



Ciencia Latina
Internacional

Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar, Ciudad de México, México.
ISSN 2707-2207 / ISSN 2707-2215 (en línea), septiembre-octubre 2024,
Volumen 8, Número 5.

https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v8i5

**RELACIÓN ENTRE LA CARGA PROVIRAL, EL
GENOTIPO Y EL TIPO DE INFECCIÓN EN GATOS
INFECTADOS CON EL VIRUS DE LEUCEMIA FELINA**

**RELATIONSHIP BETWEEN PROVIRAL LOAD,
GENOTYPE AND TYPE OF INFECTION IN CATS INFECTED
WITH FELINE LEUKEMIA VIRUS**

Ortiz Fragoso Lucía Karina

Universidad Nacional Autónoma de México

Marín-Flamand Ernesto

Universidad Nacional Autónoma de México

Vargas-Ruíz Alejandro

Universidad Nacional Autónoma de México

Acevedo Jiménez Gabriel Eduardo

Universidad Nacional Autónoma de México

Ramírez Andoney Vianey

Universidad Nacional Autónoma de México

Nora Rosalia Flores Huitrón

Universidad Nacional Autónoma de México

Autran Martínez Marcela

Universidad Nacional Autónoma de México

DOI: https://doi.org/10.37811/cl_rem.v8i5.13900

Relación entre la Carga Proviral, el Genotipo y el Tipo de Infección en Gatos Infeccionados con el Virus de Leucemia Felina

Marcela Autran Martínez¹

marcelaaautranmartinez@cuautitlan.unam.mx
<https://orcid.org/0000-0002-7001-7970>

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán
Laboratorio de Inmunología Veterinaria
Universidad Nacional Autónoma de México
México

Ernesto Marín-Flamand

marflamvz@comunidad.unam.mx
<https://orcid.org/0000-0003-1475-8982>

Facultad de Estudios Superiores
Cuautitlán UIM
Laboratorio de Patología Molecular Veterinaria
Universidad Nacional Autónoma de México
México

Alejandro Vargas-Ruíz

patologiavargas30@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-7213-4604>

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán
Departamento de Ciencias Biológicas, UIM
Laboratorio de Patología Molecular Veterinaria
Universidad Nacional Autónoma de México
México

Gabriel Eduardo Acevedo Jiménez

geaj@cuautitlan.unam.mx
<https://orcid.org/0000-0002-2026-9918>

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán
Laboratorio de Inmunología veterinaria
Universidad Nacional Autónoma de México
México

Vianey Ramírez Andoney

vianny102@hotmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-6391-0699>

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Universidad Nacional Autónoma de México
México

Nora Rosalia Flores Huitrón

<https://orcid.org/0009-0001-7755-9684>

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán
Salud pública y Bienestar Animal
Universidad Nacional Autónoma de México
México

Lucía Karina Ortiz Fragoso

kolohe_star@hotmail.com
<https://orcid.org/0009-0002-1332-6440>

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán
Universidad Nacional Autónoma de México
México

¹ Autor principal

Correspondencia: marcelaaautranmartinez@cuautitlan.unam.mx

RESUMEN

La leucemia viral felina tiene una distribución mundial afectando principalmente a gatos domésticos. Esta infección está influenciada por la respuesta inmune del hospedador, lo que conduce a los principales tipos de infección: abortiva, regresiva y progresiva. El objetivo del estudio fue determinar la carga proviral en gatos con infección progresiva, regresiva y sin infección, mediante una técnica de PCR en tiempo real; Se incluyeron 8 gatos domésticos provenientes de clínicas veterinarias del Estado de México y zonas aledañas, mayores de seis meses de edad, con y sin cuadro clínico sugestivo de la infección con el virus de la leucemia viral felina. Se observaron diferencias significativas ($p < 0.005$) en los niveles de carga proviral entre los distintos tipos de infección. Los valores de carga proviral en 4 gatos con infección regresiva se encontró entre el rango de 0.6161 y 0.7360 (log 10), a diferencia de los gatos con infección progresiva cuya carga viral fue entre 0.8895 y 1.3907 y los 2 gatos sin infección fluctuaron entre 0.0551 a 0.1996. Estas diferencias en los niveles de carga proviral relativa son importantes para el diagnóstico, curso de la infección y pronóstico en los gatos infectados. A partir de los productos positivos a la PCR de FeLV se obtuvieron dos secuencias de interés y se realizó un análisis filogenético cuya asociación al feline leukemia virus, confirmó la especificidad de los productos amplificados que confirmó la infección en gatos positivos.

Palabras Clave: leucemia viral felina, carga proviral relativa, QPCR, genotipo, infección progresiva, infección regresiva



Relationship between Proviral Load, Genotype and Type of Infection in Cats Infected with Feline Leukemia Virus

ABSTRACT

Feline viral leukemia has a worldwide distribution, mainly affecting domestic cats. This infection is influenced by the host's immune response, leading to the main types of infection: abortive, regressive and progressive. The objective of the study was to determine the proviral load in cats with progressive, regressive and without infection, using a real-time PCR technique; Included are 8 domestic cats from veterinary clinics in the State of Mexico and surrounding areas, over six months of age, with and without clinical symptoms suggestive of infection with the feline viral leukemia virus. Significant differences ($p < 0.005$) were observed in proviral load levels between the different types of infection. The proviral load values in 4 cats with regressive infection were between the range of 0.6161 and 0.7360 (log 10), unlike the cats with progressive infection whose viral load was between 0.8895 and 1.3907 and the 2 cats without infection fluctuated between 0.0551 0.1996. These differences in relative proviral load levels are important for diagnosis, course of infection, and prognoses in infected cats. From the positive FeLV PCR products, two sequences of interest were obtained and a phylogenetic analysis was performed whose association with the feline leukemia virus confirmed the specificity of the amplified products that confirm the infection in positive cats.

Keywords: feline viral leukemia, relative proviral load, QPCR, genotype, progressive infection, regressive infection

*Artículo recibido 24 agosto 2024
Aceptado para publicación: 27 septiembre 2024*



INTRODUCCIÓN

El virus de leucemia felina (FeLV, por sus siglas en inglés Feline leukemia virus) es un virus que afecta a gatos domésticos de todo el mundo, así como a algunas especies de felinos salvajes (Chiu, et al, 2019; Nesina S, 2015; Ortiz JF, 2011). Se trata de una infección persistente y se acompaña de alteraciones o desequilibrios en el sistema inmunitario. Los signos clínicos asociados al FeLV son muy variables, entre los cuales se encuentra la inmunosupresión que predispone a infecciones secundarias, adicionalmente los retrovirus inducen la activación de proto-oncogenes que generan susceptibilidad al desarrollo de neoplasias como el linfoma (Ortiz JF, 2015; Thengchaisri N, 2017; Cristo TG, 2019). El curso de la infección por el FeLV está influenciado por diferentes factores como la capacidad de respuesta inmune del individuo, la edad, carga viral inicial, vía de inoculación, duración, frecuencia de exposición, etcétera (Bande F, 2012; Parr YA, 2021; Ortega C, 2020; Beall MJ, 2021; Hofmann-Lehmann R, 2001).

El FeLV pertenece a la familia *Retroviridae*, a la subfamilia *Orthoretrovirinae* y al género *Gammaretrovirus* (Coffin J, 2021). El genoma viral codifica tres genes principales: *gag* (antígenos específicos de grupo), *pol* (enzimas para la replicación viral) y *env* (proteínas de envoltura). El gen *pol* de este virus codifica a la enzima transcriptasa inversa que es una ADN polimerasa dependiente de ARN, lo cual permite que el virus genere ADN bicatenario a partir de su genoma de ARN, mismo que adquiere el nombre de provirus cuando se integra al ADN celular. Durante la mitosis celular, las células hijas heredan el ADN proviral, por lo que el hospedador puede permanecer infectado durante toda su vida (MacLachlan NJ, 2017; Ryu W-S, 2017; Fujino Y, 2010).

Adicionalmente, los gatos domésticos albergan en su genoma algunos elementos virales endógenos homólogos al virus de la leucemia felina (retrovirus endógeno), los cuales se han integrado y permanecido en el ADN genómico de especies del género *Felis* durante millones de años sin producir partículas virales infecciosas (Roca AL, 2004; Koshy R, 1980). Debido a que la similitud genética entre las secuencias endógenas y su contraparte infecciosa es alta, se podría generar la interrogante de que, si un gato es positivo a técnicas de PCR, será realmente positivo a la infección por el FeLV o podría ser que se amplifiquen fracciones de genes endógenos (Canto-Valdés M, 2023; Ramírez H, 2019; Acevedo-Jiménez GE, 2023).



Los estatus de infección se han clasificado según la antigenemia, las cargas virales y provirales en la sangre en: infección abortiva, donde la respuesta inmunitaria del gato es eficaz produciéndose solamente una infección local en orofaringe que es controlada por el sistema inmune sin que exista diseminación a otros tejidos, por lo que el gato resulta negativo en las pruebas para detección de antígeno y provirus (Helfer-(Hungerbuehler AK, 2015; Giselbrecht J, 2022); infección regresiva, en la cual los gatos sufren una viremia transitoria que dura de tres a cuatro semanas, resultando inicialmente positivos en las pruebas para detección de antígeno, el cual se trata de la proteína p27 que es uno de los productos del gen *gag* y es muy abundante en el plasma de gatos infectados (Canto MC, 2022; Bieuz G, 2023). Después de este periodo inicial, los gatos presentan una fuerte respuesta inmunológica que elimina la carga viral y el riesgo de patología asociada a la infección por el FeLV es mínimo (Hartmann K, 2012). Estos animales posteriormente resultarán negativos a las pruebas que detecten la proteína p27, pero serán positivos en la detección de provirus con la técnica de PCR (Duda NC, 2019), en la infección progresiva, donde la viremia perdura más de tres semanas sin que el sistema inmune desarrolle anticuerpos neutralizantes, lo que resulta en la invasión de la médula ósea por parte del virus. Esta fase es caracterizada por una elevada carga viral, los gatos son positivos de manera persistente a cualquier prueba que detecte el antígeno p27 y a técnicas moleculares para detección del provirus (Acevedo-Jiménez GE, 2023; Helfer-Hungerbuehler AK, 2015; Hartmann K, 2012). Entre el 70 y 90 % de los gatos con la infección progresiva mueren en un plazo de 18 meses a 3 años (Lutz H, 2009).

Inicialmente, tanto las infecciones progresivas como las infecciones regresivas se caracterizan por la presencia de ADN proviral que puede detectarse en la sangre con la técnica de PCR, pero posteriormente se asociarán a diferentes niveles de cargas provirales en ensayos de PCR cuantitativa- qPCR (Duda NCB, 2020).

Anteriormente, el diagnóstico para la infección por el FeLV era principalmente por técnicas como aislamiento viral, inmunofluorescencia o la técnica de ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) (Parry BW, 1989). Actualmente, la utilización de métodos moleculares como la PCR, qPCR o RT-PCR complementan el diagnóstico llevado a cabo con las pruebas rápidas realizadas en el punto de atención para detección del antígeno p27 en sangre (Duda NCB, 2020; Parry BW, 1989; Kornya M, 2023).



Ninguna técnica de uso rutinario en las clínicas veterinarias permite conocer el estatus de la infección en los gatos infectados por el FeLV. Por lo tanto, un enfoque interesante a plantear es si la qPCR podría ser una prueba efectiva para diferenciar el tipo de infección presente en el gato según su nivel de carga proviral. El objetivo de este estudio fue comparar la diferencia de los niveles de carga proviral relativa en los gatos con infección progresiva y regresiva con FeLV a partir de muestras de sangre periférica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Declaración ética

Este estudio fue aprobado por el comité interno para el cuidado y uso de los animales de experimentación de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán UNAM (CICUAE FESC) (protocolo CI_FESC 201784).

Animales de estudio

Las muestras de sangre completa colectadas procedieron de clínicas veterinarias del Estado de México y zonas aledañas. Se incluyó un grupo de 8 gatos domésticos, mayores de seis meses de edad, con y sin cuadros clínicos sugestivos de la infección por el FeLV.

Muestras

Se colectaron muestras de sangre completa (1.5 mL) mediante venopunción cefálica o yugular en tubos con anticoagulante EDTA (BD Vacutainer® con EDTA K2, México). Las muestras fueron remitidas para el servicio de diagnóstico de FeLV por PCR punto final en el Laboratorio de Virología, Genética y Biología Molecular de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán-UNAM para la detección de un fragmento del gen *env* y también se realizó una prueba rápida (SNAP- FeLV Ag-FIV-Ab BioNOTE, Korea) para la detección del antígeno p27 de FeLV, con lo cual se pudo obtener el estatus de la infección en los animales. El ADN fue extraído a partir de sangre completa con el kit comercial FavorPrep™ Blood Genomic DNA Extraction Mini Kit (Favorgen, Taiwan), siguiendo las instrucciones del fabricante. El ADN extraído se conservó a -20 °C hasta su uso.



Diseño de iniciadores

Se realizó un análisis *in silico* utilizando los programas bioinformáticos BioEdit (Hall TA, 1999) y Primer 3 input (v0.4.0 Institute for Biomedical Research, Boston, MA) (Untergrasser et al, 2012) a partir de las secuencias de genomas completos de FeLV disponibles en el GenBank (números de acceso: L25632, LC144885, LC144884, LC144883, AB060732, AF052723, AB672612). Se realizó un rediseño de iniciadores con base en iniciadores previamente reportados (Ramírez H, 2016) para amplificar un producto de 199 pares de bases del gen *env* de FeLV. Los iniciadores utilizados se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Iniciadores empleados en la qPCR para la amplificación del ADN proviral del FeLV y el gen constitutivo HPRT.

Iniciador	Secuencia	T° Alineación	Tamaño del producto (pb)	Gen Bank N° Accesoión
FeLV-Env /FW	AAGAAGTCAATTAGTGCCTTAGA	54 °C	199	AF052723
FeLV-Env / RV	CGCTGTTTTAGTCTTTCTCTTA			
HPRT / F-182	TTGCCGACCTGTTGGATTAC	50 °C	229	AF_176419
HPRT / R-410	TTGACCAAGGCAAGCAAAGT			

qPCR

Las muestras se probaron por triplicado con las siguientes condiciones: un ciclo inicial de activación a 95 °C por 2 minutos seguido de una desnaturalización a 95 °C por 5 segundos utilizando 40 ciclos, una alineación a 54°C por 10 segundos y una extensión a 72 °C por 20 segundos; tras el último ciclo se realizó una curva de disociación a 95 °C por 5 segundos, 54 °C por 1 minuto y para finalizar a 95 °C por 10 segundos en un equipo Agilent technologies Mx3005P (Stratagene), como sistema de amplificación y detección. La qPCR se realizó en reacciones de 20 µL que contenían 10 µL de master mix (Sensi Fast SYBR Master mix, Bioline, London, UK), 1 µL del ADN blanco a 50 ng / µL, 1 µL de cada iniciador (Fw y Rv) y 7 µL de agua grado biología molecular (Promega ®).

Secuenciación de productos

Los productos resultantes de la qPCR para FeLV fueron analizados electroforéticamente en geles de agarosa y purificados con el kit Sure Clean (Bioline London, UK) y verificados por secuenciación con el método Sanger en el Instituto de Fisiología Celular (UNAM).



Análisis de secuencias obtenidas y construcción del árbol filogenético

Las secuencias obtenidas fueron alineadas, editadas, ensambladas con el programa informático BioEdit v7.2.5, Ibis Bioscience, Carlsbad, C (Hall TA, 1999) posteriormente se realizó un análisis comparativo utilizando el programa informático NCBI BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), posteriormente se construyó un árbol filogenético con el programa informático MEGA 6 (Tamura K, 2013) utilizando los algoritmos maximun likelihood y maximun parsimony, basado en 1000 repeticiones. Las secuencias mexicanas obtenidas se depositaron en el GenBank. Para el valor estadístico del árbol se utilizaron valores de Bootstrap, resultados mayores a 70 (700) fueron considerados significantes.

Determinación de la carga proviral

Se utilizó el método de cuantificación relativa mediante la comparación del punto de cp cruce (cross-point/CP) de la muestra desconocida (Pfaffl MW, 2001; Raymaekers M, 2009).

Todas las cuantificaciones de las muestras desconocidas fueron normalizadas con un control interno, para lo cual se utilizó el gen constitutivo hipoxantina-guanina fosforribosiltransfera (HPRT).

La ecuación para calcular $\Delta\Delta C_p$ para el método de cuantificación relativa fue:

$$\text{Cuantificación relativa} = 2^{-\Delta\Delta C_p}$$

$$\Delta\Delta C_p = \text{Promedio de la } C_t \text{ de la muestra} - C_t \text{ del HPRT de la muestra}$$

Posteriormente, se realizó la transformación logarítmica de los valores relativos obtenidos mediante el uso de logaritmo base 10 ($[2^{-\Delta\Delta C_p} (\text{Log } 10)]$).

Análisis estadístico

Se comprobó la normalidad de los datos usando la prueba Shapiro-Wilk para posteriormente realizar el análisis de las diferencias entre los diferentes tipos de infección, esta realizó con la prueba de análisis de varianza (ANDEVA) y la prueba de Tukey para determinar la diferencia entre los tipos de infección, usando el paquete estadístico Statgraphics Centurion 18® En todas las instancias, la significancia estadística se estableció con un valor de ($p < 0.05$)



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tipo de infección en gatos

El estatus de infección fue establecido mediante la correlación de los datos completos del paciente: panel hematológico y bioquímico completo, el examen clínico y estudios adicionales complementarios (datos no mostrados). Sin embargo, los resultados obtenidos a partir de las diferentes herramientas de diagnóstico realizadas permitieron identificar el estatus de infección en la población estudiada como se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Muestras provenientes de 8 gatos evaluados mediante qPCR, PCR punto final y SNAP junto con la interpretación del estatus de infección.

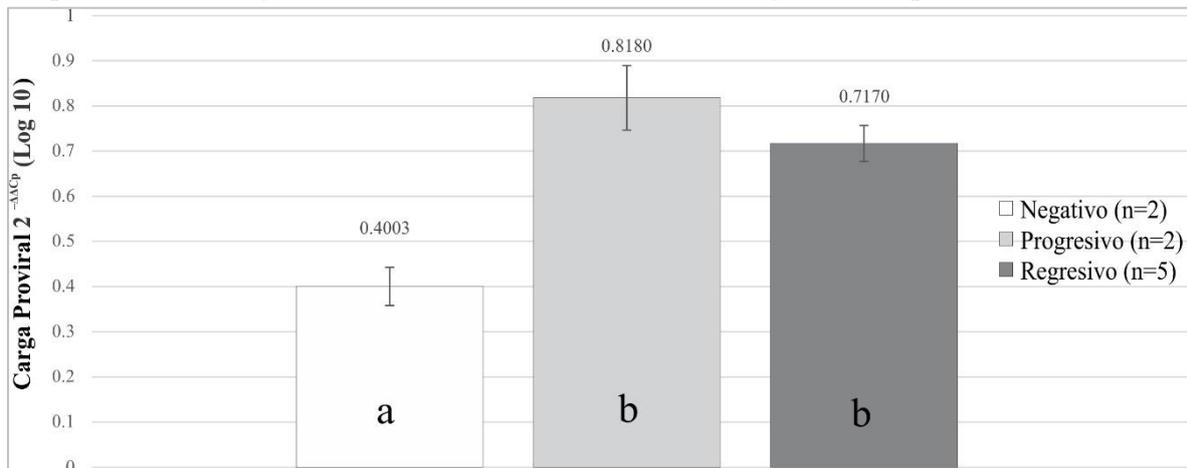
Muestra	PCR	SNAP	ESTATUS (Tipo de infección)
1	+	-	Regresivo
2	+	-	Regresivo
3	+	-	Regresivo
4	+	-	Regresivo
5	+	+	Progresivo
6	+	+	Progresivo
7	-	-	Negativo
8	-	-	Negativo

Carga proviral de FeLV en gatos con infección progresiva y regresiva

Se logró identificar la carga proviral en gatos con infección regresiva con un valor promedio de 0.7170. A diferencia de los gatos con la infección progresiva que obtuvieron cargas virales más altas que todos los demás con valor promedio de .8180 y en los gatos sin infección se obtuvieron resultados con valor promedio de 0.4003, que son más bajos que los obtenidos en infecciones progresivas y regresivas (Figura 1). A pesar de que no hubo diferencia significativa entre los diferentes tipos de infección, se señala una diferencia aritmética en los valores promedio, por lo que los resultados obtenidos permiten diferenciar gatos con infección progresiva de gatos con infección regresiva o animales negativos, lo que permite sugerir el empleo de la técnica de qPCR como herramienta valiosa en la caracterización del tipo de infección por el FeLV en gatos domésticos.



Figura 1. Carga proviral de acuerdo con el estatus de la enfermedad. Media, +/- error estándar. Grupos con literales iguales no muestran diferencia estadística significativa ($p < 0.05$).



Si bien las pruebas rápidas comerciales disponibles requieren una mínima cantidad de muestra y pueden realizarse en el punto de atención, los niveles de sensibilidad pueden ser muy variables, reportándose valores entre 57 a 100 %, dependiendo del fabricante (Tamura K, 2013; Pfaffl MW, 2001). En el caso de las pruebas de qPCR la sensibilidad se incrementa y con frecuencia se alcanza el 100 % (Hofmann-Lehmann R, 2001; Raymaekers M, 2009; Powers JA, 2018), lo que resulta ser una ventaja especialmente en animales indetectables en las pruebas convencionales para detección de antígeno, ya sea porque tienen bajos o nulos niveles de antigenemia, como ocurre en las infecciones regresivas (Duda NC, 2019; Tandon R, 2005).

En un estudio realizado por Powers et al., 2018 se encontró que la carga proviral de los animales progresivos fue de 5×10^6 copias virales, comparada con los gatos regresivos de 3×10^2 copias virales. Lo anterior concuerda con los datos obtenidos en el presente estudio, lo que reafirma la utilidad de la cuantificación de la carga proviral como un indicador del tipo de infección (progresivo o regresivo) en los gatos infectados con el FeLV.

De acuerdo con otros estudios, (Helfer-Hungerbuehler AK, 2015; Duda NC, 2019; Kornya M, 2023; Powers JA, 2018; Hofmann-Lehmann R, 2008; Tandon R, Cattori V, 2005; Westman ME, 2017; Levy JK, 2017; Torres AN, 2008; Cattori V, 2008), las infecciones de tipo progresivo se caracterizan no únicamente por cargas provirales más altas, sino que también por cargas virales mayores en comparación con las presentes en las infecciones de tipo regresivo. Aunque en este estudio se determinó únicamente la carga proviral, los datos obtenidos sugieren que su determinación además de detectar la

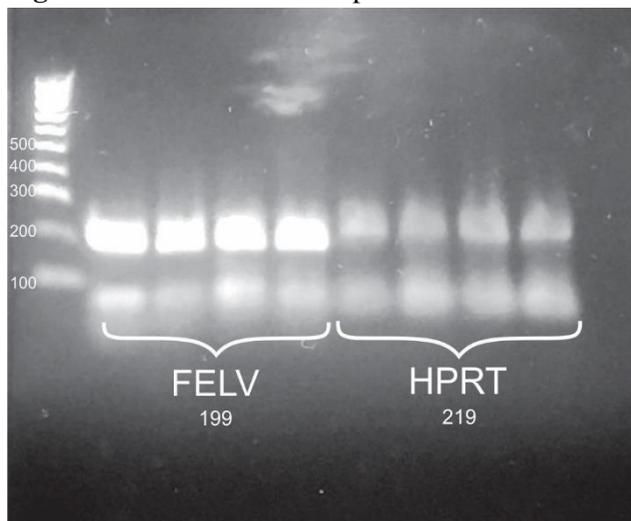
infección en los gatos puede ser útil en la caracterización de la infección por el FeLV en gatos domésticos. Incluso, se ha reportado que gatos con valores significativamente más altos de provirus correlacionan con niveles más altos de antígeno p27 detectable en sangre (Helfer-Hungerbuehler AK, 2015).

Por otro lado, en el presente estudio, los gatos considerados como negativos para prueba rápida y PCR punto final fueron positivos en la técnica de qPCR, lo cual pudo deberse a que la qPCR es más sensible que la PCR punto final o que se haya amplificado un fragmento endógeno, como lo reportado por Powers et al., 2018 donde se realizó una qPCR para identificar secuencias endógenas de FeLV obteniendo que en 100 % de los gatos fueron positivos (65 / 65), dado que los retrovirus endógenos están presentes en todos los felinos y juegan un papel importante en la infección por FeLV ya sea mediante protección o inducción de la enfermedad, siendo un factor clave a considerar en las infecciones causadas por este retrovirus (Canto-Valdés M, 2017; Acevedo-Jiménez GE, 2023).

Secuencias obtenidas

La secuenciación de los productos amplificados confirmó que correspondían con las secuencias diana de FeLV (199 pb) como se muestra en la Figura 2.

Figura 2. Productos de PCR punto final obtenidos a partir de gatos infectados con FeLV.



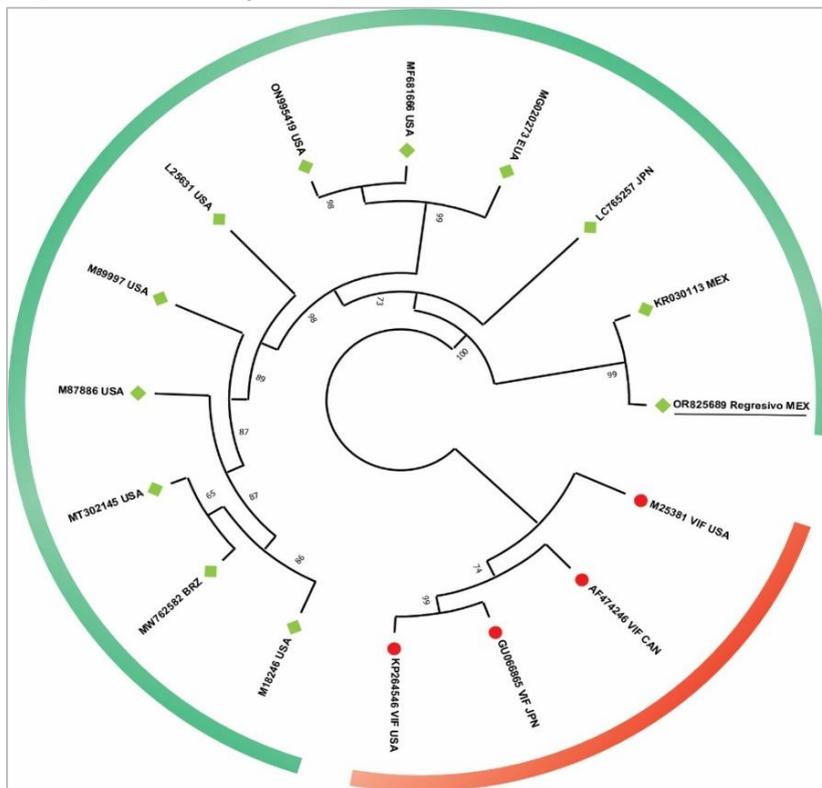
Se muestran las bandas de los amplicones a partir de la región del gen *env* (199pb) y su gen constitutivo HPRT (199pb).

Se obtuvieron 2 secuencias: BankIt 2765714 Regresivo OR825689 y BankIt 2767417 Progresivo OR854802 que mostraron rangos de identidad del 86.7-100 % con secuencias reportadas en el

GenBank, mostrando el mayor porcentaje de identidad con la secuencia proveniente de un gato con tipo de infección progresiva.

La topología del árbol mostro dos ramas bien definidas, una de ellas correspondiente a secuencias de nucleótidos del virus de inmunodeficiencia felina (VIF) y otra correspondiente a secuencias del feline leukemia virus, en la cual se agrupó la secuencia obtenida en el presente trabajo confirmando la especificidad del producto amplificado en la qPCR, adicionalmente, la secuencia obtenida se agrupó en un clado separado de las demás secuencias junto con la secuencia KR030113 también proveniente de México (Figura 3), dicha agrupación no pertenece a un genotipo reportado previamente en otros trabajos .

Figura 2. Árbol filogenético del virus de Leucemia Felina (FeLV).



Se muestran 2 clados bien definidos: secuencias de nucleótidos del FeLV (◆) y secuencias de nucleótidos del VIF (●). La secuencia OR825689 corresponde a un gato con tipo de infección Regresiva. El análisis filogenético de las secuencias nucleotidicas obtenidas a partir de la población de gatos de estudio, no identifico una asociación a los genotipos virales reportados en otros trabajos (Duda NC, 2019; Kornya M, 2023; Powers JA,2018; Hofmann-Lehmann R, 2008; Tandon R, Cattori V, 2005;

Westman ME, 2017; Levy JK, 2017; Torres AN, 2008; Cattori V, 2008). Este hallazgo constituye un grupo único y particular en este estudio. Se demostró que en los gatos infectados existió la expresión de antígenos asociados a la glicoproteína de envoltura, ya que se detectaron anticuerpos contra estos antígenos en la mayor parte de la población de estudio. En perspectiva, se requieren estudios que involucren el estudio del virus de leucemia felina como modelo para generar información básica de la oncogénesis retroviral.

CONCLUSIONES

La carga proviral relativa puede ser un indicador del tipo de infección por el FeLV en gatos domésticos. Las pruebas moleculares, en conjunto con las pruebas que detectan antígeno, así como las pruebas rápidas empleadas en el punto de atención permiten conocer la cinética de la infección y el pronóstico de los gatos infectados. Son necesarios estudios que permitan la caracterización de los diferentes tipos de infección por el FeLV que consideren un mayor tamaño de muestra, empleando diferentes pruebas comerciales disponibles en el país, técnicas moleculares como PCR punto final, qPCR, etc., que permitan establecer herramientas diagnósticas más adecuadas en las diferentes etapas de la infección causada por este retrovirus, adicionalmente este elemento permitirá distinguir si existe una diferencia significativa entre los diferentes tipos de infección. Es de importancia mencionar que la PCR cuantitativa evaluada en el presente estudio resulta una alternativa válida para un diagnóstico que permita establecer el tipo de respuesta presente en los diferentes tipos de infección por FeLV en gatos, considerando muestras de sangre completa, obtenidas a partir de sangre periférica. El genotipo circulante encontrado en esta población de estudio no se ha identificado previamente en trabajos publicados, adicionalmente tampoco se asoció a las secuencias previamente identificadas por algunos autores en México.

Disponibilidad de datos

Los datos extensos presentados en este estudio están disponibles por solicitud hacia el autor correspondiente. Los números de acceso de las secuencias obtenidas se mencionaron en los apartados previos correspondientes.



Agradecimientos

Todas las muestras fueron obtenidas a partir de clínicas y hospitales privados y de enseñanza, Hospital de Pequeñas Especies, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán-UNAM, así mismo con la contribución del banco de muestras del Laboratorio de Virología, Genética y Biología Molecular.

Declaración de financiamiento

Este estudio fue realizado con el apoyo otorgado por el programa FESC-PIAPIME con clave 2.11.20.20., así como también por el programa FESC-PIAPI 2008. L.K Ortiz Fragoso fue apoyada con una beca CONACYT en el programa de Maestría en Medicina Veterinaria y Zootecnia, del Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias de la Producción y Salud Animal, UNAM, Fes Cuautitlán, durante el periodo 2021-2022.

Conflicto de intereses

Ninguno de los autores declara conflicto de interés ante esta publicación.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Acevedo-Jiménez GE, Sarmiento-Silva RE, Alonso-Morales RA, Córdova-Ponce R, Ramírez-Álvarez H. Detection and genetic characterization of feline retroviruses in domestic cats with different clinical signs and hematological alterations. *Arch Virol* [Internet]. 2023 Jan 19;168(1):2. doi: 10.1007/s00705-022-05627-z
- Bande F, Arshad SS, Hassan L, Zakaria Z, Sopian NA, Rahman NA, et al. Prevalence and risk factors of feline leukaemia virus and feline immunodeficiency virus in peninsular Malaysia. *BMC Vet Res* [Internet]. 2012 Dec 22;8(1):33. doi: 10.1186/1746-6148-8-33
- Beall MJ, Buch J, Clark G, Estrada M, Rakitin A, Hamman NT, et al. Feline Leukemia Virus p27 Antigen Concentration and Proviral DNA Load Are Associated with Survival in Naturally Infected Cats. *Viruses* [Internet]. 2021 Feb 15;13(2):302. doi: 10.3390/v13020302
- Biezus G, Grima de Cristo T, da Silva Casa M, Lovatel M, Vavassori M, Brüggemann de Souza Teixeira M, et al. Progressive and regressive infection with feline leukemia virus (FeLV) in cats in southern Brazil: Prevalence, risk factors associated, clinical and hematologic alterations. doi: 10.1016/j.prevetmed.2023.105945



- Canto-Valdés M, Bolio González M, Acevedo-Jiménez G, Ramírez Álvarez H. What role do endogenous retroviruses play in domestic cats infected with feline leukaemia virus? *N Z Vet J* [Internet]. 2023 Jan 2;71(1):1–7. doi: 10.1080/00480169.2022.2131648
- Canto MC, Bolio ME, Ramírez H, Acevedo GE, Conde L, Rosado A. Detecting regressive feline leukemia infections and feline immunodeficiency coinfections in cats with clinical signs and hematological alterations related to retroviral infection. *Veterinaria México OA*. 2022;23;9. doi: 10.22201/fmvz.24486760e.2022.998
- Cattori V, Hofmann-Lehmann R. Absolute Quantitation of Feline Leukemia Virus Proviral DNA and Viral RNA Loads by TaqMan® Real-time PCR and RT-PCR. In: *Methods in molecular biology* (Clifton, NJ) [Internet]. 2008. p. 73–87. doi: 10.1007/978-1-60327-040-3_6
- Chiu ES, Kraberger S, Cunningham M, Cusack L, Roelke M, VandeWoude S. Multiple introductions of domestic cat feline leukemia virus in endangered Florida panthers. *Emerging Infectious Diseases*. 2019;25(1):92–101. doi: [10.3201/eid2501.181347](https://doi.org/10.3201/eid2501.181347)
- Cristo TG, Biezus G, Noronha LF, Pereira LHHS, Withoef JA, Furlan LV, et al. Feline Lymphoma and a High Correlation with Feline Leukaemia Virus Infection in Brazil. *J Comp Pathol* [Internet]. 2019 Jan;166:20–8. doi: 10.1016/j.jcpa.2018.10.171
- Coffin J, Blomberg J, Fan H, Gifford R, Hatzioannou T, Lindemann D, et al. ICTV Virus Taxonomy Profile: Retroviridae 2021. *J Gen Virol* [Internet]. 2021 Dec 23;102(12):1–2. doi: 10.1099/jgv.0.001712
- Duda NCB, Ortiz LC, Valle SF, da Costa FVA, Varela APM, Nunes NJS, et al. 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* [Internet]. 2020 Aug;71(December 2019):101491. doi: 10.1016/j.cimid.2020.101491
- Fujino Y, Satoh H, Ohno K, Tsujimoto H. Molecular cytogenetic analysis of feline leukemia virus insertions in cat lymphoid tumor cells. *J Virol Methods* [Internet]. 2010 Feb;163(2):344–52. doi: 10.1016/j.jviromet.2009.10.021



- Giselbrecht J, Bergmann M, Hofmann-Lehmann R, Hartmann K. Infektion mit dem feline Leukämievirus – der Weg zur Diagnose. *Tierärztliche Prax Ausgabe K Kleintiere / Heimtiere* [Internet]. 2022 Jun 5;50(03):198–212. • doi:10.1055/a-1845-0750
- Hall TA. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symp Ser*, 41:95-8. doi: 10.1093/bioinformatics/13.3.243
- Hartmann K. Clinical Aspects of Feline Retroviruses: A Review. *Viruses* [Internet]. 2012 Oct 31;4(11):2684–710. doi: 10.3390/v4112684
- Hofmann-Lehmann R, Cattori V, Tandon R, Boretti FS, Meli ML, Riond B, et al. How molecular methods change our views of FeLV infection and vaccination. *Vet Immunol Immunopathol* [Internet]. 2008 May;123(1–2):119–23. doi: 10.1016/j.vetimm.2008.01.017
- Helfer-Hungerbuehler AK, Widmer S, Kessler Y, Riond B, Boretti FS, Grest P, et al. Long-term follow up of feline leukemia virus infection and characterization of viral RNA loads using molecular methods in tissues of cats with different infection outcomes. *Virus Res* [Internet]. 2015 Feb;197:137–50. doi: 10.1016/j.virusres.2014.12.025
- Hofmann-Lehmann R, Huder JB, Gruber S, Boretti F, Sigrist B, Lutz H. Feline leukaemia provirus load during the course of experimental infection and in naturally infected cats. *J Gen Virol* [Internet]. 2001 Jul 1;82(7):1589–96. doi: 10.1099/0022-1317-82-7-1589
- Kornya M, Bienzle D, Beeler-Marfisi J. Discordant FeLV p27 immunoassay and PCR test results in 21 cats with hematologic disorders. *J Feline Med Surg* [Internet]. 2023 Jul 13;25(7). doi: 10.1177/1098612X231183297
- Koshy R, Gallo RC, Wong-Staal F. Characterization of the endogenous feline leukemia virus-related DNA sequences in cats and attempts to identify exogenous viral sequences in tissues of virus-negative leukemic animals. *Virology*. 1980;103(2):434–45. doi: 10.1016/0042-6822(80)90202-0
- Levy JK, Crawford PC, Tucker SJ. Performance of 4 Point-of-Care Screening Tests for Feline Leukemia Virus and Feline Immunodeficiency Virus. *J Vet Intern Med* [Internet]. 2017 Mar 3;31(2):521–6. doi: 10.1111/jvim.14648



- Lutz H, Addie D, Belák S, Boucraut-Baralon C, Egberink H, Frymus T, et al. Feline Leukaemia: ABCD Guidelines on Prevention and Management. *J Feline Med Surg* [Internet]. 2009 Jul 1;11(7):565–74. doi: 10.1016/j.jfms.2009.05.005
- MacLachlan NJ, Dubovi EJ, editors. Retroviridae. In: Fenner's Veterinary Virology [Internet]. Elsevier; 2017. p. 269–97. Available from:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128009468000143>
- Nesina S, Katrin Helfer-Hungerbuehler A, Riond B, Boretti FS, Willi B, Meli ML, et al. Retroviral DNA—the silent winner: blood transfusion containing latent feline leukemia provirus causes infection and disease in naïve recipient cats. *Retrovirology*. 2015;21;12(1):105. doi: 10.1186/s12977-015-0231-z
- Ortega C, Valencia AC, Duque-Valencia J, Ruiz-Saenz J. Prevalence and Genomic Diversity of Feline Leukemia Virus in Privately Owned and Shelter Cats in Aburrá Valley, Colombia. *Viruses* [Internet]. 2020 Apr 20;12(4):464. doi: 10.3390/v12040464
- Ortiz JFA. Three clinical cases of Feline leukemia associated with arregenerative anemia, breast carcinoma, or peritonitis. *Rev Colomb Ciencias Pecu*. 2011;24(1):55–62.
- Pfaffl MW. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Res*. 2001 May 1;29(9):e45. doi: 10.1093/nar/29.9.e45.
- Parr YA, Beall MJ, Levy JK, McDonald M, Hamman NT, Willett BJ, et al. Measuring the Humoral Immune Response in Cats Exposed to Feline Leukaemia Virus. *Viruses* [Internet]. 2021 Mar 7;13(3):428. doi: 10.3390/v13030428
- Parry BW, Holloway SA, Studdert MJ. Diagnosis of Feline Leukemia Virus and Feline Immunodeficiency Virus Infections. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* [Internet]. 1989 Jul;19(4):719–27. doi: 10.1016/s0195-5616(89)50080-9
- Powers JA, Chiu ES, Kraberger SJ, Roelke-Parker M, Lowery I, Erbeck K, et al. Feline Leukemia Virus (FeLV) Disease Outcomes in a Domestic Cat Breeding Colony: Relationship to Endogenous FeLV and Other Chronic Viral Infections. Simon V, editor. *J Virol* [Internet]. 2018 Sep 15;92(18) doi: 10.1128/JVI.00649-18



- Ramírez H, Autran M, García MM, Carmona MÁ, Rodríguez C, Martínez HA. Genotyping of feline leukemia virus in Mexican housecats. *Arch Virol* [Internet]. 2016 Apr 8;161(4):1039–45. doi: 10.1007/s00705-015-2740-4
- Raymaekers M, Smets R, Maes B, Cartuyvels R. Checklist for optimization and validation of real-time PCR assays. *J Clin Lab Anal.* 2009;23(3):145-51. doi: 10.1002/jcla.20307.
- Roca AL, Pecon-Slattery J, O'Brien SJ. Genomically Intact Endogenous Feline Leukemia Viruses of Recent Origin. *J Virol* [Internet]. 2004 Apr 15;78(8):4370–5. doi: 10.1128/jvi.78.8.4370-4375.2004
- Ryu W-S. Retroviruses. In: *Molecular Virology of Human Pathogenic Viruses* [Internet]. Elsevier; 2017. p. 227–46. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128008386000175>
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Mol Biol Evol.* 2013 Dec;30(12):2725-9. DOI: doi: 10.1093/molbev/mst197.
- Tandon R, Cattori V, Gomes-Keller MA, Meli ML, Golder MC, Lutz H, et al. Quantitation of feline leukaemia virus viral and proviral loads by TaqMan® real-time polymerase chain reaction. *J Virol Methods* [Internet]. 2005 Dec;130(1–2):124–32. doi: 10.1016/j.jviromet.2005.06.017
- Thengchaisri N, Steiner JM, Suchodolski JS, Sattasathuchana P. Association of gingivitis with dental calculus thickness or dental calculus coverage and subgingival bacteria in feline leukemia virus- and feline immunodeficiency virus-negative cats. *Can J Vet Res* [Internet]. 2017 Jan;81(1):46–52. PMID: 28154463; PMCID: PMC5220597.
- Torres AN, O'Halloran KP, Larson LJ, Schultz RD, Hoover EA. Development and application of a quantitative real-time PCR assay to detect feline leukemia virus RNA. *Vet Immunol Immunopathol* [Internet]. 2008 May;123(1–2):81–9. doi: 10.1016/j.vetimm.2008.01.013
- Untergrasser, A., Cutcutache, I., Koressaar, Ye, J., Faircloth, B. C., Remm, M. & Rozen, S. G. (2012). Primer3 – new capabilities and interfaces. *Nucleic Acids Res.* 40(15):e115. doi: 10.1093/nar/gks596



Westman ME, Malik R, Hall E, Sheehy PA, Norris JM. Comparison of three feline leukaemia virus (FeLV) point-of-care antigen test kits using blood and saliva. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* [Internet]. 2017 Feb; 50:88–96. doi: 10.1016/j.cimid.2016.11.014

