

LESIONES ASOCIADAS A UNA TOXOPLASMOSIS AGUDA EN PERDICES ROJAS (*Alectoris rufa*) INFECTADAS EXPERIMENTALMENTE

Lesions associated with acute toxoplasmosis in experimentally infected partridges (*Alectoris rufa*)

C. Martínez-Carrasco^a, A. Bernabé^b, J. M. Ortiz^a, F. D. Alonso^a

^a Departamento de Sanidad Animal y ^b Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas, Facultad de Veterinaria, Campus Universitario de Espinardo, 30100-Murcia, Spain.

Autor de referencia: Carlos Martínez-Carrasco, Tel: 34-968-367842; fax: 34-968-364147, email: cmcpleit@um.es

RESUMEN

En el presente trabajo se describen las lesiones asociadas a una toxoplasmosis aguda en perdices rojas (*Alectoris rufa*) infectadas experimentalmente con ooquistes de *Toxoplasma gondii*. Para ello, treinta perdices rojas de cinco meses de edad fueron infectadas por vía oral con ooquistes de la cepa OV-51/95 de *T. gondii*. Las aves fueron distribuidas en cinco lotes, que recibieron unas dosis infectantes de 10, 50, 100, 1000 y 10000 ooquistes, respectivamente. Sólo dos aves, inoculadas con 50 y 10000 ooquistes, murieron por toxoplasmosis aguda al cabo de 7 días postinoculación. Macroscópicamente se apreció hepatomegalia, esplenomegalia y congestión vascular del intestino delgado. Las lesiones microscópicas más características consistieron en una enteritis y focos de necrosis en el bazo y el hígado. Se observaron taquizoítos en los cortes histológicos de estos tejidos, y además en páncreas, pulmón, riñón, tejido muscular esquelético y cardíaco, proventrículo, molleja y bolsa de Fabricio.

Palabras clave: Perdiz roja, *Alectoris rufa*, toxoplasmosis, ooquiste, taquizoito, lesiones, aguda, *Toxoplasma gondii*.

ABSTRACT

The present study describes lesions associated with acute toxoplasmosis in red-legged partridges (*Alectoris rufa*). Thirty red-legged partridges, 5-month-old, were orally inoculated with oocysts of the OV-51/95 strain of *Toxoplasma gondii*. Birds were distributed into five groups, and received respectively 10, 50, 10², 10³ and 10⁴ oocysts. Only two partridges that received 50 and 10000 oocysts, respectively, died suddenly of acute toxoplasmosis at 7 day after inoculation. Partridges had splenomegaly, hepatomegaly and gastrointestinal congestion. The main microscopic lesions were seen only in small intestine, spleen and liver sections, associated with

numerous tachyzoites of *T. gondii*. Tachyzoites were also seen in pancreas, lung, kidney, heart and esquelletal muscle, proventriculus, gizzard and bursa of Fabricius histological sections.

Keywords: Red-legged partridges, *Alectoris rufa*, toxoplasmosis, oocyst, tachyzoite, lesions, acute, *Toxoplasma gondii*.

INTRODUCCIÓN

Toxoplasma gondii es un protozoo intracelular que afecta a animales vertebrados de sangre caliente, incluidas las aves. Es un parásito cosmopolita que presenta un ciclo biológico indirecto, siendo los félidos sus únicos hospedadores definitivos; dichos animales eliminan ooquistes a través de sus heces, de manera que contaminan el medio ambiente en el que se desenvuelven (Dubey and Beattie, 1988; Dubey, 1995). Las aves pueden actuar como hospedadores intermediarios de *T. gondii*. La infección ha sido descrita tanto en aves domésticas como en silvestres, siendo habitual que se manifieste con ligeros síntomas inespecíficos (Dubey, 2002).

En lo que concierne a las gallináceas silvestres, Pokorný (1955) fue el primero que describió un brote de toxoplasmosis fatal en perdices pardillas (*Perdix perdix*); décadas después, se describieron casos de toxoplasmosis en pavos silvestres (*Meleagris gallopavo*) (Howerth and Rodenroth, 1985; Quist *et al.*, 1995) y en el francolín de Erckel (*Francolinus erckelii*) (Work *et al.*, 2002). Por otra parte, son varios los investigadores que han conseguido aislar ooquistes tisulares viables de *T. gondii* a partir de galliformes de vida libre capturadas en su medio natural. Sin embargo, estas aves no mostraron ningún síntoma de enfermedad: es el caso de perdices, faisanes vulgares (*Phasianus colchicus*) y pavos (Literák *et al.*, 1992; Lindsay *et al.*, 1994). Por otra parte, en los últimos años se han realizado infecciones experimentales en diversas especies de aves silvestres con el fin de determinar su susceptibilidad frente a *T. gondii* (Simitch, 1965; Dubey *et al.*, 1993a, 1993b, 1994a, 1994b, 1995; Sedlák *et al.*, 2000).

En España, la perdiz roja (*Alectoris rufa*) es una de las piezas de caza más apreciadas, formando la base de un gran número de platos gastronómicos típicos de toda la geografía nacional. Hasta el presente, no se ha descrito ningún caso de toxoplasmosis natural en esta especie aviar, aunque sí que se ha estudiado la respuesta serológica y susceptibilidad frente a la infección experimental (Martínez-Carrasco *et al.*, 2004, 2005). Dada la escasez de información de la que se dispone a este respecto, el presente estudio se ha realizado con el objetivo de describir las lesiones agudas que ocasiona *T. gondii* en la perdiz roja tras la infección oral con ooquistes de este protozoo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han infectado experimentalmente con ooquistes de *T. gondii* 30 perdices rojas de cinco meses de edad, procedentes de una granja cinegética. Las aves fueron distribuidas en cuatro grupos (A, C, D y E) de 4 animales cada uno, y un grupo de 14 aves (grupo B). Una semana antes de realizar la inoculación, una muestra de suero de cada ave se analizó mediante la técnica de aglutinación directa modificada con el fin de descartar infecciones previas con *T. gondii* (Martínez-Carrasco *et al.*, 2004). Tras confirmar que ninguna de las perdices era seropositiva, fueron infectadas por vía oral con ooquistes de la cepa OV-51/95 de *T. gondii*. Dicha cepa es de origen ovino, presentando escasa virulencia para el ratón pero con alto poder cigoténico. A cada grupo de perdices se le inocularon, respectivamente, las dosis que a continuación se indican: 10 ooquistes (grupo A), 50 (grupo B), 10^2 (grupo C), 10^3 (grupo D) y 10^4 ooquistes (grupo E).

2.2. Necropsia y estudio histológico

Durante el desarrollo del experimento se realizó la necropsia y el estudio histopatológico de las perdices que murieron debido a la infección o que fueron sacrificadas después de superada la enfermedad. Para realizar el estudio histopatológico de las aves se recogieron los siguientes órganos y tejidos: cerebro, cerebelo, ojo, corazón, musculatura pectoral, músculo semitendinoso, lengua, tráquea, pulmón, esófago, proventrículo, molleja, intestino delgado e intestino grueso, hígado, bazo, riñón, páncreas, gónadas y bolsa de Fabricio. Las muestras fueron inmediatamente fijadas en formol tamponado al 10%; posteriormente, fueron procesadas con las técnicas histológicas habituales hasta obtener cortes tisulares de 5 µm de grosor, que fueron teñidos con hematoxilina-eosina (H-E); se realizaron diez cortes no seriados de cada uno de los tejidos examinados. La confirmación de que la infección de *T. gondii* había asentado en todas las perdices se realizó mediante bioensayo en *tratón* de diversos tejidos recogidos durante la necropsia (Martínez-Carrasco *et al*, 2005).

RESULTADOS

Durante el período de estudio, sólo dos perdices murieron (inoculadas con 50 y 10⁴ ooquistes, respectivamente), en concreto al 7º día postinoculación (d.p.i.); el resto de las aves infectadas permanecieron en buen estado de salud hasta el final del experimento (Martínez-Carrasco *et al*, 2005). Las dos aves mencionadas empezaron a mostrar signos de enfermedad a los 5 d.p.i., presentando anorexia, astenia, plumaje sucio y desordenado, así como diarrea profusa y amarillenta.

Al realizar la necropsia de estas perdices muertas de forma aguda, se apreciaron las siguientes lesiones macroscópicas: esplenomegalia, hepatomegalia y congestión vascular de todo el tracto gastrointestinal, con especial afección

del intestino delgado. Además, el contenido de esta porción intestinal era amarillento y fluido.

Las principales lesiones microscópicas aparecieron en los cortes histológicos del intestino delgado, bazo e hígado. En concreto, el intestino delgado presentó una severa enteritis transmural con moderada exudación fibrinosa; la mayor parte de la mucosa epitelial estaba desprendida, presentando detritos celulares y acúmulos bacterianos en la superficie epitelial. Además, a lo ancho de la lámina propia y de la túnica submucosa se apreció un infiltrado celular inflamatorio compuesto por heterófilos, macrófagos y plasmocitos. En la lamina propia se observaron numerosos pseudoquistes en cuyo interior se apreciaban acúmulos de taquizoítos de *T. gondii*.

El bazo presentó congestión difusa de la pulpa roja, que se acompañaba de un infiltrado difuso de heterófilos y macrófagos; además, en el parénquima esplénico se apreció una hiperplasia linfonodular moderada, así como pequeños focos de necrosis a los cuales estaban asociados acúmulos de taquizoítos (Figura 1A).

La lesión hepática más característica consistió en una necrosis focal periportal rodeada por un infiltrado denso de heterófilos, macrófagos y células plasmáticas. De forma generalizada, los hepatocitos estaban aumentados de tamaño y vacuolizados. En el interior de numerosos hepatocitos se apreciaron acúmulos de taquizoítos de *T. gondii* (Figura 1B).

El parénquima pulmonar presentó microscópicamente congestión y edema difuso, con moderada neumonía intersticial asociada a un infiltrado de células mononucleares. En los cortes histológicos se observaron taquizoítos, aunque en un escaso número.

Ambas perdices presentaron una miositis y miocarditis multifocal moderada, apareciendo acúmulos de taquizoítos en los focos de infiltración de células mononucleares (Figura 2A).

En el resto de tejidos estudiados no se apreció ninguna otra lesión digna de mención, si bien se identificaron taquizoítos en los cortes

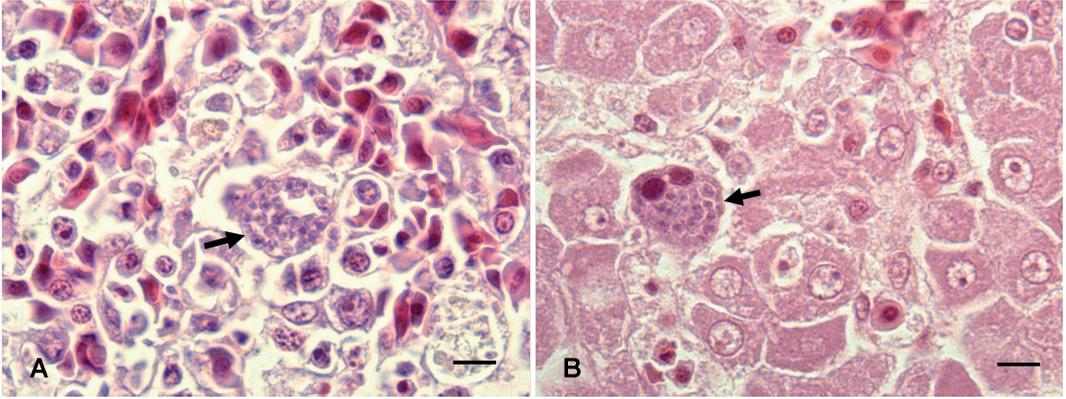


Figura 1. Taquizoítos de *Toxoplasma gondii* (flechas) en corte histológico de bazo (A) e hígado (B), en una perdiz roja muerta a los 7 d.p.i. H-E. Barras: 10 μ m.

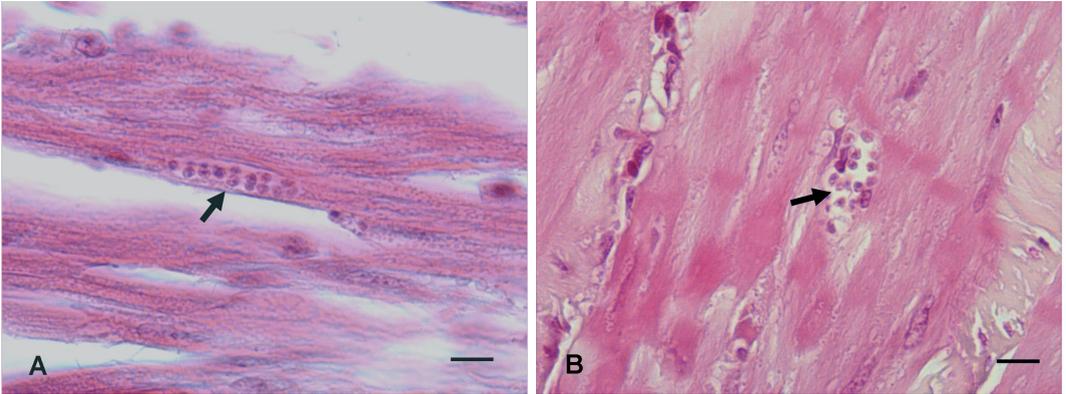


Figura 2. Taquizoítos de *Toxoplasma gondii* (flechas) en corte histológico de miocardio (A) y túnica muscular de molleja (B), en una perdiz roja muerta a los 7 d.p.i. H-E. Barras: 10 μ m.

histológicos del páncreas, parénquima renal, bolsa de Fabricio, proventrículo y molleja (Figura 2B).

Las perdices que sobrevivieron a la fase aguda de la infección no presentaron en el momento del sacrificio ninguna lesión macroscópica digna de mención, y la única manifestación microscópica observada fue la presencia en el cerebro de quistes titulares de *T. gondii* asociados a manguitos perivasculares (Martínez-Carrasco *et al.*, 2005).

DISCUSIÓN

A pesar de que la infección toxoplásmica ha sido demostrada en un gran número de especies aviares de vida libre (Kalyakin, 1972; Literák *et al.*, 1992), la manifestación del proceso morboso suele ser subclínica. De hecho, son poco frecuentes los casos de muerte sobraguda o aguda de aves silvestres infectadas de forma natural por *T. gondii* (Dhillon *et al.*, 1982; Howerth y Rodenroth, 1985; Howerth *et al.*, 1991; Ma-

son *et al.*, 1991; Dubey *et al.*, 2001; Szabo *et al.*, 2004). En la toxoplasmosis aguda de aves silvestres, los hallazgos de necropsia más llamativos son una hepatomegalia (Howerth *et al.*, 1991) y esplenomegalia (Howerth y Rodenroth, 1985; Quist *et al.*, 1995), lesiones que coinciden con las encontradas en las perdices rojas de nuestro estudio. Las lesiones microscópicas típicas son resultado, en esencia, de la vasculitis transmural segmental, con frecuentes trombosis, y la necrosis multifocal que se manifiestan en distintos órganos y tejidos. Estos focos de necrosis están delimitados por linfocitos, macrófagos y heterófilos, apareciendo acúmulos generalmente intracelulares de taquizoítos (Hubbart *et al.*, 1986).

Diversos autores han descrito, en aves silvestres infectadas experimentalmente con diferentes cepas de *T. gondii*, lesiones agudas similares a las encontradas por nosotros en las perdices rojas; sin embargo, en estos estudios no siempre se ha evidenciado la presencia del parásito en el examen histopatológico. Así, Dubey *et al.* (1994b), en faisanes, encontraron que las lesiones más llamativas en las aves que murieron de forma sobregada fueron encefalitis, miositis, enteritis, esplenitis necrótica y miocarditis, si bien no pudieron encontrar taquizoítos asociados a estas lesiones. Por otra parte, Dubey *et al.* (1995), en una infección experimental en perdices griegas (*Alectoris graeca*), describen lesiones similares a las indicadas por nosotros en perdiz roja; esto es, las lesiones afectan a diversos órganos y tejidos, estando asociadas a ellas acúmulos de taquizoítos. Finalmente, Sedlák *et al.* (2000) realizaron la infección experimental con diferentes cepas de *T. gondii* en perdiz pardilla (*P. perdix*), perdiz chukar (*Alectoris chukar*), pintada común (*Numida meleagris*), pavos y pollos; estos autores describen muertes agudas exclusivamente en perdiz pardilla, manifestándose el cuadro lesional como una enteritis de similares características a la que nosotros hemos descrito en la perdiz roja. Además, los animales muertos presentaron

esplenitis necrótica, inflamación periportal con infiltrado celular en el parénquima hepático, así como neumonía intersticial.

En definitiva, podemos decir que las lesiones encontradas en distintos órganos de las perdices rojas muertas de forma aguda por *T. gondii* son similares a las descritas en otras gallináceas silvestres, y coincidimos con los autores anteriormente citados en que las lesiones más llamativas han sido la enteritis y los focos de necrosis en hígado y bazo.

AGRADECIMIENTOS

Deseamos agradecerle a D. Juan Sánchez Gil la inestimable ayuda que nos ha prestado en el procesado de las muestras.

BIBLIOGRAFÍA

- Dhillon, A.S., Thacker, H.L., Winterfield, R.W. 1982. Toxoplasmosis in mynahs. *Avian Dis.*, 26, 445-449.
- Dubey, J.P. 1995. Duration of immunity to shedding of *Toxoplasma gondii* oocysts by cats. *J. Parasitol.*, 81, 410-415.
- Dubey, J.P. 2002. A review of toxoplasmosis in wild birds. *Vet. Parasitol.*, 106, 121-153.
- Dubey, J.P., Beattie C.P. 1988. Toxoplasmosis of animals and man. CRC Press, Boca Raton, FL, 220 pp.
- Dubey, J.P., Camargo, M.E., Ruff, M.D., Wilkins, G.C., Shen, S.K., Kwok, O.C., Thulliez, P. 1993a. Experimental toxoplasmosis in turkeys. *J. Parasitol.*, 79, 949-952.
- Dubey, J.P., Ruff, M.D., Kwok, O.C., Shen, S.K., Wilkins, G.C., Thulliez, P. 1993b. Experimental toxoplasmosis in bobwhite quail (*Colinus virginianus*). *J. Parasitol.*, 79, 935-939.
- Dubey, J.P., Goodwin, M.A., Ruff, M.D., Kwok, O.C., Shen, S.K., Wilkins, G.C., Thulliez, P. 1994a. Experimental toxoplasmosis in japanese quail. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 6, 216-221.

- Dubey, J.P., Ruff, M.D., Wilkins, G.C., Shen, S.K., Kwok, O.C. 1994b. Experimental toxoplasmosis in pheasants (*Phasianus colchicus*). J. Wildl. Dis., 30, 40-45.
- Dubey, J.P., Goodwin, M.A., Ruff, M.D., Shen, S.K., Kwok, O.C., Wilkins, G.L., Thulliez, P. 1995. Experimental toxoplasmosis in chukar partridges (*Alectoris graeca*). Avian Pathol., 24, 95-107.
- Dubey, J.P., Garner, M.W., Willette, M.M., Batey, K.L., Gardiner, C.H. 2001. Disseminated toxoplasmosis in magpie geese (*Anseranas semipalmata*) with large numbers of tissue cysts in livers. J. Parasitol., 87, 219-23.
- Howerth, E.W., Rodenroth, N. 1985. Fatal systemic toxoplasmosis in a wild turkey. J. Wildl. Dis., 21, 446-449.
- Howerth, E. W., Rich, G., Dubey, J. P., Yogasundra, K. 1991. Fatal toxoplasmosis in a Red Lory (*Eos bornea*). Avian Dis., 35: 642-646.
- Hubbart, G., Witt, W., Healy, M., Schmidt, R. 1986. An outbreak of toxoplasmosis in zoo birds. Vet. Pathol., 23: 639-641.
- Kalyakin, V.N. 1972. On geographical distribution of natural nidi of toxoplasmosis and epizootic peculiarities of this infection in wild animals. En: Actual problems of toxoplasmosis, 118-121. Moscú.
- Literák, I., Hejlíček, K., Nezval, J., Fol., C. 1992. Incidence of *Toxoplasma gondii* in populations of wild birds in the Czech Republic. Avian Pathol., 21, 659-665.
- Lindsay, D.S., Smith, P.C., Blagburn, B.L. 1994. Prevalence and isolation of *Toxoplasma gondii* from wild turkeys in Alabama. J. Helminthol. Soc. Wash., 61, 115-117.
- Martínez-Carrasco, C., Ortiz, J.M., Bernabé, A., Ruiz de Ybáñez, M.R., Garijo, M., Alonso, F.D. 2004. Serologic response of red-legged partridges (*Alectoris rufa*) after oral inoculation with *Toxoplasma gondii* oocysts. Vet. Parasitol., 121, 143-149.
- Martínez-Carrasco, C., Bernabé, A., Ortiz, J. M., Alonso, F.D. 2005. Experimental toxoplasmosis in red-legged partridges (*Alectoris rufa*) fed *Toxoplasma gondii* oocysts. Vet. Parasitol., 130, 55-60.
- Mason, R. W.; Hartley, W. J. Y Dubey, J. P. 1991. Lethal toxoplasmosis in a Little Penguin (*Eudyptula minor*) from Tasmania. J. Parasitol., 77: 328-330.
- Pokorný, B. 1955. Príspevek k poznání toxoplasmosy polní zvěře. Cesk. Parasitol., 2, 157-160.
- Quist, Ch., F., Dubey, J.P., Luttrell, M.P., Davidson, W.R. 1995. Toxoplasmosis in wild turkeys: a case report and serologic survey. J. Wildl. Dis., 31, 255-258.
- Sedlák, K., Literák, I., Vitula, F., Benák, J. 2000. High susceptibility of partridges (*Perdix perdix*) to toxoplasmosis compared with other gallinaceous birds. Avian Pathol., 29, 563-569.
- Simitch, T., Petrovitch, Z., Bordjochki, A., Saviin, Z., Mikovitch, Z. 1965. Infection du faisain *Phasianus colchicus* per os avec *Toxoplasma gondii*. Bull. Acad. Vét. France, 38, 115-118.
- Szabo, K.A., Mense, M.G., Lipscomb, T.P., Felix, K.J., Dubey, J.P. 2004. Fatal toxoplasmosis in a bald eagle (*Haliaeetus leucocephalus*). J Parasitol., 90, 907-908.
- Work, T.M., Massey, J.G., Lindsay D., Dubey J.P. 2002. Toxoplasmosis in three species of native and introduced Hawaiian birds, nene goose (*Nesochen sandkensis*), Erckels francolin (*Francolinus erckelii*), and red-footed booby (*Sula sula*). J. Parasitol., 88, 1040-1042.