

## NEOSPOROSE EQUINA – REVISÃO

### (*Equine neosporosis* – review)

LOCATELLI-DITTRICH, R.<sup>1, 2</sup>; HOFFMANN, D.C.S.<sup>1</sup>; DITTRICH, J.R.<sup>1, 3</sup>

<sup>1</sup>Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná;

<sup>2</sup>Departamento de Medicina Veterinária – UFPR;

<sup>3</sup>Departamento de Zootecnia – UFPR - e-mail: [roslocdi@ufpr.br](mailto:roslocdi@ufpr.br); telefone: (41) 3350-5729.

**RESUMO** – A neosporose equina é uma doença causada pelos protozoários *Neospora caninum* e *Neospora hughesi*, parasitas intracelulares obrigatórios. Os protozoários causam aborto, mortalidade neonatal, doenças neurológicas e viscerais em eqüinos. Os anticorpos contra *Neospora* sp. foram detectados em eqüinos dos Estados Unidos, Brasil, Chile, Nova Zelândia, Coréia do Sul, França, Itália e Suécia. Nestes países a soroprevalência variou de 1% a 47%, em cavalos sadios. Os cães e os coiotes são os hospedeiros definitivos de *N. caninum* e o hospedeiro definitivo de *N. hughesi* é desconhecido. Aspectos relativos à importância das duas espécies de *Neospora* como causa de abortos e doenças neurológicas em eqüinos, a epidemiologia e os métodos de diagnóstico precisam de estudos adicionais. Esta revisão aborda as informações sobre a neosporose equina, os parasitas, a epidemiologia, sinais clínicos, diagnóstico e a resposta imune.

**Palavras-chave:** Neosporose; *Neospora caninum*; *Neospora hughesi*; eqüino

**ABSTRACT** – Neosporosis is caused by the parasites *Neospora caninum* and *Neospora hughesi*, which are obligate intracellular protozoa. Abortion and neonatal disease, visceral and central nervous system disease due to *Neospora* have been reported in horses. Antibodies to *Neospora* sp. in equine populations were reported in clinically normal horses from the USA, Brazil, Chile, New Zealand, South Korea, France, Italy and Sweden, and the seroprevalence has been reported from 1 to 47% of healthy horses. Dogs and coyotes are definitive host of *N. caninum* and the definitive host of *N. hughesi* is unknown. Cases of clinical neosporosis have been reported and it is uncertain in these instances whether *N. caninum*, *N. hughesi*, or both were responsible. Further studies are required to differentiate *N. hughesi* and *N. caninum* serologically and identify the relative contributions of these parasites to equine neurological disease and reproductive failure. This paper reviews information about equine neosporosis, parasites, epidemiology, clinical signs, diagnosis and the immunity.

**Key-words:** Neosporosis; *Neospora caninum*; *Neospora hughesi*; equine.

### Introdução

A neosporose é uma doença que acomete bovinos (BARR *et al.*, 1991), cães (DUBEY *et al.*, 1988a), ovinos (DUBEY *et al.*, 1990), caprinos (DUBEY *et al.*, 1992), cervos (WOODS *et al.*, 1994), búfalos (RODRIGUES *et al.*, 2004) e eqüinos (LINDSAY *et al.*, 1996; DAFT *et al.*, 1996). A doença nos eqüinos é causada pelos protozoários *Neospora caninum* e *Neospora hughesi*, parasitas intracelulares obrigatórios com muitas particularidades epidemiológicas ainda em estudo (HOANE *et al.*, 2006; LOCATELLI-DITTRICH *et al.*, 2006). Em muitos países, inclusive no Brasil, a neosporose está sendo amplamente pesquisada. Aspectos relativos à espécie do protozoário, aos hospedeiros, à prevalência da doença em animais de produção e silvestres, e à resposta imune aos parasitas são os principais focos destes estudos.

No Brasil, o protozoário *N. caninum* foi isolado de cão (GONDIM *et al.*, 2001), de feto bovino e de bezerro com cegueira congênita (LOCATELLI-DITTRICH *et al.*, 2003; 2004) e de búfalos (RODRIGUES *et al.*, 2004), respectivamente, nos Estados da Bahia, Paraná e em São Paulo.

Em eqüinos a neosporose causa aborto, doenças neonatais, viscerais e neurológicas. Os casos de neosporose foram descritos nos Estados Unidos (DUBEY e PORTERFIELD, 1990; GRAY *et al.*, 1996; LINDSAY *et al.*, 1996; CHEADLE *et al.*, 1999; DUBEY *et al.*, 2001) e na França (PRONOST *et al.*, 1999). A neosporose foi diagnosticada em cavalos adultos com sinais clínicos semelhantes aos da mieloencefalite protozoária equina, a MEP (MARSH *et al.*, 1996; MARSH *et al.*, 1998; DUBEY *et al.*, 2001). A MEP é a doença neurológica mais freqüente na América do Norte e a causa mais comum é o protozoário *Sarcocystis neurona* (DUBEY *et al.*, 2001a). Entretanto, a identificação do *N. hughesi* como causa da MEP, nos Estados Unidos, lançou um novo desafio ao diagnóstico, tratamento e controle desta doença (MARSH *et al.*, 1996). No Brasil existem relatos de mieloencefalite equina (BARROS *et al.*, 1986; MASRI *et al.*, 1992), de elevada soroprevalência para *S. neurona* (DUBEY *et al.*, 1999; HOANE *et al.*, 2006) e o parasita foi isolado do hospedeiro definitivo, o gambá *Didelphis albiventris* (DUBEY *et al.*, 2001a). A neosporose não é incluída no diagnóstico da MEP no Brasil. A infecção

transplacentária por *Neospora* em éguas é pouco estudada (PITEL *et al.*, 2003; LOCATELLI-DITTRICH *et al.*, 2006). Estes fatos provavelmente sejam justificados pela falta de diagnóstico da neosporose nos casos de aborto e problemas neurológicos em eqüinos (VARDELEON *et al.*, 2001; HOANE *et al.*, 2006).

A importância econômica da neosporose é descrita principalmente nos bovinos. Em outros animais ainda não existem relatos dos prejuízos econômicos relacionados a esta doença.

O objetivo desta revisão é discutir a neosporose eqüina, considerando-se os parasitas, as formas de infecção, os sinais clínicos, diagnóstico, diferenças dos protozoários, a relação parasita-hospedeiro e a resposta imune.

### Histórico

Em 1984, na Noruega, BJERKAS *et al.*, observaram um protozoário semelhante ao *Toxoplasma gondii* em tecidos de cães, que em 1991 foi identificado como *N. caninum*. O protozoário foi isolado de cães com meningoencefalomielite, miosite e encefalomielite (DUBEY *et al.*, 1988a). Nos anos seguintes, *N. caninum* foi identificado em placenta de bovinos, em bezerros com paralisia neonatal, em bezerros natimortos e em fetos bovinos (SHIVAPRASAD *et al.*, 2001; ANDERSON *et al.*, 2000).

Em eqüinos, o primeiro relato de aborto por neosporose foi nos Estados Unidos. Os taquizoítas de *N. caninum* foram observados em pulmão de feto, indicando que o parasita pode ser transmitido via transplacentária (DUBEY e PORTERFIELD, 1990).

Nos Estados Unidos, MARSH *et al.* (1996; 1998) identificaram uma nova espécie de *Neospora* em um cavalo adulto que apresentava severa incoordenação motora. O parasita foi isolado de cérebro e medula espinhal. Esta nova espécie foi denominada de *N. hughesi*, devido às diferenças estruturais e moleculares em relação ao *N. caninum*. As cepas de *N. hughesi* foram isoladas somente nos EUA, de eqüinos adultos com MEP (CHEADLE *et al.*, 1999; DUBEY *et al.*, 2001).

Na França foram descritos casos de aborto por *Neospora* sp (PRONOST *et al.*, 1999), e o DNA de *N. caninum* foi detectado em cérebro e coração de feto, e placenta de égua (PITEL *et al.*, 2003).

O protozoário do gênero *Neospora* pertence ao phylum Apicomplexa, classe Sporozoea, ordem Eucoccidiida e família Sarcocystidae. No gênero *Neospora* duas espécies são conhecidas, *Neospora caninum* e *Neospora hughesi* (DUBEY *et al.*, 2002).

### Diferenças entre *N. caninum* e *N. hughesi*

A nova espécie de *Neospora*, *Neospora hughesi*, foi proposta baseada nas diferenças de proteínas, dos espaços internos transcritos (ITS1) do DNA e na morfologia dos cistos teciduais, em relação ao *N. caninum* (MARSH *et al.*, 1998). Após o primeiro

isolamento do parasita, outros isolados de *N. hughesi* foram descritos nos Estados Unidos (CHEADLE *et al.*, 1999; DUBEY *et al.*, 2001). Entretanto, ainda existem incertezas em relação às conseqüências da infecção por *N. hughesi* e *N. caninum* em eqüinos. As principais informações referentes aos parasitas são:

(1) os bradizoítas de *N. hughesi* parecem menores que os de *N. caninum* (DUBEY *et al.*, 2002);

(2) os oocistos e o hospedeiro definitivo de *N. hughesi* não foram identificados (WALSH *et al.*, 2000; DUBEY *et al.*, 2002);

(3) os antígenos de superfície de *N. hughesi* (SAG1, SRS2) são diferentes das proteínas equivalentes de *N. caninum* (MARSH *et al.*, 1999);

(4) as proteínas dos grânulos densos (GRA6, GRA7) de *N. hughesi* são diferentes das proteínas correspondentes de *N. caninum* (WALSH *et al.*, 2001);

(5) a seqüência de ITS1 do DNA de *N. hughesi* é diferente da seqüência de *N. caninum* isolado de cão e bovino (MARSH *et al.*, 1998);

(6) os parasitas são biologicamente diferentes quando inoculados em modelos de roedores. Os gerbis não são susceptíveis ao *N. hughesi*, mas são susceptíveis ao *N. caninum* (WALSH *et al.*, 2000).

Deve-se ressaltar que, apesar das diferenças descritas, *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 (WALSH *et al.*, 2000; PACKHAM *et al.*, 2002).

### Biologia de *Neospora* sp.

Os estágios do ciclo de vida de *N. caninum* são os taquizoítas, os cistos contendo os bradizoítas e os oocistos (DUBEY *et al.*, 1988; MCALLISTER *et al.*, 1998). As formas identificadas do ciclo de vida de *N. hughesi* são os taquizoítas e os cistos teciduais com bradizoítas (MARSH *et al.*, 1996, 1998; DUBEY *et al.*, 2001).

Os taquizoítas são ovóides, redondos ou em forma de meia-lua, com o núcleo em posição central ou terminal. Apresentam multiplicação rápida, por endodiogenia. Os taquizoítas entram nas células hospedeiras por invasão ativa e tornam-se intracelulares logo após o contato com a célula, localizando-se diretamente no citoplasma ou dentro do vacúolo parasitóforo (DUBEY *et al.*, 1988; DUBEY *et al.*, 2001).

Nos animais infectados os taquizoítas de *N. caninum* foram observados em células nervosas, macrófagos, fibroblastos, células endoteliais, miócitos, células epiteliais dos túbulos renais e hepatócitos (DUBEY *et al.*, 1988). Nos poucos estudos com *N. hughesi*, os taquizoítas foram observados principalmente no cérebro e medula espinhal (DUBEY *et al.*, 2001).

Nos cortes histológicos, os taquizoítas de *N. caninum* (cepa NC-1) parecem ser maiores (5,1-8,4 X 1,5-2,5 µm) que os de *N. hughesi* (4,9-5,3 X 1,4-2,5 µm), na medula espinhal (MARSH *et al.*, 1998; DUBEY *et al.*, 2001).

Os bradizoítas localizam-se em grande número dentro do cisto tecidual (DUBEY *et al.*, 1988). Provavelmente, com o início da resposta imune do hospedeiro e a presença de outros fatores fisiológicos, os taquizoítas entram nas células e se diferenciam em bradizoítas, estabelecendo a infecção pela presença dos cistos. Os bradizoítas representam o estágio de multiplicação lenta, no qual os parasitas formam cistos teciduais, principalmente no sistema nervoso central e retina. Os cistos também foram observados no músculo esquelético de cães e bezerras, e nos nervos periféricos e músculo ocular de cavalos. Os cistos podem persistir no hospedeiro infectado por vários anos, sem causar nenhuma manifestação clínica (DAFT *et al.*, 1996; LINDSAY *et al.*, 1996; PETERS *et al.*, 2001).

O tamanho e a espessura da parede dos cistos são características que podem distinguir os parasitas *N. caninum* e *N. hughesi*. Os cistos teciduais e a espessura da parede de *N. hughesi* (tamanho de 6,9-16,0 X 10,7-19,3 µm; espessura de parede de 0,15-1,0 µm) são menores que os de *N. caninum* (até 107 µm e espessura de parede de 1-4 µm), segundo MARSH *et al.* (1998). Existem dois relatos de cistos de *Neospora* sp. de parede espessa em eqüinos (DAFT *et al.*, 1996; LINDSAY *et al.*, 1996).

Os hospedeiros definitivos, quando ingerem os cistos de *N. caninum*, eliminam os oocistos não esporulados nas fezes. Os oocistos não esporulados apresentam um esporonte central e não são infectivos. No meio ambiente ocorre a esporulação, formando-se dois esporocistos, cada qual com quatro esporozoítas. Os oocistos de *N. caninum* são morfologicamente similares aos oocistos de *Hammondia heydorni* encontrados nas fezes de cães, e *Toxoplasma gondii* e *Hammondia hammondi* encontrados nas fezes de gatos (SCHARES *et al.*, 2001; DUBEY *et al.*, 2002).

Cães e coiotes são os únicos hospedeiros definitivos identificados até o momento, mas suspeita-se que outros canídeos silvestres possam também servir como hospedeiros definitivos e eliminar oocistos nas fezes (GONDIM *et al.*, 2004).

Os oocistos de *N. hughesi* não foram observados nas fezes de cães que ingeriram tecidos infectados de camundongos (WALSH *et al.*, 2000). O hospedeiro definitivo de *N. hughesi* ainda é desconhecido, permanecendo incerta a forma de exposição dos cavalos a este parasita e a existência de outros hospedeiros intermediários (HOANE *et al.*, 2006).

#### Vias de infecção de *Neospora* sp.

As vias de infecção de *N. caninum* podem ser a vertical (infecção congênita ou via transplacentária) e a horizontal (infecção pós-natal), com a ingestão dos oocistos esporulados ou pela ingestão de cistos teciduais por carnívoros (McALLISTER *et al.*, 1998; DIJKSTRA *et al.*, 2001). A infecção transplacentária é a principal via de infecção em bovinos e pouco freqüente em cães, sendo também relatada em eqüinos, ovinos, caprinos, suínos, gatos, camundongos e macacos (ANDERSON *et al.*, 2000).

A infecção horizontal é mais compreendida em bovinos e cães. Os cães se infectam após a ingestão de tecido bovino contendo bradizoítas encistados. Oocistos eliminados nas fezes dos cães esporulam no meio ambiente e podem infectar bovinos ou outros animais que venham a ingerir tais oocistos na água ou alimentos. As informações sobre a importância da infecção vertical ou horizontal em outras espécies animais são escassas, porém, sabe-se que ambas ocorrem (GONDIM, 2006).

Os hospedeiros intermediários de *N. caninum* são os cães, os bovinos, ovinos, caprinos, eqüinos, búfalos, cervos, ratos silvestres (*Rattus rattus norvegicus*) e as raposas (*Vulpes vulpes*) (ANDERSON *et al.*, 2000; ALMERIA *et al.*, 2002; HUANG *et al.*, 2004; RODRIGUES *et al.*, 2004). Os hospedeiros definitivos são os cães e os coiotes (McALLISTER *et al.*, 1998; GONDIM *et al.*, 2004).

As formas de infecção dos eqüinos com o protozoário *N. hughesi* são desconhecidas, assim como seus hospedeiros definitivos e outros hospedeiros intermediários (HOANE *et al.*, 2006).

A infecção congênita de *Neospora* foi observada em fetos eqüinos e em potro de mês de idade, com cegueira congênita (DUBEY e PORTERFIELD, 1990; LINDSAY *et al.*, 1996; PRONOST *et al.*, 1999; PITEL *et al.*, 2003). Anticorpos anti – *Neospora* sp. foram detectados em amostras séricas pré-colostrais de potros clinicamente saudáveis, indicando que o parasita foi transmitido via vertical (LOCATELLI-DITTRICH, *et al.*, 2006). A placenta da égua, epitélio corial difusa, não permite a transferência de imunoglobulinas maternas ao feto (LeBLANC, 1990). Assim, a presença de IgG no soro de potros recém-nascidos, antes da ingestão do colostro, é indicativa da exposição intra-uterina ao antígeno, após 180 dias de gestação (COOK *et al.*, 2001.).

O ciclo de *N. caninum* entre animais domésticos e silvestres foi demonstrado recentemente na América do Norte, com a confirmação da transmissão do parasita entre cervídeos e cães, assim como entre coiotes e bezerras. A participação da fauna silvestre no ciclo de transmissão de *N. caninum* determina maiores desafios para o controle da neosporose (GONDIM *et al.*, 2004; GONDIM, 2006).

#### Sinais clínicos

*Neospora* sp. causa aborto, doença neonatal, doenças neurológicas do sistema nervoso central e doenças viscerais (GRAY *et al.*, 1996; LINDSAY, 2001). *Neospora hughesi* está principalmente associado a MEP, uma doença neurológica debilitante de eqüinos, e não com abortos (LINDSAY, 2001; PITEL *et al.*, 2003).

Os sinais clínicos de neosporose em eqüinos são cegueira, perda de peso, paralisia dos membros posteriores, comportamento bizarro, dificuldade de mastigação, incoordenação, ataxia e aborto (DAFT *et al.*, 1996; MARSH *et al.*, 1996; WALSH *et al.*, 2000). O histórico de anemia e perda de peso foi descrito em

uma égua Apaloosa, com enterite associada a neosporose (GRAY *et al.*, 1996).

Os casos de aborto e doença neonatal por *Neospora sp.* foram descritos nos Estados Unidos e França (DUBEY e PORTERFIELD, 1990; LINDSAY *et al.*, 1996; PRONOST *et al.*, 1999; PITEL *et al.*, 2003).

As éguas com histórico de abortos e/ou reabsorções embrionárias apresentaram maior soroprevalência de anticorpos anti-*Neospora sp.* do que as sem este histórico (McDOLE e GAY, 2002; PITEL *et al.*, 2003). Entretanto, em outro estudo, o número de potros nascidos de éguas soropositivas para *Neospora sp.* foi similar ao de éguas soronegativas (LOCATELLI-DITTRICH *et al.*, 2006).

Na França observou-se uma menor frequência de *N. caninum* em fetos eqüinos do que em fetos bovinos, enquanto que a soroprevalência para *Neospora sp.* foi similar nas éguas e vacas com histórico de abortos. De acordo com McDOLE e GAY (2002), se um título positivo para *Neospora sp.* nos eqüinos estiver associado com aborto, o risco será menor quando comparado aos bovinos. Isto se deve principalmente à menor eficiência da transmissão vertical de *Neospora sp.* em eqüinos quando comparado aos bovinos, devido às diferenças de placentação entre as duas espécies (PITEL *et al.*, 2003).

Nos eqüinos a patogênese do aborto não está elucidada. Nos bovinos a infecção no feto é sistêmica, com áreas de inflamação na maioria dos órgãos. A morte fetal resulta provavelmente de uma insuficiência cardíaca associada à miocardite e necrose do miocárdio, e de uma placentite, com necrose do epitélio coriônico da placenta. As lesões no cérebro são importantes, porém, não são consideradas as principais causas de morte fetal (ANDERSON *et al.*, 2000).

A patogenicidade e a infecção transplacentária por *Neospora sp.* em eqüinos são pouco conhecidas, assim como o possível nascimento de potros assintomáticos (PITEL *et al.*, 2003; HOANE *et al.*, 2006).

A mieloencefalite protozoária eqüina (MEP) é causada pelos protozoários *N. hughesi* e *Sarcocystis neurona*, que infectam o sistema nervoso central (MARSH *et al.*, 1998). Os eqüinos com MEP causada por *N. hughesi* apresentam ataxia dos membros posteriores e, em alguns casos, dos quatro membros, e anormalidades no modo de andar, acentuadas quando o animal caminha com a cabeça elevada ou quando anda em círculos (CHEADLE *et al.*, 1999; DUBEY *et al.*, 2001).

Os eqüinos soropositivos para *Neospora sp.* podem não apresentar sinais clínicos. A infecção sub-clínica por *Neospora* deve ser considerada, destacando-se também que não existem estudos sobre a possibilidade de cavalos clinicamente sadios e soropositivos para o parasita desenvolverem a neosporose clínica (CIARAMELLA *et al.*, 2004; LOCATELLI-DITTRICH *et al.*, 2006). As condições de imunossupressão foram relatadas como causa de reativação da infecção latente por *Neospora*. A neosporose foi diagnosticada em uma égua com paralisia de membros posteriores,

*Archives of Veterinary Science*, v.11, n.3, p.1-10, 2006

comportamento anormal e síndrome de Cushing, que pode ter contribuído à infecção (DAFT *et al.*, 1996). Em cães e gatos as condições imunossupressoras, como a administração de glicocorticóides ou presença de infecções oportunistas, promovem o desenvolvimento da doença (DUBEY e LINDSAY, 1996). A administração de dexametasona foi utilizada em eqüino com ataxia para aumentar o número de protozoários no isolamento (HAMIR *et al.*, 1998).

#### Diagnóstico de *Neospora caninum* e *Neospora hughesi*

O quadro clínico sugestivo de neosporose é a presença dos sinais neurológicos, e, nas éguas, deve-se considerar também o histórico de abortos e de mortalidade neonatal. Os sinais inespecíficos da neosporose dificultam o diagnóstico clínico da doença. Conseqüentemente, o diagnóstico laboratorial deve ser realizado para confirmar a infecção por *Neospora sp.* (PACKHAM, *et al.*, 2002).

Os métodos sorológicos e parasitológicos são utilizados no diagnóstico da neosporose. Os testes sorológicos são a imunofluorescência indireta (IFI), ensaio imunoenzimático (ELISA), soroprecipitação direta e Western blot. Entre os métodos parasitológicos estão os exames histopatológico, imunohistoquímico, o isolamento *in vitro* e *in vivo* e a detecção do DNA do parasita pela reação em cadeia da polimerase – PCR (HEMPHILL *et al.*, 2000; HOANE *et al.*, 2006).

No diagnóstico da neosporose eqüina deve ser considerada a infecção por *Neospora caninum* e *N. hughesi*. Como a maioria dos isolados de *Neospora* em eqüinos foi identificada como *N. hughesi*, têm sido sugerido que a neosporose eqüina é predominantemente causada por esta espécie, mas a relativa importância das duas espécies de *Neospora* é, até o momento, desconhecida (JAKUBEK *et al.*, 2006).

Os taquizoítas de *N. caninum* e *N. hughesi* são utilizados nos estudos de soroprevalência da neosporose eqüina, e apresentam os mesmos antígenos de superfície. Desta forma, os anticorpos contra *N. hughesi* reagem com *N. caninum*, e os anticorpos contra *N. caninum* também reagem com *N. hughesi*, ou seja, *N. caninum* e *N. hughesi* apresentam reação cruzada e a diferenciação das duas espécies não pode ser realizada pelos métodos sorológicos (MARSH *et al.*, 1996; JAKUBEK *et al.*, 2006; LOCATELLI-DITTRICH *et al.*, 2006).

A presença de anticorpos séricos para *Neospora sp.* indica a exposição ao parasita ou a um parasita estritamente relacionado passível de reação cruzada, não indicando necessariamente a existência de uma infecção ativa (VARDELEON *et al.*, 2001).

No diagnóstico sorológico é utilizado o teste de soroprecipitação, com taquizoítas de *N. caninum* ou *N. hughesi* como antígenos e títulos considerados positivos de 1:50. O método da imunofluorescência indireta (IFI) também utiliza taquizoítas de *N. caninum* ou *N. hughesi* como antígenos, e títulos considerados positivos de 1:50

e 1:100 (McDOLE e GAY, 2002; VARDELEON *et al.*, 2001). A utilização do título de 1:50 pode aumentar a sensibilidade de diagnóstico, e um cavalo infectado poderá ser identificado (VARDELEON *et al.*, 2001). Este fato foi observado em um haras, em que duas éguas soropositivas, com títulos de 1:50, tiveram potros soropositivos nas amostras pré-colostrais (LOCATELLI-DITTRICH *et al.*, 2006).

A comparação de quatro métodos sorológicos, a IFI com antígeno de *N. hughesi*; ELISA com *N. hughesi* lisado; ELISA com antígeno recombinante de *N. caninum* e a soroaglutinação com taquizoítas de *N. hughesi*, revelou que somente a IFI diferenciou cavalos infectados por *N. hughesi* dos não infectados, com títulos de 1:320 a 1:640. Os animais com neosporose por *N. hughesi* também apresentaram títulos quando o antígeno foi *N. caninum*, porém o título foi menor (PACKHAM *et al.*, 2002).

A pesquisa de anticorpos no soro de fetos é utilizada para o diagnóstico de aborto por *Neospora* em bovinos (PEREIRA-BUENO *et al.*, 2003).

No líquido, títulos baixos de anticorpos para *N. hughesi* podem indicar infecção, mas não a doença MEP causada por este parasita. Os títulos elevados são indicativos de doença clínica (MEP) causada por *N. hughesi*. Os estudos em cavalos infectados por *Neospora* e os respectivos exames de diagnóstico são escassos, e o título para *N. hughesi* no líquido ainda deve ser estabelecido (PACKHAM *et al.*, 2002; JAKUBEK *et al.*, 2006).

O Western blot tem sido utilizado como teste confirmatório para *Neospora sp.* em muitas espécies animais, sendo considerado específico. Quando associado aos métodos de IFI ou ELISA, a soroprevalência entre os eqüinos de diferentes regiões da América do Norte foi menor, sugerindo que a infecção é menos comum do que indicam outros estudos (VARDELEON *et al.*, 2001; JAKUBEK *et al.*, 2006). Estes cavalos também poderiam ter sido expostos ao *N. caninum* ou a um outro protozoário semelhante. Dos eqüinos soropositivos para *Neospora sp.* pelo método de IFI, nem todos irão reagir com o antígeno de *N. hughesi* pela técnica de Western blot. Logo, existem limitações diagnósticas consideráveis na avaliação da soroprevalência de *Neospora sp.* na população eqüina (GUPTA *et al.*, 2002).

No Brasil, as doenças neurológicas são comuns em eqüinos, entretanto, a neosporose ainda não é incluída no diagnóstico. Na maioria dos casos de MEP, considera-se como causa apenas o *S. neurona*, porém, *Neospora hughesi* também deveria ser incluído no diagnóstico, sendo incerto até o presente se este parasita é uma causa freqüente ou não de encefalomielite. O diagnóstico da MEP deve ser realizado com cautela, porque os eqüinos com neosporose podem ser considerados positivos para *Sarcocystis neurona*, nos exames do líquido e soro, por Western blot. Desta maneira, os eqüinos com neosporose devem ser identificados com antígeno de *Neospora*, considerando-se também que os cavalos

infectados por *S. neurona* não apresentam resultado positivo com antígeno de *Neospora* (PACKHAM *et al.*, 2002).

No caso de MEP por *Neospora sp.*, o líquido pode ser positivo para *S. neurona*, por Western blot, mas negativo quando analisado por PCR (MARSH *et al.*, 1996; HAMIR *et al.*, 1998). Nos eqüinos com MEP causada por *N. hughesi*, o diagnóstico foi confirmado por isolamento *in vitro* e caracterização molecular (região ITS1) do parasita, que apresentou diferenças em relação ao *N. caninum* (MARSH *et al.*, 1996; HAMIR *et al.*, 1998).

Na América do Sul, o *N. hughesi* ainda não foi isolado, e nos estudos de soroprevalência e de diagnóstico sorológico estão sendo utilizados os taquizoítas de *N. caninum* como antígeno, não sendo possível a diferenciação da espécie de *Neospora* que está infectando os eqüinos (DUBEY *et al.*, 1999ab; PATITUCCI *et al.*, 2004; LOCATELLI-DITTRICH *et al.*, 2006).

O exame histopatológico é utilizado no diagnóstico da infecção por *Neospora sp.* A lesão mais característica está no cérebro e consiste de encefalite focal caracterizada por necrose e inflamação não-supurativa. As outras lesões são miocardite, miosite focal e hepatite portal não supurativas (BARR *et al.*, 1991; ANDERSON *et al.*, 2000). Entretanto, a confirmação da infecção deve ser realizada por método imunohistoquímico ou por PCR, porque outros protozoários podem causar lesões similares (JENKINS *et al.*, 2002). Na maioria dos casos, os parasitas estão em número muito pequeno no cérebro e raramente são observados nos cortes histológicos. A associação das técnicas de diagnóstico é indicada para aumentar as chances de detecção dos protozoários nos fetos (PEREIRA-BUENO *et al.*, 2003).

Em eqüino adulto com doença neurológica causada por *Neospora*, múltiplos focos de inflamação foram detectados na medula espinhal e os parasitas não foram observados nas lesões (CHEADLE *et al.*, 1999). As técnicas imunohistoquímicas também são utilizadas no diagnóstico da neosporose eqüina. O anti-soro policlonal de *N. caninum* detectou parasitas nos pulmões de feto (DUBEY e PORTERFIELD, 1990), no tálamo, hipotálamo e músculo ocular de potro com cegueira congênita (LINDASY *et al.*, 1996), e no cérebro, nervos periféricos e medula espinhal de eqüinos adultos (DAFT *et al.*, 1996; MARSH *et al.*, 1996; HAMIR *et al.*, 1998).

O diagnóstico de aborto por neosporose também pode ser realizado pela técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR). A detecção do DNA de *N. caninum* é realizada em tecidos de fetos, bezerras, bovinos adultos e em placentas (BERGERON *et al.*, 2001; PEREIRA-BUENO *et al.*, 2003).

### Epidemiologia

Os casos de neosporose eqüina foram relatados nos Estados Unidos e na França. Na França foi relatado um caso de aborto por *N. caninum* (PRONOST *et al.*, 1999). As doenças neurológicas causadas por *N.*

*hughesi* foram diagnosticadas em cavalos adultos, nos Estados Unidos (MARSH *et al.*, 1996; HAMIR *et al.*, 1998; CHEADLE *et al.*, 1999), e os estudos com *Neospora* sp. estão indicando uma menor infecção por este protozoário (HOANE *et al.*, 2006). Até o presente é desconhecida a razão dos diagnósticos de encefalite em eqüinos adultos ocorrerem somente nos Estados Unidos (LINDSAY, 2001; HOANE *et al.*, 2006).

Os aspectos relacionados aos fatores de risco à neosporose eqüina precisam ser elucidados. As questões que necessitam de respostas são: como os eqüinos adquirem a infecção e se o parasita pode ser mantido na população eqüina por transmissão vertical. O cão é o hospedeiro definitivo do *N. hughesi*? Os resultados preliminares indicaram que não, mas estudos

adicionais são necessários (WALSH *et al.*, 2000; LINDSAY, 2001; HOANE *et al.*, 2006; LOCATELLI-DITTRICH *et al.*, 2006).

Os anticorpos anti-*Neospora* sp. foram detectados em eqüinos de vários países. A TABELA 1 apresenta os resultados de pesquisa de anticorpos anti-*Neospora* sp. em diferentes estudos realizados em eqüinos sadios e éguas com histórico de aborto. A frequência de infecção é variável, de 1 a 47%, em diferentes métodos sorológicos e títulos. Na Suécia a frequência de anticorpos foi de 1% (JAKUBEK *et al.*, 2006), considerada baixa quando comparada às detectadas em outros países (CIARAMELLA *et al.*, 2004; PATITUCCI *et al.*, 2004; LOCATELLI-DITTRICH *et al.*, 2006).

TABELA 1 – VALORES DE OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI - *NEOSPORA* SP. EM EQÜINOS DE DIFERENTES PAÍSES, RESPECTIVOS MÉTODOS E AUTORES - 2006.

país	nº de animais	método sorológico	título	soro – positivos (%)	referências
Argentina	76	NAT	1:40	0	Dubey <i>et al.</i> , 1999b
Brasil	101	NAT	1:40	0	Dubey <i>et al.</i> , 1999a
	36 (2003)	IFI	1:50	47	Locatelli-Dittrich <i>et al.</i> , 2006
	36 (2004)	IFI	1:50	30	2006
	961	ELISA	-	2,5	Hoane <i>et al.</i> , 2006
Chile	145	NAT	1:40	32	Patitucci <i>et al.</i> , 2004
Coréia do Sul	191	IFI	1:100	2	Gupta <i>et al.</i> , 2002
Estados Unidos	296	NAT	1:40	21,3	Dubey <i>et al.</i> , 1999
	536	IFI	1:50	11,5	Cheadle <i>et al.</i> , 1999
	208	IFI	1:100	17	Vardeleon <i>et al.</i> , 2001
	300	IFI	1:50	10	McDole e Gay, 2002
França	434	NAT	1:40	23	Pitel <i>et al.</i> , 2001
	54	NAT	< 1:40	50	Pitel <i>et al.</i> , 2003
Itália	150	IFI	1:50	28	Ciaramella <i>et al.</i> , 2004
Suécia	414	ELISA	1:100	1	Jakubek <i>et al.</i> , 2006

NAT – teste de aglutinação direta para *Neospora*; IFI – imunofluorescência indireta; ELISA – teste imunoenzimático.

Na França foram observadas soroprevalências de 23% para *Neospora* sp., pela técnica de soroaglutinação, e de 50% em fêmeas com histórico de aborto (PITEL *et al.*, 2003). McDOLE e GAY (2002) detectaram anticorpos anti-*Neospora* sp. em 13% de 140 fêmeas com histórico de aborto. Em éguas existem poucos estudos de soroprevalência da neosporose (LOCATELLI-DITTRICH *et al.*, 2006).

Na América do Sul foram realizados poucos estudos de soroprevalência para *Neospora* spp., sendo um na Argentina, um no Chile e três no Brasil. Na Argentina não foram observados eqüinos soropositivos, assim como em um estudo no Brasil (DUBEY *et al.*, 1999a;b). No Chile a soroprevalência encontrada foi de 32%, ressaltando-se que o diagnóstico de neosporose deveria ser considerado em animais com sintomatologia nervosa e/ou abortos (PATITUCCI *et al.*, 2004). Nos outros dois estudos no Brasil,

foram observadas soroprevalências de 2,5 a 47%, com métodos sorológicos diferentes (HOANE *et al.*, 2006; LOCATELLI-DITTRICH *et al.*, 2006).

No Brasil, anticorpos anti-*Neospora* não foram detectados em 15 cavalos de um centro de treinamento do Rio de Janeiro, em 70 cavalos do Jockey Clube de São Paulo e em 16 cavalos de um haras no Rio Grande do Sul (DUBEY *et al.*, 1999a). Em outro estudo realizado recentemente, foi observada uma soroprevalência de 2,5% (HOANE *et al.*, 2006).

No Paraná, a soroprevalência observada foi de 30 a 47% para *Neospora* sp. em éguas e 22,2% em potros pré-colostrais. Estes resultados indicam que os fetos foram expostos ao antígeno *in utero* após os 180 dias de gestação, quando adquirem uma certa imunocompetência. As razões para as diferenças de soroprevalência encontradas no Paraná podem ser atribuídas às diferentes condições de manejo e/ou localização geográfica, ou à exposição ao parasita (LOCATELLI-DITTRICH *et al.*, 2006).

### Resposta imune e relação hospedeiro-parasita

A relação hospedeiro-parasita depende da resposta imune do hospedeiro. Este processo determina o resultado da infecção, contribuindo na eliminação ou sobrevivência do parasita (HEMPHILL *et al.*, 2000). A resposta imune à infecção por *N. caninum* nas diferentes espécies animais é pouco estudada. As principais informações referentes à imunidade ao *N. caninum* serão abordadas neste tópico, com maior ênfase aos bovinos, espécie com mais estudos.

A imunidade mediada por células é a principal resposta efetiva do organismo ao *N. caninum*. A infecção experimental por *N. caninum* induz a uma resposta celular típica por linfócito T "helper" tipo 1 (Th1), caracterizada por altos níveis de interferon gama (IFN- $\gamma$ ) e uma resposta humoral por IgG2. Esta resposta Th1 controla a multiplicação dos taquizoítas. O tratamento das células de cultivo celular com IFN- $\gamma$  inibiu significativamente a multiplicação intracelular de *N. caninum*. Estudos *in vivo* têm mostrado que camundongos depletados de interleucina 12 (IL-12) ou IFN- $\gamma$ , assim como camundongos nocauteados de IFN- $\gamma$ , são incapazes de sobreviver à infecção por *N. caninum* (BAZLER *et al.*, 1999; INNES *et al.*, 2002).

A presença de anticorpos específicos é útil como auxílio ao diagnóstico e em estudos epidemiológicos. A ação dos anticorpos na imunidade protetora permanece desconhecida, mas o papel provável seria ajudar no controle da propagação do *N. caninum* pela neutralização dos taquizoítas extracelulares (CONRAD *et al.*, 1993; INNES *et al.*, 2002).

Na ausência de uma resposta imune, os taquizoítas continuam sua multiplicação, causando destruição celular até a morte do hospedeiro. A resposta imune e a presença de outros fatores fisiológicos induzem a diferenciação dos taquizoítas em bradizoítas, estabelecendo-se uma infecção cística tecidual persistente. A destruição celular e a doença dependem de um balanço entre os taquizoítas sendo capazes de penetrar e multiplicar nas células hospedeiras e a capacidade do hospedeiro de inibir sua multiplicação (BUXTON *et al.*, 2002).

Os abortos por *N. caninum* são causados por taquizoítas que se originam da reativação de bradizoítas, e/ou cistos teciduais ou de oocistos que foram ingeridos durante a gestação. Os taquizoítas multiplicam-se rapidamente, atravessam a placenta e infectam o feto, e, dependendo da idade gestacional, pode ocorrer o aborto. Os fatores que influenciam a patogênese do aborto são: o momento da parasitemia durante a gestação; a quantidade e duração da parasitemia; a eficiência da resposta imune materna; a capacidade da resposta imune do feto (HEMPHILL *et al.*, 2000).

Devido à imaturidade imunológica do feto bovino, a infecção no início da gestação normalmente é fatal. Um feto imunocompetente é capaz de resistir à infecção, porém, provavelmente nascerá infectado com o parasita (ANDERSON *et al.*, 2000; INNES *et al.*, 2002).

No feto eqüino, os linfócitos T estão presentes a partir dos 100 dias de gestação. Aos 180 dias de gestação, os linfócitos B também estão presentes, podendo assim produzir e secretar imunoglobulinas, principalmente IgM e IgG (PERRYMAN *et al.*, 1980). A presença de quantidades séricas significativas de IgG em potros recém-nascidos e antes da ingestão de colostro é altamente sugestiva da exposição intra-uterina ao antígeno, após os 180 dias da gestação (COOK *et al.*, 2001). No Paraná, títulos elevados de anticorpos anti-*Neospora* sp. (1:400) foram detectados em amostra séricas pré-colostrais de potros clinicamente saudáveis, indicando que o parasita foi transmitido via vertical (LOCATELLI-DITTRICH *et al.*, 2006).

### Considerações finais

As ocorrências de abortos e de mortalidades neonatais em eqüinos são freqüentes, com diagnóstico muitas vezes inconclusivo. Diferentes causas são consideradas, como traumas, desequilíbrio hormonal, agentes virais e bacterianos, sem a inclusão dos protozoários. Os casos de eqüinos adultos com sinais neurológicos também são comuns, sendo incluído no diagnóstico principalmente o *Sarcocystis neurona*.

As informações referentes às conseqüências da infecção por *N. caninum* e por *N. hughesi* no eqüino ainda são limitadas, com poucos relatos de casos. As possíveis explicações seriam a não inclusão dos protozoários no diagnóstico e/ou uma menor infecção por estes parasitas.

A descoberta de que *N. hughesi* causa MEP representou uma revolução no diagnóstico, tratamento e controle da doença. Entretanto, os casos de MEP por *N. hughesi* foram descritos somente nos Estados Unidos.

No Brasil, o protozoário *Neospora* sp. deveria ser incluído no diagnóstico de MEP, para se estabelecer a real participação deste parasita nas doenças neurológicas, propiciando novas opções de tratamento e controle da doença. Nos casos de abortos os fetos ou neonatos deveriam ser encaminhados ao laboratório, para diagnóstico por isolamento, exame histopatológico e/ou por PCR. Os fatores limitantes são o custo elevado e a falta de laboratórios que realizem o diagnóstico definitivo da neosporose, principalmente no caso de eqüinos.

A importação de eqüinos de países com casos de neosporose deveria ser realizada com acompanhamento veterinário e exames sorológicos que confirmem a sanidade dos animais.

Os estudos referentes ao diagnóstico e diferenciação dos parasitas *N. caninum* e *N. hughesi* são necessários para se conhecer as conseqüências da infecção por estes parasitas e avaliar os reais impactos na saúde eqüina, propiciando também a descoberta de novas formas de tratamento e controle das doenças neurológicas e neonatais.

## Referências

- 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.
- ANDERSON, M.L., ANDRIANARIVO, A.G., CONRAD, P.A. Neosporosis in cattle. **Animal Reproduction Science**, v.60-61, p.417-431, 2000.
- BARR, B.C.; CONRAD, P.A.; DUBEY, J.P.; ANDERSON, M.L. *Neospora* – like encephalomyelitis in a calf: pathology, ultrastructure, and immunoreactivity. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.3, p.39-46, 1991.
- BARROS, C.S.L.; BARROS, S.S.; SANTOS, M.N. Equine protozoal myeloencephalitis in southern Brazil. **The Veterinary Record**, v. 119, p. 283-284, 1986.
- BAZLER, T.V.; LONG, M.T.; McELWAIN, T.F.; MATHISON, B.A. Interferon g and interleukin 12 mediate protection to acute *Neospora caninum* infection in BALB/c mice. **International Journal for Parasitology**, v.29, p.1635-1646, 1999.
- BERGERON, N.; GIRARD, C.; PARÉ, J.; FECTEAU, G.; ROBINSON, J.; BAILLARGEON, P. Rare detection of *Neospora caninum* in placentas from seropositive dams giving birth to full-term calves. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.13, n.2, p. 173- 175. 2001.
- BJERKAS, I.; MOHN, S.F.; PRESTHUS, J. Unidentified cyst-forming sporozoan causing encephalomyelitis and myositis in dogs. **Zeitschrift fuer Parasitenkunde**, v.70, p. 271-274, 1984.
- BUXTON, D., McALLISTER, M.M., DUBEY, J.P. The comparative pathogenesis of neosporosis. **Trends in Parasitology**, v.18, n.12, p.546-552, 2002.
- 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.
- 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.
- CONRAD, P.A.; BARR, B.C.; SVERLOW, K.W.; ANDERSON, M.L.; DAFT, B.; KINDE, H.; DUBEY, J.P.; MUNSON, L. ARDANS, A. *In vitro* isolation and characterization of a *Neospora sp.* from aborted bovine fetuses. **Parasitology**, v. 106, p. 239-249, 1993.
- 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.
- 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.
- 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.
- DUBEY, J.P.; CARPENTER, J.L.; SPEER, C.A.; TOPPER, M.J. UGGLA, A. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.192, n.9, p.1269-1285, 1988.
- 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. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 193, p.1259-1263, 1988a.
- DUBEY, J.P.; HARTLEY, W.J.; LINDSAY, D.S.; TOPPER, M.J. Fatal congenital *Neospora caninum* infection in a lamb. **The Journal of Parasitology**, v.76, p.127-130, 1990.
- DUBEY, J.P.; PORTERFIELD, M.L. *Neospora caninum* (Apicomplexa) in an aborted equine fetus. **International Journal for Parasitology**, v.76, p.732-734, 1990.
- DUBEY, J.P., ACLAND, H.M.; HAMIR, A.N. *Neospora caninum* (Apicomplexa) in a stillborn goat. **The Journal of Parasitology**, v.78, p.532-534. 1992.
- DUBEY, J.P.; LINDSAY, T. S. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. **Veterinary Parasitology**, v. 67, p.1 –59, 1996.
- 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, 1999.
- 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, n.7, 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, n.1, p.59-62, 1999b.
- DUBEY, J.P., LIDDEL, S., MATTSON, 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, n.2, p.345-353, 2001.
- DUBEY, J.P., LINDSAY, D.S.; KERBER, C.E.; KASAI, N.; PENA, H.F.J.; GENNARI, S.M.; KWOK, O.C.H.; SHEN, S.K.; ROSENTHAL, B.M. First isolation of *Sarcocystis neurona* from the South American opossum, *Didelphis albiventris*, from Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.95, p.295-304. 2001a.



- DUBEY, J.P. BARR, B.C.; BARTA, J.R.; BJERKAS, I.; BJÖRKMAN, C.; BLAGBURN, B.L.; BOWMAN, D.D.; BUXTON, D.; ELLIS, J.T.; GOTTSTEIN, B.; HEMPHILL, A.; HILL, D.E.; HOWE, D.K.; JENKINS, M.C.; KOBAYASHI, Y.; KOUDELA, B.; MARSH, A.E.; MATTSSON, J.G.; MCALLISTER, M.M.; MODRY, D.; OMATA, Y.; SIBLEY, L.D.; SPEER, 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.929-946, 2002.
- 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, n.1, 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, n.6, p.247-252, 2006.
- 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.
- 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. An European perspective on *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v.30, p.877-924, 2000.
- 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.
- 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.
- INNES, E.A., ANDRIANARIVO, A.G., BJÖRKMAN, C., WILLIAMS, D.J.L., CONRAD, P.A. Immune responses to *Neospora caninum* and prospects for vaccination. **Trends in Parasitology**, v.18, n.11, p.497-504, 2002.
- 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.
- JENKINS, M.; BASZLER, T.; BJORKMAN, C. SCHARES, G.; WILLIAMS, D. Diagnosis and seroepidemiology of *Neospora caninum* – associated bovine abortion. **International Journal for Parasitology**, v.32, p.631-636. 2002.
- LeBLANC, M.M. Immunologic considerations. In: KOTERBA, A.M.; DRUMMOND, W.H.; KOSCH, P.C. **Equine Clinical Neonatology**. Philadelphia: Lea&Febiger, 1990, p. 275-295.
- 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. Neosporosis: an emerging protozoal disease of horses. **Equine Veterinary Journal**, v.33, n.2, p. 116-118. 2001.
- LOCATELLI-DITTRICH, R., RICHARTZ, R.R.T.B., GASINO-JOINEAU, M.E., PINCKNEY, R.D; 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, n.12, p.366-367, 2003.
- LOCATELLI-DITTRICH, R., THOMAZ-SOCCOL, V., RICHARTZ, R.R.T.B., GASINO-JOINEAU, M.E., VAN DER VINNE, R., PINCKNEY, R.D. 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. 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, 2006.
- MASRI, M.D.; LOPEZ de ALDA, J.; DUBEY, J.P. *Sarcocystis neurona* – associated ataxia in horses in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.44, p.311-314, 1992.
- 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.
- 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 of Parasitology**, v.28, p.1473-1478, 1998.
- 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.
- 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, n.6, p.1239-1246, 2002.
- PATITUCCI, A.N., MPHIL., PÉREZ, M.J.; CÁRCAMO, C.M., BAEZA, L. Presencia de anticuerpos sericos contra *Neospora caninum* en equinos en Chile. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v.36, p.203-206, 2004.
- PEREIRA-BUENO, J.; QUINTANILLA-GOZALO, A.; PÉREZ-PÉREZ, V.; ESPI-FELGUEROSO, A.; ÁLVAREZ-GARCIA, G.; COLLANTES-FERNÁNDEZ, E.; ORTEGA-MORA, L.M. Evaluation by different diagnostic techniques of bovine abortion associated with *Neospora caninum* in Spain. **Veterinary Parasitology**, v.111, p.143-152, 2003.
- PERRYMAN, L.E., MCGUIRE, T.C., TORBECK, R.L. Ontogeny of lymphocyte function in the equine fetus. **American Journal of Veterinary Research**, v.41, p.1197-1200, 1980.
- 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, n.10, p.1144-1148. 2001.
- PITEL, P.H.; LINDSAY, D.S.; CAURE, S.; ROMAND, S.; PRONOST, S.; GARGALA, G.; MITCHELL, S.M.; HARY, C.; THULLIEZ, P.; FORTIER, G.; BALLE, J.J. Reactivity against *Sarcocystis neurona* and *Neospora sp.* by serum antibodies in healthy French horses from two farms with previous equine protozoal myeloencephalitis-like cases. **Veterinary Parasitology**, v.111, n.1, p. 1-7, 2001.
- PITEL, P. H., ROMAND, S., PRONOST, S., FOUCHER, N., GARGALA, G., MAILLARD, K., THULLIEZ, P., COLLOBERT-LAUGIER, C., TAINURIER, D., FORTIER, G., BALLE, J. J. Investigation of *Neospora sp.* antibodies in aborted mares from Normandy, France. **Veterinary Parasitology**, v.118, p.1-6, 2003.
- 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.
- 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.
- 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.
- SHIVAPRASAD, H.L.; ELY, R.; DUBEY, J.P. A neosporose - like protozoon found in an aborted bovine placenta. **Veterinary Parasitology**, v.34, p.145-148, 1989.
- 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.
- 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.98, p. 119-129, 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.
- 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.

Recebido para publicação: 01/10/2006  
 Aprovado: 20/12/2006