



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS**

CAROLINE DANTAS PRIMO MARQUES

NEOSPOROSE EQUINA

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA
2014**



CAROLINE DANTAS PRIMO MARQUES

NEOSPOROSE EQUINA

Trabalho de conclusão de curso apresentado como requisito parcial de obtenção do grau de Médica Veterinária pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Moraes Pinheiro

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA
2014**

FICHA CATALOGRÁFICA

M357n

Marques, Caroline Dantas Primo.

Neosporose eqüina: Neospora sp. em eqüinos / Caroline Dantas Primo Marques. – Cruz das Almas, BA, 2014.
41f.; il.

Orientador: Alexandre Moraes Pinheiro.

Monografia (Graduação) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.

1.Equinos – Doenças. 2.Doenças parasitárias – Avaliação. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.

CDD: 636.10896




UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
COLEGIADO DE MEDICINA VETERINÁRIA


COMISSÃO EXAMINADORA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE

CAROLINE DANTAS PRIMO MARQUES


NEOSPOROSE EQUINA



Prof. Dr. Alexandre Moraes Pinheiro
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia



Profa. Dra. Fabiana Lana de Araujo
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia



Profa. Dra. Larissa Pires Barbosa
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Cruz das Almas, 24 de fevereiro de 2014.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus queridos pais e irmão pelo amor e apoio sempre concedido.

AGRADECIMENTOS

A Deus por me permitir realizar meus sonhos;

Aos meus pais, Edite e Pedro e meu irmão Igor Alexandre por todo o amor, carinho, apoio e compreensão;

À minha família, pelo apoio e carinho, em especial a minha madrinha Juty e meus primos;

Ao meu orientador Alexandre Pinheiro pela paciência, ensinamentos e apoio;

Aos meus queridos amigos Milana, Diego, Filipe, Lilian, Laís, Rodrigo pelo apoio e ajuda na realização desse trabalho;

Aos queridos companheiros de Laboratório de Bioquímica e Imunologia Veterinária Cíntia, Luciana, Philipe, Bianca pelos momentos de alegrias;

Ao CNPq e a FAPESB, pela bolsa de estudos durante a pesquisa e pelo financiamento deste projeto;

RESUMO

A neosporose é uma doença causada por um protozoário intracelular obrigatório. *Neospora sp.* é um importante agente que causa abortamentos especialmente em bovinos levando a grandes prejuízos na pecuária. Duas espécies já foram descritas nesse gênero o *N. caninum* que afeta uma ampla variedade de mamíferos e o *N. hughesi* isolado apenas de equinos. Na espécie equina a doença pode ser causada pelas duas espécies do gênero. A infecção por *N. caninum* apresenta um quadro clínico de distúrbios reprodutivos caracterizado por abortamentos, reabsorção embrionária e doença neonatal. Quando causada pelo *N. hughesi* está associada a alterações neurológicas com quadro de ataxia, parestesia dos membros, locomoção anormal e cegueira. A neosporose equina ainda é um tema pouco explorado, no qual poucos estudos foram realizados. Diante disso essa revisão de literatura possibilitará organizar os conhecimentos a respeito dessa parasitose para estudantes e profissionais que trabalham na clínica de equinos.

ABSTRACT

Neosporosis is a disease caused by a intracellular protozoa. *Neospora sp.* is an import parasite that cause abortions, especially in cattle causing great harm in the livestock. *Neospora* gender has two species described : *N. caninum* that affects a great range of mammals and *N. hughesi*, which has been isolated in horses. Moreover, in horses this disease can be caused too by *N. caninum*. In this case it is characterized by clinical reproductive disorders such as abortions, embryo death and neonatal diseases. The infection caused by *N. hughesi* is associated with neurological disorders, such as ataxia, paralysis of members, motor incoordination and blindness. Neosporosis in horses isn't well understood and there are only a few studies in this area. Therefore, this work aimed to organize the all information about this disease, warning students and professionals who work in horse clinics.

SUMÁRIO

RESUMO	06
ABSTRACT	06
1. INTRODUÇÃO	09
2. OBJETIVO	10
3. REVISÃO DE LITERATURA	11
3.1 Equinocultura	11
3.2 Histórico do <i>Neospora sp</i>	13
3.3 <i>Neospora caninum</i>	15
3.4 <i>Neospora hughesi</i>	20
3.5 Sinais clínicos do <i>Neospora sp</i>	23
3.6 Relação hospedeiro-parasito	25
3.7 Diagnóstico	27
3.8 Epidemiologia da neosporose equina	29
3.9 Controle e Tratamento da neosporose	30
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	32
5. REFERÊNCIAS	33

INTRODUÇÃO

A neosporose é uma enfermidade que foi descrita pela primeira vez na década de 80, na Noruega, quando uma ninhada de cães apresentou um quadro clínico de encefalomielite que evoluiu para paralisia ascendente dos membros posteriores (BJERKAS et al., 1984).

Essa parasitose é causada por um protozoário do filo apicomplexa família Sarcocystidae. Trata-se de um coccídio intracelular obrigatório, formador de cistos, cujo ciclo biológico há participação de hospedeiros definitivos e intermediários. O parasito é conhecido como *Neospora sp.*, sendo que duas espécies já foram descritas nesse gênero. *N. caninum* que foi isolado do encéfalo de cão (DUBEY et al., 1988) e *N. hughesi* isolado de cérebro e medula espinhal de equino (MARSH et al., 1998).

Devido a capacidade de desenvolver cistos e possuir um ciclo enteroepitelial semelhante ao do *Toxoplasma gondii* esses coccídios foram provavelmente confundidos por muito tempo. Sua diferenciação estrutural e antigênica só foi esclarecida em 1988 (DUBEY et al., 1988a).

Esse coccídio tem como hospedeiros definitivos os cães (*Canis lupus familiaris*) (McALLISTER et al., 1998), os coiotes (*Canis latrans*) (GONDIM et al., 2004) os dingos (*Canis lupus dingo*) (KING et al., 2010), e o lobo cinzento (*Canis lupus*) (DUBEY et al., 2011). Uma série de espécies domésticas já foi relatada como hospedeiros intermediários, dentre elas os bovina, bubalina, equina, caprina, ovina, suína e felina (BARR et al., 1991; DUBEY et al., 1988a; DUBEY et al., 1990; DUBEY et al., 1992; RODRIGUES et al., 2004; LINDSAY et al., 1996; DAFT et al., 1996; SOBRINO et al., 2008; ANDRÉ et al., 2010).

Atualmente a neosporose é uma doença reconhecida mundialmente como uma das maiores causas de abortamentos e perdas neonatais em bovinos, tanto naqueles destinados a produção de leite quanto para corte (ANDERSON et al., 2000; DUBEY; SCHARES, 2006). Entretanto, essa enfermidade também tem sido relatada em equinos, sendo provocada tanto pelo *N. caninum* como também pelo *N. hughesi*. Nesses animais esse parasito promove quadros de abortamentos, doenças neonatais e alterações neurológicas (LINDSAY, 2001; CIARAMELLA et al., 2004). Casos de neosporose equina foram descritos nos Estados Unidos (DUBEY; PORTERFIELD, 1990; GRAY et al., 1996; LINDSAY et al., 1996; CHEADLE et al.,

1999; DUBEY et al., 2001) e na França (PRONOST et al., 1999). Entretanto no Brasil os estudos soroepidemiológicos ainda são escassos. (ANTONELLO et al., 2012; GALVÃO et al., 2013)

A equinocultura no Brasil movimenta cerca de 7,3 bilhões de reais com o maior rebanho da América Latina e o terceiro do mundo. A região Sul concentra a maior parte desse rebanho, enquanto que a região Nordeste destaca-se por conter o maior registro de muare e asininos. O Brasil é o oitavo maior exportador de carne equina do mundo. A perda da prenhez é um prejuízo bastante expressivo, uma vez que reflete diretamente no sucesso da criação (LAUGIER et al., 2011). Além disso, o quadro de alterações neurológicas e mieloencefalite protozoária equina (MEP) incapacitam o animal a desenvolver suas atividades diante da gravidade das lesões (FENGER, 1997).

Contudo a neosporose equina ainda é pouco estudada. Existem poucos relatos, seja pelo desconhecimento dos veterinários a respeito da doença seja pela falta de um diagnóstico mais preciso. Diante disso, essa revisão tem como finalidade discutir sobre essa enfermidade a fim de contribuir para a atualização dos profissionais desta área.

2. OBJETIVO

O objetivo desse trabalho foi elaborar uma revisão de literatura a fim de discutir sobre a neosporose equina. Contribuído dessa forma para a escassa literatura existente sobre a doença, sobretudo contribuir para a atualização dos profissionais da clínica médica de equinos.

3.REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Equinocultura

Equídeos são mamíferos da ordem dos ungulados que caracterizam-se pela presença de um dedo funcional em cada membro. Atualmente são descritos sete membros dessa família, entre eles o cavalo (*Equus caballus*), o asno (*Equus asinus*) e a Zebra (*Equus zebra*) (LIMA, et al., 2006).

Por volta do ano 2000 A.C., o homem começou a usar o cavalo para propósitos outros além da alimentação. Dessa forma, por um longo tempo, tiveram um papel importante para o sistema de transporte, na montaria, puxando carruagens ou carroças, assim como também em trabalhos agrícolas, sendo utilizado para arar a terra. Até meados do século XX os cavalos eram usados de forma intensa em guerras. A intervenção humana permitiu que o processo evolutivo fosse acelerado por seleção artificial, dando origem assim à grande diversidade de raças, tamanhos, formas e pelagens, que podem ser apreciada nos tempos atuais (LIMA et al., 2006).

Há cerca de 8000 anos A.C. os cavalos haviam sido extintos do continente americano, por razões desconhecidas. Dessa forma estavam difundidos pela Ásia e Europa, quando em 1494, Cristovão Colombo trouxe alguns animais para a Ilha de São Domingos, na República Dominicana, reintroduzindo-os assim na América. Entretanto, apenas em 1532 Pizzaro trouxe alguns exemplares para uma incursão no Peru. No Brasil chegaram em 1534, na Vila de São Vicente e em Pernambuco. No ano seguinte, em 1535 chegaram na Bahia, trazidos por Tomé de Sousa. Contudo, a literatura considera a chegada oficial desses animais no Estado da Bahia no ano de 1949, trazidos de Cabo Verde na caravela Galga (LIMA, et al., 2006).

Atualmente o Brasil possui um dos maiores rebanhos da América Latina e o quarto mundial com cerca de seis milhões de animais (FAO, 2010). O agronegócio do cavalo movimenta cerca de 7,3 bilhões de reais ao ano e gera cerca de 3,2 milhões de empregos diretos e indiretos (CNA, 2006). Desse total de animais, apenas 900 mil são de alto valor zootécnico e os outros 5 milhões são utilizados por produtores nas atividades agropastoris. A região sudeste detém 26,6% do rebanho de equídeos brasileiro, sendo no Estado de Minas Gerais o maior plantel estimado

em 860 mil animais, possuindo o maior rebanho do País. Atrás deste estão os Estados da Bahia, São Paulo e Rio Grande do Sul (MAPA, 2014).

O Brasil é o oitavo exportador mundial de carne equina. A comercialização destina-se a países como Bélgica, Holanda, Itália, Japão, França e Estados Unidos. Devido à cultura nacional, de não consumir a carne dessa espécie animal, esse comércio é quase que estritamente para abastecer o mercado internacional (MAPA, 2014). A expectativa é que o agronegócio equino apresente números expressivamente positivos, uma vez que os segmentos esportivos, lazer e comercial, tem mostrado um forte crescimento. Atualmente houve um significativo aumento na popularidade da prática esportiva com equinos. Esse aumento se deu incentivada pelos jogos olímpicos, além disso, outro segmento de destaque é a equoterapia que tem apresentando resultados satisfatórios (LIMA et al., 2006).

Os casos de abortamentos, doenças neonatais e anormalidades do sistema nervoso têm sido descritas em equinos. Um grande número de agentes podem estar envolvidos nessas alterações, como bactérias, vírus e protozoários (ACLAND, 1993). Algumas doenças de alta prevalência observadas em equinos com tal sintomatologia dificultam o diagnóstico da neosporose equina. Isso acontece devido ao fato de que o abortamento provocado por protozoário em equinos não é tão comum (LU et al., 2006). Em um estudo sobre abortamentos em equinos no Rio Grande do Sul, Marcolongo-Pereira et al., (2012) observaram que 36,1% (26/72) dos casos estavam relacionados com infecção bacteriana, sendo os agentes mais frequentes a *Klebsiella pneumoniae*, *Leptospira* sp. e *Streptococcus β hemolítico*, as infecções virais correspondia a 4,2% (3/72), parasitárias 1,4% (1/72) e as causas inflamatórias que não foi possível identificar o agente 2,8% (2/72), por causas não infecciosas 8,3% (6/72) e por diagnósticos inconclusivos 47,2% (34/72) onde não foram possível determinar o agente etiológico, devido, em parte, ao envio de material de forma inadequada.

O manejo sanitário desses animais se faz necessário para evitar a disseminação dos agentes infecciosos. A infecção pelo *Neospora* sp. em equinos ainda é pouco compreendida. No Brasil há uma frequência de soropositividade bastante variadas de 2,5% (HOANE et al., 2006) a 63,5% (ANTONELLO et al., 2012).

3.2 Histórico do *Neospora sp.*

Neospora sp. é um protozoário com características semelhantes ao *Toxoplasma gondii*, por tal motivo acredita-se que foram por muito tempo confundidos. Em 1984 na Noruega nascia uma ninhada de cães da raça Boxer que apresentava uma sintomatologia clínica neuromuscular. Apresentando miosite, mieloencefalite e que evoluiu para uma paresia de membros posteriores. Essa sintomatologia era incomum aos relatados em quadros de toxoplasmose. Além disso, os resultados do teste do corante de Sabin Feldman demonstrou que os animais não possuíam anticorpos anti-*T. gondii* e os cistos encontrados através da imunohistoquímica no tecido nervoso não apresentava semelhança morfológica aos cistos de *T. gondii* (BJERKAS et al., 1984)

Em 1987, O'Toole e Jeffrey relataram o caso de um bezerro que apresentou alterações neurológicas e encefalomielite, vindo a óbito no terceiro dia de vida. Contudo, esses pesquisadores, perceberam que o animal apresentava sorologia negativa para *Toxoplasma gondii*. Na avaliação pela imuno-histoquímica, os parasitos encontrados nos tecidos eram diferentes também ultraestruturalmente do *T. gondii*, levando a inferir que se tratava de um novo protozoário, o qual nomeou como *Neospora sp.* (DUBEY et al., 1988b).

No Brasil o primeiro inquérito sorológico realizado foi em 1996, em bovinos dos estados de São Paulo e Mato Grosso do Sul. Nesse estudo foi observada uma prevalência de anticorpos anti-*Neospora sp.* de 12,2% (BRAUTIGAM et al. 1996). Em 1999 foi realizado o primeiro estudo de soroprevalência no Estado da Bahia. Para este, foram utilizados soros de 447 vacas holandesas e mestiças provenientes de 14 propriedades leiteiras. Utilizou-se a RIFI (Reação de Imunofluorescência Indireta) como técnica de diagnóstico considerando positivo os animais que apresentavam título de anticorpos anti-*N. caninum* igual ou superior a 200. Os resultados obtidos com o estudo foi uma prevalência de 14,09% com um total de 63 animais reagentes (GONDIM et al., 1999).

Em 2003, RAGOZO et al. realizam um levantamento sorológico em seis estados brasileiros usando a técnica da RIFI para determinar a presença de anticorpos. Foi encontrado uma soropositividade de 23,6% e os autores perceberam que houve um aumento deste valor nos bovinos com idade superior a 24 meses. Dentre os estados estudados, o Rio de Janeiro apresentou um menor percentual,

14,7%, entretanto Minas Gerais destacou-se com o maior percentual, 29,0% de animais reagentes. Quando se tratou da aptidão animal, a maior ocorrência foi observada em bovinos de leite, 26,2%, quando comparados com os de corte, 19,1%. Os Estados de maiores ocorrências em bovinos de corte foram Paraná, Mato Grosso do Sul e Rio Grande do Sul. Esses autores salientaram ainda que Minas Gerais apresentou um número maior de positivos no rebanho leiteiro (RAGOZO et al., 2003).

No ano de 2001 aconteceu o primeiro isolamento do *Neospora caninum* foi obtido de um cão da raça Collie com sete anos de idade. Esse animal apresentava um quadro clínico de neuropatia, paresia dos membros posteriores e incoordenação (GONDIM et al., 2001). Para isso, foi utilizado o cérebro do cão, inoculando-o em gerbis da Mongólia (*Meriones unguilatus*), que foram eutanasiados entre três ou quatro meses de idade após o procedimento. As amostras obtidas foram usadas na inoculação de células renais de macacos que resultou na cepa NC-Bahia, (GONDIM et al., 2001).

Os estudos em equinos culminaram com a identificação de taquizoítos em um feto abortado (DUBEY; PORTERFIELD, 1990). A maior parte dos estudos sobre neosporose equina foram iniciados nos Estados Unidos (DUBEY e PORTERFIELD, 1990; GRAY et al., 1996; LINDASY et al., 1996; CHEADLE et al., 1999; DUBEY et al., 2001) e na França (PRONOST et al., 1999).

Em equinos essa enfermidade tem sido relacionada com a mieloencefalite protozoária equina (MEP), devido suas alterações serem semelhantes a essa doença. A MEP é uma importante doença neurológica que afeta equinos, apresenta grande frequência na América do Norte, sendo causada por um protozoário conhecido como *Sarcocystis neurona* (DUBEY et al., 2001a). Em 2009, no Canadá identificou-se o *N. hughesi* em um equino com alterações patológicas de MEP através de uma reação positiva na análise de imuno-histoquímica e também seu DNA foi confirmado através da técnica de PCR (WOBESER et al., 2009). Tal fato permitiu confirmar o novo agente para a doença e inseri-lo no diagnóstico diferencial.

3.3 *Neospora caninum*

N. caninum é um importante agente causador de uma parasitose que se tornou conhecida mundialmente pela sua característica patogênica. Essa doença

provoca distúrbios reprodutivos que causam abortamentos, sendo relatadas especialmente em bovinos, devidos aos seus efeitos na pecuária.

Esse parasito intracelular obrigatório, que formam cistos, pertence ao filo Apicomplexa e a família Sarcocystidae (DUBEY et al., 1988a; DUBEY et al., 1990; DUBEY et al., 2002).

É um coccídeo que possui semelhanças com *T.gondii*, porém expressa algumas particularidades que permite tal diferenciação. Estruturalmente apresentam numerosas organelas secretoras como micronêmas, roptrias e grânulos densos. Micronêmas são bastante numerosas e localizam-se na porção anterior dos taquizoítos de *N. caninum*. As roptrias encontradas no *N. caninum* são em número de 6 a 16 e homogeneamente eletrondensas, enquanto que no *T. gondii* encontram-se de 4 a 10 e são mais translúcidas. Os grânulos densos encontram-se dispersos por todo citoplasma em ambos parasitos, porém no *N. caninum* estão mais na porção posterior enquanto que no *T. gondii* está na extremidade anterior. Além disso, apresentam taquizoítos e bradizoítos com tamanho maior que o *T. gondii*.

N. caninum pode ser encontrado disseminado em vários tecidos corporais, como pulmões, músculos cardíaco e esqueléticos, sistema nervoso central, membranas fetais, fígado, túbulos renais, sistema cutâneo, entre outros (DUBEY, 1988a; SPEER; DUBEY, 1989; DUBEY, 1993; DUBEY, et al., 2002). Apesar de infectar diversos tecidos, *N. caninum*, apresenta um tropismo pelo sistema nervoso. Sendo este considerado a área principal de localização dos cistos, conseqüentemente a expressão dos sinais clínicos irá variar de acordo com a porção afetada (WOUDA et al., 1997).

O ciclo de vida é representado por três estágios, nos quais a morfologia e o comportamento do parasito se alteram. Os taquizoítos são formas de multiplicação rápida, responsável pelo desenvolvimento da doença aguda. Têm formato ovóide, lunar ou globular, com dimensões de 3 a 7 µm de comprimento por 1 a 5 µm de largura, conforme o estágio de divisão (DUBEY et al., 2002; DUBEY, 2003) (Figura 1).

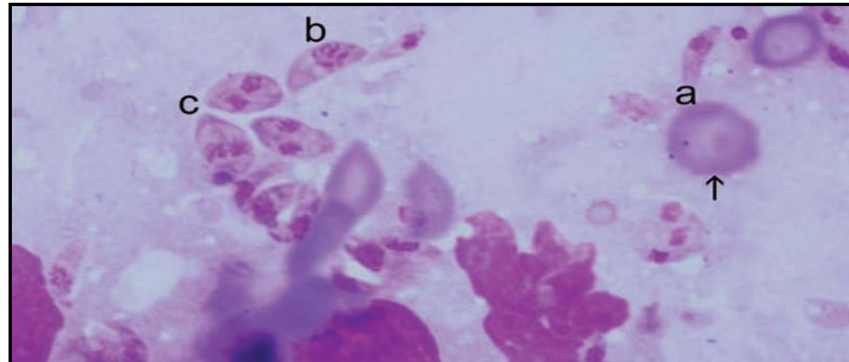


Figura 1: Fígado de um rato infectado experimentalmente retratando numerosos taquizoítos de *N. caninum* (Giemsa). (a) um taquizoíto delgado, (b) um taquizoíto antes da divisão, e (c) três taquizoítos divisores em comparação com o tamanho de uma célula de sangue vermelho (seta). Adaptado de DUBEY et al. (2007).

Os bradizoítos são formas de multiplicação lenta, reportam a infecção crônica e estão localizados no interior dos cistos, que apresentam um tamanho de até 107 μm e espessura de parede de 1-4 μm (Figura 2). Estes possuem uma forma delgada, medindo de seis a oito micrômetros de comprimento por 1 a 1,8 μm de largura. Essas estruturas apresentam as mesmas organelas dos taquizoítos, entretanto têm menor número de roptrias (DUBEY; LINDSAY, 1996). Esses dois estágios ocorrem nos hospedeiros intermediários e correspondem a reprodução assexuada do parasito.

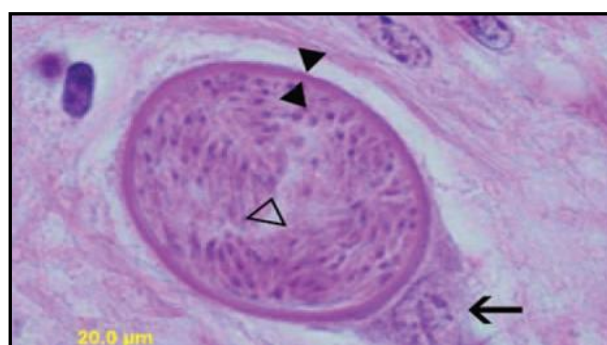


Figura 2: Corte histológico de um tecido cisto dentro de um neurônio na medula espinhal de um bezerro infectado congenitamente (hematoxilina e eosina). Note-se a parede do cisto de espessura (setas opostas) anexando bradizoítas delgados (triângulo aberto). Adaptado de DUBEY et al. (2007)

Os oocistos resultam da reprodução sexuada do parasito e são eliminados apenas pelos hospedeiros definitivos. Esses possuem cerca de 10 a 11 μ m de diâmetro e após esporular contêm dois esporocistos com quatro esporozoítos cada um (Figura 3). O processo de esporulação depende de condições ambientais favoráveis, como a temperatura, umidade e concentração de dióxido de carbono. Os oocistos apresentam uma parede lisa e forma esférica ou sub-esférica (McALLISTER et al., 1998). A modificação do estágio do agente depende da resposta imunológica. Como um mecanismo de proteção do sistema imune do hospedeiro, o parasito desacelera sua multiplicação tornando-se mais lento diferenciando-se em bradizoítos que ficam no interior dos cistos (McALLISTER et al., 1998; DUBEY et al., 2002; DUBEY et al., 2007).



Figura 3: Oocistos esporulados com dois esporocistos internos (não coradas). Adaptado de DUBEY et al. (2007)

O protozoário possui um parasitismo heteróxico, havendo dessa forma dois tipos de hospedeiros, os definitivos e os intermediários. Dentre os hospedeiros definitivos, os cães (*Canis lupus familiaris*) (McALLISTER et al., 1998; LINDSAY et al., 1999), os coiotes (*Canis latrans*) (GONDIM et al., 2004) os dingos (cão silvestre australiano – *Canis lupus dingo*) (KING et al., 2010), e mais recentemente descobriu-se o lobo cinzento (*Canis lupus*) (DUBEY et al., 2011).

Em relação aos hospedeiros intermediários uma grande variedade de espécies animais pode ser considerada. Já houveram relatos de infecção presente em bovinos, caprinos, ovinos, lagomorfos (ALMERÍA et al., 2007), equinos, bubalinos, camelídeos (WOLF et al., 2005; SADREBAZZAZ et al., 2006), várias espécies de cervos (TIEMANN et al., 2005; DUBEY et al., 2009), antílope, bisão (CABAJ et al., 2005; DUBEY; THULLIEZ, 2005), guaxinim, marsupiais (YAI et al., 2003), raposa vermelha (JAKUBEK et al., 2001; ALMERÍA et al., 2002; HAMILTON et al., 2005; JAKUBEK et al., 2007; MURPHY et al., 2007; MARCO et al., 2008),

raposa cinzenta (LINDSAY et al., 2001), lobo (BJÖRKMAN et al., 2010), felinos selvagens (SOBRINO et al., 2008; ANDRÉ et al., 2010), rinoceronte (SANGSTER et al., 2010), pequenos roedores (JENKINS et al., 2007; FUEHRER et al., 2010), capivara (TRUPPEL et al., 2010), javali (BÁRTOVÁ et al., 2006), mamíferos marinhos (DUBEY et al., 2003) e aves como urubus, galinhas e corvos (DARWICH et al., 2011; FURUTA et al., 2007).

A transmissão pode acontecer através de duas vias. Ocorrendo através da forma vertical também conhecida como via transplacentária, essa é considerada uma das principais formas de disseminação e manutenção da doença (BJORKMAN; JOHASSON; STENLUND, 1996) e na forma horizontal, a partir da ingestão de oocistos esporulados (ANDREOTTI et al., 2003). Na infecção transplacentária o parasito é transmitido da mãe para o feto, sustentando a infecção por gerações (BARR et al., 1994; SCHARES et al., 1998). Esse tipo de transmissão já foi comprovado em cães (COLE et al., 1995), em bovinos, ovinos, caprinos, felinos e macacos (DAVIDSON et al., 1999; BUXTON; MCALLISTER; DUBEY, 2002). Em éguas prenhes a infecção transplacentária foi sugerida pela primeira vez com a descoberta de taquizoítos de *N. caninum* nos pulmões de um feto abortado (DUBEY; PORTERFIELD, 1990).

A outra via de transmissão é a horizontal ou fecal-oral, no qual os oocistos esporulados no ambiente, presentes nas fezes de hospedeiros definitivos contaminam as pastagens, silagem e água (MCALLISTER, 1998; DIJKSTRA et al., 2001; DUBEY, 2003; GONDIM et al., 2004; DUBEY; BUXTON; WOUDDAY, 2006; KING et al., 2010). Quando ingeridos pelos hospedeiros, ao atingirem o trato gastrointestinal, os esporozoítos são liberados, transformando-se em taquizoítos e iniciando o processo de invasão epitelial e disseminação para outros tecidos. Esses utilizam um mecanismo de evasão do sistema imune, se transformam em bradizoítos, reduzindo a sua multiplicação, formando os cistos teciduais (LYONS; MCLEOD; ROBERTS, 2002). Dessa forma quando os canídeos se alimentam de fetos abortados, restos placentários e carcaças contendo cistos, se infectam com o agente fechando o ciclo biológico (MCALLISTER et al., 1998; LINDSAY, DUBEY; DUNCAN, 1999). (Figura 4)

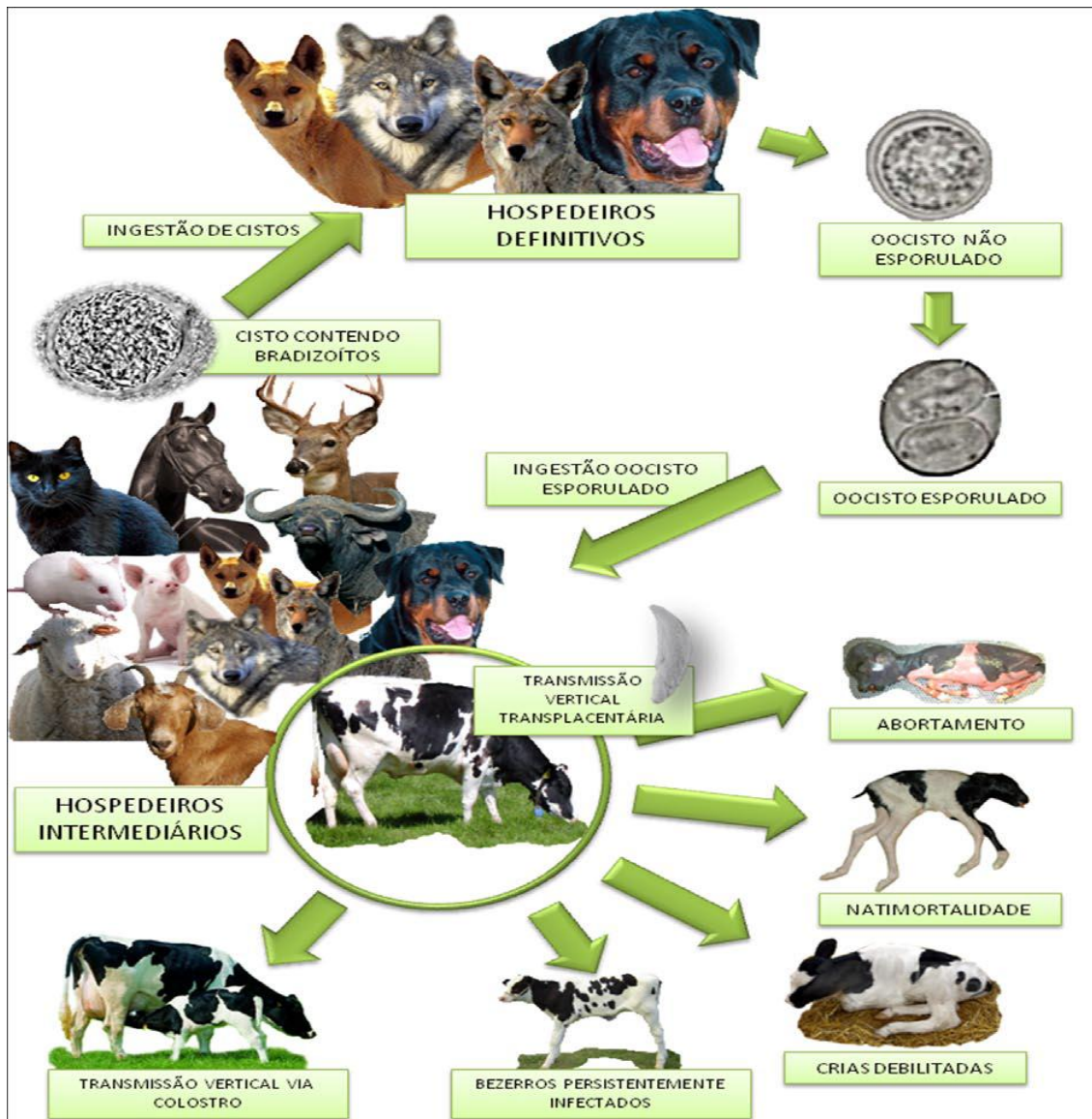


Figura 4: Ciclo biológico do *N. caninum*. ADAPTADO (GUIMARÃES et al. 2011)

3.4 *Neospora hughesi*

Em 1998, *N. hughesi* foi isolado da medula espinhal de um cavalo da Califórnia que apresentava sinais semelhantes aos de mieloencefalite protozoária (MEP). Isso possibilitou correlacionar a nova espécie do gênero *Neospora sp.* com essa enfermidade (MARSH et al., 1998). A partir desse estudo duas cepas de *N. hughesi* foram isoladas nos EUA, da medula espinhal de equinos adultos com MEP, no Alabama (CHEADLE et al. 1999), e no Oregon (DUBEY et al. 2001). O *N. hughesi*, como uma espécie do gênero *Neospora*, compartilha algumas

características com *N. caninum*, existindo um elevado grau de similaridade antigênica. O seu grande número de antígenos comuns possibilita a formação de uma reação cruzada com *N. caninum* em testes sorológicos (MARSH et al., 1998, WALSH et al., 2000, PACKHAM et al., 2002).

Até o momento os hospedeiros dessa espécie são pouco conhecidos e os equinos são os únicos hospedeiros intermediários identificados (HOANE et al., 2006). O ciclo biológico do parasito ainda não está descrito, sendo conhecidos apenas os estágios de taquizoítos e bradizoítos. Diante disso, a rota da infecção dessa parasitose ainda é uma incógnita.

Na caracterização da cepa de *N. hughesi* foram observados taquizoítos nas células musculares cardíacas, macrófagos, eosinófilos, neutrófilos e ocasionalmente em linfócitos. Os taquizoítos apresentam um tamanho reduzido quando comparados ao *N. caninum*, medindo 4,0-7,0 x 1,8-3,0 µm (MARSH et al., 1998; DUBEY et al., 2001). Quanto aos cistos teciduais, estes estão geralmente localizados no sistema nervoso central (SNC), na retina, nervos periféricos e músculo ocular dos equinos (DAFT et al., 1996; LINDSAY et al., 1996). Esses apresentam um tamanho de 6,9-16,0 x 10,7-19,3 µm e uma parede menos espessa com 0,15-1,0 µm, sendo dessa forma menores que os de *N. caninum*. Os parasitos possuem também uma ultraestrutura diferenciada na qual o *N. hughesi* contém de 13 a 27 roptrias, enquanto o *N. caninum* tem de 8 a 18 (DUBEY; LINDSAY, 1996).

A demonstração da eliminação de oocistos de *N. hughesi* por cães, até então não obteve nenhum sucesso. Utilizaram-se cérebros de camundongos imunossuprimidos e infectados com taquizoítos de *N. hughesi* para alimentar os cães. Nenhum dos cães utilizado no estudo excretou oocistos de *N. hughesi* e ao realizar a técnica da MAT (Teste de Soroaglutinação Direta Modificado) não foi observada a presença de anticorpos. Além disso, para o exame histológico foram usados fragmentos de tecidos de cérebro, olhos, coração, língua, pulmão, fígado, baço, rim, glândula adrenal, linfonodos mesentéricos, músculos esqueléticos e intestinos, mas não foram observados parasitos nem lesões sugestivas de neosporose (WALSH et al., 2000).

As espécies de *Neospora* sp. exibem particularidades. Essas baseiam nas sequências das proteínas do espaço interno do transcrito 1 (ITS1) do DNA ribossômico onde sete pares de bases de nucleotídeos são diferentes (MARSH et al., 1998). Isso faz com que haja uma similaridade de 98% entre *N. caninum* e *N.*

hughesi. Outras diferenças observadas estão na expressão dos antígenos de superfície. O *N. caninum* expressa a NcSAG1 e a NcSRS2, enquanto que o *N. hughesi* apresenta NhSAG1 e NhSRS2 como suas proteínas específicas (MARSH et al., 1999). A NcSAG1 possui 94% de similaridade na sequência de aminoácidos com a NhSAG1, enquanto que a NcSRS2 possui 91% de similaridade com a NhSRS2. Possibilitando a diferenciação entre as espécies a partir das sequências de bases que codificam as proteínas ITS1, SAG1, SRS2 (MARSH et al., 1999). A forma de transmissão relatada até o momento na infecção pelo *N. hughesi* é a transplacentária, visto que as rotas da transmissão horizontal ainda são desconhecidas (DUBEY et al., 2001).

Os fetos de equinos começam a desenvolver a resposta imunológica somente a partir dos 180 dias de vida intrauterina. Dessa forma, quando esses são expostos a determinados agentes começam a formar sua resposta imunológica produzindo anticorpos específicos. A placenta das éguas exibe uma característica estrutural, epiteliocorial difusa, que impossibilita a transferência de imunoglobulinas da mãe para o feto. Desta forma, entende-se que caso um animal apresente anticorpos para um agente antes da ingestão do colostro é indicativo de contato com o agente na vida uterina (COOK et al., 2001). Em equinos a transmissão vertical foi observada por Dubey e Porterfield (1990). Esses autores relataram um caso de abortamento em uma égua da raça quarto milha de 8 anos de idade 2 meses antes do término da gestação. Foi coletado soro do feto, para a realização de testes sorológicos não encontrando anticorpos anti-*T. gondii*. Entretanto, na imunohistoquímica foram encontrados grupos de taquizoítos em macrófagos e em células alveolares, confirmando a presença do *Neospora sp.*. Posteriormente LINDSAY et al. (1996) descreveram outro caso em um feto equino que nasceu com alterações oftálmicas. Esse animal foi submetido a necropsia e não foram visualizadas alterações macroscópicas, entretanto no exame microscópico foi encontrado cisto de *N. caninum* ao redor da musculatura ocular.

No Brasil, Locatelli-Dittrich et al. (2006) estudaram a existência da transmissão vertical do *Neospora sp.* testaram uma população equina do Estado do Paraná, onde encontraram uma prevalência de 47%. Posteriormente Toscan et al. (2010) realizaram uma pesquisa de anticorpos anti-*Neospora spp.* através da técnica da RIFI em 116 éguas da raça Crioula com idade reprodutiva, encontraram uma ocorrência de 13, 8% (16/116). Desta forma, esses autores confirmaram a

possibilidade de ocorrer infecção transplacentária em equinos com neosporose. Contudo, apenas em 2011 a infecção transplacentária do *N. hughesi* foi confirmada. Através de um estudo no qual os autores avaliaram a infecção transplacentária em um grupo de éguas, durante dois anos, a qual tinha uma potranca que apresentava sinais clínicos e sorologia positiva com título de 1:280 pela RIFI para neosporose neuronal. Durante esse período 58 éguas e 74 potros nascidos dessas éguas foram testados. Dentre eles 71 dos potros nasceram saudáveis e não apresentava títulos para *N. hughesi*, entretanto os outros 3 potros nascidos de duas éguas diferentes, apresentaram sorologia positiva com títulos de anticorpos pré-colostrais que variavam de 2560 a 20480. Dois desses eram descendentes da mesma égua que deu origem a potranca diagnosticada com neosporose neuronal, enquanto o terceiro potro nascido de uma égua sem histórico prévio de neosporose (PUSTERLA et al., 2011).

3.5 Sinais clínicos do *Neospora sp.*

A neosporose em bovinos, causada pelo *N. caninum*, apresenta um quadro clínico de distúrbios reprodutivos. Essa doença é caracterizada por abortamentos que acontece entre o terceiro e o nono mês de gestação (ANDERSON et al., 1991; BARR et al., 1991). Em bezerros neonatos a expressão clínica observada são flexão ou hiperextensão dos membros posteriores e/ou anteriores, ataxia, diminuição do reflexo patelar, perda de consciência, exoftalmia, assimetria ocular e deformidades associadas com lesões de células nervosas na fase embrionária (PICOUX et al., 1998; LINDSAY et al., 1996).

Cadelas infectadas com o *Neospora sp.* podem transmitir para suas sucessivas ninhadas o agente por via transplacentária. Os neonatos uma vez infectados apresentam uma série de alterações neurológicas como paralisia ascendente, geralmente os membros pélvicos são mais afetados; podendo apresentar hiperextensão rígida ou flácida, decorrente da poliradiculoneurite e miosite causadas pela infecção, dificuldade na deglutição, paralisia da mandíbula, cegueira, convulsões, incontinência urinária e fecal, flacidez e atrofia muscular além de falha cardíaca (BASSO et al., 2005). Cães adultos apresentam uma sintomatologia variada. Isso inclui quadro neuromuscular além de dermatite piogranulomatosa, miocardite fatal e pneumonia (LA PERLE et al., 2001). Esses

animais podem sobreviver durante alguns meses com essas alterações, mas muitas vezes necessitam ser eutanasiados (BARBER, 1998).

A frequência de abortamentos e infecções fetais causadas pelo *N. caninum* tem sido mais estudada em vacas do que em éguas. Pesquisas revelaram que há uma maior eficiência do parasito nessa espécie devido às diferenças da placentação (PITEL et al., 2003). As éguas apresentam uma estrutura placentária que é caracterizada como difusa, epiteliocorial, microcotiledonária e adeciduada (ABD-ELNAEIM et al., 2006), enquanto que as vacas possuem uma placenta difusa, cotiledonária, (WOODING, 1992; MEÇA et al., 2006).

Em equinos as pesquisas sobre a infecção pelo *Neospora sp.* ainda são bastante restritas, não se conhecendo ao certo a patogenicidade da doença. A infecção subclínica tem sido reportada na Itália acometendo muitos equinos. Nessa forma, o animal é um portador assintomático, transmitido o parasito para seus descendentes dificultando o diagnóstico (CIARAMELLA et al., 2004). O quadro clínico de neosporose equina pode cursar com a presença de abortamento, doença neonatal, doenças neurológicas do sistema nervoso central e doenças viscerais (GRAY et al., 1996; LINDSAY, 2001). Outros sinais clínicos são cegueira, perda de peso, paralisia dos membros posteriores, comportamento anormal, dificuldade de mastigação, incoordenação, ataxia e abortamento (DAFT et. al., 1996; MARSH et al., 1996; WALSH et al., 2000).

A infecção por *N. hughesi* está principalmente associada a desordens neurológicas, cursando com mieloencefalite protozoária equina (MEP). Essa doença caracteriza-se por apresentar um quadro de ataxia, dos membros posteriores, em alguns casos nos quatro membros e anormalidades no modo de andar, acentuada quando o animal caminha com a cabeça elevada ou anda em círculos (CHEADLE et al., 1999; DUBEY et al, 2001). A inclusão do *N. hughesi* como um possível agente causador da MEP, além do *Sarcocystis neurona*, promoveu mudanças nas formas de tratamento e controle da enfermidade. Isso aconteceu por causa das diferenças comportamentais existente entre os parasitos envolvidos na enfermidade (DUBEY, 1999b).

A doença clínica já foi descrita em equinos causada pelo *Neospora sp.*. Dentre os casos descritos estão o de duas éguas que apresentaram abortamento (DUBEY; PORTERFIELD, 1990; PRONOST et. al., 1999). LINDSAY et. al., (1996) relataram o caso clínico de um potro que foi infectado por via transplacentária. Esse

animal apresentava quadro de mieloencefalite e distúrbios oftálmicos desde o nascimento. Na necropsia, não foram observadas alterações macroscópicas, porém na microscopia foi encontrado cisto de *N. caninum* na musculatura ocular.

Um quadro de neosporose visceral foi descrito em uma égua de 10 anos. O animal foi tratado com drogas imunossupressoras, apresentava lesões restritas nos linfonodos mesentéricos e no intestino delgado, onde foram encontrados taquizoítos de *Neospora sp.* (GRAY et al., 1996).

FINNO et al. (2007) relatou a ocorrência de três cavalos com sintomatologia semelhante a MEP. O primeiro deles era um macho castrado de 24 anos, Appaloosa, com histórico de dois meses de incoordenação do membro pélvico. Após uma avaliação neurológica notou-se uma hipermetria caracterizada por uma ataxia de grau 2 de 5 nos membros torácico e pélvico esquerdo, e uma ataxia de grau 3 nos membros torácico e pélvico direito. Esse animal estava devidamente vacinado e vermifugado e quando realizado o teste de RIFI anti-*N. hughesi* o resultado foi positivo com título de 1:2560. Os outros dois equinos foram um de 16 anos, Quarto de milha, com histórico de alterações na marcha e perda de peso progressiva. Quando o animal foi testado para *N. hughesi* pela RIFI apresentou um título de 1:1280. Por fim descreveu o caso de uma potranca de quatro meses de idade com um quadro de agudo de ataxia, incoordenação, alterações na marcha com título de 1:1280 na mesma técnica a qual foram submetidos os outro animais.

Em 2009, Wobeser et.al. relataram o caso de um equino macho de 10 anos de idade, da raça Árabe, eutanasiado e submetido ao serviço de necropsia em Saskatoon, Saskatchewan. O cavalo apresentava alteração de marcha e tinha perda de peso progressivo. Na necropsia observaram alterações em diversos órgãos e na histopatologia notou-se áreas focais de malácia com a presença de múltiplos taquizoítos. Dessa forma, foi realizado a técnica de imunohistoquímica, no qual a reação foi positiva para *Neospora sp.* e negativo para *S. neurona*.

3.6 Relação hospedeiro-parasito

Neospora sp. é um protozoário intracelular, motivo pelo qual a resposta imune desencadeada é fundamentalmente mediada por células (WILLIAMS et al., 2000). Sendo assim a resposta inespecífica está envolvida na liberação de componentes

celulares como quimiocinas para a ativação de leucócitos, envolvidos na inflamação (TAUBERT et al., 2006).

Pesquisas realizadas com infecção experimental em ratos mostrou que estes se tornavam mais susceptíveis a neosporose quando na ausência de interferon- γ (IFN- γ) (KHAN et al., 1997; NISHIKAWA et al., 2001). Essa citocina possui grande importância na defesa natural do organismo, visto que promove ativação dos fagócitos, neutrófilos e macrófagos, por linfócitos T (TCD4⁺ e TCD8⁺) e células NK (BRAKE, 2002; WILLIAMS et al., 2007). Além disso, a liberação de citocinas pró-inflamatórias promove a formação de uma ação sinérgica no controle da infecção, entre linfócitos TCD4⁺, TCD8⁺, macrófagos e células matadoras naturais (NK) (HEMPHILL, 1999; HUNTER e REINER, 2000).

Na infecção aguda as células fagocíticas do organismo secretam IL-12, que promovem a diferenciação dos linfócitos TCD4⁺ e TCD8⁺ em células produtoras de citocinas e estimula as células NK a produzirem IFN- γ . Além disso, a IL-12 ativa os macrófagos e promove a eliminação das células parasitadas através de mecanismos mediados por óxido nítrico (NO) (STASKA et al., 2003; BOYSEN et al., 2006; WILLIAMS e TREES, 2006).

Linfócitos TCD4⁺ agem auxiliando a produção de anticorpos anti-*N. caninum* em estágios tardios da infecção e induzindo mecanismos de proteção (TANAKA et al., 2000). Já os TCD8⁺, por serem citotóxicos, promovem redução na disseminação parasitária, por mecanismos diretos ou por detecção de citocinas. Dessa forma, na fagocitose estimulada por IFN- γ há produção de intermediários reativos como peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e do nitrogênio, como NO. Esses agem controlando a multiplicação parasitária (TONKS et al., 2001; DENKERS et al., 2004; INNES et al., 2005). O fator de necrose tumoral α é um mediador pró-inflamatório, age promovendo a liberação de outras citoquinas, como a IL-1 e IL-6, IFN- γ e IL-12 (SALLES et al.; 1999).

Pinheiro et al. (2006a) encontraram um aumento na produção de NO e elevação dos níveis de fator de necrose tumoral α (TNF- α) em culturas de astrócitos de ratos infectadas *in vitro* com *N. caninum*. Concluindo que essas células quando infectadas têm a capacidade de liberar citocinas pró-inflamatória e agentes tóxicos. Pinheiro et al. (2010) em um experimento semelhante utilizando culturas mistas, observaram que a produção de NO, já encontrava-se aumentada com apenas 24 horas de infecção. Uma resposta imune deficiente favorece a multiplicação

progressiva dos taquizoítos, levando a uma intensa morte celular e conseqüentemente o animal óbito (BASZLER et al., 1999; TANAKA et al., 2000; LONG e BASZLER, 2000; NISHIKAWA et al., 2003). Isso pode explicar o fato dos fetos não resistirem à infecção. Contudo, aqueles que já possuem uma resposta imune montada, antes da infecção, nascem clinicamente sadios, porém infectados (DUBEY; LINDSAY, 1996; BUXTON, MCALLISTER; DUBEY, 2002). Durante a gestação os taquizoítos invadem a placenta e atingem o feto, e de acordo com a idade gestacional pode levar ao abortamento (ANDERSON et al., 1991; BJÖRKMAN et al., 1996; PARÉ et al., 1996; WILLIAMS et al., 2000; JENKINS, 2001). Uma série de fatores influenciam na patogênese do abortamento, entre eles a idade gestacional, a resposta imune do feto e a materna, a quantidade de parasitos e a duração da parasitemia (ANDREOTTI et al., 2003).

3.7 Diagnóstico

A neosporose promove o aparecimento de sinais clínicos inespecíficos, dificultando o diagnóstico da doença. Portanto, a realização de um diagnóstico laboratorial é de suma importância para confirmar a infecção por *Neospora sp.*

Existem várias técnicas desenvolvidas para se chegar a um diagnóstico, dentre elas os testes sorológicos e os parasitológicos. Os testes sorológicos são realizados para confirmar a presença de anticorpos anti-*Neospora sp.* A identificação de imunoglobulinas nos soros dos animais não determinam a infecção ativa, mas a exposição ao agente (VARDELEON et al., 2001).

Dentre os testes sorológicos utilizados na identificação da neosporose, a reação de imunofluorescência indireta (RIFI), o ensaio imunoenzimático (ELISA), o teste de soraglutinação direta (MAT), o Western blot (BJORKMAN; UGGLA, 1999) e o DOT ELISA (PINHEIRO et al. 2005), já foram descritos. Esses testes indicam se o animal foi exposto ao *Neospora sp.* levando a produção de anticorpos circulantes, mas não necessariamente indicam a presença de infecção ativa (VARDELEON et al., 2001).

A RIFI foi o primeiro método utilizado como forma de diagnóstico para o *N. caninum* e é considerado como referência na pesquisa de anticorpos (HEMPHILL et al., 2000). O teste de ELISA baseia-se na ligação antígeno- anticorpo identificada através de uma reação imunoenzimática, a qual gera a formação de uma coloração

que é quantificada no espectrofotômetro (BJÖRKMAN; UGGLA, 1999). É um teste que tem sido empregado em larga escala, como nos estudos epidemiológicos de rebanhos (HEMPHILL et al., 2000).

O DOT ELISA emprega uma técnica bastante semelhante ao ELISA. Apresenta sensibilidade de 94% e especificidade de 73% quando comparado com a RIFI utilizando o ponto de corte 1:50 (PINHEIRO et al. 2005). A MAT para *N. caninum* foi desenvolvido a partir do teste de aglutinação direta para toxoplasmose por Packham et al. (1998), demonstrou-se ser um método de execução rápida, de fácil utilização e com sensibilidade elevada.

O Western blot tem sido utilizado como teste confirmatório para *Neospora sp.*, devido a sua alta especificidade, uma vez que este busca reações antígeno-anticorpo direcionadas às proteínas específicas. A associação deste teste a outras técnicas como a RIFI ou ELISA, revelou uma prevalência inferior da neosporose em equinos, levando a inferir que a enfermidade na América do Norte não é tão comum como demonstrada por outras técnicas (VARDELEON et al., 2001; HOANE et al., 2006).

Os métodos parasitológicos são realizados como fim diagnóstico e pesquisa do *Neospora sp.* São os exames histopatológicos, a imunohistoquímica, a reação em cadeia da polimerase (PCR), a observação dos cistos nos tecidos a fresco, o exame de fezes dos cães e o isolamento *in vivo* ou *in vitro* (PETERS et al., 2001; HEMPHILL et al., 2000).

No exame histopatológico buscam-se as lesões que o protozoário causou nas células infectadas. Observa-se lesões em regiões do sistema nervoso central, como encefalite focal, com necrose, inflamação não supurativa, podendo encontrar também miocardite, miosite focal, hepatite portal não supurativa (BARR et al., 1991; ANDERSON et al., 2000). Na imunohistoquímica se utiliza anticorpos específicos anti-*Neospora sp.* empregados em fragmentos teciduais que serão testados. Após isso, um anticorpo secundário ligado a uma enzima é adicionado de forma que quando em contato com o substrato há formação de uma coloração identificando a reação antígeno-anticorpo (VAN MAANEN et al., 2004).

A PCR permite a amplificação de pequenas porções do DNA, mesmo em tecidos autolisados, porém o seu elevado custo impossibilita sua utilização na rotina (JENKINS et al., 2002). A realização de métodos imunohistoquímico ou PCR são

necessários para a confirmação, visto que outros agentes agem provocando lesões semelhantes (JENKINS *et al.*, 2002).

Em um estudo comparativo entre as técnicas de PCR e imuno-histoquímica, observou-se que a PCR possuiu uma maior sensibilidade e especificidade na detecção de *N. caninum* em tecidos fetais bovinos (VAN MAANEN; WOUUDA *et al.*, 2004). O isolamento do *Neospora sp.* é uma técnica bastante utilizada em pesquisas, uma vez que seu custo elevado limita a utilização na rotina. Essa técnica é realizada a partir da aplicação de oocistos ou tecidos contendo taquizoítos ou cistos. A inoculação deve ocorrer por via parenteral ou oral, em animais susceptíveis como gerbis ou camundongos (DUBEY *et al.*, 1998).

3.8 Epidemiologia da neosporose equina

Vários inquéritos sorológicos formam realizados em diversos países, sendo que a maioria dos estudos aconteceram nos Estados Unidos. Notou-se que a infecção subclínica acometia 23,3% de 296 cavalos oriundos de dois frigoríficos em Nebraska e no Texas, pelo teste de MAT (DUBEY, ROMAND *et al.*, 1999). No Alabama foi descrita uma soropositividade de 11,5%, dos 536 animais submetidos ao teste de RIFI. As amostras positivas forma tituladas até a máxima reatividade. Foram encontrados títulos de 1:50 (35/6.5%), 1:100 (19/3.5%), 1:200 (7/1.3%) e 1:1600 (1/0.2%) (CHEADLE *et al.*, 1999).

Na França em um estudo realizado com 99 cavalos, empregando a técnica da RIFI, detectaram 23% de soroprevalência para *Neospora sp.* (PITEL *et al.*, 2001) Em 2003, outro estudo foi realizado através da técnica de soroaglutinação, com 54 éguas. Esses animais haviam abortado recentemente e num ponto de corte de 1:40, apresentaram uma soroprevalência de 50% (27/54). Durante a titulação observou-se os títulos de 1:80 em 11.1% (6/54), 1:100 em 7.4% (4/54), 1:200 em 5.6% (4/54), 1:400 em 1.9% (1/54) e 1:800 em 3.8% (2/54) (PITEL *et al.*, 2003).

Em 2004, foi realizado o primeiro levantamento sorológico em equinos na Itália para pesquisa de anticorpos anti-*N. caninum* pela técnica da RIFI. Nesse estudo, o ponto de corte foi de 1:50 num grupo de 150 animais. Os autores observaram que 42 animais apresentaram reação positiva o que determinou uma frequência de 28% (CIARAMELLA *et al.* 2004). Alguns estudos sorológicos foram

realizados na América do Sul. No Chile 145 equinos foram testados pelo método MAT o que indicou uma soropositividade de 32% (DUBEY et al., 1999c; PATITUCCI et al., 2004). Entretanto, estudos realizados na Argentina utilizando a mesma técnica não foi detectado anticorpos anti-*Neospora sp.* em 101 equinos sem histórico de abortamento ou alterações neurológicas (DUBEY et al., 1999a).

No Brasil, há relatos de estudos utilizando a RIFI com ponto de corte de 1:50 ou 1:100. No Estado do Paraná foram testadas 36 éguas por esse método com diluição de 1:50. Os autores encontraram uma soroprevalência que variavam de 30 a 47%. A variação observada pode ser atribuída às diferentes condições de manejo e/ou localização geográfica, ou à exposição ao parasita. Os potros nascidos dessas éguas também foram testados antes da ingestão do colostro. Verificou-se que 22% desses animais haviam sido expostos ao *Neospora sp* ainda na vida intrauterina. Os autores concluíram que os potros haviam sido expostos após os 180 dias de gestação, quando estes adquiriram imunocompetência (LOCATELLI-DITTRICH et al., 2006).

Utilizado a mesma técnica 203 potros neonatos foram testados no Rio Grande do Sul antes de ingerirem o colostro. Para isso utilizaram uma diluição de 1:16 e 1:50. O estudo detectou que 25,1% das amostras (51/203) eram positivas na diluição de 1:16 e que 9,9% (20/203) na diluição de 1:50. Quando se trata de potros há necessidade de reduzir o ponto de corte para 1:16, uma vez que amostras pré-colostrais possuem uma concentração diminuída de imunoglobulinas (LANG et al., 2007). Durante a titulação 4,4% (09/203) reagiram até 1:100, 2,9% (06/203) em 1:200 e 1,4% (03/203) na diluição de 1:400 (ANTONELLO et al., 2012).

Na Bahia utilizando a técnica da RIFI, com um ponto de corte de 1:100 GALVÃO, (2013) observaram uma soropositividade de 6,2% (31/500). Os animais positivos foram titulados e observou-se uma porcentagem de 70, 96% (22/31) no título de 1:100; 22,58% (7/31) no de 1:200 e na diluição 1:400, apenas 6,45% (2/31).

3.9 Controle e tratamento da neosporose

As informações a respeito do controle e tratamento da neosporose foram até então relatadas em bovinos, canídeos e camundongos, uma vez que ainda não houve estudos relacionados com a espécie equina (HOFFMANN et. al., 2007). Não

existem métodos efetivos no controle da enfermidade em bovinos, mas algumas medidas são utilizadas a fim de tentar reduzir os casos de infecção e os prejuízos gerados no rebanho (ANDREOTTI et al., 2003). As ações sanitárias levadas em consideração são direcionadas no bloqueio das vias de transmissão seja ela horizontal ou vertical (ATKINSON et. al., 2000). Dessa forma, deve-se evitar o contato de cães, animais silvestres e bovinos com os tecidos e restos placentários seja de partos ou abortamentos. Descarte gradativo de animais soropositivos, evitando a sua utilização na reprodução. Reduzir o contato das fezes de cães com alimentos e água, devendo dessa forma promover proteção dos locais de armazenamento (ANDREOTTI et. al., 2003).

Entretanto, não existe um tratamento que torne os bovinos livres da infecção por *N. caninum* (ANDERSON et al., 2000). Em estudos realizados em camundongos com a sulfadiazina, foi observado uma melhora considerável dos sinais clínicos. Essa droga apresentou uma eficiência de 90% quando administrada por 14 dias na dose de 15 mg/kg de duas a três vezes por dia ou pirimetamina na dose de 1 mg/kg uma vez por dia em camundongos (BARBER, 1998). Alguns estudos experimentais buscando uma opção terapêutica foram realizados na espécie bovina. O toltrazuril e seu derivado ponazurilo foram testados em taquizoítos de *N. caninum in vitro* e *in vivo* em bezerros (STROHBUSCH et al., 2009) . Em bezerros tratados com Ponazurilo, o parasito não foi detectado no cérebro nem em outros órgãos. Num levantamento realizado com monensina na alimentação de vacas secas no Canadá os animais que receberam a droga tiveram o risco de contaminação reduzido (VANLEEuwEN et al., 2010). Foram feitas tentativas para alterar o curso da infecção por *N. caninum* a partir de medicação profilática com monensina em bolus de liberação lenta em vacas, mas os resultados foram inconclusivos (VANLEEuwEN et al., 2011).

Além disso, o tratamento químico possui limitantes, uma vez que o seu uso constante leva a seleção de organismos mais resistentes. Outro importante agravante é a presença de resíduos medicamentosos nos subprodutos como carne e leite (ANDREOTTI et al., 2003).

4.0 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- A neosporose em equinos é uma enfermidade pouco compreendida, pois ainda são escassas as pesquisas referente a doença. No Brasil há muitos casos de abortamentos, doenças neonatais e distúrbios neurológicos que acontecem em equinos, porém a maioria dos casos não possui um diagnóstico definitivo.
- A neosporose equina não é associada por profissionais como uma enfermidade que cursa com alterações de cunho reprodutivo o que reflete o desconhecimento dos profissionais a respeito da doença.
- A associação de *Neospora sp.* a MEP colocou esse protozoário no diagnóstico diferencial desta enfermidade.
- Mais estudos a respeito da diferenciação entre as espécies de *Neospora sp.* são necessários para conhecer melhor esses protozoários e suas implicações na sanidade equina.

5.0 REFERÊNCIAS

- ABD-ELNAEIM, M. M. M. et al. Structural and haemovascular aspects of placental growth throughout gestation in young and aged mares. *Placenta*, 27: 1103-1113, 2006.
- ACLAND, H.M. Abortion in mares. In: McKINNON A.O.& VOSS J.L. **Equine Reproduction**. Philadelphia: Lea & Febiger, p. 554-562, 1993.
- ALMERIA, S. et.al. Red foxes (*Vulpes vulpes*) are a natural intermediate host of *Neospora caninum*. **Vet Parasitol.**, v.107, p. 287-294, 2002.
- ALMERÍA, S. et al. Seroprevalence of *Neospora caninum* in non-carnivorous wildlife from Spain. **Veterinary Parasitology**, Amsterdã, v. 143, n. 1, p. 21-28, jan. 2007.
- ANDERSON, M. L. et al. *Neospora*-like protozoan infection as a major cause of abortion in California dairy cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 198, n. 2, p. 241-4, Jan 15 1991.
- ANDERSON, M. L.; ANDRIANARIVO, A. G.; CONRAD, P. A. Neosporosis in cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 60-61, p. 417-431, 2000.
- ANDREOTTI, R. et al. **Diagnóstico e controle da neosporose em bovinos**. Campo Grande: Embrapa, (Documentos 136), 2003. 51p.
- ANDRÉ, M. R. et al. Antibodies to *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in Captive Neotropical and Exotic Wild Canids and Felids. **The Journal of Parasitology**, Lincoln, v. 96, n. 5, p. 1007-1009, out. 2010.
- ANTONELLO, A. M. et al. The importance of vertical transmission of *Neospora* sp. in naturally infected horses. **Veterinary Parasitology**, v. 187, n. 3-4, p. 367-70, 2012.
- ATKINSON, R. et al. Progress in the serodiagnosis of *Neospora caninum* infections of cattle. **Parasitology Today**, v. 16, n. 3, p. 110-4, 2000.
- BARBER, J. S. Neosporosis canina. **Waltham Focus**, v.8, p.25-29, 1998.
- BARR, B.C. et al. Neospora-like protozoan infection associated with bovine abortion. **Veterinary pathology**. v. 28, p. 110-116, 1991.
- BARR, B. C. et al. Experimental reproduction of bovine fetal *Neospora* infection and death with a bovine *Neospora* isolate. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 6, p. 207-215, 1994.
- BASSO, W. et al. Confirmed clinical *Neospora caninum* infection in a boxer puppy from Argentina. **Veterinary Parasitology**.Amsterdam, Netherlands. V.131, n.3/4, p.299-303, 2005.

BASZLER, T. V. et al. Interferon- γ and interleukin-12 mediate protection to acute *Neospora caninum* infection in BALB/c mice. **Int J Parasitol.**, v. 29, p. 1635-1646, 1999.

BJERKAS, L.; MOHN, S. F.; PRESTHUS, J. Unidentified cyst-forming Sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. **Zeitschrift für Parasitenkunde**, v. 70, p. 271-274, 1984.

BJÖRKMAN, C.; JOHANSSON, O.; STENLUND, S. *Neospora* species infection in a herd of dairy cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.208, p.1441-1444, 1996.

BJÖRKMAN, C.; UGGLA, A. Serological diagnosis of *Neospora caninum* infection. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 29, p. 1497-1507. 1999.

BJÖRKMAN, C. et al. Seroprevalence of *Neospora caninum* in gray wolves in Scandinavia. **Veterinary Parasitology**, Amsterdã, v. 173, n. 1-2, p. 139-142, out. 2010.

BOYSEN, P. et al. The protozoan *Neospora caninum* directly triggers bovine NK cells to produce gamma interferon and to kill infected fibroblasts. **Infection and Immunity**, v. 74, n. 2, p. 953-960, 2006.

BRAKE, D. A. Vaccinology for control of apicomplexan parasites: a simplified language of immune programming and its use in vaccine design. **Int. J. Parasitol.**, v. 32, p. 509-515, 2002.

BRAUTIGAM, C. P.; HIETALA, S. K.; GLASS, R. Resultados de levantamento sorológico para espécie *Neospora* em bovinos de corte e leite. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE CIÊNCIAS VETERINÁRIAS, 15., Campo Grande, 1996. **Abstracts...** Campo Grande: Associação Panamericana de Ciências Veterinárias, 1996, p. 284.

BUXTON, D.; MCALLISTER, M. M.; DUBEY, J. P. The comparative pathogenesis of neosporosis. **Trends in Parasitology**, v. 18, n. 12, p. 546-52, 2002.

CABAJ, W. et al. Antibodies to *Neospora caninum* in the blood of European bison (*Bison bonasus bonasus* L.) living in Poland. **Veterinary Parasitology**, Amsterdã, v. 128, n. 1-2, p. 163-168, mar. 2005.

COLE, R. A. et al. Vertical transmission of *Neospora caninum* in dogs. **The Journal of Parasitology**, v. 81, n. 2, p. 208-211, 1995.

COOK, A.G. et al. Interpretation of the detection of *Sarcocystis neurona* antibodies in the serum of Young horses. **Veterinary Parasitology**, v.95, p.187-195, 2001.

CHEADLE, M.A. et al. Prevalence of antibodies to *Neospora* sp. in horses from Alabama and characterization of an isolate recovered from a naturally infected horse. **International Journal for Parasitology**, v.29, p.1537-1543. 1999.

CIARAMELLA, P. et al. Seroprevalence of *Neospora spp.* in asymptomatic horses in Italy. **Veterinary Parasitology**, v.123, p.11-15, 2004.

DAFT, B.M. et al. *Neospora* encephalomyelitis and polyradiculoneuritis in an aged mare with Cushing's disease. **Equine Veterinary Journal**, v.29, p.240-243, 1996.

DARWICH, L. et al. Presence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* DNA in the brain of wild birds. **Veterinary Parasitology**, Amsterdã, 2011.

DAVIDSON, H.C.; OTTER, A.; TREES, A.J. Estimation of vertical and horizontal transmission parameters of *Neospora caninum* infections in dairy cattle. **International Journal for Parasitology**, v.29, p.1683-1689, 1999.

DENKERS, E. Y. et al. Neutrophils, dendritic cells and *Toxoplasma*. **International Journal for Parasitology**, v. 34, p. 411-421, 2004.

DUBEY, J. P. et al. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 192, n. 9, p. 1269-1285, 1988.

DUBEY, J. P. et al. Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: Isolation of the causative agent and experimental transmission. **Journal American Veterinary Medicine Association**, v. 193, n.10, p. 1259-1263, 1988a.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S. Transplacental *Neospora caninum* infection in dogs **American Journal Veterinary Research**, v. 50, n. 9, p. 1578-1579, 1989.

DUBEY, J. P. et al. *Neospora caninum* encephalomyelitis in a British dog. **Veterinary Record**, v. 126, n. 8, p. 193-194, 1990.

DUBEY, J.P.; PORTERFIELD, M.L. *Neospora caninum* (Apicomplexa) in an aborted equine fetus. **International Journal for Parasitology**, v.76, p.732-734, 1990.

DUBEY, J.P. et al. Induced transplacental transmission of *Neospora caninum* in cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v.201, p.709-713, 1992.

DUBEY, J. P.; DE LAHUNTA, A. Neosporosis associated congenital limb deformities in a calf. **Applied Parasitology**, v. 34, p. 229-233, 1993.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. **Veterinary Parasitology**, v. 67, n. 1-2, p. 1-59, Dec 2 1996.

DUBEY, J.P., S. ROMAND, P. THULLIEZ, O. C. H. KWOK, S. K. SHEN, AND H. R. GAMBLE. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in horses in North America. **Journal of Parasitology**, v. 85: 968-969, 1999.

DUBEY, J. P. Neosporosis in cattle: biology and economic impact. **Journal of the the American Veterinary Medical Association**, v. 214, n. 8, p. 1160-3, 1999a.

DUBEY, J. P. et al. Prevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in horses from Argentina. **Veterinary Parasitology**, v. 86, n. 1, p. 59-62, Sep 15 1999b.

DUBEY, J. P. et al. Prevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in horses from Argentina. **Veterinary Parasitology**, v. 86, n. 1, p. 59-62, Sep 15 1999c.

DUBEY, J.P. et al. Characterization of the Oregon isolate of *Neospora hughesi* from a horse. **The Journal of Parasitology**, v.87, n.2, p.345-353, 2001.

DUBEY, J.P. et al. First isolation of *Sarcocystis neurona* from the South American opossum, *Didelphis albiventris*, from Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.95, p.295-304. 2001a.

DUBEY, J. P. et al. Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidia. **International Journal for Parasitology**, v. 32, n. 8, p. 929-46, 2002.

DUBEY, J. P. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. **The Korean Journal of Parasitology**, v. 41, n. 1, p. 1-16, 2003.

DUBEY, J. P.; THULLIEZ, P. Prevalence of Antibodies to *Neospora caninum* in Wild Animals. **The Journal of Parasitology**, Lincoln, v. 91, n. 5, p. 1217-1218, out. 2005.

DUBEY, J. P.; BUXTON, D.; WOUDA, W. Pathogenesis of Bovine Neosporosis. **J. Comp. Path.**, v. 134, p. 267-289, 2006.

DUBEY, J.P.; SCHARES, G. Diagnosis of bovine neosporosis. **Veterinary Parasitology**, v.140, p.1 -34, 2006.

DUBEY, J. P.; SCHARES, G.; ORTEGA-MORA, L. M. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 20, n. 2, p. 323-67, 2007.

DUBEY, J. P. et al. Seroprevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) from Iowa and Minnesota using four serologic tests. **Veterinary Parasitology**, Amsterdã, v. 161, n. 3-4, p. 330-334, maio 2009.

DUBEY, J. P. et al. Gray wolf (*Canis lupus*) is a natural definitive host for *Neospora caninum*. **Veterinary Parasitology**, v. 18, n. 8, p. 456- 62, 2011.

DIJKSTRA, T. et al. Evidence of postnatal transmission of *Neospora caninum* in Dutch dairy herds. **Int J Parasitol.**, v. 31, p. 209-215, 2001.

FENGER, C. K. et al. Epizootic of equine protozoal myeloencephalitis on a farm. **Journal of American Veterinary Medical Association**. v. 210, n.7, p.923-927, 1997.

FINNO, C.J.; ALEMAN,M.; PUSTERLA, N. Equine Protozoal Myeloencephalitis Associated with Neosporosis in 3 Horses. **J Vet Intern Med** 2007; 21:1405–1408.

FUEHRER, H. P. et al. Detection of *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, and *Encephalitozoon cuniculi* in the brains of common voles (*Microtus arvalis*) and water voles (*Arvicola terrestris*) by gene amplification techniques in western Austria (Vorarlberg). **Parasitology Research**, Berlim, v. 107, n. 2, p. 469-473, jul. 2010.

FURUTA, P. I. et al. *Neospora caninum* infection in birds: experimental infections in chicken and embryonated eggs. **Parasitology** 134: 1931-1939, 2007.

GALVÃO, C. M. M. Q. Frequência de anticorpos anti-*neospora* sp. em eqüinos (*Equus caballus*) e asininos (*Equus asinus*) criados no Estado da Bahia - 2013 p 45. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal nos Trópicos); Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal da Bahia, 2013.

GONDIM, L.F.P. et al. *Neospora caninum* infection in an aborted bovine in Brazil. N. Z. Vet. v.47 p.35, 1999.

GONDIM, L.F.P. et al. Um caso de neosporose canina no Município de Salvador, Bahia: Diagnóstico, isolamento e manutenção do agente. *Rev. Bras. Ciências Vet*, v.7 p.102, 2000.

GONDIM, L.F.P. et al. Isolation of *Neospora caninum* from the brain of a naturally infected dog, and production of encysted bradyzoites in gerbils. **Veterinary Parasitology**, v. 101, p. 1-7, 2001.

GONDIM, L. F. P. et al. Coyotes (*Canis latrans*) are the definitive host of *Neospora caninum*. **Int J Parasitol.**, v. 34, p. 159-161, 2004.

GRAY, M.L. et al. Visceral neosporosis in a 10-years-old horse. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.8, p.130-133, 1996.

GUIMARÃES, M. S. et al. Ciclo silvestre de *Neospora caninum* e sua importância na epidemiologia para os animais domésticos. Seminários Aplicados do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, 2011.

HAMILTON, C. M. et al. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in red foxes (*Vulpes vulpes*) from around the UK. **Veterinary Parasitology**, Amsterdã, v. 130, n. 1-2, p. 169-173, jun. 2005.

HEMPHILL, A. The host – Parasite relationship in neosporosis. **Advances in Parasitology**, v. 43, p. 49-104, 1999.

HEMPHILL, A. et al. An European perspective on *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v.30, p.877-924, 2000

HOANE, J. S. et al. Prevalence of *Sarcocystis neurona* and *Neospora* spp. infection in horses from Brazil based on presence of serum antibodies to parasite surface antigen. **Veterinary Parasitology**, v. 136, n. 2, p. 155-9, 2006.

HOFFMANN, D.C.S. et al. Diagnóstico sorológico de neosporose em eqüinos e sua possível associação com abortamentos. In: EVINCI –EVENTO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 12, Curitiba, 2004. **Resumo**. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2004. p. 8.

HUNTER, C. A.; REINER, S. L. Cytokines and T cells in host defense. **Current Opinion in Immunology**, v. 12, n. 4, p. 413-418, 2000.

INNES, E. A. et al. Immune responses to *Neospora caninum* and prospects for vaccination. **IX International Coccidiosis Conference**, p. 91-96, 2005.

JAKUBEK, E.B. et al. Seroprevalences of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in Swedish red foxes (*Vulpes vulpes*). **Veterinary Parasitology**, Amsterdã, v. 102, n. 1-2, p. 167-172, dez. 2001.

JENKINS, M.C. Advances and prospects for subunit vaccines against protozoa of veterinary importance. **Veterinary Parasitology**, v.101, p.291-310, 2001.

JENKINS, M. et al. Diagnosis and seroepidemiology of *Neospora caninum* – associated bovine abortion. **International Journal for Parasitology**, v.32, p.631-636. 2002.

KHAN, I. A. et al. *Neospora caninum*: role for immune cytokines in host immunity. **Exp Parasitol.**, v. 85, p. 24-34, 1997.

KING, J. S. et al. Australian dingoes are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v. 40, n. 8, p. 945-950, 2010.

LANG, A. et al. Imunidade passiva em eqüinos: comparação entre a concentração de Ig G do soro materno, colostro e soro do neonato. **Ceres**, v.54, n.315, p.405-411, 2007.

LA-PERLE, K. M. et al. Cutaneous neosporosis in two adult dogs on chronic immunosuppressive therapy. Journal of veterinary diagnostic investigation official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc. v13, p. 252-5, 2001.

LAUGIER C. et al. A 24-year retrospective study of equine abortion in Normandy (France). *Sci. 31:116-123. J. Eq. Vet.*, 2011.

LIMA, R.A.S.; SHIROTA, R.; BARROS, G.E.S.C.; Relatório final do ESTUDO DO COMPLEXO DO AGRONEGÓCIO CAVALO. Apresentado ao Centro de estudos avançados em economia aplicada, 2006.

LINDSAY, D.S. et al. Central nervous system neosporosis in a foal. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.8, p.507-510, 1996.

- LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P.; DUNCAN, R. B. Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. **Veterinary Parasitology**, v. 82, p. 327-333, 1999.
- LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P.; DUNCAN, R. B. Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. **Veterinary Parasitology**, v. 82, p. 327-333, 1999a.
- LINDSAY, D. S.; WESTON, J. L.; LITTLE, S. E. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in gray foxes (*Urocyon cinereoargenteus*) from South Carolina. **Veterinary Parasitology**, Amsterdã, v. 97, n. 2, p. 159-164, maio 2001.
- LU, K.G.; MORRESEY, P.R. Reproductive tract infections in horses. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 22, p. 519-552, 2006.
- LYONS, R. E.; McLEOD, R.; ROBERTS, C. W. *Toxoplasma gondii* tachyzoitebradyzoite interconversion. **Trends Parasitol.**, v. 18, n. 5, p. 198-201, 2002.
- LOCATELLI-DITTRICH, R. et al. Investigation of *Neospora* sp. and *Toxoplasma gondii* antibodies in mares and in precolostral foals from Parana State, Southern Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 135, n. 3-4, p. 215-21, 2006.
- LONG, M. T.; BASZLER, T. V. Neutralization of maternal IL-4 modulates congenital protozoal transmission: comparison of innate versus acquired immune responses. **J. Immunol.**, v. 164, p. 4768-4774, 2000.
- MARCO, I. et al. High seroprevalence of *Neospora caninum* in the red fox (*Vulpes vulpes*) in the Pyrenees (NE Spain). **Veterinary Parasitology**, Amsterdã, v. 152, n. 3-4, p. 321-324, abr. 2008.
- MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em <<http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/equideos>> acesso em Janeiro de 2014.
- MARCOLONGO-PEREIRA, C. et al. Abortamentos em equinos na região Sul do Rio Grande do Sul: estudo de 72 casos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Rio de Janeiro, v.31, n.1, p. 22-26, 2012.
- MARSH, A.E. et al. Neosporosis as a cause of equine protozoal myeloencephalitis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.209, p.1907-1913, 1996.
- MARSH, A.E. et al. Description of a new *Neospora* species (Protozoa: Apicomplexa: Sarcocystidae). **The Journal of Parasitology**, v.84, p.983-991,1998.
- MARSH, A.E. et al. Differentiation of *Neospora hughesi* from *Neospora caninum* based on their immunodominant surface antigen, SAG1and SRS2. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v.29, p.1575- 1582, 1999.

McALLISTER, M.M. et al. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal of Parasitology**, v.28, p.1473-1478, 1998.

MEÇA, K.K.O.L.; VASCONCELOS, A.C.; MORO, L. Inibição de apoptose e retardo da maturação placentária: um provável mecanismo da retenção placentária na brucelose bovina (revisão de literatura). *Biosci. J.*, v.22, p.163-174, 2006.

MURPHY, T. M. et al. Study on the prevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* and molecular evidence of *Encephalitozoon cuniculi* and *Encephalitozoon (Septata) intestinalis* infections in red foxes (*Vulpes vulpes*) in rural Ireland. **Veterinary Parasitology**, Amsterdã, v. 146, n. 3-4, p. 227-234, maio 2007.

NISHIKAWA, Y. et al. In the absence of endogenous gamma interferon, mice acutely infected with *Neospora caninum* succumb to a lethal immune response characterized by inactivation of peritoneal macrophages. **Clin. Diagn. Lab. Immunol.**, v. 8, n. 4, p. 811-817, 2001.

NISHIKAWA, Y. et al. A role for balance of interferon-gamma and interleukin-4 production in protective immunity against *Neospora caninum* infection. **Veterinary Parasitology**, v. 116, p. 175-184, 2003.

O'TOOLE, D.; JEFFREY, M. Congenital sporozoan encephalomyelitis in a calf. **The Veterinary Record.**, v. 121, n. 24, p. 563-566, 1987.

PACKHAM, A. E. et al. A modified agglutination test for *Neospora caninum*: development, optimization, and comparison to the indirect fluorescent-antibody test and enzyme-linked immunosorbent assay. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 5, n. 4, p. 467-473, 1998.

PACKHAM, A.E. et al. Qualitative evaluation of selective tests for detection of *Neospora hughesi* antibodies in serum and cerebrospinal fluid of experimentally infected horses. **Journal of Parasitology**, v.88(6), p.1239-1246, 2002.

PARÉ, J., THURMOND, M., HIETALA, S. Congenital *Neospora caninum* infection in dairy cattle and associated calfwood mortality. **Canadian Journal Veterinary Research**, Ottawa, v.60, p.133-139. 1996.

PATITUCCI, A. N. et al. Sera antibodies to *Neospora caninum* in Chilean horses. **Archivos de Medicina Veterinaria**. v. 36, n 2, p. 203-206, 2004.

PETERS, M. et al. *Neospora caninum* infection associated with stillbirths in captive antelopes (*Tragelaphus imberbis*). **Vet Parasitol**, v. 97, n. 2, p. 153-157, 2001.

PICOUX, J.B. et al. La neosporose bovine: une cause majeure d'avortement? **Bulletin de la Société Vétérinaire Praticienne de France**, v. 82, n. 4, p. 177-201, 1998.

PINHEIRO, A.M. et al. Serologic immunoreactivity to *Neospora caninum* antigens in dogs determined by indirect immunofluorescence, western blotting and dot-ELISA. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.130, n. 1/2, p.73-79, June 2005.

PINHEIRO, A. M. et al. Astroglial cells in primary culture: a valid model to study *Neospora caninum* infection in the CNS. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 113, p. 243-247, 2006.

PINHEIRO, A. M.; COSTA, S. L.; FREIRE, S. M.; RIBEIRO, C. S. O.; TARDY, M.; EL BACHÁ, R. S.; COSTA, M. F. D. *Neospora caninum*: early immune response of rat mixed glial cultures after tachyzoites infection. **Experimental Parasitology**, v. 124, p. 442-447, 2010.

PITEL, P.H. et al. Reactivity against *Sarcocystis neurona* and *Neospora sp.* by serum antibodies in healthy French horses from two farms with previous equine protozoal myeloencephalitis-like cases. **Veterinary Parasitology**, v.111, n.1, p. 1-7, 2001.

PITEL, P. H. et al. Investigation of *Neospora sp.* antibodies in aborted mares from Normandy, France. **Veterinary Parasitology**, v. 118, n. 1-2, p. 1-6, 2003.

PRONOST, S. et al. *Neospora caninum*: first case in France in an aborted equine fetus. **Pratique Veterinaire Equine**, v.31, p.111-114, 1999.

PUSTERLA, N. et al. Endogenous transplacental transmission of *Neospora hughesi* in naturally infected horses. **Journal of Parasitology**, v.97, n.2, p.281-285, 2011.

RAGOZO, A.M.A.R. et al. [Occurrence of antibodies anti-*Neospora caninum* in bovine sera from six Brazilian states.] Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em soros bovinos procedentes de seis estados brasileiros. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 12, n. 1, p. 33-37, 2003.

RODRIGUES A.A.R. et al. Shedding of *Neospora caninum* oocysts by dogs fed tissues from naturally infected water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from Brazil. **Vet Parasitol.**, 124(3-4): 139-150, 2004.

SADREBAZZAZ, A.; HADDADZADEH, H.; SHAYAN, P. Seroprevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in camels (*Camelus dromedarius*) in Mashhad, Iran. **Parasitology Research**, Berlim, v. 98, n. 6, p. 600-601, maio 2006.

SALLES, M. J. C. et al. Síndrome da resposta inflamatória sistêmica/sepsis – revisão e estudo da terminologia e fisiopatologia. **Rev Ass Med Brasil** 1999; 45(1): 86-92.

SOBRINO, R. et al. *Neospora caninum* antibodies in wild carnivores from Spain. **Veterinary Parasitology**, Amsterdã, v. 155, n. 3-4, p. 190-194, ago. 2008.

SPEER, C. A.; DUBEY, J. P. Ultrastructure of tachyzoites, bradyzoites and tissue cysts of *Neospora caninum*. **Journal of Protozoology**, v. 36, n. 5, p. 458-63, 1989.

STASKA, L. M. et al. *Neospora caninum*-infected cattle develop parasite-specific CD4+ cytotoxic T lymphocytes **Infect Immun.**, v. 71, n. 6, p. 3272-3279, 2003.

STROHBUSCH, M. et al. Toltrazuril treatment of congenitally acquired *Neospora caninum* infection in newborn mice. *Parasitol. Res.* 104, 1335–1343, 2009.

TANAKA, T. et al. The role of CD4(+) or CD8(+) T cells in the protective immune response of BALB/c mice to *Neospora caninum* infection. **Veterinary Parasitology**, v. 90, p. 183-191, 2000.

TAUBERT, A. et al. *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections of bovine endothelial cells induce endothelial adhesion molecule gene transcription and subsequent PMN adhesion. **Vet. Immunol. Immunopathol.**, Netherlands, v.112, n° 3-4, p. 272-283, Aug., 2006.

TIEMANN, J. C. H. et al. Environmental effect on the occurrence of anti-*Neospora caninum* antibodies in pampas-deer (*Ozotoceros bezoarticus*). **Veterinary Parasitology**, Amsterdã, v. 134, n. 1-2, p. 73-76, nov. 2005.

TONKS, A. et al. Stimulation of TNF- α release in monocytes by honey. **Cytokine**, v. 14, n. 4, p. 240-242, 2001.

TOSCAN, G. et al. Neosporose equina: ocorrência de anticorpos anti-*Neospora* spp. e associação entre *status* sorológico de éguas e de suas crias. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, n.8, p. 641-645, 2010.

TRUPPEL, J. H. et al. Detection of *Neospora caninum* DNA in capybaras and phylogenetic analysis. **Parasitology International**, Amsterdã, v. 59, n. 3, p. 376-379, set. 2010.

UGGLA, A. et al. Oral *Neospora caninum* inoculation of neonatal calves. **International Journal for Parasitology**, v. 28, n. 9, p. 1467-1472, 1998.

VAN MAANEN, C. et al. An interlaboratory comparison of immunohistochemistry and PCR methods for detection of *Neospora caninum* in bovine foetal tissues. **Veterinary Parasitology**, v. 126, n. 4, p. 351-64, 2004.

VANLEEUVEN, J. A. et al. Associations between reproductive performance and seropositivity for bovine leukemia virus, bovine viral-diarrhea virus, Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis, and *Neospora caninum* in Canadian dairy cows. **Prev. Vet. Med.** 94, 54-64, 2010.

VANLEEUVEN, J. A. et al. Monensin use against *Neospora caninum* challenge in dairy cattle. **Vet. Parasitol.** 175, 372-376, 2011.

VARDELEON, D. et al. Prevalence of *Neospora hughesi* and *Sarcocystis neurona* antibodies in horses from various geographical locations. **Veterinary Parasitology**, v.95, p.273-282, 2001.

WALSH C. P. et al. *Neospora hughesi*: Experimental infections in mice, gerbils and dogs. **Vet. Parasitol.**, 98: 119-129, 2000.

WALSH, C. P. et al. Molecular comparison of the dense granule proteins GRA6 and GRA7 of *Neospora hughesi* and *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v. 31, n. 3, p. 253-8, 2001.

WILLIAMS, D.J. et al. *Neospora caninum*-associated abortion in cattle: the time of experimentally-induced parasitemia during gestation determines fetal survival. **Parasitology**, Cambridge, v.121, p.347-358, 2000.

WILLIAMS, D. J. L.; TREES, A. J. Protecting babies: vaccine strategies to prevent foetopathy in *Neospora caninum* infected cattle. **Parasite Immunology**., v. 28, n. 3, p. 61-67, 2006.

WILLIAMS, D. J. L. et al. Immunization of cattle with live tachyzoites of *Neospora caninum* confers protection against fetal death. **Infect Immun.**, v. 75, n. 3, p. 1343-1348, 2007.

WOBESER, B. K. et al. Equine protozoal myeloencephalitis caused by *Neospora hughesi* in an adult horse in Saskatchewan. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 50, n. 8, p. 851-3, 2009.

WOLF, D. et al. Detection of specific antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in naturally infected alpacas (*Lama pacos*), llamas (*Lama glama*) and vicuñas (*Lama vicugna*) from Peru and Germany. **Veterinary Parasitology**, Amsterdã, v. 130, n. 1-2, p. 81-87, jun. 2005.

WOODING, F.B.P. Current topic: the synepitheliochorial placenta of ruminants: binucleate cell fusions and hormone production. *Placenta*, v.13, p.101-113, 1992.

WOUDA, W. et al. Bovine fetal neosporosis: a comparison of epizootic and sporadic abortion cases and different ge classes with regards to lesion severity and immunohistochemical identification in brain, heart and liver. **Journal of Veterinary Diagnosis and Investigations**, v. 9, p. 180-185, 1997.

YAI, L. E. et al. Seroprevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in the South American opossum (*Didelphis marsupialis*) from the city of São Paulo, Brazil. **The Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 89, n. 4, p. 870-871, ago. 2003.