

IMPLEMENTACIÓN DE LA TÉCNICA DE QPCR PARA LA CUANTIFICACIÓN DE CARGA PROVIRAL DEL VIRUS DE LEUCEMIA FELINA Y GENOTIPIFICACIÓN DE CEPAS DETECTADAS EN EL SERVICIO DE DIAGNÓSTICO MOLECULAR PROVENIENTE DEL AMBA

APPLICATION OF THE QPCR TECHNIQUE FOR THE QUANTIFICATION OF THE PROVIRAL LOAD OF THE FELINE LEUKEMIA VIRUS AND GENOTYPING OF STRAINS DETECTED IN THE MOLECULAR DIAGNOSTIC SERVICE FROM DE AMBA

Investigadores USAL:

Malacari, Darío (dario.malacari@usal.edu.ar); Mas, Javier

Palabras clave: virus leucemia felina, provirus, retrovirus

Keywords: *feline leukemia virus, provirus retrovirus*

Resumen

Existen más de 600 mil millones de felinos domésticos a nivel mundial (Driscoll, 2009), mientras que en Argentina se estima que al menos el 80 % de la población tiene un animal de compañía, y el 30 % corresponde a gatos de diversas razas. Los primeros reportes de casos relacionados con retrovirus felinos en Argentina se remontan a 1996 (Pecoraro *et al.*, 1996), mientras que una de las primeras publicaciones detalladas que describen la situación de leucemia felina (LFel) surge de la Universidad de Buenos Aires, la que aporta datos clínicos y virológicos sobre el virus de la leucemia felina (ViLeF) (Galdo Novo *et al.*, 2016). La LFel es considerada la principal causa de muerte en felinos domésticos y responsable de un diverso abanico de signología clínica (Oswald, 1999). Ciertos signos clínicos son asociados con afecciones en el sistema inmunológico causadas por el efecto supresor del virus, afectando principalmente el linaje celular de linfocitos y macrófagos (Norris, J. *et al.*, 2007). Por otro lado, aproximadamente un tercio de las muertes causadas por neoplasias en felinos domésticos están relacionadas con el ViLeF (Lynn, S. R. *et al.*, 1993). La prevalencia del ViLeF en Argentina fue descripta en un estudio publicado en 2016 (Galdo Novo *et al.*, 2016), que contempló 255 gatos provenientes del AMBA, de los que un 7,69 % resultó positivo a antígenos presentes en sangre y un 11,82 % con resultados positivos a una PCR anidada. No obstante, aún no se han descripto cuáles son los subtipos del virus que circulan en Argentina con mayor frecuencia. Se han utilizado diversos métodos para el diagnóstico de LFel, como la inmunofluorescencia y el aislamiento viral (Hardy *et al.*, 1973; Jarrett *et al.*, 1982). A su vez, la detección de antígenos en sangre del ViLeF también es posible, y en los últimos años se ha introducido de forma masiva el uso de los test de inmunocromatografía (Lutz *et al.*, 1983). Hace varios años se describió la utilización de la técnica de PCR en tiempo real (Holland *et al.*, 1991), para la cuantificación de ADN proviral en felinos infectados (Torres *et al.*, 2005). Generalmente, la carga de virus o provirus en sangre de animales infectados con el ViLeF es

asociada con el estadio de la infección: felinos con infección progresiva son caracterizados con altas cargas tanto de virus y provirus en sangre, y gatos con infección regresiva e indetectable o antigenemia transiente presentan cargas bajas a moderadas tanto virales como provirales en sangre (Torres *et al.*, 2005).

Abstract:

There are more than 600 billion domestic cats worldwide (Driscoll, 2009). In Argentina it is estimated that at least 80% of the population has a pet and 30% are cats of various breeds. The first reports of feline retroviruses in Argentina were in 1996 (Pecoraro, et. Al. 1996), while one of the first detailed publications describing the situation of Feline Leukemia (FeL) arises from the University of Buenos Aires, providing clinical and virological data of Feline Leukemia Virus (FeLV) (Galdo Novo, et. al. 2016). FeL is considered the main cause of death in domestic cats and is responsible for a diverse range of clinical signs (Oswald, 1999). Certain clinical signs are associated with conditions in the immune system caused by the suppressive effect of the virus, mainly affecting the cell lineage of Lymphocytes and Macrophages (Norris, J. et. Al., 2007). On the other hand, approximately a third of the deaths caused by tumors in domestic cats are related to FeLV (Lynn, S. R. et. Al., 1993). The prevalence of FeLV in Argentina was described in a study published in 2016 (Galdo Novo, et. Al. 2016) that included 255 cats from AMBA, in which the 7.69% tested positive for antigens present in blood and the 11.82% had nested PCR positive results. However, the most frequent subtypes of the virus that circulate in Argentina have not been described yet. Several methods have been used for the diagnosis of FeL such as immunofluorescence and viral isolation (Hardy et al., 1973; Jarrett et al., 1982). In turn, the detection of FeLV antigens in blood is also possible (Lutz et al., 1983) and the use of immunochromatography tests has been massively introduced in the last years. Several years ago, the use of the real-time PCR technique (Holland et al., 1991), for the quantification of proviral DNA in infected cats was prescribed (Torres et al., 2005). Generally, the virus or provirus load in the blood of animals infected with FeLV is associated with the stage of infection: felines with progressive infection are characterized for having high loads of both virus and provirus in their blood, and cats with regressive and undetectable infections or transient antigenemia present low to moderate viral and proviral loads in their blood (Torres et al., 2005). In the following project we propose to develop a real-time PCR technique for the quantification of FeLV proviral load in feline blood samples and to detect the prevalence of the different circulating subtypes in AMBA, Argentina.