

Toxoplasmose sistêmica em filhotes de gatos

Systemic Toxoplasmosis in Kittens

Telma de Sousa Lima¹, Erick Platini Ferreira de Souto¹, Rodrigo Cruz Alves¹,
Leiliane da Silva Bezerra¹, Roana Cecília dos Santos Ribeiro¹, Glauco José Nogueira de Galiza¹,
Almir Pereira de Souza² & Antônio Flávio Medeiros Dantas¹

ABSTRACT

Background: Toxoplasmosis is a worldwide disease that affects virtually all species of warm-blooded animals. The felids, domestic and wild, are considered the definitive hosts of the protozoan. In Brazil, *Toxoplasma gondii* infection has been diagnosed in horses, goats, primates, dogs and cats. In the backlands of Paraíba, the disease has been sporadically reported affecting dogs with canine distemper and swine, but cases of systemic toxoplasmosis in cats have not yet been described. The aim of the present study was to describe the main epidemiological, clinical and anatomopathological aspects of two cases of systemic toxoplasmosis in kittens.

Cases: Two kittens were affected with three (cat 1) and six (cat 2) months old, females, and crossbreed. The kittens had not been vaccinated or dewormed, and were raised with other cats in a peridomiciliary regime in a rural area in the backlands of Paraíba. Cat 1 was thin, apathetic, dehydrated, tachypneic and with pale mucous membranes. Cat 2, showed inappetence, apathy, jaundice, fever, dehydration, dyspnea and abdominal breathing pattern. At necropsy, non-collapsed, shiny, reddish lungs with multifocal whitish areas, punctuated or nodular, measuring from 0.1 to 0.3 cm in diameter, were found on the pleural surface and parenchyma. The livers were pale, with lobular pattern accentuation, and reddish depressed multifocal areas randomly distributed on the capsular surface. Histologically, multifocal to coalescent areas of necrosis, moderate (cat 1) or marked (cat 2), associated with intralésional bradyzoites and tachyzoites and variable lymphoplasmacytic infiltrate were observed. In cat 2, numerous bradyzoites were visualized in the gray matter of the left cerebral hemisphere (temporal and parietal lobes), sometimes associated with a moderate lymphoplasmacytic inflammatory infiltrate. In the perivascular spaces of the cerebral cortex, discrete inflammatory lymphoplasmacytic infiltrate (perivascular cuffs) were observed. Immunohistochemistry for *T. gondii* revealed strong immunolabelling of the parasitic organisms.

Discussion: The diagnosis of systemic toxoplasmosis was established based on anatomopathological findings and histomorphological characteristics of the agent, being confirmed by immunohistochemistry. The systemic disease occurs most often in young animals, especially immunocompromised or immunologically immature neonates. In these kittens, it was not possible to determine the presence of an intercurrent immunosuppressive condition; however, both animals were kept in the peridomiciliary regime and were in contact with other cats, which may have acted as a source of infection. Besides, both kittens were raised in rural environments, condition that associated with the usual predatory behavior of this species may have favored the ingestion of infected intermediate hosts. The clinical signs of the disease vary considerably depending on the location and severity of the lesions. Infection in cats usually is asymptomatic or promotes self-limiting diarrhea as a result of protozoal enteroepithelial replication; but in some cases the protozoan can spread to other tissues, determining the occurrence of necrotic processes, dysfunction and clinical manifestations. Systemic toxoplasmosis occurs sporadically in kittens in the backlands of Paraíba, with pulmonary and hepatic clinical manifestations. The histopathological findings are characterized by tissue necrosis and lymphoplasmacytic inflammation associated with intralésional protozoa. The diagnosis can be established based on the histomorphologic characteristics of the agent and confirmed by immunohistochemistry.

Keywords: cat disease, necrotizing pneumonia and hepatitis, protozoan, Apicomplexa.

Descritores: doença de gato, pneumonia e hepatite necrotizante, protozoários, Apicomplexa.

DOI: 10.22456/1679-9216.90824

Received: 10 November 2018

Accepted: 3 March 2019

Published: 22 March 2019

¹Laboratório de Patologia Animal (LPA) & ²Clínica Médica de Pequenos Animais (CMPA), Hospital Veterinário, Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR), Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campus de Patos, PB, Brazil. CORRESPONDENCE: E.P.F. Souto [erickplatini@gmail.com - Tel.: +55 (83) 999302020]. Laboratório de Patologia Animal, UFCG. Av. Universitária S/N. Bairro Santa Cecília. CEP 58708-110 Patos, PB, Brazil.

INTRODUÇÃO

Toxoplasmose é uma doença de distribuição mundial que afeta praticamente todas as espécies de animais de sangue quente. Apenas os felídeos, domésticos e silvestres, eliminam os oocistos junto às fezes, sendo considerados os hospedeiros definitivos do protozoário [8].

O ciclo biológico de *T. gondii* compreende três estágios evolutivos: esporozoítos, taquizoítos e bradizoítos. A replicação desses estágios nos tecidos determina a ocorrência de necrose tecidual, devido ao caráter intracelular do protozoário [5]. A infecção em gatos geralmente é assintomática ou promove diarreia autolimitante, como resultado da replicação enteroepitelial do protozoário [20]; mas replicações extraintestinais podem ocorrer, particularmente em animais imunossuprimidos, determinando a ocorrência de manifestações sistêmicas [8].

No Brasil, a infecção por *T. gondii* tem sido diagnosticada causando encefalite em equinos [6], aborto em cabras [4] e morte em primatas [10], gatos [14,18] e filhotes de cães [11]. No Sertão da Paraíba, a doença tem sido reportada de forma esporádica acometendo cães com cinomose [12] e suínos [17], contudo casos de toxoplasmose sistêmica em gatos ainda não foram descritos. O objetivo do presente trabalho é descrever os principais aspectos epidemiológicos, clínicos e anatomopatológicos de dois casos de toxoplasmose sistêmica em filhotes de gatos.

CASOS

Os dois gatos acometidos eram fêmeas, sem raça definida e jovens, com três (gato 1) e seis (gato 2) meses de idade. Ambos os filhotes não haviam sido vacinados ou vermifugados, conviviam com outros gatos e eram criados em regime peridomiciliar em zonas rurais distintas do município de Patos, Paraíba.

O gato 1 foi encaminhado para atendimento clínico apresentando estado corporal magro, mucosas pálidas, apatia, desidratação (8%) e respiração taquipneica e superficial. Foi instituído tratamento com fluidoterapia, dipirona e meloxicam, mas após cinco dias o animal morreu. Na necropsia observaram-se pulmões não colapsados, brilhosos, difusamente avermelhados e com discretas áreas puntiformes brancacentas, medindo 0,1 cm de diâmetro, distribuídas aleatoriamente na superfície subpleural. Fígado difusamente pálido e com evidenciação do padrão lobular.

O gato 2 foi encaminhado para avaliação clínica por apresentar inapetência, fraqueza e dificuldade respiratória há dois dias. No exame clínico, observou-se apatia, mucosas ictéricas, febre (40,6°C), desidratação (8%) e padrão respiratório abdominal, caracterizado por dispneia mista e estertores. O animal foi tratado com fluidoterapia, ampicilina, dipirona e metronidazol, mas não respondeu a medicação e morreu após dois dias de internação. Na necropsia, verificaram-se as mucosas (oral e oculares) e o tecido subcutâneo moderadamente ictéricos. Pulmões não colapsados, brilhosos, difusamente avermelhados e com áreas multifocais nodulares branco-acinzentadas, firmes, medindo de 0,1 a 0,3 cm de diâmetro, distribuídas aleatoriamente pela superfície subpleural. Ao corte esses nódulos aprofundavam-se ao parênquima (Figura 1A). Fígado difusamente pálido e com áreas multifocais deprimidas e avermelhadas na superfície subcapsular (Figura 1B), que se aprofundavam ao parênquima.

Fragmentos teciduais dos principais órgãos foram colhidos, fixados em formol tamponado a 10%, processados rotineiramente para histopatologia, seccionados em cortes com 3 µm de espessura e corados por hematoxilina e eosina (HE).

Secções histológicas de pulmão, fígado e encefalo foram submetidas à técnica imuno-histoquímica (IHQ). A recuperação antigênica foi realizada com solução de citrato 10 mM (pH 6.0) em câmara pressurizada (Dako®)¹. Após a recuperação antigênica, foi realizado o bloqueio da peroxidase endógena com peróxido de hidrogênio pronto para uso (Peroxide Block 925B-09 - Cell Marque®)² e bloqueio de proteínas inespecíficas (Protein Block Serum-Free X0909 - Dako®)¹. O anticorpo primário utilizado foi o anti-*Toxoplasma gondii*, policlonal (E4520 - Spring Bioscience®)³ na diluição de 1:50, incubado por 18 h a 4°C. As lâminas foram lavadas em solução tampão TRIS pH 7,4 e, em seguida, foram incubadas com sistema de detecção por polímero (Histofine 414154F - Nichirei Biosciences®)⁴ de acordo com recomendações do fabricante e posteriormente marcadas através da adição do cromógeno de tetracloro de 3-3' diaminobenzidina (Dako®)¹. Os cortes foram contra-corados com Hematoxilina de Harris e desidratados em concentrações crescentes de álcool e xilol. Em seguida, as lâminas foram montadas com resina e lamínula. Como controles positivos utilizou-se um caso de infecção por *T. gondii*

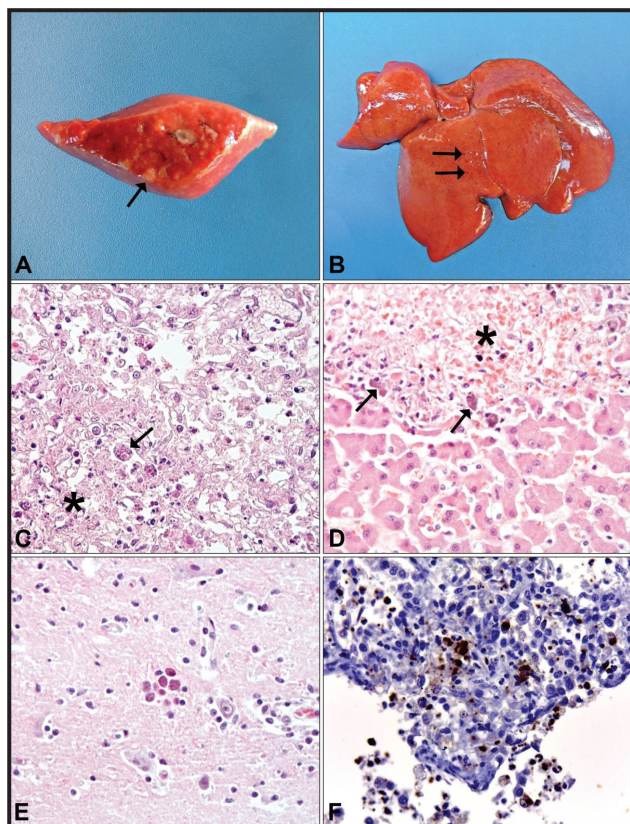


Figura 1. Toxoplasmose sistêmica em gatos. A- Pulmão: com superfície de corte difusamente avermelhada e nódulos multifocais brancacentos (seta). B- Fígado: difusamente pálido e com áreas multifocais, deprimidas e avermelhadas na superfície subcapsular (setas). C- Pulmão: área focalmente extensa de necrose (asterisco) com bradizoítos intralesionais (seta) [HE, Obj. 25x]. D- Fígado: área focalmente extensa de necrose (asterisco) associada à bradizoítos intralesionais (setas) [HE, Obj. 25x]. E- Córtex cerebral (substância cinzenta): Numerosos bradizoítos associados a moderado infiltrado inflamatório linfoplasmocitário [HE, Obj. 25x]. F- Pulmão: estruturas parasitárias fortemente imunomarcadas pelo anticorpo policlonal anti-*T. gondii* [IHQ (método por polímero, DAB) Obj. 25x].

diagnosticados pela técnica de reação em cadeia de polimerase (PCR). Como controle negativo utilizou-se uma secção do tecido analisado incubado apenas com diluente de anticorpo.

Na avaliação histopatológica, os pulmões apresentavam áreas multifocais a coalescentes de necrose moderada (gato 1) ou acentuada (gato 2) associadas a estruturas parasitárias císticas, medindo aproximadamente 20-60 µm de diâmetro, delimitadas por fina parede e preenchidas por numerosas estruturas basofílicas arredondadas, compatíveis com bradizoítos de *T. gondii* (Figura 1C). Estruturas parasitárias delgadas, em forma de meia lua, basofílicas, e medindo aproximadamente 1-2 µm de comprimento foram observadas livres no parênquima e no citoplasma de macrófagos alveolares, compatíveis com taquizoítos de *T. gondii*. Observou-se ainda moderado infiltrado inflamatório constituído por linfócitos, plasmócitos,

macrófagos e raros neutrófilos, circundando as áreas de necrose e distendendo os septos interalveolares, associado à proliferação de pneumócitos tipo II e numerosos macrófagos espumosos no lúmen alveolar. No fígado observavam-se áreas de necrose aleatória, multifocais a coalescentes, moderada (gato 1) e acentuada (gato 2), associadas a bradizoítos e taquizoítos (Figura 1D) e circundadas por moderado infiltrado inflamatório linfoplasmocítico; além de bilestase intracanalicular e congestão.

No caso 2, foram visualizados na substância cinzenta do hemisfério cerebral esquerdo (lobos temporal e parietal) numerosos cistos parasitários, por vezes, associados a moderado infiltrado inflamatório linfoplasmocítico (Figura 1E). Nos espaços perivascularares do córtex cerebral, observou-se discreto infiltrado inflamatório linfoplasmocítico (manguitos perivascularares).

Na IHQ as estruturas parasitárias revelaram forte imunomarcação em preto para *T. gondii* (Figura 1F).

DISCUSSÃO

O diagnóstico de toxoplasmose sistêmica foi estabelecido com base nos achados anatomopatológicos e características histomorfológicas do agente, sendo confirmado por imuno-histoquímica. A imunossupressão é considerada um fator determinante para o desenvolvimento de toxoplasmose, tendo sido descrita infecção oportunista em seres humanos com a síndrome da imunodeficiência humana (AIDS) [19], cães com cinomose [12,15] e gatos com peritonite infecciosa felina, leucemia felina e imunodeficiência felina [8,13].

A doença sistêmica ocorre mais frequentemente em animais jovens, especialmente neonatos imunocomprometidos ou imunologicamente imaturos [20]. Nesses filhotes, não foi possível determinar a presença de uma condição imunossupressora intercorrente. Contudo, ambos os animais eram criados em regime peridomiciliar e mantinham convívio com outros gatos, que podem ter funcionado como fonte de infecção [8].

Os gatos podem ser infectados pela ingestão direta de oocistos, liberados junto às fezes de outros hospedeiros definitivos, mas se infectam predominantemente pela ingestão de cistos presentes nos tecidos de suas presas [20]. Essencialmente, todos os animais homeotérmicos podem servir como hospedeiros intermediários e a infecção natural tem sido descrita em aves, roedores, insetos, herbívoros, carnívoros

e primatas [20]. Ambos os filhotes eram criados em ambientes rurais, condição que associada ao habitual comportamento predatório dessa espécie pode ter favorecido a ingestão de hospedeiros intermediários.

Reconhece-se ainda a transmissão congênita e lactacional, mas quando a infecção ocorre por essas vias, a enfermidade costuma se manifestar no período neonatal [8].

Os sinais clínicos da doença variam consideravelmente, conforme a localização e gravidade das lesões [8]. A infecção em gatos geralmente é assintomática ou promove diarreia autolimitante, como resultado da replicação enteroepitelial do protozoário; mas em alguns casos o protozoário pode disseminar-se para outros tecidos, determinando a ocorrência de processos necróticos, disfunção e manifestações clínicas [20].

Nesses casos, verificaram-se sinais clínicos inespecíficos associados a graves manifestações respiratórias e hepáticas, atribuídas à disfunção causada pelas extensas áreas de necrose tecidual e inflamação. A icterícia, apesar de não ser um achado frequente, resulta da hepatite necrotizante e bilestase [1].

A infecção por *T. gondii* é frequentemente relacionada como uma causa de aborto, mortalidade neonatal e malformação fetal em ovinos, caprinos e, menos comumente, em bovinos. Contudo, nos gatos, a infecção geralmente não tem consequências reprodutivas [21].

Considerando que a maioria das infecções nessa espécie não apresenta sintomatologia específica, o diagnóstico clínico pode ser uma tarefa difícil [9]. Atualmente, estão disponíveis como ferramentas auxiliares testes sorológicos, como a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), o Método de Aglutinação Direta (MAD) [7], além de exame histopatológico acompanhado de imuno-histoquímica ou reação em cadeia da polimerase (PCR) [3].

Os principais achados de necropsia caracterizam-se por nódulos branco-acinzentados nos pulmões, semelhantes aos previamente descritos na infecção em cães [8] e ovelhas [16], e áreas deprimidas na superfície subcapsular do fígado. Tais achados macroscópicos refletem as áreas de necrose tecidual promovidas pela replicação do protozoário. Os taquizoítos representam uma forma de replicação ativa e rápida, capaz de causar necrose tecidual e induzir a resposta inflamatória do hospedeiro; enquanto os bradizoítos representam

um estado de repouso, podendo permanecer latentes por prolongados períodos e serem reativados em circunstâncias favoráveis, particularmente condições de imunossupressão [20].

Na histopatologia, verificaram-se áreas de necrose tecidual associada às estruturas parasitárias, com reação inflamatória linfoplasmocítica de intensidade variável. Considera-se que a observação de taquizoítos e/ou cistos em associação a áreas de necrose de coagulação em um ou mais órgãos são achados altamente sugestivos de toxoplasmose [20].

Em gatos, além de fígado e pulmão, importantes tecidos comumente afetadas são linfonodos mesentéricos e pâncreas. Nos cães, ocorre frequentemente o acometimento do encéfalo [8]. Em um dos gatos houve envolvimento cerebral, no entanto não foi observada manifestação clínica de disfunção neurológica. Tal circunstância pode estar relacionada à ausência de necrose do tecido nervoso e discreta resposta inflamatória. Infecções no sistema nervoso central de gatos, na ausência de manifestações clínicas, foram previamente reportadas [1].

É imprescindível incluir a infecção por *Neospora caninum* como diagnóstico diferencial devido à semelhança histomorfológica entre esses protozoários. Contudo, os taquizoítos de *N. caninum* usualmente não são encontrados em vacúolos parasitóforos, como frequentemente são observados os taquizoítos de *T. gondii*. Além disso, os cistos teciduais de *N. caninum* são dificilmente observados (especialmente em casos agudos) e distinguem-se por possuírem parede mais espessa [20]. Essas diferenças, no entanto, são sutis e difíceis de identificar na histopatologia, devendo ser empregadas técnicas imuno-histoquímicas ou de microscopia eletrônica para identificação do agente e confirmação do diagnóstico [21]. É importante considerar ainda que a infecção por *N. caninum* em gatos foi observada apenas experimentalmente [8], apesar de existirem evidências sorológicas da infecção natural [2].

Toxoplasmose sistêmica ocorre esporadicamente em filhotes de gatos no Sertão da Paraíba, com manifestações clínicas pulmonares e hepáticas. Os achados histopatológicos caracterizam-se por necrose tecidual e inflamação linfoplasmocitária associadas a protozoários intralésionais. O diagnóstico pode ser estabelecido com base nas características histomorfológicas do agente e confirmado por imuno-histoquímica.

MANUFACTURERS

¹Dako, Agilent Pathology Solutions. Santa Clara, CA, USA.

²Cell Marque. Darmstadt, Germany.

³Spring Bioscience. Pleasanton, CA, USA.

⁴Nichirei Biosciences. Tokyo, Japan.

Acknowledgements. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e bolsa de produtividade, processo N° 302082/2014-0.

Declaration of interest. The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of the paper.

REFERENCES

1. Bowman D.D., Hendrix C.M., Lindsay S.T. & Barr S.C. 2002. *Feline Clinical Parasitology*. Ames: Blackwell Science, 469p.
2. Braga M.S.C.O., André M.R., Jusi M.M., Freschi C.R., Teixeira M.C. & Machado R.Z. 2012. Occurrence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in cats with outdoor access in São Luís, Maranhão, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 21(2): 107-111.
3. Bresciani K.D.S., Costa A.J., Toniollo G.H., Luvizzoto M.C., Kanamura C.T., Moraes F.R., Perri S.H. & Genari S.M. 2009. Transplacental transmission of *Toxoplasma gondii* in reinfected pregnant female canines. *Parasitology Research*. 104: 1213-1217.
4. Caldeira F.H.B., Ubiali D.G., Godoy I., Dutra V., Aguiar D.M., Melo A.L.T., Riet-Correa F., Colodel E.M. & Pescador C.A. 2011. Outbreak of caprine abortion by *Toxoplasma gondii* in Midwest Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 31(11): 933-937.
5. Corrêa W.M. & Corrêa C.N.M. 1992. Toxoplasmose. In: *Enfermidades Infecciosas dos Mamíferos Domésticos*. Rio de Janeiro: Medsi, pp.757-766.
6. Cunha S.E.M., Lara M.C.C.S.H., Villalobos E.M.C., Nassar A.F.C., Del Fava C., Scannapieco E.M., Cunha M.S. & Mori E. 2016. Causes of encephalitis and encephalopathy in Brazilian equids. *Journal of Equine Veterinary Science*. 38: 8-13.
7. Da Silva A.V., Cutolo A.A. & Langoni H. 2002. Comparação da reação de imunofluorescência indireta e do método de aglutinação direta na detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma* em soros de ovinos, caprinos, caninos e felinos. *Arquivos do Instituto Biológico*. 69(1): 7-11.
8. Dubey J.P. & Lappin M.R. 2015. Toxoplasmosis and neosporosis. In: Greene C.E. (Ed). *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. 4th edn. St. Louis: Elsevier/Saunders, pp.842-864.
9. Elmore S.A., Jones J.L., Conrad P.A., Patton S., Lindsay D.S. & Dubey J.P. 2010. *Toxoplasma gondii*: epidemiology, feline clinical aspects, and prevention. *Trends Parasitology*. 26(4): 190-196.
10. Epiphany S., Guimarães M.A., Fedullo D.L., Correa S.H. & Catão-Dias J.L. 2000. Toxoplasmosis in golden-headed lion tamarins (*Leontopithecus chrysomelas*) and emperor marmosets (*Saguinus imperator*) in captivity. *Journal Zoo and Wildlife Medicine*. 31: 231-235.
11. Figuera R.A., Souza T.M., Silva M.C., Brum J.S., Graça, D.L., Kommers G.D., Irigoyen L.F. & Barros C.S.L. 2008. Causas de morte e razões para eutanásia de cães da Mesorregião do Centro Ocidental Rio-Grandense (1965-2004). *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 28: 223-230.
12. Frade M.T.S., Maia L.A., Andrade R.L.F.S., Alves R.C., Yamasaki E.M., Mota R.A. & Dantas A.F.M. 2015. Clinical, pathological, and immunohistochemistry characterization of toxoplasmosis in dogs with distemper in the semiarid region of Paraíba, Brazil. *Semina: Ciências Agrárias*. 36: 4251-4256.
13. Galvão A.L.B., Vaconcellos A.L., Navarro I.T. & Bresciani K.D.S. 2014. Aspectos da toxoplasmose na clínica de pequenos animais. *Semina: Ciências Agrárias*. 35: 393-410.
14. Martins M.T. 2016. Causas de morte e razões para eutanásia de gatos da Região central do Rio Grande do Sul. 60f. Santa Maria, RS. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria.
15. Moretti D'Arc L., Ueno T.E., Ribeiro M.G., Aguiar D.M., Paes A.C., Pezerico S. & Silva A.V. 2002. Toxoplasmose em cães co-infectados com o vírus da cinomose. *Semina: Ciências Agrárias*. 23: 85-91.
16. Motta A.C., Vieira M.I.B., Bondan C., Edelweiss M.I.A., Dametto M.A. & Gomes A. 2008. Aborto em ovinos associado à toxoplasmose: caracterização sorológica, anátomo-patológica e imunoistoquímica. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 17: 204-208.

17. Olinda R.G., Pena H.F., Frade M.T., Ferreira J.S., Maia L.Â., Gennari S.M., Oliveira S., Dantas A.F. & Riet-Correa F. 2016. Acute toxoplasmosis in pigs in Brazil caused by *Toxoplasma gondii* genotype Chinese 1. *Parasitology Research*. 115: 2561-2566.
18. Pena H.F.J., Evangelista C.M. & Casagrande R.A. 2017. Fatal toxoplasmosis in an immunosuppressed domestic cat from Brazil caused by *Toxoplasma gondii* clonal type I. *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*. 26: 177-184.
19. Schenell M. 2015. Toxoplasmose felina - Revisão de literatura e soroprevalência de *Toxoplasma gondii* em felinos domésticos atendidos no Hospital de Clínicas Veterinárias da UFRGS. 55f. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária). Universidade Federal do Rio Grande do Sul Faculdade de Veterinária, Porto Alegre.
20. Uzal F.A., Plattner B.L. & Hostetter J.M. 2016. Alimentary system. In: Maxie M.G. (Ed). *Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals*. 6th edn. St. Louis: Elsevier, pp.139-140.
21. Zachary J.F. 2012. Nervous system. In: McGavin M.D. & Zachary J.F. (Eds). *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. 5th edn. St. Louis: Elsevier, pp.809-841.