

FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

TEMA:

Detección de antígeno p27 de ViLeF empleando el método de microELISA vs dos test inmuncromatográficos comercializados en la ciudad de Guayaquil.

AUTORA:

Vélez Sarabia, Milena Paulet

Trabajo de Titulación previo a la obtención del título de MÉDICO VETERINARIO

TUTORA

Dra. Carvajal Capa, Melissa Joseth M. Sc.

Guayaquil, Ecuador 14 de febrero del 2023



FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO

MEDICINA VETERINARIA

CERTIFICACIÓN

Certificamos que el presente **Trabajo de Integración Curricular**, fue realizado en su totalidad por **Vélez Sarabia**, **Milena Paulet**, como requerimiento para la obtención del título de **Médico Veterinario**.

TUTORA

	f					
Dra. C	arvajal	Capa,	Melissa	Joseth	M. S	Sc.

DIRECTORA DE LA CARRERA

f				
Dra. Álvarez Castro,	, Fátima	Patricia	М.	Sc.

Guayaquil, a los 14 días del mes de febrero del año 2023



FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO

MEDICINA VETERINARIA

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD

Yo, Vélez Sarabia, Milena Paulet

DECLARO QUE:

El Trabajo de Integración Curricular, Detección de antígeno p27 de ViLeF empleando el método de microELISA vs dos test inmuncromatográficos comercializados en la ciudad de Guayaquil previo a la obtención del título de Médico Veterinario, ha sido desarrollado respetando derechos intelectuales de terceros conforme las citas que constan en el documento, cuyas fuentes se incorporan en las referencias o bibliografías. Consecuentemente este trabajo es de mi total autoría.

En virtud de esta declaración, me responsabilizo del contenido, veracidad y alcance del Trabajo de Titulación referido.

Guayaquil, a los 14 días del mes de febrero del año 2023

LA AUTORA

f		
	Vélez Sarabia, Milena Paulet	



FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO MEDICINA VETERINARIA

AUTORIZACIÓN

Yo, Vélez Sarabia, Milena Paulet

Autorizo a la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil a la publicación en la biblioteca de la institución el Trabajo de Integración Curricular Detección de antígeno p27 de ViLeF empleando el método de microELISA vs dos test inmuncromatográficos comercializados en la ciudad de Guayaquil, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi exclusiva responsabilidad y total autoría.

Guayaquil, a los 14 días del mes de febrero del año 2023

LA AUTORA:



FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO MEDICINA VETERINARIA

CERTIFICADO URKUND

La Dirección de la Carrera de Medicina Veterinaria revisó el Trabajo de Integración Curricular, Detección de antígeno p27 de ViLeF empleando el método de microELISA vs dos test inmunocromatográficos comercializados en la ciudad de Guayaquil presentado por el estudiante Vélez Sarabia, Milena Paulet, de la carrera de Medicina Veterinaria, donde obtuvo del programa URKUND, el valor de 0 % de coincidencias, considerando ser aprobada por esta dirección.

Document Information

Analyzed document MILENA VELEZ TESIS 9.2.2023.doc (D158269609)

Submitted 2023-02-09 17:51:00

Submitted by

Submitter email milena.velez@cu.ucsg.edu.ec

Similarity 0%

Analysis address melissa.carvajal01.ucsg@analysis.urkund.com

Fuente: URKUND-Usuario Carvajal Capa, 2023

Certifican,

Dra. Álvarez Castro, Fátima M. Sc.

Directora Carrera Medicina Veterinaria UCSG-FETD Dra. Carvajal Capa, Melissa M. Sc. Revisora - URKUND

AGRADECIMIENTO

Agradezco por las personas que me regaló esta carrera, sé que además de ser mis colegas, serán mis amigos de vida.

Agradezco a los profesores que me impulsaron a ser mejor, que realmente se preocuparon por enseñarme, sobre todo gracias por la paciencia, los recordaré con mucho cariño.

Agradezco a mi tutora, por su esfuerzo y compromiso, gracias por ser esa persona que con sus directrices pudo ayudarme a culminar mi tesis, también la recordaré con mucho cariño.

Agradezco a mi familia que me apoyaron en el transcurso de toda la carrera y que de alguna u otra manera contribuyeron a que llegara hasta aquí, los amo.

Agradezco especialmente al Dr. Ernesto Olaya Martínez, por abrirme las puertas de su laboratorio y permitirme realizar mi trabajo de titulación, gracias por guiarme de inicio a fin en esta investigación, agradezco enormemente su entrega y dedicación para ayudarme en la recta final de mi gran meta, convertirme en médica veterinaria.

Por último, pero no menos importante, agradezco a mis fieles compañeros de estudio de día, noche y madrugada, mi perra y mis gatitos: Demi, Lucy, Nala y Simba, los amo.

DEDICATORIA

Este logro va principalmente para la persona más importante en mi vida, la que siempre creyó en mí incluso cuando yo no lo hacía, la que me dio fuerzas cuando sentía que no podía más, la que se encargó de que a pesar de la distancia nada me faltara, gracias mamá por demostrarme tu amor incondicional a lo largo de esta carrera y de toda mi vida. Este logro también va para mis dos angelitos en el cielo, mi bisabuela Emmita y mi primer amor perruno Goddar, nada me hubiese hecho más feliz que tenerlos físicamente aquí, gracias a los tres por ser eso que me motivó y me impulsó a cumplir mi sueño más grande, ser veterinaria. Los amo con todo mi corazón.

Finalmente, dedico esto a mi yo pequeña que siempre soñó con ser veterinaria, ¡Lo hicimos! Y ahora sí: que mi vida sirva para salvar otras vidas.



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL

FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO MEDICINA VETERINARIA

TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

Dra. Carvajal Capa, Melissa Joseth M. Sc.
TUTORA

Dra. Álvarez Castro, Fátima Patricia M. Sc.DIRECTORA DE LA CARRERA

Dra. Carvajal Capa, Melissa Joseth M. Sc. COORDINADORA DE UTE



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL

FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO MEDICINA VETERINARIA

CALIFICACIÓN

10 DIEZ

Dra. Carvajal Capa, Melissa Joseth M. Sc. TUTORA

ÍNDICE

1 INTRODUCCIÓN	2
1.1 Objetivos	3
1.1.1 Objetivo general	3
1.1.2 Objetivos específic	cos 3
2 MARCO TEÓRICO	4
2.1 Taxonomía	4
2.2 Etiología	4
2.2.1 Genoma y proteína	as de ViLeF4
2.2.2 Subgrupos de ViLe	eF5
2.3 Transmisión	5
2.4 Fisiopatología	6
2.4.1 Aspectos clínicos.	7
2.4.2 Tipos de infección	7
2.5 Signos Clínicos	8
2.5.1 Neoplásica	8
2.5.2 No neoplásica	8
2.6 Diagnóstico	9
2.7 Pruebas inmunológica	s 11
2.7.1 Sensibilidad analít	ica11
2.7.2 MicroELISA	11
2.7.3 Inmunocromatogra	ıfía 12
3 MARCO METODOLÓGIC	013
3.1 Ubicación de la investi	gación 13
3.2 Clima	13
3.3 Materiales	13
3.3.1 Materiales de cam	po 13
3.3.2 Materiales de labo	ratorio14
3.4 Población de estudio .	14
3.5 Muestra	14
3.6 Tipo de estudio	14
3.7 Diseño estadístico	15
3.8 Variables	
3.8.1 Variable dependie	nte16

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24
5 DISCUSIÓN	22
4 RESULTADOS	19
3.9.2 Procesamiento de muestras por test inmunocromatográficos	18
3.9.1 Procesamiento de muestras por microELISA	17
3.9 Metodología	16
3.8.2 Variables independientes	16

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Diferentes presentaciones de la afección por ViLeF y métodos	de
diagnóstico	11
Tabla 2. Tabla de contingencia 2x2 de Cohen	.17
Tabla 3. Rangos de valores kappa/Grado de acuerdo entre pruebas	18
Tabla 4. Resultados obtenidos en Test IC 1 y Test IC2	.22
Tabla 5. Tabla de contingencia microELISA vs test IC 1 y test IC2	23

ÍNDICE DE FIRGURAS

Figura 1. Ubicación geográfica de Laboratorio Clínico Veterinario Diagnovet......15

RESUMEN

Esta investigación fue de carácter comparativo, no experimental, que se realizó a partir de la recolección de sueros de gatos dentro de los meses de noviembre y diciembre del 2022 en el Laboratorio Clínico Veterinario Diagnovet ubicado en la ciudad de Guayaquil, provincia del Guayas. El tamaño de la muestra fueron 40 sueros de gatos derivados al laboratorio previamente mencionado para la detección del antígeno p27 del virus de leucemia felina (ViLeF) por el método de microELISA, de los cuales 30 fueron positivos y 10 negativos. La investigación se la realizó en tres fases: Primero la recolección de sueros; segundo se utilizó los mismos sueros que fueron anteriormente utilizados para testearlos en dos test serológicos rápidos comúnmente usados en consultorios veterinarios, con el objetivo de evaluar su grado de concordancia y sensibilidad. La tercera fase consistió en la tabulación de datos y el análisis estadístico. Se logró comprobar estadísticamente por medio del rango del valor kappa, que ambos tests comparados con el método de microELISA como técnica de referencia tienen un grado de concordancia muy bueno, por lo que se concluye que estos tests son confiables y pueden ser utilizados como herramienta para un diagnóstico rápido.

Palabras Clave: Gatos, virus de Leucemia Felina, microELISA, inmucromatografía, antígeno p27.

ABSTRACT

This investigation is comparative, non-experimental, that was carried out from the collection of cat's serums within the months of November to December 2022 at the Veterinary Clinical Laboratory Diagnovet located in Guayaquil city, province of Guayas. The sample size was 40 cat's serum that were sent to the laboratory previously mentioned for the detection of antigen p27 of feline leukemia virus (FeLV) using the micro-ELISA method, which were divided into 30 positives and 10 negatives. The investigation had three phases: First, the collection of cat's serums; second, the same serum was used too on the two serological rapid tests that are commonly worn in vet consults, to evaluate the level of agreement and sensibility. The third phase consisted on tabulation of the data obtained and statistical analysis. It was possible to demonstrate statistically through kappa range, that both serological rapid tests are very good compared with micro-ELISA method as the gold standard technique, so it's concluded that both tests are reliable and can be worn as tool for a rapid diagnose.

Key words: Cats, feline leukemia virus, micro-ELISA, immunochromatography, antigen p27.

1 INTRODUCCIÓN

El gato es un animal doméstico que se ha convertido en una de las mascotas más populares a nivel mundial; una de las enfermedades más comunes y que representa un alto riesgo para su salud es la leucemia viral felina o ViLeF, que es causada por un retrovirus que pertenece a la familia Retroviridae, es considerado potencialmente mortal para los felinos domésticos.

La detección de esta enfermedad es de vital importancia para brindar un tratamiento oportuno al paciente y sobre todo para evitar la propagación de esta. Es por eso que en los consultorios veterinarios el método más utilizado para diagnosticarla son los test inmunocromatográficos ya que se obtienen los resultados en pocos minutos en comparación de una prueba de laboratorio que puede tardar aproximadamente entre 24 a 72 horas, es importante mencionar que estos test serológicos rápidos pueden arrojar falsos negativos si no hay la cantidad necesaria de antígenos, mientras que las pruebas de laboratorio son más sensibles y pueden ser más específicas.

El diagnóstico para esta enfermedad dependerá de la fase en la que se encuentre, sin embargo, la primera prueba diagnóstica es la detección de antígeno p27, para la detección de esta proteína los métodos más usados son: microELISA e inmunocromatografía, que son los métodos que se emplearán en esta investigación.

El propósito de este estudio es evidenciar el porcentaje de sensibilidad de las pruebas serológicas rápidas utilizadas en consultorios veterinarios vs el método de microELISA empleado en laboratorios, ya que es fundamental para la salud de los pacientes un resultado confiable y útil para la confirmación o el descarte de esta enfermedad.

1.10bjetivos

1.1.1 Objetivo general.

Determinar el grado de concordancia entre dos test inmunocromatográficos comercializados en la ciudad de Guayaquil, utilizados en consultorios veterinarios vs el método de microELISA empleado en laboratorios.

1.1.2 Objetivos específicos.

- Determinar porcentajes de sensibilidad de los dos test inmunocromatográficos.
- Comprobar la utilidad de los inmunocromatográficos en comparación con la técnica de microELISA.

2 MARCO TEÓRICO

2.1 Taxonomía

Familia: Retroviridae

Subfamilia: Orthoretrovirinae

Género: Gammaretrovirus (Dunham & Graham, 2008).

Es un virus ARN (retrovirus) monocatenario, es decir de cadena simple, este virus se integra al ADN del huésped transcribiendo su ARN viral a ADN viral (provirus), a través de la enzima transcriptasa reversa (TR). Durante la mitosis celular, las células hijas son las que heredan el provirus causando que puedan permanecer infectando durante toda la vida (Dunham & Graham, 2008).

2.2 Etiología

Es un agente exógeno que tiene replicación dentro de varios tejidos, como glándulas salivales, epitelio respiratorio e incluso médula ósea. La estructura viral está formada por una envoltura de glicoproteínas y una nucleocápside icosaédrica. La envoltura está compuesta de manera que el virus se vuelve especialmente débil y una manera fácil y eficaz de eliminarlo es por medio de desinfectantes habituales o comunes (Perharić et al., 2018).

2.2.1 Genoma y proteínas de ViLeF.

El material genético viene en dos copias de ácido ribonucleico, lo que lo convierte en diploide (ARN) (MacLachlan & Dubovi, 2017). Además de convertir este ARN en ácido desoxirribonucleico (ADN), la transcriptasa inversa funciona como una ribonucleasa que permite la escisión de la cadena de ARN del heterodúplex de ADN a ARN. (Hartmann y Levy, 2017; MacLachlan y Dubovi, 2017).

En 2011, Cano et al. indican que el virión de los retrovirus está conformado por tres genes más importantes de los retrovirus los cuales son:

Gen gag (Antígeno específico de grupo): Se encarga de codificar
 las proteínas estructurales del virus, entre estas la p27

4

(importante para el diagnóstico de la infección), y estas son antigénicamente idénticas para cualquier subtipo de ViLeF.

- Gen pol (Polimerasa): codifica las proteínas responsables de la replicación vírica y que tienen actividad enzimática; la transcriptasa inversa, polimeriza nucleótidos de DNA a partir de una copia de RNA viral.
- Gen env (Glicoproteínas de la envoltura): codifica las proteínas de la envoltura que están implicadas con la interacción de los receptores celulares que permiten introducción del virus en las células del hospedador.

2.2.2 Subgrupos de ViLeF.

En su estudio Kawasaki y Nishigaki (2018) concluyeron que el ViLeF posee distintos genotipos o subtipos, los más importantes son: ViLeF-A, ViLeF-B, ViLeF-C.

- ViLeF-A: Está implicado en todas las infecciones del virus, ya sea solo o también en combinación con el subtipo B o C, e incluso ambos. Este subtipo es el más común y tiene una capacidad altamente infectiva. También es capaz de provocar neoplasias hematopoyéticas.
- ViLeF-B: El subtipo B aparece por recombinación del subtipo A con un retrovirus endógeno, se asocia con linfomas y no es contagioso.
- ViLeF-C: Surge por mutación del gen env del ViLeF-A, es la menos común, está asociada con anemia aplásica severa o leucemia eritroide.

2.3 Transmisión

El ViLeF es un patógeno que para su transmisión va a depender de la densidad poblacional y de contacto cercano con un gato que presente un cuadro virémico persistente debido a que el factor principal para el contagio es la saliva, que está directamente relacionada con conductas amigable o sociales, como

acicalamiento mutuo, beber agua y comer del mismo plato que un gato infectado (Hwang et al., 2018; Perharić et al., 2018).

La transmisión también se puede dar por medio de mordidas y otros fluidos corporales como: lágrimas, secreciones nasales, leche, orina, heces, semen, fluidos vaginales y placenta. También se puede producir de forma iatrogénica por medio de instrumental contaminado, agujas y transfusión de sangre (Aiyaranoi et al., 2018; Perharić et al., 2018).

Por otro lado, Vobis et al., (2003) mencionan a la pulga como una fuente potencial transmisora del material genético viral, ya que se ha encontrado presencia de ARN de ViLeF en esta, aunque no se ha podido constatar si es de forma mecánica por medio de las piezas bucales o por causa de la regurgitación de sangre, y tampoco ha sido posible determinar si el virus se ve afectado durante la succión.

Ramírez et al. (2016), en su estudio explican que los factores de riesgo más comunes y que están estrechamente vinculados con la presencia del virus son: sexo, edad, raza, acceso al exterior y contacto muy cercano con otros gatos no vacunados o expuestos al virus. Otros factores de riesgo que se deben tomar en cuenta pero que no son tan importantes podrían ser densidad poblacional alta y malas condiciones de higiene.

Se considera que la prevalencia aumenta en gatos machos no castrados con edad reproductiva, que tienen acceso al exterior, debido a la exposición a fluidos corporales en lesiones provocadas peleas entre machos que compiten por hembras en celo y para defensa o marcaje de su territorio (Beatty, 2017; Da Costa et al., 2017).

2.4 Fisiopatología

Por lo general, la viremia aparece varios meses después de una exposición continua con gatos infectados, al pasar del tiempo se infectan las glándulas salivales y el tracto gastrointestinal, de manera que el virus es excretado en altas cantidades en saliva y heces (Lutz et al., 2009).

2.4.1 Aspectos clínicos.

El virus de leucemia felina ha sido asociado con alteraciones hematopoyéticas entre ellas neoplásicas, no neoplásicas y síndromes de inmunosupresión (MacLachlan & Dubovi, 2017).

La manera en la que se va presentar de la patogenia y la severidad de la infección va a depender de distintos factores, entre estos, los más importantes son: la edad del gato, ya que la susceptibilidad aumenta si los gatos son jóvenes; inmunocompetencia, es decir que el animal tenga un sistema inmunológico fuerte, de manera que pueda eliminar o contener al virus; y el genotipo resultante del ViLeF (Aiyaranoi et al., 2018). La supresión mieloide está asociada de manera significativa a la afinidad que presenta el virus hacia las células hematopoyéticas de la medula ósea (Szilasi et al., 2018).

2.4.2 Tipos de infección.

Según MacLachn & Dubovi (2017) la infección por leucemia viral felina puede evolucionar en cuatro diferentes etapas: abortiva, regresiva, progresiva y focal.

- Abortiva: No se desarrolla viremia porque el virus no es replicado debido a una respuesta inmunitaria eficaz del animal que elimina el virus de todas las células.
- Regresiva: Se produce una viremia transitoria que dura menos de 3 semanas, y es frenada por el sistema inmunológico de manera que se proporciona cierta protección a nuevas exposiciones al virus, sin embargo, el gato no elimina el virus totalmente de su organismo.
- Progresiva: La viremia dura más de tres semanas, es la etapa en la que el animal no es capaz de eliminar la infección por lo que se infecta de manera eficiente y desarrolla la enfermedad.
- Focal: El virus se replica en localizaciones distintas, pero no se replica a nivel sistémico.

2.5 Signos Clínicos

Infecciones por leucemia felina pueden causar variables y múltiples signos clínicos inespecíficos como: fiebre, pérdida de apetito (anorexia), pérdida de peso, deterioro de pelaje, inflamación de ganglios linfáticos o infecciones oportunistas. Las enfermedades más comunes como consecuencia de la leucemia viral felina progresiva son: Inmunosupresión, supresión de la médula ósea y linfoma (Hofmann, 2018).

El pronóstico para gatos con leucemia viral felina progresiva es malo, algunos se mantienen sanos por años hasta que alguna enfermedad relacionada a esta se desarrolle, es importante mencionar que la edad del gato al momento del contagio es un factor determinante para resultados clínicos, es decir la manera en la que la enfermedad podría evolucionar (Hofmann, 2018).

2.5.1 Neoplásica.

Es un virus oncógeno que tiene la capacidad de producir o causar distintos tumores en gatos, entre estos, los más comunes son el linfoma y la leucemia (Hartmann & Levy, 2017; Paulin et al., 2018). Los linfomas se originan por expansión clonal de linfocitos neoplásicos (Paulin et al., 2018).

La leucemia es una neoplasia maligna de las células de la médula ósea, que pueden o no circular en la sangre (Vail, 2017). La leucemia linfoblástica aguda surge de precursores linfoides no maduros, tiene una prognosis altamente pobre y una proporción mayor a 50 % de linfoblastos en relación con las células que están nucleadas de la médula ósea (Tomiyasu et al., 2018).

2.5.2 No neoplásica.

Según Cano et al. (2011), la enfermedad no neoplásica puede presentarse de las siguientes formas:

- Anemia No-regenerativa: se presenta a causa de mielosupresión, mielodestrucción o enfermedades mieloproliferativas.
- Anemia hemolítica: Puede ser inmunomediada o secundaria a Mycoplasma haemofelis.
- Pancitopenia: Aparece en casos avanzados de mielosupresión.

- Inmunosupresión: Se la asocia con la infección viral de las plaquetas y de los neutrófilos, lo que conduce a alteraciones en la quimiotaxis y en la fagocitosis. Esto predispone a enfermedades secundarias tales como estomatitis, abscesos, piotórax, dermatitis, peritonitis infecciosa felina (PIF), toxoplasmosis and cryptococcosis.
- A nivel reproductivo ViLeF podría causar infertilidad y abortos. En los gatitos recién nacidos puede inducir a un síndrome de apagamiento, caracterizado por falta de reflejo de succión, deshidratación, hipotermia y atrofia del Timo.
- Desórdenes inmunomediados: glomerulonefritis autoimmune, uveitis, poliartritis neutrofílica.
- En el ojo se puede observar además anisocoria como consecuencia de la acción del virus en Sistema Neurovegetativo.

2.6 Diagnóstico

El correcto y temprano diagnóstico de esta enfermedad es muy importante ya que ayuda en el manejo de los animales infectados y en los no infectados, de manera que se pueda extender o prolongar la vida de estos felinos con calidad (Campbell et al., 2020).

Las pruebas serológicas son útiles para la detección del antígeno p27, a través de sangre, suero, plasma o saliva. La inmunocromatografía de flujo lateral y el ELISA son las dos pruebas serológicas más utilizadas por su fácil alcance para el diagnóstico clínico, además que se obtienen los resultados en pocos minutos (Krecic et al., 2018).

La vacunación no es considerada como un factor de interferencia en el diagnóstico serológico, ya que este no es capaz de detectar anticuerpos. Se sugiere no utilizar fluidos distintos a la sangre en pruebas de serología, por evitar posibles falsos resultados, a menos que se sospeche de una infección atípica (Kennedy & Little, 2012).

La prueba PCR es una técnica de biología molecular que se ha convertido en una herramienta muy útil en el diagnóstico del ViLeF, debido a al diagnóstico de gatos negativos en otras pruebas, pero positivos a PCR, lo que la vuelve importante para desenmascarar infecciones latentes o regresivas. Por la alta sensibilidad que ofrece no necesita depender del factor viremia ni de antígenos circulantes (Galdo-Novo et al., 2016).

Tabla 1. Diferentes presentaciones de la afección por ViLeF y métodos de diagnóstico

	Abortiva	Regresiva	Progresiva	Atípica
Detección de antígeno p27 en sangre	-	-	+	+/-
Aislamiento de ViLeF en sangre	-	-	+	+/-
Detección de ARN viral en sangre	-	-	+	+/-
Detección de ADN proviral en sangre	-	+	+	+/-
Aislamiento de ViLeF en tejidos	-	-	+	+
Excreción viral	-	-	+	+/-

Fuente: Hartman, K. Clinical Aspects of Feline Retroviruses: A Review. Viruses,

v.4, 2012.

Elaborado por: La Autora

2.7 Pruebas inmunológicas

Son las encargadas de detectar diferentes tipos de enfermedades infecciosas, son pruebas de laboratorio con las que se detecta la presencia de una sustancia. También, se determina en qué cantidad está presente. Se realizan por medio de una muestra de sangre o en otros líquidos corporales utilizando para ello una reacción inmunológica (Laboratorio Médico Lidera, 2022).

Las pruebas inmunológicas usan antígeno para detectar anticuerpos contra un patógeno en una muestra del paciente, o anticuerpo para detectar un antígeno del patógeno en una muestra del paciente. El procesamiento de las muestras varía, pero si es necesario retrasar el análisis, deben refrigerarse o congelarse para impedir la proliferación de contaminantes bacterianos (Vázquez, 2020).

2.7.1 Sensibilidad analítica.

La sensibilidad analítica se expresa como el límite de detección de prueba, es decir, la menor concentración detectable o medible del elemento analizado (antígeno o anticuerpo) que la prueba puede demostrar. Esta propiedad mide la capacidad de la técnica de discriminar pequeñas diferencias de concentraciones del elemento analizado. Una técnica de elevada sensibilidad analítica detecta niveles muy bajos de anticuerpos y una de baja sensibilidad sólo reconoce a una gran concentración (Aparicio et al., 2007).

2.7.2 MicroELISA.

Saceda (2022) menciona que ELISA son las siglas por las que se conoce al ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (en inglés enzyme-linked immunosorbent assay). La identificación es específica, consigue que pequeños segmentos de proteínas destaquen y no puedan ser confundidas con otras. Para poder identificar los antígenos se utilizan moléculas con dos componentes

acoplados: un anticuerpo (que se une al antígeno de forma específica) y una enzima (que se activa y señala la unión al antígeno).

Los diferentes tipos de ELISA son:

- ELISA directo: Es el ensayo más simple y rápido de todos, donde un anticuerpo primario marcado con una enzima se unirá directamente al antígeno de interés permitiendo la detección y/o cuantificación de este (Abyntek, 2019).
- ELISA indirecto: se realiza de forma similar al ELISA directo, pero en este caso se añade primero un anticuerpo sin enzima y después uno con enzima. De esa forma, la señal que emite la enzima es mucho más potente y la prueba es más sensible (Saceda, 2022).
- ELISA sándwich: el antígeno queda inmovilizado entre dos anticuerpos, uno de captura y otro de detección también conocidos como pares de anticuerpos, que se unirán a dos epítopos distintos de un mismo antígeno (Abyntek, 2019).
- ELISPOT: se trata de un tipo de ELISA que permite conocer de forma cuantitativa el antígeno, incluso identifica el número concreto de células donde se encuentra (Saceda, 2022).
- ELISA competitivo: es una variante más compleja de la técnica ELISA, también conocido como ELISA de inhibición debido al uso de un antígeno de referencia que competirá con el antígeno de la muestra por unirse al anticuerpo primario. Se utiliza generalmente para detectar y/o cuantificar antígenos presentes en muy bajas cantidades (Abyntek, 2019).

2.7.3 Inmunocromatografía.

Es una técnica inmunológica, frecuentemente utilizada en la actualidad porque ofrece un diagnóstico rápido de distintas enfermedades, por medio de la detección de antígenos o anticuerpos que pueden ser encontrados en diversos fluidos biológicos. Esta técnica nos permite observar la reacción que existe entre antígeno-anticuerpo debido al amontonamiento del oro coloidal del conjugado en zonas determinadas del papel de nitrocelulosa, donde han sido fijados anteriormente anticuerpos de captura. (Escalante et al., 2001).

3 MARCO METODOLÓGICO

3.1 Ubicación de la investigación

El presente estudio se realizará en Laboratorio Clínico Veterinario Diagnovet ubicado en Av. Coronel Lorenzo Juan N. de Garaycoa y Llaguno 2503, sector sur de la ciudad de Guayaquil.

Figura 1. Ubicación geográfica de Laboratorio Clínico Veterinario Diagnovet **Fuente:** Google maps (2022).



3.2 Clima

Guayaquil es una ciudad situada a 4 msnm con una precipitación media de 791 mm y una temperatura que fluctúa entre los 21 °C a 31 °C considerándose una ciudad cálida y húmeda (Rodríguez, 2020).

3.3 Materiales

3.3.1 Materiales de campo.

- Bolígrafo
- Libreta de apuntes
- Celular
- Hojas papel bond A4

3.3.2 Materiales de laboratorio.

- Mandil
- Guantes
- Congelador
- Muestras Sanguíneas
- Lector de ELISA
- Micropipeta (volumen variable)
- Micropipeta mono canal
- Microplacas
- Tubos de ensayo
- Kit microELISA detección de antígeno p27
- Kit 1 inmunocromatográfico (detección antígena p27)
- Kit 2 inmunocromatográfico (detección antígena p27)

3.4 Población de estudio

La población de estudio son las muestras sanguíneas de todos los gatos derivados al laboratorio clínico veterinario Diagnovet que soliciten el estudio serológico para detección de antígeno p27 por el método microELISA.

3.5 Muestra

El tamaño de la muestra es un total de 40 gatos, de los cuales 30 deben ser detectados positivos y 10 negativos utilizando el método de microELISA como técnica de referencia.

3.6 Tipo de estudio

Este estudio es de tipo no experimental con enfoque descriptivo correlacional, en el que se establecerá la sensibilidad de las pruebas inmunocromatográficas por comparación con otra técnica más sensible (de referencia), ya establecida para diagnóstico de la enfermedad.

3.7 Diseño estadístico

Para poder evaluar una prueba diagnóstica por medio de la comparación de sus resultados con los obtenidos por la otra prueba diagnóstica de referencia se emplea la tabla de contingencia de 2x2, y para valorar el grado de concordancia entre las dos técnicas, se realizará el cálculo del índice o valor kappa, que mide la concordancia de resultados entre las pruebas más allá del efecto del azar. Este índice también se aplica al comparar la validez diagnóstica de dos pruebas entre sí.

Tabla 2. Tabla de contingencia 2x2 de Cohen

		Pruebas diagnósticas de referencia		
		Positivo	Negativo	
Prueba	Positivo	а	С	f1
diagnóstica evaluada	Negativo	b	d	f2
		c1	c2	N

Fuente: Cohen, 1960 Elaborado por: La Autora

Concordancia observada
$$CO = a + d$$

Concordancia real o no debida al azar CR = CO - CA

Máxima concordancia que puede producirse más allá del azar MCMA = 1 - CA

$$Kappa = CR$$
 $MCMA$

Fuente: Cohen, 1960 Elaborado por: La Autora

Tabla 3. Rangos de valores kappa

Rangos valores kappa	Grado de acuerdo entre las pruebas
<0.00	Sin acuerdo
0.00-0.20	Insignificante
0.21-0.40	Bajo
0.41-0.60	Moderado
0.61-0.80	Bueno
0.81-1.00	Muy Bueno

Fuente: Cohen, 1960 Elaborado por: La Autora

Sensibilida
$$\underline{d} = \underline{a}$$

Fuente: Greene, 1990 Elaborado por: La Autora

3.8 Variables

3.8.1 Variable dependiente.

Tiene Leucemia Viral Felina

- Si
- No

3.8.2 Variables independientes.

- Prueba MicroELISA
- Kit Inmunocromatográfico 1
- Kit Inmunocromatográfico 2

3.9 Metodología

Este estudio se realizó desde octubre del 2022 hasta enero del 2023 en el Laboratorio Clínico Veterinario Diagnovet. Primero se escogieron 40 muestras sanguíneas que tuvieron mayor volumen para posteriormente poder ser distribuidas en las pruebas a comparar. Estas 40 muestras fueron procesadas anteriormente por la técnica de referencia (microELISA) para la detección del antígeno p27 del virus de

leucemia felina, de las cuales 30 resultaron positivas y 10 negativas. Finalmente, con los resultados referentes, el suero restante fue distribuido entre los dos test inmucromatográficos (pruebas a evaluar).

3.9.1 Procesamiento de muestras por microELISA.

- Se retira los reactivos de la refrigeradora y se dejó a temperatura ambiente por 30 minutos.
- De acuerdo con la cantidad de muestras que se procesaron se cortaron los pocillos incluyendo los controles negativo y positivo.
- Se procedió a preparar la solución de lavado con agua destilada con la siguiente fórmula:
- 300 microlitros (μL) de solución de lavado x # de pocillos x # de lavados x gastos de reactivo (1.1).
- Se procedió a homogenizar todas las muestras en el Vortex.
- Se colocó 50 μL de los controles positivo y negativo y de los sueros que se querían analizar, cada uno en un pocillo diferente.
- Se añadió 50 μL de conjugado a todos los pocillos en el mismo orden que se adicionaron los sueros y controles.
- Se agitó suavemente con ayuda del marco durante 30 segundos, para después tapar con Parafilm todos los pocillos y dejarlos incubar por 10 minutos a temperatura ambiente dentro de un recipiente oscuro.
- Se procedió a lavar 4 veces con la solución de lavado y agua destilada previamente preparada, para este paso se usó la pipeta multicanal para agilizar el procedimiento.
- Se añadió 100 µL de solución de sustrato en cada pocillo y se dejó actuar durante 5 minutos a temperatura ambiente.
- Se añadió 100 μL de solución de frenado en cada pocillo, en el mismo orden que se suministró la solución de sustrato.

 Finalmente se procedió a colocar el kit en el lector de microELISA para poder a leer los resultados.

3.9.2 Procesamiento de muestras por test inmunocromatográficos.

- Se sacó el test del sobre de aluminio y se lo colocó en una superficie seca y plana.
- Se procedió a identificar el kit escribiendo el número de protocolo del paciente con ayuda de un marcador.
- Se tomó 10 μL (1 gota) de suero con ayuda de una pipeta y se añadió en el pocillo del test.
- Se colocó 2 gotas del diluyente suministrado en el kit (en caso de no observarse la migración de la muestra en la ventana colocar 1 gota adicional).
- Se esperó 10 minutos para tener una interpretación correcta del diagnóstico.
- Pasado los 20 minutos, la interpretación no será válida.

4 RESULTADOS

En esta investigación se pudo obtener los siguientes resultados comparando la sensibilidad del método de microELISA como técnica de referencia, empleada en laboratorios clínicos vs dos test serológicos rápidos usados en consultorios veterinarios para el diagnóstico de leucemia viral felina mediante la detección del antígeno p27, reflejando un grado de sensibilidad muy similar a la de la técnica de referencia.

En la **Tabla 4** se puede observar los resultados positivos y negativos obtenidos por el método de microELISA y los dos tests inmucromatográficos.

Tabla 4. Resultados obtenidos en Test IC 1 y Test IC2

Variable	microELISA	%	Test IC	Test IC 2	%	Sig.
			1			
Positivo	30	75	28	28	70	0.1573
Negativo	10	25	12	12	30	
Total	40		40	40		

*Indica diferencia significativa

Elaborado por: La Autora

Test IC 1: Test inmunocromatográfico 1; Test IC 2: Test inmucromatográfico 2

Se evaluó las pruebas por medio de la **Tabla 2** y las fórmulas de concordancia observada, concordancia debida al azar, concordancia real o no debida al azar, máxima concordancia que puede producirse más allá del azar, con el objetivo de obtener un valor referencial que nos permita determinar con la **Tabla 3** de rangos de valores kappa, el grado de concordancia entre las pruebas.

Tabla 5. Tabla de contingencia microELISA vs test IC 1 y test IC2

			Pruebas diagnósticas de referencia (microELISA)		
		+	-		
Prueba	+	28	0	28	
diagnóstica evaluada	-	2	10	12	
Test IC 1 y 2					
		30	10	40	

La **Tabla 5** es una tabla de contingencia 2 x 2 que se usó para la evaluación de la prueba diagnóstica evaluada por comparación de sus resultados con los obtenidos por la prueba diagnóstica de referencia.

Concordancia observada
$$CO = 28 + 10 = 0.95$$

$$40$$
Concordancia debida al azar $CA = 28 \times 30 + 10 \times 12 = 0.6$

$$40^{2}$$

Concordancia real o no debida al azar CR = 0.95 - 0.6 = 0.35

Máxima concordancia que puede producirse más allá del azar MCMA =1-0.6 =0.40

$$Kapp \underline{a = 0.35} = 0.8$$

Se obtuvo como valor kappa 0.8 que en la **Tabla 3** de rango de valores kappa se determina que el grado concordancia entre las pruebas diagnósticas evaluadas (test inmunocromatográficos) en comparación con la prueba diagnóstica de referencia (microELISA), es muy bueno.

Se obtuvo un porcentaje de sensibilidad por medio de la siguiente fórmula reemplazando los valores con ayuda de la **Tabla 2.**

Sensibilidad =
$$28$$
 = 0.93
 $28 + 2$

El número obtenido se lo multiplicó por 100 para convertirlo en porcentaje, como resultado se obtuvo un 93 % de sensibilidad de 100.

5 DISCUSIÓN

La leucemia viral felina es una de las enfermedades más comunes y con una alta taza de mortalidad, se han desarrollado diferentes métodos para su detección siendo el método de inmunocromatografía (test serológicos rápidos) el más utilizado en consultorios veterinarios.

De acuerdo con los estudios realizados por Westman et al., (2017) en la investigación que realizó en el virus de leucemia felina puede ser una enfermedad difícil de diagnosticar debido a la compleja relación entre el patógeno - huésped felino y en ocasiones las pruebas diagnósticas poco fiables. Se compara PCR con inmucromatografía y determinan que falsos positivos por medio de detección de antígeno p27 fueron más comunes en gatos viejos.

Campbell, et al., (2020) mencionan en su estudio en el que comparan inmucromatografía con PCR en el que, de 39 pacientes positivos por PCR, solo uno dio positivo por inmunocromatografía, por lo que concluyen que se debe de considerar la patogénesis del agente para poder testear correctamente, hacer asociaciones y no hacer un mal diagnóstico al paciente.

Con esta investigación se demostró comparando los estudios descritos anteriormente, que los tests inmunocromatográficos han mejorado su sensibilidad analítica, ofreciéndonos una rápida y eficaz herramienta de diagnóstico, por lo que pueden ser usados con confianza en los consultorios veterinarios.

6 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1 Conclusiones

- Las pruebas comparadas tienen un rango muy bueno de grado de concordancia.
- Las pruebas inmucromatográficas usadas en esta investigación son confiables y útiles para rápidos diagnósticos en consultorios veterinarios.
- Hay una baja probabilidad de falsos negativos en los tests usados en este estudio.

6.2 Recomendaciones

- En caso de usar el método de inmucromatografía o pruebas rápidas y sospechar de un falso negativo, realizar una prueba diagnóstica más sensible como microELISA o PCR.
- Evaluar al paciente y los signos clínicos para la elección del método de diagnóstico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abyntek. (2019). Tipos de ELISA, ¿Conoces la diferencia? Recuperado de https://www.abyntek.com/tipos-de-elisa/
- Aiyaranoi, K., Boonchalaew, N., Chawnan, N., Chotikul, S., & Kampa, J. (2018).

 Prevalence of Feline Immunodeficiency Virus & Feline Leukemia Virus in

 Clinically Healthy Cats in Khon Kaen Province. *Thai Journal of Veterinary*Medicine, 48(1), 117-121.
- Álvarez, D. (2020). Fisiopatología, Diagnóstico Y Prevención De Leucemia Viral Felina. (Monografía de grado). Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales.

 Obtenido de https://repository.udca.edu.co/bitstream/handle/11158/3345/Monografia%2020 20%20%281%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Anai, Yukari et al. 2012. "Infectious Endogenous Retroviruses in Cats and Emergence of Recombinant Viruses." Journal of Virology 86(16): 8634–44.
- Beatty, J. (2017). Feline Immunodeficiency Virus Infection. In S. J. Ettinger, E.C. Feldman & E. Coté (Eeds.). Textbook of Veterinary Internal Medicine (8th ed.) (pp. 2422-2423). St. Louis, Missouri: Elsevier.
- Brown, Meredith A. et al. 2008. "Genetic Characterization of Feline Leukemia Virus from Florida Panthers." Emerging Infectious Diseases 14(2).
- Campbell, L. M.; Lemos, M.; Dutra, V.; Candido, S. L.; Borges, K. I. N.; RamOS, D. G. de S.; Braga, Ísis A. Comparison between immunochromatographic tests and polymerase chain reaction for FIV and FeLV diagnosis. Research, Society and Development, [S. I.], v. 9, n. 7, p. e205974039, 2020. DOI: 10.33448/rsd-v9i7.4039. Disponível em: https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/4039. Acesso em: 19 dec. 2022.
- Cano, J., Gallelli, M. y Gómez, N. (2011), Virus de la Leucemia Felina (ViLeF).

 Revista veterinaria. Argentina. Recuperado de:

 http://www.veterinariargentina.com/revista/2011/08/18822/
- Da-Costa, F. V. A., Del-Valle, S., Machado, G., Corbellini, L. G., Coelho, E. M., Rosa,
 R. B., & González, F. H. D. (2017). Hematological Findings and Factors
 Associated with Feline Leukemia Virus (FeLV) and Feline Immunodeficiency
 Virus (FIV) Positivity in Cats from Southern Brazil. Pesquisa Veterinária

- Brasileira, 37(12), 736X2017001200028.
- Dunham, S.; Graham, E. Retroviral infections of small animals. Veterinary clinics small animal practice. Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice, v.38, n.4, p.879-901, 2008.
- Escalante A, Hermes, Huamanchay C, Obed, & Davelois A, Kelly. (2001). La inmunocromatografía para el diagnóstico de la infección por Taenia solium en Mesocricetus auratus mediante la detección de coproantígenos*. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 18(3-4), 57-62. Recuperado en 24 de octubre de 2022, de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342001000200002&lng=es&tlng=es.
- Filoni, Claudia et al. 2012. "Surveillance Using Serological and Molecular Methods for the Detection of Infectious Agents in Captive Brazilian Neotropic and Exotic Felids." Journal of Veterinary Diagnostic Investigation 24(1): 166–73
- Galdo-Novo, S., Bucafusco, D., Díaz, L. M., & Bratanich. A. C. (2016). Viral Diagnostic Criteria for Feline Immunodeficiency Virus and Feline Leukemia Virus Infections in Domestic Cats from Buenos Aires, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*, 48(4), 293-297. https://doi.org/10.1016/j.ram.2016.07.003.
- Gómez, N. y Guida, N. (2010). Enfermedades Infecciosas de los caninos y felinos. Buenos Aires, Argentina: Intel-Medical S.A.I.C.E. p 353, 354.
- Gutiérrez, M., Gutiérrez, J., Catuli de Simón, M., Doménech, A., Domínguez, G., Gibello, A., Gómez, L., Miró, G., & Simarro, I. (2013). Manual Gráfico. Inmunología y enfermedades infecciosas del perro y el gato. p.92
- Hall, E. J., & Day M. J. (2017). Diseases of the Small Intestine. In S.J. Ettinger, E.C.Feldman & E. Coté (eds.). Textbook of Veterinary Internal Medicine (8th ed.)(pp. 3643-3820). St. Louis, Missouri: Elsevier.
- Hartmann, K., & Levy, J. K. (2017). Feline Leukemia Virus infection. In S.J. Ettinger,E.C. Feldman & E. Coté (eds.). Textbook of Veterinary Internal Medicine (8th ed.) (pp. 2442-2455). St. Louis, Missouri: Elsevier.

- Hartmann, K., & Levy, J. K. (2017). Feline Leukemia Virus infection. In S.J. Ettinger,
 E.C. Feldman & E. Coté (eds.). Textbook of Veterinary Internal Medicine (8th ed.) (pp. 2442-2455). St. Louis, Missouri: Elsevier.
- Hofmann, R. (2018). Feline Leukaemia Virus Infection. http://www.abcdcatsvets.org/feline-leukaemia-virus-infection/
- Hwang, J., Gottdenker, N. L., Oh, D. H., Nam, H. W., Lee, H., & Chun, M. S. (2018). Disentangling the Link between Supplemental Feeding, Population Density, and the Prevalence of Pathogens in Urban Stray Cats. PeerJ, 6, e4988. https://doi.org/10.7717/peerj.4988.
- Inés, Luaces et al. 2008. "Detection of Feline Leukemia Virus in the Endangered Iberian Lynx (Lynx Pardinus) ´a-Montijano, Victorio M. Collado, Celia Sa Ine ´s Luaces, Ana Dome ´Nech, Marino Garcı J. German Tejerizo, Margarita Galka, Pilar Ferna ´Ndez, Esperanza Go." Journal of Veterinary Diagnostic Investigation 385(2008): 381–85.
- Johns, J. L. (2017). Immune-Mediated and Other Nonneoplastic White Blood Cell Disorders. In S.J. Ettinger, E.C. Feldman & E. Coté (eds.). *Textbook of Veterinary Internal Medicine* (8th ed.) (pp. 2137-2150). St. Louis, Missouri: Elsevier.
 - Kawasaki, J., & Nishigaki, K. (2018). Tracking the Continuous Evolutionary Processes of an Endogenous Retrovirus of the Domestic Cat: ERV-DC. Viruses, 10(4), 179. https://doi.org/10.3390/v10040179.
 - Krecic, M. R., Velineni, S., Meeus, P., Fan, H., & Loenser, M. (2018). Diagnostic Performances of two Rapid Tests for Detection of Feline Leukemia Virus Antigen in Sera of Experimentally Feline Leukemia Virus-Infected Cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports*, *4*(1), 2055116917748117. https://doi.org/10.1177/2055116917748117.
- Laboratorio Médico Lidera. (2022). Pruebas inmunomatológocicas ¿Qué son y para qué sirven? Recuperado de https://laboratorioslidera.com/2022/01/21/pruebas-inmunologicas-que-son-y-para-que-sirven/
- Lascelles, B. D. X., & White, R. A. S. (2016). Tumours of the Small Intestines. In J.M. Dobson & B.D.X. Lascelles (eds.). BSAVA Manual of Canine and Feline Oncology (third ed.) (pp. 212-215) India: BSAVA Parksons Graphics. https://doi.org/10.22233/9781905319749.15.5.

- Lutz, Hans et al. 2009. "Feline Leukaemia: ABCD Guidelines on Prevention and Management." Journal of Feline Medicine and Surgery 11(7): 565–74. https://doi.org/10.1016/j.jfms.2009.05.005.
- MacLachlan, N. J., & Dubovi, E. J. (2017). Fenner's Veterinary Virology (5th ed.) (pp. 269-297). Cambridge, USA: Academic Press Elsevier.
- Mandara, M. T., Motta, L., & Calò, P. (2016). Distribution of Feline Lymphoma in the Central and Peripheral Nervous Systems. The Veterinary Journal, 216, 109-116. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2016.07.013
- Paulin, M. V., Couronné, L., Beguin, J., Le Poder, S., Delverdier, M., Sermin, M. O., Bruneau, J., CerfBensussan, N., Malamut, G., Cellier, C., Benchekroun, G., Tiret, L., German, A. J., Hermine, O., & Freiche, V. (2018). Feline Low-Grade Alimentary Lymphoma: An Emerging Entity and A Potential Animal Model for Human Disease. BMC Veterinary Research, 14(1), 306. https://doi.org/10.1186/s12917-018-1635-5.
- Perharić, M., Starešina, V., Turk, N., Barbić, L., Štritof, Z., Hađina, S., Habuš, J., Stevanović, V., Martinković, K., Perko, V. M., & Milas, Z. (2018). The Epidemiology Features of Retroviral Infections in Domestic Cats from the Zagreb Urban Area. Veterinarski Archiv, 88(3), 345-354. https://doi.org/10.24099/vet.arhiv.170406b.
- Powers, Jordan A et al. 2018. "Crossm Feline Leukemia Virus (FeLV) Disease Outcomes in a Domestic Cat Breeding Colony: Relationship to Endogenous FeLV and Other Chronic Viral Infections." 92(18): 1–16.
- Radford, A., & Dawson, S. (2016). Diagnosis of Viral Infections. In J.M. Dobson & B. D. X. Lascelles (eds.). *BSAVA Manual of Canine and Feline Oncology* (third ed.) (pp. 533-548). India: BSAVA Parksons Graphics. https://doi.org/10.22233/9781910443255.28.
- Ramírez, H., Autran, M., García, M. M., Carmona, M. A., Rodríguez, C., & Martínez, H. A. (2016). Genotyping of Feline Leukemia Virus in Mexican Housecats. Archives of Virology, 161(4), 1039-1045. https://doi.org/10.1007/s00705-015-2740-4.
- SAMIUC, (s.f.). Kappa de Cohen https://www.samiuc.es/estadisticas-variables-binarias/medidas-de-concordancia/kappa-de-cohen/

- Szilasi, A., Dénes, L., & Balka, G. (2018). Feline Leukemia Virus (FeLV) Literature Review. Magyar Allatorvosok Lapja, 140(8), 457-472.
- Tomiyasu, H., Doi, A., Chambers, J. K., Goto-Koshino, Y., Ohmi, A., Ohno, K., & Tsujimoto, H. (2018). Clinical and Clinic Pathological Characteristics of Acute Lymphoblastic Leukaemia in Six Cats. Journal of Small Animal Practice, 59(12), 742-746. https://doi.org/10.1111/jsap.12917.
- Vail, D. M. (2017). Hematopoietic Tumors. In S. J. Ettinger, E. C. Feldman & E. Coté (eds.). *Textbook of Veterinary Internal Medicine* (8th ed.) (pp. 5000-5032). St. Louis, Missouri: Elsevier.
- Vázquez, M. (2020). Pruebas inmunológicas para las enfermedades infecciosas.

 Recuperado de https://www.msdmanuals.com/es-ec/professional/enfermedades-infecciosas/diagn%C3%B3stico-de-laboratorio-de-las-enfermedades-infecciosas/pruebas inmunol%C3%B3gicas-para-las-enfermedades-infecciosas#:~:text=Las%20pruebas%20inmunol%C3%B3gicas%20usan%20uno,en%20una%20muestra%20del%20paciente
- Vobis, M., D'Haese, J., Mehlhorn, H., & Mencke, N. (2003). Evidence of Horizontal Transmission of Feline Leukemia Virus by the Cat Flea (Ctenocephalides felis). Parasitology Research, 91(6), 467-470. https://doi.org/10.1007/s00436-003-0949-8.
- Westman, M et al. (2017). Comparison of three feline leukaemia virus (FeLV) point-of-care antigen test kits using blood and saliva. Retrieved from https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0147957116301217
- White, R. N., & Brearley, M. (2016). Tumours of the Urogenital System. In J.M. Dobson & B. D. X. Lascelles (eds.). BSAVA Manual of Canine and Feline Oncology (third ed.) (pp. 248-264). India: BSAVA Parksons Graphics. https://doi.org/10.22233/9781905319749.17.

ANEXOS













DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, Vélez Sarabia, Milena Paulet con C.C: 1207247618 autora del Trabajo de Integración Curricular: Detección de antígeno p27 de ViLeF empleando método de microELISA vs dos test inmuncromatográficos comercializados en la ciudad de Guayaquil. previo a la obtención del título de Médico Veterinario en la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil.

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tienen las instituciones de

educación superior, de conformidad con el Artículo 144 de la Ley Orgánica de

Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del

referido trabajo de titulación para que sea integrado al Sistema Nacional de

Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública

respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la SENESCYT a tener una copia del referido trabajo de titulación, con

el propósito de generar un repositorio que democratice la información, respetando

las políticas de propiedad intelectual vigentes.

Guayaquil, 14 de febrero de 2023

Nombre: Vélez Sarabia, Milena Paulet

C.C: 1207247618



DIRECCIÓN URL (tesis en la web):





REPOSITORIO NACIONAL EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA			
FICHA DE REGISTRO DE TESIS/TRABAJO DE TITULACIÓN			
TEMA Y SUBTEMA:	Detección de antígeno p27 de ViLeF empleando el método de microELISA vs dos test inmuncromatográficos comercializados en la ciudad de Guayaquil.		
AUTOR(ES)	Milena Paulet, Vélez Sarabia		
REVISOR(ES)/TUTOR(ES)	Dra. Melissa Joseth, Carvajal Capa M. Sc.		
INSTITUCIÓN:	Universidad Católica de Santiago de Guayaquil		
FACULTAD:	Facultad de Educación Técnica para el desarrollo		
CARRERA:	Medicina Veterinaria		
TITULO OBTENIDO:	Médico Veterinario		
FECHA DE PUBLICACIÓN:	14 de febrero de 2023	No. DE PÁGINAS:	30
ÁREAS TEMÁTICAS:	Prevalencia patogenia, virus de la inmunodeficiencia felina		
PALABRAS CLAVES/ KEYWORDS:	Gatos, virus de Leucemia Felina, microELISA, inmucromatografía, antígeno p27		
RESUMEN/ABSTRACT (150-250 palabras): Esta investigación fue de carácter comparativo, no			
experimental, que se realizó a partir de la recolección de sueros de gatos dentro de los meses			
de noviembre y diciembre del 2022 en el Laboratorio Clínico Veterinario Diagnovet ubicado en la			
ciudad de Guayaquil, provincia del Guayas. El tamaño de la muestra fueron 40 sueros de gatos			
derivados al laboratorio previamente mencionado para la detección del antígeno p27 del virus			
de leucemia felina (ViLeF) por el método de microELISA, de los cuales 30 fueron positivos y 10			
fueron negativos. La investigación se la realizó en tres fases: Primero la recolección de sueros;			
segundo se utilizó los mismos sueros que fueron anteriormente utilizados para testearlos en dos			
test serológicos rápidos comúnmente usados en consultorios veterinarios, con el objetivo de			
evaluar su grado de concordancia y sensibilidad. La tercera fase consistió en la tabulación de			
datos y el análisis estadístico. Se logró comprobar estadísticamente por medio del rango del			
valor kappa, que ambos tests comparados con el método de microELISA como técnica de			
referencia tienen un grado de concordancia muy bueno, por lo que se concluye que estos tests			
son confiables y pueden ser utilizados como herramienta para un diagnóstico rápido.			
ADJUNTO PDF:	⊠ SI □	NO .	
CONTACTO CON	Teléfono: +593	noil: milana valaz@au	usaa adu aa
AUTOR/ES:	996540885 E-mail: milena.velez@cu.ucsg.edu.ec		
CONTACTO CON LA	Nombre: Dra. Carvajal Capa, Melissa Joseth M. Sc.		
INSTITUCIÓN	Teléfono: +593 958726999		
(C00RDINADOR DEL	E-mail: melissa.carvajal01@cu.ucsg.edu.ec		
PROCESO UTE):: SECCIÓN PARA USO DE BIBLIOTECA			
N°. DE REGISTRO (en base a datos):			
N°. DE CLASIFICACIÓN:			