Diagnóstico

TOXOPLASMOSIS

Diagnóstico molecular y genotipificación de *Toxoplasma gondii* en casos de infección perinatal

Claudia Patricia Rico-Torres¹, Irma Cañedo-Solares¹, Ricardo Figueroa-Damián³, Carlos Cedillo-Peláez^{1*}, Carlos López-Candiani², Héctor Alberto Macías-Avilés², Héctor Luna-Pastén¹, Esther Calderón-Segura¹, Rafael López-Reboseño¹, Dolores Correa¹

¹ Laboratorio de Inmunología Experimental, Instituto Nacional de Pediatría, Secretaría de Salud, México D.F., México

² Servicio de Neonatología, Instituto Nacional de Pediatría, Secretaría de Salud, México D.F., México

³ Servicio de Infectología, Instituto Nacional de Perinatología, Secretaría de Salud, México D.F., México

La transmisión congénita de *Toxoplasma gondii* depende del trimestre de la gestación en el que se infecta la madre, la respuesta inmunitaria, la carga parasitaria y la virulencia de la cepa infectante. *T. gondii* se considera una sola especie, pero se han encontrado 12 haplogrupos, en América y parte de Europa, además de variantes atípicas. No hay reportes sobre las variantes que infectan seres humanos en México.

El objetivo de este trabajo fue hacer el diagnóstico molecular y determinar el genotipo de *T. gondii* en casos de toxoplasmosis perinatal.

Se analizaron muestras de ADN de cuatro binomios madre/hijo. El diagnóstico molecular y la cuantificación se hicieron mediante una PCR de punto final y en tiempo real del gen *B1*. La genotipificación se llevó a cabo por PCR-RFLP de los genes *SAG2*, *SAG3*, *GRA6* y *BTUB*.

En un binomio en que hubo transmisión vertical (niño con retraso mental leve) y otro de infección materna solamente, los alelos de los genes *BTUB* y *SAG2* fueron similares a los de las cepas de tipo I, aunque con una banda extra, única para cada binomio. En un tercer caso de infección congénita, el genotipo fue I para el gen *SAG3*; el niño presentó calcificaciones cerebrales. El cuarto caso fue una niña prematura con problemas clínicos graves y murió dos meses después. El parásito también fue de tipo I para los genes *SAG3* y *SAG2*.

Los casos de infección perinatal fueron debidos a cepas de tipo I clásicas o relacionadas con éstas, pero no siempre se relacionan con problemas clínicos.

Dinámica de anticuerpos en la transmisión horizontal y vertical de *T. gondii* de un rebaño de alpacas infectadas naturalmente

Eva Casas, Amanda Chávez, Fidel Suárez, Nicasio Valencia, Rosa Pinedo

Laboratorio de Microbiología y Parasitología Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú

Laboratorio de Medicina Veterinaria Preventiva, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú

Laboratorio de Zootecnia y Producción Agropecuaria, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú

Laboratorio de Sanidad Animal de la Escuela Académico Profesional de Zootecnia, Facultad de Ciencias de Ingeniería, Universidad Nacional de Huancavelica, Lima, Perú

La toxoplasmosis es una de las infecciones parasitarias de mayor difusión a nivel mundial. En camélidos, este parásito ha sido implicado como causa de muerte embrionaria, aborto, malformaciones congénitas y nacimiento de crías muertas o débiles.

El objetivo de este estudio fue determinar la fase de infección, así como la importancia relativa de la transmisión horizontal y vertical en alpacas infectadas naturalmente en un rebaño endémico mediante seguimiento seroepidemiológico longitudinal de madres e hijas, durante una campaña reproductiva de marzo a julio del 2010.

El estudio se llevó a cabo en el Centro de Investigación de Camélidos Sudamericanos, Lachocc- Huancavelica. El muestreo se hizo durante el empadre y parición, y se recolectaron 146 muestras de sangre de madres y crías, así como dos muestreos consecutivos, cada 2,5 meses a todos los animales.

Las muestras se procesaron y analizaron en el Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI). De las muestras analizadas inicialmente, se obtuvo una seroprevalencia de *T. gondii* de 16,44 %; en las 122 alpacas seronegativas, se siguió su seroconversión y se obtuvo una incidencia

acumulada de 48,84 % durante los cinco meses de estudio. La seroprevalencia observada en las crías varió de 17,24 % a 16,66 %.

Se concluye que la transmisión vertical es más baja y poco eficiente que la horizontal, constituyéndose esta última en la ruta principal de transmisión para la permanencia de la infección por *T. gondii* en el rebaño.

• • •

Signos clínicos de afección neuromuscular frecuente en canes con *Neospora caninum* y *Toxoplasma gondii*

Eva Casas¹, Nelson Ruiz¹, Rosa Pinedo¹, Cecilia Venturini², Diana Bacigalupe²

¹ Laboratorio de Microbiología y

Parasitología Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú

² Laboratorio de Inmunoparasitología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de la Plata, Argentina

Los protozoarios Apicomplejo, como *Toxoplasma gondii* y *Neospora caninum*, son causantes de enfermedades neuromusculares, y en los sistemas gastrointestinal, respiratorio y neuromuscular de los perros. Las manifestaciones clínicas por problemas neuromusculares son similares, por lo que inicialmente, los casos producidos por *N. caninum* se confundieron con toxoplasmosis.

El objetivo de este estudio caso-control fue encontrar la asociación entre la presencia de anticuerpos contra *N. caninum* y *T. gondii* en perros con signos clínicos neuromusculares.

Como caso se consideró a perros de dos o más meses de edad, con dos o más signos clínicos neuromusculares, y como control, a aquéllos de dos o más meses de edad, sin signos o con un solo signo clínico de afección neuromuscular. Se consideró como afección neuromuscular los signos clínicos de mialgia, nistagmo, ataxia, paresia, parálisis y convulsiones. Se recolectaron muestras de sangre a 96 y 120 perros, con y sin signos clínicos de afección neuromuscular, respectivamente. Los sueros se analizaron con la prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI) para la detección de anticuerpos (IgG), y los sueros con fluorescencia completa del taquizoíto en la dilución 1:50 se consideraron positivos. La frecuencia para *T. gondii* fue de 24,0±8,5 % (23/96) y de 3,3±3,1 (4/120) para perros con y sin afecciones neuromusculares, respectivamente; para *N. caninum*, la frecuencia fue de 5,2±4,4

(5/96) y de 1,7±2,5 (2/120) para perros con y sin afecciones neuromusculares, respectivamente. Se observó asociación significativa entre la afección neuromuscular y la presencia de anticuerpos anti-*T. gondii*, más no así con anticuerpos anti-*N. caninum*.

• • •

Identificación de la secuencia *b1* de *Toxoplasma gondii* en sangre periférica de individuos con toxoplasmosis ocular

Lily Johanna Toro, Víctor Alfonso Sánchez-Pachón, Alejandra de la Torre-Cifuentes, Jorge Enrique Gómez-Marín

Grupo de Estudio en Parasitología Molecular, Centro de Investigaciones Biomédicas, Universidad del Quindío, Armenia, Colombia

Introducción. *Toxoplasma gondii* causa la toxoplasmosis, una enfermedad infecciosa capaz de causar infecciones leves y asintomáticas, entre las que se encuentra la toxoplasmosis ocular, la cual es una de las causas más frecuentes de retinocoroiditis.

El objetivo de este trabajo fue identificar el gen *b1* de *T. gondii* para observar si existe correlación entre parasitemia y toxoplasmosis ocular activa e inactiva.

Materiales y métodos. Se identificó el gen *b1* de *T. gondii* en 120 muestras de ADN de individuos con toxoplasmosis ocular, por medio de PCR anidada. Para ello, se dividieron en cuatro grupos: el grupo I con 37 individuos con toxoplasmosis ocular activa, el grupo II con 12 individuos con toxoplasmosis ocular inactiva, el grupo III con 60 individuos asintomáticos y el grupo IV con 8 individuos negativos para IgG anti-*Toxoplasma*. Los datos de sintomatología se obtuvieron de la historia clínica de cada individuo.

Resultados. De las 120 muestras obtenidas, hubo amplificación del gen *b1* en 57 (47,5 %). Es decir, que de los 51 individuos con toxoplasmosis ocular, 38 (75 %) fueron positivos en ADN obtenido a partir de sangre periférica para el gen *b1*, encontrándose que de 39 con toxoplasmosis ocular activa, en 28 (72 %) individuos la PCR fue positiva para *b1* y en 11 (28 %) fue negativa. En las 12 muestras de individuos con toxoplasmosis ocular inactiva, en 10 (83 %) la PCR fue positiva para el gen *b1* y en 2 (17%) la PCR fue negativa. De los individuos asintomáticos, en 17 (28%) se encontró PCR positiva para el gen *b1* y en 44 (72%) la PCR fue negativa. En los 8 individuos con serología negativa para *Toxoplasma*, la PCR de *b1* fue negativa.

Conclusiones. El método permitió amplificar

la mayoría de las muestras analizadas, lo cual sugiere que el parásito puede circular en la sangre de la mayoría de los individuos con toxoplasmosis ocular, tanto activa como inactiva, y esto indica que la mayoría de estos individuos son accesibles a tipificación por amplificación de alelos específicos del parásito en sangre en la enfermedad ocular.

• • •

Detección de ADN de *Toxoplasma gondii* en agua potable de Bogotá

Martha Liliana Pinzón¹, Claudia Herrera², Jorge Enrique Gómez³, Fabiana Lora³, Alejandra Arévalo¹, María Consuelo Vanegas¹

¹ Laboratorio de Ecología Microbiana de Alimentos, Universidad de los Andes, Bogotá, D.C., Colombia

² Centro de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Tropical, Universidad de los Andes, Bogotá, D.C., Colombia

³ Grupo de Estudio en Parasitología Molecular, Universidad del Quindío, Armenia, Colombia

Introducción. En los últimos años, el agua potable (tratada con cloro) se ha empezado a considerar como fuente importante para la transmisión de ooquistes de *Toxoplasma gondii*. Sólo un estudio, realizado en Francia, ha reportado la presencia de ADN en 1 de 6 muestras de agua de distribución para consumo humano. La relevancia de esta

forma de transmisión se ha comprobado por la aparición de brotes en Canadá en 1995 y en Brasil en 2002. Aunque la difusión de *T. gondii* por medio de agua contaminada con ooquistes podría tener un impacto importante a nivel epidemiológico, en Bogotá no existen reportes de detección directa en agua de la llave.

Objetivo. Detectar la presencia de ADN de *T. gondii*, por la técnica de PCR anidada, en muestras de agua de la ciudad de Bogotá.

Materiales y métodos. Se recolectaron muestras de agua de la llave en las viviendas de tres madres positivas para IgM anti-*T. gondii* en el embarazo y de cuatro madres negativas para IgM anti-*T. gondii*. Los ooquistes se recuperaron por centrifugación y se concentraron siguiendo un método en proceso de registro de patente. Se extrajeron y purificaron siete muestras de ADN, que se usaron para hacer dos PCR anidadas con el propósito de obtener una región específica para la secuencia repetida B1 de *T. gondii*.

Resultados. Se encontraron 5 (71,4 %) de 7 muestras positivas para ADN de *T. gondii*.

Conclusiones. En este estudio se demuestra, por primera vez, la presencia de ooquistes de *T. gondii* en el agua de distribución de la ciudad de Bogotá.

• • •