

M  
74  
2e.



# Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Detección del virus de la Leucemia Felina  
con la prueba de ELISA.

## T E S I S

Que para obtener el título de  
Médico Veterinario Zootecnista  
p r e s e n t a

GABRIEL FLORES MARTINEZ

Asesor: M.C.P.C. Rosa María García Escamilla

MEXICO, D. F.

1988



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## CONTENIDO .

	Página
<b>Resumen</b> .....	1
<b>Introducción</b> .....	2
<b>Hipótesis y Objetivos</b> .....	9
<b>Material y Métodos</b> .....	10
<b>Resultados</b> .....	21
<b>Discusión</b> .....	31
<b>Conclusiones</b> .....	33
<b>Literatura Citada</b> .....	34

## RESUMEN .

FLORES MARTINEZ, GABRIEL. Detección del virus de la Leucemia Felina con la prueba de ELISA.

El presente estudio fue realizado con los objetivos de 1.) conocer la seropositividad contra el virus de la Leucemia Felina (VLF) usando la prueba de ELISA (Virachek/Synbiotics) y 2.) analizar los parámetros de sangre periférica y de la médula ósea. El estudio se realizó en 80 gatos del Asilo "Philip E. Kahn" de la ciudad de Cuernavaca, - Morelos; el cuál incluyó a gatos hembras y machos con edades (0.2 -- 5 años). En 80 animales 25% de los casos fueron positivos a la prueba de ELISA. En el 15% se encontraron linfoblastos en el fróntis de sangre periférica. En el 5% de los gatos se efectuó el aspirado de la médula ósea, en esta las características morfológicas de las células hematopoyéticas, corroboraron el diagnóstico de Leucemia Linfoblástica.

En el 25% (20 casos) de los animales que fueron positivos contra el VLF, se efectuó la biometría hemática y en el 55% (11 gatos) de estos se encontraron linfoblastos en sangre periférica, otras alteraciones fueron anemia normocítica normocromica regenerativa 0.2%, leucocitosis 0.2%, linfocitosis 0.2%, linfoagultinación en el 25% y Haemobartonella Felis en el 25%.

## INTRODUCCION .

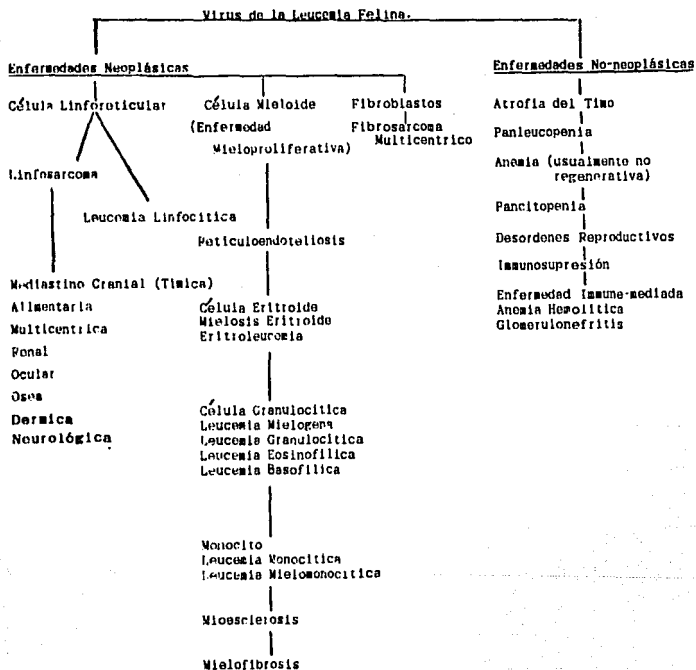
DEFINICION: La Leucemia Viral Felina (LVF) es una enfermedad de tipo neoplásico y no neoplásico que afecta a felinos de todas las edades, de todas las razas y de ambos sexos. El virus causante es de tipo RNA, envuelto oncogénico, tiene una enzima llamada transcriptasa reversa y es clasificado como un Oncovirus dentro de la familia Retroviridae (1,3,5,6,13). La infección por el VLF causa inmunosupresión severa, que persiste hasta que se desarrollan, cánceres o infecciones de origen microbiano o parasitario, ésto puede presentarse de unos días hasta meses o años después de la infección (1,3,5,6,7,8,9,10).-

\* En el cuadro número 1 se muestran las enfermedades neoplásicas y no neoplásicas que pueden ser observados en gatos infectados con el VLF. Las enfermedades más frecuentes causadas por el virus de la Leucemia Felina son: Linfosarcoma y Leucemia mielógena, atrofia del timo y Panleucopenia felina (como enfermedad). La LVF es una enfermedad inmunosupresiva y ésto predispone a trastornos secundarios como: infertilidad, infecciones del tracto respiratorio superior, estomatitis bucal, peritonitis infecciosa felina y micosis.

La Leucemia Viral Felina es altamente contagiosa y se puede transmitir en forma horizontal o vertical. En lugares donde existe una alta población de gatos la morbilidad puede ser muy elevada (30%). Los virus RNA causantes de tumores llevan un tipo específico de antígenos en su envoltura, causante de leucemia de la cuál se conocen tres tipos: 1.) tipo "A" con 50%, 2.) tipo "B" con 49% y 3.) tipo "C" con 1% de incidencia, respectivamente (5,9). Las características entre los

**Cuadro 1** Tomado de Holzworth (7).

**Enfermedades Asociadas al Virus de la Leucemia Felina.**

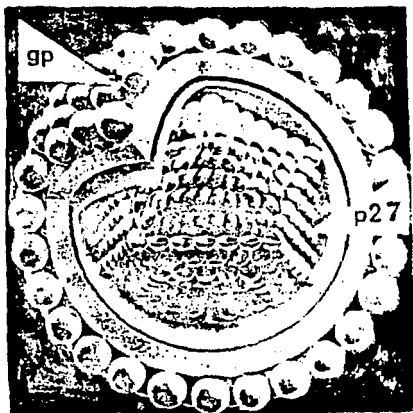


tipos "A", "B" y "C" reflejan pequeñas diferencias en los antígenos de su envoltura. Los gatos infectados por el virus desarrollan resistencia contra el tipo "A", pero persiste susceptible a infección por virus "B" o "C", y cada uno induce diferentes enfermedades (13,14).- Por ejemplo, el tipo "A" produce linfosarcoma del timo y anemia no regenerativa, mientras que el tipo "B" produce enfermedad mieloproliferativa (14). El tipo "A" tiene el rango más limitado de huéspedes para replicarse y la LVF solo se reproduce en cultivos de células de origen humano y canino. El tipo "B" tiene el rango más amplio y se puede replicar en células de canino, bisón, hamster, bovino, mono y humano. El tipo "C" se replica en células de canino, bisón y humano (2,5,6,13). Las características de estos virus están descritas; así se conoce que el tipo "A" tiene en su envoltura dos tipos de proteína denominadas glucoproteína (gp) 70 y gp 15 cuyo peso molecular está expresado en daltons. Algunos gatos pueden producir anticuerpos al antígeno gp 70 de la envoltura del virus de la Leucemia Felina y éste puede neutralizarlo o rechazarlo (6,13). También existen otras proteínas como p 10, p 12, p 15 y p 27 que se encuentran en el centro del virus de la Leucemia Felina. En general el virus de la LVF está constituido por 1.) la membrana interna o corazón, 2.) una membrana externa o envoltura, y 3.) una enzima llamada transcriptasa reversa. Cada una de estas partes tiene glucoproteínas especificadas en la Figura 1 y 2.

El entendimiento de la Leucemia Viral Felina es esencial, para hacer recomendaciones al M.V.Z. y al dueño de los gatos expuestos al virus.

FIGURA 1 .

Tomado de Moening (12).



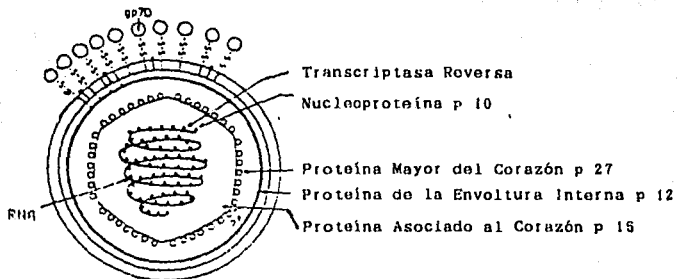
Modelo del virus de la Leucemia Felina, las flechas indican la posición de complejos de glucoproteínas virales (gp) y en el corazón a la proteína (p 27).



**FIGURA 2 .**

Tomado de Hardy (6).

**ESTRUCTURA DEL VIRUS DE LA LEUCEMIA FELINA (VLF).**



La figura muestra la constitución de los antígenos virales, del --  
corazón de la transcriptasa inversa y de la envoltura.

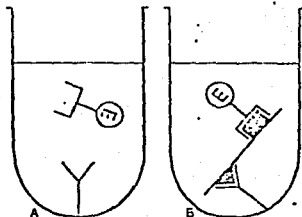
ya que puede presentarse como un problema de Zoonosis en salud pública, sin embargo esto aún se cuestiona (4,5,6,11).

Existen diferentes métodos de laboratorio, para diagnosticar si existe o no existe contacto con el VLF, dentro de ellos destacan:

- I. Inmunofluorescencia indirecta o I.F.A. la cuál demuestra proteína antigénica gp 27, adherida a los leucocitos y a las plaquetas. La prueba de I.F.A. positiva indica viremia y estado de portador. En esta situación el animal está eliminando al virus de la Leucemia Felina y por lo tanto está infectado y es infectante (5,6,9).
- II. La prueba de inmunoensayo (ELISA), es sencilla y rápida, y es la técnica más usada para la detección de anticuerpos contra el VLF. Esto es con base en el uso de anticuerpos monoclonales, dirigidos contra la proteína mayor del centro del virus la gp 27 (5,9). En la Figura 3, se muestra el fundamento de la prueba.
- III. Detección de anticuerpos de la LVF del oncornavirus felino, asociado al FOCMA y a un antígeno de la membrana celular. (5,9).
- IV. Anticuerpos neutralizantes de los virus (V.N.A.) que son dirigidos contra el componente mayor de la envoltura del virus de la Leucemia Viral Felina la gp 70 (3,9,10,12).

FIGURA 3 .

FUNDAMENTO DE LA PRUEBA DE ELISA.



La superficie interna de cada cubeta está recubierta con anticuerpos monoclonales dirigidos contra el antígeno p 27 del virus de la LVF.- Además se añade una solución que contiene anticuerpos monoclonales conjugados a una enzima. Estos anticuerpos están también contra el antígeno p 27, pero reconocen una determinante antigénica diferente a la que reconocen los anticuerpos que están en la pared de la cubeta. Si en la muestra de suero o plasma está presente el antígeno viral, éste se unirá a los anticuerpos de la pared de la cubeta, y por lo tanto quedará fijado a dicha pared. Los anticuerpos unidos a la enzima reaccionarán contra el antígeno, quedando fijos a la pared a través de dicho antígeno. Por lo tanto, la actividad enzimática queda unida a la pared de la cubeta a través de un puente constituido por: anticuerpo - antígeno - anticuerpo - enzima. (Fijado a la pared) Al remover el exceso de líquido y añadir un sustrato cromógeno, esto cambiará de color debido a la acción de la enzima, y esta reacción solo ocurrirá si la muestra contenía el antígeno viral.

### **HIPOTESIS:**

Los gatos infectados por el virus de la Leucemia Felina, tienen anticuerpos positivos contra la proteína gp 27 del VLF. Además de, alteraciones en la biometría hemática y en la médula ósea.

### **OBJETIVOS:**

1. Conocer la prevalencia de seropositividad contra el virus de la LVF, empleando el método de ELISA usando anticuerpos monoclonales contra la proteína gp 27.
2. Analizar los parámetros de sangre periférica y de la médula ósea en gatos que reaccionan positivamente a la prueba de ELISA, para la detección del virus de la LVF.

## MATERIAL Y METODOS .

Se utilizaron 80 gatos tomados al azar, es decir sin importar edad, sexo, o estado clínico, estos gatos se obtuvieron del Asilo de Animales, "Philip F. Kahn" de la ciudad de Cuernavaca, Morelos. Los animales en este asilo comparten comederos, bebederos y están sin restricción de contacto físico. Estos fueron admitidos sin examen físico y carecen de expediente clínico.

El muestreo constó de tres etapas. La primera etapa consistió en la obtención de la muestra sanguínea para la prueba de ELISA. Para ello se puncionó la vena cefálica con jeringa de tuberculina calibre #25-3.5 cm. de largo y se obtuvo 0.1 ml. de sangre completa, cantidad suficiente para esta prueba. (El reactivo utilizado para la prueba de ELISA fue (Virachek/Synbiotics.) En la segunda etapa se incluyó a los gatos positivos a la prueba de ELISA, en esta se les volvió a obtener muestras sanguíneas para realizar biometría hemática, (La técnica empleada para la B.H. fue la descrita por Maxine M. Benjamin) y determinar hematocrito, hemoglobina, cuenta de leucocitos ( $\text{mm}^3$ ) y conteo diferencial (%) para obtener los valores relativos y absolutos ( $\text{mm}^3$ ). El frotis sanguíneo fue teñido con el colorante WRIGHT y la cuenta diferencial se efectuó con el microscopio de campo claro con el objetivo de 100X. Así mismo se anotaron las características morfológicas de los leucocitos y de los eritrocitos, así como los hallazgos concomitantes. La citología sanguínea fue revisada minuciosamente, con el objetivo de identificar al-

teraciones celulares y específicamente las de la línea granulocítica o de células inmaduras. En caso de que se encontrarán linfoblastos o algún otro dato de neoplasia, e independientemente del porcentaje de ellos, al animal se le efectuó el aspirado de la médula ósea. (Etapa Tres). A continuación se describen los métodos empleados para la prueba de ELISA y de la médula ósea por ser estos, los más importantes y poco conocidos en nuestro medio.

## METODO DE ELISA PARA DIAGNOSTICO DE LEUCEMIA VIRAL FELINA.

Descripción del equipo para la prueba de ELISA (Virachok/Synbiotics).

- 1.- Soporte de plástico en "T" con cubetas de poliestireno recubiertos con anticuerpos monoclonales contra el VLF. ....4x12 cubetas
  
- 2.- Botella "A" que contiene conjugado de anticuerpos monoclonales de rabano picante (tapa de color azul). ....1 botella 2.5 ml.

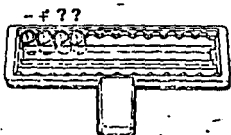
- 3.- Botella "B" que contiene el control positivo al VLF (tapa de color rojo). .....1 botella 1.0 ml.
- 4.- Botella "C" que contiene el control negativo al VLF (tapa de color gris). .....1 botella 1.0 ml.
- 5.- Botella "D" que contiene el cromogeno (tapa de color -- verde). .....1 botella 2.5 ml.
- 6.- Botella "E" que contiene -- substrato-amortiguador --- (tapa de color blanco). .....1 botella 2.5 ml.

**PROCEDIMIENTO PARA LA PRUEBA DE ELISA PARA DETECCION DE ANTICUERPOS CONTRA EL VIRUS DE LA LEUCEMIA VIRAL FELINA.** Tomado de Synblotics (15).

Nota: Antes de usar los reactivos, deberán estar a temperatura de 21 C - 25 C.

Material Biológico: sangre total colectada con EDTA o Heparina --- (suero o plasma).

- 1.- Colocar en el soporte de plástico en "T", el número de cubetas necesarias, siempre incluirá un control negativo y un control positivo, se usará una cubeta, por cada prueba y procurar dejar pegadas todas las cubetas.



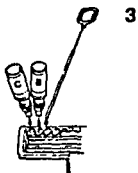
- control negativo.
- + control positivo.
- ? muestras problema

- 2.- Depositar una gota de la botella "A" en cada cubeta. (Para control negativo y positivo y para las muestras problemas).





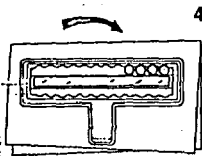
- 3.- Depositar una gota del control negativo (botella "C") en la cubeta número 1: una gota del control positivo (botella "B") en la cubeta número 2 y 0.50 ml. de espécimen (sangre, suero o plasma) a partir de la cubeta 3 o en el número que corresponda según el número de muestra a analizar. Usar una pipeta por cada muestra, luego mezclar con movimiento circular el soporte "T" varias veces (10-15 seg.). Si varias muestras son analizadas al mismo tiempo, usar solo un par de controles (es decir un positivo y un negativo).



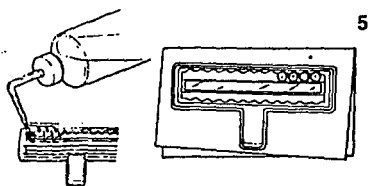
Incubar durante 5 minutos a temperatura de laboratorio (21C - 25C).

- 4.- Lavado y Descartado.

Eliminar el líquido de las cubetas invirtiendo y eliminando sobre una toalla de papel.

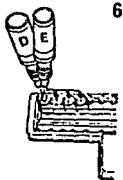


- 5.- Enjuagar llenando las cubetas con solución salina cuando se use sangre completa, o con agua destilada cuando se use suero o plasma. Descargar el líquido de las cubetas después de cada lavado, repetir durante 5 veces descargando y secando sobre una toalla de papel.



6.- Revelado.

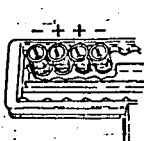
Depositar una gota de cromogeno (botella "D") dentro de cada cubeta, seguido por una gota de sustrato amortiguador (botella "E"). Mezclar gentilmente, con movimiento en forma circular varias veces. Incubar durante 5 minutos, después de esta agitar suavemente durante 5 segundos.



## INTERPRETACION DE RESULTADOS .

- 7.- Para que la prueba sea valida, el líquido de la cubeta del control positivo deberá ser azul, mientras que en la cubeta del control negativo no deberá de presentar cambio de color.

Un cambio de color más intenso en el espécimen, que en el control negativo indica una infección activa de la LVF. Una prueba negativo indica que el gato tiene poca posibilidad de presentar, infección activa de LVF al momento de la prueba.



## RECOMENDACIONES PARA LA PRUEBA DE ELISA (Virachek/Synbiotics).

- Dejar siempre el número requerido de cubetas de plástico pegado uno al otro.
- La sangre completa debe contener EDTA (Sal disódica del ácido etileno-diamino-tetraacético) o Heparina.
- El lavado es el paso más importante, evitar que se mezcle el agua o solución salina de una cubeta a otra, para evitar contaminación.
- Cuando se hace el lavado, se deberá llenar toda la cubeta y vaciar cada vez, descargando entre cada lavado.
- Siempre comparar los resultados con el control negativo y positivo.

## INTERPRETACION DE RESULTADOS, DE LA PRUEBA DE ELISA (Virachek/Synbiotics).

Un resultado positivo de la prueba indica una infección activa por el VLF. Debido a que la infección es pasajera en gatos, (con desarrollo de inmunidad antigénica positiva, etc) el animal deberá ser muestreado cada tres o cuatro semanas.

Una segunda muestra positiva indicará una infección persistente. La persistencia de la infección, se acompaña de un alto riesgo de que el gato puede desarrollar linfosarcoma, anemia no regenerativa o una de las enfermedades asociadas a VLF. En gatos persistentemente infectados es posible que eliminen al virus y sea una fuente potencial de infección.

Una prueba negativa indica que, el animal tiene poca probabilidad de sufrir una infección activa al tiempo de la prueba y el gato puede ser susceptible y deberá ser analizado periódicamente.

Una segunda muestra negativa indicará una inmunidad negativa al VLF. Los animales que se hayan introducido a una familia de gatos negativos a la prueba serológica, deberán ser estudiados al tiempo de la adquisición y nuevamente habiendo sido aislados de los otros gatos a las tres semanas. Un programa de pruebas de eliminación, se ha propuesto como un método de selección de la infección en lugares de --

cria y en áreas con grandes poblaciones de gatos. Los gatos afectados, pueden tener anemia aplásica, afección ocular, Haemobartonelosis Felis, y por lo tanto los parámetros hematológicos (citometría) y la médula ósea pueden estar afectados (4,5,6,11).

## TECNICA PARA EL ASPIRADO DE LA --- MEDULA OSEA.

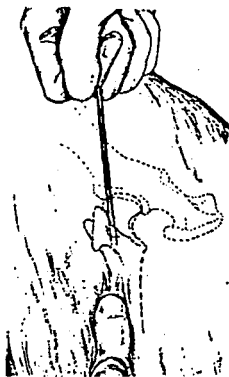
Elegir el sitio para la punción (en este caso fue en fémur).

- 1.) Rasurar el sitio elegido, lavar 3 veces con isodine y rociar -- alcohol.
- 2.) Efectuar sedación o usar anestesia solo en caso necesario.
- 3.) Realizar una incisión de 0.5 cm. de longitud con bisturí esté-- ril.
- 4.) Colocar el estilete en la aguja de Vim Silvermann e introducir-- la en el centro de la incisión manteniendo al estilete en su lu-- gar; efectuar presión firme con movimiento de rotación y una -- vez que se introdujo y se tenga la sensación de estar en la ca-- vidad medular.
- 5.) Retirar el estilete y colocar la jeringa de plástico de 20 ml.- y establecer el vacío para extraer el contenido medular. La ag-- piración produce un dolor agudo que indica la obtención de una-- buena muestra de médula. Ver Figura 4.
- 6.) Retirar la aguja, colocar una gasa y ejercer presión durante -- 5 - 10 minutos.
- 7.) Efectuar frótis con el método del portaobjetos y teñirlos con -- el colorante de WRIGHT.

**FIGURA 4 .**

**TECNICA PARA OBTENER ASPIRADO DE LA MEDULA OSEA.**

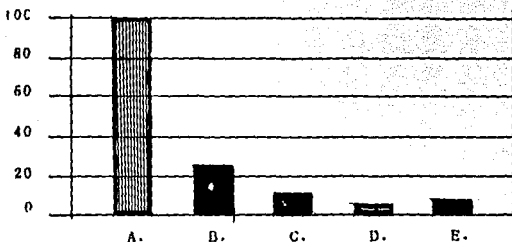
**Restricción de la pierna y posición de la aguja, para la aspiración de la médula ósea o biopsia de la Fosa del Trocater.**



\* Es opcional efectuar frótis directo o bien depositar el material-medular en vidrio de reloj que contenga EDTA al 10% para luego realizar el frótis.

### HISTOGRAMA DE GATOS ESTUDIADOS.

A. Total de gatos muestreados.	80 (100%)
B. Gatos positivos a la prueba de ELISA.	20 (25%)
C. Gatos positivos a la prueba de ELISA con células inmaduras en sangre periférica.	11 (13.75%)
D. Gatos positivos a la prueba de ELISA con linfoblastos en sangre periférica y con citología de médula ósea.	4 (5.0%)
E. Gatos positivos a la prueba de ELISA con células inmaduras en sangre periférica sin estudio de la médula ósea.	7 (8.75%)



- \* 4 animales murieron antes de realizar el aspirado de la médula ósea y en uno de ellos se efectuó la necropsia (interés académico).
- \* En 3 animales no se efectuó la punción de la médula ósea porque el dueño no lo autorizó (fueron adoptados antes del aspirado de la médula ósea).



## INTERPRETACION DE RESULTADOS DEL -- HEMOGRAMA Y DE LA MEDULA OSEA.

Los resultados obtenidos se muestran en el Histograma, como se puede observar se analizaron 80 gatos, 20 fueron positivos a la prueba de -- ELISA, y 11 gatos de los 20 positivos se demostraron células inmaduras en sangre periférica, y unicamente en 4 casos se realizó la citología de la médula ósea. Los resultados del hemograma se encuentran en el Cuadro 2. De estos resultados destacan la presencia de linfoblastos en 11 gatos (55%), acompañados de anemia normocítica normocronica en el 0.2%, leucocitosis leve con linfocitosis en el 0.2%. Como hallazgo morfológico en el frótis sanguíneo se encontró la acumulación de linfocitos, a esto se le denominó linfoagultinación. Se demostró la presencia de linfoblastos grandes, no hendidos, medianos, y pequeños de escaso citoplasma y algunos de ellos presentaban vacuolas.

También se demostró la presencia de Haemobartonellosis Fellis en 25% de los casos. El 0.2% de los gatos tuvo leucopenia leve.

Los resultados de citológicos de la médula ósea se muestran en el Cuadro 3, como se observan el índice M.E. se encontró en los valores de referencia sin embargo en el caso #6 los hallazgos de la serie Eritroíde sugieren Anemia Megaloblastica sin embargo, la H.B. y Ht. eran normales. En este animal se encontraron 58 de linfoblastos cantidad suficiente que nos indica que la médula ósea está afectada por el virus de la Leucemia Felina.

El gato #8 presentó linfoblastos aumentados (137), H.B. y Ht. normales, sin embargo tenía leucopenia leve. El gato #9 muestra datos de respuesta eritroide de tipo megaloblastico (megaloblastos, normoblastos basofílicos, gigantismo celular) sin alteraciones de la biometria hemática. En la médula ósea de este animal se encontraron 7 células peludas. Esta célula se encuentra usualmente en animales con Reticuloendoteliosis y probablemente este animal desarrollaría Eritroleucemia. En el gato #10 destacan linfoblastos (65), así como una célula en el espejo de mano y datos que sugieren depresión eritroide versus muestra diluida, sin embargo el número de linfoblastos es indicador de afección de las células tallo o madre eritroide por el VLF. En este animal el índice M.E. 4.8 que fue el más alto comparado con los otros animales, no obstante la B.H. fue normal.

RESULTADOS DEL HEMOGRAMA EN 20 GATOS.

La Línea Roja y Proteínas Plasmáticas.

La Línea Blanca.

# Gatos	Ht. %	HB g/dl	CMHC %	P-P g/dl	Leucocitos	Neutrofi- los	Bandas	Linfoci- tos	Mono- citos	Eosino- filos
Valores de Referencia					(5,500- 19,500)	(2,500- 12,500)	(0-300)	(1,500- 7,000)	(0-850)	(0-1,500)
	(24.0-45.0)	(8.0-15.0)	(30.0-36.0)	(6.0-8.0)	%	%	%	%	%	%
# 1 *	11.5 <	3.8 <	33.0	7.3	17,760	11,188 63	1,598 > 9	4,440 25		532 3
# 2	39.0	13.2	33.8	8.0	4,400	2,292 68	352 8	396 9	484 11	88 2
# 3	39.0	13.2	33.8	8.2	9,250	8,232 69		1,017 11		
# 4	40.0	13.2	33.0	6.0	16,250	162.5 < 1		15,600 > 96	325 2	162.5 1
# 5 *	41.0	13.2	32.19	5.4 <	2,150	1,354 63	86 4	666 31	47 2	
# 6 *	26.0	8.02	31.53	5.8 <	9,000	4,950 55	360 > 4	2,970 33	270 3	450 5
# 7	36.0	11.4	31.06	6.0	5,200	3,380 65	1,612 > 31	208 4		

\* Valores fuera de los de referencia.

CUADRO 2. CONTINUACION.

RESULTADOS DEL HEMOGRAMA EN 20 GATOS.

# Gatos	La Línea Roja y Proteínas Plasmáticas.				La Línea Blanca.					
	Ht. %	HB g/dl	CMHC %	P.P. g/dl	Leucocitos	Neutrofilos	Bandas	Linfocitos	Mono-citos	Eosinofilos
Valores de Referencia										
	(24.0-45.0)	(8.0-15.0)	(30.0-36.0)	(6.0-8.0)	(5,500-19,500) %	(2,500-12,500) %	(0-300) %	(1,500-7,000) %	(0-850) %	(0-1,500) %
# 8	36.0	11.4	31.66	7.2	4,450	2,581 58		1,557 35	311 7	
# 9	33.5	10.07	30.05	6.2	7,250	3,408 47		3,335 46	73 1	435 6
# 10	40.0	12.08	32.00	6.6	9,750	5,655 58	878 > 9	1,755 18		1,463 15
# 11	32.5	10.07	32.92	7.0	22,000 >	18,700 79	2,860 > 13	2,200 6		560 2
# 12	42.0	13.9	33.09	7.3	11,050	5,635 51	110 1	4,309 39		994 9
# 13 *	43.5	14.6	33.56	9.0 >	11,750	7,755 48	1,410 > 12	3,055 34		705 6
# 14	41.0	13.2	32.19	10.2	19,400	17,460 > 90		10 < 10		

\* Valores fuera de los de referencia.

CUADRO 2. CONTINUACION.

RESULTADOS DEL HEMOGRAMA EN 20 GATOS.

La Línea Roja y Proteínas Plasmáticas.

La Línea Blanca.

# Gatos	La Línea Roja y Proteínas Plasmáticas.				La Línea Blanca.					
	Ht. %	HB g/dl	CMHC %	P.P. g/dl	Leucocitos	Neutrofi- los	Bandas	Linfoci- tos	Mono- citos	Eosino- filos
Valores de Referencia:										
	(24.0-45.0)	(8.0-15.0)	(30.0-36.0)	(6.0-8.0)	(5,500- 19,500)	(2,500- 12,500)	(0-300)	(1,500- 7,000)	(0-850)	(0-1,500)
					%	%	%	%	%	%
# 15	36.5	11.08	32.07	7.6	9,150	6,415 70		2,013 22		8 8
# 16 *	45.0	15.0	33.03	5.4 <	7,250	3,335 46		2,827 39	507 7	580 8
# 17	40.2	13.09	33.09	8.0	17,000	12,580 > 74	340 2	3,570 21	510 3	
# 18	31.0	10.01	32.06	6.3	2,730	108 < 4	54 2	2,484 92	54 2	
# 19	43.5	14.01	33.56	6.0	12,200	9,028 74	244 2	2,928 24	244 2	
# 20	32.5	10.07	30.06	6.0	12,500	7,500 68	250 2	3,500 23	500 4	

\* Valores fuera de los de referencia.

CUADRO 3 .

RESULTADOS DE LA MEDULA OSEA.

Cuenta diferencial efectuada en 500 células, con  
objetivo de 100X y en 4 laminillas por animal.

Gato #6

Línea Roja

---

Eritroblasto	( 28 )
Normoblasto	
Basófilos (11 con cambios megaloblasticos)	(117)
Policromático	( 12 )
Ortrocromático	( 18 )

---

Línea Blanca

---

Mielocito Neutrofílico	( 5 )
Mielocito Eosinofílico	( 9 )
Metamielocito Neutrofílico	( 26 )
Metamielocito Eosinofílico	( 0 )
Neutrófilos en Banda	(107)
Neutrófilos Segmentados	( 44 )
Eosinófilos	( 0 )
Basófilos	( 0 )

---

---

Monoblasto	( 1 )
Promonocito	( 1 )
Monocitos	( 4 )
Linfoblastos	( 58 )
Prolinfocitos	( 1 )
Linfocitos	( 66 )

---

Comentarios Clínicos Patológicos: Celularidad ligeramente aumentada  
Megacariocitos presentes aumentadas +.

Índice M.E. 1.8 \* Fórmula descrita por Maxine W. Benjamin.

**CUADRO 3 CONTINUACION.**

**Gato #8**

**Línea Roja**

---

Eritroblasto	( 7 )
Normoblasto	( 122 )
Basófilos	( 0 )
Policromático	( 0 )
Ortocromático	( 0 )

**Línea Blanca**

---

Mieloblasto	( 4 )
Promielocito	( 3 )
Mielocito	( 25 )
Metamielocito	( 15 )
Neutrófilos en Banda	( 100 )
Neutrófilos Segmentados	( 25 )

---

Linfoblastos	( 137 )
Linfocitos	( 57 )
Células Plasmáticas	( 2 )

---

**Comentarios Clínicos Patológicos:** Celularidad aumentada + +, A. expe<sub>n</sub>sax de células mononucleares, Índice M.E. 2.8

CUADRO 3 CONTINUACION.

Gato #9

Línea Roja

---

Eritroblasto	( 76 )
Proeritroblasto	( 11 )
Megablsto Basofílico	( 32 )
Normoblasto	
Basófilos	( 49 )
Policromático	( 15 )
Ortocromático	( 21 )

Línea Blanca

---

Mieloblasto	( 13 )
Promielocitos	( 1 )
Mielocitos	( 45 )
Neutrófilo en Banda	( 53 )
Neutrófilo Segmentado	( 9 )

---

Linfoblastos	( 79 )
Linfocitos	( 32 )
Células de Mott	( 1 )
Célula Peluda	( 7 )
Megacarioblasto	( 1 )

---

Comentarios Clínico Patológicos: Celularidad aumentada +, Basofilia -  
difusa + +, Megacariocitos presentes, Gigantismo celular.  
Índice M.E. 2.2



CUADRO 3 CONTINUACION.

Gato #10

Línea Roja

---

Eritroblasto	( 1 )
Normoblasto	
Basófilos (2 con cambios megaloblasticos)	( 69 )
Policromático	( 0 )
Orotocromático	( 4 )

Línea Blanca

---

Mieloblasto	( 2 )
Mielocito Basofílico	( 14 )
Mielocito Eosinofílico	( 19 )
Metamielocito	( 33 )
Neutrófilos en Banda	(111)
Neutrófilos Segmentados	( 97 )
Eosinófilos	( 14 )

---

Plasmablasto	( 3 )
Células Plasmáticas	( 7 )
Linfoblastos (1 vacuolado)	( 65 )
Célula en espejo de mano	( 1 )
Linfocitos	( 39 )
Monocitos	( 9 )

---

Comentarios Clínico Patológico: Depresión Eritroide=Aplasia Eritroide.  
Muestra diluida, Megacariocito normal. Haemobartonella Follis + +.  
Índice M.E. 4.8

## DISCUSION.

De los 20 gatos positivos a la prueba de ELISA, 11 gatos presentaron linfoblastos en sangre periférica (no se encontró en la literatura - información de células inmaduras en sangre periférica en animales -- afectados por el VLF y que fueron positivos por serología.)

La alta incidencia de seropositividad 20 gatos (25%) corresponde a - la citada por Rojko y Olsen, ellos indican un rango de 15 a 28% de - seropositividad en lugares de alto índice de población felina (14). En los hemogramas solo un 0.2% presentó anemia normocítica normocromica tipo regenerativo, 0.2% leucocitosis, 0.2% leucopenia leve. El 25% (20 gatos de los 80 gatos estudiados) presentó acumulación de -- linfocitos en sangre periférica (linfoaglutinación) no se encontró - en la literatura citada datos que indiquen este fenomeno en gatos -- afectados por el VLF. En 25% de los gatos positivos a la prueba de ELISA se encontró en la sangre periférica a Haemobartonella Felis, - y que es semejante a lo que informan otros autores (4,6,7,13). ---

La mayoría de los gatos presentaron hemogramas "normales" sin embar- go fueron positivos a la prueba de ELISA para detectar al VLF. El - gato #6 presentó anomia moderada en su hemograma y en su aspirado de la médula ósea presentó un aumento de células normoblasticas con cam- bios megaloblasticos que nos sugiere un estado de subleucemia. Esto soporta la hipótesis que el VLF directamente induce cambios hematolo-

glicos y este efecto está en la médula ósea (6). El índice M.E. se encuentra dentro del rango normal.

En el aspirado de la médula ósea del gato #9 se encontró la presencia de 7 células peludas y una célula de Mott, esto es compatible para suponer que este gato pueda desarrollar eritroleucemia (?). Sin embargo el índice M.E. se encontró en rango normal.

En el aspirado de la médula ósea del gato #10 se demostró la presencia de Haemobartonella Felis y alteración del índice M.E., también se encontraron normoblastos y una célula en forma de espejo de mano. (no se encontró en la literatura informes de esta célula en relación al VLF, pero en la literatura de medicina humana, existe un tipo de leucemia, conocida como leucemia de células en espejo de mano, porque los linfoblastos tienen esa forma.)

## CONCLUSIONES .

Se concluye que en el Asilo "Philip E. Kahn" existe una alta prevalencia de seropositividad al virus de la Leucemia Felina (25%), y una -- alta incidencia de *Hameobartonellosis* *Fellis* (25%). En proximos estudios sería interesante muestrear a los animales despúes de 2 o 3 semanas del primer muestreo y así obtener la prevalencia de seropositividad (%) del segundo muestreo. Esta prueba de ELISA (Virachek/Synbiotics) indica que los gatos de este asilo han tenido contacto con el VLF y que una prueba positiva no es determinante para emitir un diagnóstico de leucemia aguda ya que solo un 13.75% de los animales se encontraron células inmaduras. La prueba de inmunofluorescencia es necesaria para complementar el diagnóstico serologico de la prueba de ELISA y es más específica para etapas y para el pronostico del animal.

L I T E R A T U R A   C I T A D A .

- 1.- Benjamin, M.: Outline of Veterinary Clinical Pathology, 3rd ed.-  
The Iowa State University Press, Ames, 1975.
- 2.- Cockerell, G.L.: Unifying Concepts of Feline Leukemia Virus In-  
fection, Current Veterinary Therapy IX Small Animal Practice, Ed-  
ited by: Kirk, R.W., 9:1055-1058, W.B. Saunders Co., Philadelphia,  
1987.
- 3.- Cotter, S.M., Essex, M. and Hardy, W.D., Jr.: Association of Fe-  
line Leukemia Virus with Lymphosarcoma and Other Disorders in the  
Cat. J. Amer. Vet. Med. Assoc., 166:449-454 (1975).
- 4.- Ettinger, S.J.: Feline Leukemia Virus Associated Disease, Text--  
book of Veterinary Internal Medicine, Diseases of the Dog and Cat,  
2nd ed. 1:312-313, W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1983.
- 5.- Garcia E., R.M.: Memorias del curso de Patología Clínica. Méxi--  
co, D.F. 1987. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. --  
Universidad Nacional Autónoma de México, D.F. (1987).
- 6.- Hardy, W.D., Jr.: The Feline Leukemia Virus. J. Amer. Anim. Hospt.  
Assoc., 17:951-979 (1981).
- 7.- Holzworth, J.: Diseases of Cat Medicine and Surgery. 254-255. -  
W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1987.
- 8.- Hoover, E.A., Krakowa, S., Mathes, L.E., Olsen, R.G. and Rojko, -  
J.L.: Influence of Adrenal Corticosteroids on the Susceptibility  
of Cats to Feline Leukemia Virus Infection. Can. Res., 39:3789--  
3791 (1979).

- 9.- Kociba, G.J.: Hematologic Consequences of Feline Leukemia Virus-Infection. Current Veterinary Therapy IX Small Animal Practice. - Edited by: Kirk, R.W., 9:488-490, W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1987.
- 10.- Lutz, H. and Pederson, N.C.: Immunodiagnosis of Feline Leukemia-Virus Infection. Current Veterinary Therapy IX Small Animal Practice. Edited by: Kirk, R.W., 9:445-448, W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1987.
- 11.- Madewell, B.R. and Thellorn, G.H.: Systemic Cancer Medicine. Veterinary Cancer Medicine. 2nd ed., 372-375, 1987.
- 12.- Moenning, V.: Feline Leukemia Prophylaxis. Felinfo No. 2, J. Sm. Anim. Prac. 27:343-352 (1986).
- 13.- Norden Laboratories: Feline Leukemia Virus. Loukocell. Norden-Laboratories, Lincoln, 1987.
- 14.- Olsen, R.G. and Rojko, J.L.: The Immunobiology of the Feline Leukemia Virus, Veterinary Immunology and Immunopathology. 6:107-165, Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1984.
- 15.- Synbiotics Corporation: Feline Leukemia Virus Antigen Test Kit.- Virachek/FelV. Synbiotics Corporation., San Diego, 1986.