

Comparación de las pruebas molecular e inmunocromatográfica en el diagnóstico de la Leucemia Viral Felina

Molecular and immunochromatographic tests comparison for Feline Viral Leukemia diagnosis

Fredy Guillen-González^{1*}, Manuel Maldonado-Cornejo¹ y Edy Castillo-Hidalgo²

¹Universidad Católica de Cuenca. Cuenca, Azuay, Ecuador. ²Universidad Católica de Cuenca, Health & Behavior HBr Group. Cuenca, Azuay, Ecuador.

*Correo electrónico: fredy.guillen.76@est.ucacue.edu.ec

RESUMEN

Con el propósito de comparar las pruebas molecular e inmunocromatográfica en el diagnóstico de la leucemia viral felina (FeLV) en la ciudad de Santo Domingo, Ecuador, se realizó una investigación en 47 gatos mayores de 6 meses, atendidos en la Clínica Veterinaria SERVET. Se extrajo una muestra de sangre de 0,75 mL a nivel de la vena cefálica de cada paciente. Para el diagnóstico por inmunocromatografía se utilizó el test comercial de FeLV-FIV (SensPert, VetAll Laboratories, Corea) y se siguieron los procedimientos recomendados por el fabricante. Las pruebas moleculares fueron realizadas con el plasma de las muestras, obtenido mediante centrifugación. Para la determinación se utilizó un equipo termociclador (Bioer LineGene 9600 Plus, China). Para cada prueba se calculó la prevalencia de la enfermedad. Las comparaciones se realizaron a través de la prueba de McNemar a un nivel de confianza de 95 %. La comparación en función de la edad se realizó a través de la prueba de t Student, a un 95 % de confianza y se estableció el grado de correlación. La prueba molecular resultó más confiable para el diagnóstico, obteniendo prevalencias de 68,1 % en comparación al 42,6 % derivado de la prueba de inmunocromatografía. La prueba de inmunocromatografía subestimó un tercio de la población afectada por la enfermedad mostrando una tendencia a ser más prevalente en gatos adultos. La comparación de prevalencia según la edad arrojó diferencias de 25,4 % a favor de la prueba molecular, con una correlación de 73 % entre los resultados de ambas pruebas. En casos de felinos vacunados o desparasitados, la prueba de inmunocromatografía siempre subestimó la población infectada por FeLV.

Palabras clave: Linfoma felino; PCR; patologías; gatos; *Felis silvestris catus*

ABSTRACT

This investigation was carried out with the purpose of comparing molecular and immunochromatographic tests for the diagnosis of FeLV in Santo Domingo city, Ecuador. Fourty seven random adult cats, were studied and treated at the SERVET Veterinary Clinic without discriminate healthy or with pathological signs. A 0.75 mL blood sample was taken from the cephalic vein of each patient. For diagnosis by immunochromatography, the commercial FeLV-FIV test (SensPert, VetAll Laboratories, Korea) was used and the procedures recommended by the manufacturer were followed. Molecular tests were performed with the plasma of the samples, obtained by centrifugation. For the determination, a thermocycler equipment (Bioer LineGene 9600 Plus, China) was used. The prevalence of the disease was calculated adding each test results and the statistical comparisons were made through the McNemar test at a confidence level of 95 %. The age association was performed using the t-Student test at 95 % confidence and also respective correlation was established. For the diagnosis of FeLV, the molecular test was more reliable with a prevalence of 68.1 % against the 42.6 % derived from the immunochromatography test. The immunochromatography test underestimated a third of the population affected by FeLV. The disease showed a tendency to be more prevalent in adult cats. The comparison of prevalence according to age showed differences of 25.4 % in favor of the molecular test, with a correlation of 73 % between the results of both tests. In cases of vaccinated or dewormed felines, the immunochromatography test always underestimated the population infected by FeLV.

Key words: Feline lymphoma; PCR; pathologies; cats; *Felis silvestris catus*

INTRODUCCION

La leucemia viral felina (FeLV) es una enfermedad de gran importancia debido a las pérdidas económica y emocionales que representa para los propietarios de los gatos domésticos (*Felis silvestris catus*) [1]. El agente causante de la FeLV, tiene la saliva como su principal medio de transmisión, también se pueden encontrar en sangre y otras secreciones corporales de animales con infección progresiva. El contacto íntimo con mucosas, el comportamiento de lamerse mutuamente, lactancia, compartir platos y pelear, favorece la transmisión del virus entre gatos que comparten espacio e instalaciones [20].

Los hábitos de muchos felinos como el acicalamiento, salidas, sobrepoblación, hacinamiento y mala higiene favorecen la diseminación del virus. Los gatos machos presentan mayor riesgo de contagio por sus hábitos de vagabundeo y agresividad con otros gatos, durante peleas por territorio o por hembras, mientras los gatitos jóvenes o inmunodeprimidos son más susceptibles a contraer la enfermedad [5, 26].

Este virus es responsable de causar varias patologías por ocasionar inmunosupresión, que predispone al gato a infecciones oportunistas, además de generar neoplasias y desordenes mieloproliferativos, que en varios casos se llegan a presentar cuadros clínicos agresivos. Estas características causan cuadros clínicos muy variables en comparación con cualquier otro agente, por lo cual se dificulta su diagnóstico, siendo responsable de varias muertes relacionadas con la enfermedad [12, 24, 26].

La infección por virus se clasifica según la antigenemia y la carga viral en sangre periférica en: Infección progresiva, en la cual se observa antigenemia persistente, alta carga viral, los gatos infectados sufren graves consecuencias relacionadas con el virus y pueden detectarse mediante pruebas rápidas; Infección regresiva, cuando los gatos infectados muestran antigenemia transitoria o indetectable, se vuelven antigénicamente negativos en las pruebas de rutina, pero positivos para las cargas provirales identificadas mediante la prueba por Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) de sangre y tejidos, ya que se produce la integración del ADN provírico del virus en el genoma del hospedador; Infección abortiva, en la cual los antígenos o provirus no se detectan en gatos infectados, pero quedan protegidos contra una nueva infección; infección focal o atípica, cuando la replicación del virus se limita a ciertos tejidos y puede conducir a una producción intermitente o de bajo grado de antígenos y, por lo tanto, puede tener resultados de prueba débilmente positivos o discordantes [13].

La Asociación Americana de Médicos Felinos (AAFP) recomienda conocer el estado en que se encuentre el virus en los gatos, ya que las consecuencias son importantes para los pacientes y cualquier gato en contacto con ellos, realizar pruebas de diagnóstico y no permitir el contacto de gatos sanos con gatos infectados por FeLV para prevenir la propagación de la enfermedad; sin embargo, a pesar de la disponibilidad de pruebas para detectar FeLV y de vacunas contra el virus, menos de la cuarta parte de todos los gatos han sido evaluados [20].

En América del Norte, la prevalencia de FeLV varía entre 2,3 y 7,5 %, en Australia alcanza el 2 %, mientras que en Europa es más alta, de 3,6 a 15,6 % [20]. En Hungría se encontró una prevalencia de 11,8 % para FeLV a través de pruebas de ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA) [28], mientras que los valores de prevalencia calculados a partir de los resultados de la prueba PCR fueron de 17,3 %

[2]. Por su parte Szilasi y col. [28, 29] reportaron que las pruebas ELISA mostraron una prevalencia de FeLV de 3,3 %, mientras que las pruebas PCR arrojaron una prevalencia de 11,6 %.

Según Calderón [4], en Ecuador no existen datos oficiales de la población de gatos, y en su estudio reporta que en el cantón Rumiñahui de la provincia de Pichincha-Ecuador, la población estimada es de un gato por cada 14,34 personas en la parroquia Sangolquí y un gato por cada 14,85 personas en la parroquia colindante de San Rafael.

El manejo, diagnóstico y tratamiento de los gatos infectados es complejo ya que requiere gran cantidad de pruebas costosas como ELISA, PCR y placas radiográficas, revisiones continuas, ocasionalmente medicamentos experimentales y tratamientos sintomáticos para mejorar la calidad de vida del individuo, lo cual representa altos costos para los propietarios, siendo más económico prevenir para disminuir la prevalencia de la enfermedad [16].

Tradicionalmente, el diagnóstico de FeLV se realiza mediante la detección del antígeno p27 utilizando pruebas rápidas disponibles comercialmente, aun cuando su precisión es relativamente difícil durante la viremia temprana y las infecciones latentes. Las pruebas de ensayo de reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa (RT-PCR) son de uso poco frecuentes. Los estudios realizados muestran que el ácido ribonucleico (ARN) viral de FeLV y el ácido desoxirribonucleico (ADN) provirus son mejores predictores de infecciones progresivas y latentes, respectivamente. Evidentemente, la gravedad y la complejidad de la enfermedad podrían reducirse mediante muestras adecuadas y realizando un diagnóstico más sensible [20].

Ante el aumento de gatos que acuden a consulta con sintomatología de FeLV, y dadas las dificultades para el diagnóstico preciso de la enfermedad, la presente investigación tuvo como objetivo comparar las pruebas molecular e inmunocromatográfica en el diagnóstico de FeLV en la ciudad de Santo Domingo, Ecuador.

MATERIALES Y METODOS

La investigación se realizó en 47 gatos atendidos en la Clínica Veterinaria "Servicios Veterinarios" (SERVET), ubicada en la ciudad de Santo Domingo, cantón Santo Domingo, de la provincia Santo Domingo de los Tsáchilas-Ecuador (FIG. 1), durante el periodo noviembre 2021 a enero 2022, a los cuales se le elaboró una historia clínica contentiva de la información sanitaria del paciente y de los posibles factores de riesgo para la enfermedad.

Criterios de selección

Para la selección de los gatos a ser evaluados para el diagnóstico de FeLV, se consideraron a pacientes mayores de 6 meses de edad, sanos o con signos clínicos de la enfermedad FeLV, independientemente del sexo y con diferentes grados reproductivos. Adicionalmente, los propietarios fueron encuestados acerca de la edad precisa de los gatos, la aplicación de las vacunas triple y contra leucemia, la frecuencia de desparasitación y los motivos de la consulta veterinaria.

Toma de muestra

A cada paciente se le extrajo 0,75 mililitro (mL) de sangre, tomada de la vena cefálica con jeringa de 1 mL y aguja 23x1, que luego se traspasó a un tubo de 1 mL con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), y se identificó mediante el código de historia clínica de cada paciente. Se realizó una hematología a través de un equipo de análisis



FIGURA 1. Ubicación relativa de la ciudad de Santo Domingo, cantón Santo Domingo, Ecuador.

hematológico Marca Rayto (RT-7600, Vet Auto Hematology Analyzer, Rayto Life and Analytical Sciences Co., China 03-2017).

Prueba inmunocromatografía

Para el diagnóstico serológico se utilizó la prueba cromatográfica SensPERT (VetAll Laboratories, Corea) lote A1062111 con fecha de caducidad de 26/01/2023, para detectar antígenos de leucemia (FeLV p27) y anticuerpos contra el virus de inmunodeficiencia felina (FIV) en la sangre completa.

Prueba molecular

Las pruebas moleculares fueron realizadas con el plasma de las muestras obtenidas mediante centrifugación (Changsha, 800D, Chansha Weirkang, China, 2017), las cuales fueron conservadas bajo refrigeración (Mabe, RMF04ERB0, Mabe Ecuador 2019) a una temperatura entre 2 – 8°C hasta el momento de su procesamiento en el laboratorio molecular.

La amplificación molecular de la muestra se realizó mediante técnica de biología molecular siguiendo el protocolo descrito por Tanaka y col. [30], a partir de una muestra de plasma sanguíneo con EDTA, para detectar el genoma viral por PCR, permitiendo diagnosticar el ADN proviral y el ARN viral, mediante una transcripción seguida de amplificación (RT-PCR).

La RT-PCR se llevó a cabo utilizando 0,5 µL de la reacción de transcripción inversa en un volumen de reacción total de 10 µL, con los siguientes parámetros: desnaturalización 95°C por 30 segundos (s), hibridación 53°C por 30 s, elongación 60°C por 30 s (40 ciclos). Los productos de PCR se analizaron mediante electroforesis en gel de agarosa (2 %). Para la determinación se utilizó un equipo termociclador;

LineGene 9600 plus 2021-04 de BIOER (Hangzhou bioer technology CO.LTD, China), usando en PCR el reactivo TaqPath 1-step multiplex de Applied biosystems y para la extracción de ARN Y ADN: Purelink viral DNA RNA mini kit (invitrogen).

Cálculo de la prevalencia

A partir de los 47 animales evaluados, y en función de los resultados de cada prueba diagnóstica, se calculó la prevalencia de FeLV de acuerdo a la Ecuación 1 [31].

$$Prevalencia = \left(\frac{\text{número de gatos FeLV positivos}}{\text{población total evaluada}} \right) \times 100 \text{ (Ecuación 1)}$$

Análisis estadístico de los resultados

Los resultados obtenidos de los análisis ejecutados en los 47 pacientes, se organizaron en tablas dinámicas para realizar un análisis estadístico descriptivo. Dada la naturaleza cualitativa de los resultados, las comparaciones entre los resultados de las pruebas de inmunocromatografía y PCR se realizaron a través de la prueba de McNemar [22] a un nivel de confianza de 95 %. Similarmente, para el caso de los factores de riesgo asociados a la condición sanitaria de los animales, también se realizó la comparación de los resultados de ambas pruebas diagnósticas a través del análisis de McNemar.

En el caso del cálculo de la prevalencia de FeLV en función de la edad de los animales, la comparación de las pruebas se realizó a través de la prueba de t de Student para muestras pareadas de dos colas, a un nivel de confianza de 95 %, y se estableció el grado de correlación de Pearson entre sus resultados. Todos los análisis fueron realizados con el software estadístico SPSS®, versión 24 [14].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La TABLA I muestra la comparación de la prevalencia de FeLV en gatos, determinada a través de las pruebas molecular e inmunocromatográfica. Se obtuvo una prevalencia de 42,6 % a través de la prueba de inmunocromatografía, mientras que este valor ascendió a 68,1 % cuando el diagnóstico de control se realizó a través de la prueba molecular.

Por otro lado, cuando se realiza la comparación de los resultados de ambas pruebas diagnósticas, se obtuvieron diferencias altamente significativas (P<0,01), destacando la coincidencia para todos los resultados positivos obtenidos por la prueba de inmunocromatografía, a los cuales se le adicionan 12 casos detectados como positivos a través de la prueba PCR que habían sido detectados como negativos con la prueba de inmunocromatografía, determinándose un claro efecto en una baja eficiencia de la prueba, atribuible a la baja carga viral en la progresión de la infección.

La confirmación ideal para la detección de FeLV es el aislamiento del virus, lo cual es considerado la prueba estándar de oro, pero este método es laborioso y poco práctico para la aplicación clínica [17, 34]. En tal sentido, Valenstein [32] indica que las estimaciones de sensibilidad y especificidad de una prueba en particular puede diferir según el estándar de referencia utilizado para la comparación.

En este caso, debido a la naturaleza de la prueba molecular con la detección de la carga de ADN proviral, se considera una alta precisión en sus resultados, en contraste con la prueba de inmunocromatografía, en la cual existen condiciones de la evolución de la enfermedad donde el diagnóstico a través de esta prueba no es lo suficientemente efectivo, ya que, en algunos casos, dicha carga no es suficiente para

TABLA I
Comparación de los resultados y de la prevalencia de la Leucemia Viral Felina (FeLV) en gatos, determinados a través de las pruebas molecular e inmunocromatográfica

	Resultado PCR			Prevalencia (%)	Estadístico McNemar		
	Negativo	Positivo	Total		Valor	P	
Resultado Inmuno-cromatografía	Negativo	15	12	27	42,6 %	12 **	0,0005
	Positivo	0	20	20			
	Total	15	32	47			
Prevalencia (%)	68,1 %**			**Altamente significativo			

su detección, lo cual ha sido reportado en otras investigaciones [8, 10, 15, 16, 33, 34].

Krecic y col. [15] señalan que el antígeno p27 utilizado para la detección con la prueba ELISA, se produce durante la etapa virémica primaria temprana, generalmente dentro de los 14 a 30 días de la infección y durante todas las etapas de la infección en gatos progresivamente infectados. En el caso de infecciones regresivas, es decir, aquellas en las que un gato infectado solo presenta una viremia transitoria en la sangre; el gato genera una respuesta inmunitaria eficaz para eliminar el virus circulante, pero el gato continúa albergando ADN proviral en su médula ósea y el virus no puede ser detectado en sangre, arroja PCR positivo y, en consecuencia, el resultado de PCR es positivo.

La detección molecular de FeLV, ARN y ADN provirus es importante para la estadificación de la enfermedad; sin embargo, el ensayo inmunocromatográfico rápido comúnmente utilizado para la detección de antígenos solo puede detectar la viremia en la etapa progresiva [16].

Al igual que con los resultados obtenidos en esta investigación, varios estudios han confirmado que la prueba diagnóstica PCR es más sensible que la prueba de inmunocromatografía para confirmar el estado de FeLV [8, 15, 33, 34]. Además, Krecic y col. [15] encontraron que, cuando se utilizó PCR como prueba de referencia, las sensibilidades para las pruebas WITNESS FeLV-FIV (Zoetis, INC, France) y SNAP FIV/FeLV Combo (IDEXX, Laboratories, USA) de inmunocromatografía fueron mucho más bajas.

Por su parte, otras investigaciones demostraron que las técnicas moleculares son más sensibles y específicas en la detección de diversas enfermedades virales que las pruebas serológicas, ya que son pruebas directas que detectan ADN, ARN, proteínas estructurales y no estructurales propias del organismo que se está identificando [10, 16, 17, 33], por el contrario, las metodologías serológicas son indirectas ya que detectan la respuesta inmune del hospedero, lo cual fue corroborado por Veliilla y col. [33], para los casos de inmunodeficiencia y leucemia felina.

Lacharoje y col. [16] manifiestan que, aunque los métodos basados en PCR son superiores a los ensayos serológicos y al aislamiento viral, requiere de equipos, suministros costosos y personal capacitado, consumen mucho tiempo para obtener el resultado y resultan onerosos a los propietarios de las mascotas. Por su parte, Westman y col. [35] afirman que las pruebas de PCR de FeLV no están exentas de limitaciones, ya que son posibles los falsos positivos causados por la contaminación del ADN durante el proceso de la PCR y los falsos negativos causados por mutaciones del virus; sin embargo,

una ventaja importante de las pruebas de PCR sobre todas las demás metodologías de diagnóstico actualmente disponibles es su capacidad para detectar infecciones regresivas de FeLV [33].

La comparación pareada de la prevalencia según la edad de los gatos diagnosticados (TABLA II) arrojó diferencias significativas ($P < 0,05$) entre ambas pruebas, obteniéndose un promedio ponderado de 68,69 % para la prueba molecular y de 43,29 % para la prueba inmunocromatográfica. Estos resultados mostraron una asociación de 73 %, determinado por medio del coeficiente de correlación de Pearson, lo cual significa que hay una subestimación de más un tercio de la población afectada por FeLV cuando el diagnóstico se realiza a través de la prueba de inmunocromatografía.

Similarmente, la FIG.1 muestra la evolución de la prevalencia de FeLV en gatos, determinados a través de las pruebas molecular e inmunocromatográfica según la edad del animal. Según el diagnóstico con la prueba inmunocromatográfica, la prevalencia de FeLV fluctúa entre 35 y 50 % para gatos entre 1 y 6 años de edad (ADE), y alcanza el 100 % en animales de 8 ADE. En el caso de PCR, se mantiene la tendencia a obtener valores mucho más elevados, ya que la prevalencia se ubicó entre 60 y 70 % para gatos entre 1 y 4 ADE, y alcanzó el 100 % para animales de mayores de dicha edad. Este resultado evidencia que los animales adultos tienden a ser portadores de la enfermedad, ya que en algún momento de su vida han estado expuestos al agente causal.

Diversos estudios reconocen que la susceptibilidad de los gatos al FeLV depende de la edad y la edad adulta se reconoce como un factor de riesgo para la infección por FeLV [6, 11, 18], aunque también

TABLA II
Estadísticos de la prueba de t Student para muestras pareadas para la prevalencia de Leucemia Viral Felina (FeLV) según la edad de los gatos, determinados a través de las pruebas molecular e inmunocromatográfica

Estadístico	Prevalencia PCR	Prevalencia inmunocromatográfica
Media	68,69	43,29
Varianza	1127,67	756,20
Coef. correlación de Pearson	0,73	
Estadístico t	3,10*	

*= significativo ($P < 0,05$)

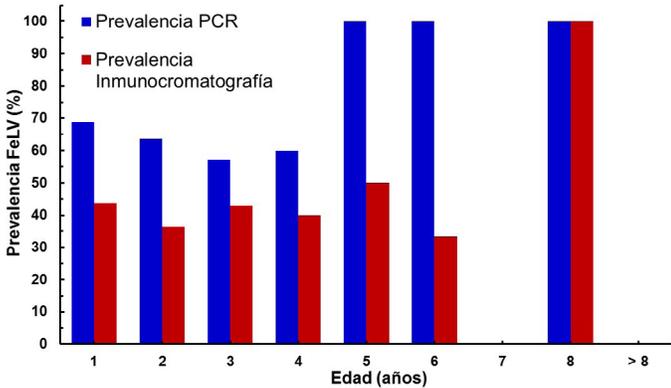


FIGURA 2. Comparación de la prevalencia de Leucemia Viral Felina en gatos, determinados a través de las pruebas molecular e inmunocromatográfica

existen estudios contradictorios que cuestionan el papel de la edad como factor de riesgo para la leucemia viral [2, 19, 27, 34].

Otro aspecto digno de considerar es la velocidad del impacto de la infección sobre la salud de los gatos. Chhetri y col. [9] indican que el FeLV suele causar una enfermedad grave, que generalmente conduce a la muerte relativamente rápida del portador, en consecuencia, los gatos infectados contienen tasas de supervivencia más cortas y no muchos viven hasta la edad adulta, lo cual justificaría el bajo número de animales de edad avanzada que fueron evaluados durante la investigación.

La TABLA III presenta la comparación de los diagnósticos de FeLV en gatos, determinados a través de las pruebas molecular e inmunocromatográfica, según la aplicación de vacunas preventivas.

El análisis estadístico arrojó diferencias significativas ($P < 0,05$) entre los resultados de las pruebas para los gatos que recibieron la vacuna triple y diferencias altamente significativas ($P < 0,01$) para los animales que no recibieron la vacuna contra la leucemia y los que no recibieron ni la vacuna triple ni la vacuna contra leucemia.

En el caso de los gatos que recibieron la vacuna triple, hubo 7 animales que fueron diagnosticados como positivos a FeLV a través de la prueba molecular que obtuvieron un diagnóstico negativo por medio de la prueba inmunocromatográfica. Para los gatos que no recibieron la vacuna contra la leucemia, la prueba PCR detectó 11 animales positivos que habían sido diagnosticados como negativos por la prueba inmunocromatográfica. Un resultado idéntico se obtuvo en el caso de los felinos que no recibieron ni la vacuna triple ni la vacuna contra leucemia.

Moskvina y col. [23] destacan que, actualmente hay varias vacunas disponibles en el mercado para proteger a los gatos de la infección por FeLV, pero ninguna de estas vacunas proporciona una protección duradera. Sin embargo, otros autores reportaron que la prevalencia de FeLV ha disminuido considerablemente como resultado de la vacunación eficaz, la identificación y segregación de los gatos infectados [3, 25].

En Australia se determinó que, alrededor del 64 % de los gatos asintomáticos que visitaron el centro veterinario para la vacunación estaban infectados con FeLV, lo cual se reveló a través de la utilización de la prueba PCR36 anidada [36]. La administración de la vacuna contra FeLV es ineficaz en los gatos infectados, por lo que los dueños de gatos se vuelven relativamente incautos a la hora de prevenir la transmisión del FeLV. La identificación rápida de la etapa infectiva de FeLV mejoraría el control de la infección por FeLV mediante el aislamiento oportuno de los gatos infectados, manteniendo comederos y alojamientos separados, así como también, promoviendo la vacunación contra FeLV en gatos de alto riesgo, particularmente en hogares con varios gatos [16].

TABLA III
Comparación de los resultados de Leucemia Viral Felina (FeLV) en gatos según la aplicación de vacunas, determinados a través de las pruebas molecular e inmunocromatográfica

Variable	Resultado Inmunocromatografía	Resultado PCR		Estadístico McNemar		
		Negativo	Positivo	Valor	P	
Vacuna Triple	No	Negativo	6	5	5 ^{ns}	0,0625
		Positivo	0	14		
	Si	Negativo	9	7	7*	0,0156
		Positivo	0	6		
Vacuna Leucemia	No	Negativo	6	11	11**	0,001
		Positivo	0	19		
	Si	Negativo	9	1	1 ^{ns}	>0,9999
		Positivo	0	1		
Vacunas Triple + Leucemia	No	Negativo	5	11	11**	0,001
		Positivo	0	20		
	Si	Negativo	10	1	--	--
		Positivo	0	0		

P= valor de probabilidad; * =Significativo ($P < 0,05$); ** =Altamente significativo ($P < 0,01$)

En la TABLA IV se muestra la comparación de los resultados de FeLV en gatos determinados a través de las pruebas molecular e inmunocromatográfica según la desparasitación y la presencia de síntomas FeLV. El análisis estadístico demostró diferencias significativas ($P < 0,05$) entre los diagnósticos obtenidos por ambas pruebas para el caso de los animales que recibieron desparasitación, ya que la prueba molecular determinó como positivos a 7 gatos diagnosticados como negativos a través de la prueba inmunocromatográfica, lo cual reitera la baja sensibilidad de esta prueba.

A pesar de que no existen reportes que declaren abiertamente la utilización de agentes antiparasitarios como un factor de riesgo para la FeLV, el presente estudio sugiere una predisposición; sin embargo, Castrillón-Salazar y col. [7] indican que la presencia de parásitos intestinales en los felinos generan trastornos digestivos, los cuales se manifiestan como anorexia, depresión reflejado como indigestión, tumores abdominales, peritonitis, fecalomas, megacolon, problemas hepáticos y vómitos, entre otros. En consecuencia, es preferible seguir utilizando los esquemas de desparasitación recomendados por los veterinarios hasta tanto no se demuestre el efecto predisponente a la leucemia felina de algún fármaco.

Por otro lado, se detectaron diferencias altamente significativas ($P < 0,01$) entre los resultados de las pruebas evaluadas para aquellos animales que no mostraban los síntomas asociados a la FeLV, debido a que la prueba molecular demostró que 12 de los animales diagnosticados como negativos por la prueba de inmunocromatografía, eran portadores de la enfermedad (TABLA IV). Cabe destacar que todos los gatos que presentaron sintomatología asociada a la FeLV fueron confirmados con diagnóstico positivo por ambas pruebas, evidenciando la efectividad del diagnóstico clínico sintomatológico como herramienta primaria para la detección de animales potencialmente portadores de la enfermedad.

Massey-Malagón y col. [21] indican que los signos clínicos de FeLV son muchos y muy variados, ya que pueden aparecer síntomas debidos directamente al virus o por infecciones oportunistas que producen alteraciones del sistema inmune. En tal sentido, puede aparecer pérdida de apetito, adelgazamiento, problemas dentales o de encías,

alteraciones respiratorias, alteraciones nerviosas, alteraciones oculares, entre otros. A esta condición se asocian los diagnósticos positivos en gatos que no presentaban síntomas tradicionalmente descritos para la leucemia viral.

CONCLUSIONES

La prueba de inmunocromatografía subestimó aproximadamente un tercio de la población afectada por FeLV, ya que se obtuvo una prevalencia de 42,6 % en comparación al valor de 68,1 % obtenido cuando el diagnóstico se realizó con la prueba molecular.

La enfermedad mostró una tendencia a ser más prevalente en gatos adultos. El diagnóstico clínico sintomatológico es una herramienta primaria para la detección de la enfermedad.

Independientemente de la aplicación de vacunas, la desparasitación y la presencia de síntomas asociados a FeLV en los felinos evaluados, la prueba de inmunocromatografía siempre subestimó la población de animales afectados por la enfermedad en comparación con el diagnóstico molecular.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores certifican que no existen conflictos de intereses en el presente artículo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ÁVILA, N.; PARRA, O.; BARRIOS, L.; BELLO, M.; ZAMBRANO, M.; GONZALEZ, J. Prevalencia de leucemia viral felina, inmunodeficiencia viral felina y dirofilariosis felina en gatos refugiados en un albergue de animales en Maracaibo, Venezuela. **Rev. Cientif. FCV-LUZ**. XXV(4): 285-292. 2015.
- [2] BANDE, F.; ARSHAD, S.S.; HASSAN, L.; ZAKARIA, Z.; SAPIAN, N.A.; RAHMAN, N.A.; ALAZAWY, A. Prevalence and risk factors of feline leukaemia virus and feline immunodeficiency virus in peninsular Malaysia. **BMC Vet. Res.** 8: 33. 2012.

TABLA IV
Comparación de los resultados de Leucemia Viral Felina (FeLV) en gatos según la desparasitación y la presencia de síntomas FeLV, determinados a través de las pruebas molecular e inmunocromatográfica

Variable	Resultado Inmunocromatografía	Resultado PCR		Estadístico McNemar		
		Negativo	Positivo	Valor	P	
Desparasitación	No	Negativo	3	5	5 ^{ns}	0,0625
		Positivo	0	15		
	Si	Negativo	12	7	7*	0,0156
		Positivo	0	5		
Sintomatología	FeLV	Negativo	0	0	-	-
		Positivo	0	11		
	Si	Negativo	15	12	1**	0,0005
		Positivo	0	1		

P= valor de probabilidad; *Significativo ($P < 0,05$); **=Altamente significativo ($P < 0,01$)

- [3] BURLING, A.N.; LEVY, J.K.; SCOTT, H.M.; CRANDALL, M.M.; TUCKER, S.J.; WOOD, E.; FOSTER, J.D. Seroprevalences of feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus infection in cats in the United States and Canada and risk factors for seropositivity. **J. Ame. Vet. Med. Assoc.** 251(2): 187-194. 2017.
- [4] CALDERÓN-NARANJO, S. Estimación del número de caninos y felinos domésticos de las parroquias Sangolquí y San Rafael del cantón Rumiñahui, utilizando el método de encuesta. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Quito: Universidad Central del Ecuador (UCE), Tesis de Grado. 89 pp. 2019. <https://bit.ly/3xxlW82>.
- [5] CALLE-RESTREPO, J.F.; FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, L.; MORALES-ZAPATA, M.L.; RUIZ-SÁENZ, J. Virus de la leucemia felina: un patógeno actual que requiere atención en Colombia. **Vet. Zoot.** 7(2): 1-22. 2013.
- [6] CAPOZZA, P.; LORUSSO, E.; COLELLA, V.; THIBAUT, J.C.; TAN, D.Y.; TRONEL, J. P.; HALOS, L.; BEUGNET, F.; ELIA, G.; NGUYEN, V.L.; OCCHIOGROSSO, L.; MARTELLA, V.; OTRANTO, D.; DECARO, N. Feline leukemia virus in owned cats in Southeast Asia and Taiwan. **Vet. Microbiol.** 254: 109008. 2021.
- [7] CASTRILLÓN-SALAZAR, L.L.; LÓPEZ-DIEZ, L.; SANCHEZ-NODARSE, R.; SANABRIA-GONZALEZ, W.; HENAO-CORREA, E.; OLIVERA-ANGEL, M. Prevalencia de presentación de algunos agentes zoonóticos transmitidos por caninos y felinos en Medellín, Colombia. **Rev. MVZ Córdoba.** 24(1): 7119-7126. 2019.
- [8] CATTORI, V.; TANDON, R.; RIOND, B.; PEPIN, A.C.; LUTZ, H.; HOFMANN-LEHMANN, R. The kinetics of feline leukemia virus shedding in experimentally infected cats are associated with infection outcome. **Vet. Microbiol.** 133: 292-296. 2009.
- [9] CHHETRI, B.K.; BERKE, O.; PEARL, D.L.; BIENZLE, D. Comparison of risk factors for seropositivity to feline immunodeficiency virus and feline leukemia virus among cats: a case-case study. **BMC Vet. Res.** 11(1): 1-7. 2015.
- [10] GAUTAM, R.; MIJATOVIĆ-RUSTEMPASIĆ, S.; ESONA, M.D.; TAM, K.I.; QUAYE, O.; BOWEN, M.D. One-step multiplex real-time RT-PCR assay for detecting and genotyping wild-type group A rotavirus strains and vaccine strains (Rotarix® and RotaTeq®) in stool samples. **Peer J.** 4: e1560. 2016.
- [11] GLEICH, S.E.; KRIEGER, S.; HARTMANN, K. Prevalence of feline immunodeficiency virus and feline leukaemia virus among client-owned cats and risk factors for infection in Germany. **J. Feline Med. Surg.** 11(12): 985-992. 2009.
- [12] HARTMANN, K. Efficacy of Antiviral Chemotherapy for Retrovirus-Infected Cats. **Feline Med. Surg.** 17: 925-939. 2015.
- [13] HARTMANN, K. Clinical aspects of feline retroviruses: a review. **Virus.** 4:2684-2710. 2012.
- [14] INTERNATIONAL BUSINESS MACHINES (IBM) Corporation.; IBM SPSS Statistics for Windows. Armonk, NY. IBM Corp. Version 24. 2017.
- [15] KRECIC, M.R.; VELINENI, S.; MEEUS, P.; FAN, H.; LOENSER, M. Diagnostic performances of two rapid tests for detection of feline leukemia virus antigen in sera of experimentally feline leukemia virus-infected cats. **J. Feline Med. Surg. Open Rep.** 4(1):e 2055116917748117. 2017. <https://doi.org/hx7g>.
- [16] LACHAROJE, S.; TECHANGAMSUWAN, S.; CHAICHANAWONGSAROJ, N. Rapid characterization of feline leukemia virus infective stages by a novel nested recombinase polymerase amplification (RPA) and reverse transcriptase-RPA. **Nature Scientif. Rep.** 11(1): 1-10. 2021.
- [17] LEVY, J.K.; CRAWFORD, P.C.; TUCKER S.J. Performance of 4 point-of-care screening tests for feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus. **J. Vet. Intern. Med.** 31: 521-526. 2017.
- [18] LEVY, J.; CRAWFORD, C.; HARTMANN, K.; HOFMANN-LEHMANN, R.; LITTLE, S.; SUNDAHL, E.; THAYER, V. 2008 American Association of Feline Practitioners' feline retrovirus management guidelines. **J. Feline Med. Surg.** 10(3): 300-316. 2008.
- [19] LEVY, L.S. Advances in Understanding Molecular Determinants in FeLV Pathology. **Vet. Immunol. Immunopathol.** 123(1-2): 14-22. 2008.
- [20] LITTLE, S.; LEVY, J.; HARTMANN, K.; HOFMANN-LEHMANN, R.; HOSIE, M.; OLAH, G.; DENIS, K.S. 2020 AAFP feline retrovirus testing and management guidelines. **J. Feline Med. Surg.** 22(1): 5-30. 2020.
- [21] MASSEY-MALAGON, D.Y.; CUERVO-SAAVEDRA, S.R.; LAGOS-LOPEZ, M.I. Incidencia de los virus de inmunodeficiencia y leucemia en *Felis catus* en la Clínica Veterinaria Gattos Tunja-Boyacá. **Cien. Desarrollo.** 10(1): 9-17. 2019.
- [22] McNemar Q. Psychological statistic. 4th. Ed. New York: Wiley. Pp. 529. 1969.
- [23] MOSKVINA, T.V.; SHCHELKANOV, M.Y.; TSYBULSKI, A.V. FeLV-infection: problems and prospects of vaccine prevention and interferon-therapy of feline leukemia. **Russian J. Infect. Immunity = Infektsiva I Immunitet.** 11(4): 624-634. 2021.
- [24] NESINA, S.; HELFER-HUNGERBUEHLER, A.K.; RIOND, B.; BORETTI, F.S.; WILLI, B.; MELI, M.L.; GREST, P.; HOFMANN-LEHMANN, R. Retroviral DNA - the silent winner: blood transfusion containing latent feline leukemia provirus causes infection and disease in naive recipient cats. **Retrovirol.** 12(1): 1-18. 2015.
- [25] PARR, Y.A.; BEALL, M.J.; LEVY, J.K.; MCDONALD, M.; HAMMAN, N.T.; WILLETT, B.J.; HOSIE, M.J. Measuring the humoral immune response in cats exposed to feline leukaemia virus. **Virus.** 13(3): 428. 2021.
- [26] RAMÍREZ, H.; AUTRAN, M.; GARCÍA, M.M.; CARMONA, M.A.; RODRÍGUEZ, C.; MARTÍNEZ, H.A. Genotyping of feline leukemia virus in Mexican housecats. **Arch. Virol.** 161(4): 1039-1045. 2016.
- [27] STUDER, N.; LUTZ, H.; SAEGERMAN, C.; GONCZI, E.; MELI, M.L.; BOO, G.; HARTMANN, K.; HOSIE, M.J.; MOESTL, K.; TASKER, S.; BELAK, S.; LLORET, A.; BOUCRAUT-BARALON, C.; EGBERINK, H.F.; PENNISI, M.G.; TRUYEN, U.; FRYMUS, T.; THIRY, E.; MARSILIO, F.; ADDIE, D.; HOCHLEITHNER, M.; TKALEC, F.; VIZI, Z.; BRUNETTI, A.; GEORGIEV, B.; LUDWIG - BEGALL, L.F.; TSCHUOR, F.; MOONEY, C.T.; ELIASSON, C.; ORRO, J.; JOHANSEN, H.; JUUTI, K.; KRAMPL, I.; KOVALENKO, K.; SENGAUT, J.; SOBRAL, C.; BORSKA, P.; KOVARIKOVA, S.; HOFMANN-LEHMANN, R. Pan-european study on the prevalence of the feline leukaemia virus infection - reported by the european advisory board on cat diseases (ABCD Europe). **Virus.** 11(11): 993. 2019.

- [28] SZILASI, A.; DENES, L.; KRIKO, E.; HEENEMANN, K.; ERTL, R.; MANDOKI, M.; VAHLENKAMP, T.W.; BALKÁ, G.Y. Prevalence of feline immunodeficiency virus and feline leukaemia virus in domestic cats in Hungary. **J. Feline Med. Surg. Open Rep.** 5(2): 1-7. 2019. <https://doi.org/hx7j>.
- [29] SZILASI, A.; DÉNES, L.; KRIKÓ, E.; MURRAY, C.; MÁNDOKI, M.; BALKÁ, G. Prevalence of feline leukaemia virus and feline immunodeficiency virus in domestic cats in Ireland. **Acta Vet. Hungarica.** 68(4): 413-420. 2021.
- [30] TANAKA, Y.; SASAKI, T.; MATSUDA, R.; UEMATSU, Y.; YAMAGUCHI, T. Molecular epidemiological study of feline coronavirus strains in Japan using RT-PCR targeting nsp14 gene. **BMC Vet. Res.** 11(1): 1-9. 2015.
- [31] TIQUE, V.; SANCHEZ, A.; ALVAREZ, L.; RIOS-MATTAR, S. Seroprevalencia del virus de leucemia e inmunodeficiencia felina en gatos de Montería, Córdoba. **Rev. Med. Vet. Zoot.** 56(2): 85-94. 2009.
- [32] VALENSTEIN, P.N. Evaluating diagnostic tests with imperfect standards. **Am. J. Clin. Pathol.** 93: 252-258. 1990.
- [33] VELILLA, C.; MARTÍNEZ, J.; GONZÁLEZ, M.S. Estandarización de PCR múltiple en tiempo real para el diagnóstico de sida y leucemia en *Felis silvestris catus*. **CES Med. Vet. Zoot.** 15(1): 31-43. 2020.
- [34] WESTMAN, M.E.; MALIK, R.; HALL, E.; SHEEHY, P.A.; NORRIS, J.M. Comparison of three feline leukaemia virus (FeLV) point-of-care antigen test kits using blood and saliva. **Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.** 50: 88-96. 2017.
- [35] WESTMAN, M.E.; MALIK, R.; NORRIS, J.M. Diagnosing feline immunodeficiency virus (FIV) and feline leukaemia virus (FeLV) infection: an update for clinicians. **Austral. Vet. J.** 97(3): 47-55. 2019a.
- [36] WESTMAN, M.; WESTMAN, M.; NORRIS, J.; MALIK, R.; HOFMANN-LEHMANN, R.; HARVEY, A.; MCLUCKIE, A.; PERKINS, M.; SCHOFIELD, D.; MARCUS, A.; MCDONALD, M.; WARD, M.; HALL, E.; SHEEHY, P.; HOSIE, M. The diagnosis of feline leukaemia virus (FeLV) infection in owned and group-housed rescue cats in Australia. **Virus.** 11: 503. 2019b. <https://doi.org/hx7h>.