

**CENTRO UNIVERSITÁRIO DAS FACULDADES METROPOLITANAS
UNIDAS – UNI/FMU**

PAULO EDUARDO PEPE

MIELOENCEFALITE PROTOZOÁRIA EQUINA

**SÃO PAULO
2009**

PAULO EDUARDO PEPE

Mieloencefalite Protozoária Equina

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao curso de Medicina
Veterinária das Faculdades
Metropolitanas Unidas/FMU.
Orientador Prof. Antonio Carlos
Bolino.

SÃO PAULO
2009

Nome do autor: PEPE, Paulo Eduardo
Título: Mieloencefalite Protozoária Equina

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao curso de Medicina Veterinária das
Faculdades Metropolitanas Unidas/FMU.
Orientador prof. Antonio Carlos Bolino.

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Antonio Carlos Bolino

Instituição: Faculdades Metropolitanas
Unidas/FMU

Assinatura: _____

Julgamento: _____

M.V. Tiago Aiello Padilla

Instituição: Convidado

Assinatura: _____

Julgamento: _____

M.V. Bruno Tirado

Instituição: Convidado

Assinatura: _____

Julgamento: _____

Dedicatória

Dedico a realização deste trabalho a minha mãe Marina. A memória de meu pai Eduardo e de meus avós, Miguel, Mario e Neuza. A minha família pelo apoio recebido. A minha namorada Marina, que muito me incentivou e apoiou. E aqueles que foram a minha maior inspiração, aqueles que me deram todo o seu tempo: os cavalos. Muito obrigado por acreditarem que eu chegaria até aqui.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus que me deu saúde e força para chegar até aqui. Ao meu orientador Professor Antonio Carlos Bolino pela ajuda e atenção dadas. Ao M.V. Tiago Padilla, M.V. Bruno Tirado e M.V. John Banfield, pela força, oportunidade e ajuda que me proporcionaram nesses meses que estivemos juntos. A minha família, minha namorada Marina e meus amigos, que sempre me apoiaram e acreditaram que esse dia chegaria, obrigado pelo esforço, incentivo, força e principalmente por acreditarem. Obrigado a todos que, juntos, contribuíram para a conclusão de mais uma etapa de minha vida.

Resumo

PEPE, Paulo E. Mieloencefalopatia Protozoária Equina – Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Medicina Veterinária das Faculdades Metropolitanas Unidas/FMU. Sob Orientação do professor Antonio Carlos Bolino, São Paulo 2009.

A Mieloencefalite Protozoária Equina (EPM) é uma importante afecção que acomete o sistema nervoso central, causando uma síndrome neurológica devido à infecção por *Sarcocystis neurona* (*S. neurona*) e *Neospora caninum* (*huguesi*). Sendo a afecção por *Sarcocystis neurona* a mais comumente diagnosticada. O *S. neurona* é transmitido aos equinos por via oro – fecal de esporocistos oriundos dos dejetos dos gambás (*Didelphis virginiana* e *Didelphis albiventris*), causando sinais clínicos como incoordenação motora assimétrica, atrofia muscular focal, diminuição da propriocepção e paresia. Os sinais clínicos são resultados da ação direta do parasita no tecido nervoso ou aos danos secundários à resposta inflamatória. O hospedeiro definitivo do *S. neurona* é o gambá e seus possíveis hospedeiros intermediários são os guaxinins, gatos domésticos, tatus e a lontra do mar, tendo os equinos como hospedeiros intermediários aberrantes, já que não podem transmitir a doença para outros cavalos. Seu diagnóstico consiste do exame minucioso do sistema nervoso e a confirmação através do teste Western Blot do líquido cefalorraquidiano. O tratamento é realizado através de coccidioestático, antiinflamatórios, vitaminas e analgésicos. Drogas estão sendo testadas como tratamento preventivo, contudo a restrição do acesso do hospedeiro definitivo aos alimentos dos equinos é ainda a melhor forma de prevenção.

Palavras-chave: mieloencefalite, protozoário, *Sarcocystis neurona*, equino.

Abstract

PEPE, Paulo E. Equine protozoal Myeloencefalopatia – Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Medicina Veterinária das Faculdades Metropolitanas Unidas/FMU. Sob Orientação do professor Antonio Carlos Bolino, São Paulo 2009.

The Equine Protozoal myeloencephalitis (EPM) is an important disease that affects the central nervous system, causing a syndrome neurology due the infection for *Sarcocystis neurona* (*S. neurona*) and *Neospora caninum* (*huguesi*). As the disease *Sarcocystis neurona* the most commonly diagnosed. The *S. neuroma* is transmitted to the equines fecal-oral transfer of sporocysts for the dejections of the opossums (*Didelphis virginiana* and *Didelphis albiventris*), and cause clinical signals as anti-symmetrical motor ataxia, focal muscular atrophy, reduction of the proprioception and paresia. The clinical signs result from neuronal damage elicited by direct action of the parasite or a secondary inflammatory response. The definitive host of *S. neurona* is the opossums and intermediate hosts are raccoons, cats, armadillos and the horses are considered aberrant intermediate hosts, since they cannot transmit the illness for other horses. The diagnosis consists minute exam of the nervous system and the confirmation is done by the Westen Blot test of the liquor. The treatment is effected using coccidiostático, antiinflamatory, vitamins and analgesics. Drugs are being tasted like a preventive treatment, however the better way to prevent the illness is still to restrict the access of the definitive host in the horses' food.

Key words: myeloencephalitis, protozoal, *sarcocystis neurona*, equine.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| FIGURA 1. <i>DIDELPHIS ALBIVENTRIS</i> | 14 |
| FIGURA 2. <i>DIDELPHIS VIRGINIANA</i> | 15 |
| FIGURA 3. CICLO DE VIDA DO <i>SARCOCYSTIS NEURONA</i> | 16 |
| FIGURA 4. ÁREAS COM OCORRÊNCIA DE EPM | 18 |
| FIGURA 5. EQUINO COM ATROFIA DOS MÚSCULOS | 23 |
| FIGURA 6. EQUINO APRESENTANDO INCOORDENAÇÃO MOTORA | 24 |
| FIGURA 7. <i>DIDELPHIS VIRGINIANA</i> EM BUSCA DE ALIMENTO | 38 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

EPM- Mieloencefalopatia Protozoária Equina

SNC - Sistema Nervoso Central

FMU- Faculdades Metropolitanas Unidas

L - Litro

IgG - Imunoglobulina G

mg - Miligrama

Kg - Kilograma

hs - Horas

BID - Duas Vezes ao Dia

DMSO - Dimetilsulfóxido

g - Grama

IHQ – Imunoistoquímica

LCR – Líquido cefalorraquidiano

QA – Quociente de Albumina

M.V. - Médico Veterinário

LISTA DE SÍMBOLOS

$>$ - Maior

γ - Gama

μ - Micra

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 11 |
| 2. OBJETIVO | 13 |
| 3. REVISÃO DA LITERATURA | 14 |
| 3.1. ETIOLOGIA..... | 14 |
| 3.2. EPIDEMIOLOGIA..... | 17 |
| 3.3. PATOGÊNESE | 20 |
| 4. SINAIS CLÍNICOS | 22 |
| 5. DIAGNÓSTICO | 25 |
| 5.1. ANÁLISES SANGUÍNEAS E DO LÍQUIDO CEFALORRAQUIDIANO..... | 25 |
| 5.2. QUOCIENTE DE ALBUMINA | 26 |
| 5.3. IMMUNOBLOT (WESTERN BLOT)..... | 27 |
| 5.4. REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (PCR) | 29 |
| 5.5. IMUNOHISTOQUÍMICA (IHQ) | 30 |
| 5.6. BIOMARCADORES GENÉTICOS | 30 |
| 5.7. NEOSPORA SPP | 30 |
| 5.8. ACHADOS DA NECRÓPSIA..... | 31 |
| 5.9. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL..... | 32 |
| 6. TRATAMENTO | 34 |
| 7. PROFILAXIA | 39 |
| 8. CONCLUSÃO | 40 |
| REFERÊNCIAS | 41 |

1. INTRODUÇÃO

A Mieloencefalite Protozoária Equina é uma síndrome neurológica causada pelos protozoários *Sarcocystis neurona* e *Neospora caninum (huguesi)*, que infectam o sistema nervoso central. Na maioria dos casos acredita-se que o causador seja o *Sarcocystis neurona* (MACKAY et al., 2000; DUBEY et al., 2001).

O *S. neurona* é um protozoário que afeta o sistema nervoso central de equinos causando uma enfermidade que compromete o sistema nervoso central, podendo acarretar incoordenação motora decorrente da diminuição da propriocepção e fraqueza muscular (SILVA et al., 2003). É uma doença infecciosa, mas não contagiosa endêmica nas Américas, tendo os eqüinos como hospedeiros acidentais, portanto, sendo de grande importância econômica (RADOSTITS et al., 2002).

Os primeiros casos da doença foram relatados nos Estados Unidos por ROONEY et al., (1970), como uma mielite segmentar. O protozoário foi descrito, pela primeira vez, em 1974 por CUSICK *et al.*, que o identificaram como sendo o *Toxoplasma gondii*. No mesmo ano, BEECH & DODD et al., (1974) denominaram a doença de “Encefalomielite Protozoária Equina”. Porém, a denominação foi modificada para “Mieloencefalite Protozoária Equina” (EPM) em 1976 por MAYHEW *et al.* A reavaliação dos cortes histológicos de tecido nervoso demonstrou que os parasitas não eram *T. gondii*, mas espécies do gênero *Sarcocystis* (SIMPSON & MAYHEW, 1980), sendo nomeada como *Sarcocystis neurona* (DUBEY et al., 1991), assim a espécie *Sarcocystis neurona* foi proposta para ser o agente causador da EPM.

No Brasil o primeiro caso foi relatado por BARROS et al. (1986), em um eqüino de 10 anos de idade, no sul do país. Posteriormente por MASRI et al., (1992), que relataram a presença de merozoítos de *Sarcocystis neurona* em cortes histopatológicos de sistema nervoso que por sua vez foi associado a sinais de ataxia e incoordenação de membros posteriores. MAIORKA et al., (1999); LUVIZOTTO et al., (2001) e BACCARIN et al., (2001), também relataram casos da doença no Brasil.

O primeiro caso de Mieloencefalite Protozoária Equina por *Neospora caninum* (*hughesi*), foi diagnosticado nos Estados Unidos por DAFT *et al.*, (1996) numa égua com 19 anos de idade que apresentava como sinais clínicos, alteração de comportamento, paresia de membros posteriores e disfagia. As lesões localizavam-se no SNC, nervos periféricos e miocárdio. Taquizoítos de *N. caninum* e quistos teciduais foram visualizados por imunohistoquímica (IHQ) no cérebro, medula espinal e nervos periféricos. MARSH *et al.* (1996), isolaram em cultivo celular de cérebro e medula, organismos de *N. caninum* em um equino com sinais neurológicos, e em 1998, isolaram um protozoário com características diferentes do *N. caninum* no tecido do Sistema Nervoso Central de um equino da Califórnia. Através da ultra-estrutura do parasita isolado e da análise molecular de uma pequena subunidade do gene de RNA ribossomal (ITS-1), encontraram sete nucleotídeos de diferentes bases entre *N. caninum* e o novo isolado. A partir dessas diferenças, os autores propuseram uma nova espécie para este parasita denominando-a *Neospora hughesi*, parasita associado com mieloencefalite em equídeos (DUBEY & LINDSAY, 1996). No Brasil, a neosporose ainda não é incluída no diagnóstico da EPM.

2. OBJETIVO

O tema desta monografia foi escolhido por ser a Mieloencefalite Protozoária Equina uma das mais importantes doenças neurológicas e tem como objetivo trazer informações mais recentes sobre esta patologia, abordando os aspectos epidemiológicos, clínicos, diagnóstico e terapêutico da mieloencefalite por protozoários em eqüinos, contribuindo desta forma com a atualização dos profissionais envolvidos na área de clínica médica de eqüinos.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Etiologia

Sarcocystis neurona

O principal agente causador da EPM é o *Sarcocystis neurona*, coccídeo do filo *Apicomplexa*, família *Sarcocystidae* (SILVA et al., 2003). Os hospedeiros definitivos do *Sarcocystis neurona* são os marsupiais (*Didelphis virginiana* e *Didelphis albiventris*), comuns no meio rural, e sua distribuição abrange todo o Continente Americano, possuindo uma grande diversidade de ambientes, desde florestas, banhados, pastagens e vegetação arbustiva. Entretanto com o aumento do desmatamento, os marsupiais estão se deslocando para as fazendas, haras, sítios, chácaras e até mesmo as cidades em busca de alimentos, onde acabam contaminando os alimentos dos eqüinos (RADOSTITS et al., 2002).



Fig. 1: *Didelphis albiventris*. (<http://farm4.static.flickr.com>)

Os hospedeiros intermediários pertencem a uma extensa faixa que por sua vez inclui: guaxinins, lontra do mar, aves, tatus, outros marsupiais e insetos, que atuam também como hospedeiros de transporte, (RADOSTITS et al., 2002). Experimentalmente verificou-se que os

gatos também atuam como hospedeiros intermediários, (SILVA et al., 2003). Normalmente os parasitas do gênero *Sarcocystis* completam o seu ciclo de vida em dois hospedeiros, o intermediário e o definitivo. No trato intestinal do hospedeiro intermediário, os esporocistos rompem-se e liberam esporozoítos infectantes. Estes penetram na mucosa intestinal, sendo disseminados pelo sistema vascular. Eles desenvolvem-se intracelularmente nas várias células endoteliais dos capilares e em outros pequenos vasos. Os esporozoítos tornam-se multinucleados, transformando-se em esquizontes, os quais produzem numerosos merozoítos. A célula hospedeira rompe-se, liberando merozoítos no sistema vascular (KISTHARDT & LINDSAY,1997). Outro ciclo de desenvolvimento ocorre normalmente nas células endoteliais, produzindo uma segunda geração de merozoítos. A última geração de merozoítos penetra nas células musculares cardíacas e esqueléticas e transformam-se em sarcocistos (quisto muscular) que contêm bradizoítos. A infecção do hospedeiro definitivo ocorre pela ingestão de carne contendo sarcocistos. Os bradizoítos provenientes do sarcocistos penetram na lâmina própria do trato intestinal onde se desenvolvem os estágios sexuais, os machos (micro gametas) e as fêmeas (macro gametas). O oocisto esporula no hospedeiro definitivo, produzindo dois esporocistos, cada um contendo quatro esporozoítos. Estes esporocistos livres são normalmente observados nas fezes do hospedeiro definitivo (KISTHARDT & LINDSAY, 1997).



Fig. 2: *Didelphis virginiana*. (<http://images.google.com.br/images/imag>)

Os equinos são considerados hospedeiros aberrantes, infectam-se acidentalmente quando ingerem alimentos contaminados com fezes dos gambás, que possuem esporocistos infectantes. Uma vez ingeridos os esporocistos, eles migram do trato intestinal para a corrente sanguínea, ultrapassam a barreira hematoencefálica e atingem o sistema nervoso central (MACKAY et al., 2001).

Estudos realizados por 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 esquizontes no cérebro de um equino positivo para EPM que havia sido eutanasiado. Até então, somente haviam sido encontradas no encéfalo e medula espinal de cavalos com EPM, formas imaturas do parasita.

O cavalo é considerado um hospedeiro aberrante do *S. neurona* já que não pode transmitir a doença para outros cavalos (DUBEY et al., 2001).

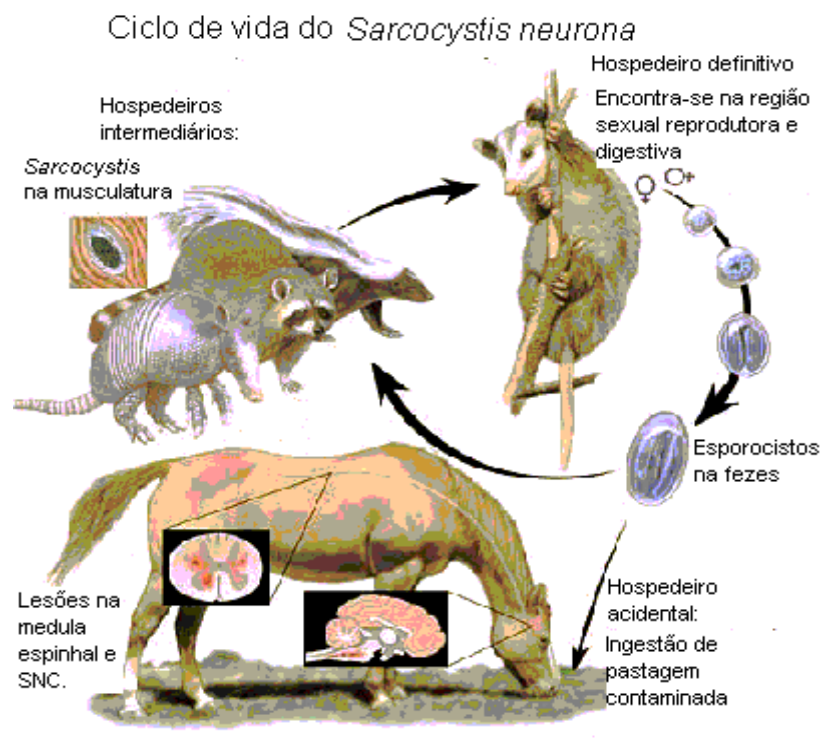


Fig. 3: Ciclo de vida do *Sarcocystis neurona* (<http://www.sarcocystis.life.cycle.jpg>)

Neospora spp.

As infecções por *Neospora spp.*, apesar de pouco frequentes, podem provocar doença neurológica semelhante à EPM nos eqüinos (MARSH et al., 1996; HAMIR et al., 1998). O protozoário do gênero *Neospora* pertence ao *Filo Apicomplexa*, e família *Sarcocystidae*. No gênero *Neospora* duas espécies são conhecidas, *Neospora caninum* e *Neospora hughesi* (DUBEY et al., 2002).

Os casos de Mieloencefalite Protozoária Equina por *N.caninum (Hughesi)* foram descritos somente nos Estados Unidos. No Brasil, a *neosporose* deveria ser incluída no diagnóstico da EPM, propiciando novas opções de tratamento e controle da doença (LOCATELLI-DITTRICH, R. et al., 2006), pois na maioria dos casos, considera-se como causador apenas o *S. neurona* (MACKAY et al., 2000; DUBEY et al., 2001).

O hospedeiro definitivo do *N. caninum (Hughesi)* ainda é desconhecido, permanecendo incerta a forma de exposição dos cavalos a este parasita e se há outros hospedeiros intermediários (HOANE et al., 2006). As formas identificadas do ciclo de vida de *N. hughesi* são taquizoítos e quistos teciduais com bradizoítos. Não foram até ao momento, identificados oocistos deste parasita. Os taquizoítos são ovóides e multiplicam-se rapidamente por endodiogenia, penetrando ativamente nas células hospedeiras, localizando-se no citoplasma ou dentro do vacúolo parasitóforo (MARSH et al., 1998, DUBEY et al., 2001, LOCATELLI-DITTRICH et al., 2006)

3.2 Epidemiologia

A Mieloencefalite Protozoária Equina é uma enfermidade endêmica das Américas, mas já foram descritos casos na Europa, Ásia e África do Sul em eqüinos importados do Continente Americano. Os principais fatores de risco do aparecimento da EPM estão

relacionados com a proximidade geográfica com áreas de ocorrência do hospedeiro definitivo, *Didelphis virginiana* e *Didelphis albiventris*, já que os eqüinos se infectam ao ingerir alimentos contaminados pelas fezes do hospedeiro definitivo (SILVA et al., 2003).



Fig.4: Áreas com ocorrência de EPM. (<http://www.bayerequineconnection.com/images/epm2.jpg>)

A faixa etária dos animais susceptíveis pode variar de dois meses a vinte e quatro anos, ocorrendo com maior frequência nos mais velhos e não possui predileção aparente por raça ou sexo (SILVA et al., 2003).

O estresse e a sua relação com a imunossupressão podem ser um dos fatores envolvidos na predisposição ao risco de Mieloencefalite Protozoária Equina (MACKAY et al., 2000; SAVILLE et al., 2001; DUBEY et al., 2001). O aparecimento da EPM é maior depois de sucessivos eventos estressantes como: transporte, excesso de treinamento, transporte, cirurgias, lesões, exposições, corridas, etc. (MACKAY et al., 2000; SAVILLE et al., 2001; DUBEY et al., 2001). O período mínimo de incubação é de oito semanas (REED & BAYLY, 2000).

Alguns cavalos portadores do *S. neurona* são capazes de eliminar o parasita sem necessitar de tratamento (FENGER et al., 1997; RICKARD et al., 2001). O *Sarcocystis neurona* pode infectar outros eqüídeos, porém a apenas dois relatos de casos da doença clínica foram descritos, um pônei e uma zebra (SILVA et al., 2003). Ainda não se relatou casos em asininos e muares (RADOSTITS et al., 2002).

A EPM é uma enfermidade infecciosa, não contagiosa, portanto, os eqüinos não transmitem a infecção para outros eqüinos ou outras espécies de animais, sendo que o *Sarcocystis neurona* não completa a esquizogonia, permanecendo na forma de merozoítos não infectantes no tecido nervoso (RADOSTITS et al., 2002).

Estudos relataram que no inverno o número de casos de EPM é menor, contudo nos meses de primavera e verão a ocorrência de tal afecção é três vezes maior e nos meses de outono sua incidência aumenta até seis vezes mais. Uma das possíveis razões é a influência das baixas temperaturas e a dificuldade ao acesso à comida pelos guaxinins (MACKAY et al., 2000; DUBEY et al., 2001; RICKARD et al., 2001).

Somente as estações do ano e o estado corpóreo dos gambás são considerados fatores de risco associados com a presença de esporocistos. Aproximadamente duas vezes mais gambás foram pegos em armadilhas na primavera apresentando esporocistos positivo comparados aqueles pegos no inverno. Por causa da variedade de hospedeiros intermediários aparentemente serem mamíferos, esta tendência sazonal pode ser reflexo da mudança do uso de itens alimentares para mamíferos pelos gambás durante diferentes épocas do ano. Por outro lado, os gambás por serem onívoros e propensos a usarem a maior abundância de itens alimentícios disponíveis, os quais geralmente são mudados mensalmente ou sazonalmente (RICKARD et al., 2001).

Esta sazonal tendência em eqüinos soropositivos tem sido notada com a diminuição da soroprevalência no inverno, aumentando na primavera e verão e muito maior no outono, sendo que no inverno há uma redução da sobrevivência dos esporocistos (RICKARD et al., 2001).

O risco de EPM é 50% menor onde existem rios, enseadas, áreas arborizadas disponíveis como habitat de vida livre para esses animais o risco pode ser reduzido, pois estas áreas são o habitat natural do hospedeiro definitivo (DUBEY et al., 2001).

Não há pesquisas que comprovem a dose correta de ingestão de esporocistos de *S. neurona* para desenvolver a EPM devido à habilidade dos eqüinos de eliminar o parasita, com isso há uma baixa incidência da doença, menos de 1% da população de eqüinos (SAVILLE et al., 2001; DUBEY et al., 2001).

A infecção e a eliminação do parasita do organismo podem ser explicadas devido ao grande número de cavalos neurologicamente normais, mas que têm anticorpos para *S. neurona* em seu líquido cérebrospinal assim como há cavalos com lesões compatíveis com EPM e não há protozoários em seu SNC (SAVILLE et al., 2001).

Numerosos casos são relatados nas Américas (CLARK et al., 1981; BOY et al., 1990; GRANSTROM et al., 1992; MASRI et al., 1992; FENGER et al., 1997). No Brasil, BARROS et al. (1986), MASRI et al. (1992), PEIXOTO et al. (1999), MAIORKA et al. (1999), LUVIZOTTO et al. (2001) e BACCARIN et al. (2001), relataram casos da doença em cavalos que apresentavam incoordenação motora.

Na América do Sul, estudos sorológicos determinaram exposição em 35,6% e 35,5% dos animais estudados, respectivamente, no Brasil e Argentina (DUBEY et al., 1999). Apesar do grande número de animais soropositivos, apenas uma minoria dos cavalos desenvolvem os sinais clínicos da doença (COWEN & MACKAY, 1997).

As doenças neurológicas causadas por *N. caninum* (*Hughesi*), foram diagnosticadas em cavalos adultos, nos Estados Unidos (CHEADLE et al., 1999), e os estudos com *Neospora spp.*, estão indicando uma menor infecção por este protozoário (HOANE et al., 2006). Até o momento não se conhece a razão para os diagnósticos de mieloencefalite por *N. caninum* (*hughesi*) em equinos adultos ocorrer somente nos Estados Unidos (LINDSAY, 2001; HOANE et al., 2006). Os aspectos relacionados aos fatores de risco à neosporose equina precisam ser elucidados (LOCATELLI-DITTRICH et al., 2006).

3.3 Patogênese

Os esquizontes e merozoitos do *S. neurona* são encontrados em neurônios, células mononucleares, células da glia e talvez em outras células neurais (DUBEY et al., 2001). Os esquizontes penetram nas células do SNC, multiplicando-se no seu interior. Essa

multiplicação produz inflamação não-purulenta, caracterizada por acúmulo de linfócitos, neutrófilos, eosinófilos. A associação da infecção à reação inflamatória provoca alteração na função neurológica normal, observando-se sinais de fraqueza, atrofia muscular e déficit proprioceptivos (RADOSTITS *et al.*, 2002).

Estudos indicaram que os parasitas se multiplicam inicialmente numa extensão limitada de tecidos viscerais, sendo depois transportados para o SNC no interior dos leucócitos, escapando assim da ação dos anticorpos (LINDSAY *et al.* 2006). Três semanas após infecção os parasitas já se encontram no SNC e os sinais clínicos da doença vão variar em função da área do SNC parasitada (DIVERS *et al.* 2000).

4. SINAIS CLÍNICOS

A Mieloencefalite protozoária equina é uma infecção progressivamente debilitante que afeta o SNC, envolvendo o cérebro, tronco cerebral, coluna espinhal e várias áreas do SNC dos eqüinos e os sinais clínicos variam de agudos a crônicos (FENGER et al., 1997; MACKAY et al., 2000; DUBEY et al., 2001) focais ou multifocais envolvendo o cérebro ou a coluna vertebral (MACKAY et al., 2000) podendo resultar de problemas primários ou secundários (FENGER et al., 1997).

Até começarem os primeiros sinais clínicos, a afecção leva de duas semanas a dois anos para se desenvolver (FURR et al., 2002). Inicialmente os animais afetados podem exibir alguns sintomas atípicos como déficit das funções das vias aéreas superiores, hemiplegia laringeana, deslocamento do palato mole, respiração ruidosa, claudicações discretas ou atípicas (MACKAY et al., 2000; FENGER et al., 1997; DUBEY et al., 2001).

No exame físico, os sinais vitais estão geralmente normais, contudo alguns eqüinos podem apresentar magreza e uma branda depressão. Quando o animal caminha, observa-se incoordenação com movimentos de lateralização, que pioram quando o animal anda em círculo, para trás, com a cabeça erguida ou quando sobe e desce rampas (GRANSTROM & SAVILLE, 1998).

O exame neurológico revela uma leve assimetria, ataxia, espasticidade envolvendo os quatro membros. Frequentemente áreas de hipoalgesia ou completa diminuição sensorial podem ser notadas (DUBEY et al., 2001). As manifestações podem levar o cavalo a apresentar fraqueza, tropeçar no solo ou em objetos, arrastar as pinças no solo, apresentar espasticidade em um ou mais membros e incoodenação motora (THOMASSIAN, 2005).

Alterações encefálicas observadas podem afetar qualquer núcleo dos nervos cranianos. As principais anormalidades relacionadas aos nervos cranianos são paralisia do nervo facial, ataxia vestibular, desvio de cabeça, atrofia de masseter, atrofia e ou paralisia de língua, perda de sensibilidade na córnea e nas narinas, disfagia e balançar compulsivo da cabeça

(THOMASSIAN, 2005). Contudo segundo RADOSTITS et al., (2002), andar em círculos, decúbito agudo, pressionar a cabeça contra obstáculos e convulsões podem ser os únicos sinais clínicos observados.

Em casos de lesão na medula sacral observa-se paresia da cauda (síndrome da cauda eqüina), incontinência urinária e relaxamento do esfíncter anal (RADOSTITS et al., 2002). Alguns animais que apresentaram atrofia da musculatura usavam a parede da baia para equilibrar-se (REED & BAYLY, 2000).

Essa variação de sinais clínicos está relacionada à habilidade do S.neurona em atacar a massa branca e cinzenta do cérebro. Quando a massa cinzenta do cérebro está envolvida, os sinais clínicos incluem atrofia muscular focal e severa fraqueza muscular principalmente os músculos quadríceps e glúteos, enquanto que a massa branca freqüentemente resulta em ataxia e fraqueza em membros posteriores (MACKAY et al., 2000; DUBEY et al., 2001; WILLIAM E. JONES., 2002; FURR et al., 2002).

A apresentação clássica da doença é incoordenação motora assimétrica, atrofia muscular focal, diminuição proprioceptiva e paresia, geralmente mais graves nos membros posteriores (FENGER et al. 1997; BACCARIN et al., 2001). O andar assimétrico com atrofia muscular focal pode ajudar a diferenciar EPM de outras afecções neurológicas (DUBEY et. AL., 2001).



Fig. 5: Eqüino com atrofia dos músculos quadríceps e Glúteo (<http://www.vetmed.ucdavis.edu/ceh/images/ht>)

Animais com leves alterações neurológicas melhoram após o tratamento - 74%. Por outro lado, apenas 58% dos animais com moderadas alterações neurológicas e 50% daqueles com severas alterações neurológicas melhoram após tratamento (SAVILLE et al., 2000). Animais que demonstraram melhora nos sinais clínicos possuem cinquenta vezes mais chances de sobreviver do que aqueles que os sinais clínicos não apresentaram melhoras (SAVILLE et al., 2000).

A sobrevivência dos animais acometidos depende da severidade das lesões, sendo que, indivíduos com sinais clínicos moderados ou severos têm maior probabilidade de entrar em decúbito permanente havendo necessidade da eutanásia (SILVA et al., 2003).



Fig. 6: Equino apresentando incoordenação motora. (<http://www.vetmed.ucdavis.edu/ceh/images/>)

5. DIAGNÓSTICO

O diagnóstico da EPM deve ser baseado na história, sinais clínicos, localização anatômica da lesão, métodos de imunodiagnóstico, resposta a terapia, evolução do caso clínico e exclusão de outras doenças (MACKAY, 2000).

O diagnóstico clínico baseia-se nos sinais neurológicos que, embora comuns a várias outras afecções do sistema nervoso central, tem como característica a perda da coordenação motora, principalmente dos membros posteriores e sinais de atrofia de grupos musculares. A suspeita ou diagnóstico clínico pode ser confirmado pelo exame de Western Blot (líquido cefalorraquidiano) desafiados para a detecção de anticorpos antiproteína do *S. neurona* (THOMASSIAN, 2005).

Na maioria dos casos suspeitos de EPM, a colheita de LCR e pesquisa de anticorpos contra *S. neurona* é essencial para confirmar o diagnóstico, podendo ser realizada no espaço atlantooccipital ou no espaço lombosacral, sendo este último preferido, pois a maioria dos eqüinos com EPM apresenta lesões caudais ao espaço atlanto-occipital. A colheita do LCR realizada no espaço lombo-sacro apresenta ainda a vantagem de poder ser realizada com o animal em posição quadrupedal, o que é muito útil, pois colocar um eqüino incoordenado em decúbito pode acarretar dificuldades para colocá-lo em posição quadrupedal após a recuperação anestésica (FENGER, 1997).

Das inúmeras desordens neurológicas afetam os eqüinos, a EPM permanece sendo a afecção neurológica mais comumente diagnosticada (DUBEY et al., 2001).

5.1. Análises sanguíneas e do líquido cefalorraquidiano (LCR)

A mieloencefalite por protozoários não produz alterações consistentes no hemograma ou na bioquímica sérica (MACKAY, 1997), embora possam ser observadas anormalidades

inespecíficas como linfopenia, hiperfibrinogenemia, elevações na bilirrubina sérica, uréia e enzimas teciduais, possivelmente relacionadas com estresse, terapia com corticóides, traumas, anorexia e danos musculares (MACKAY et al., 1992).

No líquido cefalorraquidiano (LCR) geralmente não são observadas alterações da coloração, celularidade, turbidez, proteína, enzimas, glicose e eletrólitos (DUBEY et al., 2001). Entretanto, podem ocorrer elevações na proteína total, pleocitose mononuclear e aumento da atividade da creatinafosfoquinase (MACKAY et al., 1992; FENGER, 1997). O LCR é material fundamental para o diagnóstico antemortem da enfermidade pois, permite verificar a presença de anticorpos específicos anti-*S. neurona* (GRANSTROM et al., 1993). Sendo muito importante na diferenciação de doenças neurológicas infecciosas e não infecciosas (GRANSTRON, 1995).

A contaminação iatrogênica durante a coleta do líquido cefalorraquidiano é comum (DUBEY et al., 2001). A contagem de hemácias é atualmente o método mais utilizado para avaliar a contaminação da amostra de LCR com anticorpos séricos. Aconselha-se não trabalhar com amostras que apresentem mais de 50 hemácias/ μ L quando se deseja pesquisar anticorpos contra *S. neurona* pelo Western Blot, pois valores de contaminação superiores a este podem produzir um resultado falso positivo (FURR et al., 2002). Entretanto, quando não são diagnosticados anticorpos no LCR, mesmo com contaminação com sangue, pode-se excluir EPM como causa de doença neurológica (DAFT et al., 2002). A dificuldade deste método é que a contagem de hemácias deve ser preferencialmente realizada dentro das primeiras 6 horas após a colheita, mantendo-se o material refrigerado; após este tempo pode ocorrer significativa e progressiva lise das hemácias devido às diferenças no gradiente osmótico entre LCR e sangue.

5.2. Quociente de Albumina (Q A)

A proporção de albumina no líquido cefalorraquidiano e no soro pode ser útil para avaliar uma amostra qualitativa de líquido cefalorraquidiano (DUBEY et al., 2001). A albumina é uma proteína muito abundante no soro, mas não é produzida no líquido cefalorraquidiano e deve escapar da circulação geral (DUBEY et al., 2001).

A concentração total de albumina no líquido cefalorraquidiano e o quociente de albumina podem ser comparados para estabelecer uma variação normal para ajudar avaliar a integridade da barreira hematoencefálica. Se a concentração total de albumina no líquido cefalorraquidiano e/ou o quociente de albumina estão elevados (> 2.2) é sinal de um aumento da permeabilidade da barreira hematoencefálica ou contaminação sangüínea acidental da amostra (DUBEY et al., 2001; FURR et al., 2002).

A proporção da concentração total de IgG no líquido cefalorraquidiano e no soro pode ser usada em conjunto com o quociente de albumina para avaliar a produção de IgG intratecal e promover a avaliação da integridade da barreira hematoencefálica. Contudo a sensibilidade deste teste tem sido questionada. Embora a presença elevada de albumina no líquido cefalorraquidiano e o quociente de albumina permanecerem úteis, os resultados sem limites normais devem ser interpretados com cautela (DUBEY et al., 2001).

5.3. Immunoblot (Western Blot)

A detecção de anticorpos contra *S. neurona* no LCR (método de Western Blot) de eqüinos portadores de incoordenação motora, quando outras enfermidades neurológicas ou osteomusculares tenham sido excluídas, confirma o diagnóstico de EPM (GRANSTROM et al., 1993; GRANSTROM & REED, 1994; MORLEY & SAVILLE, 1998). A dosagem sérica dos anticorpos indica apenas exposição ao *S. neurona* e não necessariamente doença (BENTZ et al., 1997; SAVILLE et al., 1997). Como o percentual de animais soropositivos é relativamente grande no Brasil (DUBEY et al., 1999), quantificar os anticorpos apenas no soro pode favorecer um aumento no número de casos falso positivos.

Anticorpos podem estar presentes no LCR por atravessarem a barreira hematoencefálica ou por produção intratecal. Linfócitos sangüíneos periféricos circulam pelo LCR e ficam retidos no sistema nervoso central se algum antígeno reconhecível estiver presente. A presença do *S. neurona* estimula estes linfócitos específicos a permanecerem no sistema nervoso central, promovendo a produção intratecal de anticorpos. Uma amostra é considerada positiva quando há reação entre as proteínas 30 e 16-kd do protozoário. Para um

teste ser considerado negativo ocorre reação de outra proteína, mas não de ambas (MACKAY et al., 2000; MANSFIELD et al., 2001).

A sensibilidade e a especificidade deste método é de 89% (GRANSTROM et al., 1994), podendo alcançar índices próximos a 100% pela eliminação da possibilidade de reação cruzada com outras espécies de *Sarcocystis* (ROSSANO et al., 2000). Em animais sem anormalidades neurológicas, o exame sorológico do LCR não tem relevância diagnóstica (MORLEY & SAVILLE, 1997; DAFT et al., 2002).

Um LCR positivo para *S. neurona* na técnica de Western Blot evidencia a presença de anticorpos contra o *S. neurona*, indicando a presença do antígeno no tecido nervoso (BERNARD, 1998). Entretanto, a ocorrência de outras enfermidades que afetam a integridade da barreira hematoencefálica ou a contaminação da amostra com sangue por ocasião da colheita, provoca passagem de anticorpos séricos para o LCR, causando reatividade para o *S. neurona* no Western Blot, o que prejudica a interpretação do teste (MORLEY & SAVILLE, 1997; MILLER et al., 1999). A contaminação do LCR com sangue durante a colheita é comum e pode complicar o diagnóstico da infecção pelo *S. neurona* (MILLER et al., 1999). Isto ocorre, devido anticorpos séricos podem contaminar a amostra do LCR promovendo resultado falso positivo.

Alguns índices foram propostos para auxiliar na diferenciação entre a produção intratecal ou sérica de anticorpos anti- *S. neurona*, entre eles o coeficiente de albumina e o index de imunoglobulinas (ANDREWS et al., 1990; GRANSTROM, 1995). Quando analisados em conjunto, evidenciam a presença de proteína sérica no LCR como resultado da contaminação com sangue por ocasião da colheita e/ou comprometimento da permeabilidade da barreira hematoencefálica (ANDREWS et al., 1995).

Entretanto, estes índices podem falhar na detecção de contaminação sangüínea da amostra de LCR ou perda da integridade da barreira hematoencefálica, comprometendo a interpretação do teste de Western Blot (DUBEY et al., 2001a) e originando dúvidas sobre a sensibilidade destes índices (COWEN & MACKAY, 1997; MILLER et al., 1999). A contagem de hemácias é atualmente o método mais utilizado para avaliar a contaminação da amostra de LCR com anticorpos séricos. Aconselha-se não trabalhar com amostras que apresentem mais de 50 hemácias/ μ L quando se deseja pesquisar anticorpos contra *S. neurona*

pelo Western Blot, pois valores de contaminação superiores a este podem produzir um resultado falso positivo (FURR et al., 2002). Entretanto, quando não são diagnosticados anticorpos no LCR, mesmo com contaminação com sangue, pode-se excluir EPM como causa de doença neurológica (DAFT et al., 2002). A dificuldade deste método é que a contagem de hemácias deve ser preferencialmente realizada dentro das primeiras 6 horas após a colheita, mantendo-se o material refrigerado; após este tempo pode ocorrer significativa e progressiva lise das hemácias, devido às diferenças no gradiente osmótico entre LCR e sangue.

A interpretação do Western Blot sérico e do LCR em potros deve ser feita de forma cuidadosa, pois anticorpos contra o *S. neurona* podem ser detectados em potros nascidos de éguas soropositivas, possivelmente devido à exposição intra-uterina ao *S. neurona*, transferência passiva de anticorpos ou persistência dos anticorpos maternos (COOK et al., 2001; COOK et al., 2002).

Em potros há uma maior permeabilidade da barreira hematoencefálica, portanto os anticorpos são encontrados regularmente no líquido cefalorraquidiano (JONES, 2002). O ideal é não realizar este teste antes dos seis meses de idade devido à presença de anticorpos maternos, se após essa idade o resultado for positivo o exame deverá ser realizado novamente aos nove meses de idade (COOK et al., 2001).

5.4. Reação em cadeia da polimerase (PCR)

A técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR) é específica para o DNA do parasita, confirmando a presença do *S. neurona* no SNC. Apesar disso, a sensibilidade da PCR para a EPM é baixa devido ao fato de que, o DNA do parasita pode ser rapidamente destruído pela ação das enzimas presentes no LCR ou devido à escassez de DNA no mesmo (MACKAY et al. 2000, DUBEY et al. 2001). O teste PCR pode ser usado em adjunto para o diagnóstico de EPM em algum caso seletivo (DUBEY et al., 2001).

5.5. Imunohistoquímica (IHQ)

Os teste imunohistoquímico (Tem por objetivo a detecção de um determinado antígeno) pode distinguir o *S. neurona* de outros organismos, sendo importante o uso de soro específico para *S. neurona*. Até o momento, não existem anticorpos monoclonais específicos para o *S. neurona* úteis para diagnóstico (DUBEY et al., 2001).

5.6. Biomarcadores genéticos

Em 2005, EASTMAN et al. estudaram biomarcadores genéticos em leucócitos no sangue periférico de cavalos. Os genes que se mostraram estatisticamente diferentes nos animais com e sem sintomas de EPM foram tabulados e formaram a base para um marcador genético da doença. Este teste demonstrou possuir boa especificidade e sensibilidade nos estados agudos da doença, sendo que nos casos crônicos, os resultados não foram estudados. Estes biomarcadores podem trazer informações a respeito do estado da doença e prognóstico antes dos sinais clínicos se tornarem evidentes. Os autores do referido estudo não especificaram quais foram os biomarcadores identificados.

5.7. *Neospora spp.*

O diagnóstico clínico da doença é dificultado pelos sinais inespecíficos da neosporose. Devido a este fato, o diagnóstico laboratorial deve ser realizado para confirmar a infecção por *Neospora spp.* (LOCATELLI - DITTRICH et al., 2006). Os testes sorológicos mais utilizados para *Neospora spp.* são: Indirect Fluorescent Antibody Test (IFAT), Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA), teste de aglutinação direta e Western Blot (LOCATELLI-

DITTRICH *et al.* 2006). A presença de anticorpos indica que houve exposição ao parasita, não indicando necessariamente a existência de uma infecção ativa (VARDELEON *et al.* 2001).

O Western Blot tem sido muito utilizado como teste confirmatório para *Neospora spp*, em várias espécies animais, sendo considerado altamente específico (HEMPHILL *et al.*, 2000).

Também são utilizadas no diagnóstico as técnicas imunoistoquímicas. O anti-soro policlonal de *N. caninum* detectou parasitas nos pulmões de feto (DUBEY & PORTERFIELD, 1990), tálamo, hipotálamo e músculo ocular de potro com cegueira congênita (LINDSAY *et al.* 1996), no cérebro, nervos periféricos e medula espinal de equinos adultos (HAMIR *et al.* 1998). O diagnóstico de aborto por neosporose pode ser também realizado pela PCR (LOCATELLI-DITTRICH, 2006).

No exame histopatológico, a lesão mais característica pela infecção por *Neospora spp*, está no cérebro e consiste em encefalite focal caracterizada por necrose e inflamação não-supurativa (ANDERSON *et al.* 2000).

5.8. Achados de necropsia

As lesões de EPM estão restritas ao sistema nervoso central (BEECH & DOOD, 1974; CUSICK *et al.*, 1974; DUBEY *et al.*, 1974). A distribuição das lesões no sistema nervoso central é multifocal, localizando-se, sobretudo, na medula espinhal, embora o encéfalo também possa estar comprometido (FENGER, 1997). Lesões macroscópicas podem, quando presentes, revelar áreas multifocais de hemorragia com perda da coloração normal do tecido nervoso e malácia (GRANSTROM & REED, 1994), podendo ser muito discreta ou ter vários centímetros (GRANSTROM & SAVILLE, 1998). Porém, a necropsia de cavalos com EPM pode não demonstrar alterações macroscópicas (FENGER, 1997).

Histologicamente, as lesões inflamatórias consistem de infiltrado perivascular linfóide contendo macrófagos, eosinófilos e ocasionalmente células gigantes multinucleadas. Extensas áreas de necrose com hemorragia estão presentes nos casos mais graves e agudos (HAHN et al., 1999).

Os parasitos não são comumente encontrados, particularmente nos pacientes tratados. Quando vistos, aparecem como um modelo clássico em formato de rosa, dentro dos corpos celulares dos neurônios, células microgliais ou raramente dentro das células endoteliais dos vasos sanguíneos (FENGER, 1997b). A pouca quantidade de microorganismos visualizados, mesmo em lesões extensas, sugerem que citocinas ou metabólitos celulares podem estar associados com as lesões (DUBEY et al., 2001).

Mesmo que não seja possível a visualização dos parasitos, deve-se suspeitar de EPM quando as alterações histopatológicas forem compatíveis com as da doença (HAHN et al., 1999).

5.9. Diagnóstico Diferencial

A EPM pode ser confundida com outras doenças que causam distúrbios neurológicos, entre elas: a má formação da vértebra cervical causando estenose do canal vertebral acompanhado de instabilidade intervertebral (MACKAY et al., 2000; DUBEY et al., 2001). Além de traumas na coluna espinhal que podem causar distúrbios neurológicos e incoordenação dos membros (MACKAY et al., 2000, MANSFIELD et al, 2001).

Entre outras afecções estão: herpesvírus eqüino tipo-1, doença do neurônio motor, tumores na coluna espinhal, abscessos epidurais, encefalite viral do Oeste do Nilo, mieloencefalite degenerativa eqüina, má formações vasculares, traumas, abscessos cerebrais, migração de parasitas, encefalopatia hepática, leucoencefalomalácia, epilepsia, cauda eqüina, linfossarcomas, botulismo, micoses da bolsa gutural, etc (MACKAY et al., 2000; MANSFIELD et al, 2001; DUBEY et al., 2001).

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, devemos considerar as encefalites virais, bacterianas, leucoencefalomalácea, traumatismo craniano e encefalopatia hepática/urêmica (MACKAY *et al.* 2000, DUBEY *et al.* 2001).

Diferenciais microscópicos incluem infecção por *Neospora spp*, *Sarcocystis spp* e parasitas microsporídeos (DUBEY *et al.*, 2001). A imunohistoquímica permite a diferenciação do *S. neurona* de outros microrganismos (DUBEY & HAMIR, 2000).

Além disso, deve ser diferenciada de anormalidades osteomusculares que apresentem sinais clínicos que possam ser confundidos com doença neurológica. Traumas medulares ocorrem de forma súbita e apresentam quadro estacionário, sendo que lesões severas podem acarretar decúbito.

A mielopatia cervical estenótica dinâmica (instabilidade cervical vertebral tipo 1) geralmente acomete animais jovens e de crescimento rápido, com sinais simétricos e acometimento dos quatro membros (exceto nos casos onde apenas sinais discretos são observados em membros posteriores). A mielografia confirma o diagnóstico de mielopatia cervical dinâmica em animais jovens. A mieloencefalite por herpesvírus ocorre de forma aguda, com histórico de abortos ou doença respiratória na propriedade, caracterizada por fraqueza muscular, ataxia simétrica, mais exacerbada nos membros posteriores, sendo que alguns animais podem apresentar incontinência urinária. A mielopatia degenerativa equina também é um diagnóstico diferencial a ser considerado, podendo ocorrer incoordenação motora associada à diminuição do reflexo músculo cutâneo decorrentes de anormalidades medulares associadas à incorreta ingestão de vitamina E; entretanto, não são encontradas descrições desta enfermidade no Brasil (MAYHEW, 1999). Outros diagnósticos diferenciais podem ainda ser considerados, entre eles: instabilidade vertebral tipo 2 (ocorre em animais mais velhos decorrente de osteoartrite de processos articulares vertebrais cervicais); má formação atlanto-occipital (ocorre em potros da raça árabe); abscessos no canal vertebral; osteomielite vertebral; migração de parasitas no sistema nervoso central (MAYHEW, 1999).

6. TRATAMENTO

O tratamento dos eqüinos com suspeita de EPM deve ser feito o mais rápido possível depois dos sinais clínicos reconhecidos, tendo um sucesso de 70-75% (DUBEY et al., 2001). O tratamento pode ser instituído mediante a administração de antimicrobianos que atuem diretamente sobre o parasita. A terapia envolve a utilização de inibidores da enzima dihidrofolatoredutase, como sulfonamidas e pirimetamina (SILVA et al., 2003).

A dosagem recomendada de pirimetamina é de 1 mg/kg via oral uma vez ao dia, concomitante, deve se administrar sulfa na dose de 15 a 20 mg/kg, pela via oral ou intravenosa 3 vezes ao dia (THOMASSIAN, 2005). O *S. neurona* já tem mostrado resistência a pirimetamina na ausência de sulfas. (FENGER et al., 1997, MACKAY et al., 2000). A duração da terapia varia de três a seis meses, sendo determinada pela melhora dos sinais clínicos e pela ausência de anticorpos anti- *S. neurona* no LCR (SILVA et al., 2003).

A combinação de sulfadiazina e pirimetamina resulta em um bloqueio seqüencial do metabolismo do ácido fólico (DUBEY et al., 2001). O trimethoprim deve ser evitado se possível devido à toxicidade da pirimetamina, podendo ocorrer anemias e/ou leucopenia e em alguns eqüinos observamos episódios de diarréia (FENGER et al., 1997; DUBEY et al., 2001).

O uso prolongado de inibidores do ácido fólico pode provocar supressão medular, com neutropenia, anemia e trombocitopenia (HAHN et al., 1999), defeitos congênitos (DANSKY et al., 1992) ou ainda redução da performance reprodutiva de garanhões (BEDFORD & MC DONELL, 1999). Deve-se acompanhar o hemograma de todos os cavalos tratados a cada duas ou quatro semanas, e a terapia deve ser reduzida ou interrompida se ocorrer o desenvolvimento de leucopenia (HAHN et al., 1999). Em virtude dos efeitos adversos que podem ser observados na terapia prolongada com inibidores do folato, pode-se realizar suplementação dietética com ácido fólico (FENGER, 1998). Entretanto, não se deve utilizar o ácido fólico em éguas gestantes devido a possibilidade de ocorrência de defeitos teratogênicos em potros (TORIBIO et al., 1998).

Outra alternativa terapêutica seria administrar toltrazuril (10mg/kg/dia) e diclazuril (5.6mg/kg/dia) por vinte e oito a noventa dias (FENGER *et al.* 1997).

O diclazuril é um coccidiostático derivado triazínico utilizado na prevenção da coccidiose em aves (GRANSTROM *et al.*, 1997). Por apresentar atividade anti- *S. neurona* em culturas celulares (LINDSAY & DUBEY, 2000), o diclazuril vem sendo utilizado no tratamento de equinos que não demonstraram resposta à terapia tradicional ou que desenvolveram complicações (COHEN, 1998; DIRIKOLU *et al.*, 1999). Atua inibindo as últimas fases de diferenciação celular promovendo a morte do parasita (BENTZ *et al.*, 2000). Os resultados indicam que o diclazuril consegue eliminar os estágios primários do *S. neurona*, podendo ser útil na profilaxia da EPM (DUBEY *et al.* 2001). Alguns estudos da doença indicam que 70% dos animais tratados apresentaram melhora clínica seis meses após o término da terapia (BENTZ *et al.*, 2000).

O Toltrazuril é outro coccidiostático, derivado triazínico utilizado no tratamento de coccidiose em suínos (FENGER, 1998). Provoca interrupção de vias intracelulares importantes para o metabolismo energético celular, como a divisão celular (DUBEY *et al.*, 2001). Tem eficácia potencial no tratamento de EPM, pois demonstra boa absorção plasmática e no LCR (FURR & KENNEDY, 2000). Seu uso não tem demonstrado elevações na bioquímica sérica ou anormalidades hematológicas (DUBEY *et al.*, 2001).

Uma pasta oral também tem mostrado eficácia contra a EPM, seu ingrediente é o ponazuril, um anti-coccídeo que atua em vários estágios do ciclo de vida do parasita (DUBEY *et al.*, 2001; JONES., 2002). O Ponazuril é um metabólito sulfonado do toltrazuril que tem demonstrado bons resultados em ensaios clínicos. Possui atividade *in vitro* contra o *S. neurona* (LINDSAY *et al.*, 2000). Tem capacidade de atravessar a barreira hemato-encefálica, por difusão passiva, alcançando o sistema nervoso central e promovendo a morte do parasito (LECH, 2002). É o único produto liberado para uso terapêutico da EPM nos Estados Unidos e vem sendo amplamente utilizado neste país. Está disponível no Brasil apenas através de importação. A dosagem recomendada é de 5 mg/kg, via oral uma vez ao dia por 28 dias. Aproximadamente 76% dos cavalos demonstraram melhora nos sinais clínicos durante ou após o tratamento, sugerindo haver resolução da infecção ou persistência da droga no LCR (FURR *et al.*, 2001).

Outra droga utilizada no tratamento de EPM é o nitazoxanide (NTZ), pois provoca morte de culturas celulares de *S. neurona* (LINDSAY et al., 1998). Experimentos demonstram índices de melhora clínica em 63 a 86% dos cavalos tratados (VATISTAS et al., 1999; DUBEY et al., 2001). Adosagem recomendada é de 25 mg/kg, via oral uma vez ao dia nos sete dias iniciais de tratamento, aumentando-se para 50 mg/kg até completar 30 dias de terapia (MC CLURE & PALMA, 1999). A duração do tratamento varia de 28 a 120 dias e o tratamento deve ser realizado enquanto o LCR for positivo e/ou os animais estiverem demonstrando sinais clínicos (BENTZ et al., 2000; DUBEY et al., 2001).

Terapias adicionais antiinflamatórias podem ser instituídas, durante curto espaço de tempo, sobretudo quando os animais estiverem severamente afetados. Podem ser utilizados o flunixin meglumine 1,1 mg/kg, IV/IM, duas vezes ao dia ou fenilbutazona 4,4 mg/kg, via oral duas vezes ao dia. O dimetilsulfóxido (DMSO) 1 g/kg em solução a 10%, IV uma vez ao dia por até cinco dias pode melhorar temporariamente os sinais observados (MACKAY et al., 1992; KISTHARDT & LINDSAY, 1997).

Estas medicações são geralmente utilizadas após os primeiros dias de tratamento, principalmente quando são utilizadas drogas que provocam a morte do protozoário, pois isto pode acarretar, em alguns animais, uma piora do processo inflamatório no tecido nervoso, o que pode piorar os sinais clínicos. A dexametasona também pode ser utilizada (0,1 mg/ kg, IV/IM, uma vez ao dia por um a três), embora o seu uso fique restrito a pacientes que corram o risco de ficar em decúbito já que sua utilização prolongada favorece a proliferação do protozoário (HAHN et al., 1999). Outra terapia de suporte que tem sido utilizada com sucesso é o uso de levamisole e outros imunomoduladores (JONES, 2002).

Recomenda-se suplementação de vitamina E, ácido fólico e tiamina (B1) como tratamento suplementar. Porém não é recomendado seu uso em fêmeas prenhes, podendo causar deformidades congênitas. (FENGER et al., 1997; DUBEY et al., 2001). A suplementação com vitamina E (8000 UI/dia) pode ser útil no tratamento de EPM, uma vez que possui atividade antioxidante que resulta em propriedades antiinflamatórias quando em altas concentrações no sistema nervoso central (SILVA et al., 2003).

Pode se aplicar ácido fólico na dose de 20 a 40 mg/kg pela via oral, ou 75 mg como dose total, pela via intramuscular, 1 vez ao dia, a cada 3 dias (THOMASSIAN, 2005). Porém

a administração de ácido fólico tem dois problemas em potencial em eqüinos pois o ácido fólico é pobremente absorvido no trato intestinal e segundo que a conversão do folato para a forma ativa de tetrahidrofolato requer dihidrofolato redutase, a qual é inibida pelo tratamento (DUBEY *et al.*, 2001).

A sulfadiazina assim como a pirimetamina, não são aconselháveis no tratamento de fêmeas prenhas, devido ao risco de deformidades congênitas (FENGER *et al.* 1997, DUBEY *et al.* 2001).

Muitos equinos podem continuar com resultados positivos por vários meses após a morte do protozoário (FENGER *et al.* 1997). Se os sinais clínicos persistirem, a terapia deve ser reavaliada a cada trinta dias. Ainda não existe uma vacina eficiente contra a EPM (DUBEY *et al.* 2001).

Para os animais que estiverem em decúbito, deve ser fornecida cama alta, ambiente confortável e alternância do lado do decúbito, ajudando na prevenção de lesões conseqüentes ao decúbito (THOMASSIAN, 2005). A adoção de estratégias para suspensão dos animais em decúbito é uma medida válida na prevenção de danos secundários. Sempre que possível deve-se realizar fisioterapia nos animais acometidos, pois isto diminui a atrofia muscular neurogênica, melhora a propriocepção e permite uma melhor adaptação dos animais aos déficits presentes.

A probabilidade de recuperação dos animais acometidos depende do tempo de dano neuronal provocado pelo parasito, da extensão deste dano e das estruturas nervosas envolvidas. Além disso, mesmo os animais que demonstram melhoras clínicas após a intervenção terapêutica, podem apresentar sequelas devido ao não restabelecimento de vias neuronais, enquanto outros animais apresentam progressiva melhora mesmo após terminada a medicação com os antimicrobianos, pois pode ocorrer uma adaptação aos déficits remanescentes ou mesmo um restabelecimento dos circuitos neuronais de forma lenta.

Deve-se ressaltar que os percentuais de melhora descritos referem-se a melhora da sintomatologia apresentada inicialmente, sendo que esta melhora pode ser total ou parcial. A decisão de eutanásia depende da severidade dos sinais clínicos, o custo do tratamento, a função do animal e seu valor econômico (SAVILLE *et al.*, 2000).

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 doença. 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 (THOMASSIAN, 2005). Pode ocorrer recidiva se os cavalos não forem tratados por tempo suficiente ou reativação da infecção se os animais forem submetidos a estresses (MACKAY et al., 1992).

Até o momento, em equinos as estratégias de controle e tratamento eficazes para *neosporose*, não foram estudadas (DUBEY, 2001). Vários fármacos, como decoquinato, depudecina, toltrazuril, ponazuril, artemisinina e os extractos de ervas medicinais têm sido utilizados *in vitro* (cultivo celular) e *in vivo* (cobaias), porém, sem comprovação da eficácia das mesmas (KWON et al. 2003).

7. Profilaxia

Evitar o acesso dos gambás às cocheiras e estábulos, é uma importante medida a ser tomada para a prevenção de EPM (KISTHARDT & LINDSAY, 1997), uma vez que a ingestão de fezes do gambá é a principal forma de transmissão da doença. Medidas de higiene em depósitos de rações, cochos e bebedouros são fundamentais, assim como o controle de vetores de hospedeiros intermediários, podem quebrar o ciclo epidemiológico da doença (THOMASSIAN, 2005).

Devido a seus hábitos onívoros noturnos e de se alimentarem com matéria em decomposição, os gambás são atraídos por comida, seja lixo, grãos ou rações de outros animais domésticos, fazendo-se necessário o armazenamento de quaisquer fontes de alimentação em recipientes fechados. O desperdício de grãos deve ser minimizado, uma vez que estimula o consumo por parte dos gambás (FENGER, 1997).

Uma vacina produzida a partir de protozoários mortos vem sendo testada como tratamento. Sabe-se que ela não provoca efeitos colaterais nos animais, entretanto, testes de eficácia ainda estão em desenvolvimento. A recomendação para a vacina consiste em duas aplicações, sendo que a segunda dose deverá ser feita após 3 a 6 semanas da primeira dose, com reforço anual. Contudo o uso dessa vacina ainda não está liberado no Brasil, e seu uso atualmente mantém-se restrito aos Estados Unidos da América onde já foi liberado pelo F.D.A. “Food and Drug Administration”, (SILVA, et al., 2003). Porém, a melhor medida profilática é não deixar que o gambá (hospedeiro definitivo) e as aves vetores mecânicos entrem em contato com os alimentos que serão oferecidos aos equinos (COUTINHO, 2006).



Fig.7: *Didelphis virginiana* (<http://home.earthlink.net>)

8. CONCLUSÃO

O presente trabalho permite concluir que a Mieloencefalite Protozoária Equina é uma afecção que afeta o Sistema Nervoso Central dos equídeos, acarretando lesões neurológicas e grandes prejuízos econômicos. Na maioria dos casos o principal agente etiológico envolvido é o *S. neurona*. A profilaxia continua sendo o melhor método de controle desta afecção.

O conhecimento acerca dos agentes etiológicos, profilaxia, sinais clínicos, diagnóstico precoce, possíveis tratamentos, tornam-se elementos imprescindíveis na conduta do médico veterinário.

Com a descoberta de que o *Neospora caninum (hughesi)*, também causa EPM em equinos, um novo desafio surgiu quanto ao diagnóstico, tratamento e controle da doença. Sendo assim, esta patologia pode estar imergente na Europa, tanto pelas descobertas recentes como pela globalização do tráfego de equinos.

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.

ÁLVAREZ-GARCIA, G.; COLLANTES-FERNÁNDEZ E.; ORTEGA-MORA, L.M. Evaluation by different are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal of Parasitology**, v.28, p.1473-1478, 1998.

ANDERSON, M.L., Andrianarivo, A.G., Conrad, P.A. "Neosporosis in cattle" **Animal Reproduction Science**, p 60-61e p. 417-431, 2000.

ANDREWS, E.M.; MADDOX, J.M.; FAULK, D. Total protein, albumin quocient, IgG and IgG index determinations in horse cerebrospinal fluid. **Progress Veterinary Neurology**, v.1, p.197- 204, 1990.

ANDREWS, E.M.; GRANSTROM, D.E.; PROVENZA, M. Differentiation of neurologic diseases in the horse by the use of allbumin quocient and IgG index determinations. In: **Proceedings Annual Convention American Association of Equine Practitioners**, 1995. p.215.

BACCARIN, R.Y.A.; FERNANDES, W.R.; VINCENZI, R.C.; RÊGO, E.B.; SILVA, L.C. Estudo da terapia e evolução clínica da mieloencefalite protozoária eqüina. **Veterinária Notícias**, v.7, n.2, p. 79-85, 2001.

BARROS, C.S.L.; BARROS, S.S.; SANTOS, M.N.; SILVA, C.A.M.; WAIHRICH, F. Mieloencefalite eqüina por protozoário. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.6, n.2, p.45-49, 1986.

BARROS, C. S. L. **Mieloencefalopatia Eqüina por Protozoário**. In: Riet-Correa, F.et al. Doenças de Ruminantes e Eqüinos. São Paulo: Varela, p. 158-162, 2001.

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 American Veterinary Medical Association**, v.210, n.4, p.517-518, 1997.

BENTZ, B.G.; DIRIKOLU, L.; CARTER, W.G.; SAVILLE, W.; WILLIAMS, N.M.; BERNARD, W.V.; WULFF-STROBEL, C.; BAKER, C.B.; McCRILLIS, S.; REED, S.; HARKINS, J.D.; GRANSTROM, D.E.; TOBIN, T. Diaciazuril and equine protozoal myeloencephalitis (EPM): a clinical report. **Equine Veterinary Education**, v.12, n.4, p.195-200, 2000.

BOY, M.G.; GALLIGAN, D.T.; DIVERS, T.J. Protozoal encephalomyelitis in horses: 82 cases (1972-186). **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.196, p.632-634, 1990.

BRADFORD, P SMITH. **Tratado De Medicina Interna De Grandes Animais**, Vol 2. 1ª ed. São Paulo: Manole, p. 937 a 939, 1994.

CARLTON, W.W.; MCGAVIN, M.D. **Patologia Veterinária Especial de Thomsom**, 2ª Edição, Porto Alegre: Art Med , 1998.

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**, 29, 1537-1543(1999)

CICLO DE VIDA, *Sarcocystis neurona*. Disponível em: <<http://www.sarcocystis.life.cycle.jpg>>. Acessada em 23 de março de 2009.

CLARK, E.G.; TOWNSEND, H.G.G.; MCKENZIE, N.T. Equine protozoal myeloencephalitis: a report of two cases from Western Canada. **Canadian Veterinary Journal**, v.22, p.140-144, 1981.

COWEN, N.D. "What's up with diaciazuril?". Compendium on Continuing Education **Practice Veterinarian (Equine)**, v.20, p.1264-1265,1269, 1998.

COWEN, N.D.; MCKAY, R.J. Interpreting immunoblot testing of cerebrospinal fluid for equine protozoal myeloencephalitis. **Compendium on Continuing Education Practice Veterinarian (Equine)**, v.19, p.1176-1181, 1997.

COOK, A.G.; BUECHNER-MAXWELL, V.; MORROW, J.K.; WARD, D.L.; PARKER, N.A.; 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.

COOK, A.G.; MAXWELL, V.B.; DONALDSON, L.L.; PARKER, N.A.; WARD, D.L.; MORROW, J.K. Detection of antibodies against Sarcocystis neurona in cerebrospinal fluid from clinically normal neonatal foals. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.220, n.2, p.208-211, 2002.

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

DAFT, B.M.; BARR, B.C.; GARDNER, I.A.; READ, D.; 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 American Veterinary Medical Association**, v.221, n.7, p.1007-1013, 2002.

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.28, p 240-243, 1996.

DANSKY, L.V.; ROSENBLATT, D.S.; ANDERMANN, E. Mechanisms of teratogenesis: folic acid and antiepileptic therapy. **Neurology**, v.42, p.32-42, 1992.

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, 315-317, 1991.

DIRIKOLU, L.; LEHNER, F.; NATTRASS, C.; BENTZ, B.G.; WOODS, W.E.; CARTER, W.G.; KARPIESIUK, W.; JACOBS, J.; BOYLES, J.; HARKINS, J.D.; GRANSTROM, D.E.; TOBIN, T. Diclazuril in the horse: its identification and detection and preliminary pharmacokinetics. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutic**, v.22, p. 374-379. 1999.

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.

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

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

DUBEY, J.P.; DAVIS, S.W.; SPEER, C.A.; BOWMAN, D.D.; deLAHUNTA, A.;
GRANSTROM, D.E.; TOPPER, M.J.; HAMIR, A.N.; CUMMINGS, J.F.; SUTER, M.M.
Sarcocystis neurona n. sp. (Protozoa: Apicomplexa), the etiologic agent of equine protozoal
myeloencephalitis. **Journal of Parasitology**, v.77, p.212-218, 1991.

DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S. Isolation in immunodeficient mice of *Sarcocystis neurona*
from opossum (*Didelphis virginiana*) faeces, and its differentiation from *Sarcocystis*
falcatula. **International Journal of Parasitology**, v.28, p.1823- 1828, 1998.

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**
American Veterinary Medical Association, v.215, n.7, p.970-972, 1999a.

DUBEY, J.P.; VENTURINI, M.C.; VENTURINI, L.; MCKINNEY, J.; PECORARO, M.
Serologic prevalence of *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in
horses in Argentina. **Veterinary Parasitology**, v.86, p.59-62, 1999b.

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.; SAVILLE, W.J.A.; LINDSAY, D.S.; STICH, R.W.; STANEK, J.F.; SPEER,
C.A.; ROSENTHAL, B.M.; NJOKU, C.J.; KWOK, O.C.H.; SHEN, S.K.; REED, S.M.
Completion of the life cycle of *Sarcocystis neurona*. **Journal of Parasitology**, v.86, p.1276-
1280, 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, 2001.

DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S.; KERBER, C.E.; KASAI, N.; PENA, H.P.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, 2001.

EASTMAN, E., FURR, M., MCKENZIE, H., SAVILLE, W.J.A., DUBEY, J.P. "Early
diagnosis of *Sarcocystis neurona* infection using blood gene expression biomarkers"
Proceedings American Association Of Equine Practitioners, Seattle, p.105-106, 2005.

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, .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.916-919, 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.

FENGER, C.K.; GRANSTROM, D.E.; LANGEMEIER, J.L.; STAMPER, S. Epizootic of equine protozoal myeloencephalitis on a farm. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.210, n.7, p.923-927, 1997.

FENGER, C.K. Equine protozoal myeloencephalitis. **Compendium on Continuing Education Practice Veterinarian (Equine)**, v.19, n.4, p.513-523, 1997.

FENGER, C.K. Equine protozoal myeloencephalitis. In: ROBINSON, N.R. **Current therapy in equine medicine**, v.4, Philadelphia: W.B. Saunders Company, p.329-332, 1997.

FENGER, C.K. Treatment of equine protozoal myeloencephalitis. **Compendium on Continuing Education Practice Veterinarian (Equine)**, v.20, n.10, p.1154-1157, 1998.

FURR, M.; KENEDDY, T. Cerebrospinal fluid and blood concentrations of toltrazuril 5% suspension in the horse after oral dosing. **Veterinary Therapeutics**, v.1, p.125-132, 2000.

FURR, M.; KENEDDY, T.; MACKAY, R., REED, S., ANDREWS, F., BERNARD. B., BAIN, F., BYARS, D. Efficacy of Ponazuril 15% oral paste as a treatment for equine protozoan myeloencephalitis. **Veterinary Therapeutics**, v. 2, p.215-222, 2001.

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.

GONDIM, L.F.P. *Neospora caninum* in wildlife. **Trends in Parasitology**, v.22, n.6, p.247-252, 2006.

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.

GRANSTROM, D.E.; GILES, R.C.; TUTTLE, P.A.; WILLIAMS, N.M.; POONACHA, K.B.; PETRITESMURPHY, M.B.; TRAMONTIN, R.R.; SWERCZEK, T.W.; HONG, C.B.; REZABEK, G.B.; LYONS, E.T.; DRUDGE, J.H. Immunohistochemical diagnosis of protozoan parasites in lesions of equine protozoal myeloencephalitis. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.3, p.75-77, 1991.

GRANSTROM, D.E.; ALVAREZ JR, 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, n.5, p.909-912, 1992.

GRANSTROM, D.E.; DUBEY, J.P.; DAVIS, S.W.; FAYER, R.; FOX, J.C.; POONACHA, K.B.; GILES, R.C.; COMER, P.F. Equine protozoal myeloencephalitis: antigen analysis of cultured *Sarcocystis neurona* merozoites. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.5, p.88- 90, 1993.

GRANSTROM, D.E.; REED, S.M. Equine protozoal myeloencephalitis. **Equine Practice**, v.16, p.23-26, 1994.

GRANSTROM, D.E.; MacPHERSON, J.M.; GAJADHAR, A.A.; DUBEY, J.P.; TRAMONTIN, R.R.; STAMPER, S. Differentiation of *Sarcocystis neurona* from eight related coccidia by random amplified polymorphic DNA assay. **Molecular and Cellular Probes**, v.8, p.353- 356, 1994.

GRANSTROM, D.E. Recent advances in the laboratory diagnosis of equine parasitic diseases. *Veterinary Clinics of North America – Equine Practice*, v.11, n.5, p.437- 442, 1995.

GRANSTROM, D.E.; McCRILLIS, S.; WULFFSTROBEL, C.; BAKER, C.B.; CARTER, W.; HARKINS, J.D.; TOBIN, T.; SAVILLE, W.J. Diclazuril and equine protozoal myeloencephalitis. In: **Proceedings Annual Convention American Association of Equine Practitioners**, p.13-14, 1997.

GRANSTROM, D.E.; SAVILLE, W.J. Equine protozoal myeloencephalitis. In: REED, S.M.; BAYLY, W.M. **Equine internal medicine**, 1st ed., Philadelphia: W.B. Saunders Company, p.486-491, 1998.

HAHN, C.N.; MAYHEW, I.G.; MACKAY, R.J. Diseases of multiple or unknown sites. In: COLAHAN, P.T.; MERRITT, A.M.; MOORE, J.N.; MAYHEW, I.G. **Equine medicine and surgery**, 5th ed., v.I, St. Louis: Mosby, p.895-898, 1999.

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.

IMAGEM, *Didelphis virginiana*. Disponível em: <<http://home.earthlink.net>>. Acessada em 15 de abril de 2009.

IMAGEM, **Equino girando em círculos, apresentando incoordenação motora**. Disponível em: <<http://www.vetmed.ucdavis.edu/ceh/images>>. Acessada em 15 de abril de 2009.

IMAGEM, **Equino com atrofia dos músculos quadríceps e Glúteo**. Disponível em: <<http://www.vetmed.ucdavis.edu/ceh/images.ht>>. Acessada em 23 de março de 2009.

IMAGEM, **Áreas com ocorrência de EPM**. Disponível em: <<http://www.bayerequineconnection.com/images/epm2.jpg>>. Acessada em 23 de março de 2009.

IMAGEM, Didelphis virginiana. Disponível em: <<http://images.google.com.br/images/imag>>. Acessada em 23 de março de 2009.

IMAGEM, Didelphis albiventris. Disponível em: <<http://farm4.static.flickr.com>>. Acessada em 23 de março de 2009.

JONES E WILLIAN. EPM update. **Journal of equine veterinary science**, p 528 – 534, 2002.

KISTHARDT, K. K., LINDSAY, D.S. “Equine protozoal myeloencephalitis” **Equine Practice**, v. 19, p. 8-13, 1997.

KWON, H.J., KOBAYASHI, Y.; KOUDELA, B.; MARSH, A.E.; MATTSSON, J.G.; MCALLISTER, M.M.; MODRY, D.; KIM, J.H.; KIM, M., LEE, J.K., HWANG, W.S., KIM, D.Y. “Anti-parasitic activity of depudecin on *Neospora caninum* via the inhibition of histone deacetylase” **Veterinary Parasitology**, v.112, p. 269-276, 2003.

LECH, P. Pharm profile. Ponazuril. **Compendium on Continuing Education Practice Veterinarian (Equine)**, v.24, n.6, p.484-485, 2002.

LINDSAY D.S., MITCHELL S.M., YANG,J., DUBEY J.P., GOGALJR, R.M., WITONSKY, S.G. “Penetration of equine leukocytes by merozoites of *Sarcocystis neurona*” **Veterinary Parasitology**, v.138, p 371-376, 2006.

LINDSAY, D. S., STEINBERG, H., DUBIELZIG, R. R., SEMRAD, S. D., KONKLE, D. M., MILLER, P. E., BLAGBURN, B. L. “Central nervous system neosporosis in a foal” **Journal 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.

LINDSAY, D.S., STEINBERG, H., DUBIELZIG, R.R., SEMRAD, S.D., KONKLE, D.M., MILLER, P.E., LOCATELLI-DITTRICH, R. *et al* 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.

LINDSAY, D.S.; BLAGBURN, B.L. Antiprotozoan drugs. In: ADAMS, H.R. **Veterinary pharmacology and therapeutics**, 7th ed., Iowa State University: Ames, p.955- 983, 1995.

LINDSAY, D.S.; ZHANG, Y.; DUBEY, J.P.; PALMA, K. Determination of the activity of ponazuril against *Sarcocystis neurona* in cell cultures. In: **Proceedings Annual Meeting American Association of Veterinary Parasitology**, Baltimore, p.44. 1998,

LINDSAY, D.D., DUBEY, J.P., HORTON, K.M., BOWMAN, D.D. Development of *Sarcocystis falcatula* in cell cultures demonstrated that it is different from *Sarcocystis neurona*. **Parasitology**, v. 118, p. 227-233, 1999.

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.; 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.

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.

LOCATELLI – DITTRICH; D.S. HOFMANN, **Neosporose equine**, 2006. Disponível em:< <http://en.scientificcommons.org/20778927>> Acesso em 24 de março de 2009.

LOPEZ DE ALDA, J.; DUBEY, J.P. *sarcocystis neurona*- associated ataxia in horses in Brasil. **Veterinary Parasitology**, v.44,p. 311-314, 1992.

LUVIZOTTO, M.C.R.; BORGES, A.S.; MENDES, L.C.N.; PEIRÓ, J.R. Encefalomielopatia protozoaria equina. In: **Resumos 10ª ENAPAVE**, p.79, 2001.

MACKAY, R. **Mieloencefalopatia Protozoária Equina**. In: Allen, D. G. et al. Manual Merck de Veterinária. 8 ed. São Paulo: Editora Roca, 2001, p. 771e 772.

MACKAY, R. J. et al. Equine protozoal myeloencephalitis. **Veterinary Clinics of North America**, 3, v 16, p. 405-425, 2000.

MACKAY, R.J. Equine protozoal myeloencephalitis. **Veterinary Clinics of North America – Equine Practice**, v.13, p.79-86, 1997.

MACKAY, R.J.; DAVIS, S.W.; DUBEY, J.P. Equine protozoal myeloencephalitis. **Compendium on Continuing Education Practice Veterinary**, v.14, n.10, p.1359-1367, 1992.

MAIORKA, P.C.; FILHO, J.T.; TORRES, L.N. Surto de mieloencefalopatia equina por protozoário no estado de São Paulo. In: **Resumos 9ª ENAVEPE**, Belo Horizonte, p.68, 1999.

MANSFIELD, L.S.; ROSSANO, M.G.; KANEENE, J.B.; MURPHY, A.J.; BROWN, C.M.; SCHOTT II, H.C.; FOX, J.C. Improvement of Western Blot specificity for detecting equine serum antibodies to *Sarcocystis neurona*. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.12, p.28-32, 2000.

MANSFIELD, L. S. et al. Comparison of *Sarcocystis neurona* isolates derived from horse neural tissue. **Veterinary Parasitology**, 95, p 167-178, 2001 MASRI, M.D.;

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.; BARR, B.C.; MADIGAN, J.; LAKRITZ, J.; NORDHAUSEN, R.; CONRAD, P.A. Neosporosis as a cause of equine protozoal myeloencephalitis. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.209, p.1907-1913, 1996.

MARSH, A.E.; DENVER, M.; HILL, F.I.; McELHANEY, M.R.; TRUPKIEWICZ, J.G.; STEWART, J.; TELL, L. Detection of *Sarcocystis neurona* in the brain of a Grant's zebra (*Equus burchelli bohmi*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v.31, p.82-86, 2000.

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.

MAYHEW, I.G.; deLAHUNTA, A.; WITHLOCK, R.H.; POLLOCK, R.V.H. Equine protozoal myeloencephalitis. In: **Proceedings Convention Annual American Association of Equine Practitioners**, 1976, p.107-114.

MAYHEW, I.G.; deLAHUNTA, A.; WITHLOCK, R.H.; KROOK, L.; TASKER, J.B. Spinal Cord Disease in the horse. **Cornell Veterinarian**, v.68, supl.6, p.148-160, 1978.

MAYHEW, I.G.; GREINER, E.C. Protozoal diseases. **Veterinary Clinics of North America – Equine Practice**, v.2, p.439-459, 1986.

MAYHEW, I. G. The diseased spinal cord. In: **Proceedings Annual Convention American Association of Equine Practitioners**, New Mexico, p.67-84, 1999.

McCLURE, S.R.; PALMA, K.G. 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.

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 *Sarcocystis neurona* and on albumin quotient and immunoglobulin G index in horses. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.215, p.67-71, 1999.

MORLEY, P.S.; SAVILLE, W.J. Equine protozoal myeloencephalitis: What does a positive test mean? In: **Proceedings Annual Convention American Association of Equine Practitioners**, 1998, p.1-5.

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.

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.

PEIXOTO, A. P. C., KUCHEMUCK, M. R. G., GONÇALVES, R. C., CHIACHIO, S. B., KOHAYAGAWA, A., CASTRO, A.A.P. Mieloencefalite protozoária eqüina - relato de caso In: Seminário Brasileiro de Parasitologia, 1999, Salvador. Anais... **Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária**, p. 238, 1999.

PEIXOTO, A. P. C. et al. Mieloencefalopatia Protozoária Eqüina. **Rev. Bras. Saúde Prod. Anual.**, v. 4, n.1 p.30-34, 2003.

RADOSTITS, M.; GAY, C., BLOOD, C.; HINCHCLIFF, W.: **Clinica Veterinária: Um Tratado de Doenças dos Bovinos, Ovinos, Suínos, Caprinos e Eqüinos**, 9ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.1187-1189, 2002.

REED, M.; BAYLY, M.: **Medicina Interna Eqüina**, 1ª ed.. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000, p. 419.

RICKARD, L. G. et al., Risk factors associated with the presence of *Sarcocystis neurona* sporocysts in opossums. **Veterinary Parasitology**, 102, p. 179 – 184, 2002.

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.

SAVILLE, W.J.; 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 American Veterinary Medical Association**, v.210, n.4, p.519-524, 1997.

SAVILLE, W.J.; REED, S.M.; MORLEY, P.S. Examination of risk factors for equine protozoal myeloencephalitis. In: **Proceedings Annual Convention American Association of Equine Practitioners**, New Mexico, 1999, p.48-49.

SAVILLE, W.J.; MORLEY, P.S.; REED, S.M.; GRANSTROM, D.E., KOHN, S.M.; HINCHCLIFF, C.W.; WITTUM, T.E. Evaluation of risk factors associated with clinical improvement and survival of horses with equine protozoal myeloencephalitis. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.217, p.1181- 1185, 2000.

SAVILLE, W.J.; MORLEY, P.S.; REED, S.M.; GRANSTROM, D.E., KOHN, S.M.; HINCHCLIFF, C.W.; WITTUM, T.E. Analysis of risk factors for the development of equine protozoal myeloencephalitis in horses. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.217, p.1174-1180, 2000.

SAVILLE, W. J. A. et al. Utilization of stress in the development of an equine model for equine protozoal myeloencephalitis. **Veterinary Parasitology**, 95, p 211-222, 2001.

SILVA, D.P.G.; BORGES, A.S.; AMORIN, R.M.; GRAFKUCHENBUCK, M.R.; GONÇALVES, R.C.; CHIACCHIO, S.B.: **Mieloencefalite protozoária eqüina: Revisão de Literatura: Revista Cfmv-Brasilia/Df-Ano IX-Nº 28 E 29 Janeiro A Agosto De 2003.**

SIMPSON, C.F.; MAYHEW, I.G. Evidence for *sarcocystis* as the etiologic agent of equine protozoal myeloencephalitis. **Journal of Protozoology**, v.27, p.288-292, 1980.

THOMASSIAN, A.: **Enfermidades Dos Cavalos**, 4ª ed. São Paulo:Varela, p. 473 a 474, 2005.

TILLOTSON, K.; McCLURE, P.M.; GRANSTROM, D.E.; DARGATZ, D.A.; SMITH, M.O.; TRAUBDARGATZ, J.L. Seroprevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona* in horses residing in northern Colorado. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.10, p.122-126, 1999.

TORIBIO, R.E.; BAIN, F.T.; MRAD, D.R.; MESSER, N.T.; SELLERS, R.S.; HINCHCLIFF, K.W. Congenital defects in newborn foals of mares treated for equine protozoal myeloencephalitis during pregnancy. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.212, n.5, p.697- 701, 1998.

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.

VASCONCELLOS, L.A.S. **Problemas Neurológicos na Clínica Eqüina**, 1ª Edição Editora Varela, São Paulo, 1995. p. 33 a 36.

VATISTAS, N.; FENGER, C.K.; PALMA, K.; SIFFERMAN, R. Initial experiences with the use of nitazoxanide in the treatment of equine protozoal myeloencephalitis in northern California. **Equine Practice**, v.21, n.5, p.18-21, 1999.

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.

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.

YAMANE, T et al. **Research on a method of diagnosing equine protozoal
myeloencephalitis. Infection Diseases**, p 61, 2001.