

MIELOENCEFALITE PROTOZOÁRIA EQUINA

Ulisses Jorge Pereira Stelmann¹
Rogério Martins Amorim²

RESUMO

Dentre as enfermidades neurológicas que acometem os equinos, a mieloencefalite protozoária equina (EPM) encontra-se em posição de destaque. Levando em consideração a importância da EPM no contexto das doenças neurológicas, esta revisão aborda entre outros, os aspectos epidemiológicos, clínicos, diagnósticos e terapêuticos da EPM, causadas tanto pelo *Sarcocystis neurona* quanto pelo *Neospora caninum* e *Neospora hughesi*, cujo objetivo é contribuir para a atualização dos profissionais envolvidos na área de clínica médica de equinos.

Palavras-chave: Mieloencefalite protozoária equina, *Sarcocystis neurona*, *Neospora caninum*, *Neospora hughesi*.

EQUINE PROTOZOAL MYELOENCEPHALITIS

ABSTRACT

Among the neurological disorders that affect the horses, the equine protozoal myeloencephalitis (EPM) is the most important. Considering the importance of EPM in the context of neurological diseases, this review covers among others, the epidemiological, clinical, diagnoses and treatment of EPM, caused by *Sarcocystis neurona* as by *Neospora caninum* and *Neospora hughesi* and this study aims at contributing for the update of the veterinarians involved with equine internal medicine.

Key words: Equine protozoal myeloencephalitis, *Sarcocystis neurona*, *Neospora caninum*, *Neospora hughesi*.

MIELOENCEFALITIS PROTOZOARIA EQUINA

RESUMEN

Entre las enfermedades neurológicas que afectan a los caballos, mieloencefalitis protozoaria equina (EPM) se encuentra en una posición de preeminencia. Teniendo en cuenta la importancia de la EPM en el contexto de las enfermedades neurológicas, esta revisión se centra, entre otros, los aspectos epidemiológicos, clínicos, diagnósticos y aspectos terapéuticos de EPM, causadas por *Sarcocystis neurona* así como *Neospora caninum* y *Neospora hughesi*, cuyo objetivo es ayudar a la actualización de profesionales involucrados en la clínica médica para caballos.

Palabras-clave: Mieloencefalitis protozoaria equina, *Sarcocystis neurona*, *Neospora caninum*, *Neospora hughesi*.

¹ Mestrando do Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária. Departamento de Clínica Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade Estadual Paulista (UNESP). Distrito de Rubião Júnior, S/N - CEP: 18.618-000. Botucatu, SP. Fone: (14) 3811-6280 - Fax: (14) 3811-6067. Bolsista "CNPq-Brasil". E-mail: ulissesstelmann@hotmail.com. **Autor para correspondência.**

² Prof. Ass. Dr. do Depto de Clínica Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP. E-mail: rmamorim@fmvz.unesp.br

INTRODUÇÃO

Dentre as enfermidades neurológicas que acometem os equinos, a mieloencefalite protozoária equina (EPM) encontra-se em posição de destaque. A EPM é causada pelos protozoários *Sarcocystis neurona*, *Neospora caninum* e *Neospora hughesi*, sendo a doença neurológica, causada pelo *Sarcocystis neurona*, uma das mais comumente diagnosticadas em cavalos da América do Norte e provavelmente do Brasil.

Levando em consideração a importância da EPM no contexto das doenças neurológicas em equinos, a alta prevalência de animais soropositivos no país e o fato de que, no Brasil, o *Neospora* spp. ainda não é incluído no diagnóstico desta enfermidade, esta revisão aborda entre outros, os aspectos epidemiológicos, clínicos, diagnósticos e terapêuticos da EPM, causadas tanto pelo *Sarcocystis neurona* quanto pelo *Neospora caninum* e *Neospora hughesi*, cujo objetivo é contribuir para a atualização dos profissionais envolvidos na área de clínica médica de equinos.

REVISÃO DE LITERATURA

HISTÓRICO

- *Sarcocystis neurona*

Em 1970, Rooney et al. (1) descreveram pela primeira vez, baseado em 52 casos de doença neurológica em equinos, uma síndrome inicialmente nomeada “Mielite segmentar”. O protozoário foi descrito, pela primeira vez, em 1974 por Cushick et al. (2) que o identificaram como sendo o *Toxoplasma gondii*. No mesmo ano, Beech (1974) (3) denominou a enfermidade de “Encefalomielite Protozoária Equina”. Porém, a denominação foi modificada para “Mieloencefalite Protozoária Equina” (EPM) por Mayhew et al. (4). Concluiu-se por Dubey et al. (5), que o parasita era provavelmente uma espécie de *Sarcocystis*, assim a espécie *Sarcocystis neurona* foi proposta para o agente causador da EPM. No mesmo ano, Davis et al. (6) isolaram, a partir do cultivo em células monocíticas de bovinos, o *S. neurona* de dois cavalos da Califórnia, confirmando este como o agente etiológico da enfermidade.

- *Neospora* spp.

Em 1990, Dubey & Porterfield (7) relataram o primeiro caso de neosporose em um feto equino abortado em 1985. A partir de então, surgiram outros relatos de neosporose em fetos prematuros, animais recém nascidos e em animais adultos. Em 1996, Lindsay et al. (8) descreveram neosporose neonatal em um potro que manifestava sinais neurológicos e problemas visuais desde o nascimento. No exame necroscópico não foram observadas alterações macroscópicas, porém, um cisto de *N.caninum* ao redor da musculatura ocular durante o exame microscópico foi encontrado. Este achado representa, o primeiro relato de cisto tecidual do parasita fora do sistema nervoso central (SNC).

No mesmo ano, Gray et al. (9) relataram em uma égua com 10 anos de idade o primeiro caso de neosporose visceral. As lesões estavam restritas aos linfonodos mesentéricos e intestino delgado, onde se observou a presença de taquizoítos, enquanto Daft et al. (10) diagnosticaram neosporose em uma égua com 19 anos de idade que apresentava como sinais clínicos, alteração de comportamento, paresia de membros pélvicos e disfagia. As lesões se localizavam no SNC, nervos periféricos e miocárdio. Taquizoítos de *N.caninum* e cistos

teciduais foram visualizados por imunistoquímica (IHQ) no cérebro, medula espinhal e nervos periféricos. Marsh et al. (11) isolaram em cultivo celular de cérebro e medula, organismos de *N. caninum* em um equino com sinais neurológicos e em 1998 (12), isolaram um protozoário com características diferentes do *N. caninum* de tecido do SNC de um equino da Califórnia.

Com base na 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 mieloencefalites em equídeos (13).

EPIDEMIOLOGIA

- *Sarcocystis neurona*

Estudos sorológicos revelam, de acordo com a região geográfica, graus variáveis de exposição dos equinos ao *S. neurona* (14,15,16,17). A sorologia determinou exposição em 35,6% e 35,5% dos animais estudados na América do Sul, respectivamente, no Brasil e Argentina (18,19). Apesar do grande número de equinos soropositivos, apenas a minoria desenvolve sinais clínicos da doença (20,21). Além disso, alguns cavalos portadores do *S. neurona* são capazes de eliminar o parasita sem necessitar de tratamento (22,23).

Nas Américas numerosos casos de EPM são relatados (22,24,25,26). Casos de EPM na Europa também foram descritos em equinos, todos importados do Continente Americano (27,28,29). Outros equídeos podem ser infectados pelo *S. neurona*, porém apenas dois relatos de doença clínica foram descritos acometendo um pônei e uma zebra (30,31). A baixa ocorrência de casos em outras espécies de equídeos sugere que existem diferenças quanto à resistência pela infecção por *S. neurona* (32).

O maior percentual dos casos de EPM ocorre em cavalos com até quatro anos de idade ou menos (32) e parece não existir predileção aparente por raça, apesar dos cavalos das raças Thoroughbreds, Standardbreds e Quarto de Milha apresentarem os maiores percentuais dos casos quando comparadas as demais raças (33). Não há preferência quanto ao sexo (15).

Os principais fatores de risco associados à EPM estão relacionados com a idade, proximidade geográfica com áreas de ocorrência do hospedeiro definitivo, estresse, intensidade de exercício e fatores sazonais (34,35). Na América do Norte, o efeito da sazonalidade pode ser observado durante o inverno, quando o número de animais soropositivos diminui em função da redução de esporocistos viáveis no ambiente (23).

- *Neospora spp.*

O diagnóstico dos animais infectados por *Neospora sp.* é a chave para o entendimento da epidemiologia da neosporose (36). Foi demonstrado recentemente na América do Norte, o ciclo de *N. caninum* entre animais domésticos e silvestres com a confirmação da transmissão do parasita entre cervídeos e cães, assim como entre coiotes e bezerros. Com isso, a participação da fauna silvestre no ciclo de transmissão de *N. caninum* determina maiores desafios para o controle da neosporose (37).

Na América do Sul, o *N. hughesi* ainda não foi isolado, e na maioria dos estudos de soroprevalência e de diagnóstico sorológico estão sendo utilizados os taquizoítos de *N. caninum* como antígeno, não sendo possível, portanto, a diferenciação da espécie de *Neospora* que está infectando os equinos, devido à existência de reação cruzada (38,39).

As doenças neurológicas causadas por *N. hughesi* foram diagnosticadas em cavalos adultos, nos Estados Unidos (40). Até o momento não se conhece a razão para os diagnósticos de encefalite em equinos adultos ocorrer somente nos Estados Unidos (41). No entanto, foi realizado um estudo em equinos de diversos estados brasileiros, sob diferentes condições de manejo, no qual foi verificado a presença de anticorpos anti-NhSAG1 de *N. hughesi*, onde observou-se a ocorrência de 2,5% (24/961), resultado semelhante aquele encontrado nos EUA, que foi de 3,4 % num total de 1917 equinos estudados. Até o presente momento, os trabalhos de soroprevalência indicam que os equinos da América do Norte e do Sul são pouco infectados por *Neospora* spp. (42). Sendo assim, mais informações são necessárias para se esclarecer o papel do *N. caninum* e *N. hughesi* na epidemiologia dessa infecção em equinos.

Contudo, outros estudos demonstraram a presença de anticorpos anti-*Neospora* sp. em equinos da Suécia, Itália e Coréia do Sul, encontrando 1%, 28% e 2% de soroprevalência, respectivamente (39).

Os aspectos relacionados aos fatores de risco à neosporose equina precisam ser elucidados (39).

CICLO DE VIDA

- *Sarcocystis neurona*

O *S. neurona* é um coccídeo do filo Apicomplexa, pertencente à família Sarcocystidae, possuindo como hospedeiro definitivo as espécies de gambá, *Didelphis virginiana* e *Didelphis albiventris*, na América do Norte e do Sul respectivamente e uma variedade de outros mamíferos como hospedeiros intermediários (32,43,44). 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 se rompem e liberam esporozoítos infectantes. Estes por sua vez, penetram na mucosa intestinal, sendo disseminados pelo sistema vascular. Eles se desenvolvem intracelularmente nas várias células endoteliais dos capilares e em outros pequenos vasos. Os esporozoítos se tornam multinucleados, transformando-se em esquizontes, os quais produzem numerosos merozoítos. A célula hospedeira se rompe, liberando merozoítos no sistema vascular (45).

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 (cisto muscular) que contém 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 desenvolvem-se os estágios sexuais, machos (microgametas) e fêmeas (macrogametas). 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 (45).

Considerando o fato de que não foram encontrados sarcocistos de *S. neurona* na musculatura dos cavalos e excluindo-se a possibilidade da transmissão desse parasita para o hospedeiro definitivo a partir da ingestão da musculatura desses animais, os equinos são considerados hospedeiros aberrantes terminais (46). No entanto, Mullaney et al. (47) 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 espinhal de cavalos com EPM, formas imaturas do parasita.

- *Neospora spp.*

Os protozoários do gênero *Neospora* também pertencem ao filo Apicomplexa e família Sarcocystidae, assim como o *S. neurona*. No gênero *Neospora* duas espécies são conhecidas, *Neospora caninum* e *Neospora hughesi*.

Os estágios do ciclo de vida do *N. caninum* são taquizoítos, cistos contendo bradizoítos e oocistos (48).

As formas identificadas do ciclo de vida de *N. hughesi* são taquizoítos e cistos teciduais com bradizoítos. Não foram até o 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 (12,32,39).

Os hospedeiros definitivos, quando ingerem os cistos de *N. caninum*, eliminam os oocistos não esporulados nas fezes. No meio ambiente ocorre a esporulação, formando-se dois esporocistos, cada qual com quatro esporozoítos. 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 (37). O hospedeiro definitivo do *N. hughesi* ainda é desconhecido, permanecendo incerta a forma de exposição dos cavalos a este parasita e se há outros hospedeiros intermediários (42).

PATOGÊNESE

- *Sarcocystis neurona*

Os esquizontes do *S. neurona* e os merozoítos são encontrados em neurônios, células mononucleares, células da glia e talvez em outras células neurais (32). Os esquizontes penetram nas células do SNC, como neurônios, células da glia e macrófagos intra-tecais, 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 déficits proprioceptivos (49).

Estudos com genes e interferon gama em ratos geneticamente modificados, alimentados com esporocistos de *S. neurona*, indicam que o parasita inicialmente se multiplica numa extensão limitada de tecidos viscerais, sendo depois transportados para o SNC no interior dos leucócitos, escapando assim da ação dos anticorpos (50). 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. Por exemplo, o envolvimento do cérebro pode causar depressão, alterações comportamentais e convulsões. Lesões no tronco encefálico e na medula espinhal podem causar alterações locomotoras, incoordenação causada pelo envolvimento dos tratos ascendentes e descendentes, e uma variedade de sinais clínicos atribuídos ao dano causado nos núcleos dos nervos cranianos (51).

- *Neospora spp.*

Os cistos teciduais de *N. hughesi* são normalmente encontrados no SNC e retina, e ocasionalmente nos nervos periféricos e músculos oculares de cavalos. Em um potro infectado congenitamente observou-se também cistos teciduais de *Neospora sp.* no tálamo e hipotálamo (8). Nos poucos estudos com *N. hughesi*, os taquizoítos foram observados

principalmente no cérebro e medula espinhal de animais infectados, enquanto que os bradizoítos localizam-se em grande número dentro do cisto tecidual (32,39).

O tamanho e a espessura da parede dos cistos são características que podem distinguir os parasitas *N. caninum* e *N. hughesi* (12). Provavelmente, com o início da resposta imune do hospedeiro e a presença de outros fatores fisiológicos, os taquizoítos entram nas células e se diferenciam em bradizoítos, estabelecendo a infecção pela presença dos cistos. Os bradizoítos 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 bezerros, e nos nervos periféricos e músculo ocular de cavalos. Os cistos podem persistir no hospedeiro infectado por vários anos, sem causar nenhuma manifestação clínica (8,10).

Entretanto, em *N. caninum* são observados taquizoítos e cistos contendo bradizoítos e oocistos (48). Em equinos infectados, os taquizoítos de *Neospora caninum* foram encontrados em diversos tecidos, entre eles, intestino delgado, cérebro, medula espinhal, nervos periféricos e fetos abortados (8). Dubey et al. (32) observaram taquizoítos de *N. hughesi* nas células musculares cardíacas, cérebro, medula espinhal, macrófagos, eosinófilos, neutrófilos, e, ocasionalmente, linfócitos. Não foram observados em fibroblastos, células musculares, células endoteliais e lúmen de vasos sanguíneos.

Os mecanismos de infecção do *N. caninum* são a transmissão vertical ou infecção congênita e a transmissão horizontal ou infecção pós-natal, com a ingestão de oocistos esporulados. A transmissão horizontal ocorre nos hospedeiros intermediários após a ingestão de oocistos esporulados, e a transmissão vertical pela invasão do parasita nas células uterinas. Porém, nos equinos, a patogênese do aborto não está elucidada (52).

SINAIS CLÍNICOS

- *Sarcocystis neurona*

A evolução dos sinais clínicos varia de aguda a crônica, com aparecimento insidioso de sinais focais ou multifocais de doença neurológica envolvendo o cérebro, tronco encefálico ou medula espinhal (32). Os equinos acometidos normalmente apresentam progressão gradual na gravidade e abrangência dos sinais clínicos, incluindo ataxia. Contudo, em alguns casos, o aparecimento gradual pode dar lugar a uma exarcebação súbita na severidade da doença clínica, resultando em decúbito (53).

Os sinais clínicos variam em função da capacidade do parasita em infectar aleatoriamente as substâncias branca e cinzenta em múltiplos locais no SNC. Por este fato, os primeiros sinais da doença podem ser facilmente confundidos com uma claudicação de origem musculoesquelética. Diversos segmentos da medula espinhal e/ou do encéfalo podem estar envolvidos simultaneamente, tornando a localização das lesões um desafio (33).

Entre os sinais do comprometimento da substância cinzenta pode-se destacar atrofia muscular focal e fraqueza muscular; os danos causados à substância branca frequentemente resultam em ataxia e paresia dos membros. Os sinais característicos de envolvimento do cérebro e tronco encefálico incluem depressão, desvio de cabeça, paralisia facial e dificuldades de deglutição. Entretanto, estes sinais não se limitam apenas a estas áreas. As anormalidades no padrão da marcha são normalmente resultado de lesões na medula espinhal e variam em gravidade conforme a localização e extensão da lesão tecidual (53).

De forma geral, os sinais vitais nos equinos acometidos, se mantêm dentro dos padrões de normalidade e os animais permanecem alerta e responsivos. Apesar de incomum, alguns animais com EPM podem apresentar depressão e também perda de peso. O exame neurológico normalmente revela ataxia assimétrica, fraqueza e espasticidade envolvendo os

quatro membros. Áreas de hiporeflexia, hipoalgesia ou completa perda sensorial estão frequentemente presentes (53).

- *Neospora spp.*

Os sinais clínicos de neosporose em equinos são cegueira, paralisia dos membros pélvicos, comportamento bizarro, dificuldade de mastigação, incoordenação, ataxia, doenças viscerais, doença neonatal, aborto e perda de peso (10,54).

Existem relatos que indicam que o *N. caninum* pode estar relacionado à mieloencefalite em equinos, sendo incerto até o momento se é causa frequente ou rara de EPM. Contudo, o *N. caninum* é frequentemente associado a distúrbios reprodutivos (55). O *Neospora hughesi*, por outro lado, é comumente associado a distúrbios neurológicos e não a problemas da esfera reprodutiva (41). Nos equinos infectados com *N. hughesi* os sinais clínicos observados são ataxia dos membros pélvicos e, ocasionalmente, dos quatro membros e dificuldade de deambulação acentuada quando o animal caminha com a cabeça ereta ou em círculos (32,40).

Não existem estudos que avaliem a possibilidade de cavalos soropositivos para *Neospora spp.* e clinicamente sadios, desenvolverem a doença. Dentro deste contexto, a possibilidade de uma infecção subclínica por *Neospora spp.* também deve ser considerada (39).

DIAGNÓSTICO

- *Sarcocystis neurona*

O diagnóstico da EPM deve ser baseado na história, nos sinais clínicos, localização anatômica da lesão, métodos de imunodiagnóstico, resposta a terapia, na evolução do caso clínico e exclusão de outras enfermidades (53).

- *Análises sanguíneas e do líquido cefalorraquidiano (LCR)*

A EPM não causa alterações significativas no hemograma ou na bioquímica sérica, porém estes exames podem auxiliar na exclusão de outros diagnósticos diferenciais. A análise físico-química do LCR é muito importante na diferenciação de doenças neurológicas infecciosas e não infecciosas. A contaminação do LCR com sangue durante a coleta deve ser avaliada, visto que isto pode levar a resultados falso-positivos no “Western blot” devido ao grande número de animais soropositivos para doença sem manifestação de sinais clínicos. Portanto, apesar da EPM raramente produzir alterações no LCR, esta análise é de grande importância na avaliação da contaminação da amostra por sangue (56).

- *Quociente de albumina (QA)*

A proporção de albumina no LCR e no soro pode ser útil para avaliar uma amostra qualitativa de LCR. A albumina é uma proteína abundante no soro, mas não é produzida no LCR. A presença de albumina no LCR ocorre devido ao escape da proteína da circulação geral. A concentração total de albumina no LCR e o QA podem ser comparados, para avaliar a integridade da barreira hematoencefálica. Existem parâmetros normais do QA encontrados no LCR de cavalos, com isso, se a concentração total de albumina no LCR e/ou o QA estão elevados, é sinal de aumento da permeabilidade da barreira hematoencefálica ou contaminação sanguínea acidental da amostra (32).

- Immunoblot (Western blot)

O teste Immunoblot detecta a presença de anticorpos específicos para *S. neurona* no soro ou no LCR (53), não apresentando reação cruzada com outros tipos de protozoários. A especificidade e a sensibilidade do Immunoblot são de aproximadamente 89% (32).

- 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 pela escassez de DNA no mesmo (11,44).

- Imunoistoquímica (IHQ)

Os testes imunoistoquímicos podem distinguir o *S. neurona* de outros parasitos (44).

- Biomarcadores genéticos

Em 2005, Eastman et al. (57) 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 estágios agudos da doença, sendo que nos casos crônicos, os resultados não foram estudados. Estes biomarcadores podem trazer informações a respeito do estágio da doença e prognóstico antes dos sinais clínicos se tornarem evidentes. Os autores do referido estudo não especificaram quais foram os biomarcadores identificados.

- Neospora spp.

Os estudos e os respectivos exames de diagnóstico em cavalos infectados por *Neospora* spp. são escassos, além disso, o título para *N. hughesi* no LCR ainda deve ser estabelecido.

O diagnóstico clínico da enfermidade é dificultado pelos sinais inespecíficos da neosporose. Devido a este fato, o diagnóstico laboratorial deve ser realizado para confirmar a infecção por *Neospora* spp. (39).

- Testes Sorológicos

Os testes sorológicos mais utilizados para *Neospora* sp. são: reação de imunofluorescência indireta (IFI), ensaio imunoenzimático (ELISA), soroaglutinação e Western blot (39). A presença de anticorpos indica que houve exposição ao parasita ou a um parasita estritamente relacionado passível de reação cruzada, não indicando necessariamente a existência de uma infecção ativa (58).

O primeiro método sorológico aplicado em animais para o diagnóstico de *N. caninum* foi IFI, utilizando taquizoítos intactos como antígenos, sendo considerada um método de referência (36). Segundo Vardeleon et al. (58), a IFI identifica todas as amostras reagentes, sendo portanto, altamente sensível. O Western blot tem sido muito utilizado como teste confirmatório para *Neospora* spp. em várias espécies animais, sendo considerado altamente específico.

- Testes Parasitológicos

Os métodos parasitológicos utilizados no diagnóstico e pesquisa de *Neospora* spp. são: exames histopatológico, imunoistoquímico, isolamento *in vitro* e *in vivo* e a detecção do DNA do parasita pela PCR (36).

O diagnóstico de aborto por neosporose pode ser também realizado pela PCR (39).

DIAGNÓSTICOS DIFERENCIAIS

A EPM pode ser confundida com outras doenças que causam distúrbios neurológicos. Os principais diagnósticos diferenciais da EPM são: a mielopatia estenótica cervical, mieloencefalopatia degenerativa equina, mieloencefalopatia com neurite/vasculite causada pelo Herpesvírus equino do tipo 1 e trauma. Nos casos suspeitos de EPM que apresentam somente déficits de pares de nervos cranianos, deve-se realizar o diagnóstico diferencial de síndrome da cauda equina, doença das bolsas guturais, otite média/interna e outras neuropatias periféricas, como o traumatismo craniano com comprometimento somente de nervos periféricos. Por outro lado, nos equinos que apresentam sinais cerebrais, déficits dos nervos cranianos e/ou ataxia, devemos considerar as encefalites virais, bacterianas, leucoencefalomalácea, traumatismo craniano e encefalopatia hepática/urêmica (32,53).

Entre outras afecções que podem apresentar sintomatologia semelhante à EPM pode-se destacar: doença do neurônio motor, neoplasias da coluna vertebral e/ou da medula espinhal, abscessos epidurais, encefalite viral do Oeste do Nilo, mal-formações vasculares, traumas, abscessos cerebrais, migração de parasitas, epilepsia, linfossarcomas, botulismo, entre outras (32,53).

TRATAMENTO

- *S. neurona*

O tratamento dos equinos com suspeita de EPM, depois dos sinais clínicos reconhecidos, deve ser feito o mais rápido possível. O tratamento mais comum ainda é o uso de inibidores da diidrofolato redutase, como a combinação de pirimetamina (1,0mg/kg, por via oral, uma vez ao dia) com sulfadiazina (20mg/Kg, por via oral, duas vezes ao dia) por um período de 120 dias a seis meses, ocorrendo com isso o bloqueio sequencial do metabolismo do ácido fólico nos protozoários. Porém, o *S. neurona* já tem mostrado resistência a pirimetamina na ausência de sulfas (22,32,53). O tratamento deve ser realizado enquanto o LCR for positivo e/ou os animais estiverem demonstrando sinais clínicos. Foram observadas algumas complicações como diarreia, anemia e/ou leucopenia, principalmente quando a dose da pirimetamina é duplicada (22,32).

Outra alternativa terapêutica para os equinos que não respondem bem ao tratamento tradicional é a administração de diclazuril (5,6mg/kg, por via oral, uma vez ao dia) ou toltrazuril (10mg/kg por via oral, uma vez ao dia), ambos pertencentes ao grupo benzeno acetônitrila, por um período de no mínimo 28 dias (22). O diclazuril é um coccidiostático absorvido rapidamente e pode ser encontrado no soro uma hora após o tratamento. Os resultados indicam que o diclazuril consegue eliminar os estágios primários do *S. neurona*, podendo ser útil na profilaxia da EPM. O toltrazuril também é um coccidiostático, sendo amplamente utilizado em várias espécies. Seu mecanismo de ação consiste em desestabilizar o metabolismo do parasita e a divisão celular, apresentando alta eficácia para o tratamento de

EPM, boa absorção oral, razoável tempo de eliminação (48-72h), boa solubilidade lipídica e boa absorção no LCR.

Outro fármaco anti-coccídeo utilizado para o tratamento da EPM, que tem mostrado resultados clínicos favoráveis, trata-se do metabólito panozuril (toltrazuril sulfona). Pode-se utilizar ainda, o nitazoxanide, que possui amplo espectro de atividade contra bactérias, protozoários e helmintos. A dose sugerida para o início do tratamento é de 25mg/kg/dia durante os sete primeiros dias, aumentando para 50mg/kg/dia nos demais dias, totalizando 30 dias de tratamento (32). Estas drogas não estão disponíveis no Brasil.

A terapia antiinflamatória é indicada e pode-se usar fenilbutazona ou flunixin meglumina (1,1mg/Kg, por via intravenosa, duas vezes ao dia) por três a sete dias, assim como a adição de DMSO 1g/kg em 10% de solução (por via intravenosa ou por via oral) (22,53). O uso excessivo de corticoesteróides em equinos com suspeita de EPM pode agravar o quadro clínico. Entretanto, uma ou duas doses de corticoesteróides podem ser administradas para ajudar a reduzir os efeitos da inflamação em casos onde há rápida progressão da sintomatologia clínica (32).

Recomenda-se como tratamento suplementar, vitamina E, ácido fólico e tiamina. Porém, foi demonstrado que além do tratamento suplementar mencionado, a sulfadiazina assim como a pirimetamina, também não são aconselháveis no tratamento de fêmeas gestantes, devido ao risco de deformidades congênitas (22,32). Em equinos, a administração de ácido fólico apresenta dois problemas em potencial, primeiro que o ácido fólico é pobremente absorvido no trato intestinal e segundo que a conversão do folato para a forma ativa de tetraidrofolato requer dihidrofolato redutase, que é inibida pelas drogas administradas durante o tratamento (32).

Muitos equinos podem continuar com resultados positivos por vários meses após a morte do protozoário (22). Se os sinais clínicos persistirem, a terapia deve ser reavaliada a cada trinta dias. Ainda não existe uma vacina eficiente contra a EPM (32).

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

Atualmente se busca outras alternativas para auxiliar no tratamento da EPM e estudos sobre o uso da terapia celular em equinos estão sendo realizados.

- *Neospora spp.*

No Brasil, o protozoário *Neospora spp.* 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 (39)

Várias drogas, como decoquinato, depudecina, toltrazuril, ponazuril, artemisinina e os extratos de ervas medicinais foram utilizadas *in vitro* (cultivo celular) e *in vivo* (camundongos), porém, sem comprovação da eficácia das mesmas (59).

Ainda assim, equinos acometidos pela doença são tratados empiricamente com ponazuril e outras drogas antiprotozoárias comumente utilizadas para o tratamento da EPM por *S. neurona* (60).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A maioria dos relatos sobre EPM indica que o principal agente etiológico envolvido, é sem dúvida, *S. neurona*. Entretanto, nos equinos, são limitadas as informações referentes às consequências da infecção por *N. caninum* e *N. hughesi*, talvez devido a menor prevalência por eses protozoários ou até mesmo pelo fato da neosporose não ser incluída no diagnóstico de EPM.

Caso houvesse a inclusão do *Neospora* spp. no diagnóstico de EPM, seria possível avaliar a real participação desses parasitas nas doenças neurológicas em equinos, assim como acontece com a EPM causada pelo *S. neurona*. Portanto, mais estudos referentes ao diagnóstico e diferenciação dos parasitas *N. caninum* e *N. hughesi* são necessários.

Com a descoberta de que o *Neospora hughesi*, assim como o *N. caninum*, também causam EPM em equinos, um novo desafio foi lançado quanto ao diagnóstico, tratamento e controle da enfermidade.

REFERÊNCIAS

1. Rooney JR, Prickett ME, Delaney FM, Crowe FW. Focal myelitis–encephalitis in horses. *Cornell Vet.* 1970; 50: 494–501.
2. Cusick PK, Sells DM, Hamilton DP, Hardenbrook HJ. Toxoplasmosis in two horses. *J Am Vet Med Assoc.* 1974; 164: 77–80.
3. Beech J. Equine protozoan encephalomyelitis. *Vet Med Small Anim Clin.* 1974; 69: 1562–6.
4. Mayhew IG, De Lahunta A, Whitlock RH, Pollock RVH. Equine protozoal myeloencephalitis. In: *Proceedings of the 22nd Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners*; 1976, Dallas. Dallas: AAEP; 1976. p.107–14
5. Dubey JP, Davis SW, Speer CA, Bowman DD, De Lahunta A, Granstrom DE, et al. *Sarcocystis neurona* sp. (Protozoa: Apicomplexa), the etiologic agent of equine protozoal myeloencephalitis. *J Parasitol.* 1991; 77: 212–8.
6. Davis SW, Daft BM, Dubey JP. *Sarcocystis neurona* cultured in vitro from a horse with equine protozoal myelitis. *Equine Vet J.* 1991; 23: 315–7.
7. Dubey JP, Porterfield ML. *Neospora caninum* (Apicomplexa) in an aborted equine fetus. *J Parasitol.* 1990; 76: 732-4.
8. Lindsay DS, Steinberg H, Dubielzig RR, Semrad SD, Konkle DM, Miller PE, et al. Central nervous system neosporosis in a foal. *J Vet Diagn Invest.* 1996; 8: 507-10.
9. Gray ML, Harmon BE, Sales L, Dubey JP. Visceral neosporosis in a 10-year-old horse. *J Vet Diagn Invest.* 1996; 8: 130-3.
10. Daft BM, Barr BC, Collins N, Sverlow K. *Neospora* encephalomyelitis and polyradiculoneuritis in an aged mare with Cushing’s disease. *Equine Vet J.* 1996; 28: 240–3.
11. Marsh AE, Barr BC, Madigan JE, Conrad PA. In vitro cultivation and characterization of a *Neospora* isolate obtained from a horse with protozoal myeloencephalitis. In: *Proceedings of the American Society Parasitology and the Society of Protozoologists*; 1996, Arizona. Arizona; 1996. Abstract 114.
12. Marsh AE, Barr BC, Packham AE, Conrad PA. Description of a new *Neospora* species (Protozoa: Apicomplexa: Sarcocystidae). *J Parasitol.* 1998; 84: 983-91.
13. Dubey JP, Lindsay DS. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Vet Parasitol.*

- 1996; 67: 1-59.
14. Bentz BG, Granstrom DE, Stamper S. Seroprevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona* in horses residing in a county of southeastern Pennsylvania. *J Am Vet Med Assoc.* 1997; 210: 517-8.
 15. Blythe LL, Granstrom DE, Hansen DE, Walker LL, Bartlett J, Stamper S. Seroprevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona* in horses residing in Oregon. *J Am Vet Med Assoc.* 1997; 210: 525-7.
 16. Saville WJA, Reed SM, Granstrom DE, Hinchcliff KW, Kohn CW, Wittum TE, et al. Seroprevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona* in horses residing in Ohio. *J Am Vet Med Assoc.* 1997; 210: 519-24.
 17. Tillotson K, Mccue PM, Granstrom DE, Dargatz DA, Smith MO, Traub-Dargatz JL. Seroprevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona* in horses residing in northern Colorado. *J Equine Vet Sci.* 1999; 10: 122-6.
 18. Dubey JP, Kerber CE, Granstrom DE. Serologic prevalence of *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in horses in Brazil. *J Am Vet Med Assoc.* 1999; 215: 970-2.
 19. Dubey JP, Venturini MC, Venturini L, Mckinney J, Pecoraro M. Prevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in horses from Argentina. *Vet Parasitol.* 1999; 86: 59-62.
 20. Cohen ND, Mckay RJ. Interpreting immunoblot testing of cerebrospinal fluid for equine protozoal myeloencephalitis. *Compend Contin Educ Pract Vet.* 1997; 19: 1176-81.
 21. Mackay RJ. Equine protozoal myeloencephalitis. *Vet Clin North Am.* 1997; 13: 79-96.
 22. Fenger CK, Granstrom DE, Gajadhar AA, Williams NM, Mccrillis SA, Stamper S, et al. Experimental induction of equine protozoal myeloencephalitis in horses using *Sarcocystis* sp. sporocysts from the opossum (*Didelphis virginiana*). *Vet Parasitol.* 1997; 68: 199-213.
 23. Rickard LG, Black SS, Rashmir-Raven A, Hurst G, Dubey JP. Risk factors associated with the presence of *Sarcocystis neurona* sporocysts in opossums. *Vet Parasitol.* 2001; 102: 179 - 84.
 24. Boy MG, Galligan DT, Divers TJ. Protozoal encephalomyelitis in horses: 82 cases (1972-186). *J Am Vet Med Assoc.* 1990; 196: 632-4.
 25. Granstrom DE, Alvarez Junior O, Dubey JP, Comer PF, Williams NM. Equine protozoal myelitis in Panamanian horses and isolation of *Sarcocystis neurona*. *J Parasitol.* 1992; 78: 909-12.
 26. Masri MD, Lopez De Alda J, Dubey JP. *Sarcocystis neurona*-associated ataxia in horses in Brazil. *Vet Parasitol.* 1992; 44: 311-4.
 27. Mayhew IG, Greiner EC. Protozoal diseases. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 1986; 2: 439-59.
 28. Ronen N. Putative equine protozoal myeloencephalitis in an imported Arabian filly. *J S Afr Vet Assoc.* 1992; 63: 78-9.
 29. Lam KKH, Watkins KL, Chan CW. First report of equine protozoal myeloencephalitis in Hong Kong. *Equine Vet Educ.* 1999; 11: 54-6.
 30. Dubey JP, Miller S. Equine protozoal myeloencephalitis in a pony. *J Am Vet Med*

- Assoc. 1986; 188: 1311–2.
31. Marsh AE, Denver M, Hill FI, Mcelhaney MR, Trupkiewicz JG, Stewart J, et al. Detection of *Sarcocystis neurona* in the brain of a Grant's zebra (*Equus burchelli bohmi*). *J Zoo Wildl Med.* 2000; 31: 82–6.
 32. Dubey JP, Lindsay DS, Saville WJA, Reed SM, Granstrom DE, Speer CA. A review of *Sarcocystis neurona* and equine protozoal myeloencephalitis (EPM). *Vet Parasitol.* 2001; 95: 89–131.
 33. Fayer R, Mayhew IG, Baird JD, Dill SG, Foreman JH, Fox JC, et al. Epidemiology of equine protozoal myeloencephalitis in North America based on histologically confirmed cases. *J Vet Intern Med.* 1990; 4: 54–7.
 34. Saville WJA, Reed SM, Morley PS. Examination of risk factors for equine protozoal myeloencephalitis. In: *Proceedings of the 45th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners*; 1999, Albuquerque. Albuquerque: AAEP; 1999. p.48-9.
 35. Saville WJA, Reed SM, Morley PS, Granstrom DE, Kohn CW, Hinchcliff CW, et al. Analysis of risk factors for the development of equine protozoal myeloencephalitis in horses. *J Am Vet Med Assoc.* 2000; 217: 1174–80.
 36. Hemphill A, Gottstein B, Conraths FJ, Meerschman FD, Ellis JT, Innes EA, et al. An European perspective on *Neospora caninum*. *Int J Parasitol.* 2000; 30: 877-924.
 37. Gondim LFP. *Neospora caninum* in wildlife. *Trends Parasitol.* 2006; 22: 247-52.
 38. Patitucci AN, Pérez MJ, Carcamo CM, Baeza L. Presencia de anticuerpos sericos contra *Neospora caninum* en equinos en Chile. *Arch Med Vet.* 2004; 36: 203-6.
 39. Locatelli-Dittrich R, Hoffmann DCS, Dittrich JR. Neosporose Equina – Revisão. *Arch Vet Sci.* 2006; 11: 1-10.
 40. Cheadle MA, Lindsay DS, Rowe S, Dykstra CC, Williams MA, Spencer JA, et al. Prevalence of antibodies to *Neospora* sp. in horses from Alabama and characterization of an isolate recovered from a naturally infected horse. *Int J Parasitol.* 1999; 29: 1537-43.
 41. Lindsay DS. Neosporosis: an emerging protozoal disease of horses. *Equine Vet J.* 2001; 33: 116-8.
 42. Hoane JS, Gennari SM, Dubey JP, Ribeiro MG, Borges AS, Yai LEO, et al. Prevalence of *Sarcocystis neurona* and *Neospora* spp. infection in horses from Brazil based on presence of serum antibodies to parasite surface antigen. *Vet Parasitol.* 2006; 136: 155-9.
 43. Fenger CK, Granstrom DE, Langemeier JL, Stamper S, Donahue JM, Patterson JS, et al. Identification of opossums (*Didelphis virginiana*) as the putative definitive host of *Sarcocystis neurona*. *J Parasitol.* 1995; 81: 916-9.
 44. Dubey JP, Lindsay DS, Kerber CE, Kasai N, Pena HFJ, Gennari SM, et al. First isolation of *Sarcocystis neurona* from the South American opossum, *Didelphis albiventris*, from Brazil. *Vet Parasitol.* 2001; 95: 295–304.
 45. Kisthardt KK, Lindsay DS. Equine protozoal myeloencephalitis. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 1997; 19: 8-13.
 46. Granstrom DE, Saville WJ. Doenças neurológicas. In: Reed SM. *Medicina interna equina*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. p. 419-22.
 47. Mullaney T, Murphy AJ, Kiupel M, Bell JA, Rossano MG, Mansfield LS. Evidence to

- support horses a natural intermediate host for *Sarcocystis neurona*. *Vet Parasitol.* 2005; 133: 27-36.
48. Mcallister MM, Dubey JP, Lindsay DS, Jolley WR, Wills RA, Mcguire AM. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int J Parasitol.* 1998; 28: 1473-8.
 49. Blood DC, Radostits OM. Doenças causadas por protozoários. In: Radostits OM, Gay CG, Blood DC, Hinchcliff KW. *Clínica veterinária: um tratado de doenças de bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos*. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p.1187- 9.
 50. Lindsay DS, Mitchell SM, Yang J, Dubey JP, Gogal Junior RM, Witonsky SG. Penetration of equine leukocytes by merozoites of *Sarcocystis neurona*. *Vet Parasitol.* 2006; 138: 371-6.
 51. Divers TJ, Bowman DD, De Lahunta A. Equine protozoal myeloencephalitis: recent advances in diagnosis and treatment. *Vet Med.* 2000; Suppl: 3-17.
 52. Anderson ML, Andrianarivo AG, Conrad PA. Neosporosis in cattle. *Anim Reprod Sci.* 2000; 60-61: 417-31.
 53. Mackay RJ, Granstrom DE, Saville WJA, Reed SM. Equine Protozoal Myeloencephalitis. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 2000; 16: 405-25.
 54. Walsh CP, Duncan RB, Zajac AM, Blagburn BL, Lindsay DS. *Neospora hughesi*: experimental infections in mice, gerbils and dogs. *Vet Parasitol.* 2000; 92: 119-28.
 55. Hamir AN, Tornquist SJ, Gerros TC, Topper MJ, Dubey JP. *Neospora caninum* - associated equine protozoal myeloencephalitis. *Vet Parasitol.* 1998; 79: 269-74.
 56. Granstrom DE. Recent advances in the laboratory diagnosis of equine parasitic diseases. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 1995; 11: 437-42.
 57. Eastman EM, Furr M, Mckenzie H, Saville WJA, Dubey JP. Early diagnosis of *Sarcocystis neurona* infection using blood gene expression biomarkers. In: *Proceedings of the Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners; 2005, Seattle.* Seattle; 2005. p. 105-6.
 58. Vardeleon D, Marsh AE, Thorne JG, Loch W, Young R, Johnson PJ. Prevalence of *Neospora hughesi* and *Sarcocystis neurona* antibodies in horses from various geographical locations. *Vet Parasitol.* 2001; 95: 273-82.
 59. Kwon HJ, Kim JH, Kim M, Lee JK, Hwang WS, Kim DY. Anti-parasitic activity of depudecin on *Neospora caninum* via the inhibition of histone deacetylase. *Vet Parasitol.* 2003; 112: 269-76.
 60. Finno CJ, Aleman M, Pusterla N. Equine Myeloencephalitis associated with neosporosis in 3 horses. *J Vet Intern Med.* 2007; 21: 1405-8.

Recebido em: 13/05/2009

Aceito em: 23/02/2010