

UFRRJ

**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA,
TECNOLOGIA E INOVAÇÃO EM AGROPECUÁRIA**

TESE

**FATORES ASSOCIADOS À INFECÇÃO POR
Sarcocystis neurona, *Neospora spp.* e *Toxoplasma gondii*
EM EQUINOS DA MICRORREGIÃO SERRANA DO
ESTADO DO RIO DE JANEIRO**

Ulisses Jorge Pereira Stelmann

2014



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA, TECNOLOGIA E
INOVAÇÃO EM AGROPECUÁRIA**

**FATORES ASSOCIADOS À INFECÇÃO POR *Sarcocystis neurona*,
Neospora spp. e *Toxoplasma gondii* EM EQUINOS DA MICRORREGIÃO
SERRANA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO**

ULISSES JORGE PEREIRA STELMANN

Sob a orientação do Professor

Dr. Carlos Wilson Gomes Lopes

e

Co-orientação do

Dr. Walter Flausino

Tese submetida como requisito para obtenção do grau de **Doutor**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária, Área de concentração em Patobiologia Animal.

Seropédica, RJ
Fevereiro de 2014

636.1089
S824f
T

Stelmann, Ulisses Jorge Pereira, 1981-.

Fatores associados à infecção por *Sarcocystis* neurona, *Neospora* spp. E *Toxoplasma gondii* em eqüinos da microrregião serrana de Estado do Rio de Janeiro / Ulisses Jorge Pereira Stelmann. – 2014.

140 f.: il.

Orientador: Carlos Wilson Gomes Lopes.

Tese (doutorado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária.

Bibliografia: f. 51-74.

1. Eqüino – Doenças - Teses. 2. Eqüino – Doenças – Rio de Janeiro (Estado) - Teses. 3. *Toxoplasma gondii* – Teses. 4. *Neospora* – Teses. 5. *Sarcocystis* – Teses. I. Lopes, Carlos Wilson Gomes, 1947-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária. III. Título.

Autorizada a divulgação desta Tese desde que citada a fonte.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA, TECNOLOGIA E
INOVAÇÃO EM AGROPECUÁRIA**

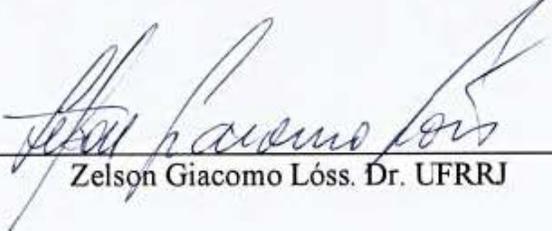
ULISSES JORGE PEREIRA STELMANN

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária, área de concentração em Patobiologia Animal.

TESE APROVADA EM 21/02/14



Carlos Wilson Gomes Lopes. Ph.D. UFRRJ
(Orientador)



Zelson Giacomo Lóss. Dr. UFRRJ



Bruno Pereira Berto. Dr. UFRRJ



Alexandre Dias Munhoz. Dr. UESC



Francisco Carlos Rodrigues de Oliveira. Dr. UENF

DEDICATÓRIA

Dedico esta Tese de Doutorado aos meus pais Jorge Stelmann e Lêda Stelmann, por todo amor dedicado desde sempre, por todas as abdições em prol dos meus triunfos e principalmente da minha felicidade.

As minhas irmãs Jocileide Stelmann e Jorgea Stelmann pelo apoio incondicional durante toda minha vida, por serem meu suporte e principalmente minhas melhores amigas. Por sempre batalharmos uns pelos outros.

Este é mais um sonho que se realiza e que vivemos juntos e intensamente até chegar aqui. Amo vocês incondicionalmente. Onde quer que estejamos, em qualquer tempo ou espaço, estaremos sempre juntos, de uma forma ou de outra.

Dedico também ao Professor Carlos Wilson Gomes Lopes, que não foi apenas meu orientador durante esta etapa tão importante em minha vida, mas, sobretudo um amigo extremamente generoso, cuja presença, apoio e ensinamentos foram constantes. Por ter contribuído para me tornar o que sou hoje e por representar aquilo que almejo ser num futuro próximo como docente.

“Não há docência sem discência, as duas se explicam e seus sujeitos, apesar das diferenças que os conotam, não se reduzem a condição de objeto um do outro. Quem ensina aprende ao ensinar e quem aprende ensina ao aprender”.

(Paulo Freire)

AGRADECIMENTOS

Elevo o meu pensamento ao Senhor e o agradeço pelo dom da vida. Por ser abençoado com uma família tão especial, pela permissão em receber todo o amor dos meus pais e irmãs. Obrigado pelo pão, pela água e pelo lar em que vivo, por todas as oportunidades, pelo direcionamento, por ser presença constante, suporte e vida em minha vida. Pela luz, pela inteligência, por me permitir errar e também acertar, pela proteção contra todo o mal. Pela minha fé ser tão grande na vida e nas pessoas. Por tudo que o Senhor representa e por tudo aquilo que modifica em meu ser para que eu me torne sempre uma pessoa melhor e com isso possa contribuir de alguma maneira com as pessoas as quais convivo. Muito obrigado. Amém.

Aos meus pais Jorge Stelmann e Lêda Stelmann pelos ensinamentos sobre a vida, por ser quem eu sou. Pelos exemplos a serem seguidos de garra, de luta e de fé. Por me fazerem sempre enxergar que fazer o bem é o que nos torna grandes como seres humanos. Pelo amor sem limites que sempre me ofertaram. Por serem não apenas pais, por serem meus amigos, por percorrerem ao meu lado todos os caminhos, por vocês existirem e por poder amá-los. A vocês, todo meu amor, reconhecimento e gratidão.

A minhas irmãs Jocileide Stelmann e Jorgea Stelmann, verdadeiros anjos em minha vida. Pela amizade e por sempre estarem ao meu lado, mesmo existindo a distância para nos separar fisicamente. Fico muito feliz em saber que vivemos um pelo outro. Divido com vocês mais esta vitória, pois, sem vocês não teria sido possível.

Aos cavalos, pelo sangue doado, pelo amor emitido a cada coleta, pela nobreza, por tudo aquilo que desperta em meu coração. Pelo aprendizado e aperfeiçoamento profissional. Todo meu amor, gratidão e respeito.

Agradeço aos amigos, Dr.^a Astrid Paola Mattheis Cruz, Médica Veterinária do Núcleo de Defesa Agropecuária de Petrópolis, Dr.^a Teresa da Gama Passos, da Lavita - Laboratório e Assistência Veterinária e ao Supervisor Técnico da EMATER de Paraíba do Sul, RJ, Geraldo Rivello Pereira, por disporem de seu tempo, muitas das vezes abdicando de outras obrigações, para me auxiliarem na busca de contatos com proprietários de haras do município de Petrópolis para que pudesse realizar minhas coletas. Muito obrigado!

Da mesma maneira, agradeço aos amigos e colegas de profissão, Lianna Maria de Carvalho Balthazar, Erica Roier, Karla Dantas, Renata Carvalho, Bruno Gomes Nogueira, Júlia Lourenço Bitencourt e Amandio Quintellas, por prontamente me ajudarem a conseguir acesso a alguns haras nos quais necessitava realizar minhas coletas.

Com muita gratidão agradeço também aos tratadores e a todas as pessoas que trabalhavam nas propriedades onde as coletas foram realizadas, que muitas das vezes sem compreender o que se passava, ou o real motivo da coleta de sangue naqueles cavalos, estavam dispostas a me ajudar, separando os animais com ânimo, pelo simples fato de estarem contribuindo para o bem de alguém. Muito obrigado!

Agradeço ao Professor Dr. Hélio Langoni da Universidade Estadual “Júlio de Mesquita Filho” UNESP, Campus Botucatu, SP e ao Professor Dr. Luis Fernando Pita Gondim da Universidade Federal da Bahia, UFBA, Campus Ondina, Salvador, BA, pela atenção, acolhimento e generosidade ao disponibilizarem os laboratórios para que minhas amostras pudessem ser processadas.

A Dr.^a Lucilene Camossi da FMVZ/UNESP, campus Botucatu, SP, pelo auxílio na realização das análises laboratoriais e ao amigo Dr. Rodrigo Costa da Silva da FMVZ/UNESP, campus Botucatu, SP, com quem sempre pude contar, pela amizade, auxílio e ensinamentos na parte estatística, por gerar os resultados para que minha Tese pudesse ser

concluída. A ajuda de vocês foi imprescindível para a realização deste estudo, muito obrigado!

Agradeço aos colegas do Laboratório de Coccídios e Coccidioses (LCC) da UFRRJ, em especial a Lianna Maria de Carvalho Balthazar, Janaina da Soledad Rodrigues e Gideão da Silva Galvão, pelo convívio e pelos excelentes momentos que passamos juntos e que com certeza levarei comigo para sempre.

Aos amigos, Thiago Souza Costa, Ana Carolina Assis Barroso e Janaina Teixeira, que estiveram ao meu lado quando isso tudo começou, no dia da inscrição para o Doutorado no prédio principal da UFRRJ, pelo carinho desde sempre, por quererem o meu bem e por me estimularem a dar continuidade ao que agora se finda depois de muita luta. Muito obrigado!

Ao amigo Diego Dias pela presença, amizade, estímulo, apoio, companheirismo e por ter me ajudado a conquistar essa vitória. Muito obrigado!

Ao Zeev Luciam Maimom e Maria Inês Brito Maimon, por serem responsáveis por muitas mudanças em minha vida durante esse período, minha sincera gratidão.

Aos amigos Marcus Vinícius Pereira, Taina Gonçalves, Valéria Melo, Safira Rocha Pereira, Luisa Vestina, Priscila Freitas, Juliana Sandes, Pedro Ivan Fazio Júnior, Andreza Amaral da Silva, Marcelo Faria Laureano, Ana Paula Oliveira Tosta, Luara Canato Miessa Barreto, Anne Yasui e Melissa Viana pelo carinho, preocupação, torcida, estímulo, compreensão e principalmente pela amizade e respeito.

A minha amada UFRRJ, por me proporcionar amigos, momentos inesquecíveis, vivências, conquistas e mais esta vitória.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária (PPGCTIA), em especial a coordenadora Profa. Dr.^a Lucia Helena Cunha dos Anjos pela dedicação e excelente trabalho na condução do mesmo, sempre disposta a ajudar, contribuir e, sobretudo em tornar nosso programa cada vez mais fortalecido. Tenho orgulho em dizer que fiz parte do quadro discente do PPGCTIA da UFRRJ.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) - Demanda Social (DS) pela concessão da Bolsa de Estudos, permitindo com isso minha dedicação ao Doutorado com maior tranquilidade.

BIOGRAFIA

Ulisses Jorge Pereira Stelmann, filho de Jorge Luiz Alves Stelmann e Lêda Fátima Pereira Stelmann, nasceu em 23 de maio de 1981, no município de Três Rios, estado do Rio de Janeiro. Cursou o primário e o ensino fundamental no Colégio Santo Antônio, no município de Três Rios, RJ e o ensino médio na Escola Agrotécnica Federal de Barbacena, atualmente denominada de Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia – Sudeste de Minas Gerais/*Campus* Barbacena, MG, onde formou-se Técnico em Agropecuária no ano de 1998.

Ingressou como acadêmico de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ, no segundo semestre de 1999, diplomando-se no primeiro semestre de 2005.

No ano seguinte (2006), após aprovação em concurso público, deu início a Residência em Clínica Médica de Grandes Animais no Hospital Veterinário de Grandes Animais (HVGA), Instituto de Veterinária da UFRRJ, concluindo a mesma em 2008.

Em 2008, após aprovação no processo de seleção, iniciou o Mestrado na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP, *Campus* Botucatu, SP, onde foi bolsista do CNPq e por onde recebeu o grau de Mestre em Medicina Veterinária na área de Clínica Veterinária no ano de 2010.

Em 2010, foi aprovado no processo de seleção para discente do Programa de Pós-Graduação em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária – PPGCTIA/UFRRJ, nível Doutorado, na área de Patobiologia, sob orientação do Professor Doutor Carlos Wilson Gomes Lopes. Foi bolsista da CAPES – Demanda Social durante o período de 2010 a fevereiro de 2014.

RESUMO

STELMANN, Ulisses Jorge Pereira. **Fatores associados à infecção por *Sarcocystis neurona*, *Neospora* spp. e *Toxoplasma gondii* em equinos da microrregião Serrana do estado do Rio de Janeiro.** 2014. 119p. Tese (Doutorado em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária). Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2014.

Dentre as enfermidades neurológicas que acometem equinos, a mieloencefalite por protozoário (EPM) assume posição de destaque, sendo caracterizada pela infecção do sistema nervoso central (SNC). Inicialmente atribuída a *Toxoplasma gondii*, porém, sabe-se hoje que *Sarcocystis neurona* é o principal agente etiológico da enfermidade. Todavia, trabalhos demonstraram a ocorrência de sinais clínicos, semelhantes àqueles observados na EPM por *S. neurona*, associados à forma neurológica da neosporose em equinos, que é causada pelas espécies, *Neospora caninum* e *Neospora hughesi*. O objetivo deste estudo foi determinar a soroprevalência para *S. neurona*, *Neospora* spp. e *T. gondii*, em equinos da microrregião Serrana do estado do Rio de Janeiro, constituída pelos municípios de Petrópolis, São José do Vale do Rio Preto e Teresópolis, além de verificar os prováveis fatores associados à presença desses agentes etiológicos nas propriedades que participaram deste estudo transversal. Foram selecionados, por conveniência, estabelecimentos agropecuários com criação de equinos, independentemente da idade, sexo e raça. A escolha dos animais foi realizada de forma não aleatória. Participaram desse estudo 23 estabelecimentos agropecuários com criação de equinos, dos quais 19 pertenciam a Petrópolis, três a Teresópolis e um ao município de São José do Vale do Rio Preto. Foram coletadas amostras de sangue de 375 equinos, as quais foram analisadas pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI) para detecção de anticorpos contra os coccídios de interesse do estudo. Observou-se um baixo número de equinos sororreagentes aos três protozoários estudados, sendo 8,27% (31/375) dos equinos positivos para *S. neurona*, 1, 87% (7/375) para o *Neospora* spp. e 2,13% (8/375) para *T. gondii*. A infecção por *S. neurona* foi a mais prevalente e a que apresentou um número maior de resultados com significância estatística dentre as variáveis pesquisadas. A infecção por *Neospora* spp. esteve relacionada à propriedades com histórico de abortamento e acesso de gatos aos alimentos dos equinos. Nas condições deste estudo, nenhuma das variáveis avaliadas mostrou-se estatisticamente significativa para a infecção por *T. gondii*. Mesmo em presença de condições favoráveis para a ocorrência dos hospedeiros definitivos de *S. neurona*, *Neospora* spp. e *T. gondii*, as condições higiênico-sanitárias dos animais e dos estabelecimentos agropecuários analisados contribuíram para uma baixa ocorrência de equinos sororreagentes aos três agentes etiológicos pesquisados na microrregião Serrana do estado do Rio de Janeiro.

Palavras-chave: *Sarcocystis neurona*. *Neospora caninum*. *Neospora hughesi*. *Toxoplasma gondii*. Cavalos. Microrregião Serrana. Estado do Rio de Janeiro.

ABSTRACT

STELMANN, Ulisses Jorge Pereira. **Associated factors with infection by *Sarcocystis neurona*, *Neospora* spp. and *Toxoplasma gondii* in horses from Serrana microregion the state of Rio de Janeiro.** 2014. 119p. Thesis (Doctorate in Science, Technology and Innovation in Agriculture). Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2014.

Among the neurological diseases that affect horses, the protozoal myeloencephalitis (EPM) takes an outstanding position, which is characterized by infection of the central nervous system (CNS). The disease was initially attributed to *Toxoplasma gondii*, however, nowadays it is known that *Sarcocystis neurona* is the major causing agent of this disease. In spite of this, studies have shown the occurrence of clinical signs similar to those observed in the EPM by *S. neurona* in the neosporosis associated with the neurological form in horses, which is caused by the species *Neospora caninum* and *Neospora hughesi*. The aim of this study was to determine the seroprevalence of *S. neurona*, *Neospora* spp. and *T. gondii* in horses from Serrana microregion of the state of Rio de Janeiro, Brazil. This region is formed by the cities of Petrópolis, Sao José do Vale do Rio Preto and Teresópolis. In addition, were verified the probable factors associated with the presence of these properties in the etiologic agents that participated in this cross-sectional study. By convenience, were selected agricultural establishments with equine breeding, regardless of age, sex and race. The choice of animals was non-random. Participated in the study 23 agricultural establishments with horse breeding, of which 19 belonged to Petrópolis, three from Teresópolis, and one from municipality of São José do Vale do Rio Preto. Blood samples were collected from 375 horses, which were analyzed by indirect immunofluorescence assay (IFA) for antibodies against coccidia of interest in the study. There was a small number of seropositive subjects at three equine protozoal studied, 8.27% (31/375) of horses positive for *S. neurona*, 1.87% (7/375) on the *Neospora* spp. and 2.13% (8/375) on *T. gondii*. In conclusion, *S. neurona* infection was the most prevalent and presented a greater number of statistically significant results among the variables studied. Infection with *Neospora* spp. was related to properties with a history of abortion and those where the cats had access to horse's food. In our study, none of the evaluated variables was statistically significant for *T. gondii* infection. Even in the presence of favorable conditions for the occurrence of definitive hosts of *S. neurona*, *Neospora* spp. and *T. gondii*, the sanitary conditions of animals and agricultural establishments analyzed contributed to a low occurrence of seropositive horses for the three etiologic agents surveyed in the Serrana microregion of the state of Rio de Janeiro, Brazil.

Key words: *Sarcocystis neurona*. *Neospora caninum*. *Neospora hughesi*. *Toxoplasma gondii*. Horses. Serrana microregion. State of Rio de Janeiro.

RESUMEN AMPLIADO

STELMANN, Ulisses Jorge Pereira. **Los factores asociados con la infección por *Sarcocystis neurona*, *Neospora* spp. y *Toxoplasma gondii* en los caballos de la microregión Serrana del estado de Río de Janeiro.** 2014. 119p. Tesis (Doctorado en Ciencia, Tecnología e Innovación Agropecuaria). Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade Federal Rural do Río de Janeiro, Seropédica, RJ, 2014.

1 Introducción

Entre las enfermedades neurológicas que afectan a los caballos, la mieloencefalitis por protozoos (EPM) toma una posición prominente y se caracteriza por la infección del sistema nervioso central (SNC). Inicialmente atribuido a *Toxoplasma gondii*, sin embargo, se sabe hoy que *Sarcocystis neurona* es el agente causal principal de la enfermedad. Sin embargo, los estudios han demostrado la presencia de signos clínicos similares a los observados en el EPM por *S. neurona*, la neosporosis asociados con la forma neurológica en los caballos, que es causada por la especie de *Neospora caninum* y *Neospora hughesi*.

El objetivo de este estudio fue determinar la seroprevalencia de *S. neurona*, *Neospora* spp. y *T. gondii* en los caballos de microregión Serrana del estado de Río de Janeiro, además de verificar los probables factores asociados a la presencia de estas propiedades en los agentes etiológicos que participaron en este estudio transversal.

2 Material y Métodos

Este estudio se desarrolló en la microregión Serrana del estado de Río de Janeiro, Brasil, que comprende las municipalidades de Petrópolis, São José do Vale do Río Preto y Teresópolis. En comparación con otras regiones del estado de Río de Janeiro, la región Serrana tiene el más grande contingente de equinos del estado. La elección de esta microregión se justificada por el número representativo de caballos y por tener numerosas propiedades y los centros de entrenamiento de equino, con la creación de diferentes razas y utilizadas para diferentes actividades tales como: correr, saltar, montar a caballo, entre otros. Para este estudio transversal fueron seleccionados por conveniencia, establecimientos agrícolas con creación de equinos, independientemente de la edad, el sexo y la raza.

La elección de los animales no era el tipo al azar, es decir, que se utiliza equina autorizada por los titulares y/o responsables del estudio y que las propiedades estaban disponibles durante nuestra visita. Los participantes fueron 23 los establecimientos agrícolas con el establecimiento de los caballos, de los cuales 19 pertenecían a Petrópolis, Teresópolis y tres al municipio de São José do Vale do Río Preto. El cálculo del número de muestras se realizó utilizando el programa Epi Info[®] utilizando intervalo de confianza (IC) de 95%, se encontró una “n” de 361,9, que se ajustó a 375 caballos.

La colecta de sangre venosa para pruebas de laboratorio se realizó por punción de la vena yugular utilizando agujas desechables 25 x 0,8 mm, con accesorios para la recolección de vacío en el tubo siliconado desechable, debidamente identificado con una capacidad máxima de 10 ml y activador de la coagulación. El material se mantuvo en condiciones de refrigeración en una caja isotérmica con hielo, y después del final de las colecciones transportadas al LCC-UFRRJ. A su llegada al laboratorio, después de la retracción del coágulo, las muestras fueron centrifugadas a 350 x g por un período de 10 minutos en una

centrífuga refrigerada para la separación del suero de la sangre y fue envasada en duplicado en tubo Eppendorf de 2 ml, identificado y mantenido bajo -20 ° C hasta el momento del análisis. Para la detección de anticuerpos contra *S. neurona*, *Neospora* spp. y *T. gondii* se utilizó la prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFA).

3 Resultados y Discusión

De 375 animales examinados por IFA, se observó un pequeño número de caballos seropositivos a las tres protozoos estudiados, 8,27 % (31/ 375) de los caballos positivos para *S. neurona*, 1, 87 % (7/ 375) para *Neospora* spp. y 2,13 % (8/ 375) para *T. gondii*. La infección por *S. neurona* fue la más frecuente y que presenta un número elevado de resultados estadísticamente significativas entre las variables estudiadas. La infección con *Neospora* spp. estaba relacionada con las propiedades con antecedentes de aborto y el acceso a la alimentación de caballos gatos. En nuestro estudio, ninguna de las variables evaluadas fue estadísticamente significativa para la infección por *T. gondii*. Incluso en presencia de condiciones favorables para la ocurrencia de los hospedadores definitivos de *S. neurona* , *Neospora* spp. y *T. gondii*, las condiciones sanitarias de los animales y los establecimientos agrícolas analizados contribuyó a una baja incidencia de caballos seropositivos para los tres agentes etiológicos encuestados en el micro Serrana del estado de Río de Janeiro, Brasil.

4 Conclusión

Apesar de baja soroprevalencia encontrada en los equinos para *S. neurona* (8,27%), *N. caninum* (1,87%) e *T. gondii* (2,13%) no impiden que haya infección para los equinos y además de eso, la microregión posee factores epidemiológicos que propician la manutención de infección por los agentes etiológicos. La observación principal es la presencia de sus huéspedes definitivos, que sin el debido manejo higiénicosanitario podría ocurrir un número más grande de animales sororreagentes en la microregión.

Palabras-clave: *Sarcocystis neurona*. *Neospora caninum*. *Neospora hughesi*. *Toxoplasma gondii*. Caballos. Microregión Serrana. Estado de Río de Janeiro.

LISTA DE FIGURAS

	Págs
Figura 1. Área de ocorrência de <i>Didelphis virginiana</i> na América do Norte e Central. Fonte: http://www.iucnredlist.org	3
Figura 2. Área de ocorrência de <i>Didelphis albiventris</i> na América do Sul. Fonte: http://www.iucnredlist.org	3
Figura 3. Mapa do estado do Rio de Janeiro com suas divisões regionais (CEPERJ, 2011).....	31
Figura 4. Mapa da microrregião Serrana do estado do Rio de Janeiro com seus respectivos municípios. (1) Petrópolis, (2) São José do Vale do Rio Preto, (3)Teresópolis (CEPERJ,2011).....	32
Figura 5. Presença de cães nas instalações de uma propriedade que possuía equinos reagentes a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) para anticorpos contra <i>Neospora</i> spp.	45
Figura 6. Presença de gatos nos corredores das instalações em dois haras com equinos soropositivos para <i>Toxoplasma gondii</i> , pertencentes ao município de Petrópolis, RJ.....	47
Figura 7. Presença de gatos no depósito de ração de um dos haras com equinos soropositivos para <i>Toxoplasma gondii</i> , pertencentes ao município de Petrópolis, RJ.....	48

LISTA DE TABELAS

	Págs
Tabela 1. Frequência encontrada para os três agentes etiológicos pesquisados através da RIFI em equinos da microrregião Serrana, RJ.....	35
Tabela 2. Frequência de títulos sorológicos para os três agentes etiológicos pesquisados.....	35
Tabela 3. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à <i>Sarcocystis neurona</i> e cada município da microrregião Serrana, RJ.....	36
Tabela 4. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à <i>Sarcocystis neurona</i> e o número de moradores nas propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.....	36
Tabela 5. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à <i>Sarcocystis neurona</i> e o número total de equinos nas propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.....	37
Tabela 6. Associação entre e a presença de equinos sororreagentes para <i>Sarcocystis neurona</i> e o material utilizado nas construções nas propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.....	37
Tabela 7. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à <i>Sarcocystis neurona</i> e as variáveis relacionadas ao manejo nas propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.....	38
Tabela 8. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à <i>Sarcocystis neurona</i> e as variáveis relacionadas à presença de outros hospedeiros nas propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.....	38
Tabela 9. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à <i>Sarcocystis neurona</i> e o histórico de doença clínica nas propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.....	40
Tabela 10. Associação entre equinos sororreagentes à <i>Neospora</i> spp. e as variáveis relacionadas ao acesso de gatos aos alimentos dos equinos e histórico de abortamento nas propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.....	40

LISTA DE ANEXOS

	Págs
Anexo 1. Protocolo Comissão de Ética na Pesquisa da UFRRJ /COMEP.....	74
Anexo 2. Questionário Epidemiológico Aplicado Durante as Visitas às Propriedades do Município de Petrópolis, São José do Vale do Rio Preto e Teresópolis, que Compõe a Microrregião Serrana do Estado do Rio de Janeiro.....	75
Anexo 3. Ficha individual dos equinos participantes do estudo.....	81
Anexo 4. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à <i>Sarcocystis neurona</i> e as variáveis epidemiológicas estudadas nas propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.....	83
Anexo 5. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à <i>Sarcocystis neurona</i> e as variáveis relacionadas à vacinação nas propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.....	84
Anexo 6. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à <i>Sarcocystis neurona</i> e as variáveis relacionadas à estrutura das propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.....	85
Anexo 7. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à <i>Sarcocystis neurona</i> e as variáveis relacionadas ao manejo nas propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.....	86
Anexo 8. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à <i>Sarcocystis neurona</i> e as variáveis relacionadas a outros hospedeiros nas propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.....	87
Anexo 9. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à <i>Sarcocystis neurona</i> e as variáveis relacionadas ao histórico de abortamento e de doença clínica nas propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.....	89
Anexo 10. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à <i>Neospora</i> spp. e as variáveis epidemiológicas estudadas nas propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.....	90
Anexo 11. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à <i>Neospora</i> spp. e as variáveis relacionadas à vacinação nas propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.....	91
Anexo 12. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à <i>Neospora</i> spp. e as variáveis relacionadas à estrutura das propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.....	92

	Págs
Anexo 13. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à <i>Neospora</i> spp. e as variáveis relacionadas ao manejo nas propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.....	93
Anexo 14. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à <i>Neospora</i> spp. e as variáveis relacionadas a outros hospedeiros nas propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.....	94
Anexo 15. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à <i>Neospora</i> spp. e as variáveis relacionadas ao histórico de abortamento e de doença clínica nas propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.....	96
Anexo 16. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à <i>Toxoplasma gondii</i> e as variáveis epidemiológicas estudadas nas propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.....	97
Anexo 17. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à <i>Toxoplasma gondii</i> e as variáveis relacionadas à vacinação nas propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.....	98
Anexo 18. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à <i>Toxoplasma gondii</i> e as variáveis relacionadas à estrutura das propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.....	99
Anexo 19. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à <i>Toxoplasma gondii</i> e as variáveis relacionadas ao manejo nas propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.....	100
Anexo 20. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à <i>Toxoplasma gondii</i> e as variáveis relacionadas a outros hospedeiros nas propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.....	101
Anexo 21. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à <i>Toxoplasma gondii</i> e as variáveis relacionadas ao histórico de abortamento e de doença clínica nas propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.....	103
Anexo 22. STELMANN, U. J. P.; ULLMANN, L. S.; LANGONI, H.; AMORIM, R. M. Equine Neosporosis: Search for Antibodies in Cerebrospinal Fluid and Sera from Animals with History of Ataxia. Revista Brasileira de Medicina Veterinária , v. 33, n. 2, p. 99-102, 2011.....	104
Anexo 23. STELMANN, U. J. P.; SILVA, R. C.; LANGONI, H.; BORGES, A. S.; AMORIM, R. M. Anticorpos Contra <i>Toxoplasma gondii</i> em Equinos com Histórico de Ataxia. Revista Brasileira de Medicina Veterinária , v. 32, n. 4, p. 200-202, 2011.....	109

	Págs
Anexo 24. STELMANN, U. J. P.; SILVA, A. A.; SOUZA, B. G.; OLIVEIRA, G. F.; MELLO, E. B. F. R. B.; SOUZA, G. C. J.; HESS, T. M. Dermoid Cyst In Sheep - A Case Report. <i>Revista Brasileira de Medicina Veterinária</i>, v. 34, n. 2, p. 127-130, 2012.....	113
Anexo 25. STELMANN, U. J. P.; CAMOSSO, L. G.; SILVA, R. C.; LANGONI, H.; FLAUSINO, W.; LOPES, C. W. G. Anticorpos contra <i>Toxoplasma gondii</i> em equinos da microrregião Serrana do estado do Rio de Janeiro. <i>Revista Brasileira de Medicina Veterinária</i>, 35(supl. 2): 00-00, 2013. [Aceito para publicação].....	118

LISTA DE ABREVIações E SÍMBOLOS

α	Nível de significância
χ^2	Qui-quadrado
μL	Microlitro
AIE	Anemia Infecciosa Equina
BA	Bahia
BHE	Barreira hematoencefálica
CEPERJ	Fundação Centro Estadual de Estatísticas, Pesquisas e Formação de Servidores Públicos do Rio de Janeiro
DAT	Teste de aglutinação direta
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DPI	Dia pós-infecção.
ELISA	do inglês “ <i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i> ” = Teste imunoenzimático.
EPM	Mieloencefalite Protozoária Equina
EUA	Estados Unidos da América
FMVZ	Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
g	Grama(s)
GRA	Proteínas granulares densas
h	Hora(s)
HI	Hemaglutinação indireta
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
Ig	Imunoglobulina(s)
IgA	Imunoglobulina A.
IgE	Imunoglobulina E.
IgG	Imunoglobulina G.
IgM	Imunoglobulina M.
IgM-ISAGA	do inglês, “ <i>Immunosorbent agglutination assay</i> ” = Reação de aglutinação por imunoabsorção.
IHQ	Imunohistoquímica.
ITS 1	do inglês, “ <i>Internal Transcribed Spacer</i> ” = Espaço interno transcrito.
IUCN	do inglês, “ <i>International Union for Conservation of Nature</i> ” = União Internacional para a Conservação da Natureza.
kg	Quilograma(s)
LCC	Laboratório de Coccídios e Coccidioses.
LCR	Líquido cefalorraquidiano.
LDPA	Laboratório de Diagnóstico das Parasitoses dos Animais
MAD	Teste de Aglutinação direta modificado
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MAT	Teste de aglutinação modificado.
mg	Miligrama(s)
mL	Mililitro(s)
NAT	Teste de aglutinação para <i>Neospora</i>
Obj.	Objetiva
°C	Graus <i>Celsius</i>
OR	do inglês “ <i>Odds Ratio</i> ” = Razão de possibilidades

PB	Paraíba
PCR	Reação de cadeia por polimerase.
pH	Potencial hidrogeniônico
PR	Paraná
PSI	Puro Sangue Inglês
QA	Quociente de Albumina
RIFI	Reação de imunofluorescência indireta.
RNA	Ácido Ribonucleico
rRNA	RNA Ribossomal
RS	Rio Grande do Sul
rSnSAG	Antígeno de Superfície recombinante de <i>Sarcocystis neurona</i>
rNhSAG1	Antígeno de Superfície recombinante de <i>Neospora huguesi</i>
SAG	Antígeno de Superfície
SAT	Teste de aglutinação para <i>Sarcocystis neurona</i>
SFDT	Sabin Feldman <i>Die Test</i>
SNC	Sistema nervoso central
SNC	Sistema nervoso central.
SP	São Paulo
SRD	Sem raça definida
SRS	do inglês “SAG1 <i>related sequence</i> ”
SST	Solução salina tamponada.
UFBA	Universidade Federal da Bahia
UFRRJ	Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
UNESP	Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
WB	Teste <i>Western Blotting</i> .

SUMÁRIO

	Págs
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	2
2.1 <i>Sarcocystis neurona</i> e a Mieloncefalite por Protozoário	2
2.1.1 Histórico	2
2.1.2 Epidemiologia	2
2.1.3 Desenvolvimento biológico de <i>Sarcocystis neurona</i>	5
2.1.4 Patogênese	5
2.1.5 Sinais clínicos	6
2.1.6 Diagnóstico	7
2.1.7 Diagnósticos diferenciais	8
2.1.8 Tratamento	9
2.1.9 Prognóstico	10
2.1.10 Prevenção	11
2.2 O Gênero <i>Neospora</i> e a Neosporose em Equinos	11
2.2.1 Histórico.....	11
2.2.2 Epidemiologia	12
2.2.3 Particularidades moleculares das espécies de <i>Neospora</i>	16
2.2.4 Desenvolvimento biológico das espécies do gênero <i>Neospora</i>	16
2.2.4.1 <i>Neospora caninum</i>	16
2.2.4.2 <i>Neospora hughesi</i>	17
2.2.5 Vias de infecção e patogênese das espécies do gênero <i>Neospora</i>	18
2.2.6 Sinais clínicos	19
2.2.7 Diagnóstico	19
2.2.8 Tratamento	21
2.2.9 Prevenção	21
2.3 <i>Toxoplasma gondii</i> e Toxoplasmose em Equinos	21
2.3.1 Histórico.....	21
2.3.2 Epidemiologia de <i>Toxoplasma gondii</i> em equinos.....	23
2.3.3 Ciclo biológico e vias de infecção de <i>Toxoplasma gondii</i>	25
2.3.4 Sinais clínicos da infecção por <i>Toxoplasma gondii</i> em equinos.....	27
2.3.5 Diagnóstico de <i>Toxoplasma gondii</i> e da toxoplasmose equina.....	27
2.3.6 Tratamento da infecção por <i>Toxoplasma gondii</i>	29
2.3.7 Prevenção e controle da infecção por <i>Toxoplasma gondii</i>	29
3. MATERIAL E MÉTODOS	31
3.1 Aspectos Éticos	31
3.2 Local de Coletas das Amostras	31
3.3 Escolha das Propriedades e dos Animais	32
3.4 Cálculo Para o Tamanho das Amostras	32
3.5 Questionários	33

	Págs
3.6 Coleta das Amostras de Sangue e Obtenção do Soro Sanguíneo.....	33
3.7 Exame Sorológico.....	33
3.8 Análise dos Dados Obtidos.....	34
4. RESULTADOS.....	35
4.1 Frequências dos Agentes Etiológicos Encontrados em Equinos Sororreagentes na Microrregião Serrana, RJ.....	35
4.2 Frequências de Títulos Sorológicos Para os Três Agentes Etiológicos Pesquisados.....	35
4.3 <i>Sarcocystis neurona</i> em Equinos.....	35
4.3.1 Frequências observadas nos municípios e propriedades para <i>Sarcocystis neurona</i> ...	35
4.3.2 Características dos equinos sororreagentes a <i>Sarcocystis neurona</i> da microrregião serrana do estado do Rio de Janeiro.....	37
4.3.3 Fatores relativos ao manejo e a presença de equinos sororreagentes à <i>Sarcocystis neurona</i> na microrregião serrana do estado do Rio de Janeiro.....	37
4.3.4 Doença clínica.....	39
4.4 <i>Neospora</i> spp. em Equinos.....	40
4.5 <i>Toxoplasma gondii</i> em Equinos.....	40
5. DISCUSSÃO.....	41
5.1 <i>Sarcocystis neurona</i>.....	41
5.2 <i>Neospora</i> spp.....	43
5.3 <i>Toxoplasma gondii</i>.....	46
6. CONCLUSÕES.....	49
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50
8. ANEXOS.....	74

1 INTRODUÇÃO

Dentre as enfermidades neurológicas que acometem equinos, a mieloencefalite por protozoário (EPM) assume posição de destaque, sendo caracterizada pela infecção do sistema nervoso central (SNC). Inicialmente atribuída a *Toxoplasma gondii*, porém, sabe-se hoje que *Sarcocystis neurona* é o principal agente etiológico da enfermidade. Todavia, trabalhos demonstraram a ocorrência de sinais clínicos, semelhantes àqueles observados na EPM por *S. neurona*, associados à forma neurológica da neosporose em equinos, que é causada pelas espécies, *Neospora caninum* e *Neospora hughesi*.

Existe uma discordância na literatura mundial a respeito das espécies de coccídios responsáveis por essa enfermidade. No entanto, há relatos demonstrando o envolvimento tanto de *S. neurona*, quanto de *Neospora* spp. e *T. gondii*, como agentes etiológicos responsáveis por manifestação clínica neurológica da EPM. Contudo, a escassez de informações impede a determinação relevante das consequências da infecção tanto por *Neospora* spp., quanto por *T. gondii* em equinos, bem como na definição se essas espécies estão associadas ou não a EPM.

O Brasil possui o maior rebanho de equinos na América Latina e encontra-se na terceira posição mundial. O efetivo de equinos é da ordem de oito milhões de cabeças, somados aos muares e asininos, movimentando cerca de 7,3 bilhões, somente com a produção de cavalos (IBGE, 2010).

O “Complexo do Agronegócio Cavalo” envolve mais de 30 segmentos distribuídos entre insumos, criação e destinação final e é responsável pela geração de 3,2 milhões de empregos diretos e indiretos.

A exportação de cavalos vivos indica números significativos, a expansão alcançou 524% entre os anos de 1997 e 2009, passando de US\$ 702,8 mil para US\$ 4,4 milhões. O Brasil é o oitavo maior exportador de carne equina e os principais países importadores são: Bélgica, Holanda, Itália, Japão e França (MAPA, 2013).

A maior população brasileira de equinos concentra-se, principalmente, nas regiões Sudeste e Nordeste. Os estados de Minas Gerais, Bahia e Rio Grande do Sul, são os que possuem os maiores efetivos de equinos. O estado do Rio de Janeiro, por sua vez, ocupa a décima sexta posição com aproximadamente 114.778 cabeças (IBGE, 2011; MAPA, 2013).

Levando em consideração o efetivo nacional de equinos, em especial a população de cavalos no estado do Rio de Janeiro, a importância da EPM no contexto das doenças neurológicas em equinos e como fator limitante na criação dos mesmos, a alta prevalência de animais sororreagentes no país, para *S. neurona*, e o fato de que, no Brasil, a neosporose e a toxoplasmose não são incluídas rotineiramente no diagnóstico diferencial da EPM, justifica-se a realização deste estudo.

O objetivo deste estudo foi determinar a soroprevalência para *S. neurona*, *Neospora* spp. e *T. gondii*, em equinos da microrregião Serrana do estado do Rio de Janeiro, constituída pelos municípios de Petrópolis, São José do Vale do Rio Preto e Teresópolis, além de verificar os prováveis fatores associados à presença desses agentes etiológicos nas propriedades que participaram do estudo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1. *Sarcocystis neurona* e a Mieloncefalite por Protozoário

2.1.1 Histórico

Em 1970, Rooney et al. descreveram pela primeira vez uma síndrome inicialmente nomeada de “mielite-encefalite focal”, baseada em 52 casos de doença neurológica em equinos do Kentucky e Pensilvânia, com maior incidência em cavalos jovens Puro Sangue Inglês (PSI), que apresentavam ataxia espinhal progressiva de um ou mais membros.

A primeira descrição do protozoário causador da enfermidade foi realizada em 1974 por Cushick et al. que o identificaram como *T. gondii*. No mesmo ano, Beech (1974) denominou a enfermidade de “encefalomielite protozoária equina”. Porém, dois anos mais tarde, a denominação foi modificada para “mieloencefalite protozoária equina” (EPM) por Mayhew et al. (1976).

Concluiu-se, na década de 90, por Dubey et al. (1991), que o parasito seria uma espécie do gênero *Sarcocystis*, assim sendo *S. neurona* foi proposta para o agente etiológico da EPM. No mesmo ano, Davis et al. (1991) isolaram, a partir do cultivo em células monocíticas de bovinos, *S. neurona* de dois cavalos na Califórnia, Estados Unidos da América (EUA), confirmando este como o agente etiológico causador da doença.

2.1.2 Epidemiologia

A prevalência da EPM depende da distribuição geográfica dos hospedeiros definitivos, os gambás *Didelphis virginiana* (FENGER et al., 1995) e *Didelphis albiventris* (DUBEY et al., 2001a,b), que se limitam às Américas do Norte e Central (Figura 1) e do Sul (Figura 2), respectivamente. Quanto maior a população de gambás numa determinada área, maiores serão os casos da doença (MacKAY et al., 2000).

Além de ser considerado um sério problema de saúde equina nas Américas, a EPM tem sido apontada como uma questão emergente nos países importadores de cavalo desse continente (PITEL et al., 2003a). Relatos de casos da enfermidade foram descritos no hemisfério oriental (Europa, África do Sul e Ásia), porém, em equinos oriundos do continente Americano (MAYHEW; GREINER, 1986; RONEN, 1992; LAM et al., 1999). Uma possibilidade de cavalos fora do continente Americano se infectarem seria através da ingestão de alimentos contaminados com esporocistos provenientes das Américas (PITEL et al., 2002; 2003a).

Outros equídeos podem ser infectados por *S. neurona*, porém, apenas dois relatos de doença clínica foram descritos, um acometendo um pônei e outro acometendo uma zebra (DUBEY; MILLER, 1986; MARSH et al., 2000). Não há relatos da enfermidade em asininos e muares (BLOOD, RADOSTITS, 2002). A baixa ocorrência de casos em outras espécies de equídeos sugere que existam diferenças quanto à resistência a infecção por *S. neurona* (DUBEY et al., 2001a).

Nas Américas casos de EPM são relatados (BOY et al., 1990; GRANSTROM et al., 1992; MASRI et al., 1992; FENGER et al., 1997). Estudos sorológicos apontam, de acordo com a região geográfica, graus variáveis de exposição dos equinos a *S. neurona* e atribuem aos diferentes fatores climáticos como sendo os responsáveis por essa variação. Na América do Norte, o efeito da sazonalidade pode ser observado principalmente durante o inverno,

quando o número de animais sororreagentes diminui em função da redução de esporocistos viáveis no ambiente devido à baixa temperatura (RICKARD et al., 2001).



Figura 1. Área de ocorrência de *Didelphis virginiana* na América do Norte e Central. De acordo com IUCN (2013).



Figura 2. Área de ocorrência de *Didelphis albiventris* na América do Sul. De acordo com IUCN (2013).

Nos EUA a soroprevalência para *S. neurona* difere em percentuais de soropositividade em todo o país, como por exemplo: 33,6% no Colorado (TILLOTSON et al., 1999), 45,3% na Pensilvânia (BENTZ et al., 1997), 45% em Oregon (BLYTHE et al., 1997), 53,6% em Ohio (SAVILLE et al., 1997), 89,2% em Oklahoma (BENTZ et al., 2003) e 6,5% no Wyoming (DUBEY et al., 2003a).

Yeargan et al. (2013) realizaram um estudo para avaliar a exposição de cavalos do estado de Durango, México, para *S. neurona*. Para isso, foram produzidas proteínas recombinantes trivalentes deste parasito (rSnSAG2/4/3) para utilização no ensaio imunoenzimático (ELISA). Anticorpos para *S. neurona* foram detectados em 240 (48,5%) de 495 cavalos baseados na reatividade com o antígeno recombinante rSnSAG2/4/3.

Na América Central, em especial na Costa Rica, Dangoudoubiyam et al. (2011), encontraram um percentual de soropositividade de 42,2% nos cavalos examinados.

Na América do Sul, a sorologia determinou exposição em 35,6% e 35,5% dos animais estudados no Brasil e Argentina respectivamente (DUBEY et al., 1999a,b). Hoane et al. (2006) realizaram um estudo com equinos de diversos estados brasileiros, sob diferentes condições de manejo, onde foi verificada a presença de anticorpos em 69,6% desses animais.

Lins et al., (2012) com o objetivo de avaliar a ocorrência de EPM nas regiões da Campanha e do sul do Rio Grande do Sul, realizaram um levantamento retrospectivo dos casos clínicos de equinos com sintomatologia clínica neurológica, no Hospital de Clínicas Veterinária, da Universidade Federal de Pelotas durante o período compreendido entre os anos de 1996 e 2006. Foi utilizado líquido cefalorraquidiano (LCR) para pesquisa de anticorpos contra *S. neurona* através do Western blot (WB). No total, foram avaliados 61 cavalos das raças PSI, Crioula, Quarto de Milha, Andaluz e sem raça definida (SRD). Foram encontrados 23 (37,7%) animais positivos, sendo 20 deles da raça PSI (86%) e apenas três (14%) de outras raças.

Enquanto soroprevalência aumenta com a idade do cavalo (BENTZ et al., 1997; BLYTHE et al., 1997; SAVILLE et al., 1997, TILLOTSON et al., 1999; BENTZ et al., 2003, LINS et al., 2012), cavalos jovens (1-5 anos) são realmente mais susceptíveis ao desenvolvimento da doença (BOY et al., 1990; SAVILLE et al., 2000; DUBEY et al., 2001a; COHEN et al., 2007). Não há preferência quanto ao sexo (BLYTHE et al., 1997) e parece não existir predileção por raça, apesar dos cavalos das raças PSI, Trotadores e Quarto de Milha apresentarem os maiores percentuais dos casos quando comparadas às demais raças (ROONEY et al., 1970; BOY et al., 1990; FAYER et al., 1990, LINS et al., 2012). Cavalos desportistas, de competições ou corrida, são mais susceptíveis para o desenvolvimento da EPM, pois, são submetidos frequentemente a treinamentos intensos e muitas das vezes extenuantes o que por sua vez, pode levar ao comprometimento do sistema imunológico, aumentando o risco de desenvolvimento da enfermidade (SAVILLE et al., 2000; COHEN et al., 2007).

Quando comparado aos resultados observados na América do Norte, o Brasil possui poucas informações referentes aos fatores de risco associados com a exposição ao agente etiológico e/ou o desenvolvimento da enfermidade. Na América do Norte os principais fatores de risco para a EPM são: idade, cirurgia, acidentes/lesões, parto, proximidade geográfica com áreas de ocorrência do hospedeiro definitivo, estresse com viagens e competições, intensidade de exercício e fatores sazonais, principalmente na primavera, verão e outono quando o número de casos aumenta (SAVILLE et al., 1999; 2000).

2.1.3 Desenvolvimento biológico de *Sarcocystis neurona*

Os gambás das espécies *D. virginiana* e *D. albiventris* são os hospedeiros definitivos nas Américas do Norte e Central e do Sul, respectivamente (FENGER et al., 1995; DUBEY et al., 2001a,b) e uma variedade de outros mamíferos como hospedeiros intermediários, incluindo guaxinins, lince canadense, tatus, gatos, mamíferos marinhos e gambás listrados; além do pássaro tordo negro (FENGER et al., 1995; DUBEY, HAMIR, 2000; FOREST et al., 2000; DUBEY et al., 2001a; DUBEY et al., 2003b; MANSFIELD et al., 2008; REJMANEK et al., 2010).

No trato intestinal do hospedeiro intermediário, os esporocistos se rompem e liberam os esporozoítos infectantes que, por sua vez, penetram na mucosa intestinal, sendo disseminados pelo sistema vascular, desenvolvendo-se intracelularmente nas várias células endoteliais dos vasos sanguíneos. Os esporozoítos, após invasão celular, se tornam multinucleados, transformando-se em merontes, os quais produzem numerosos merozoítos. A célula hospedeira se rompe culminando com a liberação de merozoítos na luz do vaso sanguíneo (KISTHARDT; LINDSAY, 1997; FURR, 2006). Nas células endoteliais, ocorre outro ciclo de desenvolvimento, a reprodução assexuada produzindo uma segunda geração de merozoítos que penetram nas células musculares cardíacas e esqueléticas, transformando-se em sarcocistos (cisto muscular) que contém inúmeros bradizoítos.

A infecção do hospedeiro definitivo ocorre pela ingestão de carne contendo sarcocistos. Os bradizoítos provenientes dos sarcocistos penetram na lâmina própria do trato intestinal onde se desenvolvem em micro e macrogametócitos (fase sexuada). O oocisto esporula na lâmina própria no intestino delgado do hospedeiro definitivo, produzindo dois esporocistos, cada um contendo quatro esporozoítos. Esses esporocistos são normalmente observados nas fezes do hospedeiro definitivo (KISTHARDT; LINDSAY, 1997).

Considerando o fato de que não foram encontrados sarcocistos de *S. neurona* na musculatura de cavalos e excluindo-se a possibilidade da transmissão desse parasito para o hospedeiro definitivo a partir da ingestão da musculatura desses animais, os equinos são considerados hospedeiros terminais (MacKAY, 1997; MacKAY et al., 2000; GRANSTROM; SAVILLE, 2000; DUBEY et al., 2001a). No entanto, Mullaney et al. (2005) demonstraram que os cavalos podem ser considerados hospedeiros intermediários naturais da EPM, quando observaram a presença de sarcocistos de *S. neurona* na musculatura e merontes no cérebro de um equino positivo para EPM, que havia sido eutanasiado.

2.1.4 Patogênese

A patogênese da EPM não é inteiramente conhecida, assim como o mecanismo de transporte de merozoítos para o SNC dos cavalos, não foi completamente determinado (MacKAY et al., 2000). Sugere-se, como sendo um possível mecanismo de transporte, que *S. neurona* ultrapasse a BHE dentro de leucócitos. Uma vez no interior dos mesmos, eles não somente atingem o SNC como também escapam da ação dos anticorpos (FURR, 2006; LINDSAY et al., 2006).

As lesões associadas com a EPM estão limitadas aos tecidos que compõem o SNC (BEECH, DODD, 1974; CUSICK et al., 1974; DUBEY et al., 1974). O tronco encefálico é a área do encéfalo mais frequentemente afetada, todavia, a maioria das lesões é encontrada na medula espinhal (DUBEY et al., 2001a). Lesões macroscópicas são comumente visíveis na substância cinzenta da medula espinhal (MacKAY et al., 2000), assim como as lesões características da infecção são facilmente identificáveis através do exame histológico (BEECH; DODD, 1974). São caracterizadas por áreas assimétricas multifocais com

hemorragia e inflamação do tipo não supurativa e áreas de necrose. O processo inflamatório tecidual é extremamente variável apresentando envolvimento de diversos tipos celulares, como por exemplo: linfócitos, neutrófilos, eosinófilos (DUBEY et al., 2001a).

Uma vez no SNC, *S. neurona* invade neurônios e células da glia, onde acontece uma reprodução assexuada adicional, cujo objetivo é a formação de merontes, após essa etapa ocorre à ruptura das estruturas celulares e concomitante liberação de mais merozoítos, onde por sua vez cada um deles pode repetir o mesmo processo merogônico (SIMPSON, MAYHEW, 1980; DUBEY et al., 2001a). Merontes e merozoítos podem ser também localizados, além de neurônios e células da glia, em células mononucleares e talvez em outras células neuronais (MacKAY et al., 2000; DUBEY et al., 2001a).

A infecção associada à reação inflamatória causa alteração na função neurológica normal, podendo ser observados sinais de fraqueza, atrofia muscular e déficits proprioceptivos (BLOOD; RADOSTITS, 2002). A progressão da doença pode ser afetada por diversos fatores, incluindo o número de protozoários (SOFALY et al., 2002), localização e extensão da lesão (DUBEY et al., 2001a), tempo decorrido da infecção até início do tratamento (SAVILLE et al., 2000), bem como fatores estressantes durante a infecção (SAVILLE et al., 2001).

2.1.5 Sinais clínicos

Apesar do grande número de equinos soropositivos, apenas a minoria desenvolve sinais clínicos da doença (COHEN; MacKAY, 1997; MacKAY, 1997).

A evolução dos sinais clínicos varia de aguda a crônica, com aparecimento insidioso de sinais focais ou multifocais de doença neurológica envolvendo o cérebro, tronco encefálico ou medula espinhal (DUBEY et al., 2001a). Os equinos acometidos frequentemente apresentam progressão gradual na gravidade e abrangência dos sinais clínicos, incluindo ataxia. Contudo, em alguns casos, o aparecimento gradual pode dar lugar a uma exacerbação súbita na severidade da doença clínica, resultando em decúbito permanente (MacKAY, 1997; MacKAY et al., 2000; REED, 2008).

Os sinais clínicos variam em função da capacidade do parasito em infectar aleatoriamente as substâncias branca e cinzenta em múltiplos locais no SNC. Os primeiros sinais clínicos da doença são tropeços frequentes e claudicações dos membros torácicos e/ou pélvicos que aparecem de maneira inexplicável e que podem ser facilmente confundidos com claudicação de origem musculoesquelética (REED, 2008).

Diversos segmentos da medula espinhal e/ou do encéfalo podem estar envolvidos simultaneamente, tornando a localização das lesões um desafio (FAYER et al., 1990). De forma geral, ataxia assimétrica (incoordenação) com atrofia muscular focal são os sinais clínicos clássicos da EPM. A assimetria é uma das características da doença, embora déficits simétricos possam ser encontrados em alguns pacientes (DUBEY et al., 2001a).

Os sinais clínicos da enfermidade vão variar em função da área onde se localizam os parasitos. Por exemplo, o envolvimento do cérebro pode causar depressão, alterações comportamentais e convulsões. Lesões no tronco encefálico e na medula espinhal podem causar alterações locomotoras, incoordenação causada pelo envolvimento dos tratos ascendentes e descendentes, e uma variedade de sinais clínicos atribuídos ao dano causado nos núcleos dos nervos cranianos (DIVERS et al., 2000).

Entre os sinais de comprometimento da substância cinzenta pode-se destacar atrofia muscular focal e fraqueza muscular; os danos causados à substância branca frequentemente resultam em ataxia e paresia dos membros. Os sinais característicos de envolvimento do cérebro e tronco encefálico incluem depressão, desvio de cabeça, paralisia facial e dificuldades de deglutição. Entretanto, estes sinais não se limitam apenas a estas áreas. As

anormalidades no padrão da marcha são normalmente resultado de lesões na medula espinhal e variam em gravidade conforme a localização e extensão da lesão tecidual (MacKAY et al., 2000; DUBEY et al., 2001a).

Em raros casos de EPM com envolvimento encefálico, os sinais clínicos podem incluir: ptose labial, palpebral ou da orelha, inclinação da cabeça e atrofia da língua e dos músculos da mastigação, alterações de comportamento, cegueira e convulsões (FURR et al., 2002).

De forma geral, os sinais vitais nos equinos acometidos, se mantêm dentro dos padrões de normalidade e os animais permanecem alerta e responsivos. Apesar de incomum, alguns animais com EPM podem apresentar depressão e também perda de peso.

O exame neurológico normalmente revela ataxia assimétrica, fraqueza e espasticidade envolvendo os quatro membros. Áreas de hiporeflexia, hipoalgesia ou completa perda sensorial estão frequentemente presentes (MacKAY et al., 2000).

2.1.6 Diagnóstico

O diagnóstico clínico da EPM continua sendo uma tarefa desafiadora para os médicos veterinários. Contudo, salienta-se a importância da realização criteriosa do exame clínico neurológico, juntamente com exames diagnósticos complementares associados ao histórico, localização anatômica da lesão, evolução do caso clínico e exclusão de outras enfermidades, o que fornece suporte para progredir em direção a um diagnóstico preciso e definitivo (MacKAY et al., 2000; FURR et al., 2002).

O primeiro teste específico de diagnóstico para EPM por *S. neurona* foi o WB. Esse detecta a presença de anticorpos específicos contra *S. neurona*, tanto no soro sanguíneo quanto no LCR (GRANSTROM, 1995). Foi estimado que a sensibilidade e especificidade deste teste, no soro sanguíneo de cavalos que manifestam sintomatologia clínica neurológica, é de 80% e 38%, respectivamente, enquanto no LCR estima-se que a especificidade seja de 44% (DAFT et al., 2002).

Entretanto, cabe ressaltar que a presença de anticorpos séricos indica apenas exposição do cavalo ao parasito, não indicando enfermidade ativa, ou seja, doença clínica. De maneira contrária ao soro, à presença de anticorpos específicos para *S. neurona* no LCR significa que o parasito ultrapassou a barreira hematoencefálica e é sugestivo de infecção ativa, porém não é definitivo. Além disso, resultados falso-positivos têm sido amplamente descritos (DUBEY et al., 2001a; FURR, 2006).

Diversos mecanismos podem gerar resultados falso-positivos, dentre eles destaca-se a possibilidade de contaminação acidental da amostra de LCR com anticorpos provenientes do sangue do animal a ser testado, caso positivo para o parasito em questão. Deve-se considerar também que qualquer condição do SNC que cause danos à BHE ou que conduza a hemorragia, mesmo em pequenas proporções, pode, também, produzir tal resultado (ANDREWS et al., 1995).

Estas constatações levaram ao desenvolvimento de técnicas para quantificar e determinar se os anticorpos presentes no LCR são devido à contaminação pelo sangue periférico ou se foram produzidos de forma endógena no SNC, como por exemplo, o cálculo do quociente de albumina (QA) cuja função é tentar determinar a integridade da BHE por meio da avaliação da proporção de albumina encontrada no LCR em relação à do soro sanguíneo (ANDREWS et al., 1995). Existem parâmetros normais do QA encontrados no LCR de cavalos, com isso, se a concentração total de albumina no LCR e/ou o QA estão elevados, é sinal de aumento da permeabilidade da BHE ou contaminação sanguínea acidental da amostra (DUBEY et al., 2001a ; FURR et al., 2002; FURR et al., 2011).

Alternativa, simples e de fácil execução é a contagem do número de células vermelhas do sangue presentes na amostra de LCR a ser analisada. Valores maiores do que oito eritrócitos/ μL de LCR são suficientes para gerar resultados falso-positivos (MILLER et al., 1999). Não se recomenda testar amostras líquóricas com mais do que 50 hemácias/ μL . Entretanto, um resultado negativo nesta situação tem valor. Amostras de LCR contendo até 50 hemácias/ μL podem ser analisadas, contudo os resultados devem ser interpretados com cautela (FURR et al., 2002). Ainda, não se pode desprezar a possibilidade do anticorpo sérico circulante atravessar a BHE intacta e saudável conduzindo a presença de anticorpos séricos na amostra de LCR (FURR, 2002).

A reação de imunofluorescência indireta (RIFI), por sua vez, vem sendo utilizada com maior frequência, por ser mais rápida, menos dispendiosa e trabalhosa quando comparada ao WB (DUARTE et al., 2003, 2004). Estima-se que a sensibilidade e especificidade da RIFI na análise do LCR de cavalos naturalmente infectados sejam de 100% e 99%, respectivamente, quando se utiliza cinco como ponto de corte (DUARTE et al., 2006). Além disso, esta técnica tem se mostrado bastante confiável, mesmo quando há contaminação por sangue fazendo com que a concentração de células vermelhas no LCR alcance 10.000 hemácias/ μL (FINNO et al., 2007a).

Outro teste diagnóstico descrito para EPM é o ELISA para detecção de anticorpos específicos para a proteína snSAG-1 de *S. neurona*. Porém, o antígeno de superfície (SAG-1) pode apresentar uma menor sensibilidade quando comparado a outros antígenos de superfície, como o SAG-2, 3 e 4, utilizados no teste. Isso pode ser explicado pelo fato de que o SAG-1 pode estar ausente em certos isolados de *S. neurona* na natureza (HOANE et al., 2005a, JOHNSON et al., 2010).

A técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR) é específica para o DNA do parasito, confirmando a presença de *S. neurona* no SNC. Apesar disso, a sensibilidade da PCR para a EPM é baixa devido ao fato do DNA do parasito poder ser rapidamente destruído pela ação das enzimas presentes no LCR ou pela escassez de DNA no mesmo (MARSH et al., 1996; DUBEY et al., 2001a).

Para o diagnóstico *post-mortem* de cavalos suspeitos de EPM, a histopatologia e a imunohistoquímica (IHQ) podem ser utilizadas. A IHQ permite localizar componentes tissulares ou celulares mediante a utilização de anticorpos específicos o que aumenta a sensibilidade quando comparada com a histopatologia convencional (TORRES et al., 1998).

2.1.7 Diagnósticos diferenciais

A EPM pode ser confundida com outras doenças que causam alterações neurológicas. Portanto, ressalta-se a necessidade da execução de um completo e minucioso exame clínico e neurológico para excluir outras condições e/ou enfermidades neurológicas (FURR et al., 2002).

Uma vez que o exame físico é concluído, a utilização de exames auxiliares torna-se uma importante ferramenta para obtenção de informações adicionais. Rotineiramente, realiza-se coleta do LCR e suas análises, assim como radiografias das vértebras cervicais. No caso do exame radiológico evidenciar compressão cervical, a mielografia deve ser considerada para se fechar diagnóstico (FURR, 2006).

De forma geral, os principais diagnósticos diferenciais da EPM são: a mielopatia estenótica cervical, mieloencefalopatia degenerativa equina, mieloencefalopatia com neurite/vasculite causada pelo Herpesvírus equino do tipo 1 e trauma. Nos casos suspeitos de EPM que apresentam somente déficits de pares de nervos cranianos, deve-se realizar o diagnóstico diferencial de síndrome da cauda equina, doença das bolsas guturais, otite média/interna e outras neuropatias periféricas, como o traumatismo craniano com

comprometimento somente de nervos periféricos. Por outro lado, nos equinos que apresentam sinais cerebrais, déficits dos nervos cranianos e/ou ataxia, deve-se considerar as encefalites virais, bacterianas, leucoencefalomalácea, traumatismo craniano e encefalopatia hepática/urêmica (MacKAY et al., 2000; DUBEY et al., 2001a).

Entre outras afecções que podem apresentar sintomatologia semelhante à EPM pode-se destacar: doença do neurônio motor, neoplasias da coluna vertebral e/ou da medula espinhal, abscessos epidurais, encefalite viral do Nilo Ocidental, malformações vasculares, traumas, abscessos cerebrais, migração de parasitos, epilepsia, linfossarcomas, botulismo, entre outras (MacKAY et al., 2000; DUBEY et al., 2001a).

2.1.8 Tratamento

Posteriormente ao reconhecimento dos sinais clínicos neurológicos e da confirmação laboratorial, o tratamento dos equinos com EPM, deve ser realizado o mais rapidamente possível. O tratamento tem por objetivo, além de eliminar os protozoários, reduzir a quantidade de lesões do SNC, que podem ser permanentes, e no caso de danos demasiadamente severos, talvez seja necessário realizar a eutanásia do animal (DUBEY et al., 2001a; MORLEY et al., 2001). O tratamento, apesar de oneroso, apresenta como vantagens a recuperação de 70% a 75% dos cavalos doentes (DUBEY et al., 2001a; SAVILLE et al., 2000).

Existem diversas opções de tratamentos disponíveis para EPM. O tratamento mais comumente instituído é o uso de inibidores da diidrofolato redutase, como a combinação de pirimetamina (1,0mg/kg, por via oral, uma vez ao dia) com sulfadiazina (20mg/Kg, por via oral, duas vezes ao dia) por um período de 120 dias ou mais, ocorrendo com isso o bloqueio sequencial do metabolismo do ácido fólico nos protozoários. Porém, *S. neurona* já tem mostrado resistência a pirimetamina na ausência de sulfas (FENGER et al., 1997; LINDSAY, DUBEY, 1999; MacKAY et al., 2000; DUBEY et al., 2001a). O tratamento deve ser realizado enquanto o LCR for positivo no WB e/ou os animais estiverem demonstrando sinais clínicos e, descontinuado no caso contrário. Foram observadas algumas complicações como diarreia, anemia e/ou leucopenia, principalmente quando a dose da pirimetamina é duplicada (FENGER et al., 1997; DUBEY et al., 2001a).

Atualmente existem novas drogas disponíveis para o tratamento dessa enfermidade (MacKAY, 2006). Nos equinos que não respondem bem ao tratamento comumente instituído, pode-se utilizar diclazuril (5,6mg/kg, por via oral, uma vez ao dia) ou toltrazuril (10mg/kg por via oral, uma vez ao dia), ambos pertencentes ao grupo benzeno acetonitrila, por um período de no mínimo 28 dias (FENGER et al., 1997; GRANSTROM et al., 1997). O diclazuril é absorvido rapidamente e pode ser encontrado no soro uma hora após o tratamento. O toltrazuril, assim como o diclazuril, é um coccidiostático, sendo amplamente utilizado em várias espécies. Seu mecanismo de ação consiste em desestabilizar o metabolismo do parasito e a sua divisão celular, apresentando alta eficácia para o tratamento de EPM, boa absorção oral, razoável tempo de eliminação (48-72h), boa solubilidade lipídica e boa absorção no LCR (FURR, KENNEDY, 2000; LINDSAY, DUBEY, 2000).

Outro fármaco anticoccídiano utilizado para o tratamento da EPM, que tem se mostrado seguro e com resultados clínicos favoráveis, trata-se do metabólito pnozuril (toltrazuril sulfona) administrado por via oral, uma vez por dia, durante 28 dias. Estudos tanto *in vitro* quanto *in vivo* indicam que o ponazuril é eficaz contra *S. neurona* (LINDSAY et al., 2000; FRANKLIN et al., 2003).

Pode-se utilizar ainda, o nitazoxanide, administrado por via oral, durante 28 dias. Possui amplo espectro de atividade contra bactérias, protozoários e helmintos (LINDSAY et al., 1998; MacKAY et al., 2000), incluindo a flora bacteriana natural do sistema

gastrointestinal do cavalo. Por este motivo, cavalos tratados com esse fármaco devem ser monitorados, pois o nitazoxanide pode provocar efeitos colaterais, como por exemplo, os de origem gastrointestinal (MacKAY et al., 2000; JOHNSON, 2011). A dose sugerida para o início do tratamento é de 25mg/kg/dia durante os sete primeiros dias, aumentando para 50mg/kg/dia, totalizando 30 dias de tratamento (McCLURE, PALMA, 1999; DUBEY et al., 2001a). O nitazoxanide é bem absorvido pelo trato gastrointestinal dos equinos, rapidamente disponibilizado aos tecidos e foi demonstrada sua eficácia em normalizar ou melhorar substancialmente o estado neurológico de cavalos afetados pela EPM (McCLURE; PALMA, 1999; VATISTAS et al., 1999).

Em alguns casos, terapias adicionais são recomendadas para reduzir a inflamação e minimizar os danos causados ao SNC (MacKAY, 1997). A terapia anti-inflamatória é indicada e pode-se fazer uso da fenilbutazona ou flunixin meglumina (1,1mg/Kg, por via intravenosa, duas vezes ao dia) por três a sete dias, assim como a adição de DMSO 1g/kg em 10% de solução (por via intravenosa ou por via oral) (FENGER et al., 1997; MacKAY et al., 2000). O uso excessivo de corticoesteróides em equinos com suspeita de EPM pode agravar o quadro clínico. Entretanto, uma ou duas doses de corticoesteróides podem ser administradas para ajudar a reduzir os efeitos da inflamação em casos onde há rápida progressão da sintomatologia clínica (DUBEY et al., 2001a), associados a medicação antiprotozoária.

A imunossupressão é fundamental para permitir que a infecção subclínica por *S. neurona* evolua para a forma clínica. Visando manter a imunomodulação positiva, estimulantes do sistema imunológico são indicados para cavalos com EPM (MacKAY, 2006).

Recomenda-se como tratamento suplementar a vitamina E, cujo objetivo é prevenir novos danos oxidativos no SNC e promover a cura, o ácido fólico e a tiamina. Todavia, foi demonstrado que além do tratamento suplementar mencionado, a sulfadiazina assim como a pirimetamina, também não são aconselháveis no caso de fêmeas gestantes, devido ao risco de deformidades congênicas e/ou abortamento (FENGER et al., 1997; MacKAY, 1997; DUBEY et al., 2001a; MacKAY, 2006). Em equinos, a administração de ácido fólico apresenta dois problemas em potencial, primeiro que o ácido fólico é pobremente absorvido no trato intestinal e segundo que a conversão do folato para a forma ativa de tetrahydrofolato requer dihydrofolato redutase, que é inibida pelas drogas administradas durante o tratamento (DUBEY et al., 2001a).

Além dos protocolos convencionais utilizados para o tratamento da EPM, a instituição do tratamento fisioterapêutico e da acupuntura, tem mostrado ser benéfico no restabelecimento dos equinos acometidos por esta enfermidade. Uma vez que, se observa um progresso muito mais rápido devido aos estímulos gerados e com isso a uma maior neuroplasticidade, resultando na diminuição do grau de incoordenação desses animais, na recuperação da propriocepção, da função motora normal e no desenvolvimento de músculos atrofiados (STELMANN; AMORIM, 2010).

2.1.9 Prognóstico

O prognóstico de um cavalo diagnosticado com EPM depende da gravidade da sintomatologia clínica neurológica, assim como da resposta ao tratamento instituído (SAVILLE et al., 2000).

Com base nos estudos de eficácia de drogas e na experiência clínica é razoável esperar que aproximadamente 60% dos cavalos, com grau moderado ou gravemente afetado, irão melhorar pelo menos um grau após tratamento. Apenas 10% a 20% dos cavalos irão se recuperar completamente e de 10% a 20% dos cavalos tratados sofrerão pelo menos uma recaída. O prognóstico para os cavalos levemente afetados é consideravelmente melhor, principalmente se o tratamento é iniciado imediatamente. Nestes casos pode-se esperar que,

em média, pelo menos 80% dos cavalos tenham melhora e que 50% deles se recuperem completamente, com baixa possibilidade de recidiva (MacKAY, 2006).

Cavalos tratados anteriormente são mais propensos a se recuperar completamente (SAVILLE et al., 2000). Cavalos tratados são dez vezes mais propensos a melhorar do que os cavalos deixados sem tratamento (MacKAY et al., 2000). Dentro de três anos, após a interrupção do tratamento, estima-se que ocorra uma recaída em 10% dos cavalos (MacKAY, 2008).

2.1.10 Prevenção

A entrada de gambás nas propriedades rurais é inevitável. Porém, deve-se impedir que os mesmos tenham acesso aos alimentos, haja vista que os gambás são onívoros, e água fornecida aos cavalos (SAVILLE et al., 2002). Os grãos fornecidos na alimentação desses animais devem ser conservados em recipientes fechados, não servindo como fonte de alimentação, bem como o feno, que deve ser conservado em local adequado e livre da presença de gambás. Deve-se controlar também a população insetos e aves dentro das baias dos animais (MacKAY et al., 2000; MacKAY, 2003,2006).

Manter a pastagem livre de animais mortos é um método simples e muito vantajoso, pelo fato de ser eficaz na interrupção do ciclo de vida de *S. neurona*. Entretanto, mesmo com todos os cuidados, cabe ressaltar que a pastagem continua exposta a presença de esporocistos de *S. neurona* (SAVILLE et al., 2002).

Uma vacina a partir de merozoítos mortos de *S. neurona* foi produzida e o seu protocolo vacinal constituía-se em duas aplicações com intervalo de 21 dias, seguida por reforços anuais. Como havia poucos dados que comprovavam a eficácia da vacina em prevenir a EPM (MARSH et al., 2004), em 2009 a mesma foi retirada do mercado.

Outra maneira proposta para a prevenção da EPM, seria o uso diário de medicamentos antiprotozoários (DUBEY et al., 2001a; SAVILLE et al., 2002), como o diclazuril e panzuril que são drogas comumente utilizadas no tratamento da doença (DUBEY et al., 2001a; MacKAY, 2003). Entretanto, discute-se a viabilidade do tratamento em relação ao seu custo, assim como não se sabe como a administração terapêutica dessas drogas poderia afetar a resposta imunológica natural do cavalo contra *S. neurona* (MACKAY, 2006). Outra alternativa seria a administração do ponazuril, 20mg/kg a cada sete dias ou durante períodos de estresse, por mostrar resultados significativos na redução de anticorpos para *S. neurona* no LCR de cavalos infectados (FURR et al., 2006; MacKAY, 2008).

2.2 O gênero *Neospora* e a Neosporose em Equinos

2.2.1 Histórico

Dubey e Porterfield (1990) assinalaram a presença de taquizoítos de *N. caninum* no pulmão de um feto equino abortado, através da técnica da IHQ. Trata-se do primeiro relato da infecção por esse agente etiológico na espécie equina. Os achados desse estudo também permitiram demonstrar a ocorrência da transmissão vertical de *N. caninum*, bem como, indicar a sua relação com distúrbios reprodutivos, principalmente o abortamento.

Anos mais tarde, Gray et al. (1996) descreveram a neosporose visceral em uma égua com dez anos de idade que tinha perda de peso e anemia. As lesões foram encontradas nos linfonodos mesentéricos e intestino delgado e somente os estádios de taquizoítos de *N. caninum* foram observados, ao utilizar a técnica de IHQ, na lâmina própria e submucosa do intestino delgado. Provavelmente esse animal estava imunossuprimido facilitando assim o desenvolvimento mais rápido e acentuado da enfermidade, bem como sua manifestação

incomum. A localização das lesões indicava a possibilidade de uma recente infecção por via oral, e com a administração de drogas imunossupressoras como a dexametasona, instituídas na tentativa de se corrigir a perda de peso e anemia de causa desconhecida, tenha contribuído para o desenvolvimento do processo infeccioso. Esse seria o único relatado de neosporose associado à enterite.

No mesmo ano, Daft et al. (1996) diagnosticaram neosporose, após exame necroscópico, em uma égua de 19 anos com histórico de paralisia dos membros posteriores, disfagia e comportamento anormal. Taquizoítos de *N. caninum* foram observados através da IHQ no cérebro, medula espinhal e nervos periféricos. Cistos teciduais contendo bradizoítos foram observados em secções dos nervos periféricos indicando com isso que a infecção não era recente. A égua também apresentava sinais da doença de Cushing que pode ter sido a causa da reativação da infecção latente por este agente etiológico.

O primeiro caso de neosporose equina neonatal, por *N. caninum*, foi descrito em um potro da raça Quarto de Milha. A IHQ revelou cistos teciduais no tálamo, hipotálamo, cérebro e ao redor da musculatura ocular. Lesões também foram observadas no baço, fígado, linfonodos mesentéricos e coração, entretanto, os parasitos não foram encontrados. O potro manifestava sinais neurológicos e distúrbios visuais desde o nascimento e, por isso, a infecção foi considerada por Lindsay et al. (1996) como congênita.

Em 1998, uma nova espécie de *Neospora* foi observada em um equino da raça Quarto de Milha de 11 anos de idade, que tinha incoordenação moderada há meses e, repentinamente, desenvolveu incontinência e severa incoordenação. O animal apresentou positividade no LCR para *S. neurona* pela técnica de WB, porém, ao exame microscópico de tecidos cerebrais e medula espinhal, o parasito identificado era do gênero *Neospora*. Esta nova espécie foi denominada de *N. hughesi*, devido às diferenças estruturais e moleculares em relação à espécie já conhecida, *N. caninum* (MARSH et al., 1998).

Também em 1998, Hamir et al. encontraram taquizoítos de *N. caninum* no cérebro e medula espinhal em um cavalo de 20 anos que apresentava severa ataxia. O cavalo foi positivo no LCR pela técnica de WB para *S. neurona*, mas foi negativo pela técnica da PCR utilizando *primers* ou iniciadores específicos para esse parasito. A microscopia e a IHQ revelaram grandes grupos de taquizoítos de *N. caninum* associados a áreas de inflamação. Situação que deixa dúvida ou a possibilidade de haver lesões associadas a ambos os agentes etiológicos indicados no artigo em questão.

No ano seguinte, Cheadle et al. (1999) ao diagnosticar a neosporose em um cavalo da raça Quarto de Milha de 13 anos de idade, descreveram como sinais clínicos ataxia e fraqueza dos membros posteriores há cinco meses. Ao submeter amostras de LCR desse animal à técnica de WB, observaram que o mesmo era negativo para *S. neurona* e positivo para *Neospora*, sendo assim, identificados mais tarde como *N. hughesi*, com base no perfil do WB e da ausência de reação com o anticorpo monoclonal 6C11 específico para o antígeno SAG1 de *N. caninum*.

2.2.2 Epidemiologia

O diagnóstico em animais infectados por espécies do gênero *Neospora* é a chave para o entendimento da epidemiologia dessa enfermidade (HEMPHILL et al., 2000).

Tem-se observado o aumento de hospedeiros de *N. caninum* na fauna silvestre o que, por sua vez, torna-se um entrave no controle da transmissão deste parasito para os animais domésticos, uma vez que algumas espécies de animais silvestres dividem o mesmo ambiente com os domésticos (GONDIM, 2006; DUBEY et al., 2007). Costa et al. (2008) detectaram *N. caninum* em galinhas, conferindo uma distribuição ainda mais ampla desse coccídeo, assumindo, possivelmente, importância epidemiológica por serem consumidas a nível

mundial por diferentes espécies animais. Cães que ingeriram ovos embrionados de galinha infectados experimentalmente com *N. caninum* eliminaram oocistos nas fezes, indicando com isso a participação dessas aves na transmissão desse agente etiológico, como também abrindo possibilidades para outras espécies de aves assumirem a mesma função (GONDIM, 2006; FURUTA et al., 2007) na cadeia epidemiológica da neosporose. Algumas espécies de animais marinhos também foram reportadas sendo exposta a infecção por *N. caninum* (DUBEY et al., 2003b).

Outras vias, em potencial para infecção de *N. caninum*, devem ser consideradas. Alguns estudos como os de Ortega-Mora et al. (2003) e Serrano-Martinez et al. (2007) têm demonstrado a presença de DNA de *N. caninum* no sêmen de touros da raça Holstein-Friesian sororreagentes para esse agente, assim como, demonstrando que sêmen bovino contaminado experimentalmente com taquizoítos de *N. caninum* induziu infecção nas novilhas e vacas inseminadas. Outro estudo tem apontado à possibilidade da transmissão do parasito através da ingestão do colostro, haja vista que *N. caninum* foi encontrado no leite de vacas sororreagentes (MOSKWA et al., 2007).

As duas espécies conhecidas que compõem o gênero *Neospora*, *N. caninum* e *N. hughesi*, foram identificadas infectando cavalos. Contudo, na maioria dos casos, assinala-se *N. hughesi* como agente etiológico responsável pela doença neurológica em equinos (LINDSAY, 2001). Embora a neosporose causada por *N. caninum* seja considerada uma importante doença que acomete o bovino e cães de todo o mundo, pouco se sabe quanto à patogenicidade e a infecção transplacentárias em equinos (PITEL et al., 2003b).

Nos EUA, Dubey et al. (1999c) ao realizar o primeiro levantamento sorológico para *N. caninum* em equinos destinados ao abate, pelo teste de aglutinação para *Neospora* (NAT) onde foram analisadas 296 amostras de soro sanguíneo. O resultado revelou 23,3% de positividade (69/296) entre os animais amostrados.

No mesmo ano, porém no Alabama, Cheadle et al. (1999) pesquisaram anticorpos contra *Neospora* sp. no soro sanguíneo de 536 equinos submetidos ao exame de anemia infecciosa equina e encontraram um grau de positividade de 11,5% (62/536) nas amostras avaliadas por meio da RIFI.

Vardeleon et al. (2001) analisaram 208 amostras séricas de equinos provenientes de cinco regiões geográficas distintas, a citar: Califórnia, Flórida, Missouri, Montana e Nova Zelândia, utilizando a RIFI e immunoblotting. Dos 208 equinos testados, 36 (17%) foram soropositivos para *N. hughesi* pela RIFI e desses, apenas quatro (11%) tiveram reatividade pelo immunoblotting contra *N. hughesi*. De forma geral, esse estudo aponta que apenas 2% de todos os cavalos testados tiveram anticorpos contra *Neospora* através do immunoblotting utilizado nesse estudo.

No ano de 2003, Dubey et al. (2003a) encontraram 31,1% de soroprevalência a *N. caninum* quando se utilizou o NAT em 276 cavalos selvagens da região central no Wyoming, EUA.

Em 2007 na Califórnia, três casos de EPM associados à *N. hughesi* foram relatados. Dentre eles, um equino da raça Apallosa de 24 anos e um quarto de milha de 16 anos, ambos machos e uma potra de quatro meses da raça Percheron que manifestavam sintomatologia clínica neurológica. Todos foram sororreagentes para *N. hughesi* através da RIFI utilizando-se 640 como título para ponto de corte (FINNO et al., 2007b).

Não havia confirmação de casos de EPM causadas pelas espécies de *Neospora* fora dos EUA. Contudo, foi diagnosticado EPM por *N. hughesi* em um cavalo canadense de dez anos de idade que apresentava entre outros sinais clínicos, ataxia como manifestação neurológica. As técnicas empregadas para o diagnóstico foram a IHQ e a PCR (WOBESER et al., 2009).

Em 2010 deu entrada na Universidade da Califórnia em Davis, nos EUA uma mula de 23 anos de idade com histórico de anormalidade ocular e posteriormente apresentação de manifestação neurológica caracterizada por paralisia do nervo facial direito, extensa área de atrofia muscular simétrica na região dos glúteos e ataxia assimétrica dos membros pélvicos. Após realização do exame neurológico foi determinada a localização neuroanatômica da lesão com o envolvimento multifocal do tronco encefálico. Foram realizados testes da RIFI em amostras séricas e líquóricas, determinando-se a presença de anticorpos contra *N. hughesi* em ambas as amostras. Trata-se assim do primeiro caso de EPM por *N. hughesi* associado ao estrabismo, defeitos óculo-motores e enoftalmia em equídeos. Esse estudo ressaltou a possibilidade de doença concomitante com a EPM associada a *N. hughesi* e a doença do neurônio motor em equinos, demonstrando anormalidades dos nervos cranianos, que se pronuncia com atrofia muscular simétrica, anormalidades assimétricas da marcha e retinopatia pigmentar (FINNO et al., 2010).

Yeargan et al. (2013) realizaram um estudo para avaliar a exposição de cavalos do estado de Durango, México para *N. hughesi*. Para isso, foi produzida proteína recombinante de *N. hughesi* (rNhSAG1) para utilização no ELISA. Anticorpos contra o parasito foram detectados em uma pequena proporção desses cavalos. Apenas 15 (3,0%) dos 495 equinos testados mostraram-se positivos com a técnica utilizada.

Na América do Sul, *N. hughesi* ainda não foi isolada e, na maioria dos estudos de soroprevalência e de diagnóstico sorológico, taquizoítos de *N. caninum* são utilizados como antígenos, não sendo possível, portanto, a diferenciação das espécies de *Neospora* que estão infectando os equinos, devido à existência de reação cruzada entre as duas espécies (DUBEY et al., 1999a,b; PATITUCCI et al., 2004).

Dubey et al. (1999b) ao avaliar a prevalência de anticorpos contra *N. caninum* no soro sanguíneo de 76 equinos na Argentina, obtiveram 0% (0/76) de positividade pelo NAT. No Chile, apesar de não haver evidências de infecção em equinos por *Neospora*, uma alta frequência de anticorpos anti-*N. caninum* (47/145 – 32%) foi observada por Patittuci et al. (2004) ao submeterem o soro sanguíneo de 145 equinos ao NAT.

A verdadeira prevalência da infecção por *Neospora* spp. em cavalos no Brasil é desconhecida, porém, estudos sorológicos tem sido realizados mais frequentemente. Em 1999, Dubey et al. (1999a) pesquisaram anticorpos contra *N. caninum* no soro sanguíneo de 101 cavalos oriundos de um centro de treinamento no Rio de Janeiro, do Jockey Club de São Paulo e de um haras no Rio Grande do Sul. Nenhum dos equinos submetidos ao estudo foi reagente pelo NAT (0/101 – 0%). Apesar disso, a prevalência de *Neospora* sp. observada em éguas e potros pré-colostrais no estado do Paraná foi de 30% a 47% e 22,2%, respectivamente, através da RIFI (LOCATELLI-DITTRICH et al., 2006a).

Em outro estudo realizado com equinos oriundos de diversos estados brasileiros, dentre eles: São Paulo, Minas Gerais, Santa Catarina, Rio Grande do Sul, Paraná, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás, Rondônia e Bahia, sob diferentes condições de manejo, foi verificada a presença de anticorpos anti-NhSAG1 de *N. hughesi* em 2,5% (24/961) das amostras analisadas por meio do ensaio imunoenzimático (ELISA) (HOANE et al., 2006).

Um estudo sobre a associação entre a presença de soro contra *Neospora* spp. e perda fetal foi realizado utilizando a técnica da RIFI, em 1106 equinos oriundos de diferentes municípios do estado de São Paulo. A frequência de anticorpos contra *Neospora* spp. em todos os cavalos foi de 10,3% de soropositividade (114/1106). Neste estudo foram utilizados dois grupos, sendo um deles com éguas que apresentavam histórico de distúrbios reprodutivos, assim como de machos que apresentavam contato direto com éguas que apresentavam sinais de doença reprodutiva e o outro com animais declarados sadios. Entre os animais que pertenciam ao primeiro grupo mencionado, 15,4% (77/500) foram reagentes, enquanto 6,1% (37/606) dos equinos que pertenciam ao grupo dos animais sadios mostraram-

se positivos pela mesma técnica. Esse estudo sugere fortemente a associação entre a infecção por *Neospora* spp. e distúrbios reprodutivos nessa espécie (VILLALOBOS et al., 2006).

Da mesma forma, Toscan et al. (2010) avaliaram a ocorrência da infecção por *Neospora* spp. em uma população de 116 éguas da raça Crioula em idade reprodutiva, independente de histórico de problemas reprodutivos ou neurológicos, com o objetivo de demonstrar a associação entre o *status* sorológico desses animais com os de suas crias. Para isso, foram coletadas amostras sanguíneas dos potros de éguas sabidamente positivas para *Neospora* e de outras sorologicamente negativas, totalizando 24 amostras. A técnica empregada foi a RIFI. Como resultado, encontrou-se 13,8% (16/116) de soropositividade entre as éguas em idade reprodutiva do haras. Foi observado um resultado altamente positivo entre o *status* sorológico das éguas e os de suas crias, encontrando-se um percentual de soropositividade de 8,3% (1/12) nos descendentes das éguas soronegativas e de 66,7% (8/12) nos potros de éguas sabidamente soropositivas. Estes dados revelam que as crias de éguas soropositivas apresentam maior índice de soropositividade em relação às crias de éguas soronegativas, provavelmente pela ocorrência da infecção transplacentária.

Stelmann et al. (2011a) utilizando 26 amostras de soro sanguíneo e de LCR de equinos com histórico de ataxia, pertencentes ao estado de São Paulo, verificaram através da RIFI um percentual de soroprevalência de 57,6% (15/26) para *Neospora* spp., enquanto nas amostras líquóricas não houve positividade.

Toscan et al. (2011) utilizaram 214 amostras de soro sanguíneo, dos quais 91 animais eram cavalos de carroça e 123 cavalos da raça Crioula, todos os animais eram provenientes da região central do Rio Grande do Sul. Foram encontradas, através da RIFI, frequências de anticorpos contra *Neospora* spp. de 15,9% (34/214) na população total de equinos testados, 15,4% (14/91) nos cavalos carroceiros e de 16,3% (20/123) nos cavalos da raça Crioula. Por meio dos resultados encontrados, este estudo sugere que a infecção pelas espécies do gênero *Neospora* está presente igualmente em todas as populações de cavalos estudadas.

Também no Rio Grande do Sul, em especial no município de Santa Maria, Sangioni et al. (2011) encontraram 15,4% (14/91) de soropositividade contra *Neospora* spp., adotando-se a RIFI para análise das amostras de soro sanguíneo dos equinos de tração que participaram do estudo.

Com o objetivo de estabelecer a melhor diluição do soro sanguíneo para ser utilizado na RIFI para avaliação da frequência de anticorpos contra *Neospora* spp. em amostras de potros desprovidos de colostro, foram utilizadas amostras de sangue de 203 neonatos oriundos de Bagé- RS. As amostras foram testadas em diferentes diluições, 1:16 e 1:50. Das 203 amostras, 25,1% (51/203) foram positivas quando a diluição era 1:16 e 9,9% (20/203) quando era 1:50. Este estudo mostra que em potros pré-colostrais a melhor diluição a ser testada é a 1:16, pois apresenta maior sensibilidade com a técnica empregada, reduzindo assim a frequência de falso-negativos (PIVOTO et al., 2012).

Em um estudo mais recente utilizando cavalos carroceiros da região metropolitana de Curitiba- PR demonstrou através da RIFI que dos 97 equinos testados, 14,4% (14/97) eram positivos para *Neospora* sp. Este estudo aponta que cavalos carroceiros são mais susceptíveis a exposição de fezes de cão contendo oocistos de *Neospora* sp. em ambientes urbanos e que uma menor ocorrência da enfermidade em cães nessas áreas pode ter um impacto negativo sobre o risco de infecção nesses cavalos (VILLALOBOS et al., 2012).

De forma geral, os trabalhos de soroprevalência indicam que os equinos das Américas do Norte e do Sul são pouco infectados pelas espécies do gênero *Neospora* (HOANE et al., 2005b, 2006). Sendo assim, mais informações são necessárias para se esclarecer o papel de ambas as espécies de *Neospora* na epidemiologia dessa infecção em equinos (LOCATELLI-DITTRICH et al., 2006b).

Na América Central, em especial na Costa Rica, em um estudo realizado por Dangoudoubiyam et al. (2011), amostras de soro sanguíneo de 315 equinos foram analisadas com o objetivo de verificar a presença de anticorpos contra *Neospora* spp. utilizando antígeno de superfície NhSAG1 através do ELISA. Os anticorpos foram encontrados em apenas 3,5% dos 315 cavalos examinados.

Fora do continente americano, estudos demonstraram a presença de anticorpos anti-*Neospora* em equinos da Arábia Saudita, Suécia, Coréia do Sul, Turquia, Israel, República Checa, Itália, Irã e França encontrando 10%, 1%, 2%, 9,3%, 11,9%, 24%, 28%, 30 a 32%, 50% e 23% de soroprevalência, respectivamente (PITEL et al., 2001; GUPTA et al., 2002; CIARAMELLA et al., 2004; JAKUBEK et al., 2006; KIGLER et al., 2007; KILBAS et al., 2008; BARTOVÁ et al., 2010; HOSSEINI et al., 2011; MORAVEJI et al., 2011; ABDULLAH, ALYOUSIF MOHAMED, 2013).

2.2.3 Particularidades moleculares das espécies de *Neospora*

Como as duas espécies do gênero *Neospora* compartilham os mesmos antígenos de superfície (MARSH et al., 1996; BJÖRKMAN, UGGLA, 1999; VARDELEON et al., 2001), os testes sorológicos tradicionalmente empregados, como o ensaio ELISA, a RIFI e a soroaglutinação, não são capazes de diferenciar *N. caninum* de *N. hughesi* (WALSH et al., 2000), sendo comum a ocorrência de reação cruzada entre essas espécies durante a aplicação destes testes (WALSH et al., 2000; PACKHAM et al., 2002). Contudo, a amplificação dos genes das proteínas exclusivas de *Neospora* GRA6 e GRA7 (proteínas granulares liberadas após a infecção e ruptura da célula hospedeira) das espécies *N. caninum* e *N. hughesi* forneceu ferramentas para o desenvolvimento de anticorpos capazes de diferenciar estas duas espécies (WALSH et al. 2001).

De acordo com estudos moleculares realizados com a espécie *N. hughesi*, não existem diferenças entre as sequências do gene da pequena subunidade ribossomal do RNA de *N. hughesi* e *N. caninum*. Entretanto, ao comparar a região ITS-1 (primeiro espaço transcrito interno) do DNA desses coccídios foi observada diferença entre a sequência dos nucleotídeos de *N. hughesi* e *N. caninum*, revelando 98% de similaridade entre as espécies (MARSH et al., 1998).

Os antígenos de superfície SAG1 e SRS2 dos taquizoítos das espécies de *Neospora* são imunodominantes. Estudos revelaram que 94% da sequência de aminoácidos que compõem o SAG1 na espécie *N. hughesi* é idêntica à sequência apresentada pelo SAG1 da espécie *N. caninum*, enquanto 91% da sequência de aminoácidos que compõem o SRS2 na espécie *N. hughesi* é idêntica à sequência apresentada pelo SRS2 da espécie *N. caninum* (MARSH et al., 1999).

2.2.4 Desenvolvimento biológico das espécies do gênero *Neospora*

2.2.4.1 *Neospora caninum*

Durante o seu ciclo de vida, *N. caninum* assume a forma das seguintes fases evolutivas: taquizoítos, cistos contendo bradizoítos e oocistos contendo esporozoítos (McALLISTER et al., 1998).

Foram comprovados, como hospedeiros intermediários desta espécie: cão, bovino, ovino, raposa, guaxinin, antílope, equino, búfalo, cervídeos, lhama, alpaca, rato marrom, camundongo, rinoceronte, cabra e urso pardo (WOODS et al., 1994; DUBEY et al., 1996a,b; KOYAMA et al., 2001; PETERS et al., 2001a; GONDIM et al., 2001; ALMERÍA et al., 2002; WILLIAMS et al., 2002; LOCATELLI-DITTRICH et al., 2003, 2004; HUANG et al.,

2004; RODRIGUES et al., 2004; DUBEY et al., 2004; SERRANO-MARTÍNEZ et al., 2004; SOLDATI et al., 2004; LEMBERGER et al., 2005; VIANNA et al., 2005; HUGHES et al., 2006; COBÁDIOVÁ et al., 2013).

Os hospedeiros definitivos reconhecidos são: cão, coiote, dingo australiano e lobo cinzento (McALLISTER et al., 1998; BASSO et al., 2001; GONDIM et al., 2004, KING et al., 2010, DUBEY et al., 2011).

Quando o seu núcleo está em posição central ou terminal, os taquizoítos apresentam formato ovóide, redondo ou em meia-lua. Logo após o contato com a célula hospedeira, os taquizoítos penetram ativamente na célula, tornam-se intracelulares e ficam alojados no vacúolo parasitóforo ou no citoplasma celular. Sua multiplicação ocorre rapidamente por endodiogenia (DUBEY, LINDSAY, 1996).

Os bradizoítos representam a fase de multiplicação lenta e encontram-se em grande número dentro de cistos teciduais (ANDREOTTI et al., 2003). Pensa-se que os taquizoítos penetram nas células e se diferenciam em bradizoítos, provavelmente devido a uma alta na imunidade e outros fatores fisiológicos, podendo, posteriormente, formar cistos teciduais. Estes cistos podem permanecer no hospedeiro por vários anos sem causar qualquer manifestação clínica (DAFT et al., 1996; LINDSAY et al., 1996; PETERS et al., 2001b).

Ao ingerirem os cistos de *N. caninum* os hospedeiros definitivos eliminam nas fezes oocistos não esporulados apresentando um esporonte ou esporoblasto central. Estes oocistos não são infectantes. Somente no meio ambiente ocorre à esporulação, quando são formados dois esporocistos, com quatro esporozoítos em cada um (McALLISTER et al., 1998; LINDSAY et al., 1999; SCHARES et al., 2001; DUBEY et al., 2002).

Mesmo conhecendo seu hospedeiro definitivo, ainda não está claro como os equinos se infectam com *N. caninum* (MARSH et al., 1998; McALLISTER et al., 1998; GONDIM et al., 2004; HOANE et al., 2006).

De forma geral, a agressão celular e a ocorrência da doença dependem, necessariamente, da capacidade de penetração e multiplicação dos taquizoítos nas células hospedeiras, assim como a inibição da sua multiplicação depende do *status* imune do hospedeiro (BUXTON et al., 2002).

2.2.4.2 *Neospora hughesi*

Ao contrário de *N. caninum*, informações a respeito da biologia do *N. hughesi* são extremamente escassas. Sabidamente, *N. hughesi* assume apenas a forma das seguintes fases evolutivas: taquizoítos e os cistos teciduais contendo os bradizoítos (DUBEY et al., 2001c).

A semelhança de *N. caninum*, os taquizoítos também são a forma infectante, penetrando ativamente na célula do hospedeiro vertebrado, onde se multiplicam por endodiogenia. Os taquizoítos de *N. hughesi* também podem se diferenciar em bradizoítos que, por sua vez, podem formar cistos teciduais (DUBEY et al., 2001c; PETERS et al., 2001b).

Estudos realizados anteriormente não conseguiram comprovar a presença de oocistos de *N. hughesi* nas fezes de cães que ingeriram tecidos infectados de camundongos (WALSH et al., 2000), não havendo certeza quanto ao hospedeiro intermediário, além de equinos, para esta espécie de *Neospora* (HOANE et al. 2006). O hospedeiro definitivo para *N. hughesi* também não foi identificado, portanto, permanece incerta a forma de exposição dos cavalos a este coccídeo (DUBEY, 2003; HOANE et al., 2006). Acredita-se que a infecção nos cavalos ocorra através da ingestão de oocistos esporulados presentes as fezes do hospedeiro definitivo. O período de incubação da doença através da ingestão de oocistos de *N. hughesi* não foi estabelecido (WOBESER et al.; 2009).

Além dos cavalos, não há relatos de doenças clínicas causadas por *N. hughesi* em outras espécies animais (DUBEY, 2003).

2.2.5 Vias de infecção e patogênese das espécies do gênero *Neospora*

Os mecanismos de infecção de *N. caninum* são a transmissão congênita ou via transplacentária (vertical) e a infecção pós-natal (horizontal) (McALLISTER et al., 1998; DIJKSTRA et al., 2001), ambas já relatadas na espécie equina (ANDERSON et al., 2000; LOCATELLI-DITTRICH, 2002).

A transmissão horizontal de *N. caninum* para os hospedeiros intermediários ocorre após a ingestão de oocistos esporulados presentes no ambiente, enquanto que a transmissão vertical se dá pela invasão do parasito nas células uterinas. A reativação de uma infecção latente é possível e pode originar taquizoítos (ANDREOTTI et al., 2003).

A infecção congênita por *N. caninum* já foi assinalada em fetos de equinos e em um potro com um mês de idade com cegueira congênita (DUBEY, PORTERFIELD, 1990; LINDSAY et al., 1996; PRONOST et al., 1999; PITEL et al., 2003b). Anticorpos anti-*N. caninum* foram encontrados em amostras séricas pré-colostrais de potros clinicamente saudáveis, indicando que o parasito foi transmitido verticalmente (LOCATELLI-DITTRICH, et al., 2006a). Da mesma forma, Pusterla et al. (2011) evidenciaram a transmissão endógena, via transplacentária, de *N. hughesi*. Haja vista que a placenta das éguas é do tipo epitélio corial difusa, não permitindo a transferência de imunoglobulinas (Ig) maternas ao feto (LeBLANC, 1990). Desta forma, a presença de IgG no soro de potros recém-nascidos, antes da ingestão do colostro, é indicativa da exposição intra-uterina ao antígeno após o 180º dia de gestação (COOK et al., 2001).

Para sobreviver, proliferar e completar seu ciclo de vida, *N. caninum* deve penetrar numa célula hospedeira viável, pois, assim como outros parasitos do filo Apicomplexa, *N. caninum* é um protozoário intracelular obrigatório. A invasão da célula hospedeira compreende dois eventos distintos: adesão à superfície celular e o processo de entrada na célula (HEMPHIL, GOTTSTEIN, 1996).

Taquizoítos de *N. caninum* têm sido encontrados numa variedade de tecidos e tipos celulares de animais infectados, não apresentando predileção por nenhum tipo celular específico. Podem infectar células nervosas, macrófagos, fibroblastos, células endoteliais, miócitos, células epiteliais dos túbulos renais e hepatócitos (HEMPHILL et al., 1999; ANDREOTTI et al., 2003). Estudos em equinos acometidos por neosporose assinalaram a presença de taquizoítos de *N. caninum* no intestino delgado, cérebro, cordão espinhal, nervos periféricos de fetos abortados (DUBEY, PORTERFIELD, 1990; DAFT et al., 1996; GRAY et al., 1996; LINDSAY et al., 1996; MARSH et al., 1996).

Dubey et al. (2001c) observaram taquizoítos de *N. hughesi* nas células musculares cardíacas, cérebro, medula espinhal, macrófagos, eosinófilos, neutrófilos, e, ocasionalmente, linfócitos. Não foram observados em fibroblastos, células musculares, células endoteliais e lúmen de vasos sanguíneos.

Cistos teciduais de *N. hughesi* foram encontrados no SNC e retina. Ocasionalmente, podem ser observados também nos nervos periféricos e músculo ocular de cavalos. Um potro infectado congenitamente apresentou cistos teciduais de *N. caninum* no tálamo e hipotálamo (LINDSAY et al., 1996).

Oocistos de *N. caninum* não esporulados recém-eliminados das fezes do hospedeiro definitivo contém um esporonte ou esporoblasto central e não são infectantes, esporulando no ambiente e tornando-se aptos à infecção em até 24 horas após a sua eliminação no meio ambiente (LINDSAY et al., 1999). Os oocistos de *N. hughesi* ainda não foram isolados (DUBEY et al., 2001c).

2.2.6 Sinais clínicos

Os sinais clínicos de neosporose em equinos são cegueira, paralisia dos membros pélvicos, comportamento bizarro, dificuldade de mastigação, incoordenação, ataxia, doenças viscerais, doença neonatal, abortamento e perda de peso (DAFT et al., 1996; WALSH et al., 2000).

Existem relatos que indicam que *N. caninum* pode estar relacionado à mieloencefalite em equinos, sendo incerto até o momento se é causa frequente ou rara de EPM. Contudo, *N. caninum* é frequentemente associado a distúrbios reprodutivos (HAMIR et al., 1998). *Neospora hughesi*, por outro lado, é comumente associado a distúrbios neurológicos e não a problemas de esfera reprodutiva (LINDSAY, 2001). Nos equinos infectados com *N. hughesi* os sinais clínicos observados são ataxia dos membros pélvicos e, ocasionalmente, dos quatro membros, além de dificuldade de deambulação acentuada quando o animal caminha com a cabeça ereta ou em círculos (CHEADLE et al., 1999).

Não existem estudos que avaliem a possibilidade de cavalos soropositivos para espécies do gênero *Neospora* e clinicamente sadios, desenvolverem a doença. Dentro deste contexto, a possibilidade de uma infecção subclínica por *Neospora*, também deve ser considerada (LOCATELLI-DITTRICH et al., 2006b).

2.2.7 Diagnóstico

Para o correto diagnóstico da neosporose equina deve-se considerar a infecção por *N. caninum* e *N. hughesi*. Como na maioria dos relatos de isolamento do agente etiológico em casos de neosporose em equinos *N. hughesi* tem sido o parasito identificado, sugere-se que a doença é predominantemente causada por esta espécie (JAKUBEK et al., 2006).

Devido às estreitas similaridades morfológicas entre as espécies apicomplexas causadoras dessa enfermidade, faz-se necessário a utilização de provas confirmatórias para obtenção de um diagnóstico preciso e definitivo, tais como IHQ e a PCR (WOBESER et al., 2009).

Em geral, o diagnóstico da neosporose é baseado em testes parasitológicos e sorológicos. Os métodos parasitológicos incluem o exame histopatológico, IHQ, o isolamento do agente *in vitro* e/ou *in vivo* e a detecção do parasito pela técnica da PCR. A confirmação laboratorial de neosporose deve ser realizada, preferencialmente, pelo diagnóstico parasitológico, com a detecção do agente etiológico nos tecidos pelos exames histopatológico e IHQ, ou mesmo, pelo isolamento de fases do parasito mediante a inoculação de material suspeito em cultivo celular ou animais de laboratório susceptíveis. (HEMPHILL et al., 2000; PETERS et al., 2001b).

O diagnóstico sorológico se baseia na pesquisa de anticorpos específicos contra antígenos de superfície dos taquizoítos de *Neospora*. (HEMPHILL et al., 2000; PETERS et al., 2001b). A infecção por *Neospora* induz a produção de anticorpos, porém, não é possível determinar, com base nesses exames, o início da infecção (McALLISTER et al., 2000). A presença de anticorpos indica apenas a exposição ao parasito ou a presença de antígenos de outro agente passível de reação cruzada. No entanto, não é possível atestar a presença de uma infecção ativa (VARDELEON et al., 2001).

Estudos têm sido desenvolvidos para identificação e caracterização dos componentes moleculares antigênicos específicos de *N. caninum*, com o objetivo de melhorar o diagnóstico sorológico e aumentar os conhecimentos relacionados com a biologia celular dos parasitos e sua interação com o hospedeiro (HEMPHILL et al., 1999). A RIFI, a soroaglutinação direta, o ELISA e o WB, constituem os testes sorológicos mais utilizados (HEMPHILL et al., 2000; PETERS et al., 2001b; HOANE et al., 2006).

O primeiro método sorológico aplicado em animais para o diagnóstico de *N. caninum* foi a RIFI, considerado método de referência (padrão ouro) (HEMPHILL et al., 2000). Esta técnica é altamente sensível e capaz de identificar todas as amostras reagentes (VARDELEON et al., 2001). A RIFI utiliza proteínas de superfície dos taquizoítos de *N. caninum* ou *N. hughesi* como antígenos, sendo considerados positivos títulos séricos de 50 e 640 respectivamente (McDOLE, GAY, 2002; PACKHAN et al., 2002). Na detecção de anticorpos anti-*N. hughesi* no LCR sugere-se cinco como ponto de corte (PACKHAN et al., 2002). Na avaliação líquórica, esta técnica tem se mostrado um teste bastante confiável mesmo quando a concentração de células vermelhas está acima de 10.000/ μL em títulos ≤ 320 (FINNO et al., 2007a). Cabe ressaltar ainda, que nenhuma reação cruzada entre os títulos de anticorpos para *S. neurona* e *N. hughesi* ocorrerá por meio dessa técnica. Contudo essa afirmação não se valida entre as espécies de *Neospora* (PACKHAN et al., 2002).

Quanto se compara a RIFI com ELISA, observa-se uma especificidade ligeiramente superior, apesar de menor sensibilidade (PACKHAM et al., 1998). Contudo, devido à alta sensibilidade e especificidade exibida pelo ELISA, quando se utiliza antígenos de superfície recombinantes de *N. hughesi* (rNhSAG1) para detecção de anticorpos para essa mesma espécie de *Neospora*, sugere-se que essa prova sorológica seja utilizada no diagnóstico dessa infecção em cavalos devido ao seu elevado potencial para detecção de anticorpos contra *N. hughesi* (HOANE et al., 2005b).

O método WB, por sua vez, identifica reações antígeno-anticorpo direcionadas a proteínas específicas para cada espécie de *Neospora*, sendo amplamente utilizado como teste confirmatório para ambas as espécies de *Neospora* em muitas espécies animais. É um teste altamente sensível e específico (89%) (DUBEY et al., 2001a; VARDELEON et al., 2001; HOANE et al., 2006; JAKUBEK et al., 2006). Dos animais soropositivos para *Neospora* pelo método da RIFI, nem todos irão reagir com o antígeno de *N. hughesi* pela técnica de WB. É importante ressaltar ainda que, em testes sorológicos, anticorpos contra *N. hughesi* apresentam reação cruzada com *N. caninum* e vice-versa (MARSH et al., 1996). Logo, existem limitações no diagnóstico que devem ser consideradas durante a realização de estudos epidemiológicos e de soroprevalência para *Neospora* na população equina (GUPTA et al., 2002).

As principais desvantagens da aplicação dos testes sorológicos são as diferentes metodologias, titulações e critérios de interpretação dos resultados entre os diferentes laboratórios. Outra limitação é a flutuação dos níveis de anticorpos durante a vida do animal, principalmente devido à característica de recrudescência da infecção (LOCATELLI-DITTRICH, 2002).

Nos equinos com EPM causada por *N. hughesi*, o diagnóstico pode ser confirmado pelo isolamento *in vitro* e caracterização molecular (região ITS1) do parasito, que difere geneticamente do *N. caninum* (MARSH et al., 1996; HAMIR et al., 1998).

Estudos envolvendo o diagnóstico e diferenciação de *N. caninum* e *N. hughesi* são necessários para se conhecer as consequências da infecção por estes parasitos e avaliar o real impacto na saúde dos animais, fornecendo subsídios para a descoberta de novas ferramentas terapêuticas e de controle das doenças neurológicas e neonatais.

A ocorrência de abortamentos e mortalidade neonatal em equinos é frequente, com diagnóstico, muitas das vezes, inconclusivo. Na maioria dos casos, a ocorrência de traumas, desequilíbrios hormonais, agentes virais e bacterianos são considerados no momento da realização do diagnóstico, sem a inclusão, entretanto, destes protozoários. Pode-se dizer o mesmo para as doenças neurológicas nesta espécie.

Informações a respeito das consequências da infecção tanto por *N. caninum* quanto por *N. hughesi* em equinos ainda são limitadas. Possíveis explicações incluem a não inserção

desses agentes no diagnóstico e/ou menor infecção por estes parasitos em cavalos (LOCATELLI-DITTRICH et al., 2006b).

2.2.8 Tratamento

Estratégias eficazes para o controle e tratamento da neosporose em equinos não foram desenvolvidas. Várias drogas como decoquinato, depudecina, toltrazuril, ponazuril, artemisinina e os extratos de ervas medicinais têm sido utilizados *in vitro* (cultivo celular) e *in vivo* (camundongos) para o tratamento da neosporose. Entretanto, não há comprovação da eficácia terapêutica desses compostos (KWON et al., 2003). Ainda assim, equinos acometidos pela doença são tratados empiricamente com ponazuril (5 mg / kg, a cada 24 horas, durante 30 dias) e outras drogas antiprotozoários comumente utilizadas para o tratamento da EPM por *S. neurona*. Da mesma maneira que nos casos de EPM por *S. neurona* pode ser necessária a utilização de anti-inflamatórios não esteroides e esteroides durante o tratamento (FINNO et al., 2007b).

2.2.9 Prevenção

Os aspectos relacionados aos fatores de risco à neosporose equina precisam ser elucidados (LOCATELLI-DITTRICH et al., 2006b). De forma geral, a idade tem sido um fator importante a ser considerado no desenvolvimento da neosporose em equinos. Equinos mais velhos tem maior chance de desenvolver a enfermidade, haja vista que na maioria dos relatos dessa doença os animais apresentam 10 anos ou mais (GRAY et al., 1996; MARSH et al., 1996; HEADLE et al., 1999; FINNO et al., 2007b).

Outro aspecto a ser considerado e de fundamental importância para o controle da neosporose, é o conhecimento das vias de infecção, assim como, do desenvolvimento biológico dos parasitos que compõe o gênero *Neospora*, a utilização de ferramentas diagnósticas eficientes para detecção de animais infectados, bem como o uso de uma vacina eficiente na prevenção da infecção, abortamento ou até mesmo no bloqueio da eliminação de oocistos pelos hospedeiros definitivos (DUBEY et al., 2007). Entretanto, as vacinas desenvolvidas contra neosporose em outra espécie animal não conferiram eficiente imunidade contra abortamento (ROMERO et al., 2004 ; INNES et al., 2007).

No Brasil a ocorrência de doenças neurológicas na espécie equina é comum. Entretanto, a neosporose ainda não é incluída no diagnóstico (PACKHAM et al., 2002), principalmente, devido ao desconhecimento das espécies do gênero *Neospora* como agentes causadores de sintomatologia neurológica.

A carência de informações impede a determinação da relevância desses agentes etiológicos em nosso meio, bem como na definição se as duas espécies de *Neospora* são também responsáveis por causar ou não EPM.

2.3 *Toxoplasma gondii* e Toxoplasmose Equina

2.3.1 Histórico

Em 1908, Nicolle e Manceaux relataram a presença de um parasito em tecidos de um roedor que estava sendo utilizado para pesquisa de leishmaniose, no laboratório de Charles Nicolle no Instituto Pasteur em Tunis, na Tunísia, chamado *Ctenodactylus gundi*. Inicialmente, Nicolle suspeitou tratar-se de uma forma particular de *Leishmania* denominando-a *Leishmania gondii*. Entretanto, logo constataram que era um novo organismo, sendo a espécie denominada, baseado em sua morfologia e hospedeiro, de *T. gondii* (Nicolle e

Manceaux, 1908). Ao mesmo tempo, no Brasil, o mesmo parasito foi assinalado por Splendore (1908) em um coelho, sendo também equivocadamente identificado como *Leishmania cuniculi*.

McDonald et al. (1969/70) relataram clinicamente um caso de um equino que apresentava ataxia, incoordenação motora e cegueira. Após realização de Sabin-Feldman *dye test* (SFDT), o resultado encontrado foi positivo para *T. gondii*.

Quatro anos depois, Cusick et al. (1974) descreveu a toxoplasmose em dois cavalos que apresentavam sintomatologia clínica neurológica caracterizada por ataxia e incoordenação dos membros posteriores e após exame histopatológico revelaram a presença de *T. gondii* no tecido nervoso. No mesmo ano, Dubey (1974) descreveu o quadro clínico de quatro equinos, suspeitos de toxoplasmose, que manifestavam principalmente incoordenação motora dos membros posteriores, andar em círculo dentro da baia e cabeça inclinada para um dos lados. Ao exame histopatológico, foi verificada a presença de um protozoário semelhante a *T. gondii*.

A partir da observação de casos clínicos ocorridos no estado de São Paulo, em cavalos da raça PSI que manifestavam sintomatologia clínica neurológica, caracterizada por incoordenação motora, algumas vezes, associada ao andar em círculo no interior da baia, abortamento, assim como irritabilidade excessiva, onde Macruz et al. (1975) suspeitaram de toxoplasmose, uma vez que outras possíveis causas na época tinham sido eliminadas. Com base nesses casos, esses mesmos autores resolveram realizar um inquérito sorológico naqueles animais clinicamente acometidos, para verificação de uma possível alteração nos níveis séricos de anticorpos contra *T. gondii*, como também para averiguar se esse protozoário foi introduzido recentemente ou não, nessa população de PSI. Os equinos que participaram do estudo foram divididos em quatro diferentes grupos, sendo o primeiro constituído por 24 equinos, dos quais, dois deles manifestavam incoordenação motora dos membros anteriores e 22 dos membros posteriores, associados diretamente ao movimento de andar em círculos. O segundo grupo era constituído por 23 éguas com histórico de pelo menos um abortamento. O terceiro grupo possuía cinco cavalos que tinham irritabilidade excessiva e, por fim, o quarto grupo se compunha de 25 animais clinicamente sadios, entre eles éguas sem histórico de abortamento. A técnica empregada para detecção de anticorpos séricos contra *T. gondii* foi o SFDT. Como resultado, foi constatado que todos os animais com sintomatologia clínica, ou seja, dos grupos um, dois e três, foram positivos, enquanto que apenas um cavalo (1/25 - 5%) do último grupo foi positivo. A partir dos resultados encontrados, ainda esses mesmos autores admitiram que a sintomatologia observada indicava estar associada à toxoplasmose, assim como o fato de todos os animais doentes e apenas 5% dos não doentes apresentarem anticorpos circulantes, sugerindo também tratar-se de uma doença recentemente introduzida nesse rebanho.

Spósito Filha et al. (1992) relataram resultados obtidos pela infecção experimental em equinos com *T. gondii* por via endovenosa, foi observado no 4º e 8º dias pós-infecção (DPI) ligeira elevação de temperatura e corrimento ocular do 10º ao 26º DPI. Os equinos inoculados apresentaram baixos títulos de anticorpos contra *T. gondii* através da técnica de hemaglutinação indireta (HI). A parasitemia foi detectada entre o 6º e o 12º DPI. O parasito não foi evidenciado nos cortes histológicos, tampouco reisolado. Contudo, o parasitismo tecidual foi demonstrado através de sorologia positiva dos camundongos inoculados com músculo diafragmático, esquelético, esôfago, fígado, baço, rins, cérebro e linfonodos mesentéricos.

De maneira semelhante Marques et al. (1998) inocularam por via oral oocistos esporulados de *T. gondii* em nove éguas prenhez. Os oocistos utilizados nesse estudo experimental foram isolados de fezes de gatos experimentalmente infectados com cistos procedentes de camundongos cronicamente infectados. Nas éguas experimentalmente

infectadas, foram observados os seguintes sinais clínicos: secreção ocular mucosa e corrimento nasal seroso, perda de apetite, prostração, diarreia, além de hipertermia e o início da resposta imunológica humoral ocorreu por volta do 10⁰ DPI e títulos mais altos somente foram encontrados após o 20⁰ DPI, através da RIFI.

Quase 20 anos depois, na década de 90, concluiu-se que o principal agente etiológico responsável pela manifestação clínica neurológica da EPM seria uma espécie do gênero *Sarcocystis*, mais especificamente *S. neurona* e não *T. gondii* como se supunha previamente (DAVIS et al., 1991; DUBEY et al., 1991).

2.3.2 Epidemiologia de *Toxoplasma gondii* em equinos

Toxoplasma gondii é um dos parasitos mais bem estudados devido a sua importância em saúde pública (DUBEY, 2008). Trata-se de um coccídeo intracelular obrigatório, que infecta naturalmente humanos, animais domésticos e silvestres, incluindo aqui, pássaros e algumas espécies de animais marinhos (DUBEY et al., 2003b). A toxoplasmose é uma das zoonoses mais cosmopolita, possui como hospedeiro definitivo felídeos, haja vista que somente nesses animais se dá o ciclo sexuado do parasito, culminando com a eliminação de oocistos no ambiente, que após a esporulação se tornam infectantes (KAWAZOE, 2005).

Embora *T. gondii* apresente ampla distribuição mundial e talvez seja o agente etiológico com maior variedade de hospedeiros intermediários, até então é o único representante do gênero *Toxoplasma* (DUBEY, 2008).

Cavalos, dentre as espécies domésticas, estão entre os animais mais resistentes à infecção para *T. gondii*, assim como no desenvolvimento clínico da doença (DUBEY, 1983; DUBEY; JONES, 2008). Talvez por esse motivo, não exista nenhum relato confirmado de toxoplasmose clínica em cavalos (DUBEY; BEATTIE, 1988).

No Brasil, a maioria dos trabalhos tem descrito resultados obtidos em inquéritos sorológicos sobre a prevalência de anticorpos contra *T. gondii* em equinos clinicamente sadios e os resultados diferem de acordo com a região estudada:

Gazeta et al. (1997) ao avaliar 430 equinos aparentemente sadios, oriundos de 12 municípios do estado do Rio de Janeiro, utilizando a RIFI, encontraram 4,42% (19/430) de soropositividade nos cavalos testados. Enquanto que Vidotto et al. (1997) ao analisar através da RIFI, 561 soros de equinos, provenientes de quatro estados, abatidos em um frigorífico no município de Apucarana, Paraná, observaram que 177 equinos (31,55% -177/561) foram sororreagentes a *T. gondii*. A soroprevalência encontrada nos de procedência do estado de São Paulo foi de 21,90% (51/233), seguida por 41,22% (54/131) deles no Paraná, 30% (36/120) provenientes do estado de Mato Grosso e 46,75% (36/77) com procedência do Mato Grosso do Sul. Também no Mato Grosso do Sul, Lorangeira et al. (1985) observaram que dos 750 equinos examinados, 32,8% (246/750) foram reagentes à RIFI.

Dubey et al. (1999a) encontraram 15,8% (16/101) de soropositividade para anticorpos contra *T. gondii* em cavalos PSI do Brasil, por meio do teste de aglutinação modificada (MAT). Usando esse mesmo teste sorológico, Dubey et al. (2003a) encontraram apenas um cavalo soropositivo para *T. gondii* em 276 cavalos selvagens da região central do Wyoming, EUA.

Em Minas Gerais, mais precisamente no município de Uberlândia por possuir um grande número de equinos por rebanho, Naves et al. (2005) realizaram um estudo com o objetivo de determinar a soroprevalência de *T. gondii* em equinos da raça Mangalarga Marchador; para tanto, foram utilizadas amostras de soro sanguíneo de 117 animais, escolhidos aleatoriamente em três propriedades. A positividade encontrada, distribuída entre as três propriedades, foi de cinco (4,27%) animais positivos na A, quatro (3,41%) na B e seis

(5,12%) na propriedade C, totalizando 15 animais soropositivos para *T. gondii* através da RIFI.

Um estudo sobre a toxoplasmose equina foi realizado em 15 fazendas no Pantanal matogrossense, caracterizado como uma imensa área úmida e com localização na região central da América do Sul, mais precisamente no estado de Mato Grosso do Sul. A técnica empregada foi a HI. Apenas dois equinos (1,33%) foram sororreagentes a *T. gondii* (SILVA, 2005). Outro estudo realizado no mesmo estado, porém no município de Eldorado, onde foram coletadas um total de 23 amostras de sangue de equídeos procedentes de 20 propriedades desse município. Dessas 23 amostras analisadas, 14 (61%) foram positivas para *T. gondii* através do teste da aglutinação direta (MARQUES et al., 2009).

Evers et al. (2012; 2013) encontraram 11,6% das amostras reagentes pela RIFI. Os 398 equinos eram procedentes de seis estados brasileiros (Paraná, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Goiás, Mato Grosso do Sul e Mato Grosso) e foram abatidos em matadouros-frigoríficos. Além disso, foi realizado ensaio biológico em camundongos, dos quais 14 (3,5%) cérebros de equinos testados foram positivos pela RIFI, porém, quando se compara os resultados dos soros de equídeos e do ensaio biológico em camundongos, observaram positividade em 60 amostras analisadas, ou seja, 15% delas.

Locatelli-Dittrich et al. (2006a) realizaram um estudo em éguas e potros pré-colostrais de uma fazenda do estado do Paraná utilizando a RIFI como meio de diagnóstico. Os resultados da investigação indicaram que tanto em 2003 quanto em 2004, das 36 éguas testadas apenas 2,7% eram positivas para *T. gondii* com ponto de corte de 1:50, porém quando esse valor foi aumentado para 1:100, a soropositividade caiu para 0%, mesmo valor encontrado para os potros pré-colostrais testados nesse estudo. Ao lado desse, Finger et al. (2013) ao determinar a frequência de anticorpos anti-*T. gondii* em cavalos carroceiros da região metropolitana de Curitiba, no mesmo estado, observaram que somente 17% dos 100 animais rastreados pela RIFI foram positivos.

Costa et al. (1986) utilizando a RIFI para pesquisa de anticorpos contra *T. gondii* em 900 soros de equinos pertencentes ao norte do estado de São Paulo, SP, detectaram 24,8% de soropositividade entre os animais testados. Enquanto em um estudo realizado com equinos da região de Botucatu, SP foram analisadas 253 amostras de soro equino encaminhada previamente para diagnóstico de anemia infecciosa equina (AIE) no ano de 2007 obtendo-se como resultado a comparação de duas técnicas de diagnóstico: a técnica de aglutinação direta modificada (MAD) e RIFI, onde a primeira apontou com 12,6% de positividade, enquanto que a segunda teve como resultado apenas 5,9% dos animais examinados (CAMOSSO et al., 2010).

Costa et al. (2012) ao realizarem um estudo com o objetivo de detectar a soroprevalência de *T. gondii*, através da RIFI, nos animais domésticos e silvestres de Fernando de Noronha, estado de Pernambuco, encontraram um percentual de soropositividade de 43,7% (7/16) nos cavalos que lá residem.

Stelmann et al. (2011b) ao analisarem, através do MAT, 23 amostras séricas de equinos com histórico de ataxia, pertencentes ao estado de São Paulo, encontraram um percentual de soropositividade de 34,78% (8/23) para a presença de anticorpos contra *T. gondii* nos equinos testados.

Na região Nordeste do Brasil, os poucos estudos epidemiológicos sobre a toxoplasmose em equídeos, restringem-se quase que exclusivamente à espécie equina, sendo raros os trabalhos que incluem também asininos e muares. Entretanto, foi realizado um estudo com 343 amostras de soro de equídeos, procedentes dos municípios de Jacobina e Jequié, BA, no período de outubro de 1997 a dezembro de 1999. Das 343 amostras testadas, cinco delas (1,5%) foram positivas tanto pela RIFI quanto pelo MAD (MENDONÇA et al., 2001). Ainda na mesma região, Oliveira et al. (2012) ao realizar um estudo epidemiológico da infecção por

T. gondii em equídeos de 26 propriedades da microrregião do Brejo Paraibano, PB, ressaltaram que das 257 amostras de soro sanguíneo, onde 204 eram de equinos, 46 de muares e sete asininos, testadas pela RIFI, a prevalência encontrada foi de 8,3, 2,2 e 28,6% foram positivos, respectivamente.

De Oliveira et al. (2013) ao investigarem a presença de anticorpos para *T. gondii* em soro de mulas e burros, criados na região Nordeste, onde utilizaram 483 amostras, das quais 395 eram de mulas e 88 de burros, provenientes de quatro estados: Pernambuco, Rio Grande do Norte, Paraíba e Sergipe. Observaram que as frequências de soropositividade para mulas e burros foram de 23,8 e 43,2% respectivamente. Dentre os quatro estados, Pernambuco foi o que apresentou a maior prevalência de amostras positivas.

Fora do Brasil, tem-se observado também uma baixa prevalência de resposta a *T. gondii* em equídeos. Desta forma, a literatura assinala índices de soroprevalência de 6,9 a 10,0% nos EUA (AL-KHALIDI; DUBEY, 1979; DUBEY et al., 1999d), 11,8 a 22,9% na Índia (CHHABRA; GAUTAM, 1980), 8,0% no Chile (URCELAY et al., 1982), 37,1% na Nigéria (AGANGA et al., 1983), 6,7, 25 e 27,1% na China (LING; WAN, 1984; MIAO et al., 2013; YANG et al., 2013), 6,1 a 24 e 7,2 e 36,9% na Turquia (ZEYBEK et al., 1998; KARATEPE et al., 2010; GAZYAĞCI et al., 2011), 13,1% na Argentina (DUBEY et al., 1999b), 2,6% na Coréia do Sul (GUPTA et al., 2002), 23% na República Checa (BARTOVÁ et al., 2010), 0,5% a 1,0% na Suécia (JAKUBEK et al., 2006), 17,7% na Tunísia (BOUGHATTAS et al., 2011), 72,2 e 57% no Iraque (ALSHAHERY; MANSOUR, 2012), na Espanha em 10,8 nos equinos, 15,0 nas mulas e 25,6% nos burros (BOCANEGRA et al., 2012), 31,6% na Arábia Saudita (ALANAZI; ALYOUSIF, 2011), 16% em Nova Caledônia (ROQUEPLO et al., 2011) e 52,6% a 53,8% no Egito (SHAAPAN; GHAZY, 2007; SHAAPAN et al., 2012). Um dos maiores problemas na comparação entre os diversos percentuais encontrados para a positividade a *T. gondii* seria os diversos testes sorológicos empregados, apesar disso, observa-se que ainda a sorologia em cavalos continua baixa na maioria das regiões estudadas, até o presente momento.

2.3.3. Ciclo biológico e vias de infecção de *Toxoplasma gondii*

Toxoplasma gondii é um protozoário do Filo Apicomplexa, Classe Conoidasida, Ordem Eucoccidiorida, Sub-Ordem Eimeriorina, Família Sarcocystidae, e Sub-Família Toxoplasmatinae (LEVINE et al., 1980). Trata-se de um coccídio heteroxeno facultativo, para completar seu ciclo de vida depende de um hospedeiro definitivo, que são representados por membros da família Felidae e de um hospedeiro intermediário, que são os animais homeotérmicos, incluindo o homem e também o próprio hospedeiro definitivo (DUBEY; BEATTIE, 1988; TENTER et al., 2000). Possui três fases infectantes no seu ciclo de vida, são elas: taquizoítos, bradizoítos nos cistos teciduais e esporozoítos nos oocistos esporulados (HILL et al., 2005).

Os taquizoítos, anteriormente denominados de trofozoítos, representam a fase de multiplicação rápida. Estes adentram as células hospedeiras por penetração ativa. Já no ambiente intracelular, o taquizoíto assume formato ovóide, permanecendo dentro de um vacúolo parasitóforo, onde fica protegido dos mecanismos de defesa do hospedeiro. Sua multiplicação se dá por um processo rápido e assexuado, denominado de endodiogenia, no qual um parasito gera duas progênes, repetidamente, até que a célula hospedeira fique repleta, resultando no rompimento desta, quando então são capazes de infectar células vizinhas, disseminando-se pelo corpo do hospedeiro via corrente sanguínea e linfática (GOLDMAN et al., 1958; HILL et al., 2005; DUBEY; BEATTIE, 1988).

Após poucas divisões, *T. gondii* formam cistos teciduais, que permanecem intracelulares. Tais cistos possuem uma parede fina e elástica e podem abrigar centenas de

bradizoítos de *T. gondii*, em formato de meia lua, que representam a fase de multiplicação lenta. Estes diferem dos taquizoítos principalmente quanto à localização do núcleo (central nos taquizoítos e deslocado para a extremidade posterior nos bradizoítos) (HILL et al., 2005). Os cistos teciduais podem ser observados em diversos órgãos, incluindo pulmões, fígado e rins, contudo, é mais prevalente em tecidos musculares e nervosos, incluindo músculo esquelético e cardíaco, e cérebro e olhos respectivamente. Estes cistos podem persistir por toda a vida do hospedeiro, tendo sua importância evidenciada devido à possibilidade dos hospedeiros definitivos se infectarem através da ingestão de carne contendo cistos viáveis (BLACK; BOOTHROYD, 2000; HILL et al., 2005).

Posteriormente à ingestão pelos felídeos, os hospedeiros definitivos de *T. gondii*, a parede do cisto tecidual é dissolvida por enzimas proteolíticas presentes no estômago e intestino delgado, liberando os bradizoítos, os quais penetram nas células epiteliais do intestino delgado, dando início ao desenvolvimento de inúmeros ciclos de reprodução assexuada e sexuada, num processo conhecido como ciclo enteroepitelial constituído por merogonias sucessivas e gametogonia (DUBEY; FRENKEL, 1972). Os organismos liberados deste ciclo, chamados agora de merozoítos, darão origem a merozoítos ou no final do processo merogônico (=esquizogônico) aos microgametócitos com numerosos microgametas e aos macrogametócitos com somente um macrogameta, processo este, conhecido como gametogonia. Os microgametas (móveis e flagelados) saem da célula epitelial e fecundam o macrogameta (imóvel) dentro de outro enterócito. Após a fertilização, inicia-se a formação de uma parede externa dupla ao redor do zigoto formado, dando origem ao oocisto não esporulado. As células epiteliais infectadas se rompem, liberando os oocistos maduros no lúmen intestinal, possibilitando acesso ao ambiente através das fezes de felídeo (HILL et al., 2005; COSTA et al., 2008; DUBEY, 2009). Nos felídeos também ocorre disseminação de taquizoítos pelo corpo, com a formação de cistos teciduais, podendo estes também atuar como hospedeiro intermediário de *T. gondii* (TENTER et al., 2000).

Resultante da reprodução sexuada ocorrida no hospedeiro, o oocisto representa a última fase do ciclo de vida de *T. gondii*. Nas fezes frescas, os oocistos encontram-se não esporulados, estágio no qual não são infectantes, porém tornam-se infectantes após a esporulação com a formação de esporozoítos, que ocorre somente no ambiente, entre um a cinco dias da eliminação fecal, dependendo das condições de aeração e temperatura (HILL et al., 2005).

Os felídeos liberam oocistos após o consumo de qualquer forma infectante do parasito (DUBEY; FRENKEL, 1972, 1976; DUBEY, 1996, 2002), o que interfere no período pré-patente e na frequência de liberação dos oocistos pelo hospedeiro definitivo. Dubey (1996) observou que após a ingestão de cistos teciduais, o período pré-patente varia entre três e dez dias, aumentando para 18 ou mais dias quando o inócuo é composto de taquizoítos ou oocistos, independente do número de organismos ingeridos. Em sua maioria, gatos alimentados com cistos teciduais liberam oocistos nas fezes, enquanto menos da metade dos gatos alimentados com taquizoítos ou oocistos o fazem (DUBEY; FRENKEL, 1976). Assim sendo, o processo por carnivorismo favorece a eliminação mais rápida de oocistos nas fezes de felinos, onde se pode considerar que esta seja a via epidemiológica mais importante.

Os hospedeiros intermediários se infectam, naturalmente, através da ingestão de cistos presentes na carne crua ou mal cozida, como também em alimentos contaminados com oocistos (MORENO et al., 2007).

Por serem herbívoros, a infecção nos equinos ocorre, provavelmente, pela ingestão ou inalação de oocistos de *T. gondii*, presentes nos alimentos ou em camas contaminadas (SILVA; LANGONI, 2000).

A transmissão transplacentária de *T. gondii* em equinos experimentalmente infectados com oocistos esporulados por via oral foi demonstrada por Marques et al. (1995) e por ser única citação deve ser confirmada conforme Dubey (2010).

2.3.4 Sinais clínicos da infecção por *Toxoplasma gondii* em equinos

A toxoplasmose, particularmente em equinos, está associada a distúrbios nervosos e do aparelho locomotor (DUBEY et al., 1974; BEECH; DOOD, 1974; BEECH, 1974). Contudo, sinais oculares clássicos como a coroidorretinite têm sido observado (DUBEY; BEATTIE, 1988). Alguns estudos têm também demonstrado a presença de anticorpos contra *T. gondii* e de cistos teciduais e as manifestações clínicas foram caracterizadas por irritabilidade, incoordenação motora, alterações nervosas e/ou oftálmicas e abortamento (MACRUZ et al., 1975; TURNER; SAVVA, 1990, 1991, 1992). Outros sinais clínicos foram também relatados, incluindo hipertermia, perda de apetite, prostração, diarreia, secreção ocular e corrimento nasal seroso (MARQUES et al., 1998).

Apesar de alguns hospedeiros desenvolverem toxoplasmose clínica, se desconhece o motivo pelo qual a maioria permanece assintomática (DUBEY, 2008). Os relatos de casos de toxoplasmose fatal em cavalos no Reino Unido, através da detecção de DNA de *T. gondii* (TURNER; SAVVA, 1990, 1991, 1992), necessitam de confirmação histopatológica (DUBEY, 2010). Contudo, nos últimos 20 anos foi demonstrado que dois coccídios morfológicamente semelhantes a *T. gondii* como, *S. neurona* e *Neospora* spp., têm causado doença clínica nesses animais (DUBEY et al., 2001a; DUBEY, 2010) dificultando com isso a determinação precisa do envolvimento desse agente etiológico em equinos com sintomatologia neurológica.

2.3.5 Diagnóstico de *Toxoplasma gondii* e da toxoplasmose equina

No hospedeiro, após a infecção e multiplicação de *T. gondii* na porta de entrada, este coccídio se dissemina através das vias sanguíneas e linfáticas no organismo animal. A partir deste momento, inicia-se o mecanismo de resposta imune com a produção de anticorpos específicos e desenvolvimento de resposta celular. As imunoglobulinas IgM, IgA e IgE, aparecem no início da infecção e podem ser detectadas por meio de técnicas sorológicas, após infecção aguda, dentro de oito a doze dias (CAMARGO, 2001).

Com a evolução da infecção, observa-se níveis crescentes de IgG quando comparados aos de IgM, que estão presentes em baixos títulos, enquanto os anticorpos das classes IgA e IgE tornam-se ausentes. Este quadro sorológico, por sua vez, pode dar lugar à infecção do tipo latente, na qual se observa títulos baixos de IgG com alta avidéz, enquanto as demais classes de anticorpos podem estar ausentes. De acordo com o *status* imunológico do hospedeiro, este período de transição sorológica pode sofrer variação de semanas a meses (FERREIRA; ÁVILA, 2001).

Somente taquizoítos intracelulares e bradizoítos persistem durante a fase crônica da infecção, sendo estes os responsáveis pela manutenção de títulos sorológicos que podem perdurar por toda a vida do hospedeiro (KAWAZOE, 2005).

A detecção de anticorpos contra *T. gondii* são à base dos testes sorológicos classicamente empregados no diagnóstico da toxoplasmose (CONTRERAS et al., 2000).

Para o diagnóstico da toxoplasmose, foi desenvolvido por Albert Sabin e Harry Feldman em 1948, um teste sorológico denominado de Sabin-Feldman *dye test* (SFDT), e talvez tenha sido o maior avanço no campo da toxoplasmose. O SFDT é um teste extremamente sensível e específico, sem evidências de falsos resultados em humanos.

A capacidade de identificar infecções por *T. gondii* baseado em testes sorológicos simples, abriram as portas para estudos epidemiológicos extensivos sobre a incidência da infecção por este coccídio. Este teste, mesmo após cinquenta anos, é considerado um teste de referência (REITER-OWONA et al., 1999).

Em 1968, Remington et al. primeiramente, propuseram a utilidade da detecção de anticorpos do tipo IgM no cordão umbilical ou soro de lactentes para o diagnóstico de toxoplasmose congênita, devido a incapacidade desses anticorpos atravessarem a barreira placentária, ao contrário do que ocorre com os anticorpos do tipo IgG. No ano seguinte, Remington (1969) modificou o teste da RIFI, assim como ELISA, para detecção de IgM no cordão umbilical. Desmots et al. (1981), modificaram a detecção de IgM a partir do ELISA, combinando-o com o teste de aglutinação (IgM – ISAGA), eliminando-se a necessidade da utilização de conjugados enzimáticos.

O diagnóstico sorológico da toxoplasmose, tanto em humanos quanto em animais, foi facilitado com o desenvolvimento do teste de aglutinação direta (DAT). Este não necessita de nenhum equipamento sofisticado, tampouco conjugados. Foi inicialmente desenvolvido por Fulton em 1965 e aprimorado por Desmots e Remington em 1980. Sendo, posteriormente, a denominação do teste modificada, por Dubey e Desmots em 1987, para teste de aglutinação modificada (MAT). O MAT tem sido utilizado extensivamente para o diagnóstico de toxoplasmose nos animais (DUBEY et al., 1997).

A detecção do DNA de *T. gondii* a partir de um único taquizoítio foi relatada pela primeira vez por Burg et al. (1989), através da técnica da PCR. Esta técnica também tem demonstrado muita utilidade no diagnóstico de toxoplasmose clínica.

Devido à possibilidade de manifestação de quadros clínicos semelhantes a outras enfermidades, dificultando com isso a implantação de medidas de tratamento e controle, Vidotto (1992) enfatiza a importância do diagnóstico laboratorial da toxoplasmose, tanto nos animais domésticos e silvestres, como nos humanos.

Via de regra, o diagnóstico da toxoplasmose é baseado em testes parasitológicos e sorológicos. Os métodos parasitológicos incluem a inoculação em camundongos, isolamento do agente *in vitro* e/ou *in vivo*, IHQ e a detecção do parasito pela técnica da PCR (COSTA et al., 2008).

Para avaliação da infecção toxoplásmica em equinos, diversas provas sorológicas têm sido empregadas. No entanto, permanece desconhecida a prova diagnóstica de eleição, devido ao fato da especificidade e sensibilidade, de qualquer um dos testes utilizados, não ter sido determinado. Pensa-se que isso ocorra devido ao menor número de estudos nessa espécie quando comparada as demais espécies domésticas (CAMOSSO et al., 2010).

Atualmente, destacam-se o MAT, assim como a RIFI (CAMOSSO et al., 2010). Segundo o método proposto por Desmots e Remington (1980) o MAT é um teste macroscópico e que tem sido largamente utilizado e legitimado para diferentes espécies animais (SILVA et al., 2002), devido principalmente a facilidade de execução, além disso, quando comparado a outras técnicas de diagnóstico, apresenta alta sensibilidade e especificidade na detecção de anticorpos contra *T. gondii* (MARCA et al., 1996).

A RIFI é a técnica usualmente empregada para detecção de anticorpos contra *T. gondii*, entretanto, necessita de reagentes espécie-específicos, microscópio para fluorescência e treinamento técnico para correta leitura e interpretação das lâminas sensibilizadas (VIDOTTO et al., 1990; GARCIA et al., 1999).

Dubey et al. (1985) assinala que no MAT encontra-se um número maior de resultados positivos, como também os títulos mostram-se suavemente maiores, quando comparada a RIFI. Isso ocorre, provavelmente, devido aos diferentes subtipos de IgG detectados em cada teste sorológico.

Ambas as técnicas apresentam elevada sensibilidade e especificidade, porém o MAT não requer a utilização de equipamentos sofisticados, sendo, portanto uma técnica de fácil aplicação, custo reduzido e de grande utilidade em pesquisas sorológicas (DESMONDS; REMINGTON, 1980; CAMOSSO et al., 2010). Além disso, pode ser realizada em qualquer espécie animal, apresenta praticidade e viabilidade para se testar menor número de amostras e facilidade de leitura, como também a técnica pode ser empregada em amostras recentemente autolisadas, ao contrário do que acontece na RIFI (SEEFELDT et al., 1989).

Outro teste que alguns autores utilizam é o ELISA, devido à facilidade de automação, esse teste é considerado como sendo a opção mais prática. No entanto, faz-se necessário melhores estudos a respeito dos procedimentos e da padronização dos antígenos utilizados (DUBEY et al., 1995).

O SFDT é considerado um teste clássico, apesar de não diferenciar anticorpos IgG de IgM. Apresenta alta sensibilidade e especificidade, porém como exige taquizoítos vivos como antígenos, é um teste oneroso, trabalhoso e demorado, além de oferecer risco biológico ao operador (CAMARGO, 2001).

2.3.6 Tratamento da infecção por *Toxoplasma gondii*

De forma geral, a maioria dos estudos sobre drogas anti-protozoários são realizados visando o tratamento de humanos. No caso dos equinos, essas pesquisas são direcionadas contra o protozoário *S. neurona*, pelo fato de ser o principal agente etiológico causador da mieloencefalite protozoária. No entanto, cabe ressaltar que estas drogas também podem ser efetivas para o tratamento da toxoplasmose em equinos.

As sulfonamidas e pirimetamina são drogas amplamente utilizadas no tratamento da toxoplasmose. Elas agem sinergicamente através do bloqueio da via metabólica envolvendo o ácido *p*-aminobenzóico e o ciclo do ácido fólico-folínico, respectivamente (EYES; COLEMAN, 1953; SABIN; WARREN, 1942; NEVES, 2003).

Todas as sulfonamidas comumente utilizadas como a sulfadiazina, sulfametazina e sulfamerazina, são eficazes no tratamento da toxoplasmose. Principalmente quando administradas na fase aguda, haja vista que essas drogas têm demonstrado pouco efeito na infecção subclínica (BEVERLEY, 1958).

Drogas como espiramicina, piroretrexin, roxitromicina, clindamicina, ciclosporina A, atovaquona, ponazuril, entre outras, têm sido eficazes nas infecções experimentais em animais e/ou em cultura de células. Entretanto, quando comparada a sulfadiazina e a pirimetamina, a espiramicina possui menor eficácia contra *T. gondii* (MITCHELL et al., 2006).

Panozuril, nitazoxanide e diclazuril, também podem ser utilizadas no tratamento dessa afecção em cavalos (MacKAY, 2006).

No que diz respeito ao tratamento da toxoplasmose em equinos e a novas alternativas terapêuticas contra o protozoário *T. gondii*, pouco progresso tem sido observado nos últimos 50 anos com o objetivo de substituir o tratamento convencional, que consiste na utilização da sulfadiazina e pirimetamina (DUBEY, 2010).

2.3.7 Prevenção e controle da infecção por *Toxoplasma gondii*

O número de gatos presentes nas propriedades onde existam criações de animais deve ser reduzido visando diminuir a possibilidade de infecção, e como alternativa para esse controle, a esterilização desses animais é recomendada na população felina das fazendas.

Os gatos nunca devem ser alimentados com carne crua, vísceras ou ossos, e esforços devem ser realizados para mantê-los dentro de casa para que se possa impedir a caça.

Outra ação importante é o correto descarte de membranas fetais e/ou fetos abortados, devendo ser retirados do ambiente por pessoas usando luvas de proteção e devidamente incineradas ou enterradas, evitando com isso a infecção pelos gatos e possivelmente por outros animais da propriedade (DUBEY, 2010).

Além disso, deve-se atentar também para o controle de artrópodes no ambiente, como moscas e baratas, pois, os mesmos podem assumir a função de vetores mecânicos, carreando oocistos (PIZZI, 1997).

Por ser considerada uma importante zoonose de saúde pública e uma das zoonoses mais difundidas a nível mundial, faz-se necessário o estabelecimento de estratégias de controle, manejo e profilaxia em relação à infecção por *T. gondii* em equinos. Além disso, sugere-se a realização de novos estudos com o intuito de se padronizar os testes diagnósticos utilizados na detecção de *T. gondii*, como também na definição de título sorológico significativo para esta espécie. Com isso, além da sanidade do rebanho equino, os riscos de contaminação para humanos diminuirão (NAVES et al., 2005; KAWAZOE, 2005; CAMOSSO et al., 2010).

Outro aspecto importante a ser considerado é o fato de que os equídeos estabelecem uma importante via de transmissão para animais de zoológico, em especial, os felídeos silvestres, que são hospedeiros definitivos de *T. gondii*. Muitas das vezes, esses felídeos são alimentados com carne equina, culminando com a possível eliminação de oocistos no meio ambiente, através de suas fezes, favorecendo o ciclo de vida e a persistência do parasito no ambiente (MENDONÇA et al., 2001) e a probabilidade de infectar vertebrados domésticos e silvestres, inclusive humanos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Aspectos Éticos

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética na Pesquisa (COMEP) da UFRRJ, sob protocolo 005706/12 (Anexo 1).

3.2 Local de Coletas das Amostras

O estado do Rio de Janeiro é constituído por 92 municípios e está dividido territorialmente em oito regiões geográficas, de acordo com a Fundação Centro Estadual de Estatísticas, Pesquisas e Formação de Servidores Públicos do Rio de Janeiro. São elas: região Metropolitana, Noroeste Fluminense, Norte Fluminense, Serrana, Baixadas Litorâneas, Médio Paraíba, Centro-Sul Fluminense e Costa Verde (Figura 3) (CEPERJ, 2011).

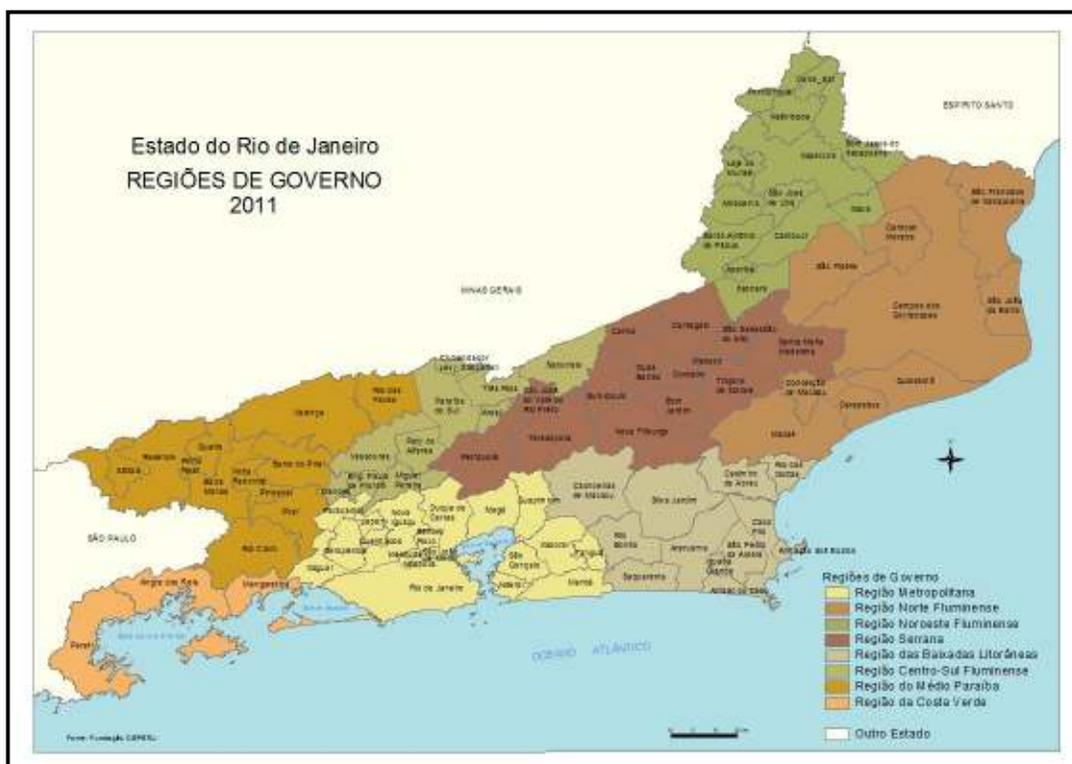


Figura 3. Mapa do estado do Rio de Janeiro com suas divisões regionais (CEPERJ, 2011).

Na Região Serrana são incluídos 14 municípios, tais como: Bom Jardim, Cantagalo, Carmo, Cordeiro, Duas Barras, Macuco, Nova Friburgo, Petrópolis, Santa Maria Madalena, São José do Vale do Rio Preto, São Sebastião do Alto, Sumidouro, Teresópolis e Trajano de Moraes (CEPERJ, 2011).

O estudo transversal foi desenvolvido na microrregião Serrana do estado do Rio de Janeiro, composta pelos municípios de Petrópolis (Latitude: 22° 30' 17" Sul; Longitude: 43° 10' 56" Oeste), São José do Vale do Rio Preto (Latitude: 22° 9' 11" Sul; Longitude: 42° 55'

31" Oeste) e Teresópolis (Latitude: 22° 24' 44" Sul; Longitude: 42° 57' 59" Oeste) (CEPERJ, 2011) (Figura 4).

Quando comparada às demais regiões do estado do Rio de Janeiro, a região Serrana é a que possui maior contingente equino (IBGE, 2010). A escolha da microrregião Serrana justificou-se pelo número representativo de equinos e por possuir inúmeros haras e centros de treinamento desses animais, com criação de diferentes raças e utilização para atividades distintas, como por exemplo: corrida, salto, montaria, entre outras.

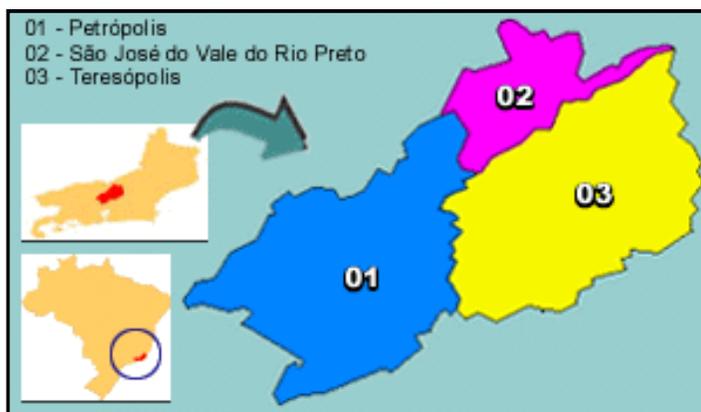


Figura 4. Mapa da Microrregião Serrana do estado do Rio de Janeiro com seus respectivos municípios. (1) Petrópolis, (2) São José do Vale do Rio Preto, (3) Teresópolis (CEPERJ, 2011).

3.3 Escolha das Propriedades e dos Animais

Para este estudo transversal foram selecionados, por conveniência, estabelecimentos agropecuários com criação de equinos, independentemente da idade, sexo e raça.

A escolha dos animais foi realizada de forma não aleatória, ou seja, foram utilizados equinos autorizados pelos proprietários e/ou responsáveis para participar do estudo e que se encontravam disponíveis nas propriedades durante a nossa visita.

Participaram desse estudo 23 estabelecimentos agropecuários com criação de equinos, dos quais 19 pertenciam a Petrópolis, três a Teresópolis e um ao município de São José do Vale do Rio Preto.

3.4 Cálculo para o Tamanho das Amostras

Com base nos dados do censo pecuário realizado nos municípios que compõe a microrregião Serrana do estado do Rio de Janeiro no ano de 2010, pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2010), o cálculo do número de amostras (n) foi realizado com auxílio do programa Epi Info[®] (<http://wwwn.cdc.gov/epiinfo/>).

Dos 4.560 equinos pertencentes ao município de Petrópolis, foram coletadas 270 amostras de sangue, em São José do Vale do Rio Preto dos 630 equinos que compõe o município, foram coletadas 40 amostras, enquanto no município de Teresópolis o número total de amostras coletadas foram 65 de 1.003 cavalos, perfazendo um percentual de 72%, 10,67% e 17,33%, respectivamente, por município.

Utilizando-se intervalo de confiança (CI) de 95% encontrou-se um “n” de 362, ajustando-se para 375 equinos.

3.5 Questionários

Proprietários, funcionários ou médicos veterinários, responsáveis pelas propriedades tomaram ciência do propósito da nossa visita. Após autorização, foram aplicados questionários (Anexos 2 e 3) com intuito de avaliar o perfil dos animais e manejo da propriedade, assim como, verificar os prováveis fatores associados aos agentes etiológicos de interesse do estudo: *S. neurona*, *Neospora* spp. e *T. gondii*.

3.6 Coleta das Amostras de Sangue e Obtenção do Soro Sanguíneo

A coleta de sangue venoso para realização dos testes laboratoriais foi realizada, no período compreendido entre os anos de 2011 e 2013, por punção da veia jugular externa utilizando-se agulhas descartáveis 25 x 0,8 mm, com dispositivo para coleta a vácuo¹ em tubo siliconizado descartável², devidamente identificado, com capacidade máxima de 10mL e ativador de coagulação.

O sangue, até o seu processamento, era mantido em refrigeração em caixa isotérmica contendo gelo.

Ao chegar ao laboratório³, após a retração do coágulo, as amostras eram centrifugadas a 350 x g por 10 minutos em uma centrífuga refrigerada⁴, para a separação do soro sanguíneo e este acondicionado em duplicata, em tubos do tipo *Eppendorf* de 2,0 mL, identificados e mantidos sob a temperatura de -20°C até o momento da realização das análises.

3.7 Exame Sorológico

Para detecção dos anticorpos contra *S. neurona*, *T. gondii* e *Neospora* spp., foi utilizada a prova sorológica denominada de RIFI, conforme o descrito por Camargo et al. (1974).

Utilizou-se conjugado comercial anti-IgG equino, diluído 1: 600, preparado em solução de azul de Evans, previamente diluído 1:5 em SST pH 7,2. Em microplacas, seguindo-se protocolo, foram diluídos 5µL de cada amostra de soro em solução salina tamponada (SST) pH 7,2, cujo volume foi mensurado de acordo com o ponto de corte estipulado para cada agente, ou seja, 245 µL, 95 µL e 75 µL para *Neospora* spp., *S. neurona* e *T. gondii*, respectivamente, incluindo-se os soros controles positivos e negativos.

Para *Neospora* spp. o ponto de corte utilizado foi $\geq 1: 50$ (Cheadle et al., 1999), para *S. neurona* foi $\geq 1: 20$ (Duarte et al., 2003) e para *T. gondii* foi $\geq 1: 16$ (Larangeira et al., 1985).

As lâminas usadas foram previamente sensibilizadas com as seguintes cepas de acordo com o agente pesquisado: RH de *T. gondii*, N C1 de *N. caninum* e SN37R de *S. neurona*.

Para a titulação das amostras positivas, foram testadas diluições ao dobro. Nos casos de ocorrência de reação na última diluição testada, as amostras foram submetidas a novas diluições, para obter o título final. Considerando-se como positivas as diluições que apresentassem mais de 50% dos taquizoítos/merozoítos brilhando sob microscopia de imunofluorescência⁵ em objetiva de 40X e que a fluorescência era total ao redor da superfície dos mesmos. Soros que determinassem ausência de fluorescência ou apenas fluorescência na

¹ Vacutainer, Becton Dickinson Indústrias Cirúrgicas Ltda.

² Labor Import Comercial Importadora Exportadora Ltda.

³ Laboratório de Coccídios e Coccidioses (LCC), Anexo I do Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).

⁴ Modelo BPR 6000 (DAMON/IEC Division, Massassuchetts, EUA).

⁵ Microscópio Zeiss SH250 - Carl Zeiss®, Alemanha.

região apical dos taquizoítos/merozoítos, conhecido como fluorescência polar, ou que determinassem fluorescência parcial na superfície dos parasitos foram considerados negativos.

O título final foi obtido como a maior diluição do soro em que ainda houve fluorescência completa na borda de pelo menos 50% dos taquizoítos/merozoítos.

Para a pesquisa de anticorpos contra *T. gondii* e *Neospora* spp., a RIFI foi realizada no Laboratório de Zoonoses, Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), *Campus* Botucatu, SP. Enquanto que, para detecção de anticorpos contra *S. neurona* a mesma técnica foi realizada no Laboratório de Diagnóstico das Parasitoses dos Animais (LDPA), Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Bahia (UFBA), *Campus* Ondina, Salvador, BA.

3.8 Análise dos Dados Obtidos

As associações entre os resultados da pesquisa de anticorpos contra *S. neurona*, *Neospora* spp. e *T. gondii* e os dados epidemiológicos referentes aos animais estudados (variáveis relacionadas à vacinação, estrutura das propriedades, manejo, presença de outros hospedeiros, e ocorrência de abortos e sinais clínicos) foram analisadas pelos testes de Qui-quadrado (χ^2) ou Exato de Fisher (TRIOLA, 2005). Todas as análises foram realizadas utilizando-se os programas Epi Info 3.5.1 e BioEstat 5.0 (AYRES et al., 2007).

4 RESULTADOS

4.1 Frequências dos Agentes Etiológicos Encontrados em Equinos Sororreagentes da Microrregião Serrana do Estado do Rio de Janeiro

Das 375 amostras de soro sanguíneo testadas, foi encontrado nos estabelecimentos agropecuários com criação de equinos da microrregião serrana do estado do Rio de Janeiro que participaram deste estudo, um número baixo de animais sororreagentes para os três agentes coccídios de interesse do estudo, pesquisados através da RIFI.

A maior frequência encontrada de equinos sororreagentes foi para *S. neurona*, seguida de *T. gondii* e *Neospora* spp., conforme pode ser observado na Tabela 1.

Tabela 1. Frequência encontrada para os três agentes etiológicos pesquisados através da RIFI em equinos da microrregião Serrana, RJ.

Agente Etiológico	Animais	
	N	Positivos (%)
<i>Toxoplasma gondii</i>	375	8 (2,13)
<i>Neospora</i> spp.	375	7 (1,87)
<i>Sarcocystis neurona</i>	375	31 (8,27)
TOTAL	375	46 (12,27)

Legenda: N: número de animais amostrados

4.2 Frequências de Títulos Sorológicos Para os Três Agentes Etiológicos Pesquisados

A maior frequência observada para *S. neurona* foi o título 20 (14/31), enquanto 100% dos equinos reagentes para *T. gondii* (8/375) e *Neospora* spp. (7/375) obtiveram como título final 16 e 50, respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2. Frequências de títulos sorológicos para os três agentes etiológicos pesquisados.

Agente	Títulos	Frequência	Porcentagem (%)
<i>Toxoplasma gondii</i>	16	8	100,00
<i>Neospora</i> spp.	50	7	100,00
	20	14	45,16
	40	4	12,90
<i>Sarcocystis neurona</i>	60	2	6,45
	80	8	25,81
	160	3	9,68

4.3 *Sarcocystis neurona* em Equinos

4.3.1 Frequências observadas nos municípios e propriedades para *Sarcocystis neurona*

Ao analisar individualmente os municípios, Petrópolis apresentou 6,13% (23/375) dos animais soropositivos, em São José do Vale do Rio Preto foram encontrados 2,13% (8/375) deles, enquanto 0% de soropositividade foi encontrado nos equinos que fizeram parte deste

estudo e que pertenciam ao município de Teresópolis. Os valores encontrados foram considerados significativos (Tabela 3) nesses municípios, tornando essa microrregião importante quanto à presença desse agente etiológico.

Tabela 3. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à *Sarcocystis neurona* e cada município da microrregião Serrana, RJ.

Variável	N	RIFI ^a	Variável (%); IC95% ^c	p ^d
Municípios				
Petrópolis	270	23 (6,13%) ^b	8,5; 5,8–12,5	
São José do Vale do Rio Preto	40	8 (2,13%)	20,0; 10,6–34,9	<0,01
Teresópolis	65	0 (0%)	0,0; 0,0–0,0	
Total	375	31 (8,27%)		

Legenda: ^a Número de animais positivos (Título \geq 20) baseado na variável estudada; ^b Frequência de positivos em relação ao número total de equinos amostrados; ^c Frequência de positivos baseada na variável estudada, com intervalo de confiança de 95% ^d valor de *P* para $\alpha=5$, pelo teste de Qui-Quadrado.

A análise dos 23 estabelecimentos agropecuários que participaram do estudo indicou que dez (43,47%) deles possuíam equinos soropositivos para *S. neurona* e se localizavam no município de Petrópolis, que 4,34% (1/23) dos animais reagentes eram provenientes do município de São José do vale do Rio Preto, enquanto Teresópolis não apresentou nenhuma positividade para este coccídio.

Apesar de não haver resultados significativos entre as propriedades, dos 31 cavalos soropositivos para *S. neurona*, oito deles foram da mesma propriedade localizada no município de São José do Vale do Rio Preto, 23 eram provenientes de propriedades localizadas no município de Petrópolis, sendo 10 desses animais pertencentes ao mesmo haras, quatro eram de outro haras e os nove equinos restantes localizavam-se em diferentes propriedades do município.

Foi observada a relação significativa entre o número de moradores e o número de equinos sororreagentes para *S. neurona* nos estabelecimentos que participaram deste estudo (Tabela 4).

Tabela 4. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à *Sarcocystis neurona* e o número de moradores nas propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.

Variáveis	N	RIFI ^a	Variável (%); IC95% ^b	p ^c
Quantidade				
0 – 3	104	2	1,9; 0,6–6,7	
4 – 6	112	13	11,6; 6,9–18,9	0,02
> 6	159	16	10,1; 6,3–15,7	

Legenda: ^a Número de animais positivos (Título \geq 20) baseado na variável estudada; ^b Frequência de positivos baseada na variável estudada, com intervalo de confiança de 95%; ^c valor de *P* para $\alpha=5$ pelo teste de Qui-Quadrado.

4.3.2 Características dos equinos sororreagentes a *Sarcocystis neurona* da microrregião serrana do estado do Rio de Janeiro

Com relação número de equinos sororreagentes e o número total de equinos de uma propriedade, observou-se que nas propriedades que possuíam um número maior de equinos, maior foi a soroprevalência encontrada (Tabela 5).

Tabela 5. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à *Sarcocystis neurona* e o número total de equinos nas propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.

Variável	N	RIFI ^a	Variável (%); IC95% ^b	P ^c	
Total de equinos	0 – 10	41	2	4,9; 1,5–16,2	
	11 – 30	93	7	7,5; 3,8–14,7	
	31 – 50	103	3	2,9; 1,1–8,2	<0,01 ^b
	> 50	123	18	14,6; 9,5–22,0	

Legenda: ^a Número de animais positivos (Título \geq 20) baseado na variável estudada; ^b Frequência de positivos baseada na variável estudada, com intervalo de confiança de 95%; ^c valor de P para $\alpha=5$ pelo teste de Qui-Quadrado.

4.3.3 Fatores relativos ao manejo e a presença de equinos sororreagentes à *Sarcocystis neurona* na microrregião serrana do estado do Rio de Janeiro

Com relação ao material utilizado na construção das baias dos equinos, foi encontrado que instalações de madeira apresentaram 2,2 vezes mais chances de contribuir para que os equinos deste estudo se infectem por *S. neurona* (Tabela 6).

Tabela 6. Associação entre a presença de equinos sororreagentes para *Sarcocystis neurona* e o material utilizado nas construções nas propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.

Variáveis	N	RIFI ^a	Variável (%); IC95% ^b	OR ^c	P ^d	
Instalações	Madeira	70	10	14,3; 8,0–24,4	2,2 (1,0–5,0)	0,04
	Alvenaria	305	21	6,9; 4,6–10,3		

Legenda: ^a Número de animais positivos (Título \geq 20) baseado na variável estudada; ^b Frequência de positivos baseada na variável estudada, com intervalo de confiança de 95%; ^c Odds ratio; ^d valor de P para $\alpha=5$ pelo teste Exato de Fisher.

Neste estudo, tanto a disponibilidade de água natural quanto a de poço artesiano ofereceram risco aos equinos, indicando haver 2,7 vezes mais chances de ocorrer infecção por *S. neurona*, quando comparadas àquelas que não disponibilizavam de pelo menos uma dessas fontes (Tabela 7).

Da mesma forma, quanto ao alimento oferecido, foi observado que nas propriedades que fornecem feno aos cavalos existem 2,3 vezes mais chances desses animais se infectarem por *S. neurona* quando comparado àquele onde esse alimento não era ofertado (Tabela 7).

Tabela 7. Associação entre a presença de equinos sororreagentes a *Sarcocystis neurona* e as variáveis relacionadas ao manejo nas propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.

Variáveis		N	RIFI ^a	Variável (%); IC95% ^b	OR (IC95%) ^c	P ^d
Feno oferecido	Sim	172	20	11,6; 7,7–17,3	2,3 (1,1–4,9)	0,02
	Não	203	11	5,4; 3,1–9,4		
Água natural disponível	Sim	55	9	16,4; 8,9–28,3	2,7 (1,2–6,1)	0,02
	Não	320	22	6,9; 4,6–10,2		
Poço artesiano disponível	Sim	55	9	16,4; 8,9–28,3	2,7 (1,2–6,1)	0,02
	Não	320	22	6,9; 4,6–10,2		

Legenda: ^a Número de animais positivos (Título \geq 20) baseado nas variáveis estudadas; ^b Frequência de positivos baseada nas variáveis estudadas, com intervalo de confiança de 95%; ^c Odds ratio; ^d valor de P para $\alpha=5$ pelo teste Exato de Fisher.

O número de cães e gatos nas propriedades também foi significativo, assim como as variáveis do acesso dos cães e gatos com a água de bebida e com a alimentação dos equinos (Tabela 8). A frequência de contato com os gatos também mostrou-se significativa (Tabela 8). Os resultados demonstram que propriedades onde cães têm acesso à água dos equinos possuem 3,8 vezes mais chances desses animais virem a se infectar por *S. neurona*, três vezes mais chances quando os gatos tem acesso à água, 5,6 vezes mais chances quando os cães da propriedade tem acesso ao alimento e 3,1 vezes mais chances quando o gato tem acesso aos alimentos dos equinos (Tabela 8).

Nas propriedades onde os cães são alimentados com ração os resultados foram significativos (Tabela 8).

A variável presença de gambá na propriedade também revelou resultado significativo (Tabela 8).

Tabela 8. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à *Sarcocystis neurona* e as variáveis relacionadas à presença de outros hospedeiros nas propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ (continua).

Variável	N	RIFI ^a	Variável (%); IC95% ^b	OR (IC95%) ^c	P ^d	
Quantos cães?	0 – 3	189	5	2,6; 1,2–6,0	-	<0,01 ^e
	4 – 6	109	16	14,7; 9,3–22,5		
	> 6	77	10	13,0; 7,3–22,3		

Tabela 8. Continuação.

Variável	N	RIFI ^a	Variável (%); IC95% ^b	OR (IC95%) ^c	P ^d	
Quantos gatos?	0 – 3	258	13	5,0; 3,0–8,4	-	<0,01 ^e
	4 – 6	40	8	20,0; 10,6–34,9		
	> 6	77	10	13,0; 7,3–22,3		
Frequência de contato com gatos	Sem contato	183	10	5,5; 3,0–9,8	-	0,05 ^e
	Esporádico	50	8	16,0; 8,4–28,6		
	Frequente	142	13	9,2; 5,5–15,0		
Cães com acesso à água?	Sim	187	24	12,8; 8,8–18,4	3,8 (1,6–9,1)	0,05 ^e
	Não	188	7	3,7; 1,8–7,5		
Gatos com acesso à água?	Sim	127	18	14,2; 9,2–21,3	3,0 (1,4–6,3)	<0,01 ^f
	Não	248	13	5,2; 3,1–8,8		
Cães com acesso aos alimentos?	Sim	192	26	13,5; 9,4–19,1	5,6 (2,1–14,9)	<0,01 ^f
	Não	183	5	2,7; 1,2–6,2		
Gatos com acesso aos alimentos?	Sim	147	20	13,6; 9,0–20,1	3,1 (1,4–6,7)	<0,01 ^f
	Não	228	11	4,8; 2,7–8,4		
Ração aos cães	Sim	340	31	9,1; 6,5–12,7	-	0,04 ^f
	Não	35	0	0,0; 0,0–0,0		
Gambás?	Sim	308	31	10,1; 7,2–14,0	-	<0,01 ^f
	Não	67	0	0,0; 0,0–0,0		

Legenda: ^a Número de animais positivos (Título \geq 20) baseado nas variáveis estudadas; ^b Frequência de positivos baseada nas variáveis estudadas, com intervalo de confiança de 95%; ^c Odds ratio; ^d valor de *P* para $\alpha=5$; ^e Teste de Qui-Quadrado; ^f Teste Exato de Fisher.

4.3.4 Doença clínica

Nas propriedades onde houve relato de caso de “bambeira”, denominação vulgarmente utilizada para designar a EPM, o risco da infecção nos equinos apresentou-se 2,1 vezes maior quando comparadas àquelas sem histórico da doença (Tabela 9).

Outras informações sobre as variáveis estudadas podem ser observadas nos anexos 4 a 9.

Tabela 9. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à *Sarcocystis neurona* e o histórico de doença clínica nas propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.

Variável	N	RIFI ^a	Variável (%); IC95% ^b	OR (IC95%) ^c	P ^d	
“Bambeira”	Sim	120	15	12,5; 7,8–19,6	2,1 (1,0–4,5)	0,04
	Não	255	16	6,3; 3,9–10,0		

Legenda: ^a Número de animais positivos (Título ≥ 20) baseado na variável estudada; ^b Frequência de animais positivos baseada na variável estudada (intervalo de confiança = 95%); ^c OR: Odds ratio; ^d valor de *P* para $\alpha=5$ pelo Teste Exato de Fisher.

4.4 *Neospora* spp. em Equinos

O acesso dos gatos aos alimentos dos equinos nas instalações das propriedades que participaram deste estudo mostrou-se significativa com 2,1 vezes mais chances de ocorrer infecção por *Neospora* spp. (Tabela 10). Assim como as propriedades com histórico de abortamento apresentaram 7,5 vezes mais chances da infecção ocorrer entre os animais (Tabela 10).

Outras variáveis, porém não significativas, podem ser observadas nos anexos 10 a 15.

Tabela 10. Associação entre equinos sororreagentes à *Neospora* spp. e as variáveis relacionadas ao acesso de gatos aos alimentos dos equinos e histórico de abortamento nas propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.

Variável	N	RIFI ^a	Variável (%); IC95% ^b	OR (IC95%) ^c	P ^d	
Gatos com acesso aos alimentos?	Sim	147	4	2,7; 1,1–6,8	2,1 (0,5–9,5)	<0,01
	Não	228	3	1,3; 0,5–3,8		
Aborto (propriedade)	Sim	206	6	3,6; 1,4–6,2	7,5 (0,9–63,3)	0,03
	Não	169	1	0,6; 0,1–3,2		

Legenda: ^a Número de animais positivos (Título ≥ 50) baseado nas variáveis estudadas; ^b Frequência de animais positivos baseada nas variáveis estudadas (intervalo de confiança = 95%); ^c OR: Odds ratio; ^d valor de *P* para $\alpha = 5$ pelo Teste Exato de Fisher.

4.5 *Toxoplasma gondii* em Equinos

Nas condições deste estudo, nenhuma das variáveis avaliadas (Anexos 16 a 21) mostrou-se estatisticamente significativa para este protozoário.

5 DISCUSSÃO

5.1 *Sarcocystis neurona*

A baixa frequência encontrada nos equinos deste estudo (8,27% - 31/375) pode estar associada às condições higiênico-sanitárias das propriedades, mesmo não tendo havido resultado estatisticamente significativo quando este aspecto foi avaliado; assim como pela presença de outros animais, como cães e gatos, que afugentam os gambás das instalações onde os cavalos são criados, diminuindo assim o contato desses marsupiais com a alimentação dos equinos e, por conseguinte os riscos da pré-exposição a *S. neurona*.

O resultado mais próximo ao encontrado neste estudo foi assinalado por Dubey et al. (2003a) em cavalos no Wyoming, EUA, onde foi encontrado 6,5% de soropositividade para *S. neurona*, porém, o levantamento naquela região foi feito com o SAT.

Via de regra, a prevalência de *S. neurona* depende da distribuição geográfica dos hospedeiros definitivos, no caso gambás das espécies *D. virginiana* (FENGER et al., 1995) nas Américas do Norte e Central e *D. albiventris* (DUBEY et al., 2001a,b) na América do Sul. Portanto, quanto maior a população de gambás numa determinada área, maiores serão os casos da doença (MacKAY et al., 2000) ou mesmo, maiores índices de soroprevalência poderão ser encontrados.

Pelo fato das propriedades localizadas no município de Teresópolis, que participaram desse estudo, não apresentarem nenhum equino soropositivo, pode-se supor que as condições ambientais não sejam favoráveis para disseminação de *S. neurona*, o que se comprova com o resultado encontrado (0%) ou que esteja relacionado ao manejo nessas propriedades, que pudesse criar condições desfavoráveis à permanência do hospedeiro definitivo, o gambá, nas instalações, diminuindo as chances de contaminação por esporocistos de *S. neurona*.

A idade dos animais sororreagentes dos estabelecimentos agropecuários estudados não foi significativa. Todavia, deve ser considerado que quanto mais tempo o animal permanecer numa região endêmica, maiores serão as chances de adquirir a infecção. Saville et al. (1999), indicaram que a infecção e o desenvolvimento da doença causada por *S. neurona* ocorra com maior frequência em animais mais velhos, pois os mesmos tem maior probabilidade de entrar em contato com o agente etiológico com o passar dos anos. Contudo, neste estudo a maior concentração de animais reagentes se enquadrava na faixa etária maior que cinco e menor ou igual a dez anos, o que está de acordo com os resultados obtidos por Bentz et al. (1997), Blythe et al. (1997), Saville et al. (1997), Tillotson et al. (1999), Bentz et al. (2003) e Lins et al. (2012), onde apontaram que a soroprevalência aumenta com a idade dos animais.

Quanto ao sexo dos 375 cavalos testados, 186 deles eram machos e 189 fêmeas, dos quais 17 machos e 14 fêmeas foram sororeagentes, corroborando com o resultado obtido por Blythe et al., 1997 onde indicaram não haver preferência quanto ao sexo para infecção por *S. neurona*. Entretanto, neste estudo os equinos machos têm 1,3 vezes mais chances de se infectarem por *S. neurona* quando comparado às fêmeas.

Quanto à raça dos animais estudados, não existiram diferenças significativas entre esse parâmetro e a soropositividade para *S. neurona*. Diferentemente dos resultados observados por Rooney et al. (1970), Boy et al. (1990), Fayer et al. (1990) e Lins et al. (2012). De acordo com esses autores, a maior ocorrência é encontrada em animais de raça pura, atribuindo-se, provavelmente, ao sistema de criação desses animais.

Com relação ao material utilizado na construção das baias dos equinos, foi encontrado que instalações de madeira apresentaram 2,2 vezes mais chances de contribuir para que os equinos deste estudo se infectem por *S. neurona*. Pelo fato do gambá da espécie *D. albiventris*

ser sinantrópico, as construções rurais destinadas ao abrigo e/ou criação de animais acabam por favorecer sua presença. Assim como o número de moradores nesses estabelecimentos mostrou-se um fator importante para a infecção dos equinos, haja vista a possibilidade da presença e/ou criação de outros animais pelos mesmos, criando condições favoráveis à permanência do hospedeiro definitivo nesses estabelecimentos, pela disponibilidade de abrigo, água e alimentos.

Neste estudo, tanto a disponibilidade de água natural quanto a de poço artesiano ofereceram risco aos equinos, indicando haver 2,7 vezes mais chances de ocorrer infecção por *S. neurona*, quando comparadas àquelas que não disponibilizavam de pelo menos uma dessas fontes. A importância desses resultados está no fato da contaminação da água por fezes de gambá poder existir, tornando-se uma fonte de infecção no momento em que os equinos buscam água para se saciarem, independentemente de ser de fonte natural ou de poços artesianos.

O número de cães e gatos nas propriedades também foi significativo, assim como as variáveis do acesso dos cães e gatos com a água de bebida e com a alimentação dos equinos. A frequência de contato com os gatos também mostrou-se significativa. Talvez pela xenosmofilia, hábito de rolar na terra ou ingerir fezes, pode haver carreamento no pelame de esporocistos de *S. neurona* e, por conseguinte contaminar a comida dos cavalos. Da mesma maneira, ocorreu com a presença de gatos, que assim como os cães, podem ter entrado em contato com as fezes de gambás positivas ao dormirem no solo contaminado, facilitando assim a aderência de esporocistos aos pelos e por consequência o seu transporte de uma baía para outra na mesma propriedade ou contaminando a alimentação dos equinos ao deitarem sobre a mesma. Situação esta assinalada para *T. gondii* em pelos de animais por Frenkel e Parker (1996).

Nas propriedades onde os cães são alimentados com ração os resultados também foram significativos. Como mencionado anteriormente, esse tipo de alimentação atrai a presença de gambás para as instalações dos equinos, culminando com a liberação de fezes pelo hospedeiro definitivo, contaminando não apenas o solo, mas também o pelo dos cães e/ou gatos presentes na propriedade, pelo hábito da xenosmofilia e por fim aumentado o risco de ingestão desses esporocistos pelos equinos, devido ao contato com esses animais.

A variável presença de gambá na propriedade revelou, resultado significativo. Este marsupial é o único hospedeiro definitivo para *S. neurona*, em especial *D. albiventris* na América do Sul (DUBEY et al., 2001a,b), e por este motivo é o único capaz de eliminar junto com suas fezes esporocistos viáveis, sendo o responsável pela infecção de *S. neurona* nos equinos e pelo desenvolvimento da EPM nessa espécie.

Nas propriedades onde houve relato de caso de “bambeira”, denominação vulgarmente utilizada para designar a EPM, o risco da infecção nos equinos apresentou-se 2,1 vezes maior quando comparadas àquelas sem histórico da doença. Evidentemente, as propriedades com relatos da enfermidade possuíam gambás e talvez onde o manejo seja inadequado para o controle desses animais e prevenção da infecção nos equinos por *S. neurona*, aumentando com isso as chances de novos casos ocorrerem.

Salienta-se que apesar da baixa soroprevalência para *S. neurona* encontrada nos equinos testados, este agente etiológico existe na região e a presença do seu hospedeiro definitivo mostrou-se significativo na microrregião Serrana do estado do Rio de Janeiro.

Outras informações sobre as variáveis estudadas podem ser observadas nos anexos 4 a 9.

5.2 *Neospora* spp.

Quanto às espécies do gênero *Neospora*, outros trabalhos realizados a nível mundial apontam diferentes graus de soroprevalência, observando-se, frequentemente, baixos graus de soropositividade na espécie equina, como observado no presente estudo (1,87% - 7/375). Resultado semelhante ao encontrado na Coréia do Sul (2%) (GUPTA et al., 2002) a partir da mesma técnica e com o mesmo ponto de corte adotado.

Na América do Norte, Cheadle et al. (1999) utilizaram a mesma técnica e ponto de corte deste trabalho, para pesquisa de anticorpos anti-*Neospora* sp. e encontraram resultado superior, obtendo-se 11,5% de soropositividade nos equinos testados. Da mesma forma que Vardeleon et al. (2001) ao analisarem 208 amostras séricas de equinos provenientes de cinco regiões geográficas distintas, a citar: Califórnia, Flórida, Missouri, Montana nos EUA e Nova Zelândia, encontraram 17% (36/208) dos cavalos soropositivos para *N. hughesi* também através da RIFI, porém, utilizando como ponto de corte o título 320.

Cabe ressaltar que na América do Sul, *N. hughesi* ainda não foi isolada e, na maioria dos estudos de soroprevalência e de diagnóstico sorológico, taquizoítos de *N. caninum* são utilizados como antígenos, não sendo possível, portanto, a diferenciação das espécies de *Neospora* que estão infectando os equinos, devido à existência de reação cruzada entre as duas espécies (DUBEY et al., 1999a,b; PATITUCCI et al., 2004).

A verdadeira prevalência da infecção por *Neospora* spp. em cavalos no Brasil é desconhecida e as pesquisas insuficientes, porém, os estudos disponíveis têm apontado índices bastantes diversificados. Em sua maioria, estudos que utilizam a RIFI adotando-se como ponto de corte o título 50, como no caso do presente estudo, revelam baixa prevalência no que tange a presença de anticorpos contra *Neospora* spp.. Dentre eles, podemos citar: no estado do Paraná a prevalência de *Neospora* sp. foi de 30, 47 e 22,2%, respectivamente em períodos diferentes (LOCATELLI-DITTRICH et al., 2006a). No estudo realizado por Villalobos et al. (2006) utilizando equinos oriundos de diferentes municípios do estado de São Paulo a soroprevalência observada para *Neospora* spp. nesses animais foi de 10,3% (114/1106). Stelmann et al. (2011a) utilizando 26 amostras de soro sanguíneo de equinos com histórico de ataxia, pertencentes ao estado de São Paulo, verificaram um percentual de soropositividade de 57,6% (15/26) para *N. caninum*. Enquanto no mesmo ano, Toscan et al. (2011) encontraram anticorpos contra *Neospora* spp. em 15,9% (34/214) na população total de equinos avaliados no Rio Grande do Sul. Também no Rio Grande do Sul, em especial no município de Santa Maria, Sangioni et al. (2011) encontraram 15,4% (14/91) de soropositividade contra *Neospora* spp. no soro sanguíneo dos equinos que participaram do estudo. Em um estudo mais recente, utilizando cavalos carroceiros da região metropolitana de Curitiba- PR, Villalobos et al. (2012) encontraram 14,4% (14/97) soropositividade entre os animais testados para *Neospora* sp..

Outros estudos nacionais, utilizando provas sorológicas diferentes ao deste trabalho, foram realizados e os percentuais de soropositividade encontrados também foram baixos: 0% de soropositividade contra *N. caninum* em equinos do Brasil (DUBEY et al., 1999a), 2,5% para a presença de anticorpos anti-NhSAG1 de *N. hughesi* em equinos oriundos de diversos estados brasileiros, dentre eles: São Paulo, Minas Gerais, Santa Catarina, Rio Grande do Sul, Paraná, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás, Rondônia e Bahia (HOANE et al., 2006).

O resultado encontrado neste trabalho, quanto a presença de anticorpos contra *N. caninum* (1,87%) nos equinos testados, está de acordo com as considerações de Hoane et al. (2005b,2006), onde dizem que, de forma geral, os trabalhos de soroprevalência indicam que os equinos das Américas do Norte e do Sul são pouco infectados pelas espécies do gênero *Neospora*. Haja vista, também, os resultados encontrados na maioria dos estudos citados.

Sendo assim, mais informações são necessárias para se esclarecer o papel de ambas às espécies de *Neospora* na epidemiologia dessa infecção em equinos (LOCATELLI-DITTRICH et al., 2006b).

Os principais entraves dos testes sorológicos para diagnóstico da neosporose são as diferentes metodologias, titulações e critérios de interpretação dos resultados entre os diferentes laboratórios. Outras limitações são as flutuações dos níveis de anticorpos durante a vida do animal, pela característica de recrudescência da infecção (LOCATELLI-DITTRICH, 2002). Além desses, deve-se considerar, também, com relação a valores percentuais discrepantes encontrados na literatura consultada, que os mesmos podem estar relacionados com a prova sorológica empregada, podendo haver variação entre os valores de sensibilidade e especificidade, com o tamanho da amostra, assim como aos fatores de risco predisponentes a população estudada, os quais por sua vez, podem alterar os resultados.

Quando se utiliza a RIFI nas triagens sorológicas para a neosporose, utilizando-se como ponto de corte o título 50, como realizado neste estudo, observa-se o aumento da sensibilidade do teste e, como vantagem, confere-se maior capacidade de detecção de animais infectados ou potencialmente infectados; porém a possibilidade de ocorrerem resultados falsos positivos devido à reação cruzada deve ser considerada (VARDELEON et al., 2001; LOCATELLI-DITTRICH et al., 2006).

No diagnóstico da neosporose equina deve ser considerada a infecção por *Neospora caninum* e *N. hughesi*. Como na maioria dos isolados de *Neospora* em equinos é identificada a espécie *N. hughesi*, sugere-se que a neosporose equina é predominantemente causada por esta espécie, entretanto, a real importância de ambas as espécies é desconhecida (JAKUBEK et al., 2006).

Deve-se ressaltar, baseando-se nas diferenças de proteínas dos espaços internos transcritos (ITS1) do DNA e na morfologia dos cistos teciduais em relação a *N. caninum*, que *N. hughesi* apresenta alto grau de similaridade antigênica com *N. caninum*, com número suficiente de antígenos em comum para que os anticorpos anti-*N. hughesi* apresentem reação cruzada com *N. caninum* nos testes sorológicos (MARSH et al., 1998; WALSH et al., 2000; PACKHAM et al., 2002). A diferenciação entre a resposta sorológica para os dois agentes em questão somente será possível a partir da realização de testes que empreguem antígenos monoclonais específicos para cada uma das espécies. Como, neste estudo, foi utilizado anticorpos policlonais, ou seja, anticorpos que possuem marcadores de superfície inespecíficos entre as espécies do gênero *Neospora*, não foi possível estabelecer qual das espécies reagiu frente ao soro dos animais positivos quanto à técnica empregada. Em contrapartida, se fossem utilizados anticorpos monoclonais para detecção de *N. hughesi*, talvez fosse possível encontrar outros percentuais.

Os equinos que participaram deste estudo estavam hígidos, no momento da coleta, porém, ainda não existem estudos que avaliem a possibilidade de cavalos soropositivos para espécies do gênero *Neospora* e clinicamente sadios, desenvolverem a doença. Dentro deste contexto, a possibilidade de uma infecção subclínica por este agente etiológico, também deve ser considerada (LOCATELLI-DITTRICH et al., 2006b). Entretanto, relatos em outras espécies indicaram que em condições de imunomodulação negativa, como por exemplo, no caso de longos períodos de administração de glicocorticoides ou mesmo, a presença de infecções oportunistas pode promover o desenvolvimento da neosporose (DUBEY; LINDSAY, 1996). Consideração essas que podem ocorrer principalmente em animais sororreagentes sobre pressão de um fator predisponente como o já mencionado acima.

Os sinais clínicos de neosporose em equinos são cegueira, paralisia dos membros pélvicos, comportamento bizarro, dificuldade de mastigação, incoordenação, ataxia, doenças viscerais, doença neonatal, abortamento e perda de peso (DAFT et al., 1996; WALSH et al., 2000). Sinais estes, que não foram observados nos animais estudados nesta microrregião.

Não existem estudos que avaliem a possibilidade de cavalos soropositivos para espécies do gênero *Neospora* e clinicamente sadios, desenvolverem a doença. Dentro deste contexto, a possibilidade de uma infecção subclínica por *Neospora*, também deve ser considerada (LOCATELLI-DITTRICH et al., 2006b). Conforme observado neste estudo, apesar de não haver relatos de animais doentes nas propriedades estudadas.

De acordo com Hamir et al. (1998) e Lindsay (2001), a infecção por *N. caninum* está frequentemente associada a distúrbios reprodutivos, enquanto aquela causada por *N. hughesi* é comumente associada a distúrbios neurológicos e não de esfera reprodutiva, como casos de abortamentos. Esta última afirmativa pode ser considerada como significativa, pois houve 7,5 vezes mais chance de ocorrência da infecção por este coccídio nas propriedades que apresentavam histórico de abortamento, visitadas nessa microrregião. Cabe ressaltar que mesmo não sendo diagnosticada sorologicamente *N. hughesi* nesta microrregião, deve-se levar em consideração a presença de animais sororreagentes para esta espécie de *Neospora*.

Curioso notar que a associação entre a presença, quantidade e número de cães, não foram estatisticamente significativos nas propriedades com presença de anticorpos para *N. caninum* nos animais amostrados, mesmo o cão sendo hospedeiro definitivo para este protozoário e, por conseguinte capaz de liberar oocistos em suas fezes contribuindo para contaminação e manutenção do parasita no ambiente.

Todavia, o acesso dos gatos aos alimentos dos equinos nas instalações das propriedades que participaram deste estudo mostrou-se significativa com 2,1 vezes mais chances de ocorrer infecção por *Neospora* spp.. Mesmo não sendo os gatos hospedeiros definitivos deste agente etiológico, suspeita-se que possa haver a possibilidade de transmissão, principalmente de oocistos esporulados através de xenosmofilia (FRENKEL; PARKER, 1996) pelo hábito desses animais deitarem no feno ou no cocho da ração, após terem tomado banho de terra contaminada com fezes de cães. Cabe ressaltar que, apesar da baixa soroprevalência contra *Neospora* spp., este agente etiológico está presente na região, assim como o cão, fazia-se presente nas propriedades onde existiam equinos sororreagentes (Figura 5).

Outras variáveis, porém não significativas, podem ser observadas nos anexos 10 a 15.



Figura 5. Presença de cães nas instalações de uma propriedade que possuía equinos reagentes a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) para anticorpos contra *Neospora* spp.

5.3 *Toxoplasma gondii*

A baixa prevalência encontrada para *T. gondii* (2,13% - 8/375) pode ser explicada, possivelmente, pelo fato dos cavalos, dentre os animais domésticos, serem os mais resistentes à infecção por esse protozoário, assim como ao desenvolvimento clínico da doença (DUBEY, 1983; DUBEY; JONES, 2008). Outra possibilidade a ser considerada, seria a condição ambiental desfavorável para a disseminação do agente etiológico de acordo com Mendonça et al. (2001). Ou devido às condições higiênico sanitárias das propriedades serem suficientemente adequadas, impedindo com isso a disseminação de *T. gondii*.

Na maioria dos trabalhos realizados em outros países, também se observa uma baixa prevalência para *T. gondii* entre os equídeos, porém, com resultados superiores ao encontrado neste trabalho. A literatura mundial aponta diferentes graus de soroprevalência, com uma variação de 0,5% a mais de 70% (AL-KHALIDI; DUBEY, 1979; CHHABRA; GAUTAM, 1980; URCELAY et al., 1982; AGANGA et al., 1983; LING; WAN, 1984; ZEYBEK et al., 1998; DUBEY et al., 1999a,b,c; GUPTA et al., 2002; SHAAPAN; GHAZY, 2007; MIAO et al., 2013; JAKUBEK et al., 2006; BARTOVÁ et al., 2010; KARATEPE et al., 2010; ALANAZI; ALYOUSIF, 2011; BOUGHATTAS et al., 2011; GAZYAĞCI et al., 2011; ROQUEPLO et al., 2011; ALSHAHERY; MANSOUR, 2012; BOCANEGRA et al., 2012; SHAAPAN et al., 2012). Esses valores discrepantes podem ser justificados pelo ponto de corte estipulado, pela técnica diagnóstica empregada, assim como a região geográfica estudada e fatores de risco inerentes às mesmas.

No Brasil, os resultados obtidos em investigações sorológicas sobre a prevalência de anticorpos contra *T. gondii* em equinos também demonstram uma variação considerável entre eles, os quais diferem principalmente de acordo com a região estudada.

À semelhança dos resultados encontrados neste trabalho, Locatelli-Dittrich et al. (2006a) ao realizarem um estudo em éguas e potros pré-colostrais de uma fazenda do estado do Paraná, também utilizando a RIFI como meio de diagnóstico, indicaram que tanto em 2003 quanto em 2004, das 36 éguas testadas apenas 2,7% eram positivas para *T. gondii*, porém diferentemente desse trabalho, o ponto de corte utilizado foi de 1:50 e quando esse valor foi aumentado para 1:100, a soropositividade caiu para 0%, mesmo valor encontrado para os potros pré-colostrais testados no referido estudo.

Por outro lado, alguns trabalhos indicam resultados de soroprevalência superiores ao encontrado nesse estudo, utilizando a mesma técnica (RIFI) e ponto de corte (1:16). Como por exemplo, o realizado por Costa et al. (1986) ao pesquisarem anticorpos contra *T. gondii* em 900 soros de equinos, provenientes do norte do estado de São Paulo, onde encontraram 24,8% deles reagindo positivamente. Gazeta et al. (1997) ao avaliarem 430 equinos aparentemente sadios, oriundos de 12 municípios do estado do Rio de Janeiro, encontraram 4,42% (19/430) de soropositividade nos cavalos. Enquanto que Vidotto et al. (1997) ao analisarem 561 soros de equinos, provenientes de quatro estados, abatidos em um frigorífico no município de Apucarana, Paraná, observaram que 177 equinos (31,55% -177/561) foram sororreagentes a *T. gondii*. A soroprevalência encontrada nos cavalos procedentes do estado de São Paulo foi de 21,90% (51/233), seguida por 41,22% (54/131) daqueles do Paraná, 30% nos (36/120) provenientes do estado de Mato Grosso e 46,75% (36/77) com procedência do Mato Grosso do Sul. Também no Mato Grosso do Sul, Larangeira et al. (1985) observaram que dos 750 equinos examinados, 32,8% (246/750) foram sororreagentes.

Naves et al. (2005) ao realizarem um estudo com o objetivo de determinar a soroprevalência de *T. gondii* em equinos da raça Mangalarga Marchador; para tanto, foram utilizadas amostras de soro sanguíneo de 117 animais, escolhidos aleatoriamente em três propriedades. A positividade encontrada, distribuída entre as três propriedades, foi de cinco (4,27%) animais positivos na A, quatro (3,41%) na B e seis (5,12%) na propriedade C,

totalizando 15 animais soropositivos para *T. gondii*. Camossi et al. (2010) ao realizarem um inquérito sorológico em equinos da região de Botucatu, SP, encontraram 5,9% de soropositividade para *T. gondii* entre as 253 amostras testadas.

Como diversas provas sorológicas têm sido empregadas para avaliação da infecção por *T. gondii* em equinos, permanece desconhecida a prova diagnóstica de eleição, devido ao fato da especificidade e sensibilidade, de qualquer um dos testes utilizados, não terem sido determinadas. Indicando que isso ocorre devido ao menor número de estudos nessa espécie quando comparada as demais espécies domésticas (CAMOSSO et al., 2010). Talvez por este motivo alguns resultados discrepantes sejam encontrados na literatura nacional e internacional citada nesse estudo, os quais podem ser explicados principalmente pelo ponto de corte preconizado, além da técnica diagnóstica empregada. Apesar disso, observa-se que a sorologia, em cavalos, continua baixa na maioria das regiões estudadas, até o presente momento.

Quanto aos títulos sorológicos encontrados na RIFI para *T. gondii*, oito (100%) foram positivos na diluição 1:16. Entretanto, se o ponto de corte estipulado fosse 64, ao invés de 2,13%, seria encontrado 0% de soropositividade como resultado final para esses equinos. Desta maneira, quando se utiliza como ponto de corte a diluição 1:64 na RIFI, a positividade se aproxima de uma maneira mais fidedigna daquelas obtidas em outros trabalhos, sejam eles nacionais ou internacionais (MENDONÇA et al., 2001).

Apesar de nenhuma das variáveis aqui avaliadas (Anexos 16 a 21) ter sido significativa, a presença de gatos foi observada nas instalações de algumas propriedades que participaram deste estudo, demonstrando contato frequente ou iminente com os equinos (Figuras 6 e 7), assim como em contato com a alimentação dos equinos.

Entretanto, o número de gatos presentes nas propriedades onde existam criações de equinos deve ser controlado objetivando-se diminuir a presença e/ou manutenção do agente etiológico no ambiente e a partir disso reduzir as chances de infecção para os equinos e/ou animais de produção. Outra ação importante é o correto descarte de membranas fetais e/ou fetos abortados, devendo ser retirados do ambiente por pessoas usando luvas de proteção e devidamente incineradas ou enterradas, evitando com isso a infecção pelos gatos e possivelmente por outros animais da propriedade (DUBEY, 2010).



Figura 6. Presença de gatos nos corredores das instalações em dois haras com equinos soropositivos para *Toxoplasma gondii*, pertencentes ao município de Petrópolis, RJ.



Figura 7. Presença de gatos no depósito de ração de um dos haras com equinos soropositivos para *Toxoplasma gondii*, pertencentes ao município de Petrópolis, RJ.

Outro aspecto importante a ser considerado é o fato de que os equídeos estabelecem uma importante via de transmissão para animais de zoológico, em especial, os felídeos silvestres, que são hospedeiros definitivos de *T. gondii*. Muitas das vezes, esses felídeos são alimentados com carne equina, culminando com a possível eliminação de oocistos no meio ambiente, através de suas fezes, favorecendo o ciclo de vida e a persistência do parasito no ambiente (MENDONÇA et al., 2001) e a probabilidade de infectar vertebrados domésticos e silvestres, inclusive humanos. Esta afirmativa não seria válida para este tipo de criação, a menos que os cavalos que venham a óbito ou que sejam eutanasiados sejam utilizados na alimentação de carnívoros da propriedade, ou seja, as vísceras e musculatura sejam doadas para alimentar animais selvagens, principalmente felídeos. Ressalta-se que, apesar da baixa frequência de equinos sororreagentes a *T. gondii* nas propriedades estudadas, não se pode descartar o fato de que possa haver infecção por este agente etiológico.

6 CONCLUSÕES

Com base nos resultados observados nos estabelecimentos agropecuários com criação de equinos participantes deste estudo, localizados na microrregião Serrana do estado do Rio de Janeiro, pode-se concluir que:

Houve exposição dos equinos avaliados a *S. neurona*, *Neospora* spp. e *T. gondii* indicando a presença desses agentes etiológicos na microrregião e o risco de infecção aos equinos ali criados.

Nas condições deste estudo, entre os agentes etiológicos pesquisados, a infecção por *S. neurona* foi a mais prevalente nos equinos testados.

Nas condições deste estudo nenhuma das variáveis analisadas foi significativa para a infecção por *T. gondii*.

Mesmo em presença de condições favoráveis para a ocorrência dos hospedeiros definitivos de *S. neurona*, *N. caninum* e *T. gondii*, as condições higiênico-sanitárias dos animais e dos estabelecimentos agropecuários analisados contribuíram para uma baixa ocorrência de equinos sororreagentes aos três agentes etiológicos pesquisados na microrregião Serrana do estado do Rio de Janeiro.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDULLAH, D.; ALYOUSIF MOHAMED, S. Seroprevalence of *Neospora* spp. in horses from Central Province of Saudi Arabia. **African Journal of Biotechnology**, v. 12, n. 9, p. 982-985, 2013.
- AGANGA, A. O., KWANASHIE, G. G., BELINO, E. D. Toxoplasma antibodies in polo horses of Nigeria. **International journal of zoonoses**, v. 10, n. 2, p. 155-158, 1983.
- ALANAZI, A.D.; ALYOUSIF, M. S. Prevalence of Antibodies to *Toxoplasma gondii* in Horses in Riyadh Province, Saudi Arabia. **The Journal of Parasitology**, v. 97, p. 943-945, 2011.
- AL-KHALIDI, N. W.; DUBEY, J. P. Prevalence of *Toxoplasma gondii* infection in horses. **The Journal of Parasitology**, v. 65, p. 331-334, 1979.
- ALMERÍA, S.; FERRER, D.; PABÓN, M.; CASTELLÀ, J.; MAÑAS, S. Red foxes (*Vulpes vulpes*) are a natural intermediate host of *Neospora caninum*. **Veterinary Parasitology**, v.107, p. 287-294, 2002.
- ALSHAHERY, M. N.; MANSOUR, R. S. Detection of *Toxoplasma gondii* antibodies in horses in Mosul, Iraq. **Iraqi Journal of Veterinary Sciences**, Vol. 26, Supplement II, 2012 (39-41). Proceedings of the 6 th Scientific Conference, College of Veterinary Medicine, University of Mosul.
- ANDERSON, M. L.; ANDRIANARIVO, A. G.; CONRAD, P. A. Neosporosis in cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 60-61, p. 417-431, 2000.
- ANDREOTTI, R.; LOCATELLI-DITTRICH, R. L.; SOCCOL, V. T.; PAIVA, F. Diagnóstico e controle da neosporose em bovinos. Documentos 16. Campo Grande: Embrapa-CNPGC, 2003. 51p.
- ANDREWS, F. M.; GRANSTROM, D. E.; PROVENZA, M. Differentiation of neurologic diseases in the horse by the use of albumin quotient and IgG index determinations. In: Proceedings of the 41st Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners, Lexington, KY, 1995, p. 215.
- AYRES, M.; AYRES JR, M.; AYRES, D.L.; SANTOS, A.S. **BioEstat 5.0. Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. Belém: Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá. 2007. 364p.
- BÁRTOVÁ, E.; SEDLÁK, K.; SYROVÁ, M.; LITERÁK, I. *Neospora* spp. and *Toxoplasma gondii* antibodies in horses in the Czech Republic. **Parasitology Research**, v. 107, p. 783-785, 2010.
- BASSO, W.; VENTURINI, L.; VENTURINI, M. C.; HILL, D. E.; KWOK, O. C. H.; S. K. SHEN, S. K.; DUBEY, J. P. First isolation of *Neospora caninum* from the feces of a naturally infected dog. **Journal of Parasitology**, v. 87, p. 612-618, 2001.

- BEECH, J. Equine protozoan encephalomyelitis. **Veterinary Medicine and Small Animal Clinician**, v. 69, p. 1562-1566, 1974.
- BEECH, J.; DODD, D. C. Toxoplasma-like encephalomyelitis in the horse. **Veterinary Pathology**, v. 11, p. 87-96, 1974.
- BENTZ, B. G.; GRANSTROM, D. E.; STAMPER, S. Seroprevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona* in horses residing in a county of southeastern Pennsylvania. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 210, p. 517-518, 1997.
- BENTZ, B. G.; EALEY, K. A.; MORROW, J.; CLAYPOOL, P. L.; SALIKI, J. T. Seroprevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona* in equids residing in Oklahoma. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 15, n. 6, p. 597-600, 2003.
- BEVERLEY, J. K. A. A rational approach to the treatment of toxoplasmic uveitis. **Transactions of the American Ophthalmological Society**, v. 78, p. 109-121, 1958.
- BJÖRKMAN, C.; UGGLA, A. Serological diagnosis of *Neospora caninum* infection. **International Journal for Parasitology**, v. 29, p. 1497-1507, 1999.
- BLACK, M. W.; BOOTHROYD, J. C. Litic cycle of *Toxoplasma gondii*. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 64, p. 607-623, 2000.
- BLOOD, D. C.; RADOSTITS, O. M. Doenças causadas por protozoários. In: RADOSTITS, O. M.; GAY, C. G.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. Clínica veterinária: um tratado de doenças de bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 1187- 1189.
- BLYTHE, L. L.; GRANSTROM, D. E.; HANSEN, D. E.; WALKER, L. L.; BARTLETT, J.; STAMPER, S. Seroprevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona* in horses residing in Oregon. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 210, p. 525-527, 1997.
- BOCANEGRA, G.; CABEZÓN, O.; ARENAS-MONTES, A.; CARBONERO, A.; DUBEY, J. P.; PEREA, A.; ALMÉRÍA, S. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in equids from Southern Spain. **Parasitology International**, v. 61, p. 421-424, 2012.
- BOUGHATTAS, S.; BERGAOUI, R.; ESSID, R.; AOUM, K.; BOURATBINE, A. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection among horses in Tunisia. **Parasites & Vectors**, v. 4, p. 2-3, 2011.
- BOY, M. G.; GALLIGAN, D. T.; DIVERS, T. J. Protozoal encephalomyelitis in horses: 82 cases (1972-186). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 196, p. 632-634, 1990.
- BURG, J. L.; GROVER, C. M.; POULETTY, P.; BOOTHROYD, J. C. Direct and sensitive detection of a pathogenic protozoan, *Toxoplasma gondii*, by polymerase chain-reaction. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 27, p. 1787-1792, 1989.
- BUXTON, D.; McALLISTER, M. M.; DUBEY, J. P. The comparative pathogenesis of neosporosis. **Trends in Parasitology**, v. 18, p. 546-552, 2002.

CAMARGO, M. E. Introdução às técnicas de imunofluorescência. **Revista Brasileira de Patologia Clínica**, v. 10, p. 143-169, 1974.

CAMARGO, M. E. Toxoplasmose. In: FERREIRA, A. W.; ÁVILA, S. L. M, (Eds.). Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-imunes. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001. p. 278-286.

CAMOSSI, L. G.; SILVA, A. V.; LANGONI, H. Inquérito sorológico para toxoplasmose em equinos na região de Botucatu-SP. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 2, p. 484-488, 2010.

CEPERJ. Fundação Centro Estadual de Estatística, Pesquisa e Formação de Servidores Públicos do Rio de Janeiro. Divisão regional, segundo as mesorregiões, microrregiões geográficas e municípios. 2011. Disponível em: <http://www.ceperj.rj.gov.br/ceep/info_territorios/Div_reg/Quadro_MesoeMicrorregioes_Geograficas.XLS> Acesso: 05 jul 2013.

CHEADLE, M. A.; LINDSAY, D. S.; ROWE, S.; DYKSTRA, C. C.; WILLIAMS, M. A.; SPENCER, J. A.; TOIVIO-KINNUCAN, M. A.; LENZ, S. D.; NEWTON, J. C.; ROLSMA, M. D.; BLAGBURN, B. L. 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.

CHHABRA, M. B.; GAUTAM, O. P. Antibodies to *Toxoplasma gondii* in equids in north India. **Equine Veterinary Journal**, v. 3, p.146-148, 1980.

CIARAMELLA, P.; CORONA, M.; CORTESE, L.; PIANTEDOSI, D.; SANTORO, D.; Di LORIA, A.; RIGATO, R. Seroprevalence of *Neospora* spp. in asymptomatic horses in Italy. **Veterinary Parasitology**, v. 123, p. 11-15, 2004.

COBÁDIOVÁ, A.; VICHOVÁ, B.; MAJLATHOVÁ, V.; REITOVÁ, K. First molecular detection of *Neospora caninum* in European brown bear (*Ursus arctos*). **Veterinary Parasitology**, v. 197, n.1/2, p. 436-349, 2013.

COHEN, N. D.; MacKAY, R. J. Interpreting immunoblot testing of cerebrospinal fluid for equine protozoal myeloencephalitis. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v. 19, p. 1176-1181, 1997.

COHEN, N. D.; MACKAY, R. J.; TOBY, E.; ANDREWS, F. M.; BARR, B. S.; BEECH, J.; BERNARD, W. V.; CLARK, C. K.; DIVERS, T. J.; FURR, M. O.; KOHN, C. W.; LEVY, M.; REED, S. M.; SEAHORN, T. L.; SLOVIS, N. M. A multicenter case-control study of risk factors for equine protozoal myeloencephalitis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 231, n. 12, p. 1857-1863, 2007.

CONTRERAS, M. D.; SANDOVAL, M. L.; SALINAS, P.; MUÑOZ, P.; VARGAS, S. Utilidad diagnóstica de ELISA IgG/IgM/ IgA y ELISA avidéz de IgG em toxoplasmosis reciente y crónica. **Boletín Chileno Parasitología**, v. 55, p. 1-10, 2000.

COOK, A. G.; BUECHNER-MAXWELL, V.; MORROW, J. K.; WARD, D. L.; PARKER, N. A.; DASCANIO, J. J.; LEY, W. B.; COOPER, W. Interpretation of the detection of

Sarcocystis neurona antibodies in the serum of young horses. **Veterinary Parasitology**, v. 95, p. 187-195, 2001.

COSTA, A. J.; ISHIZUKA, M. M.; MARQUES, L. C.; VIDOTTO, O.; ROCHA, U. F.; IKEDA, A. Toxoplasmosis frequency in equines from the north region of São Paulo State, Brazil. **Arquivos de Veterinária**, v.2, n. 1, p. 75-79, 1986.

COSTA, K. S.; SANTOS, S. L.; UZEDA, R. S.; PINHEIRO, A. M.; ALMEIDA, M. A.; ARAUJO, F. R.; MCALLISTER, M. M.; GONDIM, L. F. Chickens (*Gallus domesticus*) are natural intermediate hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v. 38, p. 157-159, 2008.

COSTA, T. L.; SILVA, M. G.; AVELAR, J. B.; AMARAL, W. N.; AVELINO, M. M.; CASTRO, A. M. *Toxoplasma gondii*: toxoplasmose, com ênfase no diagnóstico. **Revista de Patologia Tropical**, v. 37, p. 191-207, 2008.

COSTA, D. G. C.; MARVULO, M. F. V.; SILVA, J. S. A.; SANTANA, S. C.; MAGALHÃES, F. J. R.; LIMA FILHO, C. D. F.; RIBEIRO, V. O.; ALVES, L. C.; MOTA, R. A.; DUBEY, J. P.; SILVA, R. C. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in Domestic and Wild Animals From the Fernando de Noronha, Brazil. **The Journal of Parasitology**, v. 98, n. 3, p. 679-680, 2012.

CUSICK, P. K.; SELLS, D. M.; HAMILTON, D. P.; HARDENBROOK, H. J. Toxoplasmosis in two horses. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 164, p. 77-80, 1974.

DAFT, B.M.; BARR, B.C.; COLLINS, N.; SVERLOW, K. *Neospora* encephalomyelitis and polyradiculoneuritis in an aged mare with Cushing's disease. **Equine Veterinary Journal**, v. 29, p. 240-243, 1996.

DAFT, B. M.; BARR, B. C.; GARDNER, I. A.; READ, D. V. M.; BELL, W.; PEYSER, K. G.; ARDANS, A.; KINDE, H.; MORROW, J. K. Sensitivity and specificity of Western blot testing of cerebrospinal fluid and serum for diagnosis of equine protozoal myeloencephalitis in horses with and without neurologic abnormalities. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 221, n. 7, p. 1007-1013, 2002.

DANGOUDUBIYAM, S.; OLIVEIRA, J. B.; VÍQUEZ, C.; GÓMEZ-GARCIA, A.; GONZÁLES, O.; ROMERO, J. J.; KWOK, O. C. H.; DUBEY, J. P.; HOWE, D.K. Detection of Antibodies Against *Sarcocystis neurona*, *Neospora* spp., and *Toxoplasma gondii* in Horses From Costa Rica. **Journal of Parasitology**, v. 97, p. 522-524, 2011.

DAVIS, S. W.; DAFT, B. M.; DUBEY, J. P. *Sarcocystis neurona* cultured in vitro from a horse with equine protozoal myelitis. **Equine Veterinary Journal**, v. 23, p. 315-317, 1991.

DE OLIVEIRA, E.; ALBUQUERQUE, P. P. F.; SOUZA NETO, O. L.; FARIA, E. B.; PINHEIRO JÚNIOR, J. W.; MOTA, R. A. Occurrence of Antibodies to *Toxoplasma gondii* in Mules and Donkeys in the northeast of Brasil. **The Journal of Parasitology**, v. 99, n. 2, p. 343-345, 2013.

DESMONTS, G.; REMINGTON, J. Direct agglutination test for diagnosis of *Toxoplasma* infection: method for increasing sensitivity and specificity. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 11, n. 6, p. 562-568, 1980.

DESMONTS, G.; NAOT, Y.; REMINGTON, J. S. Immunoglobulin Mimmunosorbent agglutination assay for diagnosis of infectious diseases. Diagnosis of acute congenital and acquired *Toxoplasma* infections. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 14, p. 544-549, 1981.

DIJKSTRA, T.; EYSKER, M.; SCHARES, G.; CONRATHS, F. J.; WOUDA, W.; BARKEMA, H. W. Dogs shed *Neospora caninum* oocysts after ingestion of naturally infected bovine placenta but not after ingestion of colostrum spiked with *Neospora caninum* tachyzoites. **International Journal for Parasitology**, v. 31, p. 747-752, 2001.

DIVERS, T. J.; BOWMAN, D. D.; DE LAHUNTA, A. Equine protozoal myeloencephalitis: recent advances in diagnosis and treatment. **Veterinary Medicine Suppl.**, p. 3-17, 2000.

DUARTE, P. C.; DAFT, B. M.; CONRAD, P. A.; PACKHAM, A. E.; GARDNER, I. A. Comparison of a serum indirect fluorescent antibody test with two Western blot tests for the diagnosis of equine protozoal myeloencephalitis. **Journal of veterinary diagnostic investigation**, v. 15, p. 8-13, 2003.

DUARTE, P. C.; CONRAD, P. A.; BARR, B. C.; WILSON, W. D.; FERRARO, G. L.; PACKHAM, A. E.; CARPENTER, T. E.; GARDNER, I. A. Risk of transplacental transmission of *Sarcocystis neurona* and *Neospora hughesi* in California horses. **The Journal of Parasitology**, v. 90, p. 1345-1351, 2004.

DUARTE, P. C.; EBEL, E. D.; TRAUB-DARGATZ, J.; WILSON, W. D.; CONRAD, P. A.; GARDNER, I. A. Indirect fluorescent antibody testing of cerebrospinal fluid for diagnosis of equine protozoal myeloencephalitis. **American Journal of Veterinary Research**, v. 67, p. 869-876, 2006.

DUBEY, J. P.; FRENKEL, J. K. Cyst-induced toxoplasmosis in cats. **Journal of Protozoology**, v. 19, p. 155-177, 1972.

DUBEY, J. P.; DAVIS, G. W.; KOESTNER, A.; KIRYU, K. Equine encephalomyelitis due to a protozoan parasite resembling *Toxoplasma gondii*. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 165, n. 3, p. 249-255, 1974.

DUBEY, J. P.; FRENKEL, J. K. Feline toxoplasmosis from acutely infected mice and the devepeloment of *Toxoplasma* cysts. **Journal of Protozoology**, v. 23, p. 537-546, 1976.

DUBEY, J. P. Distribution of cysts and tachyzoites in calves and pregnant cows inoculated with *Toxoplasma gondii* oocysts. **Veterinary Parasitology**, v.13, p. 199-211, 1983.

DUBEY, J. P.; DESMONTS, G.; ANTUNES, F.; MCDONALD, C. Serologic diagnosis of toxoplasmosis experimentally infected pregnant goats and transplacentally infected kids. **American Journal Veterinary Research**, v. 46, p. 1137-1140, 1985.

DUBEY, J. P.; MILLER, S. Equine protozoal myeloencephalitis in a pony. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 188, p. 1311-1312, 1986.

- DUBEY, J. P.; DESMONTS, G. 1987. Serological responses of equids fed *Toxoplasma gondii* oocysts. **Equine Veterinary Journal**, v. 19, p. 337-339, 1987.
- DUBEY, J. P.; BEATTIE, C. P. Toxoplasmosis of Animals and Man. Boca Raton, FL: CRC Press, 1988. p. 01-220.
- DUBEY, J. P.; PORTERFIELD, M. L. *Neospora caninum* (Apicomplexa) in na aborted equine fetus. **International Journal for Parasitology**, v. 76, p. 732-734, 1990.
- DUBEY, J. P.; DAVIS, S. W.; SPEER, C. A.; BOWMAN, D. D.; DE LAHUNTA, A.; GRANSTROM, D.E.; TOPPER, M. J.; HAMIR, A. N.; CUMMINGS, J. F.; SUTER, M. M. *Sarcocystis neurona* sp. (Protozoa: Apicomplexa), the etiologic agent of equine protozoal myeloencephalitis. **Journal of Parasitology**, v. 77, p. 212-218, 1991.
- DUBEY, J. P.; THULLIEZ, P.; WEIGEL, R. M.; ANDREWS, C. D.; LINP, P.; POWELL, E. C. Sensitivity and specificity of various serologic tests for detection of *Toxoplasma gondii* infection in naturally infected sows. **American Journal Veterinary Research**, v. 56, n. 8, p. 1030-1036, 1995.
- DUBEY, J. P.; RIGOULET, J.; LAGOURETTE, P.; GEORGE, C.; LONGEART, L.; LENET, J. L. Fatal transplacental neosporosis in a deer (*Cervus eldi siamensis* **Journal of Parasitology**, v. 82, p. 338-339, 1996a.
- DUBEY, J. P.; MORALES, J. A.; VILLALOBOS, P.; LINDSAY, D. S.; BLAGBURN, B. L.; TOPPER, M. J. Neosporosis associated abortion in a dairy goat. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 208, p. 263-265. 1996b.
- DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. **Veterinary Parasitology**, v. 67, p. 1-59, 1996.
- DUBEY, J. P. Infectivity and pathogenicity of *Toxoplasma gondii* oocysts for cats. **Journal of Parasitology**, v. 82, p. 957-961, 1996.
- DUBEY, J. P.; ROLLOR, E. A.; SMITH, K.; KWOK, O. C. H.; THULLIEZ, P. LOW seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in feral pigs from a remote island lacking cats. **Journal of Parasitology**, 83:839-841, 1997.
- DUBEY, J. P.; KERBER, C. E.; GRANSTROM, D. E. Serologic prevalence of *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma gondii*, and *Neospora caninum* in horses in Brazil. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 215, p. 970- 972, 1999a.
- DUBEY, J. P.; VENTURINI, M. C.; VENTURINI, L.; MCKINNEY, J.; PECORARO, M. Prevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in horses from Argentina. **Veterinary Parasitology**, v. 86, p. 59-62, 1999b.
- DUBEY, J. P.; ROMAND, S.; THULLIEZ, P.; KWOK, O. C.; SHEN, S. K.; GAMBLE, H. R. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in horses in North America. **The Journal of Parasitology**, v. 85, p. 968-969, 1999c.
- DUBEY, J. P. ; THULLIEZ, P.; ROMAND, S.; KWOK, O. C. H.; SHEN, S. K.; GAMBLE, H. R. Serologic prevalence of *Toxoplasma gondii* in horses slaughtered for food in North America. **Veterinary Parasitology**, v. 86, p. 235-238, 1999d.

- DUBEY, J. P.; HAMIR, A. N. Immunohistochemical confirmation of *Sarcocystis neurona* infections in raccoons, mink, cat, skunk and pony. **Journal of Parasitology**, v. 86, p. 1150-1152, 2000.
- DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; SAVILLE, W. J. A.; REED, S. M.; GRANSTROM, D. E.; SPEER, C. A. A review of *Sarcocystis neurona* and equine protozoal myeloencephalitis (EPM). **Veterinary Parasitology**, v. 95, p. 89-131, 2001a.
- DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; KERBER, C. E.; KASAI, N.; PENNA, H. F.; GENNARI, S. M.; KWOK, O. C.; SHEN, S. K.; ROSENTHAL, B. M. First isolation of *Sarcocystis neurona* from the South American opossum, *Didelphis albiventris*, from Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 95, n. 2-4, p. 295-304, 2001b.
- DUBEY, J. P.; LIDDEL, S.; MATTSO, D.; SPEER, C. A.; HOWE, D. K.; JENKINS, M. C. Characterization of the Oregon isolate of *Neospora hughesi* from a horse. **The Journal of Parasitology**, v. 87, p. 345-353, 2001c.
- DUBEY, J. P. Tachyzoite-induced life cycle of *Toxoplasma gondii* in cats. **Journal of Parasitology**, v. 88, p. 713-717, 2002.
- DUBEY, J. P.; BARR, B. C.; BARTA, J. R.; BJERKAS, I.; BJÖRKMAN, C.; BLAGBURN, B. L.; BOWMAN, D. D.; BUXTON, D.; ELLIS, J. T.; GOTTSSTEIN, B.; HEMPHILL, A.; HILL, D. E.; HOWE, D. K.; JENKINS, M. C.; KOBAYASHI, Y.; KOUDELA, B.; MARSH, A. E.; MATTSO, J. G.; McALLISTER, M. M.; MODRY, D.; OMATA, Y.; SIBLEY, L. D.; SPEECER, C. A.; TREES, A. J.; UGGLA, A.; UPTON, S. J.; WILLIAMS, D. J. L.; LINDSAY, D. S. Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidia. **International Journal for Parasitology**, v. 32, p. 926-946, 2002.
- DUBEY, J. P.; MITCHELL, S. M.; MORROW, J. K.; RHYAN, J. C.; STEWART, L. M.; GRANSTROM, D. E.; ROMAND, S.; THULLIEZ, P.; SAVILLE, W. J.; LINDSAY, D. S. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum*, *Sarcocystis neurona*, and *Toxoplasma gondii* in wild horses from central Wyoming. **Journal of Parasitology**, v. 89, n. 4, p. 716-720, 2003a.
- DUBEY, J. P.; ZAMKE, R.; THOMAS, N. J.; WONG, S. K.; VAN BONND, W.; BRIGGS, M.; DAVIS, J. W.; EWING, R.; MENSEH, M.; ROMAND, S.; THULLIEZ, P. *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Sarcocystis neurona*, and *Sarcocystis canis*-like infections in marine mammals. **Veterinary Parasitology**, v. 116, p. 275-296, 2003b.
- DUBEY, J. P. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. **The Korean Journal of Parasitology**, v. 41, p. 1-16, 2003.
- DUBEY, J. P.; SREEKUMAR, C.; KNICKMAN, E.; MISKA, K. B.; VIANNA, M. C. B.; KWOK, O. C. H.; HILL, D. E.; JENKINS, M. C.; LINDSAY, D. S.; GREENE, C. E. Biologic, morphologic, and molecular characterization of *Neospora caninum* isolates from littermate dogs. **International Journal for Parasitology**, v. 34, p. 1157-1167. 2004.
- DUBEY, J. P.; SCHARES, G.; ORTEGA - MORA, L. M.: Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. **Clinical and Microbiological Reviews**, v. 20, p. 323-367, 2007.

DUBEY, J. P. The history of *Toxoplasma gondii* – The first 100 years. **Journal Eukariotic Microbiology**, v. 55, p. 467-475, 2008.

DUBEY, J. P.; JONES, J. L. *Toxoplasma gondii* infection in human and animals in the United States. **International Journal for Parasitology**, 2008.

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

DUBEY, J. P. Toxoplasmosis of animals and humans. 2 ed. Boca Raton, FL: CRC Press; 2010. p 01-313.

DUBEY, J. P.; JENKINS, M. C.; RAJENDRAN, C.; MISKA, K.; FERREIRA, L. R.; MARTINS, J.; KWOK, O. C. H.; CHOUDHARY, S. Gray wolf (*Canis lupus*) is a natural definitive host for *Neospora caninum*. **Veterinary Parasitology**, v. 181, p. 382-387, 2011.

EVERS, F.; GARCIA, J. L.; NAVARRO, I. T.; DE FREITAS, J. C.; BONESI, G. L.; BENITEZ, A. N.; NINO, B. S. L.; EWALD, M. P. C.; TARODA, A.; ALMEIDA, J. C.; PAGLIARI, S.; FREIRE, R. L. Zoonosis of public health interest in slaughtered Brazilian equidae. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, suplemento 2, p. 3223-3232, 2012.

EVERS, F.; GARCIA, J. L.; NAVARRO, I. T.; SULPO, D. L.; NINO, B. S. L.; EWALD, M. P. C.; PAGLIARI, S.; ALMEIDA, J. C.; FREIRE, R. L. Diagnóstico e isolamento de *Toxoplasma gondii* em equídeos de frigoríficos brasileiros. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 22, n. 1, p. 58-63, 2013.

EYLES, D. E.; COLEMAN, N. Antibiotics in the treatment of toxoplasmosis. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 2, p. 64–69, 1953.

FAYER, R.; MAYHEW, I. G.; BAIRD, J. D.; DILL, S. G.; FOREMAN, J. H.; FOX, J. C.; HIGGINS, R. J.; REED, S. M.; RUOFF, W. W.; SWEENEY, R. W.; TUTTLE, P. Epidemiology of equine protozoal myeloencephalitis in North America based on histologically confirmed cases. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 4, p. 54-57, 1990.

FENGER, C. K.; GRANSTROM, D. E.; LANGEMEIER, J. L.; STAMPER, S.; DONAHUE, J. M.; PATTERSON, J. S.; GAJADHAR, A. A.; MARTENIUK, J. V.; XIAOMIN, Z.; DUBEY, J. P. Identification of opossums (*Didelphis virginiana*) as the putative definitive host of *Sarcocystis neurona*. **Journal of Parasitology**, v. 81, p. 916-9, 1995.

FENGER, C. K.; GRANSTROM, D. E.; GAJADHAR, A. A.; WILLIAMS, N. M.; MCCRILLIS, S. A.; STAMPER, S.; LANGEMEIER, J. L.; DUBEY, J. P. Experimental induction of equine protozoal myeloencephalitis in horses using *Sarcocystis* sp. sporocysts from the opossum (*Didelphis virginiana*). **Veterinary Parasitology**, v. 68, p. 199-213, 1997.

FERREIRA, A. W.; ÁVILA, S. L. M. Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-imunes. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001.

FINGER, M. A.; VILLALOBOS, E. M. C.; LARA, M. C. C. S.; CUNHA, E. M. S.; BARROS FILHO, I. R.; DECONTO, I.; DORNBUSCH, P. T.; ULLMANN, L. S.; BIONDO, A. W. Detection of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in carthorses in the metropolitan region

of Curitiba, Paraná, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 22, n. 1, p. 179-181, 2013.

FINNO, C. F.; PACKHAM, A. E.; WILSON, W.D.; GARDNER, I. A.; CONRAD, P. A.; PUSTERLA, N. Effects of blood contamination of cerebrospinal fluid on results of indirect fluorescent antibody tests for detection of antibodies against *Sarcocystis neurona* and *Neospora hughesi*. **Journal of veterinary diagnostic investigation**, v. 19, p. 286-289, 2007a.

FINNO, C. J.; ALEMAN, M.; PUSTERLA, N. Equine Protozoal Myeloencephalitis Associated with Neosporosis in 3 Horses. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 21, p. 1405-1408, 2007b.

FINNO, C. J.; EATON, S. J.; ALEMAN, M.; HOLLINGSWORTH, S. R. Equine protozoal myeloencephalitis due to *Neospora hughesi* and equine motor neuron disease in a mule. **Veterinary Ophthalmology**, v. 13, n. 4, p. 259-265, 2010.

FOREST, T. W.; ABOU-MADI, N.; SUMMERS, B. A.; TORNQUIST, S. J.; COOPER, B. J. *Sarcocystis neurona*-like encephalitis in a Canada lynx (*Felis lynx canadensis*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 31, p. 383-387, 2000.

FRANKLIN RP, MACKAY RJ, GILLIS KD, TANHAUSER SM, GINN PE, KENNEDY TJ. Effect of a single dose of ponazuril on neural infection and clinical disease in *Sarcocystis neurona*-challenged interferon-gamma knockout mice. **Veterinary Parasitology**, v. 114, p. 123-130, 2003.

FRENKEL, J. K. *Besnoitia wallacei* of cats and rodents: with a reclassification of other cyst-forming isosporoid coccidia. **Journal of Parasitology**, v. 63, n. 4, p. 611-628, 1977.

FRENKEL, J. K.; HEYDORN, A. O.; MEHLHORN, H.; HOMMEL, M. Sarcocystinae: *Nomina dubia* and available names. **Zeitschrift für Parasitenkunde**, v. 58, n. 2, 115-139, 1979.

FRENKEL, J. K.; PARKER, B. B. An apparent role of dogs in the transmission of *Toxoplasma gondii*. The probable importance of xenosmophilia. **Annals of the New York Academy of Science**, v. 791, p. 402-407, 1996.

FULTON, J. D. Studies on agglutination of *Toxoplasma gondii*. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 59, p. 694-704, 1965.

FURR, M.; KENNEDY, T. Cerebrospinal fluid and blood concentrations of toltrazuril 5% suspension in the horse after oral dosing. **Veterinary therapeutics : research in applied veterinary medicine**, v. 1, p. 125-132, 2000.

FURR, M.; MACKAY, R.; GRANSTROM, D.; SCHOTT, H.; ANDREWS, F. Clinical diagnosis of equine protozoal myeloencephalitis (EPM). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 16, n. 5, p. 618-621, 2002.

FURR, M. Antigen-specific antibodies in cerebrospinal fluid after intramuscular injection of ovalbumin in horses. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 16, n. 5, p. 588-592, 2002.

FURR, M. Immunity, pathophysiology, and diagnosis of equine protozoal myeloencephalitis. **Clinical Techniques in Equine Practice**, v. 5, n. 1, p. 3-8, 2006.

FURR, M.; MCKENZIE, H.; SAVILLE, W. J.; DUBEY, J. P.; REED, S. M.; DAVIS, W. Prophylactic administration of ponazuril reduces clinical signs and delays seroconversion in horses challenged with *Sarcocystis neurona*. **Journal of Parasitology**, v. 92, n. 3, p. 637-643, 2006.

FURR, M.; HOWE, D.; REED, S.; YEARGAN, M. Antibodies Coefficients for the Diagnosis of Equine Protozoal Myeloencephalitis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 25, p. 138-142, 2011.

FURUTA, P. I.; MINEO, T. W.; CARRASCO, A. O.; GODOY, G. S.; PINTO, A. A.; MACHADO, R. Z. *Neospora caninum* infection in birds: experimental infections in chicken and embryonated eggs. **Parasitology**, v. 134, n. 14, p. 1931-1939, 2007.

GARCIA, J. L.; NAVARRO, I. T.; OGAWA, L.; OLIVEIRA, R. C. Soroprevalência do *Toxoplasma gondii*, em suínos, bovinos, ovinos e equinos, e sua correlação com humanos, felinos e caninos, oriundos de propriedades rurais do norte do Paraná-Brasil. **Ciência Rural**, v. 29, p. 91-97, 1999.

GAZETA, G. S.; DUTRA, A. E. A.; NORBERG, A. N.; SERRA-FREIRE, N. M.; SOUZA, W. J. S.; AMORIM, M. A.; LOPES, L. M. S. Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em soros de equinos no estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 6, n. 2, p. 87-91, 1997.

GAZYAGCI, S.; MACUM, H. C.; BABUR, C. Investigation of seroprevalance of toxoplasmosis in mares and stallions in Ankara province, Turkey. **Iranian Journal of Veterinary Research**, Shiraz University, v. 12, n. 4, p. 354-356, 2011.

GOLDMAN, M.; CARVER, R. K.; SULZER, A. J. Reproduction of *Toxoplasma gondii* by internal budding. **Journal of Parasitology**, v. 44, p. 161-171, 1958.

GONDIM, L. F. P.; PINHEIRO, A. M.; SANTOS, P. O. M.; JESUS, E. E. V.; RIBEIRO, M. B.; FERNANDES, H. S.; ALMEIDA, M. A. O.; FREIRE, S. M.; MEYER, R.; McALLISTER, M. M. 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.; McALLISTER, M. M.; PITT, W. C.; ZEMLICKA, D. E. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v. 34, p. 159-161, 2004.

GONDIM, L. F. P. *Neospora caninum* in wildlife. **Trends in Parasitology**, v.22, p. 247-252, 2006.

GRANSTROM, D. E.; ALVAREZ JUNIOR, O.; DUBEY, J. P.; COMER, P. F.; WILLIAMS, N. M. Equine protozoal myelitis in Panamanian horses and isolation of *Sarcocystis neurona*. **Journal of Parasitology**, v. 78, p. 909-912, 1992.

GRANSTROM, D. E. Recent advances in the laboratory diagnosis of equine parasitic diseases. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 11, p. 437-442, 1995.

- GRANSTROM, D. E.; MCCRILLIS, S.; WULFF-STROBEL, C.; BAKER, C. B.; CARTER, W.; HARKINS, J. D.; TOBIN, T.; SAVILLE, W. J. Diclazuril and equine protozoal myeloencephalitis. In: Proceedings of the American Association of Equine Practices, Vol. 43, Phoenix, AZ, December 7-10, p. 13-14, 1997.
- GRANSTROM, D.E.; SAVILLE, W.J. Doenças neurológicas. In: REED, S.M. Medicina interna equina. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. p. 419-22.
- GRAY, M. L.; HARMON, B. G.; SALES, L.; DUBEY, J. P. Visceral neosporosis in a 10-years-old horse. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 8, p. 130-133, 1996.
- GUPTA, G. D.; LAKRITZ, J.; KIM, J. H.; KIM, D. Y.; KIM, J. K.; MARSH, A. E. Seroprevalence of *Neospora*, *Toxoplasma gondii* and *Sarcocystis neurona* antibodies in horses from Jeju island, South Korea. **Veterinary Parasitology**, v. 106, p. 193-201, 2002.
- HAMIR, A. N.; TORNQUIST, S. J.; GERROS, T. C.; TOPPER, M. J.; DUBEY, J. P. *Neospora caninum* associated equine protozoal myeloencephalitis. **Veterinary Parasitology**, v. 79, p. 269-274, 1998.
- HEMPHIL, A.; GOTTSTEIN, B. Identification of a major surface protein on *Neospora caninum* tachyzoites. **Parasitology Research**, v. 82, p. 497-504, 1996.
- HEMPHILL, A.; FUCHS, N.; SONDA, S.; HEHL, A. The antigenic composition of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v. 29, p. 1175-1188, 1999.
- HEMPHILL, A.; GOTTSTEIN, B.; CONRATHS, F. J.; MEERSCHMAN, F. D.; ELLIS, J. T.; INNES, E. A.; McALLISTER, M. M.; ORTEGA-MORA, L. M.; TENTER, A. M.; TREES, A. J.; UGGLA, A.; WILLIAMS, D. J. L.; WOUDA, W. Na European perspective on *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v. 30, p. 877-924, 2000.
- 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. 1, p. 41-61, 2005.
- HOANE, J. S.; MORROW, J. K.; SAVILLE, W. J.; DUBEY, J. P.; GRANSTROM, D. E.; HOWE, D. K. Enzyme-linked immunosorbent assays for detection of equine antibodies specific to *Sarcocystis neurona* surface antigens. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 12, n. 9, p. 1050-1056, 2005a.
- HOANE, J. S.; YEARGAN, M. R.; STAMPER, S.; SAVILLE, W. J.; MORROW, J. K.; LINDSAY, D. S.; HOWE, D. K. Recombinant NhSAG1 ELISA: a sensitive and specific assay for detecting antibodies against *Neospora hughesi* in equine serum. **Journal of Parasitology**, v. 91, n. 2, p. 446-452. 2005b.
- HOANE, J. S.; GENNARI, S. M.; DUBEY, J. P.; RIBEIRO, M. G.; BORGES, A. S.; YAI, L. E. O.; AGUIAR, D. M.; CAVALCANTE, G. T.; BONESI, G. L.; HOWE, D. K. 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, p.155-159, 2006.
- HOSSEINI, M. H.; MORAVEJI, M.; TAHAMTAN, Y.; RAHIMIAN, A.; MOHAMMADI, G. H.; NAMAVARI, M. M. Seroprevalence of *Neospora* spp. in Horses in North East of Iran. **Iranian Journal of Parasitology**, v. 6, n. 2, p. 64-68, 2011.

HUANG, C. C.; YANG, C. H.; WATANABE, Y.; LIAO, Y. K.; OOI, H. K. Finding of *Neospora caninum* in the wild brown rat (*Rattus norvegicus*). **Veterinary Research**, v. 35, p. 283-290, 2004.

HUGHES, J. M., WILLIAMS, R. H.; MORLEY, E. K. ; COOK, D. A. N.; TERRY, R. S.; MURPHY, R. G.; SMITH, J. E.; HIDE, G. The prevalence of *Neospora caninum* and coinfection with *Toxoplasma gondii* by PCR analysis in naturally occurring mammal populations. **Parasitology**, v. 132, p. 29-36, 2006.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Agropecuário 2006**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/estadosat/temas.php?sigla=rj&tema= censoagro>>. Acesso: 14 fev 2010.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Pecuário 2010**. Disponível em: < <http://cod.ibge.gov.br/2BF26>> <<http://cod.ibge.gov.br/L4G36>> <<http://cod.ibge.gov.br/F9W6>>. Acesso: 10 fev 2011.

INNES, E. A.; BARTLEY, P. M.; MALEY, S. W.; WRIGHT, S. E.; BUXTON, D. Comparative host-parasite relationships in ovine toxoplasmosis and bovine neosporosis and strategies for vaccination. **Vaccine**, n. 25, p. 5495-5503, 2007.

IUCN 2013. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2013.2. Disponível em: <www.iucnredlist.org>. Acesso: 14 dez 2013.

JAKUBEK, E. B.; LUNDÉN, A.; UGGLA, A. Seroprevalences of *Toxoplasma gondii* and *Neospora* sp. infections in Swedish horses. **Veterinary Parasitology**, v. 138, p. 194-199, 2006.

JOHNSON, A. L.; BURTON, A. J.; SWEENEY, R. W. Utility of 2 immunological tests for antemortem diagnosis of equine protozoal myeloencephalitis (*Sarcocystis neurona* Infection) in naturally occurring cases. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 24, n. 5, p. 1184-1189, 2010.

JOHNSON, A. L. Update on infectious diseases affecting the equine nervous system. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 27, p. 573-587, 2011.

KARATEPE, B.; BABÜR, C.; KARATEPE, M.; KILIÇ, S. Seroprevalence of toxoplasmosis in horses in Niğde Province of Turkey. **Tropical Animal Health and Production**, v. 42, p. 385-389, 2010.

KAWAZOE, U. *Toxoplasma gondii*. In: NEVES, D. P. (Ed.) *Parasitologia Humana*. 11.ed. São Paulo: Atheneu, 2005. p. 494.

KILBAS, Z. G.; ADANIR, R.; AVCIOGLU, H. Seroprevalence of *Neospora caninum* in race horses in Ankara, Turkey. **Acta Parasitologica**, v. 53, p. 315-316, 2008.

KING, J. S.; SLAPETA, J.; JENKINS, D. J.; AL-QASSAB, S. E.; ELLIS, J. T.; WINDSOR, P. A. Australian dingoes are definitive host of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v. 34, p. 159-161, 2010.

KISTHARDT, K. K.; LINDSAY, D. S. Equine protozoal myeloencephalitis. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 19, p. 8-13, 1997.

- KLIGLER, E. B.; SHKAP, V.; BANETH, G.; MILDENBERG, Z.; STEINMAN, A. Seroprevalence of *Neospora* spp. among asymptomatic horses, aborted mares and horses demonstrating neurological signs in Israel. **Veterinary Parasitology**, v. 148, p. 109-113, 2007.
- KOYAMA, T., KOBAYASHI, Y., OMATA, Y.; YAMADA, M.; FURUOKA, H.; MAEDA, R.; MATSUI, T.; SAITO, A.; MIKAMI, T. Isolation of *Neospora caninum* from the brain of a pregnant sheep. **Journal of Parasitology**, v. 87, p. 1486-1488, 2001.
- KWON, H. J.; KIM, J. H.; KIM, M.; LEE, J. K.; HWANG, W. S.; KIM, D. Y. Antiparasitic activity of depudecin on *Neospora caninum* via the inhibition of histone deacetylase. **Veterinary Parasitology**, v. 112, p. 269-276, 2003.
- LAM, K. K. H.; WATKINS, K. L.; CHAN, C.W. First report of equine protozoal myeloencephalitis in Hong Kong. **Equine Veterinary Education**, v. 11, p. 54-56, 1999.
- LARANGEIRA, N. L.; ISHIZUKA, M. M.; HYAKUTAKE, S. Prevalência da toxoplasmose equina avaliada pela técnica de imunofluorescência indireta, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana**, v. 99, n. 2, p. 158-162, 1985.
- LeBLANC, M. M. Immunologic considerations. In: KOTERBA, A.M.; DRUMMOND, W.H.; KOSCH, P.C. (Eds.). **Equine clinical neonatology**. Philadelphia: Lea&Febiger, 1990. p. 275-295.
- LEMBERGER, K. Y.; GONDIM, L. F. P.; PESSIER, A. P.; MCALLISTER M. M.; KINSEL, M. J. *Neospora caninum* infection in a free-ranging raccoon (*Procyon lotor*) with concurrent canine distemper virus infection **Journal of Parasitology**, v. 91, p. 960-961, 2005.
- LEVINE, N. D.; CORLISS, J. O.; COX, F. E. G.; DEROUX, G.; GRAIN, J.; HONIGBERG, B. M.; LEEDALE, G. F.; LOEBLICH, A. R.; LOM, J.; LYNN, D.; MERINFELD, E. G.; PAGE, F. C.; POLJANSKY, G.; SPRAGUE, V.; VAVRA, J.; WALLACE, F.G. A newly revised classification of the Protozoa. **Journal of Protozoology**, v. 27, p. 37-58, 1980.
- LINDSAY, D. S.; STEINBERG, H.; DUBIELZIG, R. R.; SEMRAD, S. D.; KONKLE, D. M.; MILLER, P. E.; BLAGBORN, B. L. Central nervous system neosporosis in a foal. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 8, p. 507-510, 1996.
- LINDSAY, D. S.; ZHANG, Y.; DUBEY, J. P.; PALMA, K. Determination of the activity of nitazoxanide against *Sarcocystis neurona* in cell cultures. In: Proceedings of the American Association of Veterinary Parasitology Annual Meeting, Baltimore, MD, p. 44, 1998.
- LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P. Determination of the activity of pyrimethamine, trimethoprim, sulfonamides, and combinations of pyrimethamine and sulfonamides against *Sarcocystis neurona* in cell cultures. **Veterinary Parasitology**, v. 82, p. 205-210, 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, 1999.
- LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P.; KENNEDY, T. J.; Determination of the activity of ponazuril against *Sarcocystis neurona* in cell cultures. **Veterinary Parasitology**, v. 92, p. 165-169, 2000.

- LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P. Determination of the activity of diclazuril against *Sarcocystis neurona* and *Sarcocystis falcatula* in cell cultures, **Journal of Parasitology**, v. 86, p. 164-166, 2000.
- LINDSAY, D. S. Neosporosis: an emerging protozoal disease of horses. **Equine Veterinary Journal**, v. 33, p. 116-118, 2001.
- LINDSAY, D. S.; MITCHELL, S. M.; YANG, J.; DUBEY, J. P.; GOGAL JUNIOR, R. M.; WITONSKY, S. G. Penetration of equine leukocytes by merozoites of *Sarcocystis neurona*. **Veterinary Parasitology**, v. 138, p. 371-376, 2006.
- LING, C. W.; WAN, P. D. A report of investigations of antibodies to *Toxoplasma gondii* in the horse and mule in Sichuan Province. **Zhongguo Shouyi Ke-ji**, v. 4, p. 32-34, 1984.
- LINS, L. A.; FEIJÓ, L. S.; NOGUEIRA, C. E. W. Mieloencefalite protozoária equina nas regiões da Campanha e do sul do Rio Grande do Sul no período de 1998-2006. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v.11, n.3, p. 248-250, 2012.
- LOCATELLI-DITTRICH, R. Diagnóstico sorológico, isolamento, cultivo e caracterização molecular de *Neospora caninum* em bovinos leiteiros e em equinos no Estado do Paraná, Brasil. 2002. 184f. Tese (Doutorado) - Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná. 2002.
- LOCATELLI-DITTRICH, R.; RICHARTZ, R. R. T. B.; GASINO-JOINEAU, M. E.; PINCKNEY, R. D.; DE SOUSA, R. S.; LEITE, L. C.; THOMAZ-SOCCOL, V. Isolation of *Neospora caninum* from a blind calf in Paraná, southern Brazil. **The Veterinary record**, v. 153, p. 366-367, 2003.
- LOCATELLI-DITTRICH, R., V. THOMAZ-SOCCOL, R. R. T. B. RICHARTZ, M. E. GASINO-JOINEAU, R. VANDER VINNE, AND R. D. PINCKNEY. Isolamento de *Neospora caninum* de feto bovino de rebanho leiteiro no Paraná. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, p. 103-109. 2004.
- LOCATELLI-DITTRICH, R.; DITTRICH, J. R.; RICHARTZ, R. R. T. B.; GASINO-JOINEAU, M. E.; ANTUNES, J.; PINCKNEY, R. D.; DECONTO, I.; HOFFMANN, D. C. S.; THOMAZ-SOCCOL, V. Investigation of *Neospora* sp. and *Toxoplasma gondii* antibodies in mares and in precolostral foals from Parana state, Southern Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 135, p. 215-221, 2006a.
- LOCATELLI-DITTRICH, R.; HOFFMANN, D. C. S.; DITTRICH, J. R. Neosporose Equina – Revisão. **Archives of Veterinary Science**, v. 11, n. 3, p. 1-10, 2006b.
- MacKAY, R. J. Equine protozoal myeloencephalitis. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 13, p. 79-96, 1997.
- MacKAY, R. J.; GRANSTROM, D. E.; SAVILLE, W. J. A.; REED, S. M. Equine Protozoal Myeloencephalitis. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 16, p. 405-25, 2000.
- MacKAY, R. J. Equine Protozoal Myeloencephalitis. In: Current Therapy in Equine Medicine. v. 5, Missouri: Elsevier Science, 2003.

- MacKAY, R. J. Equine Protozoal Myeloencephalitis: treatment, prognosis, and prevention. **Clinical Techniques in Equine Practice**, v. 5, p. 9-16, 2006.
- MacKAY, R. J. Equine protozoal myeloencephalitis: managing relapses. *Compendium Equine* January/February, p. 24-27, 2008.
- MACRUZ, R.; LENCI, R.; ISHUZUKA, M. M.; MIGUEL, O.; DA CUNHA, R. A. F. Toxoplasmose em equinos PSI estudo sorológico. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Faculdade de São Paulo**, v. 12, p. 277-82, 1975.
- MANSFIELD, L. S.; MEHLER, S.; NELSON, K.; ELSHEIKA, H. M.; MURPHY, A.J.; KNUST, B.; TANHAUSER, S. M.; GEARHART, P. M.; ROSSANO, M. G.; BOWMAN, D. D.; SCHOTT, H. C.; PATTERSON, J. S. Brown-headed cowbirds (*Molothrus ater*) harbor *Sarcocystis neurona* and act as intermediate hosts. **Veterinary parasitology**, v. 153, n. 1-2, p. 24-43, 2008.
- MAPA. Equideos. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/equideos>>. Acesso em: 17 out. 2013.
- MARCA, M. C.; RAMOS, J. J.; LOSTE, A.; SAEZ, T.; SANZ, M. C. Comparison of indirect immunofluorescent antibody test and modified direct agglutination test methods for detection of *Toxoplasma gondii* antibodies in adult sheep in Spain. **Veterinary Parasitology**, v. 67, p. 99-103, 1996.
- MARQUES, L. C.; COSTA, A. J.; LOPES, C. W. G.; DE MORAES, F. R.; DE MORAES, F. R. E. Experimental toxoplasmosis in pregnant mares: a study of fetuses and placentas. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 32, p. 246-250, 1995.
- MARQUES, L. C.; COSTA, A. J.; LOPES, C. W. G.; LACERDA NETO, J. C. Experimental toxoplasmosis in pregnant mares: clinical signs, parasitemia and immunological observations. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 19, n. 1, p. 45-49, 1998.
- MARQUES, J. M.; ISBRECHT, F. B.; LUCAS, T. M.; GUERRA, I. M. P.; DALMOLIN, A.; SILVA, R. C. S.; LANGONI, H.; SILVA, A. V. Detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em animais de uma comunidade rural do Mato Grosso do Sul, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, n. 4, p. 889-898, 2009.
- MARSH, A. E.; BARR, B. C.; MADIGAN, J.; LAKRITZ, J.; NORDHAUSEN, R.; CONRAD, P. A. Neosporosis as a cause of equine protozoal myeloencephalitis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 209, p. 1907-1913, 1996.
- MARSH, A. E.; BARR, B. C.; PACKHAM, A. E.; CONRAD, P. A. Description of a new *Neospora* species (Protozoa: Apicomplexa: Sarcocystidae). **The Journal of Parasitology**, v. 84, p. 983-991, 1998.
- MARSH, A. E.; HOWE, D. K.; WANG, G.; BARR, B. C.; CANNON, N.; CONRAD, P. A. Differentiation of *Neospora hughesi* from *Neospora caninum* based on their immunodominant surface antigen, SAG1 and SRS2. **International Journal for Parasitology**, v. 29, p. 1575-1582, 1999.

- MARSH, A. E.; DENVER, M.; HILL, F. I.; MCELHANEY, M. R.; TRUPKIEWICZ, J. G.; STEWART, J.; TELL, L. Detection of in the brain of a Grant's zebra (*Equus burchelli bohmi*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 31, p. 82-86, 2000.
- MARSH, A. E.; LAKRITZ, J.; JOHNSON, P. J.; MILLER, M. A.; CHIANG, Y. W.; CHU, H. J. Evaluation of immune responses in horses immunized using a killed vaccine. **Veterinary Therapeutics**, v. 5, n. 1, p. 34-42, 2004.
- MASRI, M. D.; LOPEZ DE ALDA, J.; DUBEY, J. P. Associated ataxia in horses in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 44, p. 311-4, 1992.
- MAYHEW, I. G.; DE LAHUNTA, A.; WHITLOCK, R. H.; POLLOCK, R. V. H. Equine protozoal myeloencephalitis. In: Proceedings of the 22nd Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners; 1976, Dallas. Dallas: AAEP; 1976. p.107-14.
- MAYHEW, I. G.; GREINER, E. C. Protozoal diseases. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 2, p. 439-59, 1986.
- McALLISTER, M. M.; DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; JOLLEY, W. R.; WILLS, R. A.; McGUIRE, A. M. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v. 28, p. 1473-1478, 1998.
- McALLISTER, M. M.; BJÖRKMAN, C.; ANDERSON-SPREECHER, R.; ROGERS, D. G. Evidence of point-source exposure to *Neospora caninum* and protective immunity in a herd of beef cows. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 217, p. 881-887, 2000.
- McCLURE, S.; PALMA, K. Treatment of equine protozoal myeloencephalitis with nitazoxanide. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 19, p. 639-641, 1999.
- McDOLE, M. G.; GAY, J. M. Seroprevalence of antibodies against *Neospora caninum* in diagnostic equine serum samples and their possible association with fetal loss. **Veterinary Parasitology**, v. 105, p. 257-260, 2002.
- McDONALD, D. R.; CLEARY, D. J. Toxoplasma in the equine. **Swest Veterinary**, v. 23, p. 212-214, 1970.
- MENDONÇA, A. O.; CERQUEIRA, E. J. L.; ARAUJO, W. N.; MORAES-SILVA, E.; SHIMABUKURO, F. H.; SARKIS, D. T.; SHERLOCK, I.; LANGONI, H. Inquérito sorológico para toxoplasmose em equídeos procedentes de duas regiões do estado da Bahia, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 22, p. 115-118, 2001.
- MIAO, O.; WANG, X.; SHE, L.; FAN, Y.; YUAN, F.; YANG, J.; ZHU, X.; ZOU, F. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in horses and donkeys in Yunnan Province, Southwestern China. **Parasites & Vectors**, v. 6, p. 2-5, 2013.
- MILLER, M. M.; SWEENEY, C. R.; RUSSELL, G. E.; SHEETZ, R. M.; MORROW, J. K. Effects of blood contamination of cerebrospinal fluid on western blot analysis for detection of antibodies against and on albumin quotient and immunoglobulin G index in horses. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 215, n. 1, p. 67-71, 1999.

MITCHELL, S. M.; ZAJAC, A. M.; KENNEDY, T.; DAVIS, W.; DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S. Prevention of recrudescent toxoplasmic encephalitis using ponazuril in an immunodeficient mouse model. **Journal Eukariotic Microbiology**, v. 53, p. 164-165, 2006.

MODRY, D., SLAPETA, J.R.S.; JIRKU, M.; OBORNÍK, M.; LUKES, J.; KOUDELA, B. Phylogenetic position of a renal coccidium of the European green frogs, '*Isospora lieberkuehni* Labbe!, 1894 (Apicomplexa: Sarcocystidae) and its taxonomic implications. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 51, n. 3, p. 767–772, 2001.

MORAVEJI, M.; HOSSEINI, M. H.; AMRABADI, O.; RAHIMIAN, A.; NAMAZI, F.; NAMAVARI, M. Seroprevalence of *Neospora* spp. in horses in South of Iran. **Tropical Biomedicine**, v. 28, n. 3, p. 514-517, 2011.

MORENO, A. M.; LINHARES, G. F. C.; SOBESTIANSKY, J.; MATOS, M. P. C.; BARCELLOS, D. 2007. Doenças em Suínos. In: SOBESTIANSKY, J.; BARCELLOS, D. (Eds). Goiânia: Cânone, 2007. p. 770.

MORLEY, S.; TRAUB-DARGATZ, J.; SAVILLE, W.; WAGNER, B.; GARBER, L.; HILLBERG-SEITZINGER, A. Equine protozoal myeloencephalitis. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 21, n. 6, p. 262-270, 2001.

MOSKWA, B.; PASTUSIAK, K.; BIEN, J.; CABAJ, W.: The first detection of *Neospora caninum* DNA in the colostrum of infected cows. **Parasitology Research**, v. 100, p. 633-636, 2007.

MULLANEY, T.; MURPHY, A. J.; KIUPEL, M.; BELL, J. A.; ROSSANO, M. G.; MANSFIELD, L. S. Evidence to support horses a natural intermediate host for *Sarcocystis neurona*. **Veterinary Parasitology**, v. 133, p. 27-36, 2005.

NAVES, C. S.; FERREIRA, F. A.; CARVALHO, F. S. R.; COSTA, G. H. N. Soroprevalência da Toxoplasmose em equinos da raça Mangalarga Marchador no município de Uberlândia, Minas Gerais. **Veterinária Notícias**, v. 11, n. 1, p. 45-52, 2005.

NEVES D. P. 2003. Parasitologia dinâmica. São Paulo: Atheneu, 474p.

NICOLLE, C.; MANCEAUX, L. Sur une infection a` corps de Leishman (ou organismes voisins) du gondi. **Comptes rendus des seances de L'Academie des sciences**, v. 147, p.763-766, 1908.

OLIVEIRA FILHO, R. B.; MALTA, K. C.; OLIVEIRA, J. M.B.; ALBUQUERQUE, P. P. F.; MOTA, R. A.; SANTANA, V. L. A.; PINHEIRO JÚNIOR, J. W. Situação epidemiológica da infecção por *Toxoplasma gondii* em equídeos na microrregião do Brejo Paraibano. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, p. 995-1000, 2012.

ORTEGA-MORA, L. M.; FERRE, I.; DEL-POZO, I.; CAETANO-DA- SILVA, A.; COLLANTES-FERNÁNDEZ, E.; REGIDOR -CERRILLO, J.; UGARTE -GARAGALZA, C.; ADURIZ, G. Detection of *Neospora caninum* in semen of bulls. **Veterinary Parasitology**, v. 117, p. 301-308, 2003.

PACKHAM, A. E.; SVERLOW, K. W.; CONRAD, P. A.; LOOMIS, E. F.; ROWE, J. D.; ANDERSON, M. L.; MARSH, A. E.; CRAY, C.; BARR, B. C. 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.; CONRAD, P. A.; WILSON, W. D.; JEANES, L. V.; SVERLOW, K. W.; GARDNER, I. A.; DAFT, B. M.; MARSH, A. E.; BLAGBURN, B. L.; FERRARO, G. L.; BARR, B. C. 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, p. 1239-1246, 2002.

PATITUCCI, A. N.; M. J.; PÉREZ, M. J.; CÁRCAMO, C. M.; BAEZA, L. Presencia de anticuerpos sericos contra *Neospora caninum* en equinos em Chile. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v. 36, p. 203-206, 2004.

PENKERT, R.A. Possible spread of toxoplasmosis by feed contaminated for cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 162, p. 924, 1973.

PETERS, M.; WOHLSEIN, P.; KNIERIEM, A.; SCHARES, G. *Neospora Caninum* infection associated with stillbirths in captive antelopes (*Tragelaphus imberbis*). **Veterinary Parasitology**, v. 97, p. 153-157, 2001a.

PETERS, M.; LÜTKEFELS, E.; HECKEROTH, A. R.; SCHARES, G. Immunohistochemical and ultrastructural evidence for *Neospora caninum* tissue cysts in skeletal muscles of naturally infected dogs and cattle. **International Journal for Parasitology**, v. 31, p. 1144-1148, 2001b.

PITEL, P. H.; PRONOST, S.; ROMAND, S.; THULLIEZ, P.; FORTIER, G.; BALLETT, J. J. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in horses in France. **Equine Veterinary Journal**, v.33, n. 2, p. 205-207, 2001.

PITEL, P. H.; PRONOST, S.; GARGALA, G.; ANRIOUD, D.; TOQUET, M.; FOUCHER, N.; COLLOBERT-LAUGIER, C.; FORTIER, G.; BALLETT, J. J. Detection of *Sarcocystis neurona* antibodies in French horses with neurological signs. **International journal for parasitology**, v. 32, p. 481-485, 2002.

PITEL, P. H.; LINDSAY, D. S.; CAURE, S.; ROMAND, S.; PRONOST, S.; GARGALA, G.; MITCHELL, S. M.; HARY, C.; THULLIEZ, P.; FORTIER, G.; BALLETT, J. J. Reactivity against *Sarcocystis neurona* and *Neospora* by serum antibodies in healthy French horses from two farms with previous equine protozoal myeloencephalitis-like cases. **Veterinary Parasitology**, v. 111, p. 1-7, 2003a.

PITEL, P. H.; ROMAND, S.; PRONOST, S.; FOUCHER, N.; GARGALA, G.; MAILLARD, K.; THULLIEZ, P.; COLLOBERT-LAUGIER, C.; TAINTURIER, D.; FORTIER, G.; BALLETT, J. J. Investigation of *Neospora* sp. Antibodies in aborted mares from Normandy, France. **Veterinary Parasitology**, v. 118, p. 1-6, 2003b.

PIVOTO, F. L.; ANTONELLO, A. M.; CAMILLO, G.; BRAUNIG, P.; SANGIONI, L.A.; POMPERMAYER, E.; SILVEIRA, F. Anticorpos anti-*Neospora* spp.em amostras sorológicas de potros pré-colostrais pela técnica de imunofluorescência indireta. **Ciência Rural**, v. 42, n. 6, 2012.

- PIZZI, H. L. Toxoplasmosis. Argentina. Rhone poulenc Rorer Argentina, p. 91, 1997.
- PRONOST, S.; PITEL, P. H.; ROMAND, S.; THULLIEZ, P.; COLLOBERT, C.; FORTIER, G. *Neospora caninum*: first case in France in an aborted equine fetus. **Pratique Veterinaire Equine**, v. 31, p. 111-114, 1999.
- PUSTERLA, N.; CONRAD, P. A.; PACKHAM, A. E.; MAPES, S. M.; FINNO, C. J.; GARDNER, I. A.; BARR, B. C.; FERRARO, G. L.; WILSON, W. D. Endogenous transplacental transmission of *Neospora hughesi* in Naturally infected horses. **Journal of Parasitology**, v. 97, n. 2, p. 281-285, 2011.
- REED, S.M. Neurology is not a euphemism for necropsy: a review of selected neurological diseases affecting horses. In: Proceedings of the 54th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners, San Diego, California, pp. 78-109, 2008.
- REITER-OWONA, I.; PETERSON, E.; JOYNSON, D.; ASPÖCK, H.; DARDÉ, M. L.; DISKO, R.; DREAZEN, O.; DUMON, H.; GRILLO, R.; GROSS, U.; HAYDE, M.; HOLLIMAN, R.; HO-YEN, D. O.; JANITSCHKE, P. A.; JENUM, P. A.; NASER, K.; OLSZEWSKI, M.; THULLIEZ, P.; SEITZ, H. M. The past and present role of the Sabin-Feldman dye test in the serodiagnosis of toxoplasmosis. **Bull World Health Organ**, v. 77, p. 929-35, 1999.
- REJMANEK, D.; MILLER, M. A.; GRIGG, M. E.; CROSBIE, P. R.; CONRAD, P. A. Molecular characterization of *Sarcocystis neurona* strains from opossums (*Didelphis virginiana*) and intermediate hosts from Central California. **Veterinary Parasitology**, v. 170, n. 1-2, p. 20-19, 2010.
- REMYINGTON, J. S.; MILLER, M. J.; BROWNLEE, I. E. IgM antibodies in acute toxoplasmosis. II. Prevalence and significance in acquired cases. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v. 71, p. 855-866, 1968.
- REMYINGTON, J. S. The present status of the IgM fluorescent antibody technique in the diagnosis of congenital toxoplasmosis. **Journal of Pediatrics**, v. 75, p. 1116-1124, 1969.
- RICKARD, L. G.; BLACK, S. S.; RASHMIR-RAVEN, A.; HURST, G.; DUBEY, J. P. Risk factors associated with the presence of *Sarcocystis neurona* sporocysts in opossums. **Veterinary Parasitology**, v. 102, p. 179-184, 2001.
- RODRIGUES, A. A. R.; GENNARI, S. M.; AGUIAR, D. M.; SREEKUMAR, C.; HILL, D. E.; MISKA, K. B.; VIANNA, M. C. B.; DUBEY, J. P. Shedding of *Neospora caninum* oocysts by dogs fed tissues from naturally infected water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 124, p. 139-150, 2004.
- ROMERO, J. J.; PEREZ, E.; FRANKENA, K. Effect of a killed whole *Neospora caninum* tachyzoite vaccine on the crude abortion rate of Costa Rican dairy cows under field conditions. **Veterinary Parasitology**, v. 123, p. 149-159, 2004.
- RONEN, N. Putative equine protozoal myeloencephalitis in an imported Arabian filly. **Journal of the South African Veterinary Association**, v. 63, p. 78-79, 1992.
- ROONEY, J. R.; PRICKETT, M. E.; DELANEY, F. M.; CROWE, F. W. Focal myelitis-encephalitis in horses. **Cornell Veterinary**, v. 50, p. 494-501, 1970.

ROQUEPLO, C.; HALOS, L.; CABRE, O.; DAVOUST, B. *Toxoplasma gondii* in wild and domestic animals from New Caledonia. **Parasite**, v. 18, n. 4, p. 345-348, 2011.

SABIN, A. B.; FELDMAN, H. A. Dyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoan parasite (*Toxoplasma*). **Science**, v. 108, p. 660-663, 1948.

SABIN, A. B.; WARREN, J. Therapeutic effectiveness of certain sulfonamides on infection by an intracellular protozoan (*Toxoplasma*). **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**. v. 51, p. 19-23, 1942.

SANGIONI, L. A.; BOTTON, S. A.; CARGNELUTTI, J. F.; CADORE, G. C.; CEZAR, A. S.; WEIBLEN, R.; WEIBLEN, R.; LOPES, S. T. A.; VOGEL, F. S. F. Pesquisa de anticorpos anti-*Neospora* spp. e anti-herpesvírus equino em cavalos de tração no município de Santa Maria, RS, Brasil. **Ciência Rural**, v. 41, n. 2, p. 321-323, 2011.

SAVILLE, W. J. A.; REED, S. M.; GRANSTROM, D. E.; HINCHCLIFF, K. W.; KOHN, C. W.; WITTUM, T. E.; STAMPER, S. Seroprevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona* in horses residing in Ohio. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 210, p. 519-24, 1997.

SAVILLE, W. J. A.; REED, S. M.; MORLEY, P. S. Examination of risk factors for equine protozoal myeloencephalitis. In: Proceedings of the 45th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners; 1999, Albuquerque. Albuquerque: AAEP; 1999. p.48-9.

SAVILLE, W. J. A.; REED, S. M.; MORLEY, P.S.; GRANSTROM, D. E.; KOHN, C. W.; HINCHCLIFF, K. W.; WITTUM, T. E. Analysis of risk factors for the development of equine protozoal myeloencephalitis in horses. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 217, p. 1174-80, 2000.

SAVILLE, W. J.; STICH, R. W.; REED, S. M.; NJOKU, C. J.; OGLESBEE, M. J.; WUNSCHMANN, A.; GROVER, D. L.; LAREW-NAUGLE, A. L.; STANEK, J. F.; GRANSTROM, D. E.; DUBEY, J. P. Utilization of stress in the development of an equine model for equine protozoal myeloencephalitis. **Veterinary Parasitology**, v. 95, n. 2-4, p. 211-222, 2001.

SAVILLE, W. J. A.; REDD, S. M.; DUBEY, J. P. Prevention of Equine Protozoal Myeloencephalitis (EPM). In: AAEP Proceedings, v. 48, p. 181-185, 2002.

SCHARES, G.; HEYDORN, A. O.; CÜPPERS, A.; CONRATHS, F. J.; MEHLHORN, H. *Hammondia heydorni*-like oocysts shed by a naturally infected dog and *Neospora caninum* NC-1 cannot be distinguished. **Parasitology Research**, v. 87, p. 808-816. 2001.

SEEFELDT, S. L.; KIRKBRIDE, C. A.; DUBEY, J. P. Comparison of enzyme-linked immunosorbent assay, indirect fluorescent antibody test, and direct agglutination test for detecting *Toxoplasma gondii* antibodies in naturally aborted ovine fetuses. **Journal Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 1, p. 124-127, 1989.

SERRANO-MARTÍNEZ, E.; COLLANTES-FERNÁNDEZ, E.; RODRÍGUEZ-BERTOS, A.; CASAS-ASTOS, E.; ÁLVAREZ-GARCÍA, G.; CHÁVEZ-VELÁSQUEZ, A.; ORTEGA-MORA, L. M.. 2004. *Neospora* species-associated abortion in alpacas (*Vicugna pacos*) and llamas (*Llama glama*). **The Veterinary record**, v. 155, p. 748-749, 2004.

- SERRANO- MARTINEZ, E.; FERRE, I.; OSORO, K.; ADURIZ, G.; MOTA, R. A.; MARTINEZ, A.; DEL- POZO, I.; HIDALGO, C. O.; ORTEGA - MORA, L. M. Intrauterine *Neospora caninum* inoculation of heifers and cows using contaminated semen with different numbers of tachyzoites. **Theriogenology**, v. 67, p. 729-737, 2007.
- SHAAPAN, R. M.; GHAZY, A.A. Isolation of *Toxoplasma gondii* from horse meat in Egypt. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 10, n.1, p. 174-177, 2007.
- SHAAPAN, R. M.; ABO-ELMAATY, A. M.; EL-RAZIK, K. A. A.; EL-HAFEZ, S. M. A. PCR and serological assays for detection of *Toxoplasma gondii* infection in sport horses in Cairo, Egypt. **Asian Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 7, n. 2, p. 158-165, 2012.
- SILVA, A. V.; LANGONI, H. Alimentos de origem animal e a toxoplasmose humana. **Higiene Alimentar**. v. 14, p. 34-39, 2000.
- SILVA, A. V.; CUTOLO, A. A.; LANGONI, H. Comparação da reação de imunofluorescência indireta e do método de aglutinação direta na detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma* em soros de ovinos, caprinos, caninos e felinos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 69, p. 7-11, 2002.
- SILVA, R. A. M. S. Antibodies to toxoplasmosis in horses from Pantanal, Brazil. **Veterinária e Zootecnia**, v. 12, n. 1/2, p. 20-25, 2005.
- SIMPSON, C. F.; MAYHEW, I. G. Evidence for *Sarcocystis* as the etiologic agent of equine protozoal myeloencephalitis. **Journal of Protozoology**, v. 27, n. 3, p. 288-292, 1980.
- SMITH, D. D. The Sarcocystidae: *Sarcocystis*, *Frenkellia*, *Toxoplasma*, *Besnoitia*, *Hammondia*, and *Cystoisospora*. **Journal of Protozoology**, v. 28, n. 2, p. 262-265, 1981.
- SOFALY, C. D.; REED, S. M.; GORDON, J. C.; DUBEY, J. P.; OGLEEBEE, M. J.; NJOKU, C. J.; GROVER, D. L.; SAVILLE, W. J. Experimental induction of equine protozoan myeloencephalitis (EPM) in the horse: effect of *Sarcocystis neurona* sporocyst inoculation dose on the development of clinical neurologic disease. **Journal of Parasitology**, v. 88, n. 6, p. 1164-1170, 2002.
- SOLDATI, S., M. KIUPEL, A. WISE, R. MAES, C. BOTTERON, AND N. ROBERT. Meningoencephalomyelitis caused by *Neospora caninum* in a juvenile fallow deer (*Dama dama*). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 51, p. 280-283, 2004.
- SPLENDRE, A. Un nuovo protozoa parassita de' conigli. Incontrato nelle lesioni anatomiche d'une malattia che ricorda in molti punti Il Kala-azar dell' uomo. Nota preliminare pel. **Revista de Sociedade Científica de São Paulo**, v. 3, p. 109-112, 1908.
- SPÓSITO FILHA, E.; DO AMARAL. V.; MACRUZ, R.; REBOUÇAS, M. M.; SANTOS, S. M.; BORG, F. Infecção experimental em equinos com taquizoitos de *Toxoplasma gondii*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 1, n.1, p. 51-54, 1992.
- STELMANN, U. J. P.; AMORIM, R. M. Mieloencefalite protozoária equina. **Veterinária e Zootecnia**, v. 17, n. 2, p. 163-176, 2010.

- STELMANN, U. J. P.; ULLMANN, L. S.; LANGONI, H.; AMORIM, R.M. Equine neosporosis: search for antibodies in cerebrospinal fluid and sera from animals with history of ataxia. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 33, n. 2, p. 99-102, 2011a.
- STELMANN, U. J. P.; SILVA, R. C.; LANGONI, H.; BORGES, A. S.; AMORIM, R. M. Anticorpos contra *Toxoplasma gondii* em equinos com histórico de ataxia. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 33, p. 200-202, 2011b.
- TENTER, M.A.; HECKEROTH, A.R.; WEISS, L.M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. **International Journal for Parasitology**, v. 30, p. 1217-1258, 2000.
- TILLOTSON, K.; MCCUE, P. M.; GRANSTROM, D. E.; DARGATZ, D. A.; SMITH, M. O.; TRAUB-DARGATZ, J. L. Seroprevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona* in horses residing in northern Colorado. **Journal Equine Veterinary Science**, v. 10, p. 122-26, 1999.
- TORRES, L. F. B.; SLUMINSKY, B. G.; TIRONI, F. A.; NORONHA, L.; GIRON, R.L.; TELLES, J. E. Q. A contribuição da imuno-histoquímica em patologia cirúrgica: experiência de 10 anos. **Revista Médica do Paraná**, v. 56, p. 31-8, 1998.
- TOSCAN, G.; CADORE, G. C.; PEREIRA, R. C. F.; SILVA, G. B.; CEZAR, A. S.; SANGIONI, L. A.; OLIVEIRA, L. S. S.; VOGEL, F. S. 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.
- TOSCAN, G.; VOGEL, F. S. F.; CADORE, G. C.; CEZAR, A. S.; SANGIONI, L. A.; PEREIRA, R. C. F.; OLIVEIRA, L. S. S.; LOPES, S. T. A. Occurrence of antibodies anti-*Neospora* spp. in cart horses and Crioula breed horses from Rio Grande do Sul State. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 1, p. 258-261, 2011.
- TRIOLA, M.F. **Introdução à Estatística**. 9^a.ed. Rio de Janeiro: LTC., 2005. 682p.
- TURNER, C. B.; SAVVA, D. Evidence of *Toxoplasma gondii* in an equine placenta. **Veterinary Record**, v. 7, p. 96-96, 1990.
- TURNER, C. B.; SAVVA, D. Detection of *Toxoplasma gondii* in equine eyes. **Veterinary Record**, v. 129, p. 128-128, 1991.
- TURNER, C. B.; SAVVA, D. Transplacental infection of a foal with *Toxoplasma gondii*. **Veterinary Record**, v. 131, p. 179-180, 1992.
- URCELAY, S.; MAINO, M.; PINOCHET, E.; CASTRO, Q. F. Toxoplasmosis of horses in Chile 1980. **Archivos de Medicina Veterinária**, v.14, n.2, p. 127-130, 1982.
- VARDELEON, D.; MARSH, A. E.; THORNE, J. G.; LOCH, W.; YOUNG, R.; JOHNSON, P. J. Prevalence of *Neospora hughesi* and *Sarcocystis neurona* antibodies in horses from various geographical locations. **Veterinary Parasitology**, v. 95, p. 273-282, 2001.
- VATISTAS, N.; FENGER, C.; PALMA K.; SIFFERMAN, R. Initial experiences with the use of nitazoxanide in the treatment of equine protozoal encephalitis in Northern California. **Equine Practice**, v. 21, p. 18-21, 1999.

VIANNA, M. C. B.; SREEKUMAR, C.; MISKA, K. B.; HILL, D. E.; DUBEY, J. P. Isolation of *Neospora caninum* from naturally infected white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). **Veterinary Parasitology**, v. 129, p. 253-257, 2005.

VIDOTTO, O. Toxoplasmose: epidemiologia e importância da doença na saúde animal. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 13, p. 69-75, 1992.

VIDOTTO, O.; KANO, F. S.; FREIRE, R. L.; MITSUKA, R.; OGAWA, L.; BONESI, G.; NAVARRO, I.T.; FRANCISCON, F. S. G. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em equinos procedentes de quatro estados (SP, PR, MS e MT) abatidos em Apucarana-PR. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 18, n.1, p. 09-13, 1997.

VIDOTTO, O.; NAVARRO, I. T.; GIRALDI, N.; MITSUKA, R.; FREIRE, R. L. Estudos epidemiológicos da toxoplasmose em suínos da Região de Londrina- PR. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 11, p. 53-59, 1990.

VILLALOBOS, E. M. C.; UENO, T. E. H.; SOUZA, S. L .P.; CUNHA, E. M. S.; LARA, M.C.C.S.H.; GENNARI, S. M.; SOARES, R. M. Association between the presence of serum antibodies against *Neospora* spp. and fetal loss in equines. **Veterinary Parasitology**, v. 142, p. 372-375, 2006.

VILLALOBOS, E. M. C.; FURMAN, K. E.; LARA, M. C. C. S. H.; CUNHA, E.M.S.; FINGER, M. A.; BUSCH, A. P. B.; FILHO, I. R. B.; DECONTO, I.; DOMBUSCH, P. T.; BIONDO, A. W. Detection of *Neospora* sp. antibodies in cart horses from urban areas of Curitiba, Southern Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 21, n. 1, p. 68-70, 2012.

WALDELAND, H. Toxoplasmosis in sheep. I. Long-term epidemiological studies in four breeding flocks. II. Influence of various factors on the antibody contents. III. Hematological, serological and parasitological studies. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 18, p. 227-256, 1977.

WALSH, C. P.; DUNCAN, R. B.; ZAJAC, A. M.; BLAGBURN, B. L.; LINDSAY, D. S. *Neospora hughesi*: Experimental infections in mice, gerbils and dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 92, p. 119-128, 2000.

WALSH, C. P.; VEMULAPALLI, R.; SRIRANGANATHAN, N.; ZAJAC, A. M.; JENKINS, M. C.; LINDSAY, D. S. Molecular comparison of the dense granule proteins GRA6 e GRA7 of *Neospora hughesi* and *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v. 31, p. 253-258, 2001.

WILLIAMS, J. H.; ESPIE, I.; VAN WILPE, E.; MATTHEE, A. Neosporosis in a white rhinoceros (*Ceratotherium simum*) calf. **Journal of the South African Veterinary Association**, v. 73, p. 38-43, 2002.

WOBESER, B. K.; GODSON, D. L.; REJMANEK, D.; DOWLING, P. Equine protozoal myeloencephalitis caused by *Neospora hughesi* in an adult horse in Saskatchewan. **Canadian Veterinary Medical Association**, v. 50, p. 851-853, 2009.

WOODS, L. W.; ANDERSON, M. L.; SWIFT, P. K.; SVERLOW, K. W. Systemic neosporosis in a California black-tailed deer (*Odocoileus hemionus columbianus*). **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 6, p. 508-510, 1994.

YANG, N.; MU, M.; YUAN, G.; ZHANG, G.; LI, H.; HE, J. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in slaughtered horses and donkeys in Liaoning province, northeastern China. **Parasites & Vectors**, v. 6, p. 2-4 2013.

YEARGAN, M. R.; ALVARADO-ESQUIVEL, C.; DUBEY, J. P.; HOWE, D. K. Prevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona* and *Neospora hughesi* in horses from Mexico. **Parasite**, v. 20, p. 29, 2013.

ZEYBEK, H.; DUNDAR, B.; ALTINTAS, K.; GUNGOR, C. The seroprevalence of toxoplasmosis in equids. **Türkiye Parazitol Derg**, v. 22, p. 424-427, 1998.

8 ANEXOS

Anexo 1. Protocolo Comissão de Ética na Pesquisa da UFRRJ /COMEP.



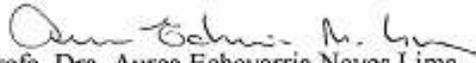
SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMISSÃO DE ÉTICA NA PESQUISA DA UFRRJ / COMEP

Protocolo Nº 257/2012

PARECER

O Projeto de Pesquisa intitulado "*Agentes Etiológicos da Mieloencefalite Protozoária Equina na Microrregião Serrana do Estado do Rio de Janeiro*" sob a responsabilidade do Prof. Dr. Carlos Wilson Gomes Lopes do Departamento de Parasitologia Animal do Instituto de Veterinária, processo 23083.005706/2012-32, atende aos princípios básicos para pesquisa envolvendo o uso de animais e está de acordo com os princípios éticos e do bem estar animal estando de acordo com a Resolução 714 de 20/06/2002 do CFMV.

UFRRJ, 22/10/2012.


Prof.ª. Dra. Aurea Echevarria Neves Lima
Pró-reitora de Pesquisa e Pós-graduação

Anexo 2. Questionário Epidemiológico Aplicado Durante as Visitas às Propriedades do Município de Petrópolis, São José do Vale do Rio Preto e Teresópolis, que Compõe a Microrregião Serrana do Estado do Rio de Janeiro.



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA ANIMAL

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA,
TECNOLOGIA E INOVAÇÃO EM AGROPECUÁRIA**

Questionário epidemiológico aplicado durante as visitas às propriedades do município de Petrópolis, São José do Vale do Rio Preto e Teresópolis, que compõe a microrregião Serrana do estado do Rio de Janeiro.

1. IDENTIFICAÇÃO DA PROPRIEDADE

Nº _____ Nome: _____

Proprietário: _____ Telefone: _____ e-mail: _____

Município: _____

Tipo de Propriedade: () Centro Hípico () Haras () Rancho

2. PARTE FÍSICA

2.1. Tamanho em hectares: _____

2.2. Apresenta benfeitorias?

() Sim. Quais? _____ () Não

2.3. Material utilizado na construção: _____

2.4. Apresenta residência(s)?

() Sim. Quantas? _____ () Não

2.5. Apresenta funcionário(s) remunerado(s)?

() Sim. Quantos? _____ () Não

2.6. Apresenta morador(es)?

() Sim. Quantos? _____ () Não

3. MANEJO

3.1. Número total de equinos: _____

3.2. Dispõe de assistência veterinária?

Sim Não

3.3. Qual raça predominante dos equinos?

Mangalarga Marchador Quarto de Milha Puro Sangue Inglês
 Brasileiro de Hipismo Sem raça definida (SRD) Outras. Quais?

3.4. Os equinos da propriedade são vacinados contra:

Raiva Influenza Rinopneumonia
 Leptospirose Encefalomielite Tétano

3.5. Os animais se alimentam de:

Pastagem Feno Concentrado

3.6. Existe criação de outros animais no mesmo ambiente?

Sim. Quais? Não

3.7. A propriedade dispõe de poço artesiano?

Sim Não

3.8. A propriedade dispõe de fontes de água natural (rio, açude, lago, etc)?

Sim Não

3.9. Qual o tipo de reprodução (monta)?

Natural Ambas
 Inseminação artificial Transferência de embriões

3.10. O manejo dos animais é considerado:

Excelente

Satisfatório

Bom

Ruim

3.11. A condição higiênico-sanitária da propriedade é considerada:

Excelente

Satisfatória

Boa

Ruim

4. QUESTIONAMENTOS REFERENTES À NEOSPOROSE EQUINA, TOXOPLASMOSE EQUINA E A EPM CAUSADA POR *Sarcocystis neurona*.

4.1. Residem cães na propriedade?

Sim. Qual e quantos? Não

4.2. Residem gatos na propriedade?

Sim. Quantos? Não

4.3. Frequência de contato dos cães com os equinos?

esporádico frequente não existe

4.4. Frequência de contato dos gatos com os equinos?

esporádico frequente não existe

4.5. Os cães têm acesso à fonte de água?

Sim Não

4.6. Os gatos têm acesso à fonte de água?

Sim Não

4.7. Os cães têm acesso à alimentação dos equinos?

Sim Não

4.8. Os gatos têm acesso à alimentação dos equinos?

Sim Não

4.9. Qual o tipo de alimentação é fornecida aos cães?

ração comercial comida caseira Ambas

4.10. Qual o tipo de alimentação é fornecida aos gatos?

ração comercial comida caseira Ambas

4.11. Existem roedores na propriedade?

Sim Não

4.12. Já observou o cão/gato comendo placenta e ou restos fetais?

Sim Não

4.13. Já foi observada a presença de canídeos silvestres na propriedade?

Sim Quais? Não

Cachorro do mato Cachorro Vinagre

Lobo guará Guaxinin

Outros. Qual(is)? _____

4.14. Já foi observada a presença de felídeos silvestres na propriedade?

Sim Não

4.15. Propriedade apresenta casos de aborto?

Sim Não

4.16. Já foi observada a presença de gambás na propriedade?

Sim Não

4.17. Algum equino da propriedade já manifestou bambeira?

Sim

Não

Anexo 3. Ficha individual dos equinos participantes do estudo.



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA ANIMAL - DPA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA,
TECNOLOGIA E INOVAÇÃO EM AGROPECUÁRIA

Ficha individual dos equinos participantes do estudo

1. Propriedade: _____
2. Número de Identificação do animal : _____
3. Nome: _____
4. Idade: _____
5. Sexo:
 Macho Fêmea
6. Raça:
 Mangalarga Marchador Brasileiro de Hipismo Outra. Qual?
 Quarto de Milha Sem raça definida _____
 Puro Sangue Inglês
7. Procedência
 Propriedade Outros. Quais?
 Vizinhança _____
 Município
8. Animal já apresentou aborto?
 Sim. Quantos? _____ Não
9. Já apresentou EPM/Bambeira?
 Sim Não
10. O animal é vacinado contra:
 Raiva
 Leptospirose
 Influenza
 Encefalomielite
 Rinopneumonite
 Tétano

Anexo 4. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à *Sarcocystis neurona* e as variáveis epidemiológicas estudadas nas propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.

Variável		N	RIFI ^a	Variável (%); IC95% ^b	OR (IC95%) ^c	P ^d
Sexo	Macho	186	17	9,1; 5,8–14,2	1,3 (0,6–2,6)	0,34 ^e
	Fêmea	189	14	7,4; 4,5–12,0		
Raça	Pura	348	30	8,6; 6,1–12,0	2,4 (0,3–18,7)	0,32 ^e
	SRD	27	1	3,7; 0,9–18,3		
Idade	≤ 1 ano	47	3	6,4; 2,3–17,2	-	0,73 ^f
	1 < n ≤ 5 anos	117	11	9,4; 5,4–16,1		
	5 < n ≤ 10 anos	144	12	8,3; 4,9–14,0		
	> 10 anos	45	2	4,4; 1,4–14,8		
Município	Petrópolis	270	23	8,5; 5,8–12,5	-	<0,01 ^f
	São José do Vale do Rio Preto	40	8	20,0; 10,6–34,9		
	Teresópolis	65	0	0,0; 0,0–0,0		
Propriedade	Centro hípico	23	4	17,4; 7,1–37,4	-	0,14 ^f
	Haras	337	27	8,0; 5,6–11,4		
	Rancho	15	0	0,0; 0,0–0,0		
Tamanho da propriedade	≤ 20.000 m ²	77	10	13,0; 7,2–22,3	-	0,18 ^f
	20.000 < n < 50.000 m ²	90	9	10,0; 5,4–17,3		
	50.000 < n < 100.000 m ²	62	5	8,1; 3,6–17,6		
	> 100.000 m ²	146	7	4,8; 2,4–9,6		
Procedência (região Serrana)	Sim	259	21	8,1; 5,4–12,1	0,9 (0,4–2,0)	0,51 ^e
	Não	116	10	8,6; 4,8–15,2		
Procedência (indeterminada)	Sim	87	8	9,2; 4,8–17,1	1,2 (0,5–2,7)	0,43 ^e
	Não	288	23	8,0; 5,4–11,7		

Legenda: ^a Número de animais positivos (Título ≥ 20) baseado na variável estudada; ^b Frequência de positivos baseada na variável estudada, com intervalo de confiança de 95%; ^c Odds ratio; ^d valor de P para α=5; ^e Teste Exato de Fisher; ^f Teste de Qui-Quadrado.

Anexo 5. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à *Sarcocystis neurona* e as variáveis relacionadas à vacinação nas propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.

Variável		N	RIFI ^a	Variável (%); IC95% ^b	OR (IC95%) ^c	P ^d
Raiva	Sim	352	30	8,5; 6,0–11,9	1,5 (0,2–12,9)	0,52
	Não	8	1	12,5; 2,8–48,2		
Leptospirose	Sim	60	2	3,3; 1,0–11,3	3,1 (0,7–13,4)	0,08
	Não	300	29	9,7; 6,8–13,5		
Influenza	Sim	282	21	7,4; 4,9–11,1	1,8 (0,8–4,1)	0,11
	Não	78	10	12,8; 7,2–22,0		
Encefalite	Sim	66	2	3,0; 0,9–10,4	3,5 (0,8–15,1)	0,06
	Não	294	29	9,9; 7,0–13,8		
Rinotraqueíte	Sim	60	2	3,3; 1,0–11,3	3,1 (0,7–13,4)	0,08
	Não	300	29	9,7; 6,8–13,5		
Tétano	Sim	282	21	7,4; 4,9–11,1	1,8 (0,8–4,1)	0,10
	Não	78	10	12,8; 7,2–22,0		

Legenda: ^a Número de animais positivos (Título \geq 20) baseado nas variáveis estudadas; ^b Frequência de positivos baseada nas variáveis estudadas, com intervalo de confiança de 95%; ^c Odds ratio; ^d valor de *P* para $\alpha=5$ pelo Teste Exato de Fisher.

Anexo 6. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à *Sarcocystis neurona* e as variáveis relacionadas à estrutura das propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.

Variável		N	RIFI ^a	Variável (%); IC95% ^b	OR (IC95%) ^c	P ^d
Material construção	Alvenaria	305	21	6,9; 4,6–10,3	2,2 (1,0–5,0)	0,04 ^e
	Madeira	70	10	14,3; 8,0–24,4		
Possui residência?	Sim	360	31	8,6; 6,1–12,0	-	0,27 ^e
	Não	15	0	0,0; 0,0–0,0		
Quantidade (residência)	0 – 3	281	23	8,2; 5,5–12,0	-	0,40 ^f
	4 – 6	78	8	10,3; 5,3–19,0		
	> 6	16	0	0,0; 0,0–0,0		
Quantidade (funcionários)	0 – 3	191	14	7,3; 4,4–11,9	1,3 (0,6–2,7)	0,31 ^e
	4 – 6	184	17	9,2; 5,9–14,3		
Possui moradores?	Sim	345	30	8,7; 6,2–12,2	2,8 (0,4–21,0)	0,27 ^e
	Não	30	1	3,3; 0,8–16,7		
Quantidade (moradores)	0 – 3	104	2	1,9; 0,6–6,7	-	0,02 ^f
	4 – 6	112	13	11,6; 6,9–18,9		
	> 6	159	16	10,1; 6,3–15,7		
Total de equinos	0 – 10	41	2	4,9; 1,5–16,2	-	<0,01 ^f
	11 – 30	93	7	7,5; 3,8–14,7		
	31 – 50	103	3	2,9; 1,1–8,2		
	> 50	123	18	14,6; 9,5–22,0		
Assistência veterinária	Sim	309	25	8,1; 5,6–11,7	1,1 (0,4–2,9)	0,47 ^e
	Não	66	6	9,1; 4,3–18,7		

Legenda: ^a Número de animais positivos (Título \geq 20) baseado nas variáveis estudadas; ^b Frequência de positivos baseada nas variáveis estudadas, com intervalo de confiança de 95%; ^c Odds ratio; ^d valor de P para $\alpha=5$; ^e Teste Exato de Fisher; ^f Teste de Qui-Quadrado.

Anexo 7. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à *Sarcocystis neurona* e as variáveis relacionadas ao manejo nas propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.

Variável		N	RIFI ^a	Variável (%); IC95% ^b	OR (IC95%) ^c	P ^d
Feno oferecido	Sim	172	20	11,6; 7,7–17,3	2,3 (1,1–4,9)	0,02 ^e
	Não	203	11	5,4; 3,1–9,4		
Cocriação	Sim	211	20	9,5; 6,2–14,2	1,5 (0,7–3,1)	0,22 ^e
	Não	164	11	6,7; 3,8–11,6		
Água natural disponível	Sim	55	9	16,4; 8,9–28,3	2,7 (1,2–6,1)	0,02
	Não	320	22	6,9; 4,6–10,2		
Poço artesiano disponível	Sim	55	9	16,4; 8,9–28,3	2,7 (1,2–6,1)	0,02
	Não	320	22	6,9; 4,6–10,2		
Reprodução (natural)	Sim	346	30	8,7; 6,2–12,1	2,7 (0,4–20,2)	0,28 ^e
	Não	29	1	3,4; 0,8–17,2		
Reprodução (inseminação artificial)	Sim	192	13	6,8; 4,0–11,2	0,7 (0,3–1,4)	0,19 ^e
	Não	183	18	9,8; 6,3–15,0		
Reprodução (transferência de embrião)	Sim	162	11	6,8; 3,9–11,8	0,7 (0,3–1,5)	0,24 ^e
	Não	213	20	9,4; 6,2–14,1		
Manejo	Excelente	127	11	8,7; 4,9–14,9	-	0,89 ^f
	Bom	160	14	8,8; 5,3–14,2		
	Satisfatório	83	6	7,2; 3,4–14,9		
	Ruim	5	0	0,0; 0,0–0,0		
Condição higiênico-sanitária	Excelente	66	1	1,5; 0,4–8,0	-	0,12 ^f
	Boa	118	13	11,0; 6,6–18,0		
	Satisfatória	186	17	9,1; 5,8–14,2		
	Ruim	5	0	0,0; 0,0–0,0		

Legenda: ^a Número de animais positivos (Título \geq 20) baseado nas variáveis estudadas; ^b Frequência de positivos baseada nas variáveis estudadas, com intervalo de confiança de 95%; ^c Odds ratio; ^d valor de *P* para $\alpha=5$; ^e Teste Exato de Fisher; ^f Teste de Qui-Quadrado.

Anexo 8. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à *Sarcocystis neurona* e as variáveis relacionadas a outros hospedeiros nas propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ (continua).

Variável	N	RIFT ^a	Variável (%); IC95% ^b	OR (IC95%) ^c	P ^d	
Presença de cães?	Sim	343	31	9,0; 6,4–12,6	-	0,06 ^e
	Não	32	0	0,0; 0,0–0,0		
Quantos cães?	0 – 3	189	5	2,6; 1,2–6,0	-	<0,01 ^f
	4 – 6	109	16	14,7; 9,3–22,5		
	> 6	77	10	13,0; 7,3–22,3		
Presença de gatos?	Sim	207	21	10,1; 6,7–15,0	1,8 (0,8–3,9)	0,10 ^e
	Não	168	10	6,0; 3,3–10,6		
Quantos gatos?	0 – 3	258	13	5,0; 3,0–8,4	-	<0,01 ^f
	4 – 6	40	8	20,0; 10,6–34,9		
	> 6	77	10	13,0; 7,3–22,3		
Frequência de contato com cães	Sem contato	32	0	0,0; 0,0–0,0	-	0,07 ^f
	Esporádico	18	0	0,0; 0,0–0,0		
	Frequente	325	31	8,5; 6,8–13,2		
Frequência de contato com gatos	Sem contato	183	10	5,5; 3,0–9,8	-	0,05 ^f
	Esporádico	50	8	16,0; 8,4–28,6		
	Frequente	142	13	9,2; 5,5–15,0		
Cães com acesso à água?	Sim	187	24	12,8; 8,8–18,4	3,8 (1,6–9,1)	<0,01 ^e
	Não	188	7	3,7; 1,8–7,5		
Gatos com acesso à água?	Sim	127	18	14,2; 9,2–21,3	3,0 (1,4–6,3)	<0,01 ^e
	Não	248	13	5,2; 3,1–8,8		
Cães com acesso aos alimentos?	Sim	192	26	13,5; 9,4–19,1	5,6 (2,1–14,9)	<0,01 ^e
	Não	183	5	2,7; 1,2–6,2		

Legenda: ^a Número de animais positivos (Título \geq 20) baseado nas variáveis estudadas; ^b Frequência de positivos baseada nas variáveis estudadas, com intervalo de confiança de 95%; ^c Odds ratio; ^d valor de P para $\alpha=5$; ^e Teste Exato de Fisher; ^f Teste de Qui-Quadrado.

Anexo 8. Continuação.

Variável		N	RIFI ^a	Variável (%); IC95% ^b	OR (IC95%) ^c	P ^d
Gatos com acesso aos alimentos?	Sim	147	20	13,6; 9,0–20,1	3,1 (1,4–6,7)	<0,01 ^e
	Não	228	11	4,8; 2,7–8,4		
Ração aos cães	Sim	340	31	9,1; 6,5–12,7	-	0,04 ^e
	Não	35	0	0,0; 0,0–0,0		
Comida caseira aos cães?	Sim	12	1	8,3; 1,9–36,0	1,0 (0,1–8,1)	0,65 ^e
	Não	363	30	8,3; 5,9–11,6		
Ração aos gatos	Sim	207	21	10,1; 6,8–15,0	1,8 (0,8–3,9)	1,00 ^e
	Não	168	10	6,0; 3,3–10,6		
Comida caseira aos gatos?	Sim	15	0	0,0; 0,0–0,0	-	0,27 ^e
	Não	360	31	8,6; 6,1–12,0		
Presença de roedores?	Sim	328	28	8,5; 6,0–12,1	1,4 (0,4–4,7)	0,44 ^e
	Não	47	3	6,4; 2,3–17,2		
Cães comem placenta?	Sim	42	6	14,3; 6,8–27,9	2,1 (0,8–5,3)	0,12 ^e
	Não	333	25	7,5; 5,1–10,9		
Gatos comem placenta?	Sim	23	4	17,4; 7,1–37,4	2,5 (0,8–8,0)	0,11 ^e
	Não	352	27	7,7; 5,3–10,9		
Canídeos silvestres?	Sim	272	23	8,5; 5,7–12,4	1,1 (0,5–2,5)	0,51 ^e
	Não	103	8	7,8; 4,0–14,6		
Felídeos silvestres?	Sim	24	1	4,2; 1,0–20,4	0,5 (0,1–3,6)	0,39 ^e
	Não	351	30	8,5; 6,1–11,9		
Gambás?	Sim	308	31	10,1; 7,2–14,0	-	<0,01 ^e
	Não	67	0	0,0; 0,0–0,0		

Legenda: ^a Número de animais positivos (Título \geq 20) baseado nas variáveis estudadas; ^b Frequência de positivos baseada nas variáveis estudadas, com intervalo de confiança de 95%; ^c Odds ratio; ^d valor de P para $\alpha=5$; ^e Teste Exato de Fisher; ^f Teste de Qui-Quadrado.

Anexo 9. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à *Sarcocystis neurona* e as variáveis relacionadas ao histórico de abortamento e de doença clínica nas propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.

Variável		N	RIFI ^a	Variável (%); IC95% ^b	OR (IC95%) ^c	P ^d
Gestantes na propriedade	Sim	8	0	0,0; 0,0–0,0	-	0,50
	Não	367	31	8,4; 6,0–11,7		
Abortamento (animal)	Sim	1	0	0,0; 0,0–0,0	-	0,92
	Não	374	31	8,3; 5,9–11,5		
Abortamento (propriedade)	Sim	206	13	6,3; 3,7–10,5	0,6 (0,3–1,2)	0,09
	Não	169	18	10,7; 6,9–16,2		
“Bambeira”	Sim	120	15	12,5; 7,8–19,6	2,1 (1,0–4,5)	0,04
	Não	255	16	6,3; 3,9–10,0		

Legenda: ^a Número de animais positivos (Título \geq 20) baseado nas variáveis estudadas; ^b Frequência de positivos baseada nas variáveis estudadas, com intervalo de confiança de 95%; ^c Odds ratio; ^d valor de *P* para $\alpha=5$ pelo Teste Exato de Fisher.

Anexo 10. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à *Neospora* spp. e as variáveis epidemiológicas estudadas nas propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.

Variável	N	RIFI ^a	Variável (%); IC95% ^b	OR (IC95%) ^c	P ^d	
Sexo	Macho	186	2	1,1; 0,3–3,8	2,5 (0,5–13,0)	0,23 ^e
	Fêmea	189	5	2,6; 1,2–6,0		
Raça	Pura	348	7	2,0; 1,0–4,1	-	0,59 ^e
	SRD	27	0	0,0; 0,0–0,0		
Idade	≤ 1 ano	47	1	2,1; 0,5–11,1	-	0,37 ^f
	1 < n ≤ 5 anos	117	0	0,0; 0,0–0,0		
	5 < n ≤ 10 anos	144	4	2,8; 1,1–6,9		
	> 10 anos	45	1	2,2; 0,5–11,5		
Município	Petrópolis	270	7	2,6; 1,3–5,2	-	0,25 ^f
	São José do Vale do Rio Preto	40	0	0,0; 0,0–0,0		
	Teresópolis	65	0	0,0; 0,0–0,0		
Propriedade	Centro hípico	23	1	4,3; 1,0–21,1	-	0,58 ^f
	Haras	337	6	1,8; 0,8–3,8		
	Rancho	15	0	0,0; 0,0–0,0		
Tamanho da propriedade	≤ 20.000 m ²	77	2	2,6; 0,8–9,0	-	0,46 ^f
	20.000 < n < 50.000 m ²	90	0	0,0; 0,0–0,0		
	50.000 < n < 100.000 m ²	62	2	3,2; 1,0–11,0		
	> 100.000 m ²	146	3	2,1; 0,8–5,8		
Procedência (região Serrana)	Sim	259	5	1,9; 0,8–12,1	1,1 (0,2–5,9)	0,63 ^e
	Não	116	2	1,7; 0,5–6,0		
Procedência (indeterminada)	Sim	87	2	2,3; 0,7–8,0	1,3 (0,2–7,0)	0,51 ^e
	Não	288	5	1,7; 0,8–4,0		

Legenda: ^a Número de animais positivos (Título ≥ 50) baseado nas variáveis estudadas; ^b Frequência de positivos baseada nas variáveis estudadas, com intervalo de confiança de 95%; ^c Odds ratio; ^d valor de P para α=5; ^e Teste Exato de Fisher; ^f Teste de Qui-Quadrado.

Anexo 11. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à *Neospora* spp. e as variáveis relacionadas à vacinação nas propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.

Variável		N	RIFI ^a	Variável (%); IC95% ^b	OR (IC95%) ^c	P ^d
Raiva	Sim	352	7	2,0; 1,0–4,0	-	0,85
	Não	8	0	0,0; 0,0–0,0		
Leptospirose	Sim	60	1	1,7; 0,4–8,8	0,8 (0,1–7,0)	0,67
	Não	300	6	2,0; 0,9–4,3		
Influenza	Sim	282	5	1,8; 0,8–4,1	0,7 (0,1–3,6)	0,47
	Não	78	2	2,6; 0,8–8,8		
Encefalite	Sim	66	1	1,5; 0,4–8,0	0,7 (0,1–6,2)	0,62
	Não	294	6	2,0; 1,0–4,4		
Rinotraqueíte	Sim	60	1	1,7; 0,4–8,8	0,8 (0,1–7,0)	0,67
	Não	300	6	2,0; 0,9–4,3		
Tétano	Sim	282	5	1,8; 0,8–4,1	0,7 (0,1–3,6)	0,47
	Não	78	2	2,6; 0,8–8,8		

Legenda: ^a Número de animais positivos (Título \geq 50) baseado nas variáveis estudadas; ^b Frequência de positivos baseada nas variáveis estudadas, com intervalo de confiança de 95%; ^c Odds ratio; ^d valor de P para $\alpha=5$ pelo Teste Exato de Fisher.

Anexo 12. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à *Neospora* spp. e as variáveis relacionadas à estrutura das propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.

Variável		N	RIFI ^a	Variável (%); IC95% ^b	OR (IC95%) ^c	P ^d
Material construção	Alvenaria	305	5	1,6; 0,7–3,8	0,6 (0,1–3,0)	0,39 ^e
	Madeira	70	2	2,9; 0,9–9,8		
Possui residência?	Sim	360	7	1,9; 1,0–4,0	-	0,75 ^e
	Não	15	0	0,0; 0,0–0,0		
Quantidade (residência)	0 – 3	281	5	1,8; 0,8–4,1	-	0,77 ^f
	4 – 6	78	2	2,6; 0,8–8,8		
	> 6	16	0	0,0; 0,0–0,0		
Quantidade (funcionários)	0 – 3	191	2	1,0; 0,3–3,7	0,4 (0,1–2,0)	0,21 ^e
	4 – 6	184	5	2,7; 1,2–6,2		
Possui moradores?	Sim	345	7	2,0; 1,0–4,1	-	0,56 ^e
	Não	30	0	0,0; 0,0–0,0		
Quantidade (moradores)	0 – 3	104	1	1,0; 0,2–5,2	-	0,65 ^f
	4 – 6	112	3	2,7; 1,0–7,6		
	> 6	159	3	1,9; 0,7–5,4		
Total de equinos	0 – 10	41	1	2,4; 0,6–12,6	-	0,80 ^f
	11 – 30	93	1	1,1; 0,3–5,8		
	31 – 50	103	3	2,9; 1,1–8,2		
	> 50	123	2	1,6; 0,5–5,7		
Assistência veterinária	Sim	309	5	1,6; 0,7–3,7	0,5 (0,1–2,8)	0,36 ^e
	Não	66	2	3,0; 0,9–10,4		

Legenda: ^a Número de animais positivos (Título \geq 50) baseado nas variáveis estudadas; ^b Frequência de positivos baseada nas variáveis estudadas, com intervalo de confiança de 95%; ^c Odds ratio; ^d valor de P para $\alpha=5$; ^e Teste Exato de Fisher; ^f Teste de Qui-Quadrado.

Anexo 13. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à *Neospora* spp. e as variáveis relacionadas ao manejo nas propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.

Variável		N	RIFI ^a	Variável (%); IC95% ^b	OR (IC95%) ^c	p ^d
Feno oferecido	Sim	172	4	2,3; 1,0–5,8	1,6 (0,4–7,2)	0,41 ^e
	Não	203	3	1,5; 0,5–4,2		
Cocriação	Sim	211	3	1,4; 0,5–4,1	0,6 (0,1–2,6)	0,36 ^e
	Não	164	4	2,4; 1,0–6,1		
Água natural disponível	Sim	320	7	2,2; 1,1–4,4	-	0,33 ^e
	Não	55	0	0,0; 0,0–0,0		
Poço artesiano disponível	Sim	55	0	0,0; 0,0–0,0	-	0,33 ^e
	Não	320	7	2,2; 1,1–4,4		
Reprodução (natural)	Sim	346	7	2,0; 1,0–4,1	-	0,57 ^e
	Não	29	0	0,0; 0,0–0,0		
Reprodução (inseminação artificial)	Sim	192	5	2,6; 1,2–5,9	2,4 (0,5–12,6)	0,24 ^e
	Não	183	2	1,1; 0,3–3,9		
Reprodução (transferência de embrião)	Sim	162	3	1,9; 0,7–5,3	1,0 (0,2–4,5)	0,64 ^e
	Não	213	4	1,9; 0,8–4,7		
Manejo	Excelente	127	3	2,4; 0,9–6,7	-	0,86 ^f
	Bom	160	2	1,3; 0,4–4,4		
	Satisfatório	83	2	2,4; 0,7–8,3		
	Ruim	5	0	0,0; 0,0–0,0		
Condição higiênico-sanitária	Excelente	66	1	1,5; 0,4–8,0	-	0,97 ^f
	Boa	118	2	1,7; 0,5–5,9		
	Satisfatória	186	4	2,2; 0,9–5,4		
	Ruim	5	0	0,0; 0,0–0,0		

Legenda: ^a Número de animais positivos (Título \geq 50) baseado nas variáveis estudadas; ^b Frequência de positivos baseada nas variáveis estudadas, com intervalo de confiança de 95%; ^c Odds ratio; ^d valor de *P* para $\alpha=5$; ^e Teste Exato de Fisher; ^f Teste de Qui-Quadrado.

Anexo 14. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à *Neospora* spp. e as variáveis relacionadas a outros hospedeiros nas propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ (continua).

Variável	N	RIFI ^a	Variável (%); IC95% ^b	OR (IC95%) ^c	p ^d	
Presença de cães?	Sim	343	7	2,0; 1,0–4,2	-	0,53 ^e
	Não	32	0	0,0; 0,0–0,0		
Quantos cães?	0 – 3	189	4	2,1; 0,9–5,3	-	0,66 ^f
	4 – 6	109	1	0,9; 0,2–5,0		
	> 6	77	2	2,6; 0,8–9,0		
Presença de gatos?	Sim	207	5	2,4; 1,1–5,5	2,0 (0,4–10,7)	0,32 ^e
	Não	168	2	1,2; 0,4–4,2		
Quantos gatos?	0 – 3	258	5	1,9; 0,9–4,4	-	0,61 ^f
	4 – 6	40	0	0,0; 0,0–0,0		
	> 6	77	2	2,6; 0,8–9,0		
Frequência de contato com cães	Sem contato	32	0	0,0; 0,0–0,0	-	0,58 ^f
	Esporádico	18	0	0,0; 0,0–0,0		
	Frequente	325	7	2,2; 1,1–4,4		
Frequência de contato com gatos	Sem contato	183	2	1,1; 0,3–3,9	-	0,16 ^f
	Esporádico	50	0	0,0; 0,0–0,0		
	Frequente	142	5	3,5; 1,6–8,0		
Cães com acesso à água?	Sim	187	3	1,6; 0,6–4,6	0,8 (0,2–3,4)	0,50 ^e
	Não	188	4	2,1; 0,9–5,3		
Gatos com acesso à água?	Sim	127	2	1,6; 0,5–5,5	0,8 (0,2–4,1)	0,56 ^e
	Não	248	5	2,0; 0,9–4,6		
Cães com acesso aos alimentos?	Sim	192	5	2,6; 1,1–5,9	2,4 (0,5–12,6)	0,24 ^e
	Não	183	2	1,1; 0,3–3,9		
Gatos com acesso aos alimentos?	Sim	147	4	2,7; 1,1–6,8	2,1 (0,5–9,5)	<0,01 ^e
	Não	228	3	1,3; 0,5–3,8		

Legenda: ^a Número de animais positivos (Título \geq 50) baseado nas variáveis estudadas; ^b Frequência de positivos baseada nas variáveis estudadas, com intervalo de confiança de 95%; ^c Odds ratio; ^d valor de *P* para $\alpha=5$; ^e Teste Exato de Fisher; ^f Teste de Qui-Quadrado.

Anexo 14. Continuação.

Variável		N	RIFI ^a	Variável (%); IC95% ^b	OR (IC95%) ^c	<i>p</i> ^d
Ração aos cães	Sim	340	7	2,1; 1,0–4,2	-	0,50 ^e
	Não	35	0	0,0; 0,0–0,0		
Comida caseira aos cães?	Sim	12	0	0,0; 0,0–0,0	-	0,79 ^e
	Não	363	7	1,9; 1,0–3,9		
Ração aos gatos	Sim	207	5	2,4; 1,1–5,5	2,0 (0,4–10,7)	0,32 ^e
	Não	168	2	1,2; 0,4–4,2		
Comida caseira aos gatos?	Sim	15	0	0,0; 0,0–0,0	-	0,75 ^e
	Não	360	7	1,9; 1,0–4,0		
Presença de roedores?	Sim	328	5	1,5; 0,7–3,5	0,4 (0,1–1,8)	0,21 ^e
	Não	47	2	4,3; 1,3–14,2		
Cães comem placenta?	Sim	42	1	2,4; 0,6–12,3	1,3 (0,2–11,3)	0,57 ^e
	Não	333	6	1,8; 0,9–3,9		
Gatos comem placenta?	Sim	23	1	4,3; 1,0–21,1	2,6 (0,3–22,7)	0,36 ^e
	Não	352	6	1,7; 0,8–3,7		
Canídeos silvestres?	Sim	272	7	2,6; 1,3–5,2	-	0,10 ^e
	Não	103	0	0,0; 0,0–0,0		
Felídeos silvestres?	Sim	24	0	0,0; 0,0–0,0	-	0,63 ^e
	Não	351	7	2,0; 1,0–4,0		
Outros hospedeiros?	Sim	100	2	2,0; 0,6–7,0	1,1 (0,2–5,8)	0,60 ^e
	Não	275	5	1,8; 0,8–4,2		
Gambás?	Sim	308	7	2,3; 1,1–4,6	-	0,25 ^e
	Não	67	0	0,0; 0,0–0,0		

Legenda: ^a Número de animais positivos (Título \geq 50) baseado nas variáveis estudadas; ^b Frequência de positivos baseada nas variáveis estudadas, com intervalo de confiança de 95%; ^c Odds ratio; ^d valor de *P* para $\alpha=5$; ^e Teste Exato de Fisher; ^f Teste de Qui-Quadrado.

Anexo 15. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à *Neospora* spp. e as variáveis relacionadas ao histórico de abortamento e de doença clínica nas propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.

Variável		N	RIFI ^a	Variável (%); IC95% ^b	OR (IC95%) ^c	p ^d
Gestantes na propriedade	Sim	8	0	0,0; 0,0–0,0	-	0,86
	Não	367	7	1,9; 0,9–3,9		
Aborto (animal)	Sim	1	0	0,0; 0,0–0,0	-	0,98
	Não	374	7	1,9; 0,9–3,8		
Aborto (propriedade)	Sim	206	6	3,6; 1,4–6,2	7,5 (0,9–63,3)	0,03
	Não	169	1	0,6; 0,1–3,2		
“Bambeira”	Sim	120	3	2,5; 0,9–7,1	1,6 (0,4–7,3)	0,40
	Não	255	4	1,6; 0,6–4,0		

Legenda: ^a Número de animais positivos (Título \geq 50) baseado nas variáveis estudadas; ^b Frequência de positivos baseada nas variáveis estudadas, com intervalo de confiança de 95%; ^c Odds ratio; ^d valor de *P* para $\alpha=5$ pelo Teste Exato de Fisher.

Anexo 16. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à *Toxoplasma gondii* e as variáveis epidemiológicas estudadas nas propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.

Variável		N	RIFI ^a	Variável (%); IC95% ^b	OR (IC95%) ^c	p ^d
Sexo	Macho	186	4	2,1; 0,9–5,4	1,0 (0,2–4,0)	0,63 ^e
	Fêmea	189	4	2,2; 0,9–5,3		
Raça	Pura	348	6	1,7; 0,8–3,7	0,2 (0,0–1,1)	0,11 ^e
	SRD	27	2	7,4; 2,3–23,5		
Idade	≤ 1 ano	47	0	0,0; 0,0–0,0	-	0,29 ^f
	1 < n ≤ 5 anos	117	5	3,4; 1,4–8,4		
	5 < n ≤ 10 anos	144	3	1,4; 0,4–4,9		
	> 10 anos	45	0	0,0; 0,0–0,0		
Município	Petrópolis	270	8	3,0; 1,5–5,7	-	0,20 ^f
	São José do Vale do Rio Preto	40	0	0,0; 0,0–0,0		
	Teresópolis	65	0	0,0; 0,0–0,0		
Propriedade	Centro hípico	23	0	0,0; 0,0–0,0	-	0,63 ^f
	Haras	337	8	2,4; 1,2–4,6		
	Rancho	15	0	0,0; 0,0–0,0		
Tamanho da propriedade	≤ 20.000 m ²	77	3	3,9; 1,4–10,8	-	0,64 ^f
	20.000 < n < 50.000 m ²	90	1	1,1; 0,3–6,0		
	50.000 < n < 100.000 m ²	62	1	1,6; 0,4–8,5		
	> 100.000 m ²	146	3	2,1; 0,7–5,8		
Procedência (região Serrana)	Sim	259	5	1,9; 0,8–4,4	0,7 (0,2–3,2)	0,47 ^e
	Não	116	3	2,6; 0,9–7,3		
Procedência (indeterminada)	Sim	87	3	3,4; 1,2–9,6	2,0 (0,5–8,6)	0,28 ^e
	Não	288	5	1,7; 0,8–4,0		

Legenda: ^a Número de animais positivos (Título ≥ 16) baseado nas variáveis estudadas; ^b Frequência de positivos baseada nas variáveis estudadas, com intervalo de confiança de 95%; ^c Odds ratio; ^d valor de P para α=5; ^e Teste Exato de Fisher; ^f Teste de Qui-Quadrado.

Anexo 17. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à *Toxoplasma gondii* e as variáveis relacionadas à vacinação nas propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.

Variável		N	RIFI ^a	Variável (%); IC95% ^b	OR (IC95%) ^c	p ^d
Raiva	Sim	352	8	2,3; 1,2–4,4	-	0,83
	Não	8	0	0,0; 0,0–0,0		
Leptospirose	Sim	60	1	1,7; 0,4–8,8	0,7 (0,1–5,9)	0,60
	Não	300	7	2,3; 1,2–4,7		
Influenza	Sim	282	5	1,8; 0,8–4,1	0,4 (0,1–1,9)	0,24
	Não	78	3	3,8; 1,4–10,7		
Encefalite	Sim	66	1	1,5; 0,4–8,0	0,6 (0,1–5,2)	0,55
	Não	294	7	2,4; 1,2–4,8		
Rinotraqueíte	Sim	60	1	1,7; 0,4–8,8	0,7 (0,1–5,9)	0,60
	Não	300	7	2,3; 1,2–4,7		
Tétano	Sim	282	5	1,8; 0,8–4,1	0,4 (0,1–1,9)	0,24
	Não	78	3	3,8; 1,4–10,7		

Legenda: ^a Número de animais positivos (Título \geq 16) baseado nas variáveis estudadas; ^b Frequência de positivos baseada nas variáveis estudadas, com intervalo de confiança de 95%; ^c Odds ratio; ^d valor de P para $\alpha=5$ pelo Teste Exato de Fisher.

Anexo 18. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à *Toxoplasma gondii* e as variáveis relacionadas à estrutura das propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.

Variável		N	RIFI ^a	Variável (%); IC95% ^b	OR (IC95%) ^c	p ^d
Material construção	Alvenaria	305	7	2,3; 1,1–4,7	1,6 (0,2–13,4)	0,54 ^e
	Madeira	70	1	1,4; 0,3–7,6		
Possui residência?	Sim	360	8	2,2; 1,2–4,3	-	0,72 ^e
	Não	15	0	0,0; 0,0–0,0		
Quantidade (residência)	0 – 3	281	6	2,1; 1,0–4,6	-	0,81 ^f
	4 – 6	78	2	2,6; 0,8–8,8		
	> 6	16	0	0,0; 0,0–0,0		
Quantidade (funcionários)	0 – 3	191	2	1,0; 0,3–3,7	0,3 (0,1–1,6)	0,13 ^e
	4 – 6	184	6	3,3; 1,5–6,9		
Possui moradores?	Sim	345	8	2,3; 1,2–4,5	-	0,51 ^e
	Não	30	0	0,0; 0,0–0,0		
Quantidade (moradores)	0 – 3	104	1	1,0; 0,2–5,2	-	0,62 ^f
	4 – 6	112	3	2,7; 1,0–7,6		
	> 6	159	4	2,5; 1,0–6,3		
Total de equinos	0 – 10	41	2	4,9; 1,5–16,2	-	0,25 ^f
	11 – 30	93	0	0,0; 0,0–0,0		
	31 – 50	103	2	1,9; 0,6–6,8		
	> 50	123	4	3,3; 1,3–8,0		
Assistência veterinária	Sim	309	5	1,6; 0,7–3,7	0,3 (0,1–1,5)	0,15 ^e
	Não	66	3	4,5; 1,6–12,5		

Legenda: ^a Número de animais positivos (Título \geq 16) baseado nas variáveis estudadas; ^b Frequência de positivos baseada nas variáveis estudadas, com intervalo de confiança de 95%; ^c Odds ratio; ^d valor de P para $\alpha=5$; ^e Teste Exato de Fisher; ^f Teste de Qui-Quadrado.

Anexo 19. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à *Toxoplasma gondii* e as variáveis relacionadas ao manejo nas propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.

Variável		N	RIFI ^a	Variável (%); IC95% ^b	OR (IC95%) ^c	p ^d
Feno oferecido	Sim	172	4	2,3; 1,0–5,8	1,2 (0,3–4,8)	0,54 ^e
	Não	203	4	2,0; 0,8–4,9		
Cocriação	Sim	211	5	2,4; 1,0–5,4	1,3 (0,3–5,5)	0,51 ^e
	Não	164	3	1,8; 0,7–5,2		
Água natural disponível	Sim	320	8	2,5; 1,3–4,8	-	0,28 ^e
	Não	55	0	0,0; 0,0–0,0		
Poço artesiano disponível	Sim	55	0	0,0; 0,0–0,0	-	0,28 ^e
	Não	320	8	2,5; 1,3–4,8		
Reprodução (natural)	Sim	346	7	2,0; 1,0–4,1	0,6 (0,1–4,9)	0,48 ^e
	Não	29	1	3,4; 0,8–17,2		
Reprodução (inseminação artificial)	Sim	192	5	2,6; 1,2–5,9	1,6 (0,4–6,8)	0,39 ^e
	Não	183	3	1,6; 0,6–4,7		
Reprodução (transferência de embrião)	Sim	162	4	2,5; 1,0–6,2	1,3 (0,3–5,4)	0,48 ^e
	Não	213	4	1,9; 0,8–4,7		
Manejo	Excelente	127	4	3,1; 1,3–7,8	-	0,34 ^f
	Bom	160	1	0,6; 0,2–3,4		
	Satisfatório	83	3	3,6; 1,3–10,1		
	Ruim	5	0	0,0; 0,0–0,0		
Condição higiênico-sanitária	Excelente	66	1	1,5; 0,4–8,0	-	0,53 ^f
	Boa	118	1	0,8; 0,2–4,6		
	Satisfatória	186	6	3,2; 1,5–6,8		
	Ruim	5	0	0,0; 0,0–0,0		

Legenda: ^a Número de animais positivos (Título ≥ 16) baseado nas variáveis estudadas; ^b Frequência de positivos baseada nas variáveis estudadas, com intervalo de confiança de 95%; ^c Odds ratio; ^d valor de P para $\alpha=5$; ^e Teste Exato de Fisher; ^f Teste de Qui-Quadrado.

Anexo 20. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à *Toxoplasma gondii* e as variáveis relacionadas a outros hospedeiros nas propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ (continua).

Variável		N	RIFI ^a	Variável (%); IC95% ^b	OR (IC95%) ^c	p ^d
Presença de cães?	Sim	343	8	2,3; 1,2–4,5	-	0,49 ^e
	Não	32	0	0,0; 0,0–0,0		
Quantos cães?	0 – 3	189	4	2,1; 0,9–5,3	-	0,38 ^f
	4 – 6	109	1	0,9; 0,2–5,0		
	> 6	77	3	3,9; 1,4–10,8		
Presença de gatos?	Sim	207	5	2,4; 1,1–5,5	1,4 (0,3–5,8)	0,48 ^e
	Não	168	3	1,8; 0,6–5,1		
Quantos gatos?	0 – 3	258	5	1,9; 0,8–4,4	-	0,36 ^f
	4 – 6	40	0	0,0; 0,0–0,0		
	> 6	77	3	3,9; 1,4–10,8		
Frequência de contato com cães	Sem contato	32	0	0,0; 0,0–0,0	-	0,43 ^f
	Esporádico	18	1	5,6; 1,3–26,0		
	Frequente	325	7	2,2; 1,1–4,4		
Frequência de contato com gatos	Sem contato	183	3	1,6; 0,6–4,7	-	0,27 ^f
	Esporádico	50	0	0,0; 0,0–0,0		
	Frequente	142	5	3,5; 1,6–8,0		
Cães com acesso à água?	Sim	187	4	2,1; 0,9–5,4	1,0 (0,2–4,1)	0,64 ^e
	Não	188	4	2,1; 0,9–5,3		
Gatos com acesso à água?	Sim	127	3	2,4; 0,9–6,7	1,2 (0,3–5,0)	0,55 ^e
	Não	248	5	2,0; 0,9–4,6		
Cães com acesso aos alimentos?	Sim	192	4	2,1; 0,8–5,2	0,9 (0,2–3,9)	0,61 ^e
	Não	183	4	2,2; 0,9–5,5		
Gatos com acesso aos alimentos?	Sim	147	4	2,7; 1,1–6,8	1,6 (0,4–6,4)	0,39 ^e
	Não	228	4	1,8; 0,7–4,4		

Legenda: ^a Número de animais positivos (Título ≥ 16) baseado nas variáveis estudadas; ^b Frequência de positivos baseada nas variáveis estudadas, com intervalo de confiança de 95%; ^c Odds ratio; ^d valor de P para $\alpha=5$; ^e Teste Exato de Fisher; ^f Teste de Qui-Quadrado.

Anexo 20. Continuação.

Variável		N	RIFI ^a	Variável (%); IC95% ^b	OR (IC95%) ^c	<i>p</i> ^d
Ração aos cães	Sim	340	7	2,1; 1,0–4,2	0,7 (0,1–6,0)	0,55 ^e
	Não	35	1	0,0; 0,0–0,0		
Comida caseira aos cães?	Sim	12	1	8,3; 1,9–36,0	4,6 (0,5–40,9)	0,23 ^e
	Não	363	7	1,9; 1,0–3,9		
Ração aos gatos	Sim	207	5	2,4; 1,1–5,5	1,4 (0,3–5,8)	0,48 ^e
	Não	168	3	1,8; 0,6–5,1		
Comida caseira aos gatos?	Sim	15	0	0,0; 0,0–0,0	-	0,71 ^e
	Não	360	8	2,2; 1,2–4,3		
Presença de roedores?	Sim	328	7	2,1; 1,1–4,3	1,0 (0,1–8,3)	0,66 ^e
	Não	47	1	2,1; 0,5–11,1		
Cães comem placenta?	Sim	42	1	2,4; 0,6–12,3	1,1 (0,1–9,5)	0,62 ^e
	Não	333	7	2,1; 1,0–4,3		
Gatos comem placenta?	Sim	23	0	0,0; 0,0–0,0	-	0,60 ^e
	Não	352	8	2,3; 1,2–4,4		
Canídeos silvestres?	Sim	272	8	2,9; 1,5–5,7	-	0,07 ^e
	Não	103	0	0,0; 0,0–0,0		
Felídeos silvestres?	Sim	24	0	0,0; 0,0–0,0	-	0,59 ^e
	Não	351	8	2,3; 1,2–4,4		
Gambás?	Sim	308	7	2,3; 1,1–4,6	1,5 (0,2–12,7)	0,57 ^e
	Não	67	1	1,5; 0,4–7,9		

Legenda: ^a Número de animais positivos (Título \geq 16) baseado nas variáveis estudadas; ^b Frequência de positivos baseada nas variáveis estudadas, com intervalo de confiança de 95%; ^c Odds ratio; ^d valor de *P* para $\alpha=5$; ^e Teste Exato de Fisher; ^f Teste de Qui-Quadrado.

Anexo 21. Associação entre a presença de equinos sororreagentes à *Toxoplasma gondii* e as variáveis relacionadas ao histórico de abortamento e de doença clínica nas propriedades visitadas na microrregião Serrana, RJ.

Variável		N	RIFI ^a	Variável (%); IC95% ^b	OR (IC95%) ^c	p ^d
Gestantes na propriedade	Sim	8	0	0,0; 0,0–0,0	-	0,84
	Não	367	8	2,2; 1,1–4,2		
Aborto (animal)	Sim	1	0	0,0; 0,0–0,0	-	0,98
	Não	374	8	2,1; 1,1–4,2		
Aborto (propriedade)	Sim	206	5	2,4; 1,1–5,6	2,1 (0,5–8,8)	0,26
	Não	169	3	1,8; 0,6–5,1		
“Bambeira”	Sim	120	7	5,8; 2,9–11,6	1,5 (0,2–12,7)	0,57
	Não	255	1	0,4; 0,0–2,2		

Legenda: ^a Número de animais positivos (Título ≥ 16) baseado nas variáveis estudadas; ^b Frequência de positivos baseada nas variáveis estudadas, com intervalo de confiança de 95%; ^c Odds ratio; ^d valor de *P* para $\alpha=5$ pelo Teste Exato de Fisher.

Anexo 22. STELMANN, U. J. P.; ULLMANN, L. S.; LANGONI, H.; AMORIM, R. M. Equine Neosporosis: Search for Antibodies in Cerebrospinal Fluid and Sera from Animals with History of Ataxia. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 33, n. 2, p. 99-102, 2011.

EQUINE NEOSPOROSIS: SEARCH FOR ANTIBODIES IN CEREBROSPINAL FLUID AND SERA FROM ANIMALS WITH HISTORY OF ATAXIA*

NEOSPOROSE EQUINA: PESQUISA DE ANTICORPOS NO LIQUIDO CEFALORRAQUIDIANO E SORO SANGUÍNEO DE ANIMAIS COM HISTÓRICO DE ATAXIA

Ulisses Jorge Pereira Stelmann¹, Leila Sabrina Ullmann², Hélio Langoni³
e Rogério Martins Amorim⁴

ABSTRACT. Stelmann U.J.P., Ullmann L.S., Langoni H. & Amorim R.M. [Equine neosporosis: search for antibodies in cerebrospinal fluid and sera from animals with history of ataxia]. Neosporose equina: pesquisa de anticorpos no líquido cefalorraquidiano e soro sanguíneo de animais com histórico de ataxia. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 33(2):99-102, 2011. Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária. Departamento de Clínica Veterinária. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Campus de Botucatu, Distrito de Rubião Júnior, s/n, Botucatu, 18.618-970, SP. Brasil. E-mail: stelmann.ppgctia@gmail.com

Equine neosporosis is caused by the protozoans *Neospora caninum* and *N. hughesi*. Its clinical signs include hindlimb paralysis, incoordination, ataxia, and abortion. Serum and cerebrospinal fluid (CSF) samples were collected from 38 equines with history of ataxia for indirect fluorescent antibody test (IFAT) in order to detect antibodies to *N. caninum*. Of the tested serum samples 15/26 (57.6%) were positive, whereas all CFS samples were negative. These seronegative CFS samples suggest that *N. caninum* has no relation to the manifestation of the neurological clinical signs of ataxia.

KEY WORDS. *Neospora caninum*, *Neospora hughesi*, equine, cerebrospinal fluid, serum, Indirect fluorescent antibody test (IFAT).

RESUMO. A neosporose equina é causada pelos protozoários *Neospora caninum* e *N. hughesi*. Os sinais clínicos são, entre outros, paralisia dos membros posteriores, incoordenação, ataxia e aborto. Amostras de soro e de líquido cefalorraquidiano (LCR) foram coletadas de 38 equinos com histórico de ataxia. Para pesquisa de anticorpos anti-*N. caninum* foi utilizada a reação de

imunofluorescência indireta (RIFI). Das amostras de soro testadas neste grupo de equinos, 15/26 (57,6%) mostraram-se positivas, enquanto que as amostras de LCR foram negativas. Os resultados negativos, nas amostras de LCR, sugerem que *N. caninum* não teve relação com a manifestação dos sinais clínicos neurológicos de ataxia.

*Received on October 10, 2010.

Accepted for publication on March 17, 2011.

Supported by CNPq

¹Médico Veterinário, *M. Med. Vet.* Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária. Departamento de Clínica Veterinária. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Campus de Botucatu, Distrito de Rubião Júnior, s/n., Botucatu, 18.618-970SP, Brasil. E-mail: stelmann.ppgctia@gmail.com - bolsista CNPq.

²Médica Veterinária. Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública (DHVSP). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), UNESP, Campus de Botucatu, Distrito de Rubião Júnior, s/n, Botucatu, 18.618-970, SP. E-mail: leila_ullmann@yahoo.com.br

³Médico Veterinário, *Dr. Med. Vet. LD.* DHVSP, FMVZ, UNESP, Campus de Botucatu, Distrito de Rubião Júnior, s/n, Botucatu, 18.618-970, SP. E-mail: hlangoni@fmvz.unesp.br - bolsista CNPq.

⁴Médico Veterinário, *Dr. Med. Vet. LD.* Departamento de Clínica Veterinária. FMVZ, UNESP, Campus de Botucatu, Distrito de Rubião Júnior, s/n, Botucatu, 18.618-970, SP. E-mail: rmariorim@fmvz.unesp.br

PALAVRAS-CHAVE. *Neospora caninum*, *Neospora hughesi*, equino, Líquido cefalorraquidiano, soro, Reação de Imunofluorescência indireta.

INTRODUCTION

Neosporosis is a disease that affects different animal species including equines (Lindsay et al. 1996, Daft et al. 1996). In the latter, it is caused by the protozoans *Neospora caninum* and *Neospora hughesi*, obligate intracellular parasites presenting many features still under epidemiological study (Hoane et al. 2006, Locatelli-Dittrich et al. 2006). Clinical signs include blindness, weight loss, hindlimb paralysis, unusual behavior, chewing difficulty, incoordination, ataxia, and abortion (Walsh et al. 2000). *Neospora caninum* is often associated with cases of abortion and stillbirths, while *N. hughesi* is related to the onset of neurological disease such as myeloencephalitis, which can also be caused by *Sarcocystis neurona* (Duarte et al. 2004). However, the presentation forms of *N. hughesi* in equines, as well as its definitive and intermediate hosts, remain unknown (Hoane et al. 2006).

Neospora hughesi has not been isolated in South America and most studies on seroprevalence have used *N. caninum* tachyzoites as antigen, not allowing the differentiation among the *Neospora* species that infect equines (Dubey et al. 1999a,b, Patitucci et al. 2004, Locatelli-Dittrich et al. 2006). Dubey et al. (1999a) investigated 101 English Thoroughbred horses in Brazil for the presence of serum antibodies to *S. neurona*, *Toxoplasma gondii*, and *N. caninum*. Only anti-*S. neurona* and *T. gondii* antibodies were detected in 36 and 16 animals, respectively.

There is scarce information to evaluate the seroprevalence of *Neospora* spp. in equines worldwide; however, antibodies have been detected in populations from different states of the United States with 10.0% (McDole & Gay 2002), 11.5% (Cheadle et al. 1999), 17.0% (Vardeleon et al. 2001), and 21.3% seroprevalence (Dubey et al. 1999b). Considering other countries, the reported values are 0% in Brazil (Dubey et al. 1999a) and in Argentina (Dubey et al. 1999c), 23.0% in France, (Pitel et al. 2001), and 2.0% in South Korea (Gupta et al. 2002).

Considering the lack of information about the importance of *Neospora* spp. infection in equines and the non-inclusion of neosporosis in the differential diagnosis of equine protozoal myeloencephalitis (EPM), the main neurological disease affecting equines in the Americas, this study aimed to evaluate the frequency of serum antibodies to *Neospora caninum*, besides a possible association between the presence of anti-*N. caninum* antibodies in CSF and proprioceptive ataxia in the horse group analyzed, since

most studies have been using serum instead of CSF samples to detect antibodies to *N. caninum*.

MATERIAL AND METHODS

Twenty-six serum and cerebrospinal fluid (CSF) samples were collected from equines with history of ataxia, independently of breed, gender and age. All animals belonged to properties in the State of São Paulo, Brazil.

Indirect fluorescent antibody test (IFAT) was carried out according to Dubey et al. (1988). Slides were previously sensitized with *Neospora caninum* tachyzoites NC-1 strain kept in cultivation of Vero cells in RPMI 1640 medium supplemented with 10% fetal bovine serum.

First, CSF and serum samples were selected by adopting as cutoff point a titer of 2 in sterile phosphate buffered saline (PBS) pH 7.2 (0.0084M Na₂HPO₄, 0.14MNaCl), added of 1% bovine serum albumin. Each slide received serum and CSF positive and negative samples as control, at the same dilution as that of the tested samples (1:2). Reactions in which total fluorescence was surrounding the surface of tachyzoites were considered positive, according to Paré et al. (1995). The sera considered reagent (titer > 2) were twofold diluted until 1:64 (1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:64) in order to detect the highest dilution still presenting fluorescence signal.

Descriptive statistics was used to analyze the results.

RESULTS AND DISCUSSION

IFAT was the serological diagnostic test chosen for this study since it is considered the standard test for the canine species, which is most frequently used in works with the investigated agent (Bjorkman & Uggla 1999). According to Vardeleon et al. (2001), IFAT identifies all reagent samples and is considered highly sensitive. Antigens can be obtained from *N. caninum* strains isolated from dogs and cattle, and slight antigenic variations among the isolates do not affect the test efficacy (Bjerkas et al. 1994).

Of the serum samples tested in this group of equines, 15/26 (57.6%) were seropositive, whereas all CSF samples were negative. Although a positive serum sample was used as control for CSF in IFAT due to the lack of a CSF sample positive to *Neospora caninum*, the reaction was initiated at a very low dilution (1:2) in an attempt to detect samples with lower titers. The test quality can also be assured by using an anti-antibody linked to a fluorescein (conjugate) for serum samples, with 57.6% positivity, confirming the quality of both used material and chosen technique. Considering that there was no reagent sample in the first dilution (1:2), all CSF samples were believed to be negative to *N. caninum* antibodies.

In the diagnosis of equine neosporosis, infections by *N. caninum* and *N. hughesi* must be considered. As the main *Neospora* isolated from equines is *N. hughesi*, it can be inferred that this species is the predominant causal agent of equine neosporosis; however, the relative importance of both species remains unknown (Jakubek et al. 2006). Based on differences in proteins of the internal transcribed spacer regions (ITS1) of DNA and on the morphology of tissue cysts, there is a high degree of antigenic similarity between *N. hughesi* and *N. caninum*, and their number of common antigens is sufficient for anti-*N. hughesi* antibodies to cross-react to *N. caninum* in serological tests (Marsh et al 1998, Walsh et al. 2000, Packham et al. 2002). Differentiation between the serological responses to both agents will only be possible if tests using monoclonal antigens specific for each species are employed.

The choice of IFAT, used in this study, is also justified by the adequate specificity in its interpretation since a positive diagnosis is identified when there is total fluorescence from the whole external surface of the tachyzoite fixed in the slide, whereas partial fluorescence, probably due to cross-reaction to other coccidia, is discarded. In addition, IFAT allows result comparison since most researchers use this same technique to diagnose neosporosis in equines.

The presence of antibodies to *Neospora* spp. in CSF is indicative of clinical infection, but studies in equines infected by *Neospora* and respective diagnostic tests are scarce; besides, a titer for *N. hughesi* in CSF samples must be established (Packham et al. 2002, Jakubek et al. 2006).

The obtained results (57,6% seroprevalence) suggest these equines were exposed to *N. caninum*, which does not indicate, however, an active infection (Vardeleon et al. 2001).

As a cross-reaction between *N. caninum* and *N. hughesi* may occur, it is impossible to identify which of these species is responsible for the infection (Walsh et al. 2000).

It is clear that there was no infection by *N. caninum* in the central nervous system (CNS) since there was no positive CSF sample, which justifies the present findings. Thus, in this group of equines the protozoan *N. caninum* has no relation to the clinical neurological manifestations of ataxia. Further studies must be carried out to better understand the epidemiological aspects of neosporosis in equine species.

REFERENCES

- Bjerkas I., Jenkins M.C. & Dubey J.P. Identification and characterization of *Neospora caninum* tachyzoite antigens useful for diagnosis of neosporosis. *Clin. Diag. Lab. Immunol.*, 16:214-221, 1994.
- Bjorkman C. & Uggla A. Serological diagnosis of *Neospora caninum* infection. *Int. J. Parasitol.*, 29:1497-1507, 1999.
- Cheadle M.A., Lindsay D.S., Rowe S., Dykstra C.C., Williams M.A., Spencer J.A., Toivio-Kinnukan M.A., Lenz S.D., Newton J.C. & Rolsma M.D. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in horses from Alabama and characterization of an isolate recovered from a naturally infected horse. *Int. J. Parasitol.*, 29:1537-1543, 1999.
- Daft B.M., Barr B.C., Collins N. & Sverlow K. *Neospora* encephalomyelitis and polyradiculoneuritis in an aged mare with Cushing's disease. *Equine Vet. J.*, 29:240-243, 1996.
- Duarte P.C., Conrad P.A., Barr B.C., Wilson W.D., Ferraro G.L., Packham A.E., Carpenter T.E. & Gardner I.A. Risk of a transplacental transmission of *Sarcocystis neurona* and *Neospora hughesi* in California horses. *J. Parasitol.*, 90:1346-1351, 2004.
- Dubey J.P., Hattel A.L., Lindsay D.S. & Topper M.J. Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: isolation of the causative agent and experimental transmission. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 193:1259-1263, 1988.
- Dubey J.P., Kerber C.E. & Granstron D.E. Serologic prevalence of *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma gondii*, and *Neospora caninum* in Brazil. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 215:970-972, 1999a.
- Dubey J.P., Romand S., Thulliez P., Kwok O.C.Hm, Shen S.K. & Gamble H.R. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in horses in North America. *J. Parasitol.*, 77:212-218, 1999b.
- Dubey J.P., Venturini M.C., Venturini L., McKinney J. & Pecoraro M. Prevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in horses from Argentina. *Vet. Parasitol.*, 86:59-62, 1999c.
- Gupta G.D., Lakritz J., Kim J.H., Kim D.Y., Kim J.K. & Marsh A.E. Seroprevalence of *Neospora*, *Toxoplasma gondii* and *Sarcocystis neurona* antibodies in horses from Jeju island, South Korea. *Vet. Parasitol.*, 106:193-201, 2002.
- Hoane J.S., Gennari S.M., Dubey J.P., Ribicci M.G., Borges A.S., Yai L.E.O., Aguiar D.M., Cavalcante G.T., Bonesi G.L. & Howe, D.K. Prevalence of *Sarcocystis neurona* and *Neospora* spp. infection in horses from Brazil based on presence of serum antibodies to parasite surface antigen. *Vet. Parasitol.*, 136:155-159, 2006.
- Jakubek E.B., Lundén A. & Uggla A. Seroprevalences of *Toxoplasma gondii* and *Neospora* sp. infections in Swedish horses. *Vet. Parasitol.*, 138:194-199, 2006.
- Lindsay D.S., Steinberg H., Dubielzig R.R., Semrad S.D., Konkle D.M., Miller P.E., Blagborn B.L. Central nervous system neosporosis in a foal. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 8: 507-510, 1996.
- Locatelli-Dittrich R., Dittrich J.R., Richartz R.R.T.B., Gasino-Joineau M.E., Antunes J., Pinckney R.D., Deconto I., Hoffmann D.C.S. & Thomaz-Soccol V. Investigation of *Neospora* sp. And *Toxoplasma gondii* antibodies in mares and in precolostral foals from Parana State, Southern Brazil. *Vet. Parasitol.*, 135: 215-221, 2006.
- Marsh A.E., Barr B.C., Packham A.E. & Conrad P.A. Description of a new *Neospora* species (Protozoa: Apicomplexa: Sarcocystidae). *J. Parasitol.*, 84: 983-991, 1998.
- Medole M.G. & Gay J.M. Seroprevalence of antibodies against *Neospora caninum* in diagnostic equine serum samples and their possible association with fetal loss. *Vet. Parasitol.*, 105: 257-260, 2002.

- Packham A.E., Conrad P.A., Wilson W.D., Jeanes L.V., Sverlow K.W., Gardner I.A., Daft B.M., Marsh A.E., Blagburn B.L., Ferraro G.L. & Barr B.C. Qualitative evaluation of selective tests for detection of *Neospora hughesi* antibodies in serum and cerebrospinal fluid of experimentally infected horses. *J. Parasitol.* 88: 1239-1246, 2002.
- Paré J., Hictala S.K. & Thurmond M.C. Interpretation of an indirect fluorescent antibody test for diagnosis of *Neospora sp* infection in cattle. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 7: 273-275, 1995.
- Pitel P.H., Pronost S., Romand S., Thulliez P., Fortier G & Ballet J.J. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in horses in France. *Equine Vet. J.*, 33: 205-207, 2001.
- Vardeleon D., Marsh A.E., Thorne J.G., Loch W., Young R. & Johnson P.J. Prevalence of *Neospora hughesi* and *Sarcocystis neurona* antibodies in horses from various geographical locations. *Vet. Parasitol.*, 95: 273-282, 2001.
- Walsh C.P., Duncan R.B., Zajac A.M., Blagburn B.L. & Lindsay D.S. *Neospora hughesi*: Experimental infections in mice, gerbils and dogs. *Vet. Parasitol.*, 98: 119-129, 2000.

Anexo 23. STELMANN U. J. P.; SILVA, R. C.; LANGONI, H.; BORGES, A. S.; AMORIM, R. M. Anticorpos Contra *Toxoplasma gondii* em Equinos com Histórico de Ataxia. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária, v. 32, n. 4, p. 200-202, 2011.**

ANTICORPOS CONTRA *Toxoplasma gondii* EM EQUINOS COM HISTÓRICO DE ATAXIA*

ANTIBODIES AGAINST *Toxoplasma gondii* IN HORSES WITH HISTORY OF ATAXIA

Ulisses Jorge Pereira Stelmann¹, Rodrigo Costa da Silva², Hélio Langoni³, Alexandre Secorum Borges⁴ and Rogério Martins Amorim⁵

ABSTRACT. Stelmann U.J.P., Silva R.C., Langoni H., Borges A.S. & Amorim R.M. [Antibodies against *Toxoplasma gondii* in horses with history of ataxia]. Anticorpos contra *Toxoplasma gondii* em equinos com histórico de ataxia. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 32(4):200-202, 2011. Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Departamento de Clínica Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Campus de Botucatu, Distrito de Rubião Júnior, s/n, Botucatu, SP 18618-970, Brasil. E-mail: stelmann.ppgctia@gmail.com

The frequency of antibodies in blood serum and cerebrospinal fluid against *Toxoplasma gondii* in horses with a history of ataxia from the state of Sao Paulo, Brazil was carried out. Modified agglutination test was used to determine antibodies against *T. gondii*, considering as positive samples with titers ≥ 2 . Of the blood samples tested, only 8 of 23 (34.78%) were positive, while CSF samples were negative when used the same technique. According to the negative results obtained for CSF, we concluded that *T. gondii* was not the etiological agent of the myeloencephalitis in studied horses with neurological manifestation of ataxia, while the blood serological results indicated a previously exposure to *T. gondii*.

KEY WORDS. Toxoplasmosis, *Toxoplasma gondii*, ataxia, cerebrospinal fluid, horses.

RESUMO. Foi realizado o teste para verificação da frequência de anticorpos no soro sanguíneo e no líquido cefalorraquidiano (LCR) contra *Toxoplasma gondii* em equinos com história de ataxia, no Estado de São Paulo, Brasil. O teste de aglutinação modificada (TAM) foi usado para determinar a presença de anticorpos contra *T. gondii*, considerando como amostras positivas aquelas com título ≥ 2 . Das amostras de sangue examinadas, apenas 8 das 23

(34,78%) foram positivas; enquanto as amostras de LCR foram negativas quando a mesma técnica foi usada. De acordo com os resultados negativos encontrados no LCR, pode se concluir que o *T. gondii* não foi o agente etiológico da Mieloencefalite nos cavalos estudados com manifestação clínica neurológica de ataxia. Entretanto, os resultados sorológicos indicaram que houve uma exposição prévia ao *T. gondii*.

*Recebido em 24 de outubro de 2010.

Aceito para publicação em 23 de março de 2011.

¹Médico-veterinário, M.MV. Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Departamento de Clínica Veterinária(DCV), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Botucatu, Distrito de Rubião Júnior, s/n, Botucatu, SP 18618-970. E-mail: stelmann.ppgctia@gmail.com - bolsista CNPq.

²Médico-veterinário, Dr.MV, Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública (DHVSP), FMVZ, UNESP, Campus de Botucatu, Distrito de Rubião Júnior, s/n, Botucatu, SP 18618-970. E-mail: silva_red@yahoo.com.br

³Médico-veterinário, Dr.MV, LD. DHVSP, FMVZ, UNESP, Campus de Botucatu, Distrito de Rubião Júnior, s/n, Botucatu, SP 18618-970. E-mail: hlangoni@fmvz.unesp.br - bolsista CNPq.

⁴Médico-veterinário, Dr.MV, LD. DCV, FMVZ, UNESP, Campus de Botucatu, Distrito de Rubião Júnior, s/n, Botucatu, SP 18618-970. E-mail: asborges@fmvz.unesp.br

⁵Médico-veterinário, Dr.MV, LD. DCV, FMVZ, UNESP, Campus de Botucatu, Distrito de Rubião Júnior, s/n, Botucatu, SP 18618-970. E-mail: rmamorim@fmvz.unesp.br

PALAVRAS-CHAVE. Toxoplasmose, *Toxoplasma gondii*, ataxia, líquido cefalorraquidiano, cavalos.

INTRODUÇÃO

Os equídeos, dentre as espécies domésticas, estão entre os animais mais resistentes à infecção por *T. gondii*, podendo, entretanto, apresentar sintomas clínicos caracterizados por hiperirritabilidade, incoordenação motora, distúrbios oculares e aborto (Turner & Savva 1991). Tem-se observado, de forma geral, uma baixa prevalência da toxoplasmose em equídeos, quando comparada com outras espécies domésticas. Desta forma, a literatura assinala índices de soroprevalência de 6,9% a 10,0% nos EUA (Al-Khalidi & Dubey 1979, Dubey et al. 1999a), 11,8% a 22,9% na Índia (Chhabra & Gautam 1980), 8,0% no Chile (Urcelay et al. 1982), 37,1% na Nigéria (Aganga et al. 1983), 6,7% na China (Ling & Wan 1984), 6,1% a 24% na Turquia (Zeybek et al. 1998) e 13,1% na Argentina (Dubey et al. 1999b). No Brasil, a maioria dos trabalhos descreve resultados obtidos em inquéritos sorológicos sobre a prevalência de anticorpos contra *T. gondii* em equinos clinicamente sadios (Larangeira et al. 1985, Costa et al. 1986, Spósito Filha et al. 1986) e os resultados diferem de acordo com a região estudada: 21,4% a 32,8% de sororreagentes em Mato Grosso do Sul (Larangeira et al. 1985, Vidotto et al. 1997), 24,8% a 41,5% em São Paulo (Costa et al. 1986, Vidotto et al. 1997), 17,4% no Rio Grande do Sul (Spósito Filha et al. 1986), 4,4% no Rio de Janeiro (Gazeta et al. 1997), 13,7% em Mato Grosso (Vidotto et al. 1997) e 12,1% a 23,4% no Paraná (Vidotto et al. 1997, Garcia et al. 1999). Os poucos estudos epidemiológicos sobre a toxoplasmose em equídeos, restringem-se quase que exclusivamente à espécie equina, sendo raros os trabalhos que incluem também os asininos e muares. Entretanto, foi realizado um estudo utilizando 343 amostras de soro de equídeos, procedentes dos municípios de Jacobina e Jequié, Estado da Bahia, no período de outubro de 1997 a dezembro de 1999, e os resultados obtidos assinalam que os asininos são tão resistentes à infecção por *T. gondii* quanto os equinos. Embora nenhuma amostra de muar tenha reagido positivamente, o número de soros testados não permite uma avaliação estatística para este dado (Mendonça et al. 2001).

Utilizando amostras de soro sanguíneo e de líquido cefalorraquidiano (LCR), o presente trabalho teve por objetivo determinar a frequência de anti-

corpos contra *T. gondii* em equinos com histórico de ataxia, sinal clínico neurológico comumente associado à mieloencefalite por protozoário.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas amostras séricas e líquóricas de 37 equinos, independentemente da raça, sexo e idade, que possuíam histórico de ataxia, de acordo com as fichas de exame clínico. Todos os animais eram pertencentes a propriedades do Estado de São Paulo e foram previamente atendidos pelo Serviço de Clínica de Grandes Animais do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP/Botucatu. Desses equinos, 10 possuíam amostras de LCR e soro sanguíneo, 14 apenas amostras de LCR e 13 apenas amostras de soro sanguíneo, totalizando 47 amostras.

A coleta das amostras de sangue foi realizada mediante punção da veia jugular, com sistema de coleta a vácuo e agulha 25 x 8 mm, após assepsia local com álcool iodado, acondicionadas em tubos sem anticoagulante e centrifugadas a 700 G, durante 10 minutos, para obtenção do soro, que por sua vez foram armazenadas em microtubos de 1,5 mL, identificados e congelados a -20°C até a realização das análises sorológicas. Para a coleta das amostras do LCR, através da punção da cisterna lombo-sacra ou magna, os animais foram previamente submetidos à sedação com xilazina a 10%, seguindo-se com a administração da acepromazina como medicação pré-anestésica. Para indução e manutenção anestésica, foram utilizados tiopental e halotano, respectivamente. Após assepsia do local de punção, foram obtidos 10 ml de LCR, utilizando-se agulhas espinhal 180 x12 para colheita na cisterna lombo-sacra e 100 x10 para a magna. As alíquotas de LCR foram armazenadas em microtubos, e conservados sob refrigeração a temperatura de -20°C até o processamento.

Para a pesquisa de anticorpos contra *T. gondii*, utilizou-se o teste de aglutinação modificada (TAM), segundo Desmonts & Remington 1980, considerando-se como positivas as amostras com título ≥ 2 . Utilizou-se estatística descritiva para análise dos resultados.

RESULTADO E DISCUSSÃO

Das amostras testadas, 8 de 23 (34,78%) amostras de soro sanguíneo foram positivas. Enquanto as amostras de LCR apresentaram, em sua totalidade, resultado negativo com a técnica empregada.

A baixa prevalência de animais sororreagentes encontrada no presente estudo está de acordo com a maioria dos trabalhos realizados em outros países, para equídeos (Al-Khalidi & Dubey 1979, Chhabra & Gautam 1980, Urcelay et al. 1982, Ling & Wan 1984, Zeybek et al. 1998, Dubey et al. 1999a,b).

Alguns resultados discrepantes encontrados em trabalhos nacionais podem ser explicados, em parte, pela técnica utilizada e, principalmente, pelo ponto de corte estipulado (Mendonça et al. 2001). Utilizou-se o TAM para a pesquisa de anticorpos contra *T. gondii*, considerando-se como positivas as amostras com título ≥ 2 . O TAM é um método de custo baixo e fácil execução e dispensa o uso de microscópios ou conjugados, sendo de grande utilidade nos estudos epidemiológicos (Desmonts & Remington 1980).

Muitas doenças em equinos podem resultar em ataxia, como toxoplasmose, mieloencefalite por protozoário, herpesvirus do tipo 1, mieloencefalopatia, mieloencefalopatia degenerativa, malformação vertebral cervical, *Síndrome de Wobbler*, trauma, neoplasia, abscessos vetebrais, entre outras.

De acordo com os resultados negativos encontrados nas amostras de LCR, conclui-se que *T. gondii* não foi o agente etiológico responsável pelo sinal clínico neurológico de ataxia encontrados nos cavalos do presente estudo.

Quando não existe contaminação do LCR com anticorpos séricos no momento da coleta, o que poderia levar a um resultado falso positivo, a presença de anticorpos no liquor contra *T. gondii* é essencial para confirmar a participação do agente etiológico nesses casos. Enquanto que os resultados sorológicos indicaram que houve uma exposição prévia ao *T. gondii*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aganga A.O., Kwanashie G.G. & Belino E.D. *Toxoplasma* antibodies in polo horses of Nigeria. *Int. J. Zoon.*, 10:155-158, 1983.
- Al-Khalidi N.W. & Dubey J.P. Prevalence of *Toxoplasma gondii* infection in horses. *J. Parasitol.*, 65:331-334, 1979.
- Costa A.J., Ishizuka M.M., Marques L.C., Vidotto O., Rocha U.F. & Ikeda A.I. Toxoplasmosis frequency in equines from the north region of São Paulo State, Brazil. *Ars Vet.*, 2:75-79, 1986.
- Chhabra M.B. & Gautam O.P. Antibodies to *Toxoplasma gondii* in equids in north India. *Equine Vet. J.*, 3:146-148, 1980.
- Desmonts G. & Remington J.S. Direct agglutination test for diagnosis of *Toxoplasma* infection: method for increasing sensitivity and specificity. *J. Clin. Microbiol.*, 11:562-568, 1980.
- Dubey J.P., Thulliez P., Romand S., Kwok O.C.H., Shen S.K. & Gamble H.R. Serologic prevalence of *T. gondii* in horses slaughtered for food in North America. *Vet. Parasitol.*, 86:235-238, 1999a.
- Dubey J.P., Venturini M.C., Venturini L., McKinney J. & Pecoraro M. Prevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in horses from Argentina. *Vet. Parasitol.*, 86:59-62, 1999b.
- Dubey J.P., Lindsay D.S., Saville W.J.A., Reed S.M., Granstrom D.E. & Speer C.A. A review of *Sarcocystis neurona* and equine protozoal myeloencephalitis (EPM). *Vet. Parasitol.*, 95:89-131, 2001.
- Garcia J.L., Navarro I.T., Ogawa L. & Oliveira R.C. Soroprevalência do *Toxoplasma gondii*, em suínos, bovinos, ovinos e equinos, e sua correlação com humanos, felinos e caninos, oriundos de propriedades rurais do norte do Paraná-Brasil. *Cienc. Rur.*, 1:91-97, 1999.
- Gazeta G.S., Dutra A.E.A., Norberg A.N., Serra-Freire N.N., Souza W.J.S., Amorim M. & Lopes L.M.S. Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em soros de equinos no estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 2:87-91, 1997.
- Larangeira N.L., Ishizuka M.M. & Hyakutake S. Prevalência da toxoplasmose eqüina avaliada pela técnica de imunofluorescência indireta, Mato Grosso do Sul, Brasil. *Bol. Of. Sanit. Panam.*, 2:158-162, 1985.
- Ling C.W. & Wan P.D. A report of investigations of antibodies to *Toxoplasma gondii* in the horse and mule in Sichuan Province. *J. Vet. Sci. Technol.*, 4:32-34, 1984.
- Mendonça A.O., Cerqueira E.J.L., Araujo W.N., Moraes-Silva E., Shimabukuro F.H., Sarkis D.T., Sherlock I. & Langoni H. Inquérito sorológico para toxoplasmose em equídeos procedentes de duas regiões do Estado da Bahia, Brasil. *Semina: Cienc. Agri.*, 22:115-118, 2001.
- Spósito Filha E., Amaral V., Macruz R., Rebouças M.M. & Barci L.A.G. *Toxoplasma gondii* em equinos: estudo sorológico e tentativa de isolamento. *Arg. Inst. Biol.*, 7-9:73-74, 1986.
- Turner C.B. & Savva D. Detection of *Toxoplasma gondii* in equine eyes. *Vet. Rec.*, 129:128, 1991.
- Urcelay S., Maino M., Pinochet E. & Castro Q.F. Toxoplasmosis equine, Chile, 1980. *Arch. Med. Vet.*, 14:127-130, 1982.
- Vidotto O., Kano F.S., Freire R.L., Mitsuka R., Ogawa L., Banesi G., Navarro I.T. & Francisco F.S.G. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em eqüinos procedentes de quatro estados (SP, PR, MS e MT) abatidos em Apucarana, PR. *Semina: Cienc. Agri.*, 18:9-13, 1997.
- Zeybek H., Dundar B., Altintas K. & Gungor C. The seroprevalence of toxoplasmosis in equids. *Acta Parasitol. Turc.*, 22:424-427, 1998.

Anexo 24. STELMANN, U. J. P.; SILVA, A. A.; SOUZA, B. G.; OLIVEIRA, G. F.; MELLO, E. B. F. R. B.; SOUZA, G. C. J.; HESS, T. M. Dermoid Cyst In Sheep - A Case Report. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v. 34, n. 2, p. 127-130, 2012.

DERMOID CYST IN SHEEP - A CASE REPORT*

Ulisses Jorge Pereira Stelmann^{1*}, Andreza Amaral da Silva², Bruno Gonçalves de Souza³, Gabriela Ferreira de Oliveira⁴, Erica Bertha Fuhrich Raupp Bezerra de Mello⁵, Gustavo Colombiano Jorge de Souza⁶ and Tanja Maria Hess⁷

ABSTRACT. Stelmann U.J.P., Silva A.A., Souza B.G., Oliveira G.F., Mello E.B.F.R.B., Souza G.C.J. & Hess T.M. **Dermoid cyst in sheep - A Case Report.** [Cisto dermóide em ovino - Relato de Caso]. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 34(2):127-130, 2012. Programa de Pós-Graduação em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR 465, Km 7, Seropédica, RJ 23890-000, Brasil. E-mail: stelmann.ppgctia@gmail.com

A dermoid cyst is a non-neoplastic, benign dermatologic injury. This article describes the finding of a dermoid cyst that was surgically extracted in a nine months aged ewe. The patient was admitted to the Large Animal Veterinary Hospital Department at the Federal Rural of Rio de Janeiro University, with a history of a non-healing wound that also contained fur. The ewe was referred to the surgical service and the histopathologic analysis of the lesion revealed a structure lined by stratified epithelium containing hair follicles, sudoriparous and sebaceous glands, which are conclusive for a dermoid cyst diagnosis.

KEY WORDS. Dermoid cyst, epidermoid cyst, cutaneous cyst, sebaceous glands, sheep.

RESUMO. O Cisto dermóide é uma lesão dermatológica, de caráter não-neoplásico, evolução lenta e desenvolvimento benigno. Este artigo discorre sobre os achados clínicos e histopatológicos de um caso de cisto dermóide em uma ovelha de nove meses de idade. Como principais sinais clínicos o animal apresentava claudicação do membro anterior esquerdo e uma ferida com aproximadamente um mês de evolução na porção distal do mesmo membro, por onde protuíam-se pêlos. O ovino foi encaminhado à cirurgia e o exame histopatológico revelou uma estrutura revestida por epitélio estratificado

contendo folículos pilosos e glândulas sebáceas e sudoríparas, compatível com o diagnóstico de cisto dermóide.

PALAVRAS-CHAVE. Cisto dermóide, cisto epidermóide, cisto cutâneo, glândula sebácea, ovino.

INTRODUCTION

Dermoid cyst is a rare non-neoplastic skin abnormality that is characterized by a focal duplication of the whole dermatologic structure, including skin and associated structures (Freitas et al. 2005). Macroscopically they are similar to follicular cysts and

*Received on July 7, 2011.

Accepted for publication on February 28, 2012.

¹Médico-veterinário, *M.Med.Vet.* Programa de Pós-Graduação em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), BR-465, Km 7, Seropédica, RJ 23.890-000, Brasil. *Correspondence Author. E-mail: stelmann.ppgctia@gmail.com - bolsista CAPES.

²Médica-veterinária, *M.Med.Vet.* Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Departamento de Clínica Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade Estadual Paulista, Campus de Botucatu, Distrito de Rubião Júnior, S/N, Botucatu, SP 18618-970, Brasil. E-mail: andrezaamedvet@yahoo.com.br - bolsista FAPESP.

³Médico-veterinário, *M.Med.Vet.* Programa de Pós-graduação em Clínica e Reprodução Animal, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Rua Vital Brasil, nº64, Santa Rosa, Niterói, RJ 24320-340, Brasil. E-mail: brunomedvet@yahoo.com.br

⁴Médica-veterinária, *M.Med.Vet.* Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Instituto de Veterinária (IV), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), BR-465, Km 7, Seropédica, RJ 23890-000. E-mail: gabi.ufrrj@gmail.com - bolsista CAPES/REUNI.

⁵Médica-veterinária, *M.Med.Vet.* Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, IV, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), BR-465, Km 7, Seropédica, RJ 23.890-000. E-mail: bezerrademello.ebfr@gmail.com

⁶Zootecnista, Autônomo. E-mail: gustavotwr@hotmail.com

⁷Médica Veterinária, *PhD.* Equine Sciences, Department of Animal Sciences, Colorado State University, 701 S, Overland Trail, Fort Collins, 80523, Colorado. E-mail: tanja.hess@colostate.edu +Correspondence Author: stelmann.ppgctia@gmail.com

can occur in isolated form or in groups, in dermic or subcutaneous area (Gross et al. 1992). A small pore can connect the interior of the cyst to the cutaneous surface and hair can protrude from that opening (Hargis et al. 1977).

It is believed that these cysts originate from an incarceration and subsequent growth of embryonic epithelial cells during the closure of the neural tube, and therefore most of these lesions occur along the median line (Muñoz et al. 2007, Menditti et al. 2008). However there are reports of acquired dermoid cysts, secondary to traumatic epithelial dislocations (Hillyer et al. 2003). The increased size of the cyst occurs due to normal cell desquamation within the cyst cavity leading to secondary signs related to the compression of adjacent structures (Lazidis et al. 2007).

Dermoid cysts are well documented in humans however less common among animal species (Sarrafzadeh-Rezaei et al. 2007). It is most common among dogs (Hargis et al. 1977, Liptak et al. 2000), however less common among cats and bovines (Henderson et al. 1993, Baird et al. 1993), and less frequent among horses (Scott & Miller 2003, Muñoz et al. 2007) and goats (Gamlem & Crawford 1997).

The following case is the clinical and histopathologic description of a dermoid cyst in a sheep, treated by surgical excision.

HISTORICAL FINDINGS

A Santa Ignéz nine month ewe was referred to the Large Animal Hospital of the Federal Rural University of Rio de Janeiro. The owner brought her in due to a non healing lesion at the distal aspect of the left front leg.

During the physical exam the ewe was alert, in a good condition score, and weighed 30 kg. Clinical parameters: heart and respiratory frequency, mucous membrane color, capillary refill time, rectal temperature and ruminal motility were all normal.

The presence of a foreign body was suspected in the lesion. The area was shaved and cleaned with povidone-iodine solution at 10%. Five to 10 ml of a 0.9% saline were infused into the lesion through a sterile urethral catheter connected to a sterile syringe. The remaining fluid in the cavity was aspirated manually. An ultra sound of the region was performed and no connection to any tissues was found.

A treatment was prescribed to the owner consisting of local cleaning with topical Povidone iodine

pyrrolidone solution at 10% and chlorhexidine, with cotton gauze and antibiotic therapy consisting of bezatin penicillin (40.000 IU/kg q 48 hs IM, for 4 times). Also, 5000 IU of tetanus anti toxin were administered intra muscularly.

After three months the owner returned with the ewe to the Hospital. The ewe still had the lesion and presented a grade I lameness from the affected limb. According to the owner two months after the healing of the initial lesion another lesion appeared and the animal became lame. A new clinical exam was performed and no alterations in the clinical parameters were observed. A grade I lameness was observed from the same limb. The lesion had a diameter of 1 cm, and was 5 cm deep, and a swollen area was found around the lesion. The lesion was similar to the initial one and there was a mucous secretion coming from the lesion and hair protruding out of the opening.

Cleaning of the lesion was performed as for the first time and hair was recovered from the cavity lavage. The clinical diagnosis indicated the presence of a dermoid cyst and the animal was referred to surgery.

The animal was contained and sedated with xylazine 2% (0.5 mg/kg, IM) and maintained on left lateral decubitus. Shaving and asepsis of the surgical area was done and local anesthesia was applied by the administration of 5 ml of 2% lidocaine.

Initially a skin and subcutaneous fusiform incision was done around the lesion and a tubular structure was visualized. Tissue was separated along its tract and a saccular structure with one cm of diameter with hardened consistency was revealed. The procedure was completed with the excision of the tissue mass and its transfer to a container with formalin at 10%. The incision was flushed with sterile saline solution and reduced by suture with chromic catgut (#0). Skin suture was performed by separated stitches with nylon suture (#0). The collected material was sent to the department of Pathology of the São Paulo State University, Botucatu, Brazil, for histopathologic analysis.

Histopathologic analysis revealed a central area composed of hair and keratin, resulting from desquamation of pavement stratified epithelium where hair follicles and sebaceous glands were presented. Around the hair follicles sudoriparous glands were found on a conjunctive stroma that contained a lymphocytic infiltrate. No signs of malignancy were found. Diagnosis was of a dermoid cyst (Figura 1).

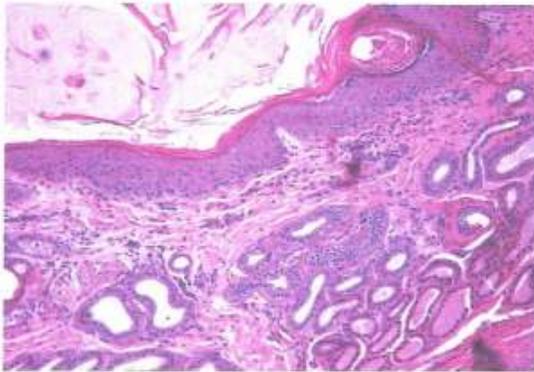


Figure 1. Dermoid cyst wall composed of stratified pavement epithelium filled with keratin where secondary hair follicles and sebaceous glands appear.

After surgery parenteral antibiotics were administered (Benzatin penicilin 40.000 IU/kg q 48 hs IM) and non-steroidal anti-inflammatory drug (flunixin, 1.1 mg/kg bid, IM). The cleaning of the incision consisted of local irrigation with a topical iodine-povidone solution at 10% and the application of an antibiotic cream (neomicin and bacitracin). The animal was kept at the Hospital for two weeks until complete healing of the incision.

DISCUSSION

A dermoid cyst is characterized by the presence of sebaceous and sudoriparous glands and/or hair follicles (D'antonio et al. 2000, Akao et al. 2003, Pereira et al. 2008). Differential diagnosis include: infundibular or epidermoid cyst, sarcóide and collagenolytic granuloma (Hillyer et al. 2003). The diagnosis of the excised structure was based upon the current description of dermoid cyst in the literature. The finding of sebaceous glands on the epithelial covering the cyst was an confirmation evidence for the diagnosis (Takeda et al. 2003, Muñoz et al. 2007, Sarrafzadeh-Rezaei et al. 2007).

Dermoid cysts may have a congenital or acquired origin (Hillyer et al. 2003, Muñoz et al. 2007). In humans dermoid cysts may develop in 5 months after a traumatic lesion of the skin (Tulvatana et al. 2005) suggesting that acquired cysts may have a fast development rate. In the current case, the description given by the owner was not conclusive to determine the origin of the cyst. The age of the ewe can point to a congenital origin. However an acquired cyst cannot be discharged although a recent trauma had not occurred. There is the possibility

that the ewe had a non observed injury, since it is maintained in a semi-intensive management.

The site of dermoid cysts varies among species. In humans cerebral (Akhaddar et al. 2002), spinal medullar (Nishie et al. 2003), ovarian (Ferrari et al. 2003), penian (Yoshiaki et al. 2003), lingual (Milam et al. 2003), orbital (Colombo et al. 2000, Abou-Rayyah et al. 2002, Perry & Tuthill 2003), mandibular (Takeda et al. 2003), and cervical cysts (Pryor et al. 2005) have been described. In dogs and cats the cerebral and medullar cysts are the most commonly found (Sarrafzadeh-Rezaei et al. 2007). A single report found a dermoid cyst on the tongue of a dog (Liptak et al. 2000). In equines dermoid cysts occur most frequently in the median dorsal line, more precisely in the lumbar and thoracic regions (Pascoe & Knottenbelt 1999, Scott & Miller 2003). In retrospective studies of equine dermoid cysts all described horses had their lesions on the dorsal medial line (Abraham 1995, Hillyer et al. 2003, Pascoe 1981). In bovines dermoid cysts occur in the ocular and periocular regions (Akhaddar et al. 2002, Ashkan et al. 2002).

The indicated treatment is the surgical removal of the dermoid cyst (Hillyer et al. 2003, Muñoz et al. 2007). During the dissection of the cyst, the structure should be left intact, because its identification turns to be difficult in an event of its rupture. It is also important to remove the whole cyst due to the chance of reoccurrence (Muñoz et al. 2007).

CONCLUSION

The dermoid cyst although benign should not be underestimated. It is always important perform differential diagnosis clinically or pathologically. Differentiation between dermoid cysts and epidermoid cysts need to be done and clinical and histopathologic characteristics may lead to wrong diagnosis. In the current case the lesion characteristics as well as the histopathologic findings were conclusive for the diagnosis. Treatment is simple and well established and involves careful dissection, which prevents reoccurrence.

REFERENCES

- Abou-Rayyah Y., Rose G.E., Konrad H., Chawla S.J. & Moseley I.F. Clinical, radiological and pathological examination of periocular dermoid cysts: evidence of inflammation from an early age. *Eye.*, 16:507-512, 2002.
- Abraham C.G. & Genetzky R.M. Diagnosing dermoid cysts in a horse. *Veterinary Medicine.*, 90:72-73, 1995.
- Akao I., Nobukiyo S., Kobayashi T., Kikuchi H. & Koizuka

- I. A case of large dermoid cyst in the floor of the mouth. *Auris Nasus Larynx*, 1:137-139, 2003.
- Akhaddar A., Jiddane M., Chakir N., Hassani R.E., Moustarchid B. & Bellakhdar F. Cerebellar abscesses secondary to occipital dermoid cyst with dermal sinus: case report. *Surg. Neurol.*, 58:266-270, 2002.
- Amir R. & Dunham M.E. Bilateral choanal atresia associated with nasal dermoid cyst and sinus: a case report and review of the literature. *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.*, 58:81-85, 2001.
- Antonio W.E.P.A., Ikino C.M.E., Murakami M.S., Sennes L.U. & Tsuji D.H. Cisto epidermóide gigante de assoalho de boca. *Rev. Bras. Otorrinolaringol.*, 66:63-66, 2000.
- Ashkan K., Wilkins P. & Marsh H. Squamous cell carcinoma: a rare complication of dermoid cysts. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.*, 28:164-165, 2002.
- Baird A.N., Wolfe D.F. & Groth A.H. Dermoid cyst in a bull. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 202:298, 1993.
- Colombo F., Holbach L.M. & Naumann G.O.H. Conjunctival cyst and conjunctival dermoid of the orbit. *Orbit.*, 19:13-19, 2000.
- Ferrari M.M., Mezzopane R., Bulfonia A., Grijuelaa B., Carminatib R., Ferrazzic E. & Pardia G. Surgical treatment of ovarian dermoid cysts: a comparison between laparoscopic and vaginal removal. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 109:88-91, 2003.
- Freitas C.E.O.L.P., Siqueira B.M.S., Silva Junior A.F., Botelho T.L. & Pereira C.M. Cisto epidermóide em região submentoniana: relato de caso clínico. *Rev. Bras. Patol. Oral.*, 4:90-93, 2005.
- Gamlem T. & Crawford T.B. Dermoid cysts in identical locations in a doe goat and her kid. *Vet. Med. Small Anim. Clin.*, 72:616-617, 1997.
- Göbür K., Talas D. & Özcan C. An unusual presentation of neck dermoid cyst. *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.*, 262:353-355, 2005.
- Gross T.L., Ihrke P.J. & Walder E.J. *Veterinary dermatopathology: a macroscopic and microscopic evaluation of canine and feline skin disease*. St. Louis, Mosby, 1992. 520p.
- Hargis A.M., Thomassen R.W. & Phemister R.D. Chronic dermatosis and cutaneous squamous cell carcinoma in the beagle dog. *Vet. Pathol.*, 14:218-228, 1977.
- Henderson J.P., Pearson G.R. & Smerdon T.N. Dermoid cyst of the spinal-cord associated with ataxia in a cat. *J. Small Anim Pract.*, 34:402-404, 1993.
- Hillyer L.L., Jackson A.P., Quinn G.C. & Day M.J. Epidermal (infundibular) and dermoid cysts in the dorsal midline of a three-year-old thoroughbred-cross gelding. *Vet. Dermatol.*, 14:205-209, 2003.
- Lazaridis E., Tepedino M.M. & Esquenazi D. Cisto epidermóide de orelha externa e hipoacusia: relato de caso. *Arg. Int. Otorrinolaringol.*, 11:494-497, 2007.
- Liptak J.M., Canfield P.J. & Hunt G.B. Dermoid cyst in the tongue of a dog. *Aust. Vet. J.*, 78:160-161, 2000.
- Menditti D., Laino L., Ferrara N. & Baldi A. Dermoid cyst of the mandible: a case report. *Cases J.*, 1:1-3, 2008.
- Milam M., Hill S.A. & Manaligo J.M. Lingual dermoid cyst. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 128:428-429, 2003.
- Muñoz E., Leiva M., Naranjo C. & Peña T. Retrobulbar dermoid cyst in a horse: a case report. *Vet. Ophthalmol.*, 10:394-397, 2007.
- Nishie A., Yoshimitsua K., Hondaa H., Irica H., Aibeia H. & Shinozakia K. Presacral dermoid cyst with scanty fat component: usefulness of chemical shift and diffusion-weighted MR imaging. *Comput. Med. Imaging Graph.*, 27:293-296, 2003.
- Pascoe R.R. & Knottenbelt D.C. Non-infectious diseases, p.145-153. In: Pascoe R.R. & Knottenbelt D.C. (Eds), *Manual of Equine Dermatology*. W.B. Saunders, London, 1999.
- Pascoe R.R. & Summers P.M. Clinical survey of tumors and tumor-like lesions in horses in south east Queensland. *Equine Vet. J.*, 13:235-239, 1981.
- Pereira J.V., Alves P.M., Araújo C.R.F., Pereira K.M.A. & Costa A.L.L. Cisto epidermóide em ventre de lingual. *Rev. Bras. Otorrinolaringol.*, 74:476, 2008.
- Perry J.D. & Tuthill R. Simultaneous ipsilateral temporal fossae and orbital dermoid cysts. *Am. J. Ophthalmol.*, 135:413-415, 2003.
- Pryor S.H., Lewis J.E., Weaver A.L. & Orvidas L.J. Pediatric dermoid cysts of the head and neck. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 132:938-942, 2005.
- Reilly L.K., Baird A.N. & Pugh D.G. *Enfermidades do sistema musculoesquelético*, p.254-256. In: Pugh D.G. (Ed.). *Clinica de ovinos e caprinos*. Roca, São Paulo, 2005.
- Rings D.M. Ovine contagious foot rot, p.00-00. In: Howard J.L. & Smith R.A. (Eds), *Current Veterinary Therapy: Food Animal Practice*. 4th ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1999.
- Sarrafzadeh-Rezaei F., Farshid A.A. & Saifzadeh S. Congenital ocular dermoid cyst in a river buffalo (*Bubalus bubalis*) calf. *J. Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin. Med.*, 54:51-54, 2007.
- Scott D.W. & Miller W.H. Neoplastic and non-neoplastic tumors, p.773-774. In Scott D.W. & Miller Jr W.H. (Eds), *Equine Dermatology*. Saunders Company, St Louis, 2003.
- Takeda Y., Oikawa Y., Satoh M. & Nakamura S. Latent form of multiple dermoid cysts in the jaw bone. *Pathol. Int.*, 53:786-789, 2003.
- Tulvatana W., Chantranuwat C., Mahasuvirachai K. & Amaranuntakit S. Free keratin and dermoid cyst of the iris. *Arch. Ophthalmol.*, 123:402-403, 2005.
- Yoshiaki K., Takeshi N., Masayo F. & Takechisa Y. Epidermoid cyst of the penis: a case report. *Int. J. Urol.*, 94:452-455, 2003.

Anexo 25. STELMANN, U. J. P.; CAMOSSO, L. G.; SILVA, R. C.; LANGONI, H.; FLAUSINO, W.; LOPES, C. W. G. Anticorpos contra *Toxoplasma gondii* em equinos da microrregião Serrana do estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária, 35(supl. 2): 00-00, 2013. [Aceito para publicação]**

REVISTA BRASILEIRA DE MEDICINA VETERINÁRIA

ISSN 0100-2430 - Periódico de Informação Técnico Científico

SOCIEDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA DO RIO DE JANEIRO

Avenida Presidente Vargas, 446/1004 – Edifício Delamare – Centro, Rio de Janeiro, 20.085-900, RJ

E-mail: somverj@gmail.com

RBMV 75/2014-Somverj

Em, 14 de janeiro de 2014.

Prezado

Ulisses Jorge Pereira Stelmann

PPGCTIA, UFRRJ, *Campus* Seropédica

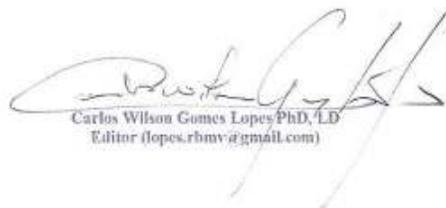
BR 465 km 7, Seropédica, 23897-970, RJ

E-mail: stelmann.ppgctia@gmail.com

Comunico a V.Sa., e aos demais autores que o artigo abaixo relacionado que o manuscrito recebido para ser avaliado, tem previsão de publicação no volume 35, supl. 2, 2013 na *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*. Este periódico está indexado até o presente momento no CABI, AGRICOLA, ISI (Web of knowledge), AGRIS-FAO, sendo considerada como B1 no *Qualis/CAPES*.

1. Stelmann U.J.P., Camossi, L.G., Silva, R.C., Langoni H., Flausino W. & Lopes, C.W.G., **Antibodies against *Toxoplasma gondii* (Apicomplexa: Toxoplasmatinae) in horses from Serrana microregion of the State of Rio de Janeiro, Brazil.** [Anticorpos contra *Toxoplasma gondii* em equinos da microrregião Serrana do estado do Rio de Janeiro]. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 35(supl. 2): 00-00, 2013. Programa de Pós-Graduação em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, *Campus* Seropédica, BR 465 km 7, Seropédica, 23897-970, RJ, Brasil. E-mail: stelmann.ppgctia@gmail.com

Atenciosamente



Carlos Wilson Gomes Lopes PhD, LD
Editor (lopes.rbmrv@gmail.com)