

Toxoplasmosis: estudio serológico de dos casos clínicos

BETINA DAPRATO¹

CLARA LÓPEZ²

ADRIANA SURANITI³

FERNANDA FUMUSO⁴

IRMA SOMMERFELT⁵

Fecha de recepción: 22 de febrero de 2012

Fecha de aprobación: 27 de abril de 2012

Resumen

El *Toxoplasma gondii* se reproduce sexualmente en felinos, quienes eliminan ooquistes al ambiente con la materia fecal. En ellos también ocurre una fase de diseminación tisular responsable de la sintomatología extraintestinal observada en otras especies, como el canino. El diagnóstico se realiza por métodos serológicos de aglutinación directa con 2 mercaptoetanol (ADc2ME): detecta inmunoglobulinas (Ig) G y sin 2Me (ADs2ME): detecta Ig totales, e inmunofluorescencia indirecta (IFI). Se presentaron a consulta dos casos clínicos a los cuales se les realizó AD (con y sin 2ME) e IFI, para determinar el título de anticuerpos IgG, IgM e Ig totales anti *Toxoplasma gondii*. Un canino macho de 8 meses, raza Pitbull, convulsivo, presentó un título de ADc2ME de 1/8192 y ADs2ME de 1/32768, IFI-IgG de 1/100 e IFI-IgM de 1/50. Una segunda muestra (16 días después) mostró idénticos títulos de ADc y s2ME, una IFI-IgG de 1/400 e IFI-IgM de 1/100. Un felino hembra de 9 años, común europeo, con decaimiento, anorexia y coproparasitológico con ooquistes compatibles con *Toxoplasma gondii*, presentó ADc2ME de 1/2048 y ADs2ME de 1/8192, IFI-IgG de 1/3200 e IFI-IgM de 1/50. La toma de muestras pareadas para IFI o la ADc y s2ME en una sola muestra permitió establecer el estadio de la infección en estos animales sintomáticos.

Palabras clave

Toxoplasmosis, inmunofluorescencia indirecta, aglutinación directa, gato, perro.

1 Bioquímica, veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires. Correo electrónico: bdaprato@fvet.uba.ar

2 Médica veterinaria, MSc Salud Pública. Profesora adjunta del Área de Veterinaria en Salud Pública, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires. Correo electrónico: cmlopez@fvet.uba.ar

3 Médica veterinaria.
Especialista en Clínica
Médica Pequeños
Animales. Jefe del
Servicio de Neurología
del Hospital Escuela de
la Facultad de Ciencias
Veterinarias, Universidad
de Buenos Aires.
Correo electrónico:
asuraniti@fvvet.uba.ar

4 Estudiante de
grado de la carrera de
Veterinaria, Facultad de
Ciencias Veterinarias,
Universidad de Buenos
Aires. Correo electrónico:
fernandafumuso@yahoo.
com.ar

5 Diplomado en Salud
Pública. Doctora y
profesora titular del Área
de Veterinaria en Salud
Pública, Facultad de
Ciencias Veterinarias,
Universidad de Buenos
Aires, Correo electrónico:
isom@fvvet.uba.ar

TOXOPLASMOSIS: SEROLOGICAL STUDY OF TWO CLINICAL CASES

Abstract

Toxoplasma gondii reproduces sexually in cats, who eliminate oocysts into the environment through feces. They also have a tissue dissemination phase responsible for the extraintestinal symptomatology observed in other species, such as canines. Diagnosis is made through direct agglutination serological methods with 2 mercaptoethanol (ADc2ME): detects immunoglobulin (Ig) G and without 2Me (ADs2ME): detects total Ig and indirect immunofluorescence (IFI). Two cases were presented for consult, to which AD (with and without 2ME) and IFI were performed in order to determine the title of total antibodies IgG, IgM and Ig anti *Toxoplasma gondii*. An eight-month male Pitbull, convulsive, presented an ADc2ME title of 1/8192 and ADs2ME of 1/32768, IFI-IgG of 1/100 and IFI-IgM of 1/50. A second sample (16 days later) showed identical titles of ADc and s2ME, an IFI-IgG of 1/400 and IFI-IgM of 1/100. A nine-year-old female cat, common in Europe, with declining health, anorexia and coproparasitological with oocysts compatible with *Toxoplasma gondii*, presented ADc2ME of 1/2048 and ADs2ME of 1/8192, IFI-IgG of 1/3200 and IFI-IgM of 1/50. Samples matched for IFI or the ADc and s2ME in one sample allowed the identification of the stage of infection in these symptomatic animals.

Keywords

Toxoplasmosis, indirect immunofluorescence, direct agglutination, cat, dog.

TOXOPLASMOSE: ESTUDO SOROLÓGICO DE DOIS CASOS CLÍNICOS

Resumo

O *Toxoplasma gondii* reproduz-se sexualmente em felinos, que eliminam oocistos ao ambiente com a matéria fecal. Neles também ocorre uma fase de disseminação tisular responsável pela sintomatologia extraintestinal observada em outras espécies, como o canino. O diagnóstico realiza-se por métodos sorológicos de aglutinação direta com 2 mercaptoetanol (ADc2ME): detecta imunoglobulinas (Ig) G e sem 2Me (ADs2ME): detecta Ig totais, e imunofluorescência indireta (IFI). Apresentaram-se a consulta dois casos clínicos aos quais foram feitos AD (com e sem 2ME) e IFI, para determinar o título de anticorpos IgG, IgM e Ig totais anti *Toxoplasma gondii*. Um canino macho de 8 meses da raça Pitbull, convulsivo, apresentou um título de ADc2ME de 1/8192 e ADs2ME de 1/32768, IFI-IgG de 1/100 e IFI-IgM de 1/50. Uma segunda amostra (16 dias depois) mostrou títulos idênticos de ADc e s2ME, uma IFI-IgG de 1/400 e IFI-IgM

de 1/100. Um felino fêmea de 9 anos, comum europeu, com enfraquecimento, anorexia e coproparasitológico com oocistos compatíveis com *Toxoplasma gondii*, apresentou ADc2ME de 1/2048 e ADs2ME de 1/8192, IFI-IgG de 1/3200 e IFI-IgM de 1/50. A coleta de amostras pareadas para IFI o a ADc e s2ME em uma só amostra permitiu estabelecer o estágio da infecção nestes animais sintomáticos.

Palavras chave

Toxoplasmose, imunofluorescência indireta, aglutinação direta, gato, cachorro.

Introducción

La toxoplasmosis es una zoonosis parasitaria distribuida mundialmente. Si bien tiene a los felinos domésticos y salvajes como hospedadores definitivos, alberga una amplia variedad de especies animales como hospedadores intermediarios incluidos los caninos y el ser humano (Acha y Szyfres, 2003).

Las especies susceptibles pueden adquirir la infección por medio de la ingestión de ooquistes esporulados (eliminados por materia fecal), pseudoquistes con taquizoitos o quistes con bradizoitos (presentes en tejidos de animales infectados).

En el intestino se produce una activa multiplicación, y por vía hemolinfática invaden diversos tejidos. Este proceso es frenado progresivamente con la maduración de la respuesta inmune, que da lugar a la formación de quistes con bradizoitos que pueden persistir durante toda la vida del animal y reactivarse ante estados de inmunodeficiencia como enfermedades inmunosupresoras, neoplasias o tratamientos con dosis elevadas de glucocorticoides (Lindsay et ál., 1997a y 1997b).

Los perros infectados pueden o no presentar síntomas. Cuando presentan síntomas clínicos puede observarse afectación nerviosa, oftalmológica, muscular, digestiva, respiratoria y fiebre (Acha y Szyfres, 2003; Dubey y Lappin, 2006; Troxel, 2009; Miró, 2010). La sintomatología nerviosa y muscular suele ser la más grave. Los signos neurológicos dependen de la localización de los quistes tisulares y de las lesiones resultantes y, frecuentemente, se presentan convulsiones, temblores, paresia, ceguera, parálisis y ataxia. El diagnóstico se basa en las manifestaciones clínicas y en la serología por detección de anticuerpos IgG e IgM. La presencia de

IgM indica una infección activa reciente, aunque estas inmunoglobulinas pueden permanecer por varios meses. Las IgG se elevan en la segunda semana posinfección, siendo necesario realizar dos muestras pareadas para comprobar el aumento de título para diferenciar la infección activa de la crónica.

En los gatos los signos clínicos más característicos son anorexia, letargia, disnea por neumonía y uveítis, además de fiebre persistente, ictericia, hepatitis, diarrea y vómitos. Las manifestaciones neurológicas son menos frecuentes (Miró et ál., 2010). El diagnóstico en felinos debe incluir la clínica y la evidencia serológica de infección activa o reciente, debe demostrarse la respuesta al tratamiento o la presencia de *T. gondii* en tejidos o líquidos corporales (Lappin, 1990). Los ooquistes pueden detectarse en materia fecal felina por técnicas de flotación en sacarosa (Benbrook y Sloss, 1965), pero como morfológicamente son indistinguibles de otros coccidios (*H. hammondi* y *Besnoitia* spp.), deben ser inoculados en ratón para su diferenciación. El objetivo del presente estudio fue describir dos casos clínicos y determinar los resultados serológicos que permitieran establecer el estadio de la infección.

Materiales y método

Se obtuvieron muestras de sangre de dos casos clínicos (un canino y un felino) con sintomatología compatible con toxoplasmosis. Se procesaron inmediatamente separándose el suero por centrifugación a 2500 rpm. Cada suero fue analizado por las técnicas de ADc2ME/ADs2ME (Polychaco) con la finalidad de cuantificar a través de un título las IgG y las Ig totales, y por (IFI) para IgG e IgM.

La AD se realizó según indicaciones del fabricante, y las IFI a partir de una dilución 1/25 de los sueros en *buffer* fosfato salino (PBS) y con diluciones sucesivas al medio hasta punto final. Las improntas utilizadas fueron provistas por la Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud Dr. Carlos G. Malbrán. Los conjugados anti-IgG felina (ref. 4262) y anti-IgG canina (ref. 7884) ambos marcados con isotiocianato de fluoresceína (Sigma) se utilizaron en dilución 1/100 en PBS. Los conjugados anti IgM de felino y canino también marcados con isotiocianato fluoresceína (VMRD) se utilizaron como indica el fabricante. Se observó la presencia o no de fluorescencia con microscopio de fluorescencia (Zeiss).

Se tomó una muestra de materia fecal felina que fue analizada por la técnica de flotación con solución azucarada concentrada (Benbrook y Sloss, 1965). En el caso del canino logró obtenerse una segunda muestra de sangre que se procesó en forma paralela a la primera (muestras pareadas) para comparar los títulos.

Resultados

Caso 1. Canino macho de 8 meses, raza Pitbull, se presenta a consulta por episodios convulsivos tónico-clónicos generalizados diarios con una duración de 2 a 3 min. De la anamnesis se obtiene que el canino habitualmente ingiere pasto y caza, incluso gatos, no convive con otros animales y fue adquirido en un criadero a los 45 días de edad. Al examen clínico se detecta un soplo sistólico 2/6 con leve deterioro de la función sistólica. Se medica con fenobarbital (75 mg/12 h), diazepam (20 mg/12 h), furosemida (dos veces por semana) y enalapril (10 mg diarios). Se solicita análisis de sangre que incluye serología para toxoplasmosis. Presentó un título de anticuerpos por ADc2ME de 1/8192 y ADs2ME de 1/32768, IFI-IgG de 1/100 e IFI-IgM de 1/50. Una segunda muestra (16 días después) mostró idénticos títulos de ADc y s2ME, una IFI-IgG de 1/400 e IFI-IgM de 1/100. Luego de la segunda muestra se agregó al tratamiento clindamicina 12,5 mg/kg cada 12 h vía oral. Los propietarios del animal comentaron una mejoría notoria en la siguiente visita, luego de una semana.

Caso 2. Felino hembra de 9 años, común europeo, con decaimiento, anorexia de dos días de evolución, en buen estado general, con hábitos de caza. Se realiza ultrasonido abdominal donde se observa gas en intestino y cambios mínimos en la ecogenicidad hepática. Se solicitan análisis de sangre y de materia fecal. En el coproparasitológico se observan ooquistes de 10 x 12 μ compatibles con los de *Toxoplasma gondii*. Presentó una serología para toxoplasmosis con los siguientes títulos: ADc2ME de 1/2048 y ADs2ME de 1/8192, IFI-IgG de 1/3200 e IFI-IgM de 1/50. Se trató con clindamicina 10 mg/kg/12 h vía oral durante 4 semanas, mejorando a las 24 h de comenzado el tratamiento.

En los dos casos fue muy útil contar con los resultados de la serología rápidamente, ambos animales se recuperaron luego de agregar clindamicina al tratamiento.

Discusión

Cuando la toxoplasmosis presenta síntomas, estos suelen ser inespecíficos, por lo que resulta importante realizar el diagnóstico diferencial. En los caninos es fundamental diferenciar neosporosis, hepatozoonosis y moquillo; en los gatos, todas las causas de uveítis y de patología neurológica, prestando especial atención a estados de inmunocompromiso por los virus de la inmunodeficiencia felina (VIF) y de la leucemia felina (VILeF).

Se ha comprobado experimentalmente la capacidad del perro para ser un hospedero intermediario con la particularidad de transportar a lo largo de su aparato digestivo los ooquistes ingeridos con la materia fecal felina y eliminarlos con características infectivas (Lindsay et ál., 1997). También pueden redistribuir ooquistes originalmente defecados por el gato al transportarlos en su pelaje luego de entrar en contacto con materia fecal felina (Etheredge et ál., 2004; Jittapalapong et ál., 2007).

Los gatos cumplen un rol fundamental en la transmisión de la toxoplasmosis ya que son huéspedes definitivos del parásito, pudiendo excretar 600 millones de ooquistes durante la fase de eliminación de la primoinfección (Basso y Venturini, 2008). Si la infección se produce por quistes tisulares el periodo patente puede durar hasta tres semanas, con una prepatencia de 4 a 13 días. Si la infección fue por ooquistes el periodo prepatente es mayor (18 a 36 días) y la eliminación de ooquistes es escasa, por poco tiempo e incluso puede no ocurrir (Freyre et ál., 1989).

Si bien es poco frecuente que los gatos reeliminen ooquistes, se ha comprobado experimentalmente que puede ocurrir luego de 6 años de la primoinfección o cuando se infectan con *Cystoisospora felis* luego de *Toxoplasma gondii* (Dubey y Beattie 1988; Dubey et ál., 1995). En todos estos casos los ooquistes contaminan el medioambiente el cual comparten con sus dueños y con otros humanos.

Teniendo en cuenta la estrecha relación humano-mascota es sumamente importante que los veterinarios clínicos que atienden animales con sintomatología compatible con alguna zoonosis, entre ellas la toxoplasmosis, ordenen los exámenes complementarios que sean necesarios en cada caso y lleguen al diagnóstico definitivo. De esta forma se podrán tomar las medidas preventivas del caso.

El tiempo transcurrido entre la infección con quistes tisulares y la posibilidad de detectar anticuerpos anti *T. gondii* varía según la técnica utilizada: AD 10 a 30 días, IgG e IgM por IFI 14 y 7 días, respectivamente (Omata et ál., 1990).

Se debería trabajar en el perfeccionamiento de técnicas que detecten IgM, que en nuestro medio no están correctamente estandarizadas, dado que podrían detectarse precozmente, en especial si la infección ocurre por ingestión de ooquistes.

Una opción interesante es realizar la ADc y s2ME para diferenciar una infección activa de una crónica, aunque sería importante evaluar esta técnica en forma poblacional para cada especie y corroborar sus resultados con otras técnicas como inmunofluorescencia, Elisa o Western Blot.

Referencias

Acha, P., Szyfres, B. (2003). *Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales* (53-98). 3° edición. Organización Panamericana de la Salud.

Basso, W., Venturini, M. C. (2008). *La toxoplasmosis en los animales domésticos y silvestres criados en cautiverio: aspectos epidemiológicos y diagnóstico*. Temas de zoonosis IV. (355-361). Buenos Aires: Asociación Argentina de Zoonosis.

Benbrooke, A., Sloss, M. (1965). *Parasitología Clínica Veterinaria*. México: Continental.

Dubey, J., Beattie, C. (1988). *Toxoplasmosis of animal and man*. Boca Ratón: CRC Press Inc.

Dubey, J., Lappin, M., Thulliez, P. (1995). Long term antibody responses of cats fed *Toxoplasma gondii* tissue cysts. *Journal of Parasitology*, 81, 887-893.

Dubey, J., Lappin, M. (2006). Toxoplasmosis and Neosporosis. In Greene C. *Infectious Diseases of the dog and the cat* (754-775). 3th edition. Philadelphia: Saunders Co.

Etheredge, G., Frenkel, J., Muehlenbein, M., Michael, G. (2004). The roles of cats and dogs in the transmission of *Toxoplasma* infection in Kuna and Embera children in eastern Panama. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 16 (3), 176-186.

Freyre, J., Dubey, J., Smith, D., Frenkel, J. Oocysts induced *Toxoplasma gondii* infections in cats. *Journal of Parasitology*, 75 (5), 750-755.

Jittapalapong, S., Nimsupan, B., Pinyopanuwat, N., Chimnoi, W., Kabeya, H., Maruyama, S. (2007). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in stray cats and dogs in the Bangkok metropolitan area, Thailand. *Veterinary Parasitology*, 145, 138-141.

Lappin, M. (1990). Challenging cases in internal medicine: what's your diagnosis? *Veterinary Medicine*, 84, 448-455.

Lindsay, D., Dubey, J., Blagburn, B. (1997a). Feline toxoplasmosis and the importance of *Toxoplasma gondii* oocysts. *Parasitology*, 19, 448-461.

Lindsay, D., Dubey, J., Blagburn, B. (1997b). Mechanical transmission of *Toxoplasma gondii* oocysts by dogs. *Veterinary Parasitology*, 73, 27-33.

Miró, G. (2010). Toxoplasmosis. En Gómez, N., Guida, N. *Enfermedades infecciosas de los caninos y felinos* (281-284, 443-453). Buenos Aires: Intermédica.

Omata, Y., Oikawa, H., Kanda, M., Mikazuki, K., Nakabayashi, T., Suzuki, N. (1990). Experimental feline toxoplasmosis: humoral immune responses of cats inoculated orally with *Toxoplasma gondii* cysts and oocysts. *Nihon Juigaku Zasshi*, 52 (4), 865-867.

Troxel, M. (2009). Infectious neuromuscular diseases of dogs and cats. *Topics in Companion Animal Medicine*, 24 (4), 209-220.