

# DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE *TOXOPLASMA GONDII* EM GATOS.

## MOLECULAR DIAGNOSIS OF *TOXOPLASMA GONDII* IN CATS

<sup>1</sup>STURION, D. J.; <sup>1</sup>STURION, M, A. T.; <sup>1</sup>STURION, T. T.; <sup>1</sup>COSTA, I. B.; <sup>2</sup>MARTINS, E. L.; <sup>2</sup>SILVA, S. J.

<sup>1</sup> Docente do curso de medicina veterinária das Faculdades Integradas de Ourinhos FIO

<sup>2</sup> Discente de medicina veterinária das Faculdades Integradas de Ourinhos FIO

### RESUMO

A toxoplasmose é uma zoonose de grande relevância, está disseminada por todo mundo. Sua maior importância está relacionada com gestantes e indivíduos imunossuprimidos. Tem o gato como hospedeiro definitivo o qual elimina no ambiente os oocistos pelas fezes onde *T. gondii* possui seu ciclo sexual completo. A infecção se dá pela ingestão de oocistos esporulados, ingestão de cistos em carnes mal cozidas ou cruas, assim como em frutas e vegetais mal lavadas e pela via transplacentária. O diagnóstico indireto se faz através de métodos sorológicos, e diretamente, por reação em cadeia da polimerase (PCR), hibridação, isolamento e anatomopatologia. São descritas falhas ao detectar IgG e IgM durante a fase ativa da infecção, e tem sido demonstrado que esses anticorpos podem não ser produzidos durante as primeiras semanas da parasitemia. O PCR, é um exame de grande potencial para o diagnóstico não invasivo da toxoplasmose disseminada, podendo estimar a concentração de parasitos no organismo infectado. O presente trabalho tem por objetivo realizar uma revisão de literatura sobre diagnóstico de toxoplasmose em gatos.

**Palavras chave:** *Toxoplasma gondii*, gatos, PCR.

### ABSTRACT

Toxoplasmosis is a zoonosis of great importance, is widespread throughout the world. Its greatest importance lies in pregnant women and immunosuppressed individuals. Has the cat as definitive host, which eliminates the oocysts in the environment where the faeces *T. gondii* has complete sexual cycle. Infection occurs by ingestion of oocysts, ingestion of cysts in undercooked or raw meat, as well as in poorly washed fruits and vegetables and transplacentally. The diagnosis is made through indirect serological methods, and directly by polymerase chain reaction (PCR), hybridization, isolation and anatomopathology. They describe the failure to detect IgG and IgM during the active phase of infection, and has been shown that these antibodies can not be produced during the first week of parasitemia. The PCR test is a great potential for the noninvasive diagnosis of disseminated toxoplasmosis, which can estimate the concentration of parasites in the infected organism. This paper aims to review literature on diagnosis of toxoplasmosis in cats.

**Keywords:** *Toxoplasma gondii*, Cats, PCR.

### INTRODUÇÃO

O *Toxoplasma gondii* foi descoberto quase ao mesmo tempo por Nicolle e Manceaux, na Tunísia, e por Splendore, no Brasil, em 1908. (SOUZA et al, 2010; QUITES, 2009; CRISTO et al., 2005).

O primeiro relato de toxoplasmose clínica em gatos ocorreu em 1942. (QUITES, 2009).

Apesar da identificação do parasita ter ocorrido em 1908, seu modo de transmissão só foi definido em 1970, quando seu ciclo biológico completo foi descoberto. (VARGAS, 2006).

O *Toxoplasma gondii* é um parasito coccidiano intracelular obrigatório que tem o gato como hospedeiro definitivo. Este é responsável pela eliminação de os oocistos no ambiente, através das fezes, tornando a toxoplasmose uma das zoonoses mais importantes. (RAMSEY ; TENNANT, 2010; NELSON ; COUTO, 2010; PINTO et al., 2009; ETTINGER; FELDMAN, 2004).

A prevalência da infecção humana na maioria dos países está entre 40% e 50%, e no Brasil essa taxa aumenta até 80%, dependendo da área estudada (CRISTO et al, 2005). Segundo Qites (2009), a grande variação da soroprevalência desta doença está relacionada com fatores geográficos, climáticos, ocupacionais, hábitos alimentares e a procedência urbana ou rural dos indivíduos. De acordo com Cristo et al (2005), a distribuição mundial da doença fica em torno de 20% a 75% nas populações soropositivas. No Brasil, a soroprevalência tem sido determinada entre 50% e 80%.

Durante os últimos 15 anos, o diagnóstico de agentes infecciosos inclui o uso de tecnologia que envolve os ácidos nucléicos. A presença do parasito pode ser demonstrada através de seus componentes antigênicos ou de segmentos de DNA, tendo sua replicação *in vitro* descrita em 1985. O ensaio da PCR é uma técnica utilizada em testes clínicos para detecção de alterações genéticas ou infecções por diferentes agentes etiológicos. Avanços recentes no conhecimento do genoma do *T. gondii* tornaram possível a utilização da PCR para a detecção do parasito. (CRISTO et al., 2005).

## DESENVOLVIMENTO

O *T. gondii* é um protozoário apicomplexo, com período sexual no intestino de gatos. A doença clínica está relacionada ao estágio extra intestinal no qual se multiplica rapidamente e é disseminado para outros tecidos através da linfa e do sangue (RAMSEY ; TENNANT, 2010).

De acordo com Souza et al. (2010) e Vargas (2006), o *Toxoplasma gondii* é caracterizado como um protozoário de distribuição cosmopolita encontrado na natureza e pode causar infecção em grande número de mamíferos e aves.

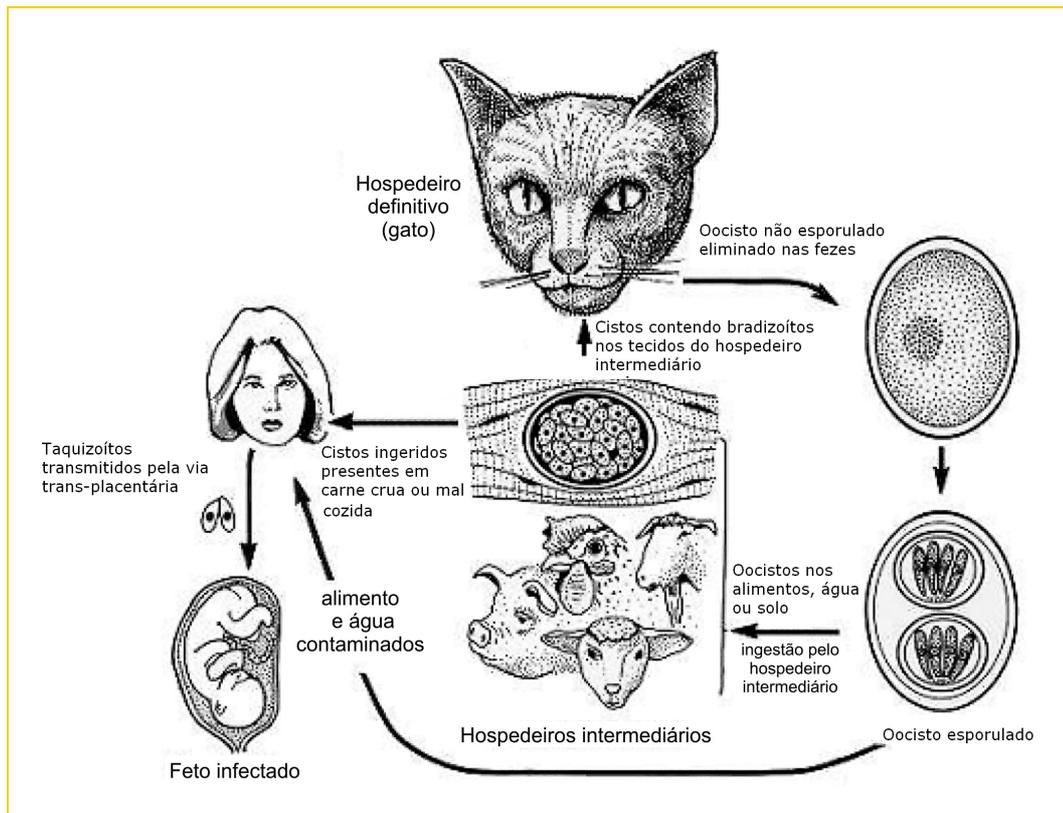
Segundo Costa-Silva e Pereira-Chiocola (2010), o *T. gondii* pode infectar peixes, anfíbios, répteis, aves e mamíferos. Geralmente a infecção nos humanos é assintomática nos indivíduos imunocompetentes, no entanto pessoas imunodeprimidas os sintomas da toxoplasmose podem se manifestar gravemente (BONAMETTI et al., 2007).

A infecção primária por toxoplasmose em adultos e crianças imunocompetentes podem ser assintomáticas ou apenas manifestar-se com sinais de uma gripe. Após a parasitemia inicial devido à resposta imune do hospedeiro, limita multiplicação e faz com que o parasita forme cistos no cérebro, na musculatura esquelética e cardíaca ou no fígado. Os cistos podem sobreviver durante toda a vida do hospedeiro, podendo ocorrer a doença clínica se os cistos forem reativados. (RAMSEY ; TENNANT, 2010).

Este processo é de grande importância em indivíduos imunocomprometidos, como os H.I.V- positivos, por exemplo, onde estão sujeitos a reativação dos bradizoítas nos cistos teciduais, e levar a desenvolver toxoplasmose cerebral com risco de vida. (ETTINGER ; FELDMAN, 2004).

Segundo Vaz et al (2010), possuem tropismo por células do tecido nervoso e embrionária. Os taquizoítas representam o estágio de disseminação e divisão intracelular rápida, até que a célula invadida se rompa ou o sistema imune atenua a replicação, já os bradizoítas representam o estágio persistente, possuem a característica de se replicarem lentamente, podem persistir por toda vida de um indivíduo imunocompetente, principalmente nos músculos, órgãos viscerais e sistema nervoso central (SNC) (NELSON ; COUTO, 2010; ETTINGER ; FELDMAN, 2004).

De acordo com Pinto et al (2009), o *T. gondii* possui três estágios infectantes, os oocistos que podem ser transmitidos através das fezes dos gatos, os taquizoítos que participa na transmissão via transplacentária, e através do carnivorismo onde são ingeridos cistos com bradizoítas como mostra a (Figura 1).



**Figura 1** - Esquemática da forma de **transmissão** (FONTE: Dubey, 1988)

Segundo Souza-Júnior et al. (2010), a Toxoplasmose durante a gestação apresenta especial relevância devido aos danos para o desenvolvimento fetal, podendo causar sequelas imediatas ou tardias.

Quando uma mulher gestante contrai uma infecção primária, o parasita pode atravessar a placenta e infectar o feto, podendo levar ao abortamento ou parto prematuro, no entanto os que sobrevivem podem ter um déficit neurológico permanente. (ETTINGER ; FELDMAN, 2004).

O *T. gondii*, possui características teratogênicas, causadora de defeitos congênitos, atravessa a membrana placentária e infecta o feto, causando lesões no cérebro e nos olhos, resultando em distúrbios mentais, microftalmia, hidrocefalia coriorretinite, perda da audição e outras anomalias. (MOORE ; PERSAND, 2008).

Assim, é improvável que ocorra uma contaminação fetal no primeiro terço de gestação, mas caso ocorra gera uma grave infecção, já no segundo e terceiro terço apresentam consequências menos graves. (ETTINGER ; FELDMAN, 2004).

Se a gestante adquire a infecção no terceiro trimestre de gestação, a criança pode nascer normal e apresentar evidências da doença alguns dias, semanas ou meses após o parto. (SOUZA et al., 2010).

Segundo Vargas (2006), o ciclo biológico do *T. gondii* é complexo e necessita de dois hospedeiros. Os gatos são hospedeiros definitivos desse parasita, é no intestino dos gatos que ocorre o ciclo de vida completo do *T. gondii*. Os animais de sangue quente são seus hospedeiros intermediários ou incompletos incluindo os felídeos, isto faz com que o toxoplasma seja um dos parasitas de menor especificidade de hospedeiros.

De acordo com Nelson e Couto (2010), os três principais estágios de desenvolvimento são os oocistos (com esporozoítos), os bradizoítos e os taquizoítos.

Segundo Souza et al. (2010) e Vargas (2006), a infecção se dá pela ingestão de oocistos esporulados, ingestão de cistos em carnes mal cozidas ou cruas e pela via transplacentária.

Os oocistos na porção final do intestino dos gatos não estão na forma esporulada, por isso, não são infecciosos. Esporozoítas infecciosos desenvolvem-se em oocistos após um a cinco dias de exposição ao oxigênio em temperatura e umidade apropriadas. Uma vez esporulados, os oocistos são infecciosos para maioria dos vertebrados de sangue quente e conseguem sobreviver no ambiente por meses ou anos. (NELSON ; COUTO, 2010; ETTINGER ; FELDMAN, 2004).

De acordo com Vargas (2006), menos de 1% da população felina em um determinado momento de sua vida elimina entorno de 100.000 oocistos por gramas de fezes durante 7 a 14 dias somente. Segundo Pinto et al (2009), os gatos podem chegar a eliminar 360 milhões de oocistos em apenas um dia. Os oocistos são disseminados no ambiente através da água e do vento e pelos hospedeiros de transporte. Assim, a água, o solo, as frutas e os vegetais em geral, podem ser contaminados. (VARGAS, 2006).

Os animais podem contrair a toxoplasmose após a ingestão de alimentos ou água contaminada com as fezes infectadas (RAMSEY ; TENNANT, 2010).

Segundo Pinto et al. (2009), os gatos por possuírem o hábito de caçar podem se infectar através da ingestão de pequenos mamíferos e pássaros infectados pelo parasito na forma de cistos teciduais. Um gato com toxoplasmose ativa elimina oocistos em suas fezes durante três semanas após a infecção primária, se os

ocistos esporulados forem ingeridos pelo homem ou por outro animal resultará em infecção, principalmente através do consumo de carnes mal cozidas ou cruas contendo cisto de toxoplasmose. (ETTINGER ; FELDMAN, 2004; MOORE ; PERSAND, 2008).

O contato direto com gatos infectados dificilmente resultará em contaminação do manipulador, devido os gatos não contaminar os pêlos de modo significativo, possui o hábito de se limparem logo após a defecação não permitindo que os oocistos fiquem o tempo suficiente para esporularem. (ETTINGER ; FELDMAN, 2004).

Segundo Ettinger e Feldman (2004), a profilaxia se dá através da remoção diária e o descarte apropriado das fezes em caixa sanitárias, impedindo assim o desenvolvimento do estágio infeccioso, mesmo se o gato estiver eliminando os oocistos, assim como a higienização das mãos com água e sabão sempre após a manipulação da caixa utilizada, ficando restrito para gestantes o contato com as fezes dos gatos. (ETTINGER ; FELDMAN, 2004).

As gestantes não imunes devem evitar o contato com o solo (possível contaminação com as fezes do gato) e a ingestão de carne crua, utilizar luvas na jardinagem, higienizar bem frutas e legumes antes de consumi-los. (MOORE ; PERSAND, 2008).

A prevenção da toxoplasmose congênita e das sequelas deve ser realizada através de uma estratégia multidisciplinar, como educação das gestantes não imunes ou suscetíveis sobre comportamentos preventivos, diagnóstico precoce, assim como o tratamento antiparasitário adequado das gestantes com infecção aguda, tratamento dos fetos infectados e tratamento precoce dos recém-nascidos, mesmo que assintomáticos. (SOUZA et al., 2010).

Segundo Cristo et al. (2005), o sorodiagnóstico é bastante usado nos exames de rotina da gestante para se prevenir a toxoplasmose congênita.

## **DIAGNÓSTICO**

De acordo com Cristo et al (2005), a infecção pelo *T. gondii* pode ser diagnosticada indiretamente, através de métodos sorológicos, e diretamente, por reação em cadeia da polimerase (PCR), hibridação, isolamento e anatomopatologia.

O diagnóstico através da detecção de anticorpos específicos para *T. gondii* podem ser detectados no soro de cães e gatos com ou sem sinais clínicos, porém estes testes isolados não servem de base para um diagnóstico clínico antes da morte, devendo ocorrer uma combinação de testes como: demonstração de anticorpos no soro, que documenta a exposição ao *T. gondii*, demonstração de um título de imunoglobulinas M (IgM) maior do que 1:64 ou aumento de quatro vezes ou mais no título de IgG, sugerindo infecção ativa ou recente, associados com sinais clínicos compatíveis e exclusão de outras causas e também resposta positiva ao tratamento apropriado. Títulos positivos para IgM são mais confiáveis para detecção da infecção recente da *T. gondii*. (RAMSEY ; TENNANT, 2010; NELSON ; COUTO, 2010; ETTINGER; FELDMAN, 2004).

Segundo Costa-Silva; Pereira-Chiocola (2010) os modelos de evolução da infecção humana apontam três perfis sorológicos, infecção recente, 0 a 8 meses com alto percentual de anticorpos IgM e IgG de baixa avidéz, o segundo perfil o de transição, 8 a 24 meses com decréscimo dos anticorpos IgM e aumento de IgG de alta avidéz e o terceiro perfil refere-se com a infecção latente/crônica, dos 24 meses em diante, com aumento dos anticorpos IgG de alta avidéz e IgM ausente ou persistente. De acordo com Souza-Junior et al (2010), os níveis de anticorpos IgM podem permanecer reagentes no soro até mais de 18 meses após a infecção, níveis elevados de IgG indicam infecção ocorrida em período superior a 12-16 semanas. De acordo com Vargas (2006), um único título positivo pode indicar imunidade, o título negativo indica que não houve exposição prévia ao *T.gondii*, ou seja, uma infecção no futuro é possível.

Segundo Cristo et al. (2005), o sorodiagnóstico é bastante usado nos exames de rotina da gestante para se prevenir a toxoplasmose congênita. Têm sido evidentes certas limitações desses métodos, uma vez que são descritas falhas ao detectar IgG e IgM durante a fase ativa da infecção, e tem sido demonstrado que esses anticorpos podem não ser produzidos durante as primeiras semanas da parasitemia.

Amostras de sangue testadas para se investigar parasitemia por ensaios de PCR, amplificando-se segmentos dos genes B1 e P30 de *T. gondii*, mostraram o potencial da técnica para o diagnóstico não invasivo da toxoplasmose disseminada, podendo estimar a concentração de parasitos no fluido corporal como sangue,

líquido amniótico, liquor, humor aquoso, fluido de lavado bronco-alveolar, e até urina. (CRISTO et al., 2005).

A evidenciação do parasita pela demonstração de seus componentes como antígenos ou segmentos de DNA é de alto valor diagnóstico e vem assumindo posição de destaque especialmente em imunodeficientes. Através do PCR é possível detectar DNA de microorganismos com grande sensibilidade e especificidade. (CANTOS et al., 2000).

A combinação da detecção do anticorpo específico contra *T. gondii* e do próprio microrganismo pela reação em cadeia da polimerase (PCR) no líquido cefalorraquidiano (LCE) ou do humor aquoso é o modo mais preciso para diagnosticar toxoplasmose neurológica ou ocular em gatos. (ETTINGER ; FELDMAN, 2004)

## **CONCLUSÃO.**

A infecção pelo *T. gondii* pode ser diagnosticada indiretamente, através de métodos sorológicos, e diretamente, por reação em cadeia da polimerase. O diagnóstico através da detecção de anticorpos específicos para *T. gondii* (IgG, IgM), podem ser detectados no soro de cães e gatos com ou sem sinais clínicos. Um único título positivo pode indicar imunidade. Falhas são descritas ao detectar IgG e IgM durante a fase ativa da infecção, e tem sido demonstrado que esses anticorpos podem não ser produzidos durante as primeiras semanas da parasitemia.

A presença do parasito pode ser demonstrada através de seus componentes antigênicos ou de segmentos de DNA. O ensaio da PCR é uma técnica utilizada em testes clínicos para detecção de infecções por diferentes agentes etiológicos. Avanços recentes no conhecimento do genoma do *T. gondii* tornaram possível a utilização da PCR para a detecção do parasito, a evidenciação do parasita pela demonstração de seus componentes como antígenos ou segmentos de DNA é de alto valor diagnóstico. Amostras de sangue testadas para se investigar parasitemia por ensaios de PCR, amplificando-se segmentos dos genes B1 e P30 de *T. gondii*, mostraram o potencial da técnica para o diagnóstico.

## REFERÊNCIAS

BONAMETTI, A. M; PASSOS, J. N; SILVA, E. M. K; BORTOLIERO, A. L.; **Surto de toxoplasmose aguda transmitida através da ingestão de carne crua de gado ovino**. Disponível em <URL: <http://www.scielo.org>>. Acesso em 15 de Maio de 2011.

CANTOS, G. A; PRANDO, M. D; SIQUEIRA, M. V; TEIXEIRA, R. M.; Toxoplasmose: Ocorrência de Anticorpos Antitoxoplasma gondii e Diagnóstico. **Rev Ass Med Brasil**; vol.46, N.4, p.335-341, 2000.

COSTA-SILVA, T. A; PEREIRA-CHIOCCOLA, V. L.; Fase aguda da infecção por *Toxoplasma gondii*: avaliação do parasitismo sanguíneo e resposta humoral em camundongos isogênicos AS/n; **Scientia Medica**; v.20, n.1, p.88-92, 2010.

CRISTO, A. K; BRITTO, C; FERNANDES, O.; Diagnóstico molecular da toxoplasmose: revisão. **J. Bras. Patol. Med. Lab.** Rio de Janeiro, vol.41, n.4, p. 229-235, 2005.

DUBEY, J. P; ; BEATIE, C.P.; **Toxoplasmosis of Animals and Man**. CRC Press Inc., Florida, USA, 1988.

ETTINGER, S. J; FELDMAN, E. C.; **Tratado de Medicina Interna Veterinária, Doenças do Cão e do Gato**; 5.ed, Guanabara Koogan. Rio de Janeiro, p.409, 433-435, 681-682, 725, 2004.

MOORE, K. L; PERSAND, T. V. N.; **Embriologia Básica**, 7.ed, Elsevier. Rio de Janeiro, p.321, 328, 2008.

NELSON, R. W; COUTO, C. G.; **Medicina Interna de Pequenos Animais**, 4°ed. Elsevier, Rio de Janeiro, p.1367-1370, 2010.

PINTO, L. D; ARAÚJO, F. A. P; STOBBS, N. S; MARQUES, S. M. T.; Soroepidemiologia de *Toxoplasmose gondii* em gatos domiciliados atendidos em

clínicas Particulares de Porto Alegre, RS, Brasil; **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.8, p.2464-2469, 2009.

ROMSEY, I. K; TENNANT, B. J.; **Manual de Doenças Infecciosas em Cães e Gatos**, Roca. São Paulo, p.198, 209, 258-262, 2010.

SOUZA, C. O; TASHIMA, N. T; SILVA, M. A; TUMITAN, A. R. P.; Estudo transversal de toxoplasmose em alunas de um curso superior da região de Presidente Prudente, Estado de São Paulo; **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.43, n.1, p.59-61, 2010.

SOUZA-JÚNIOR, V. G; FIGUEIRÓ-FILHO, E. A; BORGES, D. C; OLIVEIRA, V. M; COELHO, L. R.; Toxoplasmose e gestação: resultados perinatais e associação do teste de avidéz de IgG com infecção congênita em gestantes com IgM anti-Toxoplasma gondii reagente; **Scientia Medica**; v.20, n.1, p. 45-50, 2010

VARGAS, C. S. G.; Títulos de Anticorpo da Classe IgG Anti-*Toxoplasma gondii*, e de Oocistos em Fezes de Gatos de rua em Curitiba, Paraná; **Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre, Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, da Universidade Federal do Paraná**. Curitiba, 2006

VAZ, A. J; TAKEI, K; BUENO, E. C.; **Ciências Farmacêuticas – Imunoensaios – Fundamentos e Aplicação**, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p.187, 2010.