

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

SURTO DE TOXOPLASMOSE EM GALINHAS DOMÉSTICAS E GALINHAS  
D'ANGOLA

ANDRÉIA VIELMO

Porto Alegre

2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

SURTO DE TOXOPLASMOSE EM GALINHAS DOMÉSTICAS E GALINHAS  
D'ANGOLA

ANDRÉIA VIELMO

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias na área de concentração em Medicina Veterinária Preventiva e Patologia Animal da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientador: Prof. Dr. David Driemeier

PORTO ALEGRE  
2018

CIP - Catalogação na Publicação

Vielmo, Andréia  
SURTO DE TOXOPLASMOSE EM GALINHAS DOMÉSTICAS E  
GALINHAS D'ANGOLA / Andréia Vielmo. -- 2018.  
28 f.  
Orientador: David Driemeier.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária,  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias,  
Porto Alegre, BR-RS, 2018.

1. aves. 2. doenças parasitárias. 3. protozoário.  
4. imuno-histoquímica. 5. patologia. I. Driemeier,  
David, orient. II. Título.

Andréia Vielmo

SURTO DE TOXOPLASMOSE EM GALINHAS DOMÉSTICAS E GALINHAS  
D'ANGOLA

Aprovada em 28 FEV 2018

APROVADA POR:

---

Prof. Dr. David Driemeier

Orientador e Presidente da Comissão

---

Prof. Dr<sup>a</sup>. Luciana Sonne

Membro da Comissão

---

Prof. Dr. Saulo Petinatti Pavarini

Membro da Comissão

---

Prof. Dr. Claudio Severo Lombardo de Barros

Membro da Comissão

## RESUMO

*Toxoplasma gondii* é um protozoário intracelular obrigatório com distribuição mundial e que tem como hospedeiros definitivos os felinos domésticos e selvagens, e podem infectar outras espécies, como humanos e aves. A infecção pode ocorrer de forma congênita ou através da ingestão de tecidos infectados, alimentos ou água contaminados com oocistos. Em aves, a maioria dos estudos sobre toxoplasmose estão relacionados a levantamentos sorológicos e há poucos estudos abordando a caracterização anatomopatológica e imuno-histoquímica (IHQ) da toxoplasmose. O objetivo desse trabalho é descrever um surto de toxoplasmose em galinhas domésticas (*Gallus gallus domesticus*) e galinhas d'angola (*Numida meleagris*) em uma pequena propriedade rural no sul do Brasil, abordando os aspectos epidemiológicos, clínicos, anatomopatológicos e IHQ. A criação era composta por 47 galinhas domésticas e 29 galinhas d'angola, totalizando 76 aves. Dessas, 22 (treze galinhas domésticas e nove galinhas d'angola) manifestaram clinicamente em um curso de 24 a 72h letargia e anorexia, evoluindo para morte em 15 aves (nove galinhas domésticas e seis galinhas d'angola). Uma das aves apresentou manifestações neurológicas. Seis aves foram submetidas à necropsia, na qual não foram observadas lesões macroscópicas significativas. Histologicamente, havia de forma multifocal necrose e infiltrado inflamatório de macrófagos, linfócitos e plasmócitos em diversos órgãos como sacos aéreos, coração, cérebro, rim, fígado, intestino delgado e baço associado à taquizoítos e cistos intralésionais, preenchidos por inúmeros bradizoítos, que apresentaram imunomarcagem acentuada para *T. gondii* na IHQ. Portanto, galinhas domésticas e galinhas d'angola podem apresentar infecção com *T. gondii*. O exame IHQ é uma ferramenta importante no diagnóstico diferencial da condição e deve ser associado aos aspectos epidemiológicos e microscópicos.

**Palavras-chave:** aves, doenças parasitárias, protozoário, imuno-histoquímica, patologia.

## **ABSTRACT**

*Toxoplasma gondii* is an obligatory intracellular protozoan worldwide distributed, and has domestic and wild cats as definitive hosts. In addition, it may cause infection in other species, such as humans and birds. Infection may be congenital or through either the ingestion of infected tissues, or oocysts contaminated food or water. In birds, most toxoplasmosis studies are serological surveys, while there are few studies with a pathological and immunohistochemical (IHC) approach to this disease. The aim of this work is to describe an outbreak of toxoplasmosis in a flock of domestic chickens and guinea fowls in a small farm and to address the epidemiological, clinical, anatomopathological and IHC features of this condition. An onsite visit was conducted to the chicken farm to gather epidemiological data. The farm had a total of 47 domestic chickens (*Gallus gallus domesticus*) and 29 guinea fowl (*Numida meleagris*), from a flock of 76 birds. Of these, 22 (13 domestic chickens and nine guinea fowls) presented a clinical course of 24 to 72h, lethargy and anorexia, with fatal outcome in 15 birds (nine domestic chickens and six guinea fowls). One bird had neurological signs. Six birds were necropsied, and no gross lesions were observed. Histologically, multifocal necrosis and inflammatory infiltrate of macrophages, lymphocytes and plasma cells were observed in several tissues such as air sacs, myocardium, brain, kidney, liver, lung, small intestine, and spleen associated with tachyzoites and intralésional cysts filled with numerous bradyzoites, which were identified as *T. gondii* by IHC exam. Thus, domestic chicken and guinea fowl may present infection by *T. gondii*. The IHC technique is an important tool in the differential diagnosis of this disease and should be associated with epidemiological and microscopic aspects.

**Keywords:** birds, parasitic diseases, protozoan, immunohistochemistry, pathology.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>6</b>
<b>2</b>	<b>ARTIGO .....</b>	<b>13</b>
<b>3</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>23</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>24</b>

## 1 INTRODUÇÃO

*Toxoplasma gondii* é um protozoário intracelular obrigatório, ubiquitário (WEISS; DUBEY, 2009), pertencente ao filo Apicomplexa e família Sarcocystidae (BOWMAN, 2009). Foi descrito pela primeira vez em 1908 por Nicolle e Manceaux, na Tunísia, em tecidos de um roedor africano e concomitantemente por Splendore em São Paulo, em tecidos de um coelho, sendo anteriormente confundido com *Leishmania* (DUBEY, 2008; BODAGHI *et al.*, 2012). Este protozoário pode infectar praticamente todas as espécies de animais, inclusive humanos (TENTER; HECKEROTH; WEISS, 2000; WEISS; DUBEY, 2009). Ocorre em quase todas as regiões do mundo, porém a incidência é maior nas áreas tropicais e menor em locais com alta latitude (PETERSEN, 2007). Estima-se que aproximadamente 1/3 da população mundial humana esteja infectada por esse parasita (WEISS; DUBEY, 2009).

Os felinos, domésticos e selvagens, são os hospedeiros definitivos, responsáveis pela excreção dos oocistos no ambiente (DUBEY, 1996; DUBEY, 2009a). Os felinos domésticos são os maiores produtores de oocistos e, provavelmente, a maior fonte de contaminação ambiental (HILL; DUBEY, 2002). Os hospedeiros intermediários abrigam os cistos teciduais, e, nestes, ocorrem as fases assexuadas de desenvolvimento do protozoário (TENTER; HECKEROTH; WEISS, 2000; HILL; CHIRUKANDOTH; DUBEY, 2005). Após a ingestão de oocistos pelos hospedeiros intermediários, *T. gondii* passa por duas fases de desenvolvimento assexuado (TENTER; HECKEROTH; WEISS, 2000). Primeiramente, esporozoítos são liberados no lúmen intestinal e invadem enterócitos do intestino delgado e lâmina própria, dividem-se em dois por processo assexuado (endodiogenia) e diferenciam-se em taquizoítos, que se dividem rapidamente dentro de qualquer célula do corpo e, juntamente com a resposta imune do hospedeiro, são responsáveis pelas manifestações clínicas da infecção (WEISS; DUBEY, 2009). Os taquizoítos da última geração iniciam a segunda fase de desenvolvimento que resulta na formação de cistos teciduais. Dentro desses cistos, os bradizoítos se multiplicam lentamente pela endodiogenia (DUBEY; LINDSAY; SPEER, 1998; TENTER; HECKEROTH; WEISS, 2000). Os cistos teciduais são o estágio terminal do ciclo de vida no hospedeiro intermediário. Em algumas espécies, os cistos podem persistir indefinidamente pela vida do hospedeiro (TENTER; HECKEROTH; WEISS, 2000), provavelmente, por um ciclo de reação e reinfecção. Se um indivíduo se tornar imunocomprometido, esses cistos servem como um reservatório



a partir do qual as infecções disseminadas ou locais podem se desenvolver (WEISS; DUBEY, 2009).

No hospedeiro definitivo, esse parasita induz ciclo sexuado e assexuado, presentes concomitantemente após a infecção (DUBEY, 2008; DUBEY; LINDSAY; LAPPIN, 2009). Entretanto, dependendo da forma infectante ingerida, podem ocorrer variações no ciclo que levam a diferenças quanto ao período pré-patente, bem como à quantidade de oocistos produzida (DUBEY, 1998; TENTER; HECKEROTH; WEISS, 2000).

Gatos são, na maioria das vezes, infectados ao ingerir um hospedeiro intermediário contaminado com *T. gondii*, e iniciam o ciclo enteroepitelial induzido por bradizoítos. Essas estruturas são liberadas após a ação de enzimas proteolíticas do estômago e intestino do hospedeiro, que degradam a parede do cisto (HILL; CHIRUKANDOTH; DUBEY, 2005). Alguns bradizoítos penetram na lâmina própria do intestino, se transformam em taquizoítos e se multiplicam localmente, disseminando-se em poucas horas através do sangue e linfa para tecidos extraintestinais. Outros bradizoítos penetram nas células epiteliais do intestino delgado e realizam cinco estágios assexuados predeterminados, onde são produzidos esquizontes que originam merozoítos na forma de gametas masculino e feminino, e que, através de reprodução sexuada, produzem oocistos, que são eliminados nas fezes não esporulados. Após um a cinco dias de exposição ao ar e à umidade, os oocistos esporulam e contêm dois esporocistos com quatro esporozoítos, e esses são a forma infecciosa do oocisto. Esse ciclo dura aproximadamente de três a 10 dias (HILL; CHIRUKANDOTH; DUBEY, 2005; DUBEY; LINDSAY, 2006). No entanto, após a ingestão de cistos esporulados, a formação dos cistos demora até 18 dias ou mais, e apenas 20% dos gatos que ingerem desenvolvem patência. Dessa forma, o ciclo fecal-oral de *T. gondii* em gatos não é muito eficiente (DUBEY; LAPPIN, 2015). Oocistos esporulados são bastante resistentes a temperaturas de congelamento constantes, secagem e alta temperatura ambiental por até 18 meses ou mais, especialmente se estiverem cobertos e não expostos à luz solar direta. Além disso, sobrevivem por longos períodos no ambiente, principalmente, em solo quente e úmido (YILMAZ; HOPKINS, 1972; DUBEY, LINDSAY, LAPPIN 2009). Oocistos no solo nem sempre ficam no mesmo lugar, pois animais, como moscas, baratas, besouros de estrume e minhocas, podem espalhar estes oocistos mecanicamente e até mesmo levá-los para o alimento (HILL; DUBEY, 2002).

É possível que a maioria dos isolados de *T. gondii* seja agrupada em três linhagens genéticas e usadas no monitoramento epidemiológico. Provavelmente três genótipos predominantes tenham resultado de um único cruzamento entre duas cepas parentais há aproximadamente 10.000 anos (DUBEY; LAPPIN, 2015). Foram identificadas três cepas parasitárias, a cepa de Tipo II, que é isolada principalmente na Europa e na América do Norte e as cepas tipo III e I / III recombinante, comuns na América do Sul (BODAGHI *et al.*, 2012).

Existem três estágios infecciosos: esporozoítos em oocistos, taquizoítos e bradizoítos inclusos em cistos teciduais (HILL; CHIRUKANDOTH; DUBEY, 2005). Os oocistos são excretados nas fezes, enquanto taquizoítos e bradizoítos são encontrados nos tecidos. *Toxoplasma gondii* pode ser transmitido por três principais vias que incluem infecção congênita, ingestão de tecidos infectados ou ingestão de oocistos esporulados em alimentos ou água contaminados (DUBEY, 1996). Outros meios de transmissão incluem ainda amamentação e transfusão de sangue ou transplante de tecidos ou órgãos (DUBEY; LINDSAY; LAPPIN, 2009).

Na infecção congênita, a parasitemia durante a gestação pode resultar em placentite causada pela disseminação de taquizoítos para o feto. A transmissão congênita ocorre geralmente quando a infecção acontece durante a gestação. Muitos filhotes de gatos nascem de mães que se infectam com *T. gondii* durante a gestação, e estes se infectam através da placenta ou da amamentação (HILL; DUBEY, 2002; DUBEY, LINDSAY, LAPPIN, 2009).

Dentre os alimentos, as carnes, principalmente de suínos, frequentemente estão contaminadas por cistos de *T. gondii* (DUBEY, 1996; VILLARI *et al.*, 2009; WEISS; DUBEY, 2009), e esses cistos podem sobreviver por anos nesses animais (HILL; DUBEY, 2002). Estudos recentes sugerem a possibilidade de transmissão de toxoplasmose através do consumo de carne de aves infectadas (SÁ *et al.*, 2017). No entanto, com a melhoria das condições de criação e a conscientização sobre o consumo de carne mal cozida, a prevalência de toxoplasmose já diminuiu consideravelmente (TENTER; HECKEROTH; WEISS, 2000). A água tem grande importância na epidemiologia da toxoplasmose, e já foram relatados surtos em humanos (BOWIE *et al.*, 1997). Além disso, há relatos de infecção por *T. gondii* em animais marinhos, o que indica uma possível contaminação e sobrevivência de oocistos na água do mar. As fezes de gatos podem contaminar oceanos através da drenagem ou de esgotos contaminados (COLE *et al.*, 2000).

A idade e o tipo de criação dos animais são fatores que interferem na sororreatividade à toxoplasmose. A doença é mais prevalente em animais mais velhos, principalmente pela maior exposição ao agente, assim como em animais de vida livre e os utilizados para a prática da caça, pois estes estão mais suscetíveis aos oocistos presentes no ambiente (DUBEY, 2009a; MILLAR *et al.*, 2012). Galinhas de vida livre são usadas como indicadores de contaminação ambiental por oocistos de *Toxoplasma gondii*, isso porque esses animais estão em contato direto com o solo (RUIZ; FRENKEL, 1980; MILLAR *et al.*, 2012).

O tipo e a gravidade da doença clínica associado com infecções por *T. gondii* dependem do grau e localização da lesão tecidual. Idade, sexo, cepa do *T. gondii*, espécie do hospedeiro, número de organismos e estágio do parasita ingerido também são fatores que podem determinar porque alguns animais desenvolvem a doença clínica e outros não (DUBEY; LINDSAY; LAPPIN, 2009). A patogênese é resultado direto do efeito citopático e necrose celular, causados pelo crescimento intracelular do *Toxoplasma*, uma vez que o parasito não produz toxina (DAVIDSON, 2000). A disseminação e replicação de taquizoítos na infecção primária ocorre nos órgãos alvo e causa necrose nesses tecidos. Os sinais clínicos desta infecção primária dependem da gravidade e dos órgãos envolvidos (DAVIDSON, 2000). Nos casos agudos, os sítios mais afetados são os pulmões, fígado, baço, linfonodos, intestino e cérebro (DUBEY; LAPPIN, 2015). Esta fase aguda da infecção primária pode ser fatal, especialmente em animais jovens ou imunodeficientes, mas a infecção geralmente não causa sinais clínicos aparentes (DAVIDSON, 2000).

A imunidade é fator importante no desenvolvimento e manifestação de doença clínica causada por *Toxoplasma gondii* (INNES, 2010). Uma adequada resposta imune mediada por células é necessária para controlar a infecção e promover uma imunidade protetiva, já que anticorpos específicos para esse agente não são importantes para a resistência do hospedeiro à infecção, uma vez que esses anticorpos são capazes de destruir apenas *T. gondii* extracelular (LIN; BOWMAN, 1991). Estresse, doenças concomitantes ou imunossupressão podem tornar o hospedeiro mais suscetível, já que o *T. gondii* é um patógeno oportunista (DUBEY; LINDSAY; LAPPIN, 2009). No período de uma a oito semanas após a exposição primária, quando o indivíduo é imunocompetente, este desenvolve uma resposta imune celular que inibe a parasitemia e há a formação dos cistos teciduais (DAVIDSON, 2000). Esses cistos variam em relação ao tamanho, dependem do estágio de maturidade e podem conter inúmeros bradizoítos

no seu interior (INNES, 2010). Geralmente permanecem adormecidos e não têm importância clínica para o hospedeiro, no entanto, em alguns animais, os cistos reativam, e ocorre a replicação de taquizoítos. A reativação e replicação de taquizoítos podem novamente causar sinais clínicos, causando necrose e inflamação nos tecidos (DAVIDSON, 2000).

Os sinais clínicos de toxoplasmose não são específicos, dificultando o diagnóstico definitivo. A toxoplasmose constitui um diagnóstico diferencial de outras doenças infecciosas (HILL; DUBEY, 2002) e raramente produz manifestações clínicas severas (HILL; CHIRUKANDOTH; DUBEY, 2005). Em humanos, a doença é geralmente assintomática em pacientes imunocompetentes e, quando desenvolvem a doença, podem apresentar coriorretinite, linfadenite, miocardite e polimiosite (WEISS; DUBEY, 2009). A encefalite é a manifestação mais importante de toxoplasmose em pacientes imunossuprimidos, principalmente pelo vírus da síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), e leva danos graves ao paciente. Os sinais clínicos podem ser caracterizados por cefaleia, desorientação, sonolência, hemiparesia, alterações reflexas e convulsões, progredindo em muitos casos ao coma (HILL; DUBEY, 2002). Em crianças infectadas congenitamente, a toxoplasmose pode apresentar manifestação neurológica e perda da visão (DUBEY, 1996).

Em ovelhas e cabras, a doença geralmente está relacionada com reabsorção embrionária, mumificação fetal, além de aborto ou natimortos. A doença é mais severa em cabras do que em ovelhas (HILL; CHIRUKANDOTH; DUBEY, 2005). *T. gondii* é reconhecido como uma das maiores causas de aborto em ovelhas em diversos locais do mundo, principalmente, no Reino Unido, Europa, Escandinávia e Austrália (INNES, 2010). Os suínos podem apresentar anorexia, febre, depressão, vômito, decúbito, prostração dispneia, fraqueza dos membros, pneumonia, miocardite, encefalite, necrose placentária e abortos (HILL; CHIRUKANDOTH; DUBEY *et al.*, 2005, DUBEY, 2009b; KIM *et al.*, 2009). Mortalidade é mais frequente em animais jovens do que nos adultos (HILL; CHIRUKANDOTH; DUBEY, 2005).

Manifestações clínicas em cães incluem sinais respiratórios, decorrente de pneumonia, além de letargia, sinais nervosos e diarreia (DUBEY; ROSS; FRITZ, 2003; DUBEY; LAPPIN, 2015). A toxoplasmose respiratória muitas vezes está associada com cinomose, cujo vírus causa imunossupressão, facilitando a proliferação de *T. gondii* (DUBEY; ROSS; FRITZ, 2003). A manifestação clínica em gatos pode incluir doença hepática, doença respiratória, sinais nervosos, febre, envolvimento pancreático

e, em alguns casos, uveíte (LAPPIN *et al.*, 1996; LAPPIN, 2010). Os gatos com toxoplasmose disseminada apresentam depressão, anorexia, febre, seguida de efusão peritoneal, icterícia e dispneia (LAPPIN, 2010).

Em galliformes, manifestações clínicas são raras e inespecíficas, e incluem diarreia e letargia dois a três dias antes da morte (BIANCIFIORI *et al.*, 1986; JONES *et al.*, 2012). Manifestação neurológica também já foi descrita em animais desse gênero (DUBEY *et al.*, 2007).

Equinos constituem uma espécie resistente à infecção ao *T. gondii* e não há confirmação de manifestações clínicas nesses animais. Em bovinos, há raras descrições da infecção (DUBEY; JONES, 2008).

O diagnóstico de toxoplasmose pode ser realizado através de testes sorológicos, que incluem o teste de corante Sabin-Feldman (DT), teste de fixação do complemento (CFT), teste de inibição do complemento, teste de hemaglutinação indireta (IHAT), teste de anticorpos fluorescentes indiretos (IFAT), teste de aglutinação de látex (LAT), ensaio imunoenzimático (ELISA) e o teste de aglutinação modificado (MAT) (DUBEY, 2010). O DT é um dos testes mais sensíveis e específicos para diagnóstico de toxoplasmose em humanos (DUBEY, 2010), porém, em galinhas, DT e CFT não demonstraram sensibilidade suficiente (BIANCIFIORI *et al.*, 1986).

No diagnóstico histopatológico, as lesões observadas incluem, principalmente, infiltrado inflamatório mononuclear multifocal de intensidade variável e áreas de necrose em diferentes órgãos. Ocasionalmente, podem ser observados cistos de *T. gondii* intralésional (HOWERTH; RODENROTH, 1985; KIM *et al.*, 2009). Lesões no cérebro também podem ser observadas e são caracterizadas por áreas multifocais de necrose, infiltrado de linfócitos e gliose (DUBEY *et al.*, 2007). A técnica de imunohistoquímica (IHQ) é uma ferramenta fundamental para confirmação, pois auxilia na visualização de parasitas em focos de necrose, os quais são de difícil visualização em coloração de hemotoxilina-eosina (HILL; DUBEY, 2002; DUBEY *et al.*, 2007). Detecção de DNA de *Toxoplasma gondii* é uma técnica bastante útil, proporcionando um diagnóstico rápido e eficiente (DUBEY, 2008; DUBEY, 2010).

Em aves há poucos estudos relacionados com a caracterização anatomopatológica e imunohistoquímica de toxoplasmose, e a maioria dos estudos nessa espécie são voltados para levantamentos sorológicos acerca da doença (MILLAR *et al.*, 2012; SÁ *et al.*, 2017). Com isso, o objetivo desse trabalho é relatar um surto de

toxoplasmose em galinhas domésticas e galinhas d'angola, descrevendo os aspectos epidemiológicos, clínicos, anatomopatológicos e imuno-histoquímicos.

## 2 ARTIGO

Neste item é apresentado o artigo intitulado “Outbreak of toxoplasmosis in a flock of domestic chickens (*Gallus gallus domesticus*) and guinea fowl (*Numida meleagris*)” o qual foi redigido segundo as normas do periódico *Parasitology Research*.

**Outbreak of toxoplasmosis in a flock of domestic chickens (*Gallus gallus domesticus*) and guinea fowl (*Numida meleagris*)**

Andréia Vielmo<sup>1\*</sup>, Hilda Pena<sup>2</sup>, Welden Panziera<sup>1</sup>, Ronaldo Michel Bianchi<sup>1</sup>, Cíntia De Lorenzo<sup>1</sup>,  
Verônica Machado Rolim<sup>1</sup>, Saulo Petinatti Pavarini<sup>1</sup>, David Driemeier<sup>1</sup>

**Abstract:** Toxoplasmosis has a worldwide distribution and affects a wide variety of animal species, being rarely described in chickens. We describe the clinical, epidemiological and pathological aspects of an outbreak of toxoplasmosis in domestic chickens and guinea fowls that occurred in June and July 2016, in Southern Brazil. The chicken farm had a stock of 47 domestic chickens and 29 guinea fowls. Of this total number of 76 birds, 22 showed clinical signs and 15 died. An on-site visit was made to the chicken farm to gather epidemiological data and carry out and necropsy of six chickens. Clinical signs included lethargy, anorexia, and neurological signs. The clinical course extended for 24-72 hours. Poor body condition was the only gross change found at necropsy, and histopathological findings included inflammatory infiltrate of macrophages, lymphocytes and plasma cells, and necrosis, associated with intralesional protozoan, the identity of which was defined as *Toxoplasma gondii* by immunohistochemistry using polyclonal anti-*T. gondii* antibody.

**Keywords:** Diseases of poultry, protozoal diseases, domestic chicken, guinea fowl, *Toxoplasma gondii*, pathology

---

<sup>1</sup> Andréia Vielmo  
[andreiavielmo@yahoo.com.br](mailto:andreiavielmo@yahoo.com.br)

<sup>1</sup>Departamento de Patologia Clínica Veterinária, Setor de patologia Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Bento Gonçalves 9090, Prédio 42505, Porto Alegre, RS 91540-000, Brazil

<sup>2</sup>Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo (FMZ/USP), Avenida Orlando Marques de Paiva, 87, Cidade Universitária, São Paulo-SP, 05508-900, Brazil



## Introduction

Toxoplasmosis is caused by *Toxoplasma gondii*, an apicomplexan coccidium (Vesco et al., 2007) with a heterogeneous life cycle. *T. gondii* is the only known species of the genus *Toxoplasma*. Domestic and wild cats are definitive hosts, responsible for the excretion of oocysts in the environment, while other species of mammals, including human beings, and birds, serve as intermediate hosts that harbor tissue cysts (Tenter et al. 2000).

*T. gondii* goes through three infectious stages, depending on its habitat and evolutionary stage: the oocysts are shed in the felids feces while tachyzoites and bradyzoites found in the tissues. Infection in humans and animals occurs mainly through the ingestion of oocysts in contaminated food or water. Also, congenital toxoplasmosis is known to occur in several species (Dubey and Jones 2008, Dubey 2008, Dubey and Lappin 2015).

Spontaneous infections by *T. gondii* in free-range chickens are important since they serve as good sentinels in detecting soil contamination with oocysts (Dubey 2008). There are few reports of spontaneous *T. gondii* infection in birds focusing on the histopathology (Jones et al. 2012). This report addresses the epidemiological, clinical, histopathological, and immunohistochemical findings in domestic chickens (*Gallus gallus domesticus*) and guinea fowl (*Numida meleagris*) from a flock affected toxoplasmosis in southern Brazil.

## Materials and methods

Four domestic chickens and two helmeted guinea fowls were necropsied. Fragments of different organs were sampled in 10% buffered formalin, routinely processed for histology, and stained with the hematoxylin and eosin. Epidemiological and clinical data were obtained during an on-site visit to the affected property and by several interviews with the owner.

To detect *T. gondii* immunohistochemistry was performed on selected sections of several tissues (bone marrow, brain, liver, lung, myocardium, small intestine, and spleen) embedded in paraffin blocks. The polyclonal antibody (VRMD, Pullman, WA, USA) at 1:1000 dilution, with 0.1% trypsin for 10 min was used for antigen retrieval. A streptavidin-biotin-peroxidase complex method (LSAB Universal kit, Dako Cytomation, Glostrup, Denmark) was employed using 3-amino-9-tilcarbazoln (AEC, K3469, Dako Cytomation, Glostrup, Denmark) as chromogen

## Results

The outbreak of toxoplasmosis occurred in a small chicken farm in a rural area of Southern Brazil (30° 4'51" S, 51° 1'22" W), during June-July, 2016. In the premises there were 47 domestic chickens and 29 guinea fowls, raised in free-range chickens and brought from different areas of the Brazilian south. The birds were fed corn grain and rice grits. The grains were dropped on the ground or placed in community troughs. A total of 22 adult birds (thirteen domestic chickens and nine guinea fowls) showed clinical signs and 15 died (nine domestic chickens and six guinea fowls). The first birds affected were guinea fowls and, in general, all showed non-specific clinical signs including prostration, apathy, isolation from the flock, and diarrhea. Additionally one of guinea fowl showed ataxia. The clinical course of the disease was 24-72 hours. In the premises, cats were in direct contact with the flock of chickens.

Poor body condition was the only gross change found at necropsy of four domestic chickens and two guinea fowls. Histologically, the lesions seen in all birds were similar, with varying degrees of intensity. Necrosis and inflammatory infiltrate of macrophages, lymphocytes and plasma cells were observed predominantly in the air sacs, myocardium (Fig. 1a), brain, kidney (Fig. 1b), liver, lung, small intestine, and spleen. In three chickens, lesions in the brain, lung, myocardium, and spleen were associated with numerous or isolated cysts morphologically consistent with *T. gondii*. These cysts were approximately 30-50 µm in diameter and filled with numerous elongated basophilic bradyzoites approximately 0.5-1 µm in diameter (Fig. 1c). Infective stages of *T. gondii* were seen in the cytoplasm of macrophages of the previous mentioned organs. Other common histological changes observed in birds included fibrin deposition and fibrinoid necrosis of the wall of blood vessels in the affected organs. Addition, in the central nervous system, random multifocal neuronal necrosis, with moderate microgliosis and vacuolization of the white and gray matter were observed (Fig. 1d). In the lung, there were also varying degrees of proliferation of alveolar type II pneumocytes and hyaline membranes. In the bone marrow of two birds, mild hyperplasia of hematopoietic cells associated with multifocal areas of necrosis was observed.

Tissues of all six necropsied birds were marked positively at immunohistochemistry to polyclonal anti-*T. gondii* antibody. Immunostaining showed variable intensity among tissues, which were observed in the bone marrow, lung (Fig. 1e), brain (Fig. 1f), myocardium, liver, small intestine, and spleen, even in two birds in which cysts were not visualized in routinely stained histological preparations. Immunostaining was observed in *T. gondii* cysts, tachyzoites and bradyzoites within macrophages

cytoplasm or free amidst the inflammatory infiltrate. Due to the suspicion and further confirmation of a diagnosis of toxoplasmosis, the remaining birds were treated by the owner at his own advice with a sulfa-based antibiotic in the water for four days. He then reported that the deaths of birds had ceased, but didn't put forward a more detailed information on the remaining birds.

## **Discussion**

The diagnosis of toxoplasmosis in the birds of the current study was based on epidemiological, anatomopathological, and immunohistochemical aspects. The association of these data is a valuable aid in suspecting and diagnosing the disease (Dubey et al. 2007, Jones et al. 2012).

Toxoplasmosis affects different species of domestic animals, mainly dogs, cats and small ruminants (Hill et al. 2005, Dubey and Lappin 2015). In general, the disease is associated with immunosuppressive factors, although in cats, it can be a primary condition depending on the strain involved (Lappin et al. 1996, Lappin 2010). In dogs, toxoplasmosis is usually secondary to distemper and respiratory and neurological clinical signs are common (Dubey et al. 2003, Dubey and Lappin 2015). In small ruminants, the disease is usually related to reproductive manifestations such as embryo resorption, abortions, and stillbirths (Hill et al. 2005). Although the clinical disease is uncommon in chickens, they are one of the most susceptible domestic species to *T. gondii* infection. Contamination occurs through sporulated oocysts shed near the feces of cats, which consequently contaminate the soil and the environment (Ruiz and Frenkel, 1980). Free-range chickens are more predisposed to disease when compared to those raised intensively; this is due to closer contact with contaminated soil (Millar et al. 2012). It is believed that the free-range raising system, associated with high stocking rate, were epidemiological determinants of the bird's infection in the current study. Additionally, chickens being adults as the chickens of this report were, favors a longer contact time with contaminated soil, predisposing to infection (Dubey 2002, Millar et al. 2012). The probable source of infection of the birds was cat feces since cats mingled with chicken in the premises, exposing them to oocysts shed by cats in the environment (Dubey et al. 2005, Dubey 2010). Viscera from dead birds may also have been a source of contamination for the cats in the farm (Millar et al. 2008).

Several factors may be responsible for the clinical manifestations and death of the chickens including the virulence of the strain plus individual and environmental factors (Dubey et al. 2009). Clinical expression of the disease usually occurs when the exposed subject is immunosuppressed, and

stress may have been a triggering factor in our cases since these chickens were acquired from different regions and kept as a sizeable crowded flock. There is also a wide spectrum of genetic diversity of *T. gondii* strains (Vieira et al. 2018), and fatal cases of acute toxoplasmosis in other species have already been associated to the virulence of the strain (Santos et al. 2017). Clinical signs are rarely observed in Galliformes with toxoplasmosis, and there are few reports on the spontaneous fatal disease in animals of that order (Howerth and Rodenroth 1985, Quist et al. 1995, Jones et al. 2012, Casagrande et al. 2015). Besides being rare, clinical manifestations in chickens are non-specific and include diarrhea and lethargy 2-3 days before death (Biancifiori et al. 1986, Jones et al. 2012). In the current study, the birds showed clinical signs similar to those previously mentioned and although unspecific should be taken into account in the differential diagnosis of the disease. The neurological sign observed in a bird was related to encephalic lesions caused by the protozoan (Dubey et al. 2007).

Aside from poor body condition, no lesions were observed in six necropsied birds of the current study. As described clinical manifestations were non-specific (Dubey et al. 2007, Jones et al. 2012). Microscopic findings help were valuable in reaching a diagnosis of the disease. Lesions consisting of necrosis and inflammatory infiltrate of macrophages, lymphocytes and plasma cells, associated with intralésional stages of protozoan are frequent changes in toxoplasmosis. The association of lesions with intralésional protozoal cysts is virtually determinant for a definitive diagnosis and denotes an active infection (Casagrande et al. 2015, Dubey and Lappin 2015). As described in other reports (Howerth and Rodenroth 1985, Quist et al. 1995, Jones et al. 2012) in this study, we observed a predominance of pathological changes in the brain, liver, lung, myocardium, small intestine, and spleen. It is suggested that these are the organs of choice for sampling and evaluation for the diagnosis of the disease. Bone marrow necrosis was also observed in cases of this study but is considered an uncommon lesion in birds with toxoplasmosis (Jones et al. 2012).

The technique of immunohistochemistry, associated with histopathological examination, is a valuable tool in confirming the diagnosis of toxoplasmosis (Quist et al. 1995, Dubey 2002, Jones et al. 2012). This technique is yet more relevant when cysts are not visualized in routine histopathological preparations, as occurred in half of the cases in this study. Although polyclonal antibody anti-*T. gondii* has lower specificity than monoclonal antibodies, it has a higher sensitivity, and allows for the identification of several protozoan proteins, while monoclonal antibodies, mark only a single protein (Dubey 2002). The immunolabeling observed for *T. gondii* in cases of this study varied from weak to

marked. In cases of weak labeling, a careful and detailed evaluation should be made, since tachyzoites and bradyzoites of *T. gondii* can occur inconspicuously in the cytoplasm of macrophages or free amidst the inflammatory infiltrate.

It is important to include toxoplasmosis in the differential diagnosis of chicken diseases presenting non-specific or neurological clinical signs so that proper treatment and management should be provided. Differentials should include botulism, Newcastle, influenza, salmonellosis, and histomoniasis. Botulism is probably the top of the list of rule outs in a clinical context; however, the absence of gross and histopathological lesions in botulism (Alexander and Senne 2008, Dohms 2008, Mcdougald 2008, Swayne and Halvorson 2008) is pivotal in the differential. Accordingly, the other conditions could be ruled out on the grounds of their typical histopathological findings. Additionally, the observation of protozoan cysts associated with the lesions in some cases and the positive anti-*T. gondii* immunostaining observed in the tissues of all necropsied chickens are of paramount for a definitive diagnosis.

In conclusion, toxoplasmosis should be a principal differential diagnosis of adult chickens, rose in free-ranged conditions in contact with cats. The clinical course of the disease is acute and the clinical signs are non-specific. Morphologically, there is a predominance of necrotic and inflammatory lesions with infiltrates of macrophages, lymphocytes and plasma cells disseminated in several organs. Cysts are not observable in all cases, so immunohistochemistry is an essential diagnostic tool.

## References

- Alexander DJ, Senne DA (2008) Newcastle Disease, Other Avian Paramyxoviruses, and Pneumovirus Infections. In: Saif, Y. M., Diseases of Poultry. 12th edn. Blackwell Publishing Professional, Iowa, pp. 75-115
- Biancifiori F, Rondini C, Grelloni V, Frescura T (1986) Avian toxoplasmosis: experimental infection of chicken and pigeon. *Com Imunn Microbiol Inct Dis* 9(4):337-346
- Casagrande RA, Pena HFJ, Cabral AD et al (2015) Fatal systemic toxoplasmosis in Valley quail (*Callipepla californica*). *Int J Parasitol Parasites Wildl* 4(2):264-267 doi:10.1016/j.ijppaw.2015.04.003
- Dohms JE (2008) Botulism. In: Saif, Y. M., Diseases of Poultry. 12th edn. Blackwell Publishing Professional, Iowa, pp 879 - 885
- Dubey JP (2002) A review of toxoplasmosis in wild birds. *Vet Parasitol* 106:121-153
- Dubey JP (2008) The History of *Toxoplasma gondii* - The first 100 years. *J Eukaryot Microbiol* 55(6):467-475 doi: 10.1111/j.1550-7408.2008.00345.x.
- Dubey JP (2010) *Toxoplasma gondii* Infections in Chickens (*Gallus domesticus*): Prevalence, Clinical Disease, Diagnosis and Public Health Significance. *Zoonoses Public Health* 57:60-73 doi: 10.1111/j.1863-2378.2009.01274.x
- Dubey JP, Hill DE, Jones JL et al (2005) Prevalence of viable *Toxoplasma gondii* in beef, chicken, and pork from retail meat stores in the United States: risk assessment to consumers. *J Parasitol* 91(5):1082-1093
- Dubey JP, Jones JL (2008) *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States. *Int J Parasitol* 38:1257-1278 doi:10.1016/j.ijpara.2008.03.007
- Dubey JP, Lappin MR (2015) Toxoplasmose e neosporose. In: Greene, C.E., Doenças Infecciosas em cães e gatos. 4th edn. Guanabara Koogan Ltda, Rio de Janeiro, pp 842-864
- Dubey JP, Lindsay DS, Lappin MR (2009) Toxoplasmosis and Other Intestinal Coccidial Infections in Cats and Dogs. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 39(6):1009-1034 doi:10.1016/j.cvsm.2009.08.001
- Dubey JP, Ross AD, Fritz D (2003) Clinical *Toxoplasma gondii*, *Hammondia heydorni* and *Sarcocystis* spp. infections in dogs. *Parassitologia* 45:141-146
- Dubey JP, Webb DM, Sundar N et al (2007) Endemic avian toxoplasmosis on a farm in Illinois: Clinical disease, diagnosis, biologic and genetic characteristic of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens (*Gallus domesticus*), and a goose (*Anser anser*). *Vet Parasitol* 148:207-212 doi:10.1016/j.vetpar.2007.06.033

Hill DE, Chirukandoth S, Dubey JP (2005) Biology and epidemiology of *Toxoplasma gondii* in man and animals. *Anim Health Res Rev* 6(01):41-61 doi: 10.1079/AHR2005100

Howerth EW, Rodenroth N (1985) Fatal systemic toxoplasmosis in a wild turkey. *J Wildl Dis* 21:446-449

Jones KH, Wilson FD, Fitzgerald SD, Kiupel MA (2012) Natural outbreak of clinical toxoplasmosis in a backyard flock of a guinea fowl in Mississippi. *Avian Dis* 56: 750-753 <http://dx.doi.org/10.1637/10226-043012-Case.1>

Lappin MR (2010) Update on the diagnosis and management of *Toxoplasma gondii* infection in cats. *Top Companion Anim Med* 25(3):136-141

Lappin MR, George JW, Pedersen NC et al (1996) Primary and secondary *Toxoplasma gondii* infection in normal and feline immunodeficiency virus-infected cats. *J Parasitol* 82(5):733-742

Mcdougald LR (2008) Histomoniasis (Blackhead) and Other Protozoan Diseases of the Internal Tract In: Saif, Y. M., *Diseases of Poultry*. 12th edn. Blackwell Publishing Professional, Iowa, pp 1095-1105

Millar PR, Sobreiro LG, Bonna ICF, Amendoeira MRR (2008) The importance of food animals in the infection for *Toxoplasma gondii* in Brazil. *Semina: Ciê Agrár* 29 (3):693-706

Millar PR, Alves FMX, Teixeira VQ et al (2012) Occurrence of infection with *Toxoplasma gondii* and factors associated with transmission in broiler chickens and laying hens in different raising systems. *Pesq Vet Bras* 32(3):231-236

Quist CF, Dubey JP, Luttrell MP, Davidson WR (1995) Toxoplasmosis in wild turkeys: a case report and serologic survey. *J Wildl Dis* 31:255-258

Ruiz A, Frenkel JK (1980) Intermediate and transport hosts of *Toxoplasma gondii* in Costa Rica. *The Am J Trop Med Hyg* 29:1161-1166

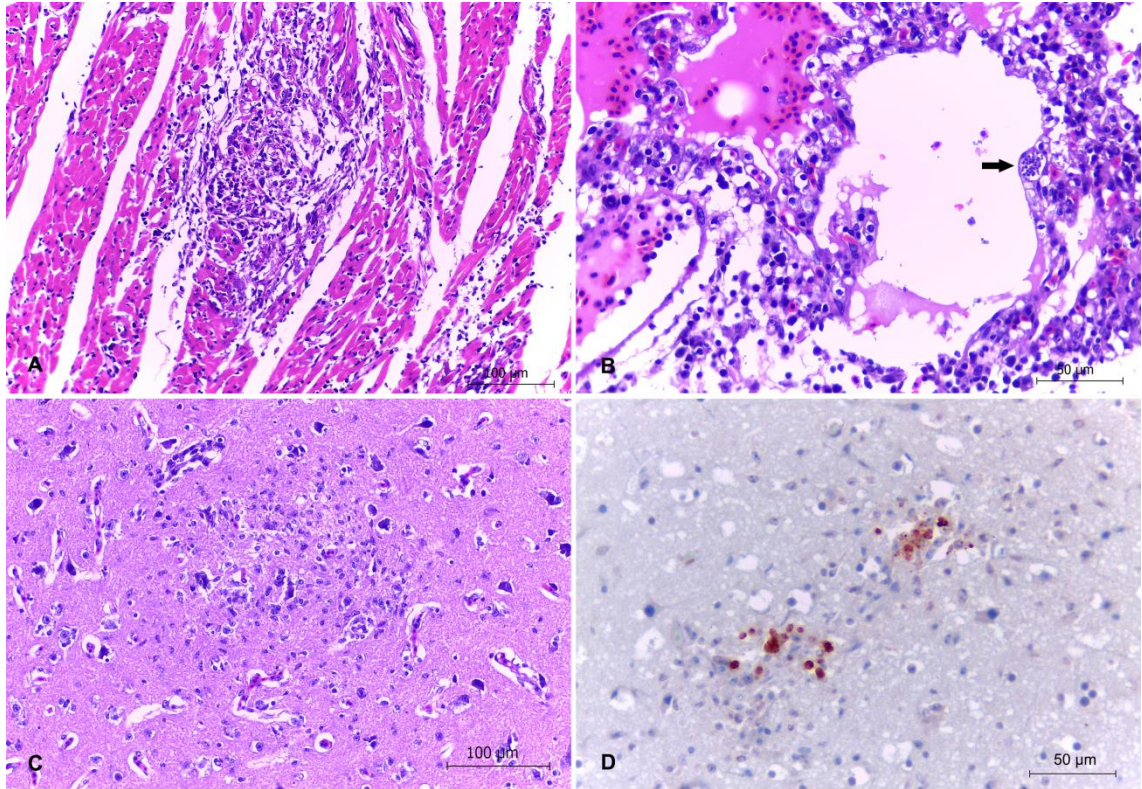
Santos SV, Pena HFJ, Talebi MG et al (2017) Fatal toxoplasmosis in a southern muriqui (*Brachyteles arachnoides*) from São Paulo state, Brazil: Pathological, immunohistochemical and molecular characterization. *J Med Primatol* 1-4 doi: 10.1111/jmp.12326

Swayne DE, Halvorson DA (2008) Influenza. In: Saif, Y. M., *Diseases of Poultry*. 12th edn. Blackwell Publishing Professional, Iowa, pp 153-184

Tenter AM, Heckeroth AR, Weiss LM (2000) *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *International J Parasitol* 30:1217-1258

Vesco G, Buffolano W, La Chiusa S. et al (2007) *Toxoplasma gondii* infections in sheep in Sicily, southern Italy. *Vet Parasitol* 146:3-8 doi:10.1016/j.vetpar.2007.02.019

Vieira FEG, Sasse JP, Minutii AF et al (2018) *Toxoplasma gondii*: prevalence and characterization of new genotypes in free-range chickens from South Brazil. *Parasitol Res* <https://doi.org/10.1007/s00436-017-5730-5>



**Fig. 1** Outbreak of toxoplasmosis in a flock of domestic chicken and guinea fowl **a.** *Numida meleagris*. Heart. Focal area presenting severe necrosis of cardiomyocytes associated to a marked inflammatory infiltrate of macrophages, lymphocytes and plasma cells. HE 20X **b.** *Gallus gallus domesticus*. Lung. *Toxoplasma gondii* cyst of approximately 30  $\mu\text{m}$  in diameter located in the cytoplasm of an epithelial cell of a tertiary bronchiole. The cyst is filled with numerous bradyzoites. HE 40X **c.** *Numida meleagris*. Brain. The neuropile had a focal area of gliosis. HE 20X **d.** *Numida meleagris*. Brain. Image demonstrating immunostaining of bradyzoites and tachyzoites inside an area of a gliosis. Streptavidin-biotin-peroxidase (IHC) 40X



### 3 CONCLUSÕES

1. Toxoplasmose afeta galinhas de vida livre e causa doença fatal com curso clínico agudo.

2. Necrose e infiltrado inflamatório de linfócitos, plasmócitos e macrófagos são as lesões histológicas encontradas em todos os casos associadas, por vezes, a presença do agente em meio ao infiltrado.

3. O diagnóstico pode ser obtido através da associação dos achados epidemiológicos, achados microscópicos e imuno-histoquímicos.

## REFERÊNCIAS

- ALEXANDER, D. J.; SENNE, D.A., Newcastle Disease, other avian paramyxoviruses, and pneumovirus infections. *In*: Saif, Y. M., **Diseases of Poultry**. 12nd ed. Iowa: Blackwell Publishing Professional, 2008, cap. 3 p. 75-115.
- BIANCIFIORI, F. *et al.* T. Avian toxoplasmosis: experimental infection of chicken and pigeon. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**, v. 9, n. 4, p. 337-346, 1986.
- BODAGHI, B. *et al.* Toxoplasmosis: new challenges for an old disease. **Eye**, v. 26, n. 2 p. 241–244, Feb. 2012.
- BOWIE, W. R. *et al.* Outbreak of toxoplasmosis associated with municipal drinking water. **Lancet**. v. 350, n. 9072, p. 173–177, July 1997.
- BOWMAN, D. D. Protozoans. *In*: BOWMAN, D.D. **Georgis’s parasitology for veterinarians**. 9th ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2009. cap. 3, p. 84-114.
- CASAGRANDE R. A. *et al.* Fatal systemic toxoplasmosis in Valley quail (*Callipepla californica*). **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 4, n.2, p. 264-267, May 2015.
- COLE, R. A. *et al.* A. Biological and molecular characterizations of *Toxoplasma gondii* strains obtained from southern sea otters (*enhydra lutris nereis*). **Journal of Parasitology**, v. 86, n. 3, p. 526-530, June 2000.
- DAVIDSON, M. G. Toxoplasmosis. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 30, n. 5, p.1051-1062, Sept. 2000.
- DOHMS, J. E. Botulism. *In*: Saif, Y. M., **Diseases of poultry**. 12nd ed. Iowa: Blackwell Publishing Professional, 2008, cap. 22, p. 879 – 885.
- DUBEY, J. P. Advances in the life cycle of *Toxoplasma gondii*. **International Journal for Parasitology**, v. 28, n. 7, p.1019-1024, July 1998.
- DUBEY, J. P. A review of toxoplasmosis in wild birds. **Veterinary Parasitology**, v. 106, n. 2, p. 121-153, June 2002.
- DUBEY, J. P. *et al.* Endemic avian toxoplasmosis on a farm in Illinois: clinical disease, diagnosis, biologic and genetic characteristics of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens (*Gallus domesticus*), and a goose (*Anser anser*). **Veterinary Parasitology**, v. 148, n. 3-4, p. 207–212, Sept. 2007.
- DUBEY, J. P. *et al.* Prevalence of viable *Toxoplasma gondii* in beef, chicken, and pork from retail meat stores in the United States: risk assessment to consumers. **Journal of Parasitology**, v. 91, n. 5, p. 1082-1093, Oct. 2005.

DUBEY, J. P. History of the discovery of the life cycle of *Toxoplasma gondii*. **International Journal for Parasitology**, v. 39, n. 8, p. 877–882, July 2009a.

DUBEY, J. P.; JONES, J. *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States. **International Journal for Parasitology**, v. 38, n. 11, p.1257-1278, Sept. 2008.

DUBEY, J.P.; LAPPIN, M.R., Toxoplasmose e neosporose. *In*: Greene, C.E., **Doenças Infeciosas em cães e gatos**. Tradução de Idilia Vanzelotti e Patricia Lydie Voeux. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. cap.79 p. 842-864.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; LAPPIN, M. R. Toxoplasmosis and other intestinal coccidial infections in cats and dogs. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 39, n. 6, p.1009-1034, Nov. 2009.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S. Neosporosis, toxoplasmosis, and sarcocystosis in Ruminants. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 22, n. 3, p.645-671, Nov. 2006.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; SPEER, C. A. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites and sporozoites and biology and development of tissue cysts. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 11, n. 2, p. 267-299, Apr. 1998.

DUBEY, J.P. Strategies to reduce transmission of *Toxoplasma gondii* to animals and humans. **Veterinary Parasitology**, v. 64, n. 1-2, p. 65-70, Aug. 1996.

DUBEY, J. P.; ROSS, A. D.; FRITZ, D. Clinical *Toxoplasma gondii*, *Hammondia heydorni* and *Sarcocystis* spp. infections in dogs. **Parassitologia**, v. 45, n. 3-4, p. 141-146, Dec. 2003.

DUBEY, J. P. The history of *Toxoplasma gondii*—the first 100 years. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 55, n. 6, p. 467–475, Nov. / Dec. 2008.

DUBEY, J. P. *Toxoplasma gondii* infections in chickens (*Gallus domesticus*): prevalence, clinical disease, diagnosis and public health significance. **Zoonoses and Public Health**, v. 57, n. 1, p. 60–73, Feb. 2010.

DUBEY, J. P. Toxoplasmosis in pigs - The last 20 years. **Veterinary Parasitology**, v. 164, n. 2-4, p. 89 - 103, May 2009b.

HILL, D. E.; CHIRUKANDOTH, S.; DUBEY, J. P. Biology and epidemiology of *Toxoplasma gondii* in man and animals. **Animal Health Research Reviews**, v. 6, n. 01, p.41-61, June. 2005.

HILL, D.; DUBEY, J. P. *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 8, n. 10, p.634-640, Oct. 2002.

- HOWERTH, E.W.; RODENROTH, N. Fatal Systemic Toxoplasmosis in a Wild Turkey. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 2, n. 4, p. 446-449, Oct. 1985.
- INNES, E. A. A Brief History and Overview of *Toxoplasma gondii*. **Zoonoses Public Health**, v. 57, n. 1, p. 1–7, Feb. 2010.
- JONES, K. H. *et al.* Natural Outbreak of Clinical Toxoplasmosis in a Backyard Flock of Guinea Fowl in Mississippi. **Avian Diseases Digest**, v. 7, n. 4, Dec. 2012.
- KIM, J. H. *et al.* Porcine abortion outbreak associated with *Toxoplasma gondii* in Jeju Island, Korea. **Journal of Veterinary Science**, v. 10, n. 2, p. 147-151, June 2009.
- LAPPIN, M. R. *et al.* Primary and secondary *Toxoplasma gondii* infection in normal and feline immunodeficiency virus-infected cats. **Journal of Parasitology**, v. 82, n.5, p. 733-742, Oct. 1996.
- LAPPIN, M. R. Update on the diagnosis and management of *Toxoplasma gondii* infection in cats. **Topic in Companion Animal Medicine**, v. 25, n. 3, p. 136-141, Aug. 2010.
- LIN, D. S.; BOWMAN, D. D. Cellular responses of cats with primary toxoplasmosis. **The Journal of Parasitology**, v. 77, n. 2, p. 272-279, Apr. 1991.
- MCDUGALD, L. R., Histomoniasis (Blackhead) and other protozoan diseases of the internal tract. *In*: Saif, Y. M., **Diseases of poultry**. 12nd ed. Iowa: Blackwell Publishing Professional, 2008. cap. 28, p. 1095-1105.
- MILLAR, P. R. *et al.* Occurrence of infection with *Toxoplasma gondii* and factors associated with transmission in broiler chickens and laying hens in different raising systems. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 3, p. 231-236, Mar. 2012.
- MILLAR, P. R. *et al.* The importance of food animals in the infection for *Toxoplasma gondii* in Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 29, n. 3, p. 693-706, Nov. 2008.
- PETERSEN, E. Toxoplasmosis. **Seminars in Fetal & Neonatal Medicine**, v. 12, n. 3, p. 214-223, June 2007.
- QUIST, C.F. *et al.* Toxoplasmosis in wild turkeys: a case report and serologic survey. **Journal of Wildlife Diseases**, v.31, n. 2, p. 255-258, Apr. 1995.
- RUIZ, A.; FRENKEL, J.K. Intermediate and transport hosts of *Toxoplasma gondii* in Costa Rica. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 29, n. 6, p. 1161-1166, Nov. 1980.
- SÁ, S. G. *et al.* Risk factors associated with *Toxoplasma gondii* infection in free-range chickens in the semiarid region of Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 26, n. 2, p. 221-225, Apr. / June 2017.
- SANTOS, S.V. *et al.* Fatal toxoplasmosis in a southern muriqui (*Brachyteles arachnoides*) from São Paulo state, Brazil: pathological, immunohistochemical and

molecular characterization. **Journal of Medical Primatology**, v. 47, n. 2, p.124-127, Nov. 2017.

SWAYNE, D. E.; HALVORSON, D. A., Influenza. *In*: Saif, Y. M., **Diseases of poultry**. 12nd ed. Iowa: Blackwell Publishing Professional, 2008. cap. 6, p. 153 – 184.

TENTER, A. M; HECKEROTH, A. R; WEISS, Louis M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. **International Journal for Parasitology**, v. 30, n. 12-13, p.1217-1258, Nov. 2000.

VESCO, G. *et al.* *Toxoplasma gondii* infections in sheep in Sicily, southern Italy. **Veterinary Parasitology**, v. 146, n. 1-2, p. 3-8, May 2007.

VIEIRA, F. E. G *et al.* *Toxoplasma gondii*: prevalence and characterization of new genotypes in free-range chickens from South Brazil. **Parasitology Research**, v. 117, n.3, p. 681-688, Mar. 2018.

VILLARI, S. *et al.* Risk factors for toxoplasmosis in pigs bred in Sicily, Southern Italy. **Veterinary Parasitology**, v. 161, n. 1-2, p. 1-8, Jan. 2009.

WEISS, L.M; DUBEY, J. P. Toxoplasmosis: a history of clinical observations. **International Journal for Parasitology**, v. 39, n. 8, p. 895-901, July 2009.

YILMAZ, S. M.; HOPKINS, S. H. Effects of different conditions on duration of infectivity of *Toxoplasma gondii* oocysts. **The Journal of Parasitology**, v. 58, n. 5, p. 938-939, Oct. 1972.