

DIAGNÓSTICO DE LEUCEMIA FELINA: RESULTADOS DISCORDANTES ELISA-PCR

Vanessa Carballés Pérez
DVM, Certificada en medicina felina por la ESVPS
Diplomada en form.contínua en oftalmología por la UCM
Gattos Centro Clínico Felino
ww.gattos.net

(Charla impartida en el congreso de grupos de trabajo de AVEPA en Zaragoza en Marzo del 2007)

Introducción:

Mediante 5 casos clínicos se intentarán explicar las diferentes técnicas existentes a nuestro alcance para diagnosticar a gatos infectados por el virus de la Leucemia felina (FeLV):

Qué tipo de errores es fácil cometer si no tenemos en cuenta el entorno del animal (animales con los que convive y su procedencia), periodo de incubación de la enfermedad, resultados falsos negativos y positivos, y qué tipo de pautas habría que realizar para llegar a un diagnóstico certero en los gatos infectados por este virus.

La principal ruta de infección del virus es el contacto prolongado con la saliva o secreciones nasales de los gatos infectados, por lo tanto, el acicalamiento en gatos que se llevan bien, o el uso de bebederos y comederos comunes facilita la eficiencia de la infección.

- Aproximadamente el **33%** de los gatos son **VIRÉMICOS TRANSITORIOS**, desarrollan anticuerpos neutralizantes y erradican la infección dentro de las 4 a 6 semanas post-infección.

Estos gatos se hacen negativos a los test en sangre en relativamente poco tiempo, pero se ha descubierto que pueden detectarse restos de genoma vírico en médula ósea ó tejidos linfoides durante meses, sin que esto implique padecimiento de enfermedad.

- En otro **33%** de gatos infectados la respuesta inmune no es adecuada, con lo que el virus se disemina a través de neutrófilos y plaquetas por todo el cuerpo convirtiéndose en **VIREMICO PERSISTENTE**. Estos animales padecen infección continua de células epiteliales y glandulares (saliva, lágrima, vejiga...) y eliminan gran cantidad de virus. Estos gatos padecerán alguna de las enfermedades asociadas con la infección por FeLV en los siguientes 3 años. Además transmitirán el virus por sus secreciones durante todo ese periodo de tiempo.

- En el **33%** de gatos restantes, tras padecer una viremia de 1-5 semanas, el provirus se inserta en el genoma celular y pasan a ser **PORTADORES LATENTES (avirémicos)**. El virus puede encontrarse en la médula ósea, bazo, ganglios linfáticos e intestino delgado, pero **no en la sangre**. Se considera que estos animales tienen una respuesta inmune parcial, la cual controla la producción de virus pero no es capaz de crear defensas suficientes para entrar en el proceso de eliminación del FeLV de todas las células del organismo. Estos gatos no suelen padecer la enfermedad y se les considera no transmisores, a no ser que se reactive la infección mediante la administración de Corticosteroides, drogas

inmunosupresoras, hacinamiento, estrés, gestación en hembras portadoras latentes etc. ^{2,3}

En la tabla 1 se representan las diferentes técnicas diagnósticas existentes a nuestro alcance, y los distintos resultados que obtendremos según el momento en el que hagamos el análisis: ³

Tabla 1

MOMENTO POST-INFECCIÓN	IFA en:		ELISA en:	PCR en :	
	Sangre	Médula	Sangre	Sangre	Médula
E 1: 2-4 días	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
E 2: 1-14 días	Neg	Neg	Pos	Pos	Neg
E 3: 3-14 días	Neg	Neg	Pos	Pos	Neg
E 4: Sem 2-6	Neg	Neg	Pos	Pos	Neg
E 5: Sem 4-6	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
E 6: Sem 4-6	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos

IFA: prueba de inmunofluorescencia; ELISA: análisis enzimoinmunoabsorbente;
PCR: reacción en cadena de la polimerasa

Los resultados superpuestos de IFA/PCR y ELISA dan un caso curioso, los llamados **GATOS DISCORDANTES**. Se llaman así a aquellos que dan ELISA **positivo** pero IFA/PCR **negativo**, tras al menos 6 semanas post-infección. Se han dado varias explicaciones para este fenómeno, pero la más plausible es que el ELISA en sangre detecte partículas virales incompletas que provienen de una infección en alguna zona del organismo distinta a la médula ósea. No se sabe aún en qué órganos o tejidos puede quedarse acantonado el virus (¿mucosa oral, glándulas salivares?), pero **no** se consideran **infectantes** para otros gatos. ² En la Tabla 2 se describen los diferentes casos que podemos tener tras la infección del FeLV comentados anteriormente.

La Asociación Americana de Clínicos Felinos (AAFP) y la Academia de Medicina Felina (AFM) han elaborado conjuntamente una guía para el diagnóstico de FeLV en gatos. ¹

Como Protocolo práctico en la clínica diaria, estos deberían ser los pasos a seguir:

- 1) Realizar un test de ELISA en sangre, 15 días después de la llegada del gato a la nueva casa, intentando que permanezca aislado si va a convivir con otros gatos.
- 2) Realizar un segundo ELISA en sangre, al menos 2 meses después del primero, por si el gato estaba incubando la enfermedad.
- 3) En el caso de que el segundo ELISA haya dado positivo, realizar a los 2 o 3 meses una prueba de Inmunofluorescencia en sangre o PCR/IFA en médula, para comprobar si el virus ha llegado a la médula y conocer el estado real del gato. Si el virus aún no ha llegado a la médula, volver a repetir las técnicas descritas cada 3 meses, ya que el destino final del FeLV siempre es la médula, salvo las excepciones comentadas.
- 4) En el caso de resultados dudosos, o si existe la sospecha de que el gato puede estar infectado por FeLV y los test de ELISA han sido negativos, realizar PCR en sangre para confirmar que no sea un FALSO NEGATIVO.

Actualmente disponemos de varias pruebas de ELISA y de inmunocromatografía (ICGA) como “**pruebas rápidas para hacer en la clínica**”.

Tanto la IFA como el ELISA/ICGA detectan la **proteína p27 FeLV del núcleo**, que se produce en abundancia en la mayoría de los gatos infectados, pero la diferencia entre los 2 tipos de pruebas radica en que el ELISA/ICGA se detecta la **proteína soluble libre en el plasma o suero**, mientras que en la IFA se detecta el **antígeno p27** en el interior del citoplasma de **neutrófilos y plaquetas** a través de un frotis sanguíneo.

Por lo tanto, la IFA **no** es **positiva** hasta que se infecta la **médula ósea**, e indica que el gato es virémico y contagioso (aproximadamente en un 90% de los gatos IFA positivos son virémicos de por vida).

Los resultados del IFA son precisos en el 95% de los casos (hay que confiar mucho en el laboratorio al que se envía la muestra), pero pueden existir:

- a) resultados **falsos negativos**: en el caso de que exista trombocitopenia o leucopenia, ya que impiden la evaluación de un número adecuado de células.
- b) resultados **falsos positivos**: si los frotis sanguíneos remitidos son demasiado gruesos.

La **PCR** es una prueba muy sensible, ya que detecta secuencias de ácido nucleico víricos.

Es importante que se realice en un laboratorio de referencia experimentado, ya que el mal manejo de las muestras puede destruir el ácido nucléico o pueden ocurrir contaminaciones cruzadas, por lo que pueden darse falsos negativos o falsos positivos. Es una prueba altamente específica de cepa.

La PCR **sólo** tiene valor diagnóstico **si dá positivo**, ya que si da **negativo** no significa que el gato no esté infectado, sólo que tal vez, no se ha detectado.

La PCR está indicada en caso de sospecha de **infección latente** en gatos con linfomas o síndromes de supresión de la médula ósea, ya que es capaz de detectar mínimas cantidades de antígeno viral.

Como en las infecciones latentes no hay virus replicándose, las pruebas que detectan el antígeno viral dan negativo, por lo tanto, la PCR sería útil para diagnosticar los falsos negativos a ELISA e IFA.

La PCR también puede ayudar a determinar el estado certero de gatos con resultados discordantes en otras técnicas diagnósticas. ^{1,5}

Tabla 2
PROTOCOLO DIAGNÓSTICO: ²

Test ELISA en sangre (15 días post-infección)	ELISA/PCR en sangre 2 meses después	IFA en sangre/médula PCR en médula	Diagnóstico
NEG	NEG***	NEG	LIBRE de FeLV
NEG	NEG***	POS	PORTADOR LATENTE*
POS	NEG***	NEG	VIRÉMICO TRANSITORIO
POS	NEG***	POS	PORTADOR LATENTE*
POS	POS	NEG	DISCORDANTE**(Repetir mínimo 1 mes después PCR en médula o IFA en sangre o médula)
POS	POS	POS	VIRÉMICO PERSISTENTE

* **PORTADOR LATENTE:** la inmunosupresión o el estrés puede hacer que se transforme en virémico persistente

** **DISCORDANTE:** si persiste la viremia más de 3 semanas, lo más frecuente es que el FeLV llegue finalmente a la médula y se transforme en virémico persistente

*** Si ELISA en sangre dá Negativo, realizar PCR en sangre para confirmar el resultado

CASOS CLÍNICOS DE LEUCEMIA FELINA:

1) CASO BUFY:

Gato común europeo de 2 meses adoptado en una asociación felina junto con otra gata de la misma edad.

- ELISA para FeLV-FIV (Leucemia e Inmunodeficiencia) en sangre antes de entrar en casa, los dos dieron negativo.
- ELISA en sangre a los 2 meses: Roma dió negativo, y Bufy dió un **positivo** muy **débil** para el FeLV.
- Se les repitió el test ELISA en sangre a ambos gatos un mes después, y ambos dieron negativo.
- Para confirmar que Bufy fuera VIRÉMICO TRANSITORIO, se realizó PCR en sangre a ambos gatos: Roma dió negativo y Bufy **positivo**.
- A los 2 meses, se le extrae médula ósea a Bufy y se realiza PCR en médula, siendo ésta **positiva** a FeLV.



Por lo tanto, consideramos que Bufy es un **PORTADOR LATENTE** al que habrá que hacer controles como mínimo cada 3 meses para comprobar que no exista una reactivación de la enfermedad.

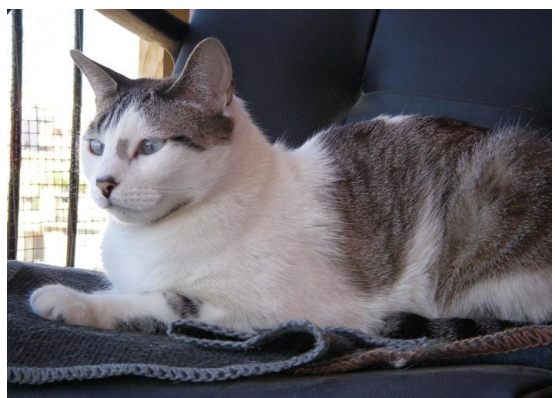
Los dueños deciden no separar a los 2 gatos, y repetirle PCR en sangre a Roma al menos una vez al año.

Hoy en día, ambos gatos están en perfecto estado con un tratamiento preventivo con Interferón oral.

2) CASO PIXEL:

Gato común europeo castrado de 1 año adoptado en un centro de acogida.

- Primer test ELISA realizado antes de entrar en casa, **positivo leve** a FeLV.
- Segundo test ELISA a los 2 meses, **positivo** a FeLV.
- Al año se le realiza Inmunofluorescencia en médula, siendo **negativa** y un ELISA en sangre que resulta **positivo**, por lo tanto, se le considera de momento **DISCORDANTE**.
- A los 2 meses, se le realiza un PCR de FeLV en médula en otro laboratorio, siendo éste **positivo**.



Los razonamientos que explican que la IFA en médula realizada en el primer laboratorio fuera negativa son: un falso negativo por error laboratorial o un acantonamiento del virus en algún órgano diferente a la médula (**infección secuestrada**), ya que cuando la IFA es **positiva**, significa que el virus yá ha llegado a la **médula**.

La razón de que PCR en médula en ese momento fuera **positiva**, es que hubo una reactivación del virus por alguna causa y que el FeLV pasó finalmente a la médula, y por lo tanto, Píxel pasa a ser un **VIRÉMICO PERSISTENTE**.

- 3 meses después se extrae médula y se realiza tanto PCR como IFA en los mismos laboratorios en los que se realizaron las pruebas respectivas, y ambos obtienen un resultado **positivo**.

Pixel actualmente sigue en tratamiento preventivo con Interferón oral diario, y de momento no ha tenido ningún síndrome relacionado con el FeLV.

3) CASO IWO:

Gato Maine Coon castrado de 5 años comprado a un particular. Gingivitis y faucitis generalizada desde hace un par de años, pelo en mal estado, delgado, y en los últimos meses le duele mucho cuando come y presenta anorexia.

Gato que vive en Madrid con la dueña, pero que en las vacaciones convive con gatos de los cuales se desconoce su estado.

- El primer test ELISA en sangre para FeLV-FIV se le hizo al comprarlo y fué negativo.

- Segundo test ELISA en sangre un año después: negativo.

- PCR de Herpesvirus y Calicivirus (en mucosa gingival) y de Leucemia e Inmunodeficiencia (en sangre): **positivo** tanto al FeLV como a Calicivirus.

- Se comienza una terapia con interferón oral, antiinflamatorios, antibióticos y analgésicos, el gato comienza a comer con normalidad, gana peso y tiene el pelo en mejor estado.

- Se realiza un ELISA en sangre de FeLV-FIV a los 4 meses, siendo éste negativo.

- A los 2 meses, se repite ELISA y PCR en sangre, siendo ambas pruebas negativas y PCR en médula, que resulta negativo.



¿Ante qué caso nos encontramos?, ¿se trata de un PORTADOR LATENTE, que ha sido capaz de eliminar la enfermedad? ¿o se trata de un falso positivo por error laboratorial?

De todas formas, es recomendable realizar un PCR en sangre, médula o IFA de FeLV para asegurarse de que el virus no se ha quedado acantonado en ningún órgano.

4) CASO YODI:

Gato persa de 2 años recogido de la calle.



- Primer ELISA en sangre para FeLV **negativo** a los pocos días de cogerlo. La dueña no sabe si se testó también Inmunodeficiencia.

- Acude a una clínica veterinaria cercana y le realizan una analítica, en la que observan anemia regenerativa (hematocrito de 17%) y azotemia.

- Permanece hospitalizado durante 24 horas. Presenta poliuria-polidipsia, y notan unos riñones irregulares a la palpación.

- Cuando llega a nuestra consulta y se le realiza una analítica, la anemia es aún más severa y la azotemia también. Se le realiza una ecografía abdominal, en la que se observa una marcada renomegalia, riñones con contorno muy irregular y con múltiples lesiones nodulares focales hipocóicas de gran tamaño que deforman la estructura renal. También se observa líquido libre abdominal.

- Se realiza una biopsia renal ecoguiada, cuyo diagnóstico es el de **Linfosarcoma renal**. Ese mismo día se le realiza PCR en médula para el FeLV, siendo éste negativo.

- Sólo ha pasado un mes desde el primer ELISA para FeLV, y es probable que el virus aún no haya llegado a la médula, por lo tanto aún no se determina el estado de Yodi para la enfermedad, pero se decide iniciar un protocolo de quimioterapia intravenosa, ya que el pronóstico del gato no es muy favorable.

- Antes de cada sesión de quimioterapia se le realiza un hemograma y bioquímica, y se vá observando una lenta mejoría. Al finalizar la quimioterapia, los riñones tienen una arquitectura prácticamente normal, desaparece el líquido libre abdominal y el estado del gato es cada vez mejor.

- Un año después desde que entró en casa, a uno de los gatos con los que convive se le diagnostica Leucemia mediante PCR en sangre.

Yodi convive con 4 gatos más, y su dueña suele recoger a gatos abandonados para buscarles familias, pero los gatos recogidos no contactan con sus gatos. A todos los gatos que entran en su casa se les hace un ELISA previo de Leucemia, y todos dieron negativo. La dueña no recuerda si a todos sus gatos se les realizó un segundo ELISA, ni si el primer test detectaba también Inmunodeficiencia.

- Se le realiza un ELISA de FeLV-FIV en sangre a Yodi, y resulta **positivo** tanto a **Leucemia** como a **Inmunodeficiencia**.

- La dueña realiza ELISA de FeLV-FIV a todos sus gatos, y los únicos que resultan **positivos** son los ya diagnosticados. La dueña no sabe si el primer test que se le hizo a Yodi detectaba sólo Leucemia o detectaba Inmunodeficiencia también.

Lo más probable es que el gato ya tuviera Inmunodeficiencia, fuera **PORTADOR LATENTE** del FeLV, y que a causa de la quimioterapia o por la propia Inmunodeficiencia, se transformara en **VIRÉMICO PERSISTENTE**.

El error en el diagnóstico de este caso, fue no realizar un segundo test ELISA de FeLV-FIV 2 o 3 meses después del primero, para saber el estado real del gato, ya

que presentaba un síndrome neoplásico relacionado con el FeLV y posteriormente haber realizado una PCR o IFA de médula.

Es de vital importancia saber el estado real de todos los gatos que conviven en una casa frente al FeLV y FIV, y no introducir gatos nuevos en casa sin haber realizado al menos 2 ELISA/PCR en sangre separados 2-3 meses.

Yodi vivió un año y medio desde que acudió a consulta, y la dueña decidió eutanasiarlo porque no tenía calidad de vida.

5) CASO FELIX:

Gato común europeo castrado de 5 años recogido de la calle al que se le hizo un ELISA para FeLV-FIV el mismo día que le cogieron, siendo éste negativo para ambas enfermedades.

-Acude a consulta por presentar decaimiento, hipertermia y las mucosas pálidas. Se le realiza una analítica sanguínea, y presenta una anemia hemolítica. Se le realiza un ELISA para FeLV-FIV en sangre, siendo éste negativo, y una PCR en médula, que también resulta negativa. Ante la sospecha de una Haemobartonelosis, se le trata con Prednisolona y Doxiciclina, recuperando el hematocrito y su estado general en 1 semana.



-Presenta múltiples episodios con las mismas características, que responden al mismo tratamiento.

-Un año después se decide realizar PCR de FeLV-FIV y Haemobartonella en sangre, y resulta **positivo** para Leucemia. Posteriormente, se realiza PCR de Leucemia en médula, resultando **positivo**.

Por lo tanto, ¿es Felix un **PORTADOR LATENTE**, que al tratarle con corticoides (a pesar de mejorar su sintomatología) hacemos que se reactive el virus, y se transforma en **VIRÉMICO PERSISTENTE**?

Felix vive feliz hoy en día, y cuando tiene episodios de anemia, únicamente se le trata con Doxiciclina, además de darle Interferón oral preventivamente.

BIBLIOGRAFÍA:

1. *Manual del Interferón Veterinario*. Páginas 36-47. Virbac.
2. Alberto Barneto Carmona. Revista Pequeños animales. Año IX- N°48(Enero/Febrero)-2004. *Infección por FeLV en el gato*.
3. Richard W. Nelson, C.Guillermo Couto. *Medicina Interna de animales pequeños*. 3ª edición. Editorial Inter-médica. Vol 2. Páginas 1365-1368.
4. Craig E.Greene. *Infectious diseases of the dog and cat*. 3rd edition. Ed.Saunders. 2006.
5. Stephen J.Ettinger, Edward C.Feldman. *Tratado de Medicina Interna Veterinaria*. 6ª edición. Vol 1. Pág 653-660.