudar. Minha irmã que me admira tanto. E ao meu noivo por ouvir todas as minhas falas, todo apoio extra-horários, e abraços ofertados para me acalmar em meio as angústias.

Ao meu orientador, Daniel Ubiali, por sempre vibrar e acreditar no meu trabalho e me fazer parte de sua família junto a Bia Weiss e a Lis. Ao Asheley por ser o melhor amigo de bancada e cafés durante os meus tempos no SAP. Marina por cortar todas as minhas laminas e pelas palavras de ânimo, aos demais, Fernanda, Isabel Cartagena, Luís Tondo, Miguel, Daniela Rocha, Davi Leal, Cassiane, Jorge Lucas, Bartolomeu, Paula, Marlon, Karla e Nathalia... muito obrigada! Amo a vida de cada um.

Aos professores do diagnóstico molecular e microbiológico da UFMT, Profa Valéria Dutra e prof. Luciano Nakazato e sua equipe, que me receberam bem, obrigada por todo esforço com os dados do meu trabalho. Aos professores da patologia da UFMT, prof. Edson, Fernando e profa. Caroline, obrigada pelo espaço e oportunidade de ler lâminas com todos. As demais professoras do nosso setor profas. Marilene, Ticiane e Vivian meu muito obrigada pela contribuição na minha formação como patologista.

E por fim, não menos importante, todos os clínicos veterinários parceiros que nos enviaram gatos no período do presente estudo, em tempos de pandemia. Vocês foram o motor deste estudo. Obrigada pela confiança! Dedico este trabalho a espécie felina!

Por fim: “o presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001.”

A vida é uma eterna escola de aprender... que as minhas escolhas sejam sábias. Até logo, em breve e leve... doutorado!

## RESUMO

PEREIRA, Gabriela Oliveira. **Doenças de gatos domésticos (*Felis catus*) durante os primeiros anos da pandemia de COVID-19: um estudo retrospectivo multi-institucional de necropsias do Mato Grosso e Rio de Janeiro, Brasil**. 2023, 51p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária – Patologia e Ciências Clínicas). Instituto de Veterinária, Departamento de Epidemiologia e Saúde Pública, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2023.

Estudos que investigam causas de morte na espécie felina têm crescido e apresentam informações para médicos veterinários, grupos de pesquisa, empresas do ramo veterinário e proprietários. Foram relatadas a causa de morte ou eutanásia de gatos domésticos no período de Janeiro de 2020 a Dezembro de 2021, durante a pandemia de SARS-CoV-2. Os dados foram obtidos a partir de necropsias realizadas pelo Setor de Anatomia Patológica da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (SAP/UFRuralRJ) e do Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Mato Grosso (LPV/UFMT). Neste período, foram realizadas 96 necropsias de gatos domésticos. Estabelecemos a causa da morte de 87 felinos (90,4%) e 9 felinos não foram conclusivos (10,6%). Estabelecemos grupos diagnósticos: infecciosa e parasitária (37,5%), neoplásicas (14,5%), outras causas (8,4%), malformação (7,3%), doença do trato urinário inferior felino DTUIF (7,3%), degenerativa (6,2%), trauma (6,2%) e iatrogênica (3,1%). As doenças infecciosas correspondem ao grupo de doenças mais observadas em gatos do Rio de Janeiro e Mato Grosso e a pneumonia foi mais diagnosticada (19,8%). Todos os 96 felinos foram testados por RT-PCR para os genes ORF-1a, Nucleocapsídeo 1 e Nucleocapsídeo 2 de SARS-CoV-2 foram negativos. Amostras de pulmão e rim foram submetidas à imuno-histoquímica, com anticorpos anti-nucleocapsídeo anti-SARS-CoV e anti-proteína Spike SARS-CoV-2. Em um felino, houve imunomarcagem para os dois anticorpos testados, com histórico de RT-qPCR positivo para SARS-CoV-2 em amostras de swab oronasal e nasofaríngeo. O estudo imuno-histoquímico e a vigilância molecular em felinos do Brasil em 2020 e 2021 demonstraram uma baixa frequência de infecção por SARS-CoV-2. Ressaltamos que os estudos de causa morte e a vigilância de zoonoses na espécie felina devem ser explorados e contínuos.

**Palavras-chave:** SARS-CoV-2, felinos domésticos, eutanásia, morte natural, imuno-histoquímica.

## ABSTRACT

PEREIRA, Gabriela Oliveira. **Diseases in domestic cats during pandemy: a multi institutional necropsy study from Mato Grosso and Rio de Janeiro, Brazil.** 2023, 51p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária – Patologia e Ciências Clínicas). Instituto de Veterinária, Departamento de Epidemiologia e Saúde Pública, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2023.

Investigations into causes of death in the feline species have grown and provide information for veterinarians, research groups, veterinary companies and owners. The cause of death or euthanasia of domestic cats was reported from January 2020 to December 2021, during the SARS-CoV-2 pandemic.

Herein we presented the cause of death or euthanasia of cats from January 2020 to December 2021, during the first and second year of SARS-CoV-2 pandemic. The data were obtained from necropsies performed by “Setor de Anatomia Patológica” from “Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro” (SAP/UFRuralRJ) and the “Laboratório de Patologia Veterinária” from “Universidade Federal de Mato Grosso” (LPV/UFMT). A total of 96 feline necropsies were performed. We established the reason for death for 87 cats (90.4%) and 9 cats were inconclusive (10.6%). We established the diagnostic groups: infectious and parasitic (37.5%), neoplasm (14,5%), other causes (8.4%), malformation (7.3%), lower urinary tract disease LUTD (7.3%), degenerative (6.2%), traumas (6.2%) and iatrogenic (3.1%). The most frequent disease group in cats from Rio de Janeiro and Mato Grosso was infectious disease, and most frequent disease was pneumonia. We confirmed by RT-PCR that 96 cats were negative for the ORF-1a, Nucleocapsid 1 and Nucleocapsid 2 genes of SARS-CoV-2. Lung and kidney samples were subjected to immunohistochemistry, with anti-SARS-CoV anti-nucleocapsid and anti-SARS-CoV-2 Spike protein antibodies. In one feline, there was immunostaining for the two antibodies tested, from a feline with a history of positive RT-qPCR for SARS-CoV-2 in oronasal and nasopharyngeal swab samples. The immunohistochemical study and molecular surveillance in domestic felines in Brazil in 2020 and 2021 demonstrated a low frequency of SARS-CoV-2 infection. We emphasize that studies on the cause of death and surveillance of zoonoses in feline species must be explored and continued.

**Key-words:** SARS-CoV-2, domestic cats, euthanasia, natural death, immunohistochemistry

## SUMÁRIO

|                                                                                                                                                                                 |           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1. INTRODUÇÃO.....</b>                                                                                                                                                       | <b>9</b>  |
| <b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>                                                                                                                                            | <b>10</b> |
| 2.1. O felino.....                                                                                                                                                              | 10        |
| 2.2. Causas de morte em felinos.....                                                                                                                                            | 10        |
| 2.3. SARS-CoV-2 em animais.....                                                                                                                                                 | 12        |
| 2.4. SARS-CoV-2 em felinos domésticos.....                                                                                                                                      | 13        |
| <b>3. CAPÍTULO 1.....</b>                                                                                                                                                       | <b>15</b> |
| 3.1. Artigo 1 (Immunohistochemical and molecular surveillance of SARS-CoV-2 infection in domestic cats from distinct metropolitan regions of Southeast and Midwest Brazil)..... | 15        |
| 3.2. Artigo 2 (Causes of death in domestic cats during COVID-19 pandemic (2020-2021): A multi-institutional necropsy study from Mato Grosso and Rio de Janeiro, Brazil).....    | 33        |
| <b>4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>                                                                                                                                       | <b>47</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

Estudos retrospectivos que abordam as principais enfermidades na espécie felina são escassos. No contexto mundial, há levantamentos de causas de morte na espécie felina que abordam todos os sistemas, no Reino Unido (MURRAY *et al.*, 2008), Estados Unidos (KENT *et al.*, 2022), Canadá (OLSEN & ALLEN, 2001), Portugal (MANTEIGAS *et al.*, 2013) e Itália (GRIECO *et al.*, 2021). No Brasil, há apenas levantamentos no Sul (TRAPP *et al.*, 2010, ROLIM, 2017; TOGNI *et al.*, 2018, WITHOEFT *et al.*, 2019) e no nordeste do país (BATISTA *et al.*, 2016).

No âmbito da saúde pública, os felinos apresentam uma relação de proximidade com o ser humano há muitos anos (VIGNE *et al.*, 2004). É comum que ocorra o questionamento inerentes quanto aos riscos, ocorrência de doenças zoonóticas, e também, a propagação de doenças entre gatos domiciliados e ferais, e outras espécies e questionamentos sobre saúde pública e bem-estar felino (ROBERTSON, 2008).

Entre as principais zoonoses transmitidas de felinos para humanos destacam-se, principalmente, toxoplasmose (INPANKAEW *et al.*, 2021), esporotricose (BARNACLE *et al.*, 2023), raiva (MA *et al.*, 2022), leishmaniose (MATRALIS *et al.*, 2023) e criptococose (COSTA *et al.*, 2022). E no cenário pandêmico do presente estudo, uma nova zoonose foi inserida a essa lista, através de dados de estudo de uma possível transmissão de SARS-CoV-2 de um felino para humano (SILA *et al.*, 2021). Uma vez que felinos são suscetíveis a infecção por SARS-CoV-2, principalmente os que apresentam comorbidades prévias (SEGALÉS *et al.*, 2020, JARRAH *et al.* 2023).

SARS-CoV-2 é o agente etiológico da doença denominada *Coronavirus Disease* (COVID-19), uma síndrome respiratória aguda zoonótica grave detectada na cidade de Wuhan, na China, em dezembro de 2019. A primeira comunicação científica sobre infecção de ocorrência natural por SARS-CoV-2 em felinos domésticos foi relatada nos Estados Unidos. Dois gatos apresentaram sinais respiratórios com duração de 8 e 10 dias e se recuperaram totalmente. Eles pertenciam a pessoas com suspeita ou confirmação de COVID-19 (NEWMAN *et al.*, 2020). Em seguida, foram diagnosticadas infecção de ocorrência natural por SARS-CoV-2 em um tigre (*Panthera tigris*) (USDA, 2020), leão (*Panthera leo*) (MCALOOSE *et al.*, 2020), puma (*Puma concolor*) (USDA, 2021a), leopardo-das-neves (*Panthera uncia*) (WANG *et al.*, 2022) e lince (*Lynx canadensis*) (USDA, 2021d).

Sob essa ótica, estudos de causas de morte em felinos na região sudeste e centro-oeste do Brasil até o presente momento não foram identificados, bem como a ocorrência de doenças de felinos que ocorrem nos estados que compõem essas regiões podem não representar as demais áreas do país previamente investigadas. Através dos levantamentos podemos apontar as doenças específicas, melhorias de bem-estar, e variações conforme sua procedência.

O objetivo desse trabalho foi realizar uma identificação e quantificação dos diagnósticos *post-mortem* de felinos necropsiados nos estados do Rio de Janeiro e Mato Grosso, com auxílio da histopatologia e biologia molecular, durante os primeiros anos da pandemia de SARS-CoV-2. Concomitantemente, investigar a ocorrência de infecção por SARS-CoV-2 em fragmentos de conchas nasais, pulmão e rim dos felinos necropsiados nos de 2020 e 2021, primeiros anos de pandemia de COVID-19, por meio de exame imuno-histoquímico e molecular.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 A espécie felina

As evidências arqueológicas e genéticas sugerem a derivação de todos os felinos domésticos do gato selvagem (*Felis silvestris lybica*) do Próximo-Oriente. Estudos relatam o transporte de felinos para ilha de Chipre há aproximadamente 11.000 anos atrás, sua interação com humanos se dava pela importância no controle de camundongos nos armazenamento de grãos cultivados (Vigne *et al.*, 2012). Na China, a domesticação dos felinos é datada em 5.300 anos atrás e evidencia uma relação mutual entre pessoas e felinos (HU *et al.*, 2014). No Egito, um jovem felino foi encontrado em um enterro há cerca de 3700 a.C (LINSEELE *et al.*, 2007).

A relação felino e humano tem aumentado ano após o ano, dados do IBGE (2019) quantificaram 23,9 milhões de felinos domésticos no Brasil. Em comparação ao censo de 2017 notou-se um aumento de aproximadamente 8% (IBGE, 2017). Frente ao promissor aumento populacional, é comum ocorrer o questionamento da relação de interação entre felinos e humanos e seus riscos. É natural uma preocupação quanto a ocorrência de doenças zoonóticas, a propagação de doenças entre a espécie, entre gatos domiciliados e ferais, e outras espécies, além disso, questionamentos sobre saúde pública e bem-estar felino (ROBERTSON, 2008).

### 2.2 Causas de morte em felinos

Estudos retrospectivos que abordam as principais enfermidades na espécie felina são escassos no mundo e no Brasil. É de extrema importância apontar as principais causas de morte em felinos, para assim destacar formas de ações e inovações em tratamentos e profilaxia das doenças descritas em cada região. As principais zoonoses transmitidas pela espécie são principalmente, toxoplasmose (INPANKAEW *et al.*, 2021), esporotricose (BARNACLE *et al.*, 2023), raiva (MA *et al.*, 2022), leishmaniose (MATRALIS *et al.*, 2023) e criptococose (COSTA *et al.*, 2022). E não obstante, diante do cenário pandemico do presente estudo, um alarde foi acionado pelo relato de possível transmissão de SARS-CoV-2 de um felino para humano (SILA *et al.*, 2021).

Há levantamentos no Reino Unido (MURRAY *et al.*, 2008), Canadá (OLSEN & ALLEN, 2001), Portugal (MANTEIGAS *et al.*, 2013), Estados Unidos (KENT *et al.*, 2022) e Itália (GRIECO *et al.*, 2021). No Brasil, há apenas levantamentos no Sul (TRAPP *et al.*, 2010, ROLIM, 2017; TOGNI *et al.*, 2018, WITHOEFT *et al.*, 2019) e no nordeste do país (BATISTA *et al.*, 2016). No Reino Unido, um estudo foi realizado nos centros de adoção de felinos, num período de cinco anos, com 379 felinos, determinou que doenças infecciosas são as principais causas de morte e razões para eutanásia em felinos de abrigo (MURRAY *et al.*, 2008). No Canadá, um levantamento de dez anos, entre os anos de 1989 e 1999, com 79 felinos, determinou que a principal causa morte em felinos foi traumatismo (OLSEN & ALLEN, 2001).

Em Portugal, as causas de morte de 100 felinos com mais de nove anos de idade foi a doença renal crônica, seguido de neoplasias e doenças infecciosas (MANTEIGAS *et al.*, 2013). Neste estudo não foram realizadas necropsias. Em Milão, Itália, um estudo de retrospectivo de cinco anos com 186 felinos apontou que doenças infecciosas foram as mais relevantes, principalmente em filhotes e gatos jovens. (GRIECO *et al.*, 2021).

Nos Estados Unidos, um recente estudo com 3.108 casos durante 30 anos, na cidade da Califórnia apontou que neoplasias foi a causa mais comum de morte (35,81%), destacando-se principalmente as neoplasias mesenquimais. Neste estudo foi determinado que a castração de fêmeas e machos aumentam a expectativa de vida e FeLV diminui a

longevidade de vida com taxas estaticamente diferentes (KENT *et al.*, 2022).

No Brasil, o primeiro estudo realizado que determinou as causas de morte em felinos foi em um hospital veterinário universitário no Paraná, entre julho de 2005 e julho de 2009. O estudo observou que os distúrbios provocados por agentes físicos e distúrbios urinários foram os principais motivos que resultaram na morte do animal ou razão de eutanásia (TRAPP *et al.*, 2010). Posteriormente, levantamentos que abrangem resultados dos exames de necropsia foram realizados Sul e Nordeste do país.

O único levantamento de doenças diagnósticas por necropsias no Nordeste é no estado do Piauí, através de dados de exames de necropsia realizadas, em intervalo de cinco anos, entre os anos de 2009 a 2014 (BATISTA *et al.*, 2016). Na rotina local detectou-se que 61,6% dos felinos necropsiados eram machos e 38,4% fêmeas e 29,1% tinham menos de um ano; 39,5% de 1,1 a 5 anos; 18,6% de 5,1 a 10 anos e 2,3% acima de 10,1 anos. E as principais enfermidades diagnosticadas, nos 86 felinos necropsiados eram infecciosos (18,6%), lesões associadas ao trato urinário (15,1%), traumáticos (8,1%) e neoplásicos (8,1%) (BATISTA *et al.*, 2016).

Na região Sul há um maior número de levantamentos, abrangendo duas regiões do Rio Grande do Sul (ROLIM, 2017; TOGNI *et al.*, 2018) e Santa Catarina (WITHOEFT *et al.*, 2019). Na região serrana de Santa Catarina o estudo delinhou-se em um levantamento das causas de morte e razões para eutanásia em gatos em um período de 20 anos (1995 a 2015). Os dados obtidos no estudo apontam que as necropsias foram realizadas principalmente em machos (46,1%), adultos (50,1%), e a idade média de filhotes foi de 5,1 meses, adultos foi 3,9 anos e idosos 13,9 anos. E as enfermidades mais diagnosticadas foram peritonite infecciosa felina (29,8%), seguida das neoplasias (11,9%), e traumatismos (11,8%) (WITHOEFT *et al.*, 2019).

Na região metropolitana do Rio Grande do Sul, um levantamento foi realizado em um período de 15 anos (2000 a 2015), em que foram realizadas 1.753 necropsias de gatos, dos quais 77,8% tiveram diagnósticos conclusivos. As duas categorias de enfermidades com maior frequência foram: neoplasmas (20%) e doenças infecciosas/parasitárias (17,8%). As causas de morte mais frequentes incluíram: politraumatismo (13,4%), linfoma (8,8%) e peritonite infecciosa felina (7,9%) (ROLIM, 2017).

Na região central do Rio Grande do Sul, um levantamento realizado abrangendo um período de 49 anos, entre os anos de 1964 e 2013, foram diagnosticados 878 felinos com causa de morte ou razão de eutanásia estabelecida. Os distúrbios mais diagnosticados foram alocados em grupos, no qual agentes físicos, seguido de doenças infecciosas e parasitárias e de tumores obtiveram maior frequência. Além disso, estabeleceu-se a relação de resultados com idade dos felinos. Nos filhotes, a doença com maior frequência foi a peritonite infecciosa felina. Em adultos, a maioria dos diagnósticos foram os distúrbios do trato urinário inferior, traumas e distúrbios iatrogênicos. Nos idosos houve maior frequência de doença renal crônica (TOGNI *et al.*, 2018).

Há, ainda, levantamentos mais específicos apresentam informações de apenas um grupo de diagnóstico específico, como tumores (MANUALI *et al.*, 2020), insuficiências cardíacas (WILKIE *et al.*, 2015) e pneumonias (SLAVIERO *et al.*, 2021), em gatos magros (DORIA-ROSE & SCARLETT, 2000).

Na medicina, as certidões de óbito fornecem dados epidemiológicos usados para fins de rastreamento da saúde da população, assim como para orientar e alocar recursos de saúde e pesquisa (MYERS & FARQUHAR, 1998). O diagnóstico de doenças é a base dos dados epidemiológicos sobre a frequência de uma doença. Com aumento da longevidade da população humana, coincidentemente, aumentam também o desenvolvimento de doenças degenerativas e processos crônicos que afetam, por vezes, mais de um órgão e sistemas. O médico pode afirmar que não somente uma doença causou a morte do paciente, mas sim uma

combinação de condições que levam a morte do paciente (ERHARDT, 1958).

Na medicina veterinária não há emissão de certidões de óbito, apenas a realização de exame de necropsias solicitados por médicos veterinários e proprietários, na maioria das vezes, realizados em instituições de ensino. A falta de exame de necropsia nas espécies animais pode afetar os dados sobre frequência de doenças e atribuir erroneamente uma causa imediata da morte mediante os últimos sinais clínicos observados (PEIXOTO & BARROS, 1998). O estudo retrospectivo, por meio de levantamentos, é importante na medicina veterinária, especialmente na patologia veterinária pois permite agrupar dados sobre grupo de doenças; definir a frequência de enfermidade em uma espécie; determinar etiologia por métodos modernos e retificar diagnósticos (FIGHERA, 2008).

É bastante útil quantificar a ocorrência de doenças comuns em gatos, tanto em termos gerais como em subpopulações mais específicas, definidas pelo gênero, idade e raça. Esta informação sobre frequência de doenças em felinos pode ser usada por clínicos veterinários para facilitar decisões médicas. A escassez de publicações sobre morbidade felina reflete em falta de informações sobre possíveis riscos populacionais (EGENVALL *et al.*, 2010).

### 2.3. SARS-CoV-2 em animais

Em 11 de março de 2020, a síndrome respiratória aguda grave ocasionada por SARS-CoV-2 em humanos foi caracterizada pela OMS como uma pandemia e teve seu fim no dia 05 de maio de 2023. Os coronavírus pertencem à ordem *Nidovirales* e família *Coronaviridae*. A subfamília *Coronavirinae* é composta pelos gêneros *Alphacoronavirus* e *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus* e *Deltacoronavirus*. SARS-CoV-2 é causado por um  $\beta$ -coronavírus (subgênero *Sarbecovirus*, Subfamília *Orthocoronavirinae*) (WOO *et al.*, 2012; ZHU *et al.*, 2020).

A cepa *Severe Acute Respiratory Syndrome-related Coronavirus* (SARS-CoV-2) foi classificada conforme características moleculares e filogenéticas. Os coronavírus são vírus de RNA de fita simples de sentido positivo (+ ssRNA), com envelope, variando de 60 nanômetros (nm) a 140 nm de diâmetro, com projeções semelhantes a pontas em sua superfície, conferindo uma aparência semelhante a uma coroa na microscopia eletrônica (RICHTMAN *et al.*, 2016). SARS-CoV-2 apresenta pelo menos seis quadros de leitura aberta, a proteína S ou glicoproteína de superfície, membrana, envelope, nucleocapsídeo, hemaglutina ou hemaglutina-esterase e algumas proteínas acessórias variáveis (CHEN *et al.*, 2020).

SARS-CoV-2 foi nomeado por causa de sua homologia genômica com o SARS-CoV (ZHOU *et al.*, 2020). Os coronavírus podem infectar uma ampla gama de vertebrados, incluindo morcegos, pássaros, pangolins, cobras, camundongos e humanos (ANDERSEN *et al.*, 2020). Os morcegos são os maiores reservatórios naturais do gênero *Betacoronavirus* (LI *et al.*, 2005; WOO *et al.*, 2012). Ao ser comparado com outros coronavírus, o SARS-CoV-2 possui cerca de 88% de correspondência genética a dois coronavírus derivados de morcegos, bat-SL-CoVZC45 e bat-SL-CoVZXC21 (LU *et al.*, 2020).

Estudos revelam que ocorre transmissão humano-animal de SARS-CoV-2 (JARRAH *et al.*, 2023). Especialmente em visons, a transmissão do SARS-CoV-2 ocorre de animal para humano (OUDE MUNNINK *et al.*, 2021), também ocorre casos de transmissão de hamster para humanos (YEN *et al.*, 2022), gato para humanos (SILA *et al.*, 2022) e cervos de cauda branca para humanos (FENG *et al.*, 2023).

Espécies domésticas que foram relatadas naturalmente infectadas por SARS-CoV-2 incluem cães (SIT *et al.*, 2020; MEDKOUR *et al.*, 2021), gatos (ZHANG *et al.*, 2020), furões de estimação (RAČNIK *et al.*, 2021), hamsters (OIE, 2022) e coelhos (FRITZ *et al.*, 2022). Em animais de produção também há relatos de estudos experimentais com bovinos

(ULRICH *et al.*, 2020) e suínos (SCHLOTTAU *et al.*, 2020) que apresentam baixo potencial de infecção. Enquanto galinhas de produção não apresentam susceptibilidade de infecção em estudos experimentais.

Naturalmente, são relatados a ocorrência de infecção em diversas espécies de animais, principalmente, em cenários de interação com humanos. Em recintos de zoológicos há relatos de infecção, em Nova Iorque, EUA, houve a confirmação de infecção de um tigre (*Panthera tigris*) e um leão (*Panthera leo*) em um zoológico, ocasionada por um tratador (MCALOOSE *et al.*, 2020). Posteriormente, gorilas (*Gorilla gorilla*) (USDA, 2021), puma (*Puma concolor*) (USDA, 2021b), leopardo-das-neves (*Panthera uncia*) (WANG *et al.*, 2022), lince (*Lynx canadensis*) (USDA, 2021), lontra (*Aonyx cinereus*) (USDA, 2022) também de zoológico testaram positivo para SARS-CoV-2. Até o presente momento há relatos de ocorrência natural em urso-gato-asiático (*Arctictis binturong*), quati (*Coati mundi*) e gato pescador (*Prionailurus viverrinus*) (ALLENDER *et al.*, 2022) e sagui da cauda preta (*Mico melanurus*) (PEREIRA *et al.*, 2022).

#### 2.4. SARS-CoV-2 em felinos domésticos

Em gatos, a proteína *Spike* do SARS-CoV-2 penetra na célula ligando-se ao receptor da enzima de conversão 2 da angiotensina (ACE2), que promove a vasodilatação e vasoconstrição, consequentemente está ligada o controle da pressão arterial, e promove a regulação do Sistema Renina-Angiotensina. Nos felinos esses receptores estão presentes principalmente no epitélio respiratório (VAN DEN BRAND *et al.*, 2008) e intestinal (CHIOCHETTI *et al.*, 2020).

Outro receptor importante na infecção de SARS-CoV-2 são as proteases que clivam e ativam a proteína S no processo de fusão com a membrana humana são a protease transmembranar serina 2 (TMPRSS2). A TMPRSS2 é expressa amplamente no trato respiratório humano, em que as células epiteliais também são direcionadas para infecção viral (LIMA *et al.*, 2020). Há poucos estudos para determinar a importância da TMPRSS2 na infecção de SARS-CoV-2 em felinos domésticos.

As infecções espontâneas em felinos domésticos são relatadas na literatura. Na Espanha, um gato infectado por SARS-CoV-2, apresentava dificuldade respiratória e trombocitopenia, e pertencia a uma família positiva para COVID-19. O RNA de SARS-CoV-2 foi detectado apenas em *swab* nasal, conchas nasais e linfonodo mesentérico e houve soroconversão, porém o exame histopatológico não apresentou lesões compatível com infecção viral (SEGALÉS *et al.*, 2020).

Na Suíça, um gato residido com uma família afetada por COVID-19 apresentou espirros, inapetência e apatia, enquanto o gato que coabitava era assintomático. O gato sintomático apresentou resultado positivo no RT-PCR para a presença de RNA viral SARS-CoV-2 em esfregaço nasal, enquanto o gato assintomático apresentou resultado positivo no esfregaço oral, pelos e roupa de cama, assim como o felino sintomático (KLAUS *et al.*, 2021).

Na Itália, um gato doméstico com sinais clínicos de pneumonia, foi positivo para SARS-CoV-2 usando RT-qPCR quantitativo de um esfregaço nasal (MUSSO *et al.*, 2020). Outro caso, também na Itália, um gato com linfoma intestinal de células B apresentou sinais respiratórios, incluindo espirro, tosse e secreção ocular, três dias após um esfregaço orofaríngeo testado positivo para RNA viral SARS-CoV-2 usando duas reações em cadeia da polimerase transcriptase reversa em tempo real (RT-qPCR). Após cinco e seis meses realizou-se teste sorológico para detecção de anticorpos anti-SARS-CoV-2, esse obteve resultado positivo (KLAUS *et al.*, 2021).

Na França, em um estudo realizado com proprietários com infecção por COVID-19, um gato com sinais respiratórios e digestivos leves foi positivo por RT-qPCR em *swab*

retal, e análise sorológica confirmou anticorpos contra o SARS-CoV-2 em amostras de soro coletadas com 10 dias de intervalo (SAILLEAU *et al.*, 2020). Na China, o diagnóstico de infecção natural por SARS-CoV-2 ocorreu em 6 felinos saudáveis, no qual a transmissão ocorreu do contato humano positivo para felino. Os genomas de vírus sequenciados de 1 gato e seu dono eram idênticos (BARRS *et al.*, 2020).

Na Bélgica, um gato desenvolveu uma síndrome respiratória grave se em uma semana após seu dono apresentar resultados positivos para SARS-CoV-2. O RNA viral foi detectado nas amostras de swab nasofaríngeo do gato e vômito ou fezes, além disso, imunoglobulina contra o vírus foi detectada no soro em fase de convalescença (GARIGLIANY *et al.*, 2020). Na Alemanha, as análises de RT-qPCR e sequenciamento de genoma completo revelaram a variante SARS-CoV-2 B.1.1.7 que apresentava pneumonia, como sinal clínico (KELLER *et al.*, 2021).

No Chile, os proprietários de gatos testaram positivo para SARS-CoV-2, após dois dias, um dos gatos, macho, domiciliados apresentou sinais respiratórios leves e teste positivo. Quatro dias após o gato macho, duas gatas assintomática da mesma residência apresentaram resultados positivos. Além disso, um humano e um gato apresentaram anticorpos contra SARS-CoV-2. Todos os gatos excretaram RNA detectável de SARS-CoV-2 por um período mais curto do que em humanos e a análise de sequências virais confirmou a transmissão de homem para gato (NEIRA *et al.*, 2021). Na Argentina, um gato, que apresentava apenas espirros, foi reativo ao SARS-CoV-2 por RT-PCR em tempo real em swab orofaríngeo e retal. Por meio de análise sorológica, anticorpos foram detectados em dois gatos, no qual um deles não apresentava resultado positivo por RT-PCR (FUENTEALBA *et al.*, 2021).

No Brasil, o primeiro diagnóstico de COVID-19 em felino domiciliado, com episódio de tosse em humanos ocorreu por RT-PCR e apresentou um sequenciamento de 99,4% de similaridade genômica com seu dono. Este foi o primeiro relato de sequenciamento genômico recuperado de um felino na América Latina (CARLOS *et al.*, 2021). Outro estudo realizado no Brasil indica que cães e gatos não-domiciliados estão sendo expostos ao SARS-CoV-2 durante a pandemia de COVID-19 (DIAS *et al.*, 2021). Um outro relato apresenta um gato que apresentou resultado positivo por RT-qPCR para SARS-CoV-2 em swabs de nasofaringe e orofaringe no dia 0 e após 43 dias do diagnóstico molecular apresentou marcação positiva pelo exame imuno-histoquímico com anticorpo anti-nucleocapsídeo de SARS-CoV em amostras de pulmão, rins, conchas nasais, traqueia, intestino, cérebro e baço (JARRAH *et al.*, 2022).

#### **2.4.1. Patologia**

A lesão encontrada em estudo experimental em felinos foi maior nas vias aéreas superiores e inferiores (laringe, traqueia e brônquios lobares e segmentares principais dos pulmões). Os achados patológicos foram traqueobronquite multifocal linfocítica e neutrofílica das glândulas seromucosas da lâmina própria e submucosa da traqueia e brônquios leve a moderada ao longo dos dias pós infecção. Um outro dado importante observado na pesquisa experimental é ausência de alterações histológicas significativas no trato respiratório em 21 dias após a infecção (GAUDREAULT *et al.*, 2020).

#### **2.4.2. Diagnóstico**

O diagnóstico é feito por testes moleculares específicos em amostras respiratórias, tais como: esfregaço oral, esfregaço nasofaríngeo, aspirado endotraqueal e lavagem broncoalveolar e anal. A extração de RNA e transcrição reversa por PCR quantitativo (RT-qPCR), detecção de anticorpos SARS-CoV-2 por ELISA, hibridização *in situ* com anticorpos neutralizantes de vírus específico para SARS-CoV-2 e imuno-histoquímica

(IHQ) específica para SARS-CoV-2 (GAUDREAU *et al.*, 2020)

### 3. ARTIGOS

#### 3.1. ARTIGO 1

Artigo submetido a revista Veterinary Research Communications

#### **Immunohistochemical and molecular surveillance of SARS-CoV-2 infection in domestic cats from distinct metropolitan regions of Southeast and Midwest Brazil**

Gabriela O. Pereira, Asheley H.B. Pereira, Edson M. Colodel, Luciano Nakazato, Valéria Dutra, Daniel G. Ubiali<sup>1</sup>

Setor de Anatomia Patológica, Departamento de Epidemiologia e Saúde Pública, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), 23890-900, Seropédica, RJ, Brasil (Pereira, Pereira, Ubiali); Laboratório de Patologia Veterinária, UFMT, Av. Fernando Corrêa da Costa 2367, Bairro Boa Esperança, Cuiabá, Mato Grosso, Brasil (Colodel); Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular Veterinária, UFMT, Av. Fernando Corrêa da Costa 2367, Bairro Boa Esperança, Cuiabá, Mato Grosso, Brasil (Nakazato, Dutra).

<sup>1</sup>Corresponding author: Daniel G. Ubiali, Setor de Anatomia Patológica, Departamento de Epidemiologia e Saúde Pública, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), 23890-900, Seropédica, RJ, Brazil. [danielubiali@ufrrj.br](mailto:danielubiali@ufrrj.br)

Running head: SARS-CoV-2 infection surveillance in domestic felines.

## Abstract

Cats from high incidence of human COVID-19 Brazilian regions were screened for SARS-CoV-2 infection. Domestic felines that died were available from cases submitted for necropsies from January 2020 to December 2021 submitted to the *Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro* and at the *Universidade Federal de Mato Grosso*. Immunohistochemistry and Quantitative Polymerase Chain Reaction in Real Time (RT-qPCR) were tested in 96 cats for SARS-CoV-2 detection. Feline samples were submitted to RT-qPCR for gene amplification: ORF-1a, Spike and Nucleocapsid. Lung and kidney samples were tested by immunohistochemistry with anti-SARS-CoV Nucleocapsid protein and SARS-CoV-2 anti-Spike protein antibodies. In one feline, there was immunolabeling for the two antibodies tested. This feline had a history of positive RT-qPCR for SARS-CoV-2 from oronasal and nasopharyngeal swab samples. None of the cats investigated was positive in lung samples tested by RT-qPCR. The immunohistochemical study and molecular surveillance in domestic felines from Brazil in 2020 and 2021 demonstrated a low frequency of SARS-CoV-2 infection. We emphasize that surveillance studies of zoonoses in the feline species must be continued.

## Keywords

feline, spillover, pandemic, COVID-19, immunohistochemistry, RT-qPCR.

## Introduction

The first human coronavirus acute respiratory syndrome occurred in 2019 in Wuhan, Hubei Province, China (Wu *et al.* 2020). Due to high transmissibility, the World Health Organization declared a COVID-19 pandemic. The SARS-CoV-2 virus causing the human disease was associated with a bat origin, highly similar to SARS-CoV (Zhou *et al.* 2020). The first report of animal diagnosis of SARS-CoV-2 infection was in a dog in Hong Kong in February 2020 (Sit *et al.* 2020). Reports of natural infection (Barrs *et al.* 2020; Carlos *et al.* 2021; Sailleau *et al.* 2020) and experimental studies (Shi *et al.* 2020; Patania *et al.* 2022) confirmed the susceptibility of cat SARS-CoV-2 infection. SARS-CoV-2 enters the cell in domestic felines by binding to the angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) receptor. The human and domestic feline ACE2 receptor has high homology (Guo *et al.* 2008).

We conducted our surveillance study to investigate how SARS-CoV-2 infection impacts cats' health from Rio de Janeiro and Mato Grosso, Brazilian States. The diagnoses algorithm was based on immunohistochemistry and molecular.

## Materials and methods

We conducted a study of domestic cats submitted to the *Setor de Anatomia Patológica* from *Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro* (SAP/UFRuralRJ) and to the *Laboratório de Patologia Veterinária* from *Universidade Federal de Mato Grosso* (LPV/UFMT) for necropsy from January 1, 2020, to December 31, 2021.

Postmortem examinations were performed according to protocols performed by two veterinary pathologists. The skin, skeletal muscle, heart, liver, spleen, kidneys, adrenals, thyroid, stomach, intestines, pancreas, brain, trachea, and nasal conchae, were collected from each cat and fixed in 10% buffered formalin solution. Lungs were infused with 10% formalin phosphate buffer via the trachea before immersion in formalin. Unfixed samples of the lung (n=96), kidney (n=94), and turbinates (n=25) were immersed in microtubes with RNAlater for molecular analyses.

Tissue samples collected in formalin were fixed for 24 to 48 hours for routine histological processing. Sections were stained with hematoxylin and eosin (HE) for light microscopy. The causes of death of each feline were established with the evaluation of two veterinary pathologists.

In the immunohistochemistry (IHC) technique, nucleocapsid protein (NP) anti-SARS-CoV and SARS-CoV-2 anti-spike protein-antibody were used to screen positive cases and confirm infection, respectively. The method used was similar for both, with histological sections of 3  $\mu$ m in silanized slides (Pereira *et al.* 2022). Antigenic retrieval was performed with citrate (10 mM, pH 6.0) for 40 minutes in a water bath at 98°C. Sections were then incubated in methanol: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (97%:3%) solution for 20 min to block nonspecific binding. The sections were fixed at 37°C for 3 hours with (NP) SARS-CoV antibody (Catalog No. NB100-56576, Novus Biologicals, Centennial, CO, USA) by 1:500 dilutions, and the anti-spike of SARS-CoV-2 (human monoclonal antibody, mAb clone CR3022 Sigma-Aldrich®, San Diego, CA, catalog no. ZHU1077), in dilution 1 in 100  $\mu$ L.

Due to the similarity of human and cat SARS-CoV-2 inflammatory lesions (Martines *et al.* 2020; Carvallo *et al.* 2021; Patania *et al.* 2021), a lung tissue sample from a human was used as a positive control, which presented compatible lesions and positivity for SARS-CoV-2 RT-qPCR. Besides, a lung section from a cat not infected by SARS-CoV-2 was used as a negative control. The detection system employed was the commercial streptavidin-biotin-peroxidase kit (LSAB + HRP System, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). Peroxidase activity was visualized with 3,3-diaminobenzidine chromogen (DAB + Substrate Chromogen System, DakoCytomation, Glostrup, Denmark). Sections were counterstained

with hematoxylin, covered with a coverslip, and observed under a light microscope by two veterinary pathologists.

RT-qPCR exams were performed at the UFMT Molecular Biology Laboratory. Viral RNA was extracted from tissues using a commercially available kit (MagMAX™ Viral / Pathogen Nucleic Acid Isolation Kit, Applied Biosystems, USA). SARS-CoV-2 will be detected by RT-PCR using a commercial Kit (TaqPath COVID-19 CE-IVD RT-PCR Kit, Applied Biosystems, USA) that targets the ORF-1a, Spike and Nucleocapsid gene, different genomic regions of SARS-CoV-2. The feline  $\beta$ -actin gene (ACTB) was used as an internal control gene.

## **Results**

Of 96 cats incorporated into the study, 52 were from Rio de Janeiro state, and 44 were from Mato Grosso state. From these, 49 cats were domiciled, 41 were from shelters, and 6 were strays. In Mato Grosso four cats was euthanized and four cats was not obtained the details about death. In Rio de Janeiro, 24 domestic felines was euthanized. In the two states, the principal euthanasia reasons was infection diseases, degeneration disease and malformation. About immunohistochemistry only one domiciled feline was positive for SARS-CoV-2 infection. The anti-SARS-CoV nucleocapsid protein immunohistochemistry results from this case were already presented, immunolabelling in the pneumocytes and macrophages of the bronchi and bronchioles. Immunohistochemistry confirmed the positivity using an anti-SARS-CoV-2 Spike protein (Figure 1). Notably, the feline that presented positive marking is a 6-month-old female cat, diagnosed with SARS-CoV-2 by oronasal and nasopharyngeal swab 43 days before death, caused by an automobile trauma. The cat was in a household where nine relatives were positive for SARS-CoV-2 by RT-PCR, with two people hospitalized and RT-PCR Cycle Thresholds (CT) ranging from 18 to 21. None significance lesions was observed in this cat during necropsy examination and histologic avaliation.

Molecular examination of 96 fragments of lungs and 94 fragments of kidneys, and 25 nasal conchae from the different regions of Mato Grosso and Rio de Janeiro cats was included in the present study and showed negative results for amplifying the viral RNA of SARS-CoV-2 through the gene targets (Supplementary material).

## **Discussion**

Our diagnostic algorithm was based on immunohistochemical staining and PCR testing instead of other methods due to the necropsy sampling approach. The present research is the first study based on postmortem examinations that evaluated SARS-CoV-2 infection

in cats from two important distinct geographic regions of Brazil using immunohistochemistry and RT-qPCR techniques.

In Brazil, there are positive molecular diagnoses of SARS-CoV-2 in wild species, such as *Mico melanurus* (Pereira *et al.* 2022) and *Myrmecophaga tridactyla* (Pereira *et al.* 2023) and domestic cats (Carlos *et al.* 2021; Epifanio *et al.* 2021). Studies that evaluated SARS-CoV-2 infection in populations of animals in the country are scarce; only clinical studies were conducted with canine and feline species (Calvet *et al.* 2021; Dias *et al.* 2021).

In this study, most investigated domestic felines had intimate contact with previously SARS-CoV-2-positive tutors during human isolation, according to their clinical history. However, we observed only one SARS-CoV-2 naturally infected cat in this period. The feline that presented immunoreactivity in the present study was a domestic cat diagnosed with SARS-CoV-2 infection 43 days before its death. The cat was diagnosed with SARS-CoV-2, still alive, in the contact phase with her owner during isolation (Jarrah *et al.* 2022), and confirmed in this study by immunohistochemistry using a second anti-SARS-CoV-2 antibody Spike protein.

Domestic felines have an important particularity because they have ACE2 receptors throughout the respiratory tract, unlike other species in which the availability of this receptor is more restricted (Lean *et al.* 2022). Using two anti-SARS-CoV antibodies in this study allows for evaluating the technical applicability for diagnosis in autopsied domestic felines. The target epitope of the nucleocapsid is more structurally stable and has a greater chance of labeling when compared to the epitope of the Spike protein (von Stillfried and Boor 2021). Together there is more sensitivity and specificity of the combined technique. Some antibodies can produce background staining, and it's necessary to identify formalin-induced artifacts in tissues. We emphasize that the method must be used and correlated with the histological lesions, the clinical course of the disease, and, whenever possible, the use of RT-PCR in fresh tissues (Krasemann *et al.* 2022).

Serological evaluation, in combination with the testing undertaken here, would have been an adequate diagnostic approach for estimating frequency (Sharma *et al.* 2021). Unfortunately, our necropsy sampling approach did not permit a serological evaluation to integrate these tools. Jarrah *et al.* (2023) tested cats from the Mato Grosso state with Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) and serum neutralization test. These testing resulted in 2,2% (4/182) and 1,6% (3/182), respectively, similar to our 2,2% (1/44) results from the same geographical region. From the Rio de Janeiro state, only one cat was positive by serum neutralization test 2% (1/49), and no RNA was amplified by RT-qPCR (Dias *et al.*

2021). We have found no positive cat by immunohistochemical staining and PCR testing from Rio de Janeiro.

Infection by SARS-CoV-2 in cats is frequently subclinical, and virus RNA or antigen can only be detected by RT-qPCR or IHC for a short interval following infection, making these tools most useful during acute stages of the disease or for understanding viral circulation (especially by RT-qPCR) (Sharma *et al.* 2021; Gaudreault *et al.* 2020). Despite the possibility of a high false negative rate that our diagnostic approach has, our results from Mato Grosso and Rio de Janeiro were similar compared to other research using serological evaluation tools (Dias *et al.* 2021; Jarrah *et al.* 2023).

Attention is needed to cats from shelters. Approximately half of our sample corresponds to this category. There is a greater propensity for the circulation of pathogens in this environment than in the home environment (Li *et al.* 2021). Shelters usually have guardians responsible for feeding and primary care of animals, and zoos or conservation centers have more restricted human circulation. Although restriction of human contact, there are reports of SARS-CoV-2 infection in a tiger (*Panthera tigris*) and a lion (*Panthera leo*) (Mcaloose *et al.* 2020), and a snow leopard (*Panthera uncia*) (Wang *et al.* 2022) kept under human care conditions.

In addition, stray animals are a small population in our study. However, it is noteworthy that this category also presents exposure to SARS-CoV-2 (Dias *et al.* 2021). The hypothesis of infection in stray animals is mainly associated with the high spread of SARS-CoV-2 on public surfaces or in the sewer system (Abrahão *et al.* 2020).

The data presented in this study are similar to other studies carried out with domestic felines with unknown status of COVID-19 worldwide (Barua *et al.* 2021; Zhao *et al.* 2021). The results obtained support encouraging information for veterinarians and tutors who have had close contact, mainly in the first and second wave of COVID-19 in the metropolitan regions of Rio de Janeiro/RJ and Cuiabá/MT, whose States are respectively fifth and thirteenth in the ranking of reported cases in Brazil (Barrs *et al.* 2020). General and continuous surveillance is necessary to prevent new lineage changes or the emergence of potential pandemic pathogens.

## **Acknowledgments**

To CAPES for granting scholarships, financing code 001.

## **Declaration of conflicting interests**

The authors declare no potential conflict of interest concerning this article's research, authorship, and publication.

### **Funding**

The authors received no financial support for this article's research, authorship, and publication.

### **References**

- Abrahão JS, Sacchetto L, Rezende IM *et al* (2021) Detection of SARS-CoV-2 RNA on public surfaces in a densely populated urban area of Brazil: A potential tool for monitoring the circulation of infected patients. *Sci Total Environ* 766:142645
- Barrs VR, Peiris M, Tan KWS, Law PYT, Brackman CJ, To EMW, Yu VYT, Chu DKW, Perera RAP, Sit THC (2020) SARS-CoV-2 in Quarantined Domestic Cats from COVID-19 Households or Close Contacts, Hong Kong, China. *Emerg Infect Dis* 26:3071-3074
- Brasil (2023) Ministério da Saúde, Coronavírus Brasil, Painel Coronavírus. <https://covid.saude.gov.br/>. Accessed 13 June 2023
- Barua S, Hoque M, Adekanmbi F, Kelly P, Jenkins-Moore M, Torchetti MK, Chenoweth K, Wood T, Wang C (2021) Antibodies to SARS-CoV-2 in dogs and cats, USA. *Emerg Microbes Infect* 10:1669-1674
- Calvet GA, Pereira SA, Ogrzewalska M *et al* (2021) Investigation of SARS-CoV-2 infection in dogs and cats of humans diagnosed with COVID-19 in Rio de Janeiro, Brazil. *PLoS One* 16:e0250853
- Carlos RSA, Mariano APM, Maciel BM, Gadelha SR, de Melo Silva M, Belitardo EMMA, Rocha DJPG, de Almeida JPP, Pacheco LGC, Aguiar ERGR, Fehlberg HF, Albuquerque GR (2021) First genome sequencing of SARS-CoV-2 recovered from an infected cat and its owner in Latin America. *Transbound Emerg Dis* 68:3070-3074
- Dias HG, Resck MEB, Caldas GC, Resck AF, da Silva NV, Dos Santos AMV, Sousa TDC, Ogrzewalska MH, Siqueira MM, Pauvolid-Corrêa A, Dos Santos FB (2021). Neutralizing antibodies for SARS-CoV-2 in stray animals from Rio de Janeiro, Brazil. *PLoS One* 16:e0248578
- Epifanio IDS, Rodrigues DDS, de Lima LB, Nogueira MAA, Felix LRDMP, de Almeida BF, Farias CKDS, de Carvalho OV, Maia RCC, Ristow LE, Barbosa DS, Galhardo JA, Pettan-Brewer C, Kmetiuk LB, Agopian RG, Dutra V, de Moraes HA, Dos Santos AP, Biondo AW, Brandespim DF (2021) First report of severe acute respiratory syndrome

coronavirus 2 detections in two asymptomatic cats in the state of Pernambuco, Northeastern Brazil. *Vet World* 14:2839-2842

Gaudreault NN, Trujillo JD, Carossino M, Meekins DA, Morozov I, Madden DW, Indran SV, Bold D, Balaraman V, Kwon T, Artiaga BL, Cool K, García-Sastre A, Ma W, Wilson WC, Henningson J, Balasuriya UBR, Richt JÁ (2020) SARS-CoV-2 infection, disease and transmission in domestic cats. *Emerg Microbes Infect* 9(1):2322-2332

Guo Y, Korteweg C, McNutt MA, Gu J (2008) Pathogenetic mechanisms of severe acute respiratory syndrome. *Virus Research* 133:4-12

Jarrah SA, Kmetiuk LB, de Carvalho OV, de Sousa ATHI, Souza VRF, Nakazato L, Colodel EM, Dos Santos AP, Pettan-Brewer C, Hahn RC, Silhessarenko RD, Ubiali DG, Pereira AHB, de Moraes HA, Biondo AW, Dutra V (2022) Persistent SARS-CoV-2 antigen presence in multiple organs of a naturally infected cat from Brazil. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis* 28:e20210074

Krasemann S, Dittmayer C, von Stillfried S, Meinhardt J, Heinrich F, Hartmann K, Pfefferle S, Thies E, von Manitus R, Aschman TAD, Radke J, Osterloh A, Schmid S, Buhl EM, Ihlow J, Dubois F, Arnhold V, Elezkurtaj S, Horst D, Hocke A, Timm S, Bachmann S, Corman V, Goebel HH, Matschke J, Stanelle-Bertram S, Gabriel G, Seilhean D, Adle-Biasette H, Ondruschka B, Ochs M, Stenzel W, Heppner FL, Boor P, Radbruch H, Laue M, Glatzel M (2022) Assessing and improving the validity of COVID-19 autopsy studies - A multicentre approach to establish essential standards for immunohistochemical and ultrastructural analyses. *EBioMedicine* 83:104193

Lean FZX, Núñez A, Spiro S, Priestnall SL, Vreman S, Bailey D, James J, Wrigglesworth E, Suarez-Bonnet A, Conceicao C, Thakur N, Byrne AMP, Ackroyd S, Delahay RJ, van der Poel WHM, Brown IH, Fooks AR, Brookes SM (2022) Differential susceptibility of SARS-CoV-2 in animals: Evidence of ACE2 host receptor distribution in companion animals, livestock and wildlife by immunohistochemical characterisation. *Transbound Emerg Dis* 69:2275-2286

Li Y, Gordon E, Idle A, Hui A, Chan R, Seguin MA, Delwart E (2021) Astrovirus outbreak in an Animal shelter associated with feline vomiting. *Front Vet Sci* 8:e.628082, 2021

Martines RB, Ritter JM, Matkovic E, Gary J, Bollweg BC, Bullock H, Goldsmith CS, Silva-Flannery L, Seixas JN, Reagan-Steiner S, Uyeki T, Denison A, Bhatnagar J, Shieh WJ, Zaki SR; COVID-19 Pathology Working Group (2020) Pathology and Pathogenesis of SARS-CoV-2 Associated with Fatal Coronavirus Disease, United States. *Emerg Infect Dis* 26(9):2005-2015

McAloose D, Laverack M, Wang L, Killian ML, Caserta LC, Yuan F, Mitchell PK, Queen K, Mauldin MR, Cronk BD, Bartlett SL *et al* (2020) From People to Panthera: Natural SARS-CoV-2 Infection in Tigers and Lions at the Bronx Zoo. *mBio* 11:e02220-20

Patania OM, Chiba S, Halfmann PJ, Hatta M, Maemura T, Bernard KA, Kawaoka Y, Crawford LK. Pulmonary lesions induced by SARS-CoV-2 infection in domestic cats (2022) *Vet Pathol* 59(4):696-706

Pereira AH, Vasconcelos AL, Silva VL, Nogueira BS, Silva AC, Pacheco RC, Souza MA, Colodel EM, Ubiali DG, Biondo AW, Nakazato L, Dutra V (2022) Natural SARS-CoV-2 Infection in a Free-Ranging Black-Tailed Marmoset (*Mico melanurus*) from an Urban Area in Mid-West Brazil. *J Comp Pathol* 94:22-27

Pereira AHB, Pereira GO, Borges JC, de Barros Silva VL, Pereira BHM, Morgado TO, da Silva Cavasani JP, Shlessarenko RD, Campos RP, Biondo AW, de Carvalho Mendes R, Néspoli PEB, de Souza MA, Colodel EM, Ubiali DG, Dutra V, Nakazato L (2023) A Novel Host of an Emerging Disease: SARS-CoV-2 Infection in a Giant Anteater (*Myrmecophaga tridactyla*) Kept Under Clinical Care in Brazil. *Ecohealth* 24:1–5

Sailleau C, Dumarest M, Vanhomwegen J, Delaplace M, Caro V, Kwasiborski A, Hourdel V, Chevaillier P, Barbarino A, Comtet L, Pourquier P, Klonjowski B, Manuguerra JC, Zientara S, Le Poder S (2020) First detection and genome sequencing of SARS-CoV-2 in an infected cat in France. *Transbound Emerg Dis* 67:2324-2328

Sharma A, Ahmad Farouk I, Lal SK (2021) COVID-19: A Review on the Novel Coronavirus Disease Evolution, Transmission, Detection, Control and Prevention. *Viruses* 13(2):202

Shi J, Wen Z, Zhong G, Yang H, Wang C, Huang B, Liu R, He X, Shuai L, Sun Z, Zhao Y, Liu P, Liang L, Cui P, Wang J, Zhang X, Guan Y, Tan W, Wu G, Chen H, Bu Z (2020) Susceptibility of ferrets, cats, dogs, and other domesticated animals to SARS-coronavirus 2. *Science* 368:1016–1020

Sit THC, Brackman CJ, Ip SM, Tam KWS, Law PYT, To EMW, Yu VYT, Sims LD, Tsang DNC, Chu DKW, Perera RAPM, Poon LLM, Peiris M. (2020) Infection of dogs with SARS-CoV-2. *Nature* 586:776-778

von Stillfried S, Boor P (2021) Detection methods for SARS-CoV-2 in tissue. *Pathologie* 42(Suppl 1):81-88

Zhao S, Schuurman N, Li W, Wang C, Smit LAM, Broens EM, Wagenaar JA, van Kuppeveld FJM, Bosch BJ, Egberink H (2021) Serologic Screening of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection in Cats and Dogs during First Coronavirus Disease Wave, the Netherlands. *Emerg Infect Dis* 2021; 27(5):1362-1370

Zhou P, Yang XL, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W, Si HR, Zhu Y, Li B, Huang CL, Chen HD, Chen J, Luo Y, Guo H, Jiang RD, Liu MQ, Chen Y, Shen XR, Wang X, Zheng XS, Zhao K, Chen QJ, Deng F, Liu LL, Yan B, Zhan FX, Wang YY, Xiao GF, Shi ZL (2020) A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature* 579:270-273

Wang L, Gyimesi ZS, Killian ML, Torchetti M, Olmstead C, Fredrickson R, Terio KA (2022) Detection of SARS-CoV-2 clade B.1.2 in three snow leopards. *Transbound Emerg Dis* 69(5):e3346-e3351

Wang L, Gyimesi ZS, Killian ML, Torchetti M, Olmstead C, Fredrickson R, Terio KA (2020) The SARS-CoV-2 outbreak: what we know. *Int J Infect Dis* 94:44-48

**Supplementar material 1. Description of samples tested by Tissues, Habitat, Cities (MT), Death and Date.**

| ID | IHQ Nucleocapsid protein |            |                  | IHQ Spike protein |            |                  | SARS-CoV-2 RT-qPCR |        |                  | Habitat   | City             | Death      | Date            |
|----|--------------------------|------------|------------------|-------------------|------------|------------------|--------------------|--------|------------------|-----------|------------------|------------|-----------------|
|    | Lung                     | Kidney     | Nasal<br>conchae | Lung              | Kidney     | Nasal<br>conchae | Lung               | Kidney | Nasal<br>conchae |           |                  |            |                 |
| 1  | Neg                      | Neg        | -                | -                 | -          | -                | Neg                | Neg    | -                | Domiciled | Cuiabá/MT        | Euthanasia | Feb 2020        |
| 2  | Neg                      | Neg        | -                | -                 | -          | -                | Neg                | Neg    | -                | Domiciled | Cuiabá/MT        | Natural    | Feb 2020        |
| 3  | Neg                      | Neg        | -                | -                 | -          | -                | Neg                | Neg    | -                | Domiciled | Cuiabá/MT        | Natural    | Mar 2020        |
| 4  | Neg                      | Neg        | -                | -                 | -          | -                | Neg                | Neg    | -                | Domiciled | Cuiabá/MT        | NI         | Mar 2020        |
| 5  | Neg                      | Neg        | -                | -                 | -          | -                | Neg                | Neg    | -                | Stray     | Cuiabá/MT        | Natural    | Mar 2020        |
| 6  | Neg                      | Neg        | -                | -                 | -          | -                | Neg                | Neg    | -                | Domiciled | Cuiabá/MT        | NI         | Sept 2020       |
| 7  | Neg                      | Neg        | -                | -                 | -          | -                | Neg                | Neg    | -                | Domiciled | Cuiabá/MT        | Natural    | Oct 2020        |
| 8  | <b>Posi</b>              | <b>Neg</b> | <b>Posi</b>      | <b>Pos</b>        | <b>Neg</b> | <b>Pos</b>       | <b>Neg</b>         | Neg    | <b>Neg</b>       | Domiciled | <b>Cuiabá/MT</b> | Natural    | <b>Nov 2020</b> |
| 9  | Neg                      | Neg        | -                | -                 | -          | -                | Neg                | Neg    | -                | Stray     | Cuiabá/MT        | NI         | Dec 2022        |
| 10 | Neg                      | Neg        | -                | -                 | -          | -                | Neg                | Neg    | -                | Domiciled | Cuiabá/MT        | Natural    | Dec 2022        |
| 11 | Neg                      | Neg        | -                | -                 | -          | -                | Neg                | Neg    | -                | Domiciled | Cuiabá/MT        | Natural    | Jan 2021        |

|    |     |     |     |   |   |   |     |     |     |           |                  |            |           |
|----|-----|-----|-----|---|---|---|-----|-----|-----|-----------|------------------|------------|-----------|
| 12 | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Domiciled | Cuiabá/MT        | Euthanasia | Feb 2021  |
| 13 | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Domiciled | Varzea Grande/MT | NI         | Apr 2021  |
| 14 | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Stray     | Cuiabá/MT        | Natural    | Apr 2021  |
| 15 | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Stray     | Cuiabá/MT        | Natural    | Apr 2021  |
| 16 | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Domiciled | Cuiabá/MT        | Natural    | May 2021  |
| 17 | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Domiciled | Cuiabá/MT        | Natural    | May 2021  |
| 18 | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Domiciled | Cuiabá/MT        | Natural    | May 2021  |
| 19 | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Shelter   | Cuiabá/MT        | Natural    | May 2021  |
| 20 | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Domiciled | Cuiabá/MT        | Natural    | June 2021 |
| 21 | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Domiciled | Cuiabá/MT        | Natural    | June 2021 |
| 22 | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Domiciled | Cuiabá/MT        | Natural    | July 2021 |
| 23 | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Shelter   | Cuiabá/MT        | Natural    | July 2021 |
| 24 | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Shelter   | Cuiabá/MT        | Natural    | July 2021 |
| 25 | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Shelter   | Cuiabá/MT        | Natural    | Aug 2021  |
| 26 | Neg | Neg | Neg | - | - | - | Neg | Neg | Neg | Shelter   | Cuiabá/MT        | Natural    | Aug 2021  |
| 27 | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Shelter   | Cuiabá/MT        | Natural    | Aug 2021  |
| 28 | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Shelter   | Cuiabá/MT        | Natural    | Aug 2021  |
| 29 | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Shelter   | Cuiabá/MT        | Natural    | Aug 2021  |
| 30 | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Shelter   | Cuiabá/MT        | Natural    | Aug 2021  |
| 31 | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Shelter   | Cuiabá/MT        | Natural    | Aug 2021  |

|    |     |     |     |   |   |   |     |     |     |           |           |            |           |
|----|-----|-----|-----|---|---|---|-----|-----|-----|-----------|-----------|------------|-----------|
| 32 | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Shelter   | Cuiabá/MT | Natural    | Aug 2021  |
| 33 | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Shelter   | Cuiabá/MT | Natural    | Aug 2021  |
| 34 | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Shelter   | Cuiabá/MT | Natural    | Aug 2021  |
| 35 | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Domiciled | Cuiabá/MT | Natural    | Sept 2021 |
| 36 | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Shelter   | Cuiabá/MT | Natural    | Sept 2021 |
| 37 | Neg | Neg | Neg | - | - | - | Neg | Neg | Neg | Domiciled | Cuiabá/MT | Natural    | Sept 2021 |
| 38 | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Shelter   | Cuiabá/MT | Natural    | Sept 2021 |
| 39 | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Shelter   | Cuiabá/MT | Natural    | Sept 2021 |
| 40 | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Shelter   | Cuiabá/MT | Natural    | Sept 2021 |
| 41 | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Shelter   | Cuiabá/MT | Natural    | Oct 2021  |
| 42 | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Domiciled | Cuiabá/MT | Euthanasia | Oct 2021  |
| 43 | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Domiciled | Cuiabá/MT | Euthanasia | Nov 2021  |
| 44 | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Domiciled | Cuiabá/MT | Natural    | Nov 2021  |

---

Pos=positive; Neg=negative; -=non investigated; NI=non informed.

---

**Supplementar material 2. Description of samples tested by Tissues, Habitat, Cities (RJ), Death and Date.**

| ID | IHQ Nucleocapsid protein |        |                  | IHQ Spike protein |        |                  | SARS-CoV-2 RT-qPCR |        |                  | Habitat   | City              | Death      | Date     |
|----|--------------------------|--------|------------------|-------------------|--------|------------------|--------------------|--------|------------------|-----------|-------------------|------------|----------|
|    | Lung                     | Kidney | Nasal<br>conchae | Lung              | Kidney | Nasal<br>conchae | Lung               | Kidney | Nasal<br>conchae |           |                   |            |          |
| 1  | Neg                      | Neg    | -                | -                 | -      | -                | Neg                | Neg    | -                | Domiciled | Seropédica/RJ     | Euthanasia | Feb 2020 |
|    | Neg                      | Neg    | -                | -                 | -      | -                | Neg                | Neg    | -                | Domiciled | Rio de Janeiro/RJ | Euthanasia | Feb 2020 |
| 2  | Neg                      | Neg    | -                | -                 | -      | -                | Neg                | Neg    | -                | Domiciled | Rio de Janeiro/RJ | Euthanasia | Mar 2020 |
| 3  | Neg                      | Neg    | -                | -                 | -      | -                | Neg                | Neg    | -                | Shelter   | Seropédica/RJ     | Natural    | Jun 2020 |
| 4  | Neg                      | Neg    | -                | -                 | -      | -                | Neg                | -      | -                | Shelter   | Seropédica/RJ     | Natural    | Jun 2020 |
| 5  | Neg                      | Neg    | -                | -                 | -      | -                | Neg                | Neg    | -                | Shelter   | Seropédica/RJ     | Natural    | Jun 2020 |
| 6  | Neg                      | Neg    | -                | -                 | -      | -                | Neg                | Neg    | -                | Domiciled | Rio de Janeiro/RJ | Natural    | Aug 2020 |
|    | Neg                      | Neg    | -                | -                 | -      | -                | Neg                | Neg    | -                | Shelter   | Seropédica/RJ     | Natural    | Aug 2020 |
| 7  | Neg                      | Neg    | -                | -                 | -      | -                | Neg                | Neg    | -                | Domiciled | Rio de Janeiro/RJ | Euthanasia | Sep 2020 |
| 8  | Neg                      | Neg    | -                | -                 | -      | -                | Neg                | Neg    | -                | Domiciled | Rio de Janeiro/RJ | Natural    | Oct 2020 |
|    | Neg                      | Neg    | -                | -                 | -      | -                | Neg                | Neg    | -                | Shelter   | Seropédica/RJ     | Natural    | Aug 2020 |
| 9  | Neg                      | Neg    | -                | -                 | -      | -                | Neg                | Neg    | -                | Domiciled | Rio de Janeiro/RJ | Euthanasia | Sep 2020 |
| 10 | Neg                      | Neg    | -                | -                 | -      | -                | Neg                | Neg    | -                | Domiciled | Rio de Janeiro/RJ | Natural    | Oct 2020 |

|    |     |     |     |   |   |   |     |     |     |           |                    |            |          |
|----|-----|-----|-----|---|---|---|-----|-----|-----|-----------|--------------------|------------|----------|
| 11 | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Shelter   | Seropédica/RJ      | Natural    | Oct 2020 |
| 12 | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Shelter   | Seropédica/RJ      | Natural    | Nov 2020 |
| 13 | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Domiciled | Rio de Janeiro/RJ  | Euthanasia | Nov 2020 |
|    | Neg | Neg | Neg | - | - | - | Neg | Neg | Neg | Domiciled | Rio de Janeiro/RJ  | Euthanasia | Dec 2020 |
| 14 |     |     |     |   |   |   |     |     |     |           |                    |            |          |
| 15 | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Shelter   | Seropédica/RJ      | Natural    | Jan 2021 |
| 16 | Neg | Neg | Neg | - | - | - | Neg | Neg | Neg | Shelter   | Seropédica/RJ      | Natural    | Jan 2021 |
| 17 | Neg | Neg | Neg | - | - | - | Neg | Neg | Neg | Shelter   | Seropédica/RJ      | Natural    | Jan 2021 |
| 18 | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Shelter   | Seropédica/RJ      | Euthanasia | Jan 2021 |
| 19 | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Shelter   | Seropédica/RJ      | Euthanasia | Jan 2021 |
| 20 | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Shelter   | Seropédica/RJ      | Euthanasia | Jan 2021 |
| 21 | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Shelter   | Seropédica/RJ      | Euthanasia | Jan 2021 |
| 22 | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Shelter   | Seropédica/RJ      | Euthanasia | Jan 2021 |
| 23 | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Shelter   | Seropédica/RJ      | Euthanasia | Jan 2021 |
| 24 | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Shelter   | Seropédica/RJ      | Euthanasia | Jan 2021 |
| 25 | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Domiciled | Itaguaí/RJ         | Euthanasia | Jan 2021 |
| 26 | Neg | Neg | Neg | - | - | - | Neg | Neg | Neg | Shelter   | Seropédica/RJ      | Euthanasia | Feb 2021 |
| 27 | Neg | Neg | Neg | - | - | - | Neg | Neg | Neg | Domiciled | Itaguaí/RJ         | Natural    | Mar 2021 |
| 28 | Neg | Neg | Neg | - | - | - | Neg | Neg | Neg | Shelter   | Seropédica;/R<br>J | Natural    | Apr 2021 |

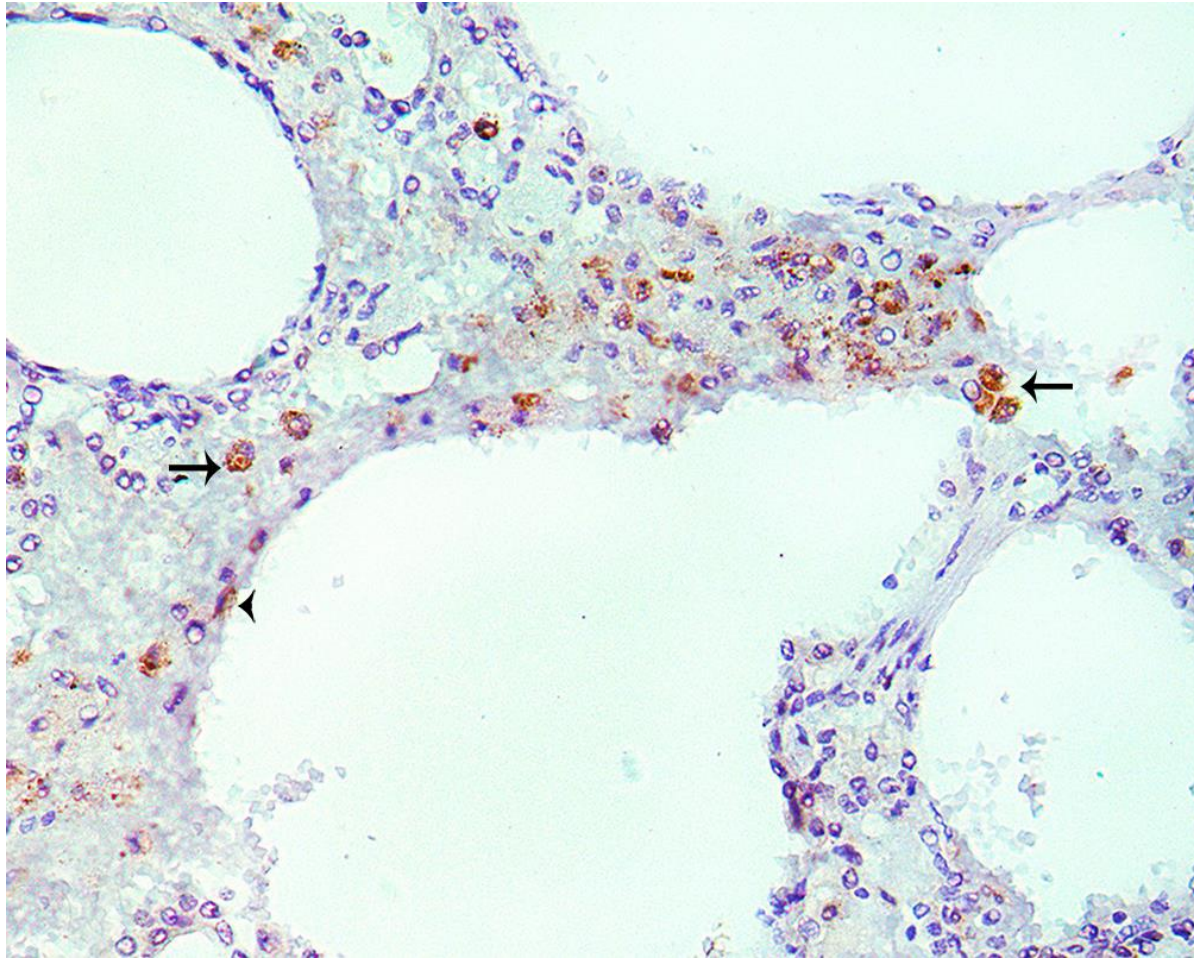
|           |     |     |     |   |   |   |     |     |     |           |                   |            |          |
|-----------|-----|-----|-----|---|---|---|-----|-----|-----|-----------|-------------------|------------|----------|
| <b>29</b> | Neg | Neg | Neg | - | - | - | Neg | Neg | Neg | Stray     | Rio de Janeiro/RJ | Natural    | Apr 2021 |
| <b>30</b> | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Shelter   | Seropédica/RJ     | Natural    | May 2021 |
| <b>31</b> | Neg | Neg | Neg | - | - | - | Neg | Neg | Neg | Domiciled | Seropédica/RJ     | Natural    | May 2021 |
| <b>32</b> | Neg | Neg | Neg | - | - | - | Neg | Neg | Neg | Domiciled | Rio de Janeiro/RJ | Natural    | May 2021 |
| <b>33</b> | Neg | Neg | Neg | - | - | - | Neg | Neg | Neg | Domiciled | Araruama/RJ       | Euthanasia | Jun 2021 |
| <b>34</b> | Neg | Neg | Neg | - | - | - | Neg | Neg | Neg | Domiciled | Seropédica/RJ     | Natural    | Jun 2021 |
| <b>35</b> | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Domiciled | Rio de Janeiro/RJ | Natural    | Jun 2021 |
| <b>36</b> | Neg | Neg | Neg | - | - | - | Neg | Neg | Neg | Domiciled | Seropédica/RJ     | Euthanasia | Jun 2021 |
| <b>37</b> | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Stray     | Rio de Janeiro/RJ | Natural    | Jul 2021 |
| <b>38</b> | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Shelter   | Seropédica/RJ     | Natural    | Jul 2021 |
| <b>39</b> | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Domiciled | Rio de Janeiro/RJ | Natural    | Aug 2021 |
| <b>40</b> | Neg | Neg | Neg | - | - | - | Neg | Neg | Neg | Domiciled | Volta Redonda /RJ | Euthanasia | Aug 2021 |
| <b>41</b> | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Shelter   | Seropédica/RJ     | Natural    | Sep 2021 |
| <b>42</b> | Neg | Neg | Neg | - | - | - | Neg | Neg | Neg | Domiciled | Seropédica/RJ     | Euthanasia | Sep 2021 |
| <b>43</b> | Neg | Neg | -   | - | - | - | Neg | Neg | -   | Domiciled | Seropédica/RJ     | Euthanasia | Oct 2021 |

|    |     |     |     |   |   |   |     |     |     |           |                   |            |          |
|----|-----|-----|-----|---|---|---|-----|-----|-----|-----------|-------------------|------------|----------|
| 44 | Neg | Neg | Neg | - | - | - | Neg | Neg | Neg | Domiciled | Seropédica/RJ     | Natural    | Nov 2021 |
| 45 | Neg | Neg | Neg | - | - | - | Neg | Neg | Neg | Domiciled | Seropédica/RJ     | Natural    | Nov 2021 |
| 46 | Neg | Neg | Neg | - | - | - | Neg | Neg | Neg | Shelter   | Seropédica/RJ     | Natural    | Nov 2021 |
| 47 | Neg | Neg | Neg | - | - | - | Neg | Neg | Neg | Domiciled | Seropédica/RJ     | Euthanasia | Nov 2021 |
| 48 | Neg | Neg | Neg | - | - | - | Neg | Neg | Neg | Domiciled | Seropédica/RJ     | Euthanasia | Nov 2021 |
| 49 | Neg | Neg | Neg | - | - | - | Neg | Neg | Neg | Domiciled | Rio de Janeiro/RJ | Natural    | Nov 2021 |
| 50 | Neg | Neg | Neg | - | - | - | Neg | Neg | Neg | Domiciled | Seropédica/RJ     | Euthanasia | Dec 2021 |
| 51 | Neg | -   | -   | - | - | - | Neg | -   | -   | Domiciled | Seropédica/RJ     | NI         | Dec 2021 |
| 52 | Neg | Neg | Neg | - | - | - | Neg | Neg | Neg | Stray     | Rio de Janeiro/RJ | Euthanasia | Dec 2021 |

---

**Pos=positive; Neg=negative; -=non investigated; NI=non informed.**

---



**Figure 1.** Intracytoplasmic immunolabelling in interstitial macrophages (arrow) and in type I pneumocyte (arrowhead) of anti-Spike Protein of SARS-CoV-2. Obj. 40x.

### 3.2. ARTIGO 2

Artigo a ser submetido a revista Veterinary Research Communications

#### **Causes of death in domestic cats during COVID-19 pandemic (2020-2021): A multi-institutional necropsy study from Mato Grosso and Rio de Janeiro, Brazil**

Gabriela O. Pereira, Asheley H.B. Pereira, Edson M. Colodel, Thalita P.P.S. Cruz, Luciano Nakazato, Valéria Dutra, Daniel G. Ubiali<sup>1</sup>

Setor de Anatomia Patológica, Departamento de Epidemiologia e Saúde Pública, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), 23890-900, Seropédica, RJ, Brasil (Pereira, Pereira, Ubiali); Laboratório de Patologia Veterinária, UFMT, Av. Fernando Corrêa da Costa 2367, Bairro Boa Esperança, Cuiabá, Mato Grosso, Brasil (Colodel); Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular Veterinária, UFMT, Av. Fernando Corrêa da Costa 2367, Bairro Boa Esperança, Cuiabá, Mato Grosso, Brasil (Nakazato, Dutra).

<sup>1</sup>Corresponding author: Daniel G. Ubiali, Setor de Anatomia Patológica, Departamento de Epidemiologia e Saúde Pública, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), 23890-900, Seropédica, RJ, Brazil. [danielubiali@ufrj.br](mailto:danielubiali@ufrj.br)

Running head: SARS-CoV-2 infection surveillance in domestic felines.

## Abstract

Retrospective studies that address the diseases in the feline species are scarce. Herein we presented the cause of death or euthanasia of cats from January 2020 to December 2021, during the first and second year of SARS-CoV-2 pandemic. The data were obtained from necropsies performed by the Federal Universities from Rio de Janeiro and Mato Grosso. A total of 96 feline necropsies were performed. In 87 cases (90,6%), we established the reason for death, while in 9 cases (9,4%) the diagnoses were inconclusive. We established the diagnostic groups: infectious and parasitic (37.5%), neoplasm (14,5%), malformation (7.3%), lower urinary tract disease LUTD (7.3%), degenerative (6.2%), traumas (6.2%), other causes (8.4%) and iatrogenic (3.1%). The most frequent disease group in cats from Rio de Janeiro and Mato Grosso was the infectious diseases, and most frequent inflammatory lesions were viral and pneumonia. The main detected agents were *Alphaherpesvirus* (FeHV), *Mycoplasma*, and *Pseudomonas* sp.

## Keywords

Infectious diseases, diseases of feline, domestic cat, pneumonia, RT-PCR, death.

## Introduction

Feline-human interaction has been described to exist about 11,000 years, initially its importance in controlling mice in grain warehouses (Vigne et al. 2012). Currently, the feline behavioral, clinical and diagnostic view has become an essential veterinary specialization worldwide, and studies in different areas of feline medicine are essential.

On the One Health approach, the feline-human close relationship allows transmission of pathogens (Vigne et al. 2004). There is questioning on the risks of zoonotic diseases, and the spread of pathogens from domesticated and feral cats, and other species (Robertson 2008). The main zoonoses transmitted from cats to humans are sporotrichosis (Barnacle et al. 2023), leishmaniasis (Matralis et al. 2023), rabies (Ma et al. 2022), cryptococcosis (Costa et al. 2022) and toxoplasmosis (Inpankaew et al. 2021). Given the pandemic scenario of the present study, a fuss was triggered by the report of possible transmission of SARS-CoV-2 from feline to human (Sila et al. 2021).

Retrospective studies that address the main diseases in the feline species are scarce. There are surveys on feline disease in the United Kingdom (Murray et al. 2008), Canada (Olsen and Allen 2001), Portugal (Manteigas et al. 2013), United States (Kent et al., 2022) and Italy (Grieco et al. 2021). In Brazil, there are only surveys in the South (Trapp et al.

2010, Togni et al. 2018, Withoeft et al. 2019) and in the Northeast (Batista et al. 2016). The causes of death in cats in the states of Southeast and Midwest regions of Brazil have not yet been investigated.

This two-year-study is so important because from March 2020 until December 2021 the world survived the first and second waves of SARS-CoV-2 pandemic. This study aimed to identify and quantify post-mortem diagnoses of felines submitted to necropsy and ancillary examination in Rio de Janeiro and Mato Grosso.

## **Materials and methods**

This study was performed from January 2020 to December 2021. Necropsy were performed in 96 domestic felines (*Felis catus*) at the *Setor de Anatomia Patológica* from *Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro* and the *Laboratório de Patologia Veterinária* (SAP/UFRuralRJ) from *Universidade Federal de Mato Grosso* (LPV/UFMT). The data collected as race, age, sex, origin, clinical history and diagnostic suspicion were compiled from the request form. The age was classified according feline life stages guidelines(Quimby et al.2021).

During the necropsy, tissues samples were systematically collected (skin, skeletal muscle, heart, liver, spleen, kidneys, adrenals, thyroid, stomach, intestines, pancreas, brain, trachea, and nasal conchae) and fixed in 10% buffered formalin. The collected tissues were processed routinely, and stained with hematoxylin and eosin (HE). Besides, a set of tissues (skin, skeletal muscle, heart, liver, spleen, kidneys, brain and nasal conchae) were sampled by immersion in RNALater solution.

After establishment of a diagnosis, only one cause of death was selected for each cat and the diseases were classified (Togni *et al.* 2018; Withoeft *et al.* 2019). The causes of death were grouped as infectious and parasitic, neoplasms, degenerative, malformations, feline lower urinary tract disease (LUTD), traumas, and "others" for diagnoses that do not fit into the previous groups. The cases in which no it was possible to establish the cause of death were classified as “inconclusive”.

The gross and histological changes guided the ancillary examination. The investigation of infectious agents was confirmed by microbiological tests performed in two cases of dermatitis and one case of cryptococosis. The molecular investigation in thirty-eight cases fit the RNA extraction from archived formalin-fixed paraffin-embedded tissues (Shi *et al.* 2004). All cases of pneumonia were tested by PCR for a panel of infectious agents as *Pasteurella* sp., *Bordetella* sp., *Mycoplasma* sp., *Clamydia* sp., feline calicivirus virus

(FCV), felid alphaherpesvirus (FeHV), feline immunodeficiency virus (FIV), and feline leukemia virus (FeLV) (Di Martino *et al.* 2007, Schmal-Filius *et al.* 2020, Mello *et al.* 2023). The panleukopenia virus was PCR tested in cases of cat with enteritis. *Leishmania* sp. and *Sporothrix* sp. was tested in the dermatitis cases. The Feline Coronavirus (FCoV) was tested in three cats with pyogranulomatous and fibrinous inflammation as meningitis and six cases of pneumonia. The primers and protocols are listed in Table 1. Gram Brown–Hopps, Schiff reaction of periodic acid, and Grocott Methanamine Silver histochemistry were performed in the tissues of cats with lesions compatible of bacterial or fungal infection.

## Results

During the 2-year study, we examined 96 domestic cats presented for post-mortem examination. From these, 45% (44/96) were from Mato Grosso, and 55% (52/96) were from Rio de Janeiro. In total, 87 cases (90,6%) had a conclusive diagnosis, and 9 cases (9,4%) the diagnoses were inconclusive due to absence of histological lesions.

In Mato Grosso, twelve of these cats were kittens (27.2%), 23 adults (52.2%), and two seniors (4,5%); in seven cases (16%), age was not available. Twenty-three were males and twenty females, and one case the sex was not identified.

In Rio de Janeiro, three cats were kittens (5.8%), 32 adults (61,5%), ten seniors (19,5%). Twenty-two were male, and twenty-three were female. Seven cases have not identified the sex because the cat was a fetus. In total, 92 cases (96%) were Brazilian short hair.

The main type of diagnosis was infectious and parasitic (36/96; 37.5%), neoplasm (15/96; 15.7%), other causes (8/8.4%), malformation (7/96; 7.3%), degenerative (6/96; 6.2%), traumas (6/96; 6.2%), LUTD (6/96; 6.2%), and iatrogenic (3/96) 3.1%.

The most frequent infectious disease were pneumonia (19/36; 52%) (Fig. 1B-C), sepsis (3/36), panleukopenia (3/36) (Fig. 1D), sporotrichosis (2/36) (Fig. 1A), FIV (3/36), platinosomiasis (1/36), FCoV (1/36), leishmaniasis (1/36), cryptococcosis (1/36), bacterial endocarditis (1/36), bacterial osteomyelitis (1/36). The most frequent neoplasm was lymphoma (5/14) (Fig. 1E), hemangiosarcoma (3/14), fibrosarcoma (2/14), squamous cell carcinoma (2/14), hepatic adenoma (1/14), and meningioma (1/14). The most frequent degenerative disease were chronic kidney disease (4/6) (Fig. 1F), acute kidney disease (1/6) and malacia of the central nervous system (1/6). The most frequent trauma were fractures of unknow cause (3/6), dog attack (1/6), motor vehicle collisions (1/6) and fall (1/6). All cases of LUTD were urethral intraluminal obstruction by urethral calculi, and one urethral extraluminal obstruction by neoplasm. LUTD was diagnosed in four male and three females cats. The “other” death causes were necrotic enteritis without infectious agent detected,

suppurative meningitis, lymphoplasmacytic dermatitis, chronic active pancreatitis, and in addition, hypertrophic cardiomyopathy. Iatrogenic disturbances were drug gastritis, by high drug dosage administered informed in the clinical history, fibrin necrotic glossitis caused by cirurgic procedure, and aspiration pneumonia. (Table 2).

The cases with lesions compatible with infectious diseases were investigated by PCR. From these, all cases of bacterial pneumonia were tested by a panel of infectious agents. We have found bacterial pneumonia caused by two cases of *Mycoplasma* sp. and *Chlamydia* sp., and *Bordetella* sp. with one case of each agent. Two cases had growth in bacterial One case had growth only *Pseudomonas* sp. (1/2) and other case *Pseudomonas* sp., *Klebsiella* sp., *E. coli* and *Staphylococcus* sp. (1/2) growths. Herpesvirus (4/11) was found in interstitial pneumonia; with four other cases of concomitant bacterial infection. Caliciviruses was not found in any case. FIV was found in eleven cases (11/19), FIV and FeLV together in (2/19), FeLV was not found alone. The panleukopenia virus were detected in three necrotic enteritis cases, all from Mato Grosso. FIV was positive in lymphoid depletion cases in the spleen, lymph node, and occasionally bone marrow. Leishmaniasis was detected in a cat from Rio de Janeiro. The two cases of sporotrichosis and cryptococcosis were confirmed by fungal culture, both from RJ.

## Discussion

The pathological, molecular and microbiological examinations were the base of this study to determine the causes of death and euthanasia during 2020 and 2021, the SARS-CoV-2 pandemic. We understand the challenging of retrospective studies and encourage researches through pathological, molecular and microbiological approaches.

Infectious and parasitic diseases were the most frequent diagnostic, as well as other Brazilian researches, in Santa Catarina (Withoeft et al. 2019) and Piauí (Batista et al. 2016), as well as in Milan, Italy (Grieco et al. 2021). The most frequent disease in our study is pneumonia. In our research, the most frequent bacterial agent was *Pseudomonas* sp. This bacterium is most prevalent in mammals and presents the highest levels of antimicrobial resistance in dogs and cats (Li et al. 2021). Herein, we evaluated the possibility of immunodepression of FIV and FeLV virus because, naturally, FIV-infected cats usually reflect secondary diseases, such as infections and neoplasia (Hartmann 2012). From cases of pneumonia, we have observed that more than half were positive to FIV, and some cases were concomitant with FeLV. This data was similar in other researches (Slaviero et al. 2021; Mello et al. 2023).

Other important infectious diseases was panleukopenia that was most frequent in Mato Grosso, which affected kittens or cats from a shelter. This disease demands attention mostly in shelters that are recognized as favorable environments (Li et al. 2021). The surveys from South Brazil, did not find cats with panleukopenia (Togni et al. 2018, Withoeft et al. 2019), as well in Rio de Janeiro we didn't see this disease. The most frequent neoplasm was lymphoma and the most common tumors in FeLV- and FIV-infected cats (Hartmann 2012). In our analysis the most frequent neoplasm was lymphoma, this neoplasm is considered the most common in FeLV- and FIV-infected cats (Hartmann 2012). A current Brazilian research established that cats with FeLV infection has 3.9 more chances that has lymphoma (Mello et al. 2023). In our study, we did not establish this relationship, and we emphasized that this is an important study and would allow more information in many regions in Brazil.

The LUTD is a diagnosis that fit with a large group of lesions including: lower urinary tract infection, urolithiasis, traumas, neoplasms and lower urinary tract malformations (Osborne et al. 1996). We have found LUTD compatible with cystitis, urolithiasis and probably iatrogenic and traumatic lesions that seem in histopathology exams hemorrhagic and necrotic lesions in the urethra and bladder. This disease is the most view in Mato Grosso, but we not can correlate a specific cause. The most frequent cases of LUTD are male cats, mainly in neutered (Foster, 1967, Rich & Fabricant, 1969). It was not possible to associate the neutered cats with LUTD due to a lack of information in the clinical histories. We have found in our total domestic cats evaluated, that, male was most frequent (55/96), similar with other studies (Batista *et al.* 2016, Withoeft et al. 2019, Togni et al. 2018, Grieco et al. 2021). The habits of the species always justify this finding to the search for in-estrus females and greater access to external environments, which culminate in greater contact with felines of unknown origin, facilitating the dissemination of infectious agents (Withoeft et al. 2019) and traumas.

From three cats with dermatitis in cats in Rio de Janeiro, 67% were occasioned by *Sporothrix* spp. No cases of sporotrichosis was found in Mato Grosso. The mycological growth and hystopathology fulfil the definition of an sporotrichosis diagnostic. One of lymphohistiocitic dermatitis without yeast in histologic examination and negative to *Sporothrix* sp. and *Leishmania* sp. in PCR were defined as unspecific dermatitis. The sporotrichosis is endemic in Rio de Janeiro (Gremião et al. 2015) and was currently reported outside South America (Thomson et al. 2023). This situation is an One Health serious problem (Moreira et al. 2015). In Mato Grosso, dermatitis is not a cause of death or euthanasia due low occurrence. Despite this, the state has a case report in cat (Fernandes *et*

al. 2004). All malformations cases were fetus with gastroschisis from the same offspring. We have not associated and not investigated infectious agents to the occurrence of these cases.

The molecular investigation using formalin-fixed paraffin-embedded samples (N=9) was efficient for extraction, but none of the cases and allowed to complete the diagnoses infection by FCoV. The limitation of the use of this kind of sample is RNA fragmentation due to formaldehyde exposure causing RNA-protein cross-linking. The literature indicates body fluids, organs with the highest viral loads are the omentum, mesenteric lymph nodes and spleen, so these tissues are most useful for analysis by RT-PCR. In contrast, the kidneys, liver, lung, myocardium and popliteal lymph nodes contain little or no viral RNA (Pedersen et al. 2015), increasing that our samples were fixed in formalin decreased diagnostic chance drastically. We emphasize that prospective studies should be conducted to determine the best etiological diagnostic method and technique for diagnostic post-mortem examined Brazilian cats to FCoV.

The most frequent diagnoses in cats in Mato Grosso and Rio de Janeiro were infectious disease during the first and second year of the SARS-CoV-2 pandemic in Brazil. The most frequent disease in this group was pneumonia in both states with observation of *Mycoplasma* sp. and *Chlamydia* sp., *Bordetella* sp., *Pseudomonas* sp., *Klebsiella* sp., *E. coli* and *Staphylococcus*.

## **Acknowledgments**

To CAPES for granting scholarships, financing code 001.

## **Declaration of conflicting interests**

The authors declare no potential conflict of interest concerning this article's research, authorship, and publication.

## **Funding**

The authors received no financial support for this article's research, authorship, and publication.

## **References**

Batista EKF, Pires LV, Miranda DFH, Albuquerque WR, Carvalho ARM, Silva LDS, Silva SMMS (2016) Estudo retrospectivo de diagnósticos post-mortem de cães e gatos

necropsiados no Setor de Patologia Animal da Universidade Federal do Piauí, Brasil de 2009 a 2014. *Braz J Vet Anim Sci* 53(1):88–96

Barnacle JR, Chow YJ, Borman AM, Wyllie S, Dominguez V, Russell K, Roberts H, Armstrong-James D, Whittington AM (2022) The first three reported cases of *Sporothrix brasiliensis* cat-transmitted sporotrichosis outside South America *Med Mycol Case Rep* 20(39):14–17

Bennett S. (2015) Development of multiplex real-time PCR screens for the diagnosis of feline and canine infectious disease. Dissertation, University of Glasgow

Brasil (2023) Ministério da Saúde, Coronavírus Brasil, Painei Coronavírus. <https://covid.saude.gov.br/>. Accessed 13 June 2023

Calvet GA, Pereira SA, Ogrzewalska M *et al* (2021) Investigation of SARS-CoV-2 infection in dogs and cats of humans diagnosed with COVID-19 in Rio de Janeiro, Brazil. *PLoS One* 16:e0250853

Costa PPC, Waller SB, Conte C, Sanzo GL, Gaspar LFJ, de Oliveira Cavalcanti GA, de Borba AM, Dos Reis Gomes A, de Faria RO, Cleff MB (2022) Cryptococcosis by *Cryptococcus* sp. causing lymphadenomegaly as a single sign in a cat. *Mycopathologia*. 187(5-6):627–630

Di Martino B, Di Francesco CE, Meridiani I, Marsilio F (2007) Etiological investigation of multiple respiratory infections in cats. *New Microbiol* 30(4): 455–461

Duda NCB, Ortiz LC, Valle SF, da Costa FVA, Varela APM, Nunes NJS, Okano FY, Franco AC, Roehe PM, González FHD (2020) Laboratory and clinical findings and their association with viral and proviral loads in cats naturally infected with feline leukemia virus. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 71:101491

Fernandes CGN, Moura ST, Dantas AFM, Blatt MCS (2004) Feline sporotrichosis—clinical and epidemiological aspects: case reports (Cuiabá, Mato Grosso, Brazil). *MedVet Rev Cient* 2:39–43

Foster SJ (1967) The "urolithiasis" syndrome in male cats; a statistical analysis of the problems, with clinical observations. *J Small Anim Pract* 8(4):207–14

Gremião ID, Menezes RC, Schubach TM, Figueiredo AB, Cavalcanti MC, Pereira SA (2015) Feline sporotrichosis: epidemiological and clinical aspects. *Med Mycol* 53(1):15–21

Gremião IDF, Oliveira MME, Monteiro de Miranda LH, Saraiva Freitas DF, Pereira SA (2020) Geographic Expansion of Sporotrichosis, Brazil. *Emerg Infect Dis* 26(3):621–624

Grieco V, Crepaldi P, Giudice C, Roccabianca P, Sironi G, Brambilla E, Magistrelli S, Ravasio G, Granatiero F, Invernizzi A, Caniatti M (2021) Causes of Death in Stray Cat

Colonies of Milan: A Five-Year Report. *Animals* 11(11):3308

Hartmann K (2012) Clinical aspects of feline retroviruses: a review. *Viruses* 4(11):2684–710

Helps C, Reeves N, Egan K, Howard P, Harbour D (2003) Detection of *Chlamydophila felis* and feline herpesvirus by multiplex real-time PCR analysis. *J Clin Microbiol* 41(6):2734–6

Helps CR, Lait P, Damhuis A, Björnehammar U, Bolta D, Brovida C, Chabanne L, Egberink H, Ferrand G, Fontbonne A, Pennisi MG, Gruffydd-Jones T, Gunn-Moore D, Hartmann K, Lutz H, Malandain E, Möstl K, Stengel C, Harbour DA, Graat EA (2005) Factors associated with upper respiratory tract disease caused by feline herpesvirus, feline calicivirus, *Chlamydophila felis* and *Bordetella bronchiseptica* in cats: experience from 218 European catteries. *Vet Rec* 156(21):669–73

Inpankaew T, Sattasathuchana P, Kengradomkij C, Thengchaisri N (2021) Prevalence of toxoplasmosis in semi-domesticated and pet cats within and around Bangkok. *Vet Res* 17(252):1–8

Jarrah SA, Kmetiuk LB, Valleriani F, Bonfini B, Lorusso A, Vasinioti V, Decaro N, Dos Santos MT, Spohr KAH, Pratelli A, Serroni A, Capista S, Sousa VRF, Biondo AW, Nakazato L, Dutra V (2023) SARS-CoV-2 antibodies in dogs and cats in a highly infected area of Brazil during the pandemic. *Front Vet Sci* 10:1111728

Kent MS, Karchemskiy S, Culp WTN, Lejeune AT, Pesavento PA, Toedebusch C, Brady R, Rebhun R. (2022) Longevity and mortality in cats: A single institution necropsy study of 3108 cases (1989-2019). *PLoS One* 17(12):e0278199

Li Y, Fernández R, Durán I, Molina-López RA, Darwich L (2021) Antimicrobial Resistance in Bacteria Isolated From Cats and Dogs From the Iberian Peninsula. *Front Microbiol* 11:621597

Li Y, Gordon E, Idle A, Hui A.; Chan R, Seguin MA, Delwart E (2021) Astrovirus outbreak in an animal shelter associated with feline vomiting. *Front Vet Sci* 8:628082

Lienard J, Croxatto A, Aeby S, Jatton K, Posfay-Barbe K, Gervais A, Greub G (2011) Development of a new chlamydiales-specific real-time PCR and its application to respiratory clinical samples. *J Clin Microbiol* 49(7):2637–2642

Ma X, Bonaparte S, Toro M, Orciari LA, Gigante CM, Kirby JD, Chipman RB, Fehlner-Gardiner C, Cedillo VG, Aréchiga-Ceballos N, Rao AK, Petersen BW, Wallace RM (2022) Rabies surveillance in the United States during 2020. *J Am Vet Med Assoc* 260(10):1157–1165

Manteigas F, Godinho A, Almeida P (2013) Causas de mortalidade em gatos com mais de

nove anos: estudo retrospectivo de cem casos. *Revista Lusófona de Ciência e Medicina Veterinária* 6:47–57.

Matralis D, Papadogiannaki I, Gkerdidani E, Patsoula E, Tegos N, Papadogiannakis E (2023) A Case of Feline Leishmaniosis with Panniculitis. *Case Rep Vet Med* 8864790:1–4

Mello LS, Ribeiro PR, de Almeida BA, Bandinelli MB, Sonne L, Driemeier D, Pavarini SP (2023) Diseases associated with feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus infection: A retrospective study of 1470 necropsied cats (2010-2020). *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 95:101963.

Moreira JA, Freitas DF, Lamas CC (2015) The impact of sporotrichosis in HIV-infected patients: a systematic review. *Infection* 43(3):267–76

Murray JK; Skillings E, Gruffydd-Jones TJ (2008) A study of risk factors for cat mortality in adoption centres of a UK cat charity. *J Feline Med Surg.* 10(4): 338–345

Osborne CA, Kruger JM, Lulich JP (1996) Feline lower urinary tract disorders. Definition of terms and concepts. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 26(2):169–79

Olsen TF and Allen AL (2001) Causes of sudden and unexpected death in cats: a 10-year retrospective study. *Can Vet J* 42(1):61–2

Pedersen NC, Eckstrand C, Liu H, Leutenegger C, Murphy B. (2015) Levels of feline infectious peritonitis virus in blood, effusions, and various tissues and the role of lymphopenia in disease outcome following experimental infection. *Vet. Microbiol* 175(2-4):157–66

Pereira GO, Pereira AHB, Colodel EM, Nakazato L, Peres T, Dutra V, Ubiali DG (2023) Immunohistochemical and molecular surveillance of SARS-CoV-2 infection in domestic cats from distinct metropolitan regions of Southeast and Midwest Brazil. *Vet Res Com.* Submission ID 392a29e4-5584-4fee-a55e-046618fb498b (cosubmission)

Quaresma PF, Murta SM, Ferreira EC, da Rocha-Lima AC, Xavier AA, Gontijo CM (2009) Molecular diagnosis of canine visceral leishmaniasis: identification of *Leishmania* species by PCR-RFLP and quantification of parasite DNA by real-time PCR. *Acta Trop* 111(3):289–94

Rich L and Fabricant CG (1969) Urethral obstruction in male cats: transmission studies. *Can J Med* 33(2):164–165

Robertson S (2008) A review of feral cat control. *Journal of Feline Medicine & Surgery* 10(4):366–375

Schmal-Filius E, Nedorost N, Weissenbacher-Lang C, Weissenböck H (2020) A retrospective study on the presence of selected infectious agents in lung samples of cats with

pneumonia. *Acta Veterinaria Hungarica* 68(3): 275–284

Shi SR, Datar R, Liu C, Wu L, Zhang Z, Cote RJ, Taylor CR (2004) DNA extraction from archival formalin-fixed, paraffin-embedded tissues: heat-induced retrieval in alkaline solution. *Histochem Cell Biol.* 122(3):211–8.

Sila T, Sunghan J, Laochareonsuk W, Surasombatpattana S, Kongkamol C, Ingviya T., Siripaitoon P, Kositpantawong N, Kanchanasuwan S, Hortiwakul T, Charernmak B, Nwabor OF, Silpapojakul K, Chusri S (2022) Suspected Cat-to-Human Transmission of SARS-CoV-2, Thailand, July-September 2021. *Emerg Infect Dis* 28(7):1485–1488

Simons FA, Vennema H, Rofina JE, Pol JM, Horzinek MC, Rottier PJ, Egberink HF (2005) A mRNA PCR for the diagnosis of feline infectious peritonitis. *J Virol Methods* 124(1-2):111–6

Slaviero M, Ehlers LP, Argenta FF, Savi C, Lopes BC, Pavarini SP, Driemeier D, Sonne L (2021) Causes and Lesions of Fatal Pneumonia in Domestic Cats. *Journal of Comparative Pathology* 189:59–71

Szilasi A, Dénes L, Krikó E, Murray C, Mándoki M, Balka G (2021) Prevalence of feline leukaemia virus and feline immunodeficiency virus in domestic cats in Ireland. *Acta Vet Hung.* 68(4):413-420

Togni M, Curtis A, Vargas DP, Kommers GD, Irigoyen LF, Figuera RA (2018) Causas de morte e razões para eutanásia em gatos na Região Central do Rio Grande do Sul (1964-2013). *Pesq Vet Bras* 38(4):741–50

Townsend KM, Boyce JD, Chung JY, Frost AJ, Adler B (2001) Genetic organization of *Pasteurella multocida* cap Loci and development of a multiplex capsular PCR typing system. *J Clin Microbiol* 39(3):924–9

Trapp SM, Iacuzio AI, Barca Junior FA, Kemper B, Silva LC, Okano W, Tanaka N, Grecco F, Cunha Filho L, Sterza F (2010) Causas de óbito e razões para eutanásia em uma população hospitalar de cães e gatos. *Braz J Vet Res Anim Sci* 47(5): 395–402

Vigne JD, Briois F, Zazzo A, Willcox G, Cucchi T, Thiébault S, Carrère I, Franel Y, Touquet R, Martin C, Moreau C, Comby C, Guilaine J (2012) First wave of cultivators spread to Cyprus at least 10,600 y ago. *Proc Natl Acad Sci* 109:8445–49

Vigne JD, Guilaine J, Debue K, Haye L, Gérard P (2004) Early taming of the cat in Cyprus. *Science*. 304(5668):259

Withoeft JA, Thierry G, Biezu G, Costa L, Dal Pont T, Freitas AC, Traverso SD, Casagrande RA (2019) Causes of death and euthanasia in domestic cats in the Santa Catarina plateau (1995-2015). *Pesquisa Veterinária Brasileira* 39(3):192–200

Yoon SH, Jeong W, Kim H, An DJ (2009) Molecular insights into the phylogeny of canine parvovirus 2 (CPV-2) with emphasis on Korean isolates: a Bayesian approach. *Arch Virol* 154(8):1353–1360

**Table 1. Molecular investigation by PCR (primers and probes) of infectious agents in tissues of domestic cats.**

| Agents                              | Tissue                   | Primer (5'-3')                                                                                                 | Reference                     |
|-------------------------------------|--------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|
| Feline coronavirus (FCoV)           | Lung and cerebral cortex | TAATGCCATACACGAACCAGCT<br>GTGCTAGATTTGTCTTCGGACACC                                                             | Simons <i>et al.</i> , 2015   |
| <i>Leishmania</i> sp.               | Skin and subcutaneous    | (C/G)(G/C)CC(C/A)CTA<br>T(T/A)TTACACCAACCCC<br>GGGGAGGGGCGTTCTGCGAA                                            | Quaresma <i>et al.</i> , 2009 |
| Feline Parvovirus (FPV)             | Intestine                | GGATCACCATCTGCTGCTTG<br>GCTGAGGTTGGTTATAGTGC                                                                   | Yoon <i>et al.</i> , 2009     |
| Feline Immunodeficiency Virus (FIV) | Lung and spleen          | GCGCTAGCAGCTGCCTAACCGCAAAA<br>CCAC<br>GTATCTGTGGGAGCCTCAAGGGAGAA<br>CTC                                        | Szilasi <i>et al</i> 2021     |
| Feline leukemia virus (FeLV)        | Lung and lymph node      | GCTCCCCAGTTGACCAGAGT<br>TTTATAGCAGAAAGCGCGCG                                                                   | Duda <i>et al</i> 2020        |
| Feline calicivirus virus (FCV)      | Lungs                    | GTAAAAGAAATTTGAGACAAT<br>TACTGAAGWTCGCGYCT<br>FAM-<br>CAAACCTCTGAGCTTCGTGCTTAAA-<br>BHQ                        | Helps <i>et al.</i> , 2005    |
| Felid alphaherpesvirus (FeHV)       | Lungs                    | TGGTGCCTATGGAATAGGTAAGAGTT<br>GTCGATTTTCATCCGCTCTGA<br>HEX-AACGGCGAAGTACC-MGB                                  | Helps <i>et al.</i> , 2003    |
| <i>Clamidia</i> sp.                 | Lungs                    | CCGCCAACACTGGGACT<br>GGAGTTAGCCGGTGCTTCTTTAC<br>Fam-<br>CTACGGGAGGCTGCAGTCGAGAATC-<br>BHQ1                     | Lienard <i>et al.</i> , 2004  |
| <i>Bordetella</i> sp.               | Lungs                    | ACTATACGTCGGGAAATCTGTTTG<br>CGTTGTCCGCTTTTCGTCTG<br>FAM-CGGGCCGATAGTCAGGGCGTAG-<br>BHQ1                        | Helps <i>et al.</i> , 2005    |
| <i>Mycoplasma felis</i> .           | Lungs                    | GTG GGG ATG GAT TAC CTC<br>GGA CTA TTA TCA AAA GCA CAT AAA<br>C<br>HEX-CTA CGG AGT ACA AGT TAC AAT<br>TCA-BHQ1 | Bennett, 2015                 |
| <i>Pasteurella</i> sp.              | Lungs                    | ATCCGCTATTTACCCAGTGGGC<br>TGTAACGAACCTCGCCAC                                                                   | Townsend <i>et al.</i> , 2001 |

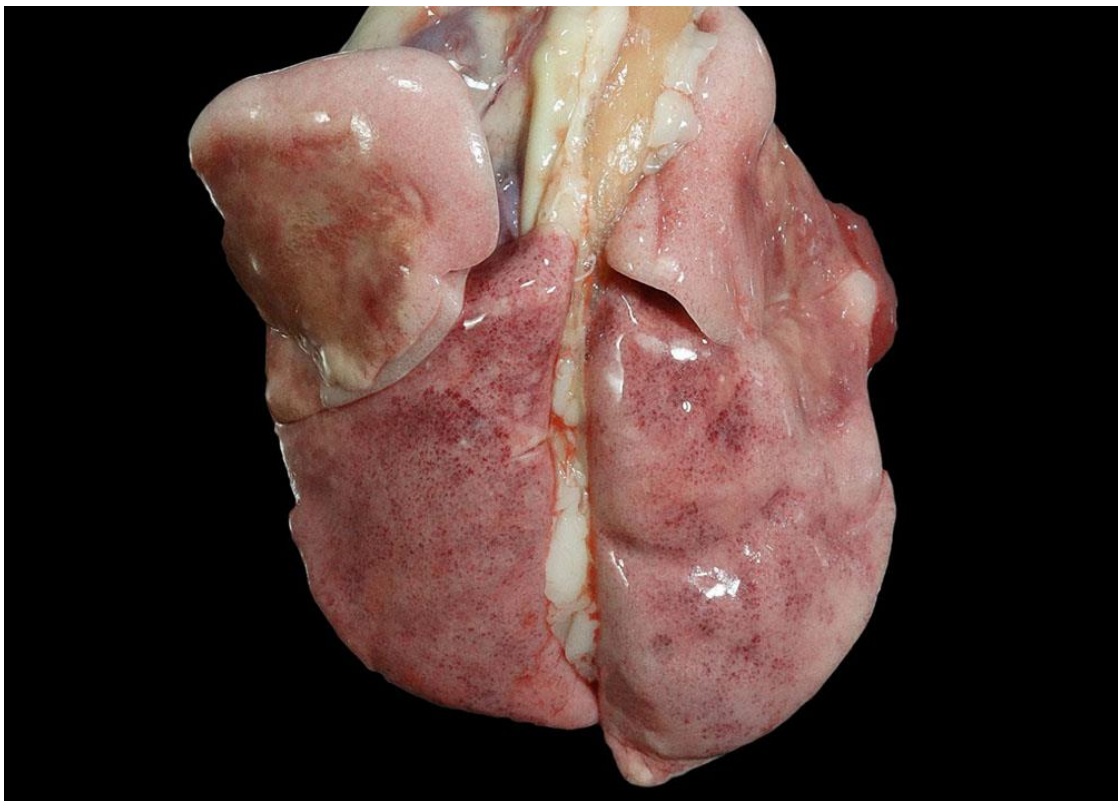
**Table 2. Diagnoses of domestic cats diseases from Mato Grosso and Rio de Janeiro**

| Type of lesions                 | State |    | Total     | %            |
|---------------------------------|-------|----|-----------|--------------|
|                                 | MT    | RJ |           |              |
| <b>Infectious and parasitic</b> |       |    | <b>36</b> | <b>37.5</b>  |
| Pneumonia                       | 10    | 9  |           |              |
| Sepsis                          | 2     | 1  |           |              |
| Panleukopenia                   | 3     | -  |           |              |
| Sporotrichosis                  | -     | 2  |           |              |
| Immunodeficiency Virus (FIV)    | 3     | -  |           |              |
| Platinosomiasis                 | -     | 1  |           |              |
| Feline coronavirus (FCoV)       | 1     | -  |           |              |
| Leishmaniosis                   | -     | 1  |           |              |
| Cryptococcosis                  | -     | 1  |           |              |
| Bacterial endocarditis          | -     | 1  |           |              |
| Bacterial osteomyelitis         | -     | 1  |           |              |
| <b>Neoplasm</b>                 |       |    | <b>14</b> | <b>14.5</b>  |
| Lymphoma                        | 1     | 4  |           |              |
| Hemangiosarcoma                 | -     | 3  |           |              |
| Fibrosarcoma                    | 2     | -  |           |              |
| Squamous cell carcinoma         | 1     | 1  |           |              |
| Hepatic adenoma                 | -     | 1  |           |              |
| Meningioma                      | -     | 1  |           |              |
| <b>Other</b>                    |       |    | <b>8</b>  | <b>8.4</b>   |
| Enteritis                       | 2     | 1  |           |              |
| Meningitis                      | -     | 1  |           |              |
| unspecific dermatitis           | -     | 1  |           |              |
| Pancreatitis                    | -     | 1  |           |              |
| Hypertrophic cardiomyopathy     | -     | 2  |           |              |
| <b>LUTD</b>                     | 5     | 2  | <b>7</b>  | <b>7.3</b>   |
| <b>Malformation</b>             |       |    | <b>7</b>  | <b>7.3</b>   |
| Gastroschisis                   | -     | 7  |           |              |
| <b>Degenerative</b>             |       |    | <b>6</b>  | <b>6.2</b>   |
| Chronic kidney disease          | -     | 4  |           |              |
| Acute kidney disease            | -     | 1  |           |              |
| Malacia*                        | 1     | -  |           |              |
| <b>Trauma</b>                   |       |    | <b>6</b>  | <b>6.2</b>   |
| Fractures of unknown cause      | 1     | 2  |           |              |
| Dog attack                      | -     | 1  |           |              |
| Automotive                      | 1     | -  |           |              |
| Fall                            | 1     | -  |           |              |
| <b>Iatrogenic</b>               |       |    | <b>3</b>  | <b>3.2</b>   |
| Drug gastritis                  | 1     | -  |           |              |
| Fibrinonecrotic glossitis       | 1     | -  |           |              |
| Aspiration pneumonia            | 1     | -  |           |              |
| <b>Inconclusive</b>             | 7     | 2  | <b>9</b>  | <b>9.4</b>   |
| <b>TOTAL</b>                    |       |    | <b>96</b> | <b>100.0</b> |

\*malacia without complementary diagnostics.



**Figure 1.** Sporotrichosis. Severe swelling in the nasal region of a feline from Rio de Janeiro.



**Figure 2.** Pneumonia due to *Mycoplasma* sp. infection. Fibrinonecrotic bronchopneumonia feline in cranial

lobes.



**Figure 3.** Feline cryptococcosis. The brain shows fibrinous meningitis with markedly red areas in the ectomarginal gyrus and ectosylvian sulcus at parietal region. An yellow extensive area in the cerebellar vermis is also seen.



**Figure 4.** Hepatic adenoma in cat. Marked mass with many cysts.



**Figure 5.** Mediastinal lymphoma, friable, yellowish-white mass. Renal lymph node in the lower corner, with marked increase in size, cut surface with red and white areas.

#### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BATISTA, E.K.F.; PIRES, L.V.; MIRANDA, D.F.H.; ALBUQUERQUE, W.R.; CARVALHO, A.R.M.; SILVA, L.D.S.; SILVA, S.M.M.S. Estudo retrospectivo de diagnósticos post-mortem de cães e gatos necropsiados no Setor de Patologia Animal da Universidade Federal do Piauí, Brasil de 2009 a 2014. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v. 53, n. 1, p. 88-96, 2016.
- BARNACLE, J.; CHOW, Y.; BORMAN, A.; WYLLIE, S.; DOMINGUEZ, V.; RUSSELL, K.; ROBERTS, H.; ARMSTRONG-JAMES, D.; WHITTINGTON, A.; The first three reported cases of *Sporothrix brasiliensis* cat-transmitted sporotrichosis outside South America. **Med Mycol Case Rep.** 20;39:14-17, 2022.
- BINNS, S.H.; DAWSON, S.; SPEAKMAN, A.J.; CUEVAS, L.E.; GASKELL, C.J.; HART, C.A.; MORGAN, K.L.; GASKELL, R.M. Prevalence and risk factors for feline Bordetella bronchiseptica infection. **Vet Rec**, v. 144, n. 21, p. 575-80, 1999.
- CARLOS, R.S.A.; MARIANO, A.P.M.; MACIEL, B.M.; GADELHA, S.R.; DE MELO SILVA, M.; BELITARDO, E.; ROCHA, D.; DE ALMEIDA, J.; PACHECO, L.; AGUIAR, E.; FEHLBERG, H.; ALBUQUERQUE, G.R. First genome sequencing of SARS-CoV-2 recovered from an infected cat and its owner in Latin America. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 68, n. 6, p.3070-3074, 2021.
- CASTRO, N.B.; ROLIM, V.M.; HESSE, K.; OLIVEIRA, E.C.; ALMEIDA, P.A.; WOUTERS, A.T.; DRIEMEIER, D.; SONNE, L.. Achados patológicos e imuno-histoquímicos em felinos domésticos com panleucopenia felina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 8, pp. 770-775, 2014.
- COSTA, P.; WALLER, S.; CONTE, C.; SANZO, G.; GASPAR, L.; DE OLIVEIRA CAVALCANTI G.A.; *et al.* Cryptococcosis by *Cryptococcus* sp. Causing Lymphadenomegaly as a Single Sign in a Cat. **Mycopathologia**. 187(5-6):627-630, 2022.
- CHIOCCHETTI, R., GALIAZZO, G., FRACASSI, F., GIANCOLA, F., PIETRA, M. ACE2 Expression in the Cat and the Tiger Gastrointestinal Tracts. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 13, n.7, p.514, 2020.
- DORIA-ROSE, V.P.; SCARLETT, J.M.; Mortality rates and causes of death among emaciated cats. **J Am Vet Med Assoc**. 216(3):347-51, 2000.
- EGENVALL, A.; BONNETT, B.N.; HÄGGSTRÖM, J.; STRÖM HOLST, B.; MÖLLER, L.; NØDTVEDT, A. Morbidity of insured Swedish cats during 1999-2006 by age, breed, sex, and diagnosis. **Journal Feline Med Surg**, v. 12, n. 12, p. 948-59, 2010.
- FENG, A., BEVINS, S., CHANDLER, J. *et al.* Transmission of SARS-CoV-2 in free-ranging white-tailed deer in the United States. **Nature Communication** 14, 4078, 2023.
- FOSTER, S.F.; BARRS, V.R.; MARTIN, P.; MALIK, R. Pneumonia associated with *Mycoplasma* spp. in three cats. **Australian Veterinary Journal**, v. 76, p. 460-464, 1998.
- GREENE, C.E.; ADDIE, D.D. Feline parvovirus infections. In **Infectious Diseases of the Dog and Cat**; Greene, C.E., Ed.; Saunders Elsevier: St. Louis, MO, USA, 2006; p. 78-88.
- GRIECO, V.; CREPALDI, P.; GIUDICE, C.; ROCCABIANCA, P.; SIRONI, G.; BRAMBILLA, E.; MAGISTRELLI, S.; RAVASIO, G.; GRANATIERO, F.; INVERNIZZI, A.; CANIATTI, M. Causes of Death in Stray Cat Colonies of Milan: A Five-Year Report. **Animals**, v. 11, n. 11, p. 3308, 2021.
- HENZEL, A.; BRUM, M.C.; LAUTERT, C.; MARTINS, M.; LOVATO, L.T.; WEIBLEN, R. Isolation and identification of feline calicivirus and feline herpesvirus in Southern Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 43, n. 2, p. 560-568, 2012.
- HU, Y.; HU, S.; WANG, W.; WU, X.; MARSHALL, F.; *et al.* Earliest evidence for commensal processes of cat domestication. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 111:116-20, 2014.

INPANKAEW, T.; SATTASATHUCHANA, P.; KENGRADOMKIJ, C. *et al.* Prevalence of toxoplasmosis in semi-domesticated and pet cats within and around Bangkok, Thailand. **BMC Vet Res** 17, 252, 2021.

IBGE. Pesquisa Nacional de Saúde, população de gatos. **Instituto Brasileiro De Geografia e Estatística**, 2019. Disponível em; < <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/4931>>. Acesso em: 6 de jun. de 2022.

JARRAH, S.; KMETIUK, L.; CARVALHO, O.; SOUSA, A.; SOUZA, V.R.; NAKAZATO, L.; COLODEL, E.M.; SANTOS, A.P.; PETTAN-BREWER, C.; HAHN, R.C.; SLHESSARENKO, R.D.; UBIALI, D.G.; PEREIRA, A.H.; MORAIS, H.; BIONDO, A.; DUTRA, V. Persistent SARS-CoV-2 antigen presence in multiple organs of a naturally infected cat from Brazil. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 28 , e20210074, 2022.

KANG, B.T.; PARK, H.M. Prevalence of feline herpesvirus 1, feline calicivirus and Chlamydomydia felis in clinically normal cats at a Korean animal shelter. **Journal of Veterinary Science**, v. 9, n. 2, p.207–209, 2008.

KENNEDY, M.A. Feline Infectious Peritonitis: Update on Pathogenesis, Diagnostics, and Treatment. **Vet Clin North Am Small Anim Pract**, v. 50, n. 5, p. 1001-1011, 2020.

KENT, M.S.; KARCHEMSKIY, S.; CULP, W.T.N.; LEJEUNE, A.T.; PESAVENTO, P.A.; TOEDEBUSCH, C.; BRADY, R.; REBHUN, R. Longevity and mortality in cats: A single institution necropsy study of 3108 cases (1989-2019). **PLoS One** 17(12):e0278199, 2022

KRASEMANN, S.; DITTMAYER, C.; VON STILLFRIED, S.; MEINHARDT, J.; HEINRICH, F.; HARTMANN, K.; PFEFFERLE, S.; THIES, E.; VON MANITIUS, R.; ASCHMAN, T.; RADKE, J.; OSTERLOH, A. *et al.* Assessing and improving the validity of COVID-19 autopsy studies - A multicentre approach to establish essential standards for immunohistochemical and ultrastructural analyses. **EbioMedicine**, v. 83, p, 104193, 2022.

LI, Y.; GORDON, E.; IDLE, A.; HUI, A.; CHAN, R.; SEGUIN, M.A.; DELWART, E. Astrovirus Outbreak in an Animal Shelter Associated With Feline Vomiting. **Front Vet Sci**. v. 8, e. 628082, 2021.

MA, X.; BONAPARTE, S.; TORO, M.; ORCIARI, L.; GIGANTE, C.; KIRBY, J.; *et al.* Rabies surveillance in the United States during 2020. **J Am Vet Med Assoc**. 260(10):1157-1165, 2022.

MANTEIGAS, F.; GODINHO, A.; ALMEIDA, P. Causas de mortalidade em gatos com mais de nove anos: estudo retrospectivo de cem casos. **Revista Lusófona de Ciência e Medicina Veterinária**, v. 6, p. 47-57, 2013.

MATRALIS, D.; PAPADOGIANNAKI, I.; GKERDIDANI, E.; PATSOULA, E.; TEGOS, N.; PAPADOGIANNAKIS, E. A Case of Feline Leishmaniosis with Panniculitis. **Case Rep Vet Med**. 8864790, 2023.

MCALOOSE, D.; LAVERACK, M.; WANG, L.; KILLIAN, M.L.; CASERTA, L.C.; YUAN, F.; MITCHELL, P.K.; QUEEN, K.; *et al.* From People to Panthera: Natural SARS-CoV-2 Infection in Tigers and Lions at the Bronx Zoo. **mBio**, v. 11, n. 5, e02220-20, 2020.

MURRAY, J.K.; SKILLINGS, E.; GRUFFYDD-JONES, T.J. A study of risk factors for cat mortality in adoption centres of a UK cat charity. **J Feline Med Surg**, v. 10, n. 4, p. 338-45, 2008.

NEWMAN, A.; SMITH, D.; GHAI, R.R.; WALLACE, R.M.; TORCHETTI, M.K.; LOIACONO, C.; MURRELL, L.S.; *et al.* First reported Cases of SARS-CoV-2 infection in companion animals - New York, March-April 2020. **MMWR Morb Mortal Wkly Rep**, v. 69, n. 23, p. 710–713, 2020.

OLSEN, T.F.; ALLEN, A.L. Causes of sudden and unexpected death in cats: a 10-year retrospective study. **Can Vet J**, v. 42, n. 1, p. 61-2, 2001.

OSBORNE, C.A.; KRUGER, J.M.; LULICH, J.P. Feline lower urinary tract disorders –

definitions of terms and concepts. **Vet Clin North Am Small Anim Pract**, v. 26, p. 169–179, 1996.

ROBERTSON, S. A review of feral cat control. **Journal of Feline Medicine & Surgery**, v. 10, n. 4, p. 366-375, 2008.

ROLIM, V.M. causas de mortes em gatos no sul do Brasil. 61 f. Tese de Doutorado em Ciências veterinárias, Universidade Federal Do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS. 2017.

SCHUBACH T.M.P., MENEZES R.C. & WANKE B. Sporotrichosis. In: Greene C.E. (Ed.), **Infectious Diseases of the Dog and Cat**. 4 ed. Elsevier, St Louis, p.645-650, 2012.

SILA,T.; SUNGHAN, J.; LAOCHAREONSUK, W.; SURASOMBATPATTANA, S.; KONGKAMOL, C.; INGVIIYA, T.; SIRIPAITOON, P.; *et al.* Suspected cat-to-human transmission of SARS-CoV-2, Thailand. **Emerg Infect Dis**. 28(7):1485-1488, 2022.

SLAVIERO, M.; EHLERS, L.P.; ARGENTA, F.F.; SAVI, C.; LOPES, B.C.; PAVARINI, S.P.P.; DRIEMEIER, D.; SONNE, L. Causes and Lesions of Fatal Pneumonia in Domestic Cats, **Journal of Comparative Pathology**, v. 189, p. 59-71, 2021.

STUETZER, B.; HARTMANN, K. Feline parvovirus infection and associated diseases. **The Veterinary Journal**, v. 201, n. 2, p. 150-155, 2014.

TRAPP, S.M.; IACUZIO, A.I.; BARCA JUNIOR, F.A.; KEMPER, B.; SILVA, L.C.; OKANO, W.; TANAKA, N.; GRECCO, F.; CUNHA FILHO, L.; STERZA, F. Causas de óbito e razões para eutanásia em uma população hospitalar de cães e gatos. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci**, v. 47, n. 5, p. 395-402, 2010.

TOGNI, M.; CURTIS, A.; VARGAS, D.P.; KOMMERS, G.D.; IRIGOYEN, L.F.; FIGHERA R.A. Causas de morte e razões para eutanásia em gatos na Região Central do Rio Grande do Sul (1964-2013). **Pesq. Vet. Bras**, v. 38, n. 4, p. 741-750, 2018.

USDA. Statement on the Confirmation of COVID-19 in a Tiger in New York. **U. S. Department Of Agriculture**, 2020. Disponível em; <[https://www.aphis.usda.gov/aphis/newsroom/news/sa\\_by\\_date/sa-2020/ny-zoo-covid-19](https://www.aphis.usda.gov/aphis/newsroom/news/sa_by_date/sa-2020/ny-zoo-covid-19)>. Acesso em: 6 de jun. de 2021.

USDA. Confirmation of COVID-19 in a Cougar at a Wild Animal Exhibitor in Texas. **U. S. Department Of Agriculture**, 2021. Disponível em; <[https://www.aphis.usda.gov/aphis/newsroom/stakeholder-info/sa\\_by\\_date/sa-2021/sa-02/sars-cov-2-texas-cougar](https://www.aphis.usda.gov/aphis/newsroom/stakeholder-info/sa_by_date/sa-2021/sa-02/sars-cov-2-texas-cougar)>. Acesso em: 6 de jun. de 2022a.

USDA. Confirmation of COVID-19 in a Canada Lynx at a Pennsylvania Zoo. **U. S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE**, 2021. Disponível em; <[https://www.aphis.usda.gov/aphis/newsroom/stakeholder-info/sa\\_by\\_date/sa-2021/sa-12/covid-lynx-pa#:~:text=Washington%2C%20D.C.%2C%20December%2021%2C,at%20a%20zoo%20in%20Pennsylvania.>](https://www.aphis.usda.gov/aphis/newsroom/stakeholder-info/sa_by_date/sa-2021/sa-12/covid-lynx-pa#:~:text=Washington%2C%20D.C.%2C%20December%2021%2C,at%20a%20zoo%20in%20Pennsylvania.>)>. Acesso em: 6 de jun. de 2022b.

VAN DEN BRAND, J.M., HAAGMANS, B.L., LEIJTEN, L., VAN RIEL, D., MARTINA, B.E., OSTERHAUS, A.D., KUIKEN, T. Pathology of experimental SARS coronavirus infection in cats and ferrets. **Veterinary Pathology**, v.45, n.4, p.551-62, 2008.

VIGNE, J.D.; GUILAINE, J.; DEBUE, K.; HAYE, L.; GÉRARD, P. Early taming of the cat in Cyprus. **Science**, v. 304, n. 5668, p. 259, 2004.

VIGNE, J.; BRIOIS, F.; ZAZZO, A.; WILLCOX, G.; CUCCHI, T.; *et al.* First wave of cultivators spread to Cyprus at least 10,600 y ago. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 109:8445–49, 2012.

WANG, L.; GYIMESI, Z.S.; KILLIAN, M.L.; TORCHETTI, M.; OLMSTEAD, C.; FREDRICKSON, R.; TERIO, K.A. Detection of SARS-CoV-2 clade B.1.2 in three snow leopards. **Transbound Emerg Dis**, doi 10.1111/tbed.14625, 2022.

WELSH, E.; CARDENAS-DE LA GARZA, J.A.; BRUSSOLO-MARROQUÍN, E.; CUELLAR-BARBOZA, A.; FRANCO-MARQUEZ, R.; RAMOS-MONTAÑEZ, G.

Negative SARS-CoV-2 antibodies in patients with positive immunohistochemistry for spike protein in pityriasis rosea-like eruptions. **J Eur Acad Dermatol Venereol**, v. 36, n. 9, e661-e662, 2022.

WITHOEFT, J.A.; THIERRY, G.; BIEZUS, G.; COSTA, L.; DAL PONT, T.; FREITAS, A.C.; TRAVERSO, S.D.; CASAGRANDE, R.A. Causes of death and euthanasia in domestic cats in the Santa Catarina plateau (1995-2015). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 39, n. 03, pp. 192-200, 2019.