



MANOEL JUNQUEIRA MACIEL RIBEIRO

**SOROEPIDEMIOLOGIA DE *Sarcocystis neurona*,
Toxoplasma gondii E *Neospora* spp. EM CAVALOS
MANGALARGA MARCHADOR CRIADOS NO
SUL DE MINAS, BRASIL**

Lavras - MG

2015

MANOEL JUNQUEIRA MACIEL RIBEIRO

**SOROEPIDEMIOLOGIA DE *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma gondii* E
Neospora spp. EM CAVALOS MANGALARGA MARCHADOR
CRIADOS NO SUL DE MINAS, BRASIL**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Lavras
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Ciências Veterinárias, área de
concentração em Ciências
Veterinárias, para a obtenção do
título de Mestre.

Orientador:

Prof. Dr. Antônio Marcos Guimarães

Co-orientadora:

Profa. Dra. Christiane Maria Barcellos Magalhães da Rocha

Lavras - MG

2015

Ribeiro, Manoel Junqueira Maciel.

Soroepidemiologia de *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma gondii* e *Neospora* spp. em cavalos Mangalarga Marchador criados no sul de Minas, Brasil / Manoel Junqueira Maciel Ribeiro. – Lavras : UFLA, 2015.

82 p. : il.

Dissertação (mestrado acadêmico)–Universidade Federal de Lavras, 2015.

Orientador(a): Antônio Marcos Guimarães.

Bibliografia.

1. Sarcocystidae. 2. mieloencefalite protozoária. 3. Mangalarga Marchador. 4. soroprevalência. 5. Minas Gerais. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

MANOEL JUNQUEIRA MACIEL RIBEIRO

**SOROEPIDEMIOLOGIA DE *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma gondii* E
Neospora spp. EM CAVALOS MANGALARGA MARCHADOR
CRIADOS NO SUL DE MINAS, BRASIL**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Lavras
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação
“Strictu Sensu” em Ciências
Veterinárias, para a obtenção do
título de Mestre.

Aprovada em 26 de junho de 2015.

Dra. Christiane M. B. M. Da Rocha UFLA

Dr. Múcio Flávio Barbosa Ribeiro UFMG

Dra. Ticiane Meireles Sousa UFLA

Dr. Antônio Marcos Guimarães
Orientador

Lavras - MG

2015

*Ao João,
à Maria,
aos meus pais,
aos mestres
e aos animais*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que incentivaram, contribuíram e tornaram a realização deste trabalho possível.

Ao Professor Antônio Marcos Guimarães pela confiança depositada, pelo incentivo, pela amizade e pelos ensinamentos valiosos.

Às professoras Adriana Mello Garcia e Christiane Maria Barcellos Magalhães da Rocha, assim como à sua equipe, e aos criadores de equinos entrevistados, que contribuíram com as coletas de dados, essenciais para o estudo.

Aos colegas de laboratório, especialmente à Marina Rosa e Fábio Bruhn, pela grande contribuição na realização do trabalho.

Aos professores Geraldo Márcio da Costa e Christian Hirsch pelo aprendizado nestes últimos anos, e ao Berin, pelo grande apoio e amizade.

Finalmente, ao meu pai, à minha mãe e à Maria, pessoas mais importantes nesta jornada, pela confiança, sacrifício e paciência que tiveram durante todo este período.

RESUMO

Os objetos de estudo desta pesquisa foram a mieloencefalite protozoária equina (MPE), causada por *Sarcocystis neurona*, a toxoplasmose, zoonose causada por *Toxoplasma gondii*, e a neosporose, causada por *Neospora caninum* e *N. hughesi*. Esses protozoários são adquiridos pela ingestão de alimentos e água contaminados, causando distúrbios neurológicos e reprodutivos, predominando infecções subclínicas, trazendo prejuízos aos criadores. Tendo em vista que o Sul de Minas se destaca na equideocultura nacional por ser o berço do cavalo Mangalarga Marchador, sendo economicamente estratégico para a criação da raça, este teve como objetivo determinar a prevalência de anticorpos contra esses parasitos em cavalos dessa raça criados na região e verificar os fatores de risco associados à positividade. Foram analisados 506 equinos clinicamente saudáveis, provenientes de 53 propriedades localizadas no Sul de Minas Gerais. As amostras de soros foram submetidas à reação de imunofluorescência indireta (RIFI), com ponto de corte de 1:80, 1:64 e 1:50, respectivamente, para *S. neurona*, *T. gondii* e *Neospora* spp. As soroprevalências encontradas entre equinos para esses três parasitos foram respectivamente, 26%, 19,9% e 23,9%. Nas propriedades, essas prevalências foram de 88,3%, 71,6% e 85%. Esses resultados indicam que o Sul de Minas é área enzoótica para os três protozoários em equinos Mangalarga Marchador, predominando a infecção subclínica ou crônica, assintomática. A transmissão horizontal parece ser o principal modo de transmissão desses parasitos, e diferentes fatores de risco estão associados com a soropositividade em equinos. Novas pesquisas são necessárias não só para estabelecer os fatores que aumentam o risco de transmissão desses agentes, bem como para determinar qual espécie de *Neospora* infecta os equinos.

Palavras-chave: Sarcocystidae; mieloencefalite protozoária; soroprevalência; imunofluorescência indireta; Mangalarga Marchador; Minas Gerais.

ABSTRACT

The study subjects were the equine protozoal myeloencephalitis (MPE), caused by *Sarcocystis neurona*, toxoplasmosis, zoonosis caused by *Toxoplasma gondii*, and neosporosis, caused by *Neospora caninum* and *N. hughesi*. These protozoa are acquired by ingesting contaminated food and water, causing neurological and reproductive disorders, predominantly subclinical infections, causing losses to farmers. Once the southern Minas stands out in national equiculture for being the birthplace of Mangalarga Marchador horse, being economically strategic for the creation of the breed, the study aimed to determine the prevalence of antibodies against these parasites in horses of this breed created in the region and check the risk factors associated with positivity. 506 clinically healthy horses were analyzed, from 53 properties located in southern Minas Gerais. Serum samples were subjected to indirect immunofluorescence assay (IFA) with cutoff of 1:80, 1:64 and 1:50 respectively for *S. neurona*, *T. gondii* and *Neospora* spp. The seroprevalence found among horses for these three parasites were respectively 26%, 19.9% and 23.9%. In the properties, these prevalences were 88.3%, 71.6% and 85%. These results indicate that the southern Minas is an enzootic area for the three protozoa in Mangalarga Marchador horses, predominantly subclinical, chronic or asymptomatic infection. The horizontal transmission seems to be the main mode of transmission of these parasites and different risk factors are associated with seropositivity in horses. Further research is needed to establish which factors increase the risk of transmission of these agents, as well as determine which species of *Neospora* that infects horses.

Keywords: Sarcocystidae; protozoal myeloencephalitis; seroprevalence; indirect immunofluorescence; Mangalarga Marchador; Minas Gerais.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Ciclo biológico de <i>Sarcocystis neurona</i>	16
Figura 2	Ciclo biológico de <i>Toxoplasma gondii</i>	24
Figura 3	Ciclo biológico de <i>Neospora caninum</i> adaptado de Goodswen et al. (2013) e Dubey et al. (2007).....	33
Figura 4	Municípios do Sul de Minas envolvidos no estudo.....	40

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Soroprevalência de <i>Sarcocystis neurona</i> em equinos no Brasil.....	19
Quadro 2	Soroprevalência de <i>Sarcocystis neurona</i> em equinos em diferentes países.....	20
Quadro 3	Soroprevalência de <i>Toxoplasma gondii</i> em equinos no Brasil.....	27
Quadro 4	Soroprevalência de <i>Toxoplasma gondii</i> em equinos em diferentes países.....	28
Quadro 5	Soroprevalência de <i>Neospora</i> spp. em equinos no Brasil.....	36
Quadro 6	Soroprevalência de <i>Neospora</i> spp. em equinos em diferentes países.....	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Características observadas em 53 propriedades de cavalos Mangalarga Marchador criados no Sul de Minas.....	46
Tabela 2	Características relacionadas às práticas de manejo em propriedades de cavalos Mangalarga Marchador criados no Sul de Minas.....	47
Tabela 3	Características relacionadas ao manejo alimentar e reprodutivo em propriedades de cavalos Mangalarga Marchador criados no Sul de Minas.....	48
Tabela 4	Características relacionadas ao manejo sanitário em propriedades de cavalos Mangalarga Marchador criados no Sul de Minas.....	49
Tabela 5	Características relacionadas às condições higiênicas em 53 propriedades de cavalos Mangalarga Marchador criados no Sul de Minas.....	49
Tabela 6	Características socioeconômicas e culturais observadas em 53 propriedades de cavalos Mangalarga Marchador criados no Sul de Minas.....	50
Tabela 7	Fatores de risco associados com soropositividade para <i>Sarcocystis neurona</i> (RIFI 1:80), na análise univariada ($P<0,05$), em cavalos Mangalarga Marchador criados no Sul de Minas.....	51
Tabela 8	Fatores de risco associados com soropositividade (RIFI 1:64) para <i>Toxoplasma gondii</i> , na análise univariada ($P<0,05$), em cavalos Mangalarga Marchador criados no Sul de Minas.....	53
Tabela 9	Fatores de risco associados com soropositividade (RIFI 1:50) para <i>Neospora</i> spp., na análise univariada ($P<0,05$), em cavalos Mangalarga Marchador criados no Sul de Minas.....	55
Tabela 10	Fatores de risco associados com soropositividade (RIFI 1:50) para <i>Neospora</i> spp., na análise de regressão logística múltipla de equações lineares generalizadas (GEE), em cavalos Mangalarga Marchador criados no Sul de Minas....	55

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1	Mieloencefalite Protozoária Equina.....	13
2.1.1	Ciclo biológico de <i>Sarcocystis neurona</i>	14
2.1.2	Mecanismos de transmissão.....	16
2.1.3	Patogenia e sinais clínicos.....	16
2.1.4	Diagnóstico.....	17
2.1.5	Prevalência e fatores de risco.....	19
2.1.6	Prevenção e controle.....	21
2.1.7	Tratamento.....	22
2.2	Toxoplasmose equina.....	22
2.2.1	Ciclo biológico de <i>Toxoplasma gondii</i>	22
2.2.2	Mecanismos de transmissão.....	24
2.2.3	Patogenia e sinais clínicos.....	25
2.2.4	Diagnóstico.....	26
2.2.5	Prevalência e fatores de risco.....	26
2.2.6	Prevenção e controle.....	29
2.3	Neosporose equina.....	30
2.3.1	Ciclo biológico de <i>Neospora caninum</i>	31
2.3.2	Mecanismos de transmissão.....	33
2.3.3	Patogenia e sinais clínicos.....	34
2.3.4	Diagnóstico.....	35
2.3.5	Prevalência e fatores de risco.....	35
2.3.6	Prevenção e controle.....	38
3	OBJETIVOS.....	39
3.1	Objetivo geral.....	39
3.2	Objetivos específicos.....	39
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	39
4.1	Local e duração do experimento.....	39
4.2	Amostra.....	40
4.2.1	Propriedades.....	40
4.2.2	Animais.....	41
4.3	Coleta de informações sobre os criatórios.....	42
4.4	Sorologia.....	42

4.5	Análises estatísticas.....	44
5	RESULTADOS.....	45
5.1	Perfil das propriedades.....	45
5.2	<i>Sarcocystis neurona</i> em equinos.....	50
5.2.1	Soroprevalência.....	50
5.2.2	Fatores de risco.....	50
5.3	<i>Toxoplasma gondii</i> em equinos.....	51
5.3.1	Soroprevalência.....	51
5.3.2	Fatores de risco.....	52
5.4	<i>Neospora</i> spp. em equinos.....	54
5.4.1	Soroprevalência.....	54
5.4.2	Fatores de risco.....	54
5.5	Infecção mista.....	56
6	DISCUSSÃO.....	56
6.1	Perfil das propriedades.....	56
6.2	<i>Sarcocystis neurona</i> em equinos.....	57
6.2.1	Soroprevalência.....	57
6.2.2	Fatores de risco.....	58
6.3	<i>Toxoplasma gondii</i> em equinos.....	59
6.3.1	Soroprevalência.....	59
6.3.2	Fatores de risco.....	60
6.4	<i>Neospora</i> spp. em equinos.....	62
6.4.1	Soroprevalência.....	62
6.4.2	Fatores de risco.....	63
6.5	Considerações finais.....	66
7	CONCLUSÕES.....	66
8	REFERÊNCIAS BIBLOGRÁFICAS.....	68

1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui atualmente um dos maiores rebanhos de equídeos do planeta, com aproximadamente oito milhões de cabeças, sendo a equideocultura uma enorme fonte de divisas, movimentando mais de R\$ 7 bilhões anualmente e gerando milhares de empregos diretos e milhões de indiretos.

O Estado de Minas Gerais possui o maior contingente equino do país, sendo local de origem das raças Mangalarga, Mangalarga Marchador e Campolina. O uso desses equinos é comum na lida com o gado, competições de marcha, exposições, turismo, cavalgadas, atividades terapêuticas, esportivas e lazer. Na região Sul de Minas Gerais a equinocultura ocupa importante espaço no cenário econômico, turístico, histórico e cultural. Isso ocorre pelo fato de a região ser o berço do Mangalarga Marchador, importante fonte de genética desta raça, atraindo compradores de todo o país, gerando empregos e renda para seus municípios.

O protozoário *Sarcocystis neurona* é o principal agente da mieloencefalite protozoária equina (MPE), doença caracterizada por um quadro neurológico. O hospedeiro definitivo do parasito é o gambá (*Didelphys virginiana*, na América do Norte e *D. albiventris*, na A. do Sul), e o equino se infecta após a ingestão de pastagens, água e alimentos contaminados com fezes do marsupial contendo esporocistos.

A toxoplasmose é uma enfermidade de distribuição cosmopolita, causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*, que possui os felinos como hospedeiros definitivos e diversos mamíferos e aves como hospedeiros intermediários. A doença pode causar prejuízo à equideocultura, gerando perdas com problemas reprodutivos e/ou neurológicos, embora a infecção ocorra de maneira assintomática na maioria dos casos. Além disso, a toxoplasmose tem importante significado para a saúde pública, uma vez que é uma zoonose capaz de ser transmitida pela ingestão de carne mal cozida de animais de açougue, inclusive equinos. O parasito é transmitido a

esses animais pela ingestão ou inalação de oocistos eliminados por felinos em camas, pastagens e alimentos.

A neosporose, doença causada pelas espécies *Neospora caninum* e *N. hughesi*, já foi detectada em países da América, Europa, Ásia e Oceania. Essa parasitose é muito estudada em bovinos e caninos, mas com a patogênese ainda pouco conhecida na espécie equina. Os hospedeiros definitivos de *N. caninum* são os canídeos, e entre os hospedeiros intermediários incluem-se vários mamíferos, inclusive cavalos. A transmissão para esta espécie se dá pela ingestão de oocistos esporulados presentes em alimentos e água contaminados. Essa ainda pode ocorrer também pela via vertical. Na maioria dos casos, a infecção pelo protozoário é assintomática, porém, esse pode acarretar problemas reprodutivos e neurológicos nos animais acometidos.

Assim, considerando a importância da equideocultura para o Sul de Minas, o objetivo deste estudo é conhecer a prevalência de anticorpos anti-*S. neurona*, *T. gondii* e *Neospora* spp. em equinos e criatórios, e analisar os fatores de risco associados à positividade. Os três parasitos possuem muitas características em comum, tornando-se necessário o diagnóstico diferencial entre eles.

Essas informações são importantes para que sejam tomadas medidas efetivas de controle visando prevenir as perdas econômicas decorrentes dos sinais clínicos dessas parasitoses, e incrementar o conhecimento da distribuição desses parasitos em equinos no âmbito nacional.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Mieloencefalite protozoária equina

Sarcocystis neurona, protozoário do Filo Apicomplexa, Ordem Eucoccidiida e Família Sarcocystidae, é o principal agente etiológico da mieloencefalite protozoária equina (MPE), importante afecção neurológica que

acomete os equinos no continente americano (DUBEY et al., 2015). O nome do gênero *Sarcocystis* é devido à formação de cistos nos músculos dos hospedeiros intermediários (LOPES, 2004). Na década de 1970, pesquisadores descobriram uma síndrome neurológica em equinos causada por protozoário, e a denominaram MPE. Inicialmente, esses autores acharam que o parasito em questão fosse *T. gondii* (CUSICK et al., 1974). Nos anos oitenta propôs-se que o protozoário não pertencia ao gênero *Toxoplasma* e sim ao gênero *Sarcocystis*, devido a diferenças estruturais. Em 1991 foi proposta a classificação da espécie *S. neurona* (DUBEY et al., 2001).

2.1.1 Ciclo biológico de *Sarcocystis neurona*

O gambá (*Didelphys virginiana*, na América do Norte e *Didelphys albiventris*, na A. do Sul) é o hospedeiro definitivo do parasito (DUBEY et al., 2015). Esses autores relataram que no continente sul-americano outras espécies de gambás podem estar envolvidas com a doença. Acredita-se que esse marsupial adquira o parasito após a ingestão de cistos contidos no músculo esquelético de hospedeiro intermediário (LOPES, 2004). No gambá, *S. neurona* faz a reprodução sexuada entre microgamontes (gametas masculinos) e macrogamontes (gametas femininos). A união destes origina oocistos não esporulados, que esporulam, diferentemente de *T. gondii* e *Neospora* spp., ainda dentro do hospedeiro definitivo, composto de dois esporocistos e cada esporocisto com quatro esporozoítos. Os esporocistos são liberados no ambiente junto com as fezes do gambá, e podem ser ingeridos pelos hospedeiros intermediários naturais ou pelos hospedeiros acidentais, como os equinos (DUBEY et al., 2001).

Os hospedeiros intermediários e acidentais de *S. neurona*, incluindo uma variedade de mamíferos, albergam as formas de esquizonte no sistema nervoso central (SNC) e sarcocisto no músculo. Entre eles estão jaritatas, guaxinins, tatus, gatos e lontras marinhas, sendo a alta mortalidade relacionada ao parasito

relatada nestes últimos (DUBEY et al., 2015). Segundo os autores, os hospedeiros intermediários se infectam ingerindo esporocistos presentes nas fezes de gambás, desenvolvendo as formas de esquizonte em seu SNC e sarcocisto em músculos esqueléticos, cardíaco e cérebro.

De acordo com Dubey et al. (2001), o protozoário também já foi isolado em cavalos, martas e mamíferos marinhos. Anticorpos anti-*S. neurona* já foram detectados em gambás, jaritatacas, lêmures, castores e capivaras e a doença clínica relatada em pôneis, cães, furões, lincês, jaritatacas, zebras, gatos, panda vermelho, guaxinins, focas e equinos (DUBEY et al, 2015). Os autores ainda relataram a detecção de DNA do parasito em golfinhos, orcas, elefantes e leões marinhos.

Os equinos são hospedeiros acidentais de *S. neurona*, e nesses animais foram detectadas somente formas de reprodução assexuada do parasito. Os equinos se infectam após ingerirem esporocistos presentes nas fezes do hospedeiro definitivo (DUBEY et al., 2001). Após a ingestão, os esporozoítos são liberados no intestino, alcançando a circulação. Depois disso, migram para o cérebro, medula espinhal e outras partes do SNC, e originam os esquizontes, em um processo denominado esquizogonia. Os esquizontes se dividem em vários merozoítos, por meio da endopoligenia (DUBEY et al., 2015). Essas duas formas do parasito ocorrem simultaneamente e formam um vacúolo parasitóforo no citoplasma das células parasitadas, sejam estas neurais ou inflamatórias (DUBEY et al., 2001). O ciclo do parasito está representado na Figura 1.

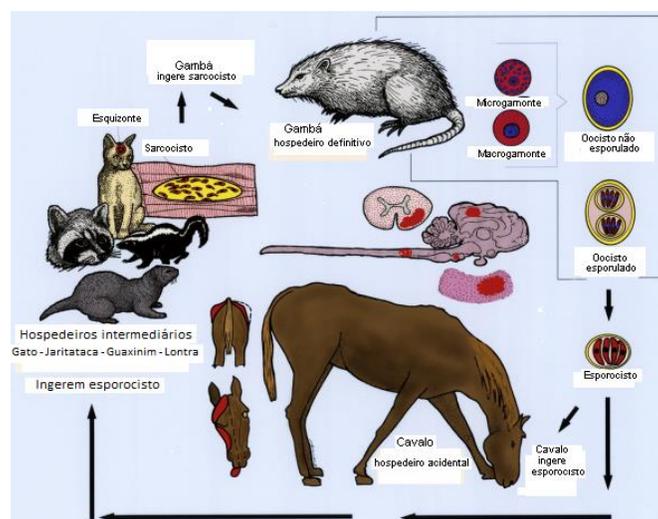


Figura 1 – Ciclo biológico de *Sarcocystis neurona* (Dubey et al., 2015).

2.1.2 Mecanismos de transmissão

O equino se infecta acidentalmente após ingerir o esporocisto contido nas fezes do gambá, que por sua vez, contaminam alimento e água. Acredita-se que os hospedeiros intermediários naturais de *S. neurona* também adquiram a infecção dessa maneira (LOPES, 2004). O hospedeiro definitivo se infecta após a ingestão de tecidos de hospedeiros intermediários contendo cistos do parasito (DUBEY et al., 2001). Conforme Dubey et al. (2015), recentemente foram relatados indícios de transmissão transplacentária de *S. neurona* em mamíferos aquáticos, como focas, leões marinhos e baleias. Esse tipo de transmissão parece ser incomum em equinos (COOK et al., 2001; DUARTE et al., 2004a,b; PUSTERLA et al., 2014b).

2.1.3 Patogenia e sinais clínicos

Embora a patogenia da infecção por *S. neurona* não seja completamente elucidada, uma vez que se torna difícil induzir a infecção experimentalmente,

células nervosas e inflamatórias do SNC são parasitadas pelos esquizontes, que podem se multiplicar por vários meses (LOPES, 2004).

De acordo com Dubey et al. (2015), a sintomatologia da infecção causada por *S. neurona* é progressiva e debilitante. Essa varia desde infecção assintomática, o que ocorre na maioria das vezes, até uma infecção aguda com sinais clínicos inespecíficos ou com sintomatologia nervosa, afetando cérebro e medula espinhal, caracterizando a MPE, que ocorre esporadicamente.

Os sinais clínicos da MPE dependem da área do SNC que foi afetada. Dessa maneira, lesões causadas no cérebro podem causar depressão, e lesões na medula espinhal e no tronco cerebral podem causar incoordenação motora, ataxia dos membros, paralisia de língua, atrofia de músculos faciais, dificuldade de deglutição, tendência do animal de se inclinar para um lado e incontinência urinária. Embora não tenha sido encontrado nos músculos de equinos, *S. neurona* pode causar atrofia focal dos membros posteriores, com marcha assimétrica. Esse é um sinal clínico típico da MPE, que a diferencia de outras encefalomiélites (DUBEY et al., 2015; LOPES, 2004).

2.1.4 Diagnóstico

O diagnóstico pode se basear no histórico do animal, no local das lesões, na avaliação dos sinais clínicos e na sua evolução, nos métodos de imunodiagnóstico, além da exclusão de outras enfermidades e resposta à terapia (DUBEY et al., 2001). Porém, segundo os autores, a confirmação do diagnóstico só pode ser feita com exames pós-mortem.

Técnicas de diagnóstico como medição do teor de albumina, análise de immunoblot, western blot, imunoistoquímica, histopatologia, e métodos moleculares, estão entre as mais utilizadas (DUBEY et al., 2015). Os autores salientaram que o material analisado são, principalmente, o soro e o fluido cerebrospinal.

O ensaio imunoenzimático (ELISA) para o antígeno de superfície 2 (SAG2 4/3 ELISA) é o método mais acurado para o diagnóstico sorológico de *S. neurona* (YEARGAN et al., 2013). Além disso, a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) pode ser usada, porém, com menos acurácia que o ELISA (JOHNSON et al., 2013), apresentando sensibilidade e especificidade superiores a 90%.

De acordo com Duarte et al. (2003), a sensibilidade da RIFI é de 94% e especificidade de 88,9%. Segundo Dubey et al. (2015), a RIFI permite quantificar a infecção por meio do título final de anticorpos, o que não é possível no western blot. De acordo com Dubey et al. (2001), essa técnica possui sensibilidade de 80-90% e especificidade próxima de 40%, possuindo a vantagem de não apresentar reação cruzada com outros protozoários.

Estes autores citaram ainda que a reação de cadeia de polimerase (PCR) possui alta especificidade, uma vez que detecta o DNA do agente, confirmando sua presença no sistema nervoso central. Porém essa técnica não possui boa sensibilidade, devido à escassez e à instabilidade do DNA no líquido cerebrospinal.

O diagnóstico diferencial do parasito é feito para *T. gondii* e *Neospora* spp., além de outras enfermidades neurológicas, como traumas, mielopatia estenótica cervical, mieloencefalopatia degenerativa equina, mieloencefalopatia causada por herpesvírus do tipo 1 (STELMANN, 2014), encefalopatias virais e bacterianas, leucoencefalomalácia, neoplasias da coluna vertebral ou medula espinhal, febre do Nilo Ocidental, botulismo, linfossarcoma, abscessos cerebrais e doença do neurônio motor (DUBEY et al., 2001). Recentemente, o genoma deste protozoário foi sequenciado, permitindo o desenvolvimento de novas técnicas de diagnóstico e tratamento (DUBEY et al., 2015).

2.1.5 Prevalência e fatores de risco

Em equinos, no Brasil (Quadro 1), a prevalência de *S. neurona* variou de 8,75 a 69,6% (HOANE et al., 2006; STELMANN, 2014), e no mundo (Quadro 2), a variação foi de 0 a 89,2% (BENTZ et al., 2003; DUBEY et al., 2015; GUPTA et al., 2002; VARDELEON et al, 2001).

Conforme Dubey et al. (2015), a prevalência de anticorpos depende da distribuição do hospedeiro definitivo na região, da idade e do tipo dos equinos amostrados, da área geográfica estudada e do tipo de teste sorológico realizado. As prevalências de *S. neurona* em equinos no Brasil e no exterior encontram-se nos Quadros 1 e 2 respectivamente.

Em equinos, a infecção por *S. neurona* não foi associada à nutrição deficiente nem a infecções concorrentes. Além disso, a infecção tem menor risco de ocorrência em animais abaixo de seis meses de idade (DUARTE et al., 2004a; DUBEY et al., 2015; SAVILLE et al., 2000). No entanto, Morley et al. (2008) relataram que equinos entre 6-18 meses possuem maior risco de apresentarem MPE se comparados a animais mais velhos.

Quadro 1. Soroprevalência de *Sarcocystis neurona* em equinos no Brasil.

Estado	N	Ocorrência (%)	Técnica	Ponto de corte	Referência
Vários	961	69,6	ELISA	1:100	Hoane et al. (2006)
Vários	101	35,64	Western blot	-	Dubey et al. (1999a)
RJ	375	8,27	RIFI	-	Stelmann (2014)
RS	181	33,7	ELISA	1:100	Pivoto et al. (2014)
RS	61	37,7	Western blot	-	Lins et al. (2012)

RIFI= Reação de imunofluorescência indireta; ELISA= Teste imunoenzimático.

Quadro 2. Soroprevalência de *Sarcocystis neurona* em equinos em diferentes países.

País	N	Ocorrência (%)	Técnica	Ponto de corte	Referência
Argentina	76	35,5	Imunoblotting	-	Dubey et al. (1999b)
Argentina	640	26,1	Western blot	-	Moré et al. (2014)
Colômbia	76	65,7	ELISA	1:100	Calderón et al. (2014)
Coreia do Sul	191	0,0	Imunoblotting	1:100	Gupta et al. (2002)
Costa Rica	315	42,2	ELISA	1:100	Dangoudoubiyam et al. (2011)
Espanha	138	82,6	Western Blot	-	Arias et al. (2012)
Espanha	384	2,3	ELISA	-	Arias et al. (2012)
EUA	3123	27,6	RIFI	1:80	Pusterla et al. (2014a)
EUA	484	6	RIFI	1:40	Duarte et al. (2004a)
EUA	798	89,2	Western blot	-	Bentz et al. (2003)
EUA	265	13,2	SAT	1:50	Dubey et al. (2003)
EUA	1121	60	Western blot	-	Rossano et al. (2001)
EUA	334	45	Western blot	-	Blythe et al. (1997)
EUA	1056	53	Western blot	-	Saville et al. (1997)
França	50	36,0	SAT	-	Pitel et al. (2003)
Índia	123	0,8	Western blot	-	Brown et al. (2006)
México	495	48,5	ELISA	1:100	Yeargan et al. (2013)
Nova Zelândia	208	0,0	Imunoblotting	1:100	Vardeleon et al. (2001)

RIFI= Reação de imunofluorescência indireta; ELISA= Teste imunoenzimático; SAT= Teste de aglutinação de *Sarcocystis*.

A presença do hospedeiro definitivo (gambá) aumenta o risco de infecção pelo protozoário (DUBEY et al., 2015; LOPES, 2004; ROSSANO et al., 2003). A presença não só do gambá como de outros animais silvestres, incluindo os hospedeiros intermediários, também aumenta o risco de infecção (MORLEY et al., 2008).

O acesso de mamíferos silvestres às fontes de produção, e de armazenamento de ração e água dos animais, provavelmente propicia a transmissão do *S. neurona*, incluindo os equinos, conforme sugerido por Saville et al. (2000) e Morley et al. (2008). Estes últimos relataram que equinos mantidos em baias com camas de serragem estão menos expostos ao *S. neurona* em comparação a camas de palha e maravalha.

A finalidade da criação (DUBEY et al., 2015) dos animais pode influenciar no risco de o animal se infectar. Segundo os autores, animais de corrida são mais propensos à MPE do que animais destinados ao lazer, por transitarem e interagirem mais com outros animais. O mesmo ocorre com animais de raças apuradas, que tendem a participar mais de eventos, aumentando o trânsito e a interação (PUSTERLA et al., 2014a; SAVILLE et al., 1997).

Rossano et al. (2001) e Morley et al. (2008) citaram que equinos criados em pastagens são mais propensos à infecção por *S. neurona* do que animais estabulados. Da mesma forma, estes últimos autores ressaltaram que o aumento da densidade animal aumenta o risco de infecção.

Fatores ambientais podem influenciar na predisposição à MPE, como aqueles relativos à localização (PUSTERLA et al., 2014a), ao clima (DUBEY et al., 2015; ROSSANO et al., 2001), ao relevo (MORLEY et al., 2008) e à hidrografia (MORLEY et al., 2008; SAVILLE et al., 2000).

2.1.6 Prevenção e controle

A prevenção da infecção por *S. neurona* e da ocorrência de MPE pode ser feita a partir de medidas de manejo sanitário adequadas, que, na prática, se baseiam em evitar o contato das fezes do gambá com água e alimentos consumidos pelos equinos (DUBEY et al., 2015), uma vez que ainda não há uma vacina eficaz contra este protozoário. Lopes (2004) argumenta que a patogênese

da doença deve ser melhor elucidada para que medidas preventivas sejam tomadas.

2.1.7 Tratamento

De acordo com Dubey et al. (2015), o tratamento da MPE pode ser feito com drogas como ponazuril, diclazuril, nitazoxanide, sulfonamida, pirantel e decoquinato. Esses autores frisaram que o tratamento deve ser iniciado o mais rápido possível, atingindo taxas de cura de até 70-75%, acompanhados de um suporte com drogas anti-inflamatórias, vitamina E e imunostimulantes.

2.2 Toxoplasmose equina

A toxoplasmose equina é causada pelo *Toxoplasma gondii*, protozoário intracelular obrigatório pertencente ao Filo Apicomplexa, Ordem Eucoccidiiida e Família Sarcocystidae (TASSI, 2007). De acordo com Langoni et al. (2007), este parasito infecta naturalmente animais homeotérmicos, como mamíferos e aves, além do ser humano, sendo a doença considerada uma importante zoonose.

O parasito é de extrema importância, devido ao fato de ser uma ameaça à Saúde Pública, já que pode ser veiculado pelo consumo da carne de animais de açougue, inclusive carne de equinos (DUBEY et al., 2009; LOPES et al., 2013). Embora o consumo de carne equina no país seja inexpressivo, o Brasil exporta esse produto, principalmente para países da União Europeia (EVERS et al., 2013).

Além disso, causa aborto com subseqüentes perdas produtivas em diferentes espécies de animais de produção (LANGONI et al., 2007).

2.2.1 Ciclo biológico de *Toxoplasma gondii*

Os felídeos são os únicos hospedeiros definitivos do parasito, uma vez que nesses ocorre o ciclo sexuado de *T. gondii*. Esses se infectam a partir da

ingestão de taquizoítos ou bradizoítos contidos em cistos, presentes nos tecidos de roedores e carne de outras espécies de mamíferos e aves, inclusive equinos. Os felinos ainda podem se infectar pela ingestão de oocistos esporulados, vias transplacentária e lactogênica (DUBEY et al., 2009).

No intestino dos felídeos ocorre reprodução assexuada com geração de merozoítos e a reprodução sexuada do parasito, em que merozoítos originam gametas. Estes formam o zigoto e conseqüentemente o oocisto. Posteriormente, ocorre a eliminação de oocistos de *T. gondii* nas fezes do gato, que se esporulam no ambiente, tornando-se infectantes quando submetidos a condições ótimas de temperatura, umidade e oxigenação (KAWAZOE, 2005).

Várias espécies se comportam como hospedeiro intermediário de *T. gondii*, como equinos, bovinos, caprinos, ovinos, suínos, aves, homem, entre outros. Nestas espécies ocorre o ciclo extraintestinal ou tecidual do parasito (NAVES et al., 2005). O homem pode atuar como hospedeiro intermediário do parasito, podendo se infectar pela ingestão de oocistos em hortaliças e outros alimentos contaminados (EVERS et al., 2013). Os roedores possuem papel de importância no ciclo, uma vez que são naturalmente presas dos felinos. Estes podem se infectar ingerindo oocistos no ambiente ou cistos em carnes de outros hospedeiros infectados (TASSI, 2007).

Nos hospedeiros intermediários, os oocistos liberam esporozoítos que infectam grande variedade de células, como fibroblastos, macrófagos, células endoteliais células musculares e células epiteliais (DUBEY et al., 2009). Posteriormente, se transformam em taquizoítos que são em forma de meia lua, ovóides ou redondos, com núcleo terminal ou central, apresentando multiplicação rápida e se localizando no interior das células hospedeiras, formando o vacúolo parasitóforo em seu citoplasma (KAWAZOE, 2005).

Nos hospedeiros intermediários, *T. gondii* forma cistos nos tecidos, contendo bradizoítos em seu interior, que podem ser ingeridos pelos felídeos,

quando músculos e vísceras, entre outros tecidos, são fornecidos e ingeridos por esses animais, recomeçando o ciclo (DUBEY et al., 2009). Esses cistos são formados nos tecidos como uma forma de resistência do protozoário às defesas do hospedeiro. Desse modo, os taquizoítos se transformam em bradizoítos, que são formas de resistência (TASSI, 2007). Os seres humanos podem se contaminar ao ingerirem cistos teciduais contendo bradizoítos presentes na carne de equinos contaminada, desenvolvendo a doença (LOPES et al., 2013). O ciclo do protozoário está representado na Figura 2.

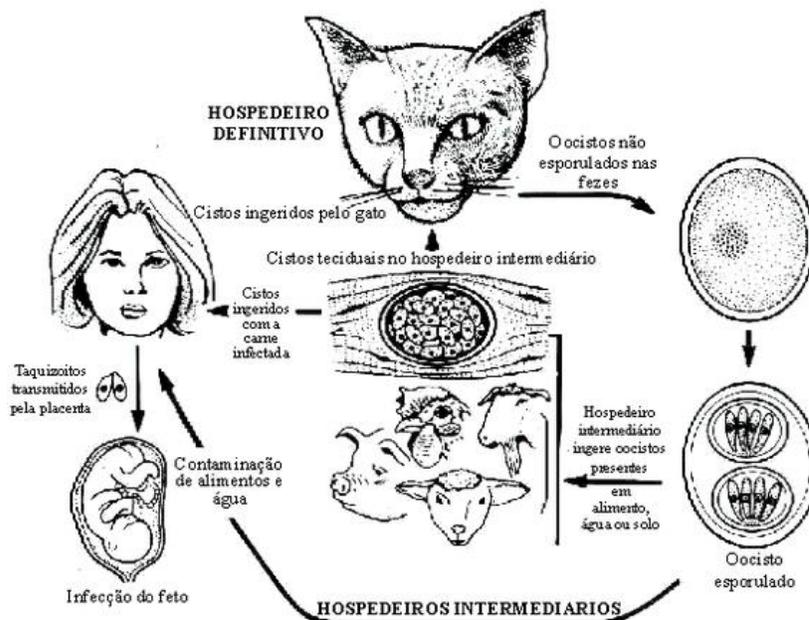


Figura 2 – Ciclo biológico de *Toxoplasma gondii* (Dubey et al., 1998)

2.2.2 Mecanismos de transmissão

Os equinos se contaminam mais comumente ingerindo ou inalando oocistos esporulados presentes no alimento, na água e na cama que foram contaminados com fezes de felídeos infectados (LANGONI et al., 2007).

A ingestão de tecidos não cozidos de equinos clinicamente saudáveis, contendo cistos de *T. gondii*, pode causar infecção no homem. Embora o consumo de carne equina no Brasil não seja expressivo, nosso país exporta esse produto, daí a grande importância econômica e sanitária da toxoplasmose nessa espécie (POMARES et al., 2011). O ser humano ainda pode se infectar com a ingestão de oocistos eliminados por felídeos, contaminando os alimentos. Os autores ainda citaram que a toxoplasmose no homem é grave em pacientes imunocomprometidos e em mulheres gestantes. A transmissão transplacentária e o aborto já foram relatados, ou seja, podem ocorrer, mas de forma rara (EVERS et al., 2013; LOPES et al., 2013).

2.2.3 Patogenia e sinais clínicos

Segundo Gennari et al. (2015), os equinos, salvo raras exceções, são uma das espécies que menos sofrem efeitos patogênicos do *T. gondii*. A infecção nessa espécie é subclínica (assintomática) na maioria das vezes, com sintomatologia atípica em raros casos (MIAO et al., 2013).

Na espécie equina já foram relatados sinais clínicos neurológicos e reprodutivos causados por *T. gondii*. Houve relato de aborto, nascimento de potros fracos, incoordenação, hiperexcitabilidade, hipertermia, perda de apetite, prostração, diarreia, pneumonia, alterações locomotoras, corrimento nasal e alterações oftalmológicas, como cegueira (DUBEY et al., 2009; LANGONI et al., 2007; NAVES et al., 2005; TASSI, 2007). A localização dos cistos determina a sintomatologia clínica da doença, que varia de casos assintomáticos até lesões nervosas irreversíveis. Esses autores ainda citam que, muitas vezes, o animal pode albergar o parasito na forma de cistos teciduais que não trazem sintomatologia clínica para o animal, porém mantêm uma infecção crônica persistente.

2.2.4 Diagnóstico

De acordo com Tassi (2007), a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) é o método “padrão ouro” para a detecção de anticorpos anti-*T. gondii*, requerendo um conjugado específico para os equinos. Testes como aglutinação modificada (MAT), teste de aglutinação de anticorpos indireta (IHA), aglutinação direta (DAT), ensaio imunoenzimático (ELISA), aglutinação com látex (LAT) e uso do corante Sabin-Feldman (SFDT) também podem ser utilizados, com eficiência semelhante ou inferior à RIFI (ALANAZI et al., 2011; DANGOUDUBIYAM et al., 2011; JAKUBEK et al., 2006; LANGONI et al., 2007; MATSUO et al., 2014; MIAO et al., 2013). O diagnóstico diferencial é feito com protozoários do gênero *Neospora* spp. e *S. neurona*. *T. gondii* se distingue deste último parasito estrutural e antigenicamente (DUBEY et al., 2001).

2.2.5 Prevalência e fatores de risco

A toxoplasmose é uma doença cosmopolita, relatada em todos os continentes, com diferentes condições climáticas (DUBEY et al., 2009). A prevalência da toxoplasmose nos equinos varia com o método diagnóstico utilizado, ponto de corte do teste, idade dos animais, condições de higiene das propriedades e fatores intrínsecos à região, como fatores culturais, socioeconômicos e climáticos (EVERS et al., 2013; TASSI, 2007).

As prevalências de anticorpos anti-*T. gondii* em equinos no Brasil e no mundo apresentam uma ampla variação, conforme pode ser observado nos Quadros 3 e 4. No Brasil, essa prevalência variou de 1,33 a 32,8% (EVERS et al., 2013; GENNARI et al., 2015; LARANGEIRA et al., 1985) quando se utilizou a RIFI com ponto de corte 1:64. No mundo, essa variação foi de 0 a 72,2% (ALSHAHERY & MANSOUR, 2012; MATSUO et al., 2014).

Quadro 3. Soroprevalência de *Toxoplasma gondii* em equinos no Brasil.

Estados	N	Prevalência (%)	Teste	Ponto de corte	Referência
Brasil	101	15,8%	MAT	1:64	Dubey et al. (1999a)
AL, MG, PB, PE, PI, RN	453	28,4	RIFI	1:64	Gennari et al. (2015)
BA	343	1,5	RIFI	1:64	Mendonça et al. (2001)
GO, MG, MT, MS, PR, RJ	398	11,6	RIFI	1:64	Evers et al. (2013)
MG	117	12,82	RIFI	1:16	Naves et al. (2005)
MT, MS, PR, SP	561	31,55	RIFI	1:16	Vidotto et al. (1997)
MS	750	32,8	RIFI	1:64	Larangeira et al. (1985)
MS	23	60,87	HAI	1:25	Marques et al. (2009)
MS	200	2,5	RIFI	1:50	Laskoski et al. (2015)
PA	440	6,4	RIFI	1:16	Norlander (2014)
PB	204	8,3	RIFI	1:64	Oliveira et al. (2012)
PE	16	43,7	RIFI	1:16	Costa et al. (2012)
PR	100	17,3	RIFI	1:64	Finger et al. (2013)
PR	36	2,7	RIFI	1:50	Locatelli-Dittrich et al. (2006)
PR	173	12,1	RIFI	1:64	Garcia et al. (1999)
RJ	430	4,42	RIFI	1:64	Gazeta et al. (1997)
RJ	375	2,13	RIFI	1:16	Stelmann (2014)
RS	181	27,6	ELISA	1:100	Pivoto et al. (2014)
SC	112	2,8	RIFI	1:64	Abreu et al. (2014)
SP	77	5	SFDT	1:16	Macruz et al. (1975)
SP	253	5,9	RIFI	1:16	Camossi et al. (2010)
SP	1984	7	MAT	1:64	Langoni et al. (2007)
SP	900	24,8	RIFI	1:64	Costa et al. (1986)

HAI= Teste de hemaglutinação indireta; MAT= Teste de aglutinação modificado; RIFI= Reação de imunofluorescência indireta; SFDT= Reação de Sabin Feldman.

Quadro 4. Soroprevalência de *Toxoplasma gondii* em equinos em diferentes países.

País	N	Prevalência (%)	Teste	Ponto de corte	Referência
Arábia Saudita	266	31,6	SFDT	1:64	Alanazi et al. (2011)
Argentina	76	13,1	MAT	1:25	Dubey et al. (1999b)
China	399	27,1	HAI	1:64	Miao et al. (2013)
China	711	25,0	MAT	1:25	Yang et al. (2013)
Coreia do Sul	191	2,6	RIFI	1:100	Gupta et al. (2002)
Costa Rica	315	34,0	ELISA	1:100	Dangoudoubiyam et al. (2011)
Egito	420	40,5	RIFI	1:64	Ghazy et al. (2007)
Espanha	616	10,8	MAT	1:25	García-Bocanegra et al. (2012)
EUA	276	0,4	MAT	1:25	Dubey et al. (2003)
Grécia	773	1,8	ELISA	1:100	Kouam et al. (2010)
Holanda	85	7	ELISA	1:10	Van Knapen et al. (1982)
Índia		11,8			Chhabra et al. (1985)
Irã	235	48,5	MAT	1:20	Tavalla et al. (2015)
Iraque	79	72,2	LAT	1:20	Alshahery & Mansour (2012)
Japão	100	0,0	LAT	1:32	Matsuo et al. (2014)
México	495	6,1	MAT	1:25	Alvarado-Esquivel et al. (2012)
Nigéria	70	37,1	HAI	-	Aganga et al. (1983)
Portugal	173	13,3	MAT	1:40	Lopes et al. (2013)
Rep. Tcheca	552	23,0	LAT	1:25	Bártová et al. (2010)
Sudão	223	30,04	LAT	-	Ibrahim et al. (2014)
Suécia	414	0,5	DAT	1:40	Jakubek et al. (2006)
Tunísia	158	17,7	MAT	1:20	Boughattas et al. (2011)
Turquia	189	20,6	SFDT	1:16	Akca et al. (2004)

SFDT= Reação de Sabin Feldman; MAT= Teste de aglutinação modificado; HAI= Teste de hemaglutinação indireta; ELISA= ensaio imunoenzimático; RIFI= Reação de imunofluorescência indireta; LAT= Teste de aglutinação em látex; DAT= Teste de aglutinação direta.

A presença de felídeos nas propriedades e criações vizinhas (DUBEY et al., 2009) e a sua densidade populacional (EVERS et al., 2013) aumenta a probabilidade de o equino entrar em contato com o parasito. García-Bocanegra et al. (2012) sugeriram que muares são mais susceptíveis à infecção por *T. gondii* se comparado aos equinos. Esses autores, assim como Garcia et al. (1999) citaram que a criação concomitante de bovinos e equídeos contribui para a infecção, uma vez que os primeiros favorecem a manutenção do ciclo na propriedade. A criação conjunta de ovinos com equinos também pode predispor à infecção pelo parasito, pelo mesmo motivo que bovinos (GARCIA et al., 1999).

Kouam et al. (2010) citaram que características relativas à localização geográfica, condições ambientais e o tipo de atividade dos equinos podem determinar maior ou menor predisposição à infecção. Conforme Naves et al. (2005), a fonte de água e o tipo de alimento fornecido aos animais também podem determinar o risco de o equino se infectar. De acordo com Garcia et al. (1999), Naves et al. (2005), Camossi et al. (2010), Alvarado-Esquivel et al. (2012) e Lopes et al. (2013), idade, raça e sexo dos equídeos não influenciaram na ocorrência da infecção por *T. gondii*.

2.2.6 Prevenção e controle

Segundo Dubey et al. (2009), a infecção por *T. gondii* deve ser controlada a partir da restrição do acesso de felinos aos alimentos e à cama dos animais domésticos, entre esses os equinos, além do acesso daqueles a carcaças de animais. Além disso, deve-se evitar o fornecimento de carne e outros tecidos de animais de produção sem prévio cozimento para os felídeos.

Medidas de biossegurança e higiene ambiental também são essenciais para a prevenção da toxoplasmose (TASSI, 2007). O armazenamento correto de rações, limpeza de baias e bom asseio das demais instalações também são

importantes. Ainda se deve evitar a presença de felinos em criatórios de equinos, principalmente em locais de armazenamento e fornecimento de alimentos. As medidas de biossegurança devem se estender por propriedades vizinhas, uma vez que o felino pode circular entre esses criatórios.

2.3 Neosporose equina

A neosporose equina pode ser causada pelos protozoários *Neospora caninum* e *N. hughesi*, que são parasitos intracelulares obrigatórios, com particularidades na sua morfologia e ciclo biológico (GOODSWEN et al., 2013). Segundo esses autores, diferenças em proteínas, DNA, tamanho e espessura da parede dos cistos teciduais diferenciam as duas espécies.

N. caninum foi isolado pela primeira vez em 1984, em cães na Noruega, e *N. hughesi* foi descrito primeiramente em 1998, em equinos com distúrbios neurológicos (DUBEY et al., 2007). Esses protozoários, cosmopolitas, pertencem ao Filo Apicomplexa, Classe Sporozoea, Ordem Eucoccidiida e Família Sarcocystidae, e são capazes de infectar uma grande variedade de hospedeiros, incluindo os mamíferos domésticos (GOODSWEN et al., 2013). De acordo com esses autores, *N. caninum* possui morfologia e ciclo biológico parecido com *T. gondii*, diagnosticado erroneamente como essa espécie até meados da década de 80. Esses autores classificaram a neosporose como uma doença emergente, com potencial zoonótico ainda incerto.

A neosporose é mais conhecida em bovinos, espécie na qual causa abortos e traz grande prejuízo econômico, e em caninos, em que causa sinais neurológicos (DUBEY et al., 2007). Apesar disso, a infecção por *Neospora* spp. possui importância para os equinos, devido ao seu importante papel de hospedeiro intermediário, se infectando e podendo desenvolver sintomatologia nervosa e/ou reprodutiva (ANTONELLO et al., 2012).

Neospora hughesi ainda não foi isolado na América do Sul (STELMANN, 2014), e os antígenos utilizados em estudos de soroprevalência na região são de *N. caninum*. Porém, como existe reação cruzada entre as espécies, não é possível diferenciar qual a espécie de *Neospora* está causando a infecção em equinos, por meio de métodos sorológicos (PATITUCCI et al., 2004).

2.3.1 Ciclo biológico de *Neospora caninum*

Os hospedeiros definitivos de *N. caninum* são os canídeos, incluindo o cão doméstico, coiotes, dingos e lobos (DUBEY et al., 2011). Já o hospedeiro definitivo de *N. hughesi* permanece desconhecido (HOANE et al., 2006).

O cão se infecta a partir da ingestão de carne, carcaças, fetos e restos placentários contaminados com cistos do parasito, contendo bradizoítos em seu interior. No trato intestinal do cão, os bradizoítos se transformam em taquizoítos e estes fazem reprodução assexuada. Depois disso, os taquizoítos se diferenciam em merozoítos, que se diferenciam em gametas, fazendo a reprodução sexuada, originando o zigoto e posteriormente o oocisto (ABREU et al., 2014).

De acordo com Dubey et al. (2007), o hospedeiro definitivo libera oocistos não esporulados do parasito em suas fezes, contaminando o solo, os alimentos e a água. Esses oocistos esporulam no ambiente em torno de 24 horas. A partir desse ponto, os oocistos esporulados podem ser ingeridos pelos hospedeiros intermediários. A esporulação é baseada na formação de dois esporocistos, cada um com quatro esporozoítos (LOCATELLI-DITTRICH et al., 2006).

Mamíferos (equinos, bovinos, caprinos, ovinos, bubalinos, cães, roedores e raposas) e aves atuam como hospedeiros intermediários de *N. caninum*. Nesses hospedeiros, os oocistos liberam esporozoítos que podem infectar várias células, como macrófagos, células nervosas, fibroblastos, células

endoteliais, miócitos, células epiteliais e hepatócitos, posteriormente se transformam em taquizoítos (DUBEY et al., 2011). Taquizoítos de *N. caninum* são ovóides, redondos ou em forma de meia lua, com núcleo terminal ou central, apresentando multiplicação rápida e se localizando no interior do citoplasma das células hospedeiras, formando o vacúolo parasitóforo (LOCATELLI-DITTRICH et al., 2006).

Nos hospedeiros intermediários, *Neospora* spp. forma cistos nos tecidos, contendo bradizoítos em seu interior, que podem ser ingeridos pelos canídeos, quando vísceras e músculos são acessados por esses animais, recomeçando o ciclo (DUBEY et al., 2011). Os cistos são formados como resistência do parasito à imunidade do hospedeiro. Desse modo, os taquizoítos se transformam em bradizoítos, que são formas de multiplicação lenta (LOCATELLI-DITTRICH et al., 2006).

Dubey et al. (2007) citaram que o equino é sabidamente o hospedeiro intermediário para *N. hughesi*, porém, seu papel como hospedeiro intermediário para *N. caninum* permanece obscuro. O ciclo biológico de *N. hughesi* não foi completamente elucidado, e não se sabe se existem outros hospedeiros intermediários além dos equinos, uma vez que até hoje não foi comprovada a infecção de bovinos por essa espécie (HOANE et al., 2006). O ciclo biológico de *N. caninum* é representado na Figura 3.

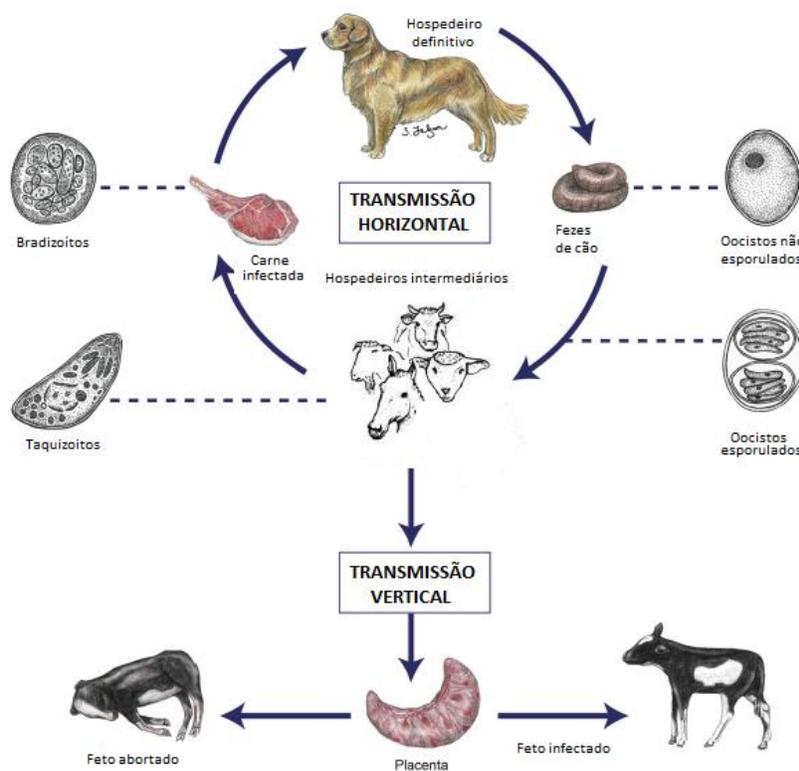


Figura 3 – Ciclo biológico de *Neospora caninum* adaptado de Goodswen et al. (2013) e Dubey et al. (2007).

2.3.2 Mecanismos de transmissão

De acordo com Dubey et al. (2007), todos os estágios infecciosos do parasito (bradizoítos, taquizoítos e oocistos) estão envolvidos na transmissão de *N. caninum*. Esses autores acreditam que o cão, provavelmente, se infecta ingerindo tecidos de herbívoros contaminados, contendo bradizoítos.

Os hospedeiros intermediários se infectam provavelmente pela ingestão de alimentos e água contaminados com oocistos esporulados. Esses também podem se infectar ao ingerir tecidos com bradizoítos, como fetos e restos placentários. (ABREU et al, 2014).

De acordo com Toscan et al. (2010) e Antonello et al. (2012), a infecção vertical pode ocorrer a partir da transmissão de taquizoítos da égua gestante para o feto, uma vez que encontraram associação entre potros soropositivos com mães soropositivas. Esse tipo de transmissão pode ser transplacentária ou congênita. Williams et al. (2009) e Dubey et al. (2007) citaram que a transmissão vertical foi demonstrada em várias espécies, como cães, suínos, ruminantes, felinos, símios e camundongos.

2.3.3 Patogenia e sinais clínicos

A patogenia da infecção por *N. caninum* e *N. hughesi* ainda não foi completamente esclarecida nos equinos (TOSCAN et al.; 2010). Na maioria dos casos, o parasito pode ficar presente no hospedeiro intermediário por muitos anos, sem necessariamente haver manifestação clínica. Essa pode ocorrer em casos de imunossupressão (LOCATELLI-DITTRICH et al., 2006).

Em equinos, infecções por *N. caninum* estão mais relacionadas à ocorrência de aborto em qualquer época da gestação, principalmente no terço médio, além de doenças neonatais, como nascimento de potros fracos (LOCATELLI-DITTRICH et al., 2006).

A infecção por *N. hughesi* está mais associada a transtornos neurológicos, fazendo parte do complexo da mieloencefalite protozoária equina (MPE), juntamente com *S. neurona*, embora não seja pesquisado rotineiramente quando há suspeita dessa síndrome (DUBEY et al., 2001; KLIGLER et al., 2007). Dubey et al. (2007) citaram que esta espécie causa sintomatologia nervosa pelo fato do cisto de o parasito se alojar no tecido nervoso do animal.

A neosporose equina está relacionada a distúrbios reprodutivos, neonatais, viscerais e neurológicos (LOCATELLI-DITTRICH et al., 2006). Segundo Dubey et al. (2007), sinais como aborto, cegueira, perda de peso,

paralisia de membros posteriores, mudança de comportamento, ataxia e incoordenação podem estar relacionados com a doença.

2.3.4 Diagnóstico

O histórico de abortos de éguas, mortalidade neonatal e quadro clínico neurológico dos animais são compatíveis com a neosporose. Métodos sorológicos e parasitológicos podem ser usados no diagnóstico da doença (DUBEY et al., 2007). Entre os testes sorológicos, aqueles mais empregados são a reação de imunofluorescência indireta (RIFI), ensaio imunoenzimático (ELISA), soroglutinação direta e Western Blot. Entre os testes parasitológicos destacam-se os exames imunoistoquímico, histopatológico, isolamento *in vitro* e *in vivo* e detecção direta do DNA do parasito pela reação em cadeia da polimerase (PCR) (HOANE et al., 2006).

Os métodos sorológicos utilizam taquizoítos de *N. hughesi* e *N. caninum*. Essas espécies apresentam os mesmos antígenos de superfície, tornando-se indistinguíveis nos métodos sorológicos convencionais (JAKUBEK et al., 2006). A RIFI pode utilizar como pontos de corte diluições de 1:50 e 1:100. A diluição de 1:50 permite uma melhor detecção de um cavalo infectado, ou seja, melhora a sensibilidade do teste (VARDELEON et al., 2001). O diagnóstico diferencial deve ser feito para *S. neurona* e *T. gondii*. (DUBEY et al., 2001).

2.3.5 Prevalência e fatores de risco

As soroprevalências encontradas em estudos realizados no Brasil e em diferentes países constam nos quadros 5 e 6. No Brasil (Quadro 5), a soroprevalência de *Neospora* spp. em equinos aparentemente saudáveis variou de 0 a 57,6% (DUBEY et al., 1999a; STELMANN et al., 2011) e, no exterior (Quadro 6), de 0 a 35% (DUBEY et al., 1999b; PATITUCCI et al., 2004). De

acordo com Dubey et al. (2007), deve-se ter precaução quando se compara resultados diferentes obtidos nesses estudos. A prevalência de *N. caninum* pode ser influenciada pela região do estudo, tipo e ponto de corte dos métodos de diagnósticos, presença e hábitos alimentares dos cães na propriedade, e histórico da ocorrência do parasito nas propriedades (ABREU et al., 2014).

Quadro 5. Soroprevalência de *Neospora* spp. em equinos no Brasil

Estado	N	Prevalência (%)	Teste	Ponto de corte	Referência
BA,GO, MG,MS, MT, PR, SC, SP, RO RS	956	2,5	ELISA	1:100	Hoane et al. (2006)
PR	17	47,0	RIFI	1:50	Locatelli-Dittrich et al. (2006)
PR	97	14,4	RIFI	1:50	Villalobos et al. (2012)
RJ	375	1,87	RIFI	1:50	Stelmann (2014)
RS	116	13,8	RIFI	1:50	Toscan et al. (2010)
RS	138	15,4	RIFI	1:50	Toscan et al. (2011)
RS	91	15,4	RIFI	1:50	Sangioni et al. (2011)
RS	181	21,5	ELISA	1:100	Pivoto et al. (2014)
RS e SP	101	0	MAT	-	Dubey et al. (1999a)
SC	112	25,71	RIFI	1:50	Abreu et al. (2014)
SC	615	4,1	RIFI	1:50	Moura et al. (2013)
SP	1106	15,1	RIFI	1:50	Villalobos et al. (2006)
SP	26	57,6	RIFI	1:50	Stelmann et al. (2011)

RIFI= Reação de imunofluorescência indireta; ELISA= Teste imunoenzimático; NAT= Teste Aglutinação de *Neospora*; N-MAT= Teste de aglutinação modificada

Quadro 6. Soroprevalência de *Neospora* spp. em equinos em diferentes países.

País	N	Prevalência (%)	Teste	Ponto de corte	Referência
Arábia Saudita	229	10	RIFI	1:50	Alanazi et al. (2013)
Argentina	76	0	NAT	1:40	Dubey et al. (1999b)
Chile	145	35	NAT	1:40	Patitucci et al. (2004)
Coreia	191	2,0	RIFI	1:100	Gupta et al. (2002)
Costa Rica	315	3,5	ELISA	1:100	Dangoudoubiyam et al. (2011)
EUA	296	23,3	NAT	1:25	Dubey et al. (1999c)
EUA	536	11,5	RIFI	1:50	Cheadle et al. (1999)
EUA	208	17	RIFI		Vardeleon et al. (2001)
EUA	276	31,1	NAT	1:25	Dubey et al. (2003)
EUA	484	2,1	RIFI	1:40	Duarte et al. (2004a)
França	434	23,0	NAT	1:40	Pitel et al. (2001)
Irã	200	32,0	NMAT	1:80	Moraveji et al. (2011)
Irã	235	20	NMAT	1:40	Tavalla et al. (2015)
Itália	150	28,0	RIFI	1:50	Ciaramella et al. (2004)
Israel	800	8,9	RIFI	1:50	Kligler et al. (2007)
México	495	3	ELISA	1:100	Yeargan et al. (2013)
Rep.Tcheca	552	24,0	ELISA	1:50	Bártová et al. (2010)
Turquia	75	9,3	ELISA	1:100	Kilbas et al. (2008)
Suécia	414	1,0	ELISA	1:100	Jakubek et al. (2006)

RIFI= Reação de imunofluorescência indireta; ELISA= Teste imunoenzimático; NAT= Teste Aglutinação de *Neospora*; NMAT= Teste de aglutinação modificada

A presença de bovinos (DUBEY et al., 2007; MOURA et al., 2013) e cães (ABREU et al., 2014; VILLALOBOS et al., 2012) nas propriedades ou de cães em propriedades vizinhas está relacionada à infecção em equinos. Segundo os autores, esses são fatores de risco chave para ocorrência do parasito nessas espécies, ainda que a presença deste não implique diretamente a eliminação de oocistos. Animais silvestres também podem estar envolvidos no risco de transmissão, como hospedeiros definitivos ou intermediários (DUBEY et al.,

2011). Segundo Stelmann (2014) os felinos estão associados à soropositividade para o agente, uma vez que podem carrear oocistos do parasita em seu corpo após rolares na terra e contaminarem alimentos.

A forma de armazenamento e fornecimento de alimentos sem asseio, permitindo o acesso de outros animais pode também ser fator de risco para a infecção (DUBEY et al., 2007; STELMANN, 2014). Moura et al. (2013) mostraram que equinos de raça pura são mais propensos à soropositividade para *Neospora* spp do que animais mestiços. Segundo Dubey et al. (2007) e Moura et al. (2013), o clima pode interferir no risco de se adquirir a infecção, uma vez que regiões mais quentes e úmidas permitem melhores condições para a esporulação de oocistos.

Toscan et al. (2010) mostraram uma soropositividade significativamente maior em potros nascidos de éguas soropositivas, criados nas mesmas condições. Segundo Pusterla et al. (2014b), a transmissão transplacentária de *N. hughesi* pode ocorrer em éguas com infecção latente. De acordo com Villalobos et al. (2006), Locatelli-Dittrich et al. (2006), Stelmann (2014) e Abreu et al. (2014), houve relação significativa entre soropositividade em éguas e o histórico de falhas reprodutivas.

2.3.6 Prevenção e controle

A prevenção da neosporose é feita visando evitar não só o acesso de cães a fetos abortados, restos placentários, comedouros, bebedouros e locais de armazenamento de alimentos, assim como a utilização de fêmeas soronegativas na reprodução (DUBEY et al., 2007). Segundo Locatelli-Dittrich et al. (2006), a seleção de um rebanho soronegativo, e a realização da sorologia antes da compra ou importação do animal também se tornam uma alternativa eficaz na prevenção da neosporose equina. Esses autores ainda relataram que a doença deve ser incluída na rotina de diagnóstico da mieloencefalite protozoária equina (MPE).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Determinar a prevalência de anticorpos IgG anti-*S. neurona*, *T. gondii* e *Neospora* spp., em cavalos da raça Mangalarga Marchador criados no sul de Minas.

3.2 Objetivo específico

Avaliar os fatores epidemiológicos relacionados ao manejo, sanidade e estrutura da propriedade associados à soropositividade para *S. neurona*, *T. gondii* e *Neospora* spp., em cavalos Mangalarga Marchador criados no sul de Minas.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local e duração do estudo

Este estudo observacional de corte transversal foi realizado a partir da coleta de amostras de sangue de 506 cavalos da raça Mangalarga Marchador criados na região Sul do estado de Minas Gerais, em torno do meridiano 45°W e paralelo 21°S.

Os equinos eram criados em 53 propriedades distribuídas por 27 municípios das microrregiões de Andrelândia, Lavras, São João Del Rey, São Lourenço e Varginha: Aiuruoca, Andrelândia, Baependi, Bom Sucesso, Cambuquira, Campo Belo, Carmo da Cachoeira, Carmo de Minas, Carrancas, Caxambu, Conceição do Rio Verde, Cristina, Cruzília, Ijaci, Itutinga, Lavras, Luminárias, Madre de Deus de Minas, Minduri, Nepomuceno, São João Del Rey, São Lourenço, São Thomé das Letras, São Vicente de Minas, Três

Corações, Três Pontas e Varginha (Figura 4). As amostras foram coletadas no período de abril de 2012 a outubro de 2013.

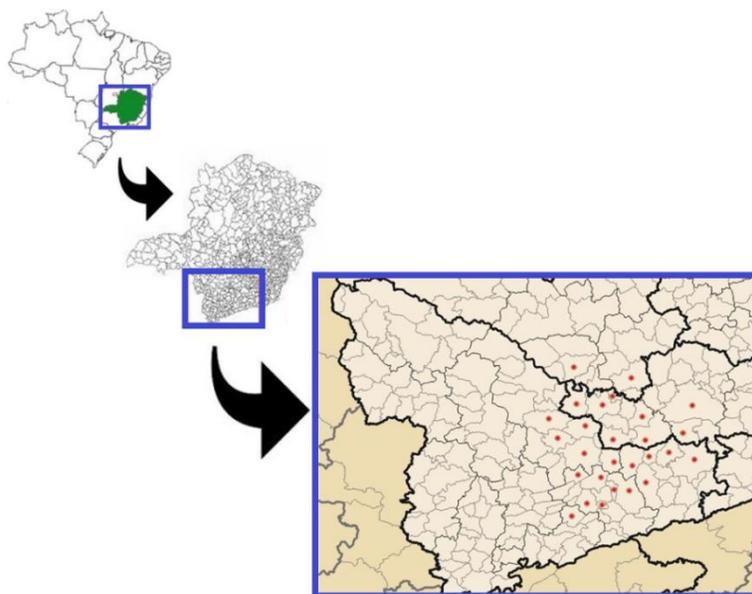


Figura 4 – Municípios do Sul de Minas envolvidos no estudo

Em todos os criatórios visitados, cada proprietário ou responsável autorizou a realização dos procedimentos necessários à pesquisa por meio de assinatura de termo de consentimento.

4.2 Amostra

4.2.1 Propriedades

As 53 propriedades que participaram deste estudo foram escolhidas de maneira aleatória a partir da orientação das associações de criadores de cavalos Mangalarga Marchador.

Na amostragem das propriedades, procurou-se manter a proporção entre mesorregiões avaliadas, tamanho dos criatórios e estrutura destes, buscando-se equilibrar a representatividade.

4.2.2 Animais

Alguns critérios foram utilizados para inclusão dos animais na pesquisa. Cada propriedade deveria ter no mínimo 10 equinos para a realização do cálculo de prevalência para *S. neurona*, *T. gondii* e *Neospora* spp. Além disso, éguas gestantes e potros menores de seis meses de idade não foram incluídos na amostragem, devido aos seguintes motivos: éguas gestantes são animais mais sensíveis à manipulação e animais com até seis meses de idade apresentam o risco de possuírem ainda anticorpos colostrais (imunidade passiva), interferindo no diagnóstico sorológico.

Ao todo foram utilizados 506 animais. Foram considerados potros os animais com até 24 meses de idade. Todos os animais analisados se apresentavam clinicamente saudáveis no momento da coleta das amostras de sangue.

A definição do número de equinos (n) necessário para estimar a prevalência foi baseada na fórmula do Centro Panamericano de Zoonoses (Cepanzo, 1979), apropriada para o cálculo de amostras para pesquisa de doenças crônicas: $n = [p \times (100-p) \times Z^2] / (d \times p/100)^2$. Considerando uma prevalência estimada (p) de 50%, um grau de confiança (z) a 95% de 1,96 e uma margem de erro (d) admissível de 10%, foi obtido um número mínimo (n) de 384 equinos.

As amostras de sangue foram coletadas por venopunção da jugular em tubos tipo vacutainer. No laboratório de Doenças Parasitárias da Universidade Federal de Lavras (UFLA), após a centrifugação a 2500rpm por 10 minutos,

amostras de plasma foram armazenadas em criotubos, identificadas individualmente, e congeladas a -20°C.

4.3 Coleta de informações sobre os criatórios

Um questionário, adaptado de Rosa (2014), foi aplicado aos proprietários ou responsáveis pelos criatórios, contendo tópicos relacionados à sanidade do rebanho, ao criador, manejo e estrutura das propriedades. Ainda foram elaboradas questões relativas ao histórico de problemas reprodutivos e quadros neurológicos nos rebanhos estudados.

Estas informações coletadas a partir do questionário serviram como variáveis independentes para as análises posteriores que verificaram a associação entre soropositividade para *S. neurona*, *T. gondii* e *Neospora* spp., com os fatores sanitários, as práticas de manejo, e as variáveis socioculturais observadas nas propriedades. Foram analisadas 305 variáveis no total.

4.4 Sorologia

O método escolhido para a pesquisa de anticorpos IgG anti-*S. neurona*, *T. gondii* e *Neospora* spp. foi à reação de imunofluorescência indireta (RIFI), considerado o teste padrão-ouro para diagnóstico sorológico dos dois últimos protozoários (DUBEY et al., 2011; LANGONI et al., 2007). Embora não seja o teste de eleição para *S. neurona*, a RIFI pode ser utilizada para o diagnóstico deste parasito (JOHNSON et al., 2013). A sorologia foi realizada no Laboratório de Doenças Parasitárias da UFLA.

Na pesquisa de anticorpos anti-*S. neurona*, a RIFI foi realizada conforme descrita por Johnson et al. (2013). Como antígenos, foram utilizados merozoítos de *S. neurona*, produzidos em cultivo celular, e gentilmente cedidos pelo Dr. Luis Fernando Pita Gondim, da Universidade Federal da Bahia (UFB). Dez microlitros de uma solução com merozoítos de *S. neurona* foram colocados

em cada um dos 12 poços de lâminas para RIFI. Após secarem em temperatura ambiente, as lâminas foram armazenadas em freezer a -20°C até o momento de uso.

Na RIFI para *T. gondii*, foi utilizada a técnica descrita por Langoni et al. (2007). Como antígenos, utilizaram-se taquizoítos do parasito (cepa RH), gentilmente cedidos pelo Dr. Ricardo Wagner de Almeida Vitor, da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), que foram reproduzidos no Laboratório de Doenças Parasitárias da UFLA. Após sucessivas inoculações, os taquizoítos eram recuperados por meio de lavagens, com solução salina, da cavidade peritoneal de camundongos. Dez microlitros de uma solução com taquizoítos de *T. gondii* foram colocados em cada um dos 12 poços de lâminas para RIFI. Após secarem em temperatura ambiente, as lâminas foram armazenadas em freezer a -20°C até o momento da sorologia.

Na sorologia para *Neospora* spp., a RIFI foi realizada conforme a técnica descrita por Paré et al. (1995). Foram utilizadas lâminas de vidro contendo taquizoítos de *N. caninum* como antígeno (Laboratório Imunodot, Jaboticabal, SP, Brasil).

Na RIFI para os três protozoários, foi utilizado conjugado anti-IgG equino (SIGMA, Saint Louis, MO, USA) na diluição de 1:64. Também, controles positivo e negativo, dos respectivos protozoários, foram utilizados em cada lâmina durante a sorologia. Os soros foram considerados positivos quando apresentaram fluorescência completa dos merozoítos de *S. neurona* na diluição de 1:80 (DUBEY et al., 2015), e dos taquizoítos de *T. gondii* e *Neospora* spp., respectivamente, nas diluições de 1:64 (ABREU et al., 2014) e 1:50 (LOCATELLI-DITTRICH et al., 2006).

4.5 Análises estatísticas

Para a tabulação dos dados relativos às variáveis estudadas foi utilizado o *software* EpiData. A seguir, esses dados foram ordenados e analisados no programa estatístico SPSS *Statistics* 20.0.

No cálculo da prevalência verdadeira (PV) para anticorpos anti-*S. neurona*, utilizaram-se valores de 94% e 88,9% para sensibilidade (SE) e especificidade (ES), respectivamente, de acordo com Duarte et al. (2003). No caso da PV para *T. gondii*, foram utilizados 90,9% e 100% para SE e ES, respectivamente (LU et al., 2013). Já para a PV de *Neospora* spp., utilizaram-se 91,0% e 99,0%, respectivamente, para SE e (ES), segundo Björkman et al. (1999).

Posteriormente, a SE e a ES entre rebanhos foram utilizadas para calcular a PV em nível de rebanho (NOORDHUIZEN et al. 2001), empregando as calculadoras epidemiológicas do programa EpiTools (SERGEANT, 2011).

No *software* SPSS *Statistics* 20.0, as variáveis relativas às características estruturais, sanitárias e de manejo das propriedades, além das características inerentes aos animais, foram primeiramente submetidas ao teste do qui-quadrado, para demonstrar sua associação com a soropositividade para os três parasitos estudados. As variáveis que apresentaram valor $p < 0,05$ foram consideradas significativas, ou seja, estatisticamente associadas à soropositividade para *S. neurona*, *T. gondii* e *Neospora* spp.

As variáveis que apresentaram um valor de $p < 0,20$ ao teste do qui-quadrado foram posteriormente submetidas ao teste de regressão logística estimada por *Generalized Estimating Equations* (GEE) (BRUHN et al., 2013; CORBELLINI et al., 2006). Segundo esses autores, o GEE analisa modelos múltiplos que consideram as variáveis em dois níveis, examinando conjuntamente variáveis de animais e rebanhos.

Aquelas variáveis que apresentaram um valor de $p < 0,05$ no GEE foram consideradas significativamente associadas à positividade para *S. neurona*, *T. gondii* e *Neospora* spp.

5. RESULTADOS

5.1 Perfil das propriedades

As características gerais observadas nas propriedades de equinos Mangalarga Marchador, relacionadas direta ou indiretamente a diferentes atividades envolvidas na criação desses animais, estão representadas nas tabelas de 1 a 6. Dos animais estudados, 343 eram fêmeas (67,8%) e 163 machos (32,2%), sendo 61 potros (12,1%) e 445 adultos (87,9%).

Em apenas 39,63% (21/53) dos criatórios, a equinocultura era a principal atividade. Outras atividades agropecuárias, como a bovinocultura de leite e corte, assim como culturas de milho, café, eucalipto e feijão eram as principais atividades em muitas propriedades. Dos 53 criatórios, 48 (90,57%) faziam divisa ou possuíam reserva florestal ou mata. Em relação à finalidade da criação, 75,3% (40/53) dos proprietários criavam os equinos visando ao comércio e 64,15% (34/53) à reprodução. Esses resultados encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1. Características observadas em 53 propriedades de cavalos Mangalarga Marchador criados no Sul de Minas.

Variável	Sim (%)
Principal atividade	
Equinocultura	39,63 (21)
Bovinocultura de leite	20,75 (11)
Bovinocultura de corte	9,43 (5)
Agricultura	30,18 (16)
Área da propriedade >100 ha	51,00 (27)
Área para equinos >100 ha	26,41 (14)
Faz divisa ou possui reserva florestal	90,57 (48)
Finalidade de criação	
Comércio	75,30 (40)
Reprodução	64,15 (34)
Esporte	33,96 (18)
Trabalho	32,07 (17)
Área irrigada na propriedade	9,43 (5)

Os animais de 35 rebanhos (66,03%) participavam de feiras agropecuárias ou exposições. Quarenta e oito propriedades (90,56%) possuíam criação de equinos e bovinos concomitantemente, dentre os quais 22 (45,83%) criatórios possuíam consórcio das duas espécies na mesma pastagem. Em 88,67% (47/53) das propriedades existiam outros animais além de equinos e bovinos, com predomínio da presença de cães (84,90%). A interação entre as diferentes espécies de animais ocorria em 73,58% (39/53) dos rebanhos, em maior ou menor grau. Quanto ao manejo, 67,92% (36) dos criadores mantinham seus animais exclusivamente em piquetes. A taxa de lotação era baixa, com menos de um animal/ha, em 86,79% (46) das tropas. A aquisição dos equinos ocorria em 71,69% (38) das propriedades, sendo efetuada em 57,89% (22) dessas mais de uma vez ao ano. Esses resultados encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2. Características relacionadas às práticas de manejo em propriedades de cavalos Mangalarga Marchador criados no Sul de Minas.

Variável	Sim (%)
Participação em eventos	66,03 (35/53)
Criação de equinos e bovinos	90,56 (48/53)
Propriedades com >100 bovinos	31,25 (15/48)
Consórcio de pastagem entre equino/bovino	45,83 (22/48)
Criação de outros animais	88,67 (47/53)
Presença de cães	84,90 (45/53)
Presença de gatos	28,30 (15/53)
Criação de pequenos ruminantes	15,09 (8/53)
Criação de aves	9,40 (5/53)
Criação de animais silvestres	1,80 (1/53)
Interação entre as diferentes espécies	73,58 (39/53)
Manutenção de animais em piquetes	67,92 (36/53)
Manutenção de animais em piquetes e baias	26,41 (14/53)
Manutenção de animais em baias	5,66 (2/53)
Anotação de dados zootécnicos	84,90 (45/53)
Taxa de lotação alta (>1 animal/ha)	13,21 (7/53)
Separação de lotes	79,24 (42/53)
Aquisição de animais	71,69 (38/53)
Aquisição de animais >1 vez por ano	57,89 (22/38)
Principal forma de aquisição de animais	
Leilão	78,94 (30/38)
Comerciante	39,47 (15/38)
Compra informal	34,21 (13/38)

Em relação ao manejo alimentar, 47 (88,67%) criatórios utilizavam capim, e também forneciam ração. Em 38 (80,85%) propriedades o armazenamento de ração é adequado, e em 48 (90,56%) tropas os equinos apresentaram status nutricional satisfatório. A maioria dos criatórios utilizava a técnica de inseminação artificial (62,26%). Esses resultados encontram-se na Tabela 3.

Tabela 3. Características relacionadas ao manejo alimentar e reprodutivo em propriedades de cavalos Mangalarga Marchador criados no Sul de Minas.

Variável	Sim (%)
Utilização de capim	88,67 (47/53)
Fornecimento de feno	39,62 (21/53)
Fornecimento de ração	88,67 (47/53)
Fabricação de ração na propriedade	44,68 (21/47)
Armazenamento adequado de ração	80,85 (38/47)
Status nutricional satisfatório	90,56 (48/53)
Monta natural	94,33 (50/53)
Inseminação artificial	62,26 (33/53)
Transferência de embrião	45,28 (24/53)

No caso do manejo sanitário, das 53 propriedades, 94,33% (50) vacinavam seus animais, e 58,49% (31) tinham assistência veterinária. Os distúrbios reprodutivos ocorriam em apenas 13,20% (7/53) dos criatórios e os distúrbios neurológicos em 1,88% (1/53). Em 90,56% (48) das criações os animais apresentavam status sanitário satisfatório. Esses resultados encontram-se na Tabela 4.

Tabela 4. Características relacionadas ao manejo sanitário em propriedades de cavalos Mangalarga Marchador criados no Sul de Minas.

Variável	Sim (%)
Vacinação de animais	94,33 (50/53)
Assistência técnica de médico veterinário	58,49 (31/53)
Visita do veterinário mais de 1 vez por mês	74,19 (23/31)
Medidas sanitárias na aquisição de animais	71,05 (27/38)
Uso de quarentena na aquisição de animais	65,78 (25/38)
Enfermidades mais comuns na propriedade	
Distúrbios respiratórios	30,18 (16/53)
Distúrbios gastrintestinais	26,41 (14/53)
Distúrbios reprodutivos	13,20 (7/53)
Problemas relacionados a carrapatos	11,32 (6/53)
Distúrbios neurológicos	1,88 (1/53)
Nenhuma enfermidade	16,98 (9/53)
<i>Status</i> sanitário satisfatório	90,56 (48/53)

Em relação às instalações, em 96,22% (51) dos criatórios os currais e as baias apresentavam bom grau de higiene e, em 73,58% (39), as instalações estavam em bom estado de conservação, como é mostrado na Tabela 5.

Tabela 5. Características relacionadas às condições higiênicas em 53 propriedades de cavalos Mangalarga Marchador criados no Sul de Minas.

Variável	Sim (%)
Boa higiene das instalações	96,22 (51)
Área para limpeza e cuidado com animais	50,94 (27)
Boa conservação das instalações	73,58 (39)

Os proprietários dos criatórios, em sua maioria (62,26%), tinham mais de 40 anos de idade e 62,26% exerciam a atividade há mais de 20 anos. Dos 53 proprietários, 24,52% possuíam a atividade de equinocultura como principal fonte de renda. Para 52,83% dos proprietários, o veterinário era a principal fonte de informação sobre a criação de equinos. Esses resultados encontram-se na Tabela 6.

Tabela 6. Características socioeconômicas e culturais observadas em 53 propriedades de cavalos Mangalarga Marchador criados no Sul de Minas.

Variável	Sim (%)
Equinocultura como principal fonte de renda	24,52 (13)
Criação de equinos >20 anos	62,26 (33)
Principal fonte de informação do proprietário	
Veterinário	52,83 (28)
Outros criadores	24,52 (13)
Escrita	11,32 (6)
Outras	11,32% (6)
Mão de obra	
Assalariada	88,67 (47/53)
Familiar	32,07 (17/53)

5.2 *Sarcocystis neurona* em equinos

5.2.1 Soroprevalência

De 506 amostras de soro equino, 117 (23%) apresentaram anticorpos anti-*S. neurona*, com uma prevalência verdadeira (PV) de 26% (IC 95%= 22-30,4%). Das 53 propriedades analisadas, 44 possuíam pelo menos um equino soropositivo, com uma PV de 88,3% (IC 95%= 74,4-91,6%).

5.2.2 Fatores de risco

Propriedades que possuem reservas florestais ou fazem divisa com alguma apresentam elevado risco de terem equinos soropositivos para *S. neurona*. O mesmo ocorre com criatórios que fabricam a própria ração, os quais possuem maior risco de terem equinos infectados por *S. neurona* se comparados àqueles que não a fabricam (Tabela 7).

Tabela 7. Fatores de risco associados com soropositividade para *Sarcocystis neurona* (RIFI 1:80), na análise univariada ($P < 0,05$), em cavalos Mangalarga Marchador criados no Sul de Minas.

Fatores	RIFI – <i>S. neurona</i>				Odds ratio	95% IC (OR)	P*
	Positivo		Negativo				
	N	%	n	%			
Ração feita na propriedade (N=47**)							0,026
Não	13	65,00	7	35,00	1		
Sim	25	92,59	2	7,41	6,731	1,219-37,155	
Tem ou faz divisa com alguma reserva florestal (N=53)							0,030
Não	2	33,33	3	66,67	1		
Sim	42	87,50	6	12,50	10,500	1,445-76,289	

RIFI: reação de imunofluorescência indireta; IC: intervalo de confiança; OR: Odds Ratio; (*)= Teste de qui-quadrado ($P < 0,05$). (**)= 6 propriedades não utilizavam ração. Não houve associação significativa entre soropositividade para o protozoário com sexo, idade, estabulamento e finalidade de criação dos equinos.

5.3 *Toxoplasma gondii* em equinos

5.3.1 Soroprevalência

De 506 amostras de soro equino, 107 (21,15%) foram positivas para *T. gondii*, representando uma prevalência verdadeira (PV) de 19,9% (IC 95% = 15,5-24,8%). Dentre as 53 propriedades, 45 apresentaram pelo menos um equino soropositivo, indicando uma PV de 71,6% (IC 95% = 41-92,8%).

5.3.2 Fatores de risco

Conforme a tabela 8, as propriedades que possuem mais de 100 equinos apresentaram menor risco de terem animais soropositivos para *T. gondii*. Criatórios que vacinam os equinos contra tétano e influenza, assim como aqueles que dispõem de área para tratamento, limpeza e cuidados com os animais apresentaram menor risco de soropositividade para o agente. Equinos acima de cinco anos de idade foram significativamente mais propensos à infecção por *T. gondii* se comparados àqueles menores de cinco anos.

Houve associação significativa entre a utilização de transferência (TE) de embrião e a soropositividade, tanto no teste qui-quadrado (Tabela 8), quanto na análise multivariada por equações lineares generalizadas (GEE).

Neste último teste, em propriedades que não utilizavam a TE, os animais apresentaram o dobro de risco de infecção por *T. gondii* (IC= 1,086-3,003), se comparados com animais de propriedades que utilizavam essa técnica (p=0,023).

Tabela 8. Fatores de risco associados com soropositividade (RIFI 1:64) para *Toxoplasma gondii*, na análise univariada ($P < 0,05$), em cavalos Mangalarga Marchador criados no Sul de Minas.

Fatores	RIFI – <i>T. gondii</i>				Odds ratio	95% IC (OR)	P*
	Positivo		Negativo				
	n	%	N	%			
Total de equinos na propriedade (n= 53)							0,033
>100 animais	6	60,00	4	40,00	1		
<100 animais	39	90,69	4	9,31	6,493	1,272-33,333	
Vacinação contra tétano (n= 53)							0,038
Sim	3	50,00	3	50,00	1		
Não	42	89,36	5	10,64	8,403	1,321-52,631	
Vacinação contra influenza (n= 53)							0,014
Sim	12	66,66	6	33,34	1		
Não	33	94,28	2	5,72	8,264	1,459-47,619	
Utiliza transferência de embrião (n= 53)							0,017
Sim	17	70,83	7	29,17	1		
Não	28	96,55	1	3,45	11,494	1,303-99,999	
Utiliza área de tratamento, limpeza e cuidado com os animais (n= 53)							0,050
Sim	20	74,07	7	25,93	1		
Não	25	96,15	1	3,85	8,771	0,993-76,923	
Idade dos animais (n= 485)							0,011
<5 anos	36	16,29	185	83,71	1		
>5 anos	68	25,76	196	74,24	1,783	1,135-2,799	

RIFI: reação de imunofluorescência indireta; IC: intervalo de confiança; OR: Odds Ratio; (*)= Teste de qui-quadrado ($P < 0,05$). Não foi observada associação significativa entre a infecção pelo *T. gondii* e a presença de gatos, finalidade e sistema de criação, sexo e criação conjunta entre equinos e bovinos.

5.4 *Neospora* spp. em equinos

5.4.1 Soroprevalência

Em 506 amostras de sangue, a prevalência verdadeira (PV) foi de 23,9% (IC 95%= 19,9-28,1%), com 105 equinos positivos para *Neospora* spp. Nas propriedades, a PV foi de 85% (IC 95%= 70,7-96,1%), sendo identificado em 41 criatórios pelo menos um animal soropositivo. Neste estudo, taquizoítos de *N. caninum* foram utilizados como antígeno na RIFI, cujos anticorpos apresentam reação cruzada com *N. hughesi* (GONDIM et al., 2009).

5.4.2 Fatores de risco

Propriedades no Sul de Minas que forneciam feno para os equinos apresentaram um menor risco de terem animais soropositivos para *Neospora* spp. Criatórios em que havia contato entre equinos e outros animais houve maior risco de infecção. Animais acima de 5 anos de idade apresentaram maior risco de serem soropositivos. Esses resultados encontram-se na Tabela 9.

De acordo com a Tabela 10, equinos provenientes de criatórios com a presença de bovinos e de gatos apresentaram maior risco de serem infectados por *Neospora* spp. na análise de regressão logística múltipla, estimada por equações lineares generalizadas (GEE).

Tabela 9. Fatores associados com soropositividade (RIFI 1:50) para *Neospora* spp., na análise univariada ($P < 0,05$), em cavalos Mangalarga Marchador criados no Sul de Minas.

Fatores	RIFI – <i>Neospora</i> spp.				Odds ratio	95% IC (OR)	P*
	Positivo		Negativo				
	N	%	n	%			
Fornecimento de feno (n= 53)							0,045
Sim	13	61,90	8	38,10	1		
Não	28	87,50	4	12,50	4,310	1,096-16,949	
Contato entre equinos e outros animais (n= 53)							0,008
Não	7	50,00	7	50,00	1		
Sim	34	87,18	5	12,82	6,800	1,666-27,761	
Idade dos animais (n= 485)							0,034
<5 anos	37	16,74	184	83,26	1		
>5 anos	65	24,62	199	75,38	1,624	1,035-2,549	

RIFI: reação de imunofluorescência indireta; IC: intervalo de confiança; OR: Odds Ratio; (*)= Teste de qui-quadrado ($P < 0,05$). Não ocorreu associação significativa entre soropositividade para o agente e a presença de cães na propriedade, sexo dos animais, e a ocorrência de distúrbios reprodutivos ou neurológicos nos rebanhos equinos.

Tabela 10. Fatores de risco associados com soropositividade (RIFI 1:50) para *Neospora* spp., na análise de regressão logística múltipla de equações lineares generalizadas (GEE), em cavalos Mangalarga Marchador criados no Sul de Minas.

Fatores	RIFI – <i>Neospora</i> spp.				Odds Ratio	IC (OR)	P
	Positivo		Negativo				
	n	%	n	%			
Presença de bovinos (n= 53)							0,007
Não	2	40,00	3	60,00	1		
Sim	39	81,25	9	18,75	5,280	1,585-17,598	
Presença de gatos (n= 53)							0,045
Não	21	67,74	10	32,26	1		
Sim	15	93,75	1	6,25	1,881	1,015-3,485	

RIFI: reação de imunofluorescência indireta; IC: intervalo de confiança; OR: Odds Ratio.

5.5 Infecção mista

A infecção mista por *S. neurona* e *T. gondii* ocorreu em 3,36% (17/506) dos equinos, e 3,16% (16/506) apresentaram positividade para *T. gondii* e *Neospora* spp. Equinos infectados por *S. neurona* e *Neospora* spp. representaram 2,76% (14/506). A infecção para os três agentes ocorreu em apenas 1,38% (7/506) dos animais. Ressalta-se que 47,23% (239/506) equinos foram soronegativos para os três parasitos.

Entre rebanhos, houve infecção mista para *S. neurona* e *T. gondii* em 26,41% (14/53) das propriedades, *S. neurona* e *Neospora* spp. em 16,98% (9/53), e *T. gondii* e *Neospora* spp. em 20,75% (11/53). Em 11,32% (6/53) dos criatórios ocorreu positividade para os três agentes. Todas as propriedades foram positivas por pelo menos um dos protozoários.

6. DISCUSSÃO

6.1 Perfil das propriedades

Os resultados apresentados nas Tabelas 1 e 2 demonstram que a maioria das propriedades não possui a equinocultura como principal atividade, e que se caracterizam pela criação de equinos conjuntamente com a de bovinos, e o plantio de diferentes culturas agrícolas.

Na maioria dos criatórios ocorre interação entre espécies, principalmente dos equinos com bovinos e cães, estes últimos, presentes na maioria das propriedades. Além disso, esses rebanhos estão, em sua maioria, estabelecidos em pastagens e próximos a matas, possibilitando o contato com a fauna silvestre. Tais fatores podem favorecer a presença dos agentes analisados neste estudo (ABREU et al., 2014; DUBEY et al., 2015; LANGONI et al., 2007).

A maioria dos equinos é criada com fim comercial, cuja aquisição, na maioria dos criatórios, caracteriza um grande fluxo de animais, o que pode

ocasionar a dispersão dos agentes, como citado por Moura et al. (2013), no caso de *Neospora* spp.

Os resultados da Tabela 3 mostram que a maioria dos proprietários fornece ração para os animais, indicando a importância de se ter práticas higiênicas de fabricação e fornecimento de alimentos destinados aos equinos (TASSI, 2007). Na maioria dos criatórios o alimento se encontrava armazenado adequadamente, mitigando o risco da contaminação por oocistos e esporocistos dos agentes.

O status nutricional (Tabela 3) e o sanitário (Tabela 4) dos animais encontravam-se adequados na maioria dos rebanhos. Esse fato, aliado à baixa ocorrência de problemas reprodutivos e neurológicos nos rebanhos pode justificar a ausência de sintomatologia clínica para essas infecções nos animais avaliados (DUBEY et al., 2015; GENNARI et al., 2015).

Os resultados encontrados nas Tabelas 3, 4, 5 e 6 mostram que a maioria das propriedades praticam medidas sanitárias, como vacinar animais, possuir assistência veterinária e higienizar instalações, demonstrando preocupação dos proprietários em zelar pela sanidade do rebanho, o que pode influenciar na soroprevalência dos agentes (DUBEY et al., 2007; DUBEY et al., 2015; TASSI, 2007).

6.2 *Sarcocystis neurona* em equinos

6.2.1 Soroprevalência

A prevalência de 26% entre equinos ficou dentro da faixa observada em estudos prévios realizados no Brasil, variando de 8,27% (STELMANN, 2014) a 69,6% (HOANE et al., 2006).

Em estudos internacionais os índices de soroprevalência variaram de 0% na Nova Zelândia (VARDELEON et al., 2001) a 89,2% nos EUA (BENTZ et

al., 2003), respectivamente, por meio da técnica de western blot. Prevalência de 27,6%, similar à observada no Sul de Minas, com a mesma técnica sorológica e ponto de corte (RIFI 1:80), foi verificada em estudo realizado em 40 estados nos EUA (PUSTERLA et al., 2014a).

É importante ressaltar que a comparação dos resultados entre diferentes estudos que utilizaram diferentes técnicas sorológicas de diagnóstico, assim como locais com diferentes características ambientais apresentam efeito limitado (DUBEY et al., 2007).

O alto índice de soroprevalência em equinos e a ampla distribuição entre os criatórios indicam que o Sul de Minas é área enzoótica para *S. neurona* em equinos, embora os casos clínicos sejam raros. A alta prevalência entre rebanhos pode ser explicada pela criação da maioria dos equinos em piquetes, facilitando o contato desses animais com a fauna silvestre, que predispõem à infecção por *S. neurona* (MORLEY et al., 2008; ROSSANO et al., 2001).

A presença de matas próximas às pastagens na maioria absoluta das propriedades (90,57%) também possibilita o contato entre equinos e animais silvestres, como gambás (LOPES, 2004; ROSSANO et al., 2003) e outros hospedeiros intermediários (DUBEY et al., 2015). O gambá (*Didelphis albiventris*) é muito comum na região rural no Sul de Minas Gerais, sendo encontrado também nas áreas urbanas.

6.2.2 Fatores de risco

A associação entre a presença de reservas florestais nos criatórios ou divisa com essas e a soropositividade para o parasito pode ser justificada pelo maior risco de contato dos equinos com a fauna silvestre, como gambás e outros mamíferos que atuam como hospedeiros intermediários, favorecendo a infecção parasitária dos animais (DUBEY et al., 2015; LOPES, 2004; MORLEY et al., 2008; ROSSANO et al., 2001).

O maior risco de soropositividade para *S. neurona* em propriedades em que se fabrica a ração sugere um acondicionamento inadequado da matéria prima desse concentrado, possibilitando o acesso de animais (gambás) ao alimento (MORLEY et al., 2008; SAVILLE et al., 2000).

Embora Blythe et al. (1997), Bentz et al. (2003) e Duarte et al. (2004a) tenham relatado associação entre idade e a soropositividade para *S. neurona*, o presente estudo não comprovou essa relação, corroborando resultados de Rossano et al. (2001) e Pivoto et al. (2014). Não houve associação entre a soropositividade dos equinos e o sexo, assim como o estabulamento de animais, concordando com os achados de Blythe et al. (1997).

6.3 *Toxoplasma gondii* em equinos

6.3.1 Soroprevalência

A prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* em equinos no Sul de Minas de 19,9% ficou dentro da faixa observada em outros estudos sorológicos realizados no Brasil, que variou de 2,8% em Santa Catarina (ABREU et al., 2014) a 32,8% em Mato Grosso (LARANGEIRA et al., 1985). Em estudos internacionais, a soroprevalência variou de 2,6% na Coreia do Sul (GUPTA et al., 2002) a 34,0% na Costa Rica (DANGOUDOUBIYAM et al., 2011).

Variações nos resultados de prevalências entre diferentes países, ou entre regiões no mesmo país, podem ser justificadas por fatores intrínsecos de cada região, como clima, relevo e hidrografia (KOUAM et al., 2010; LANGONI et al., 2007), além da finalidade de criação dos animais amostrados (FINGER et al., 2013). Também convém ressaltar que, diferenças entre técnicas sorológicas, títulos de ponto de corte e número de amostras, entre outros fatores, dificultam a comparação dos resultados entre diferentes estudos, e esses devem ser interpretados com cuidado.

A alta prevalência encontrada entre criatórios no Sul de Minas (71,6%) indica a grande dispersão do parasito, uma vez que há intensa movimentação de equinos na região, visto que a maioria dos criatórios possui animais que participam de eventos cuja finalidade é o comércio, podendo predispor à infecção por *T. gondii* (KOUAM et al., 2010).

Devido à ampla dispersão do parasito nos criatórios de Mangalarga Marchador, pode-se afirmar que o Sul de Minas se caracteriza como área enzoótica para *T. gondii* em equinos, predominando a infecção assintomática, conforme assinalado por Tassi (2007).

6.3.2 Fatores de risco

No Sul de Minas, o menor risco de soropositividade para *T. gondii* em propriedades com mais de 100 equinos pode ser explicado, em parte, pelo fato desses criatórios serem maiores, tecnificados e seus proprietários mais bem informados. Por outro lado, a forma precária de armazenamento dos alimentos fornecidos aos equinos (DUBEY et al., 2009), assim como, as condições ambientais favoráveis ao desenvolvimento e sobrevivência do parasito (KOUAM et al., 2010), podem justificar o maior risco de contaminação dos animais em pequenas propriedades.

Embora não exista uma relação direta com o modo de transmissão do *T. gondii*, o menor risco de soropositividade em criatórios que fazem vacinação contra tétano e influenza, ou utilizam área para cuidados com os animais, permitem inferir esses proprietários estão preocupados com a saúde dos animais. Deste modo, a adoção de cuidados higiênicos e de medidas sanitárias, incluindo aquelas que são fatores de proteção para outros agentes e não diretamente para este parasito, contribuem indiretamente para reduzir o risco de exposição (TASSI, 2007), ou previnem co-infecções imunossupressoras que são capazes de aumentar o risco de infecção por *T. gondii*.

Com relação à maior soropositividade em equinos acima de cinco anos de idade, tal ocorrência pode ser explicada pelo fato de um animal mais velho ter mais chances de se expor ao *T. gondii* ao longo da vida e produzir anticorpos contra o parasito (TASSI, 2007). Entretanto, estudos prévios não confirmaram o estabelecimento dessa relação (ALVARADO-ESQUIVEL et al., 2012; FINGER et al., 2013; LOPES et al., 2013; MIAO et al., 2013; NAVES et al., 2005).

Criatórios no Sul de Minas que utilizam a técnica de transferência de embrião (TE) possuem um menor risco de terem equinos infectados por *T. gondii*. A TE é um tecnologia moderna de reprodução animal e não tem nenhuma relação direta com a transmissão do *T. gondii*. Porém, aplicando o mesmo raciocínio utilizado anteriormente, pode-se deduzir que essas propriedades são mais tecnificadas, adotam boas práticas higiênico-sanitárias capazes de controlar diferentes enfermidades no plantel, e que direta ou indiretamente contribuem para reduzir o risco de infecção pelo *T. gondii*.

Conforme dito anteriormente, a maioria das propriedades pesquisadas estão mais preparadas para realizar medidas preventivas contra *T. gondii*, como armazenamento seguro dos alimentos (DUBEY et al., 2009) e higiene das instalações (TASSI, 2007). Assim, evitam condições ambientais favoráveis para o desenvolvimento e sobrevivência dos oocistos desse parasito, como locais quentes e úmidos (KOUAM et al., 2010; LANGONI et al., 2007).

Embora a presença de gatos na propriedade seja um fator de risco (DUBEY et al., 2009; EVERS et al., 2013), isso não foi observado neste estudo, concordando com os achados de Stelmann (2014). A presença de gatos soronegativos nos criatórios e o trânsito intenso de animais na região poderiam justificar a ausência dessa correlação, segundo Langoni et al. (2007).

O sexo dos animais também não influenciou na soropositividade para a *T. gondii*, corroborando os resultados de Camossi et al. (2010), Lopes et al. (2013), Miao et al. (2013) e Finger et al. (2013). Diferentemente dos achados de

Garcia et al. (1999) e García-Bocanegra et al. (2012), no presente estudo não houve associação entre soropositividade e criação conjunta de equinos e bovinos. Também, não houve associação entre finalidade ou sistema de criação dos equinos (estabulados ou a pasto) e soropositividade, concordando com os resultados de Lopes et al. (2013) e Stelmann (2014), porém, discordando dos achados relatados por Kouam et al. (2010) e Alvarado-Esquivel (2012).

6.4 *Neospora* spp. em equinos

6.4.1 Soroprevalência

A prevalência de anticorpos anti-*Neospora* spp. em cavalos Mangalarga Marchador criados no Sul de Minas de 23,9% está dentro da faixa observada em outros estudos sorológicos (RIFI 1:50) realizados no Brasil, variando de 2,5% (HOANE et al., 2006) a 47,0% (LOCATELLI-DITTRICH et al., 2006). É semelhante à prevalência de 26,0% (RIFI 1:50) em Santa Catarina (ABREU et al., 2014) e de 21,5% (ELISA), no Rio Grande do Sul (PIVOTO et al., 2014). Em estudos no exterior, a soroprevalência variou de 2% (RIFI 1:100) na Coreia do Sul (GUPTA et al., 2002) a 28,0% (RIFI 1:50) na Itália (CIARAMELLA et al., 2004).

É importante ressaltar que, diferenças entre técnicas sorológicas, títulos de ponto de corte e número de amostras, entre outras, são fatores importantes a serem considerados, e exigem precaução na comparação dos resultados entre diferentes estudos.

A prevalência de 85% em rebanhos equinos caracteriza o Sul de Minas como área enzoótica para *Neospora* spp. Esse fato demonstra que o parasito está amplamente distribuído nas propriedades, porém, sem causar doença clínica nos animais, caracterizando uma infecção subclínica ou crônica, assintomática (LOCATELLI-DITTRICH et al., 2006).

Essa ampla distribuição de *Neospora* spp. nos criatórios pode ser explicada pelas condições ambientais no Sul de Minas, típicas das regiões tropicais brasileiras, favorecendo a esporulação de oocistos do parasito (DUBEY et al., 2007; MOURA et al., 2013). Além disso, como todos os equinos amostrados são da raça Mangalarga Marchador, geralmente esses animais são submetidos a uma alta movimentação, uma vez que a região tem grande expressão no comércio e em eventos hípicas dessa raça. Esse fluxo de animais pode favorecer a exposição ao parasito, e corrobora com estudos prévios que demonstraram maior risco de infecção em equinos de raça (MOURA et al., 2013; SANGIONI et al., 2011).

6.4.2 Fatores de risco

A associação entre a soropositividade para *Neospora* spp. e o fornecimento de feno pode ser explicada porque, geralmente, propriedades que dispõem de condições de fornecer feno aos equinos são mais tecnicizadas, e seus proprietários mais instruídos, dispensando maior cuidado com relação ao armazenamento e fornecimento dos alimentos, diminuindo o risco de contaminação com o parasito (DUBEY et al., 2007). Além disso, já que o feno é uma fonte de volumoso, assim como o capim, esse achado indica que em criatórios onde existe fornecimento desse alimento há maior confinamento dos animais em baias e menor contato destes com as pastagens. Dessa forma, existe um menor risco de contato dos equinos estabulados com os hospedeiros definitivos (ABREU et al., 2014; VILLALOBOS et al., 2012).

Esse fato ainda pode ser corroborado por outros achados deste estudo, uma vez que, equinos de propriedades em que existia o contato destes com outros animais foram mais propensos à infecção, se comparados àqueles em que não eram expostos ao contato. Esses resultados concordam com os achados por outros autores que investigaram o contato de equinos com cães, dispersores do

agente (ABREU et al., 2014; VILLALOBOS et al., 2012), e bovinos, mantenedores do agente na propriedade (MOURA et al., 2013), e conseqüentemente, com a presença de oocistos do parasito nas pastagens e com provável infecção (DUBEY et al., 2007).

A maior positividade em equinos acima de cinco anos de idade corrobora com os achados de Duarte et al. (2004a), que encontraram menor risco de infecção por *N. hughesi* em animais mais jovens. E também concorda com outros pesquisadores que encontraram associação significativa entre idade e infecção por *Neospora* spp. (KLIGLER et al., 2007). Isso sugere que a transmissão horizontal é predominante em rebanhos equinos criados no Sul de Minas, uma vez que só 16,74% (37/221) dos animais menores de cinco anos de idade foram soropositivos para *Neospora* spp. Essa menor eficiência da transmissão congênita nos equinos em relação aos bovinos pode ser explicada, em parte, por diferenças na placentação (PITEL et al., 2003).

Embora a transmissão vertical possa ocorrer (ANTONELLO et al., 2012; LOCATELLI-DITTRICH, 2006;; TOSCAN et al., 2010), há poucos relatos de infecção congênita em equinos. Além disso, a maior taxa de positividade com o aumento da idade pode ser justificada pelo maior tempo de exposição ao parasito dos animais mais velhos em relação aos jovens. Entretanto, Moura et al. (2013) não encontraram associação significativa entre idade dos equinos e soropositividade para *Neospora* spp.

No Sul de Minas, criatórios de equinos em que há a presença de bovinos estão associados significativamente com a infecção por *Neospora* spp. Esses resultados corroboram os achados de DUBEY et al. (2007), MOURA et al. (2013) e ABREU et al. (2014), que sugeriram que os bovinos são mantenedores do agente nas propriedades, uma vez que comumente os cães têm acesso à carne bovina ou a seus restos placentários.

A associação significativa entre a soropositividade para o agente e a existência de gatos nos criatórios pode sugerir que esta pode estar acompanhada da presença de roedores, hospedeiros intermediários de *Neospora* spp., que ajudam a manter o ciclo do parasito na propriedade, pois podem atuar como fonte de infecção para os cães. Resultado semelhante foi observado por Stelmann (2014), que associou a neosporose equina ao acesso de gatos aos alimentos. Esse autor justificou essa associação com o hábito dos felinos de se deitarem em cochos e fardos de feno após tomarem banho de terra contaminada com fezes caninas contendo oocistos esporulados do agente.

Embora na literatura existam trabalhos associando a presença e o contato de cães com equinos para a soropositividade para *Neospora* spp. (MOURA et al., 2013; VILLALOBOS et al., 2012), esse fato não foi comprovado em criatórios de Mangalarga Marchador no Sul de Minas. Esse resultado sugere que os cães nesses criatórios não eram infectados, uma vez que o risco da infecção em equinos aumenta na presença de cães soropositivos para *Neospora* spp. (ABREU et al., 2014). Outro fator seria a alta porcentagem de propriedades com cães. De acordo com esses mesmos autores, na ausência de cães domésticos infectados na propriedade, canídeos silvestres podem atuar como fontes de transmissão do parasito. Além disso, os hábitos alimentares desses cães podem também determinar um maior ou menor risco de infecção nos criatórios.

O presente estudo não encontrou associação significativa entre sexo e soropositividade para *Neospora* spp., resultado similar ao relatado por outros autores (MOURA et al., 2013; VILLALOBOS et al., 2012). Do mesmo modo, animais com histórico de distúrbios reprodutivos ou neurológicos não apresentaram correlação significativa com a infecção pelo parasito. Moura et al. (2013), também não conseguiram comprovar a relação entre infecção por *Neospora* spp. e distúrbios neurológicos em equinos. Porém, em Israel, os autores encontraram associação direta entre alta prevalência de anticorpos anti-

Neospora spp. e equinos exibindo sinais neurológicos ou éguas que abortaram, se comparados aos animais assintomáticos (KLIGLER et al., 2007).

No caso de problemas reprodutivos, também não houve associação com a positividade para *Neospora* spp. em equinos pesquisados nos estados do Paraná (HOFFMANN et al., 2007) e Santa Catarina (MOURA et al., 2013). Entretanto, correlações significativas com a positividade foram relatadas em estudos realizados no Paraná (LOCATELLI-DITTRICH et al., 2006), São Paulo (VILLALOBOS et al., 2006) e Santa Catarina (ABREU et al., 2014).

6.5 Considerações finais

Considerando a importância da equideocultura para o Sul de Minas, a detecção da prevalência de anticorpos anti-*S. neurona*, *T. gondii* e *Neospora* spp. em equinos e criatórios, além dos fatores de risco associados à positividade é significativa para que sejam tomadas medidas efetivas de controle visando prevenir as perdas econômicas decorrentes dos sinais clínicos dessas parasitoses. Além disso, incrementa-se o conhecimento da distribuição desses parasitos em equinos no âmbito nacional.

Assim, são necessárias novas pesquisas não só para estabelecer com mais precisão os fatores que aumentam o risco de transmissão desses agentes, bem como para determinar qual espécie, *N. caninum* ou *N. hughesi*, infecta cavalos Mangalarga Marchador criados no Sul de Minas.

7 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste estudo permitem afirmar que:

- O Sul de Minas é área enzoótica para *S. neurona*, *T. gondii* e *Neospora* spp., com ampla distribuição desses parasitos em criatórios de cavalos Mangalarga Marchador, porém, com predomínio da infecção subclínica ou crônica, assintomática;

- A transmissão horizontal parece ser o principal modo de infecção desses parasitos, e diferentes fatores de risco estão associados com a soropositividade em equinos.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, R.A., WEISS, R.R., THOMAZ-SOCCOL, V., LOCATELLI-DITTRICH, R., LASKOSKI, L.M., BERTOL, M.A.F., KOCH, M.O., ALBAN, S.M., GREEN, K.T. Association of Antibodies against *Neospora caninum* in Mares with Reproductive Problems and Presence of Seropositive Dogs as a Risk Factor. *Vet. Parasit.*, v.202, n.3-4, p.128-131, 2014.

AGANGA A.O.; KWANASHIE G.G.; BELINO E.D. *Toxoplasma* antibodies in polo horses of Nigeria. *Int. J. Zoon.*, v.10, n.2, p.155-158, 1983.

AKCA, A.; BABUR, C.; ARSLAN, M. O.; GICIK, Y.; KARA, M.; KILIC, S. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in horses in the province of Kars, Turkey. *Vet. Med.*, v.49, n.1, p.9-13, 2004.

ALANAZI, A. D.; ALYOUSIF, M. S. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in horses in Riyadh Province, Saudi Arabia. *J. Parasitol.*, v.97, n.5, p.943-5, 2011.

ALANAZI, A. D.; MOHAMED, S. A. Seroprevalence of *Neospora* spp. in horses from Central Province of Saudi Arabia. *Afric. J. Biotec.*, v.12, n.9, p.982-985, 2013.

ALSHAHERY, M. N.; MANSOUR, R. S. Detection of *Toxoplasma gondii* antibodies in horses in Mosul, Iraq. *Iraq J. Vet. Sc.*, v.26, n.2, p.39-41, 2012.

ALVARADO-ESQUIVEL, C.; RODRÍGUEZ-PEÑA, S.; VILLENA, I., DUBEY J. P. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in domestic horses in Durango State, Mexico. *J. Parasitol.*, v.98, n.5, p.944-5, 2012.

ANTONELLO, A.M.; PIVOTO, F.L.; CAMILLO, G.; BRAUNIG, P.; SANGIONI, L. A.; POMPERMAYER, E.; VOGEL, F. S. The importance of vertical transmission of *Neospora* sp. in naturally infected horses. Vet. Parasitol., v.187, n.3-4, p.367-70, 2012.

ARIAS, M., YEARGAN, M., FRANCISCO, I., DANGOUDOUBIYAM, S., BECERRA, P., FRANCISCO, R., SÁNCHEZ-ANDRADE, R., PAZ-SILVA, A., HOWE, D.K. Exposure to *Sarcocystis* spp. in horses from Spain determined by Western blot analysis using *Sarcocystis neurona* merozoites as heterologous antigen. Vet. Parasitol., v.185, n.2-4, p.301-4, 2012.

BÁRTOVÁ, E.; SEDLÁK, K.; SYROVÁ, M.; LITERÁK, I. *Neospora* spp. and *Toxoplasma gondii* antibodies in horses in the Czech Republic. Parasitol. Res., v.107, n.4, p.783-5, 2010.

BENTZ, B.G.; EALEY, K.A.; MORROW, J.; CLAYPOOL, P.L.; SALIKI, J.T... Seroprevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona* in equids residing in Oklahoma. J. Vet. Diagn. Invest., v.15, n.1, p.597-600, 2003.

BLYTHE, L. L.; GRANSTROM, D. E.; HANSEN, D. E.; WALKER, L. L.; BARTLETT, J.; STAMPER, B. Seroprevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona* in horses residing in Oregon. J. Am. Vet. Med. Assoc. v.15, n.210, p.525-7, 1997.

BJÖRKMAN, C.; UGGLA, A. Serological diagnosis of *Neospora caninum* infection. Int. J. Parasitol., v.29, n.10, p.1497-507, 1999.

BROWN, C. M.; MORROW, J. K., CARLETON, C.L., RAMANATHAN, B.; REDDY, R.; VAIDYA, V., KARTHIKEYAN, S. M., ZULFIKAR, A. A., KANNADKAR, V.S. Persistence of serum antibodies to *Sarcocystis neurona* in horses moved from North America to India. J. Vet. Intern. Med., v.20, n.4, p.994-7, 2006.

BRUHN, F. R. P.; DAHER, D. O.; LOPES, E.; BARBIERI, J. M.; ROCHA, C. M. B. M.; GUIMARÃES, A. M. Factors associated with seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle in southeastern Brazil. *Tropic. An. Health Prod.*, v.45, n.5, p.1093-1098, 2013.

CALDERÓN, A.; RODRÍGUEZ, V.; HENAO, A. G.; AGUAS, L. J.; Soroprevalencia de *Sarcocystis neurona* em caballos de Montería (Córdoba, Colombia). *Vet. UDCA Actual. Divulg. Cient.* v.2, n.17, p.453-459, 2014.

CAMOSSI LG, SILVA AV, LANGONI H. Inquérito sorológico para toxoplasmose em equinos na região de Botucatu-SP. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.62, n.2, p.484-488, 2010.

CORBELLINI L. G.; SMITH, D. R.; PESCADOR, C. A.; SCHMITZ, M.; CORREA, A.; STEFFEN, D. J.; DRIEMEIER, D. Herd-level risk factors for *Neospora caninum* seroprevalence in dairy farms in southern Brazil. *Prev. Vet. Med.*, v.74, n.2-3, p.130-41, 2006.

CEPANZO - Centro Panamericano de Zoonosis. Procedimientos para estudios de prevalencia de enfermedades crónicas em El Ganado. Ramos Mejia, Buenos Aires, 1979. 35p. (Nota Técnica, 18).

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. *Int. J. Parasitol.*, v.29, n.10, p.1537-43, 1999.

CHHABRA, M. B.; GUPTA, S. L.; GAUTAM, O. P. *Toxoplasma* seroprevalence in animals in northern India. *Int. Journ. of Zoon.*, v.12, n.2, p.136-42 1985.

CIARAMELLA, P.; CORONA, M.; CORTESE, L.; PIANTEDOSI, D.; SANTORO, D.; DI LORIA, A. Seroprevalence of *Neospora* spp. in asymptomatic horses in Italy. *Vet. Parasitol.*, v.123, n.1-2, p.11-15, 2004.

COOK, A. G.; BUECHNER-MAXWELL, V.; MORROW, J. K.; WARD, D. L.; PARKER, N. A.; DASCANIO, J. J.; LEY, W. B., COOPER, W. Interpretation of the detection of *Sarcocystis neurona* antibodies in the serum of young horses. *Vet. Parasitol.*, v.95, p.187-195, 2001.

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

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

CUSICK, P. K., SELLS, D. M., HAMILTON, D. P., HARDENBROOK, H.J. Toxoplasmosis in two horses. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.164, n.1, p.77-80, 1974.

DANGOUDOUBIYAM, S. OLIVEIRA, J. B.; VÍQUEZ, C.; GÓMEZ-GARCÍA, A.; GONZÁLEZ O.; ROMERO, J. J.; KWOK, O. C.; DUBEY, J. P.; HOWE, D. K. Detection of Antibodies against *Sarcocystis neurona*, *Neospora* spp., and *Toxoplasma gondii* in horses from Costa Rica. *J. Parasitol.*, v.97, n.3, p.522-4, 2011.

DUARTE, P. C.; DRAFT, B. M.; CONRAD, P. A.; PACKHAM, A. E.; GARDNER, I. A. Comparison of a serum indirect fluorescent antibody test with two western blot tests for the diagnosis of the equine protozoal myeloencephalitis. *J. Vet. Diagn. Invest.*, v.1, n.15, p.8-13, 2003.

DUARTE, P. C.; CONRAD, P. A.; WILSON, W. D.; FERRARO, G. L.; PACKHAM, A. E.; BOWERS-LEPORE, J.; CARPENTER, T. E.; GARDNER, I. A. Risk of postnatal exposure to *Sarcocystis neurona* and *Neospora hughesi* in horses. Am. J. Vet. Res., v.3, n.65, p.1047-52. 2004a.

DUARTE, P.C.; CONRAD, P.A.; BARR, B.C.; WILSON, W.D.; FERRARO, G.L.; PACKHAM, A.E.; CARPENTER, T.E.; GARDNER, I.A. Risk of Transplacental transmission of *Sarcocystis neurona* and *Neospora hughesi* in California horses. J. Parasitol., v.90, n.6, p.1345–1351, 2004b.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; SPEER, C. A. Structures of *Toxoplasma gondii*: Tachyzoites, Bradyzoites, and Sporozoites and Biology and Development of Tissue Cysts. Clin. Microbiol. Rev., v.11, n.2, p.267-299, 1998.

DUBEY, J. P.; KERBER, C. E.; GRANSTROM, D. E. Serologic prevalence of *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma gondii*, and *Neospora caninum* in horses in Brazil. J. Am. Vet. Med. Assoc., v.1, n.215, p.970-2, 1999a.

DUBEY, J. P.; VENTURINI, M. C.; VENTURINI, L.; MCKINNEY, J.; PECORARO, M. Prevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma gondii*, and *Neospora caninum* in horses from Argentina. Vet. Parasitol., v.86, n.1, p.59-62, 1999b.

DUBEY, J. P.; ROMAND, S.; THULLIEZ, P.; KWOK, O. C.; SHEN, S. K.; GAMBLE, H. R. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in horses in North America. J. Parasit., v.85, n.5, p.968-969, 1999c.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; SAVILLE, W.J.A.; REED, S. M.; GRANSTROM, D. E.; SPEER, C. A. A review of *Sarcocystis neurona* and equine protozoal myeloencephalitis (EPM). Vet. Parasitol., v.95, n.2-4, p.89-131, 2001.

DUBEY, J.P.; MITCHELL, S.M.; MORROW, J.K.; RHYAN, J.C.; STEWART, L.M.; GRANSTROM, D.E.; ROMAND, S.; THULLIEZ, P.; SAVILLE, W.J.; LINDSAY, D.S. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum*, *Sarcocystis neurona*, and *Toxoplasma gondii* in wild horses from central Wyoming. J. Parasitol., v.89, n.4, p.716-20, 2003.

DUBEY, J.P.; SCHARES, G., ORTEGA-MORA, L. M. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. Clinic. Microbiol. Rev., n.20, p.323–367, 2007.

DUBEY, J.P., SU, C. Population biology of *Toxoplasma gondii*: what's out and where did they come from. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, v.104, n.2, p.190-195, 2009.

DUBEY, J.P., SCHARES, G., Neosporosis in animals – The last five years. Vet. Parasitol., v.180, n.1-2, p.90-108, 2011.

DUBEY, J.P., HOWE, D. K.; FURR, M.; SAVILLE, W. J.; MARSH, A. E.; REED, S. M.; GRIGG, M. E. An update on *Sarcocystis neurona* infections in animals and equine protozoal myeloencephalitis (EPM). Vet. Parasitol., v.209, n.1-2, p.1-42, 2015.

EVERS, F.; GARCIA, J. L.; NAVARRO, I. T.; ZULPO, D. L.; NINO, B. S. L.; EWALD, M. P. C.; PAGLIARI, S.; ALMEIDA, J. C.; FREIRE, R. L. Diagnosis and isolation of *Toxoplasma gondii* in horses from Brazilian slaughterhouses. Rev. Bras. Parasitol. Vet., v. 22, n. 1, p. 58-63, 2013.

FINGER, M.A., VILLALOBOS, E.M.C., LARA, M.C.C.S.H., CUNHA, E.M.S., BARROS-FILHO, I.R., DECONTO, I., DORNBUSCH, P.T., ULLMANN, L.S., BIONDO, A.W., Detection of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in carthorses in the metropolitan region of Curitiba, Paraná, Brazil. Rev. Bras. Parasitol. Vet., v.22, n.1, p.179-181, 2013.

GARCIA, J. L., I. T. NAVARRO, L. OGAWA, R. C. OLIVEIRA. Soroprevalência do *Toxoplasma gondii*, em suínos, bovinos, ovinos e equinos e sua correlação com humanos, felinos e caninos, oriundos de propriedades rurais do norte do Paraná-Brasil. Ciênc. Rur., v.29, n.1, p.91-97, 1999.

GARCÍA-BOCANEGRA, I.; CABEZÓN, O. ; ARENAS-MONTES, A.; CARBONERO, A.; DUBEY, J. P.; PEREA, A.; ALMERÍA, S. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in equids from Southern Spain. Parasitol. Int., v.61, n.3, p.421-4, 2012.

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

GENNARI, S.M., ESMERINI, P.O., LOPES, M.G., SOARES, H.S., VITALIANO, S.N., CABRAL, A.D., PENA, H.F.J., HORTA, M.C., CAVALCANTE, P.H., FORTES, K.P., VILLALOBOS, E.M.C. Occurrences of antibodies to *Toxoplasma gondii* and its isolation and genotyping in donkeys, mules and horses in Brazil. Vet. Parasitol., v.209, n.1-2, p.129-132, 2015.

GHAZY, A. A.; SHAAPAN, R. M.; ABDEL-RAHMAN, E. H. Comparative serological diagnosis of toxoplasmosis in horses using locally isolated *Toxoplasma gondii*. Vet. Parasitol., v.10, n.145, p.31-6, 2007.

GONDIM, L. F.; LINDSAY, D.S.; MCALLISTER, M. M. Canine and bovine *Neospora caninum* control sera examined for cross-reactivity using *Neospora caninum* and *Neospora hughesi* indirect fluorescent antibody tests. J. Parasitol., v.95, n.1, p.86-88, 2009.

GOODSWEN, J. S.; KENNEDY, P. J.; ELLIS, J. T. A review of infection, genetics and evolution of *Neospora caninum*: from the past to the present. Infect. Genet. Evolut., v.13, n.1, p.133-150. 2013.

GUPTA, G. D.; LAKRITZ, J., KIM, J.H., KIM, D.Y., KIM, J. K., MARSH, A. E. Seroprevalence of *Neospora*, *Toxoplasma gondii* and *Sarcocystis neurona* antibodies in horses from Jeju island South Korea. *Vet. Parasitol.*, v.106, n.3, p.193-201, 2002.

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. *Vet. Parasitol.*, v.136, n.2, p.155-159, 2006.

HOFFMANN, D. C. S. Cinética, avaliação da transmissão vertical e monitoramento da transferência passiva de anticorpos anti-*Neospora* sp. em equinos. Dissert. Mestr. Ciênc. Vet., UFPR. 91p. 2007.

IBRAHIM, A. M.; OSMAN, O. M.; ALI, R. H. M.; ISMAIL, A. A.; ANGARA, T. E. E. Sero-Prevalence of *Toxoplasma gondii* in Different Horses Groups from Khartoum State, Sudan. *J. App. Ind. Scienc.*, v.2, n.4, p.152-157, 2014.

JAKUBEK, E. B.; LUNDÉN, A. UGGLA, A. Seroprevalences of *Toxoplasma gondii* and *Neospora* sp. infections in Swedish horses. *Vet. Parasitol.*, v.138, n.3-4, p.194-199, 2006.

JOHNSON, A.L.; MORROW, J.K., SWEENEY, R.W. Indirect fluorescent antibody test and surface antigen ELISAs for antemortem diagnosis of equine protozoal myeloencephalitis. *J. Vet. Intern. Med.*, v.27, n.3, p.596-9, 2013.

KAWAZOE, U. *Parasitologia Humana*. 11.ed. São Paulo: Atheneu, 494p.2005.

KLIGLER, E.B., SHKAP, V., BANETH, G., MILDENBERG Z., STEINMAN, A. Seroprevalence of *Neospora* spp. among asymptomatic horses, aborted mares and horses demonstrating neurological signs in Israel. *Vet. Parasitol.*, v.148, n.2, p.109-113, 2007.

KILBAS, Z.G. et al. Seroprevalence of *Neospora caninum* in race horse in Ankara, Turkey. Act. Parasitol., v.53, n.3, p.315-316, 2008.

KOUAM, M. K.; DIAKOU, A.; KANZOURA, V.; PAPADOPOULOS, E.; GAJADHAR, A. A.; THEODOROPOULOS, G.A seroepidemiological study of exposure to *Toxoplasma*, *Leishmania*, *Echinococcus* and *Trichinella* in equids in Greece and analysis of risk factors. Vet. Parasitol., v.170, n.1, p.170-5, 2010.

LANGONI, L.; SILVA, A. V.; PEZERICO, S. B.; LIMA, V. Y. Utilization of modified agglutination test and indirect immunofluorescent antibody test for the detection of *Toxoplasma gondii* antibodies in naturally exposed horses. Braz. J. Vet. Res. An. Sc., v.44, n.1, p.27-32, 2007.

LARANGEIRA, N. L.; ISHIZUKA, M. M.; HYAKUTAKE, S. Prevalência da toxoplasmose equina avaliada pela técnica de imunofluorescência indireta, Mato Grosso do Sul, Brasil. Bolet. Sanit. Panam., v.99, n.2, 1985.

LASKOSKI, L. M.; MURARO, L. S.; LOCATELLI DITTRICH, R.; ABREU, R. A.; KOCH, M. O.; SILVA, F. T.; HAGI, R. H. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* e anti-*Toxoplasma gondii* em equinos do Pantanal Mato-Grossense, Brasil. Semina: Ciênc. Agr., v.36, n.2, p.895-900, 2015.

LINS, L. A.; FEIJÓ, L. S.; NOGUEIRA, C. E. W.; Mieloencefalite protozoária equina nas regiões da Campanha e do sul do Rio Grande do Sul no período de 1998-2006. Rev. Ciênc. Agr., v.11, n.3, p.248-250, 2012.

LOCATELLI-DITTRICH, R.; DITTRICH, J.R.; RICHARTZ R.R.T.B., GASINOJOINEAU, M. E., ANTUNES J., PINCKNEY. R.D., DECONTO. I., HOFFMANN.D.C.S.; THOMAZ-SOCCOL, V. Investigation of *Neospora* spp. and *Toxoplasma gondii* antibodies in mares and in precolostral foals from Paraná state, Southern Brazil. Vet. Parasitol., v.135, n.3-4, p.215-221, 2006.

LOPES, C. W. G. O gênero *Sarcocystis* (Lankester, 1882) (Apicomplexa: Sarcocystidae), uma questão a ser reavaliada no Brasil. XIII Congr. Bras. Parasit. Vet. Ouro Preto, MG, v.13, n.1, 2004.

LOPES, A. P.; SOUSA, S.; DUBEY, J. P.; RIBEIRO, A. J.; SILVESTRE, R.; COTOVIO, M.; SCHALLIG, D. F. H.; CARDOSO, L.; SILVA, A. C. Prevalence of antibodies to *Leishmania infantum* and *Toxoplasma gondii* in horses from the north of Portugal. *Parasit. Vect.*, v.6, n.1, p.178, 2013.

LU, Z. M.; WANG, Y.; ZHANG, Z. Y.; TANG, H. W.; SUO, X. Evaluation of a indirect immunofluorescence assay kit for the detection of *Toxoplasma gondii* IgG. *Zhongguo Ji Sheng Chong Xue Yu Ji Sheng Chong Bing Za Zhi.* v.31, n.5, p.346-51, 2013.

MACRUZ, R.; LENCI, R.; ISHIZUOKA, M. M.; MIGUEL, O.; DA CUNHA, R. A. F. Toxoplasmose em equinos PSI estudo sorológico. *Rev. Fac. Med. Vet. Zootec. SP*, v.12, n.1, p.277-282, 1975.

MARQUES, J. M.; ISBRECHT, F. B.; LUCAS, T. M.; GUERRA, I. M. P.; DALMOLIN, A. SILVA, R. C. S.; LANGONI, H.; SILVA, A. V. Detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em animais de uma comunidade rural do Mato Grosso do Sul, Brasil. *Semina: Ciênc. Agr.*, v.30, n.4, p.889-898, 2009.

MATSUO, K.; KAMAI, R.; UETSU, H.; GOTO, H.; TAKASHIMA, Y.; NAGAMUNE, K. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in cattle, horses, pigs and chickens in Japan. *Parasit. Int.*, v.63, n.4, p.638-9, 2014.

MENDONÇA, A. O.; E. J. L. CERQUEIRA, W. N. ARAÚJO, E. MORAES-SILVA, F. H. SHIMABUKURO, D. T. SARKIS, I. SHERLOCK, AND H. LANGONI. Inquérito sorológico para toxoplasmose em equídeos procedentes de duas regiões do Estado da Bahia, Brasil. *Semina: Ciênc. Agr.*, v.22, n.2, p.115-118, 2001.

MIAO, Q.; WANG, X. SHE, L. N.; FAN, Y. T.; YUAN, F. Z.; YANG, J. F.; ZHU, X. Q.; ZOU, F. C. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in horses and donkeys in Yunnan Province, Southwestern China. *Parasit. Vect.*, v.6, n.1, p.168, 2013.

MORAVEJI, M.; HOSSEINI, M. H.; AMRABADI, O.; RAHIMIAN, A.; NAMAZI, F.; NAMAVARI, M. Seroprevalence of *Neospora* spp. in horses in South of Iran. *Trop. Biomed.*, v.28, n.3, p.514-7, 2011.

MORÉ, G., VISSANI, A., PARDINI, L., MONINA, M., MURIEL, M., HOWE, D., BARRAN-DEGUY, M., VENTURINI, M.C., Seroprevalence of *Sarcocystis neurona* and its association with neurologic disorders in Argentinean horses. J. Eq. Vet. Sci., v.34, n.9, p.1051-1054, 2014.

MORLEY, P. S.; TRAUB-DARGATZ, J. L.; BENEDICT, K. M.; SAVILLE, W. J. A.; VOELKER, L. D.; WAGNER, B. A. Risk factors for owner-reported occurrence of equine protozoal myeloencephalitis in the US equine population. J. Vet. Intern. Med., v.22, n.3, p.616-629, 2008.

MOURA, A. B.; SILVA, M. O.; FARIAS, J. A.; NETO, A. V.; SOUZA, A. P.; SARTOR, A. A.; FONTEQUE, J. H.; BUNN, S. Anticorpos contra *Neospora* spp em equinos de duas regiões geográficas do Estado de Santa Catarina, Brasil. Rev. Bras. Parasitol. Vet., v.22 n.4, p.443-456, 2013.

NAVES, C. S.; FERREIRA, F. A.; CARVALHO, F. S. R.; COSTA, G. H. N. Soroprevalência da toxoplasmose em equinos da raça Mangalarga marchador no município de Uberlândia, Minas Gerais. Vet. Not., v.11, n.1, p.45-52, 2005.

NOORDHUIZEN, J. P. T. M.; FRANKENA, K.; THRUSFIELD, M.V.; GRAAT, E. A. M. Application of quantitative methods in veterinary epidemiology. Wag. Pers. Publ., p.429, 2001.

NORLANDER, E. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora* spp. in equids from three municipalities in Pará, Brazil. Uppsala Dept. Clinic. Sci., v.72, n.1, p.330-45, 2014.

OLIVEIRA, R. B.; MALTA, K. C.; OLIVEIRA, J. M. B.; ALBUQUERQUE, P. P. F.; MOTA, R. A.; SANTANA, V. L. A.; PINHEIRO JÚNIOR, J. W. Situação epidemiológica da infecção por *Toxoplasma gondii* em equídeos na microrregião do Brejo Paraibano. Pesq. Vet. Bras., v.32, n.10, p.995-1000, 2012.

PARÉ, J.; HIETALA, S. K., THURMOND, M. C. Interpretation of an indirect fluorescent antibody test for diagnosis of *Neospora* sp. infection in cattle. J. Vet. Diagn. Invest., v.7, n.2, p.273-5, 1995.

PATITUCCI, A.N.; PÉREZ, M. J.; CÁRCAMO, C.M.; BAEZA, L. Presencia de anticuerpos sericos contra *Neospora caninum* en equinos en Chile. Arch. med. vet. v.36 n.2, p.203-206, 2004.

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

PITEL, P.H.; ROMAND, S.; PRONOST, S.; FOUCHER, N.; GARGALA, G.; MAILLARD, K.; THULLIEZ, P.; COLLOBERT-LAUGIER, C.; TAINTURIER, D.; FORTIER, G.; BALLEST, J.J.. Investigation of *Neospora* sp. antibodies in aborted mares from Normandy, France. Vet. Parasitol., v.118, n.1-2, p.1-6, 2003.

POMARES, C., D. AJZENBERG, L. BORNARD, G. BERNARDIM, L. HASSEINE, M.-L. DARDÉ, AND P. MARTY. Toxoplasmosis and horse meat, France. Emerg. Infect. Dis., v.17, n.7, p.1327-1328, 2011.

PIVOTO, F.L., DE MACÊDO JUNIOR, A.G., DA SILVA, M.V., FERREIRA, F.B., SILVA, D.A.O., POMPERMAYER, E., SANGIONI, L.A., MINEO, T.W.P., VOGEL, F.S.F.. Serological status of mares in parturition and the levels of anti-bodies (IgG) against protozoan family Sarcocystidae from their precolostral foals. Vet. Parasitol., v.199, n.1-2, p.107-111, 2014.

PUSTERLA, N., TAMEZ-TREVINO, E., WHITE, A., VAN GEEM, J., PACKHAM, A., CONRAD, P.A., KASS, P. Comparison of prevalence factors in horses with and without seropositivity to *Neospora hughesi* and/or *Sarcocystis neurona*. Vet. J., v.200, n.2, p.332-334, 2014a.

PUSTERLA, N.; MACKIE, S.; PACKHAM, A.; CONRAD, P. A. Serological investigation of transplacental infection with *Neospora hughesi* and *Sarcocystis neurona* in broodmares. Vet. J., v.202, n.3, p.649-50, 2014b.

ROSA, M. H. F. Caracterização das propriedades de Mangalarga Marchador no sul de Minas Gerais, quanto a prevalência e resistência das helmintoses. Dissertação (Mestr. Ciênc. Vet.) UFLA. 91p. 2014.

ROSSANO, M. G.; KANEENE, J. B.; MARTENIUK, J. V.; BANKS, B. D.; SCHOTT, H. C.; MANSFIELD, L. S. The seroprevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona* in Michigan equids. *Prev. Vet. Med.*, v.29, n.48, p.113-26, 2001.

ROSSANO, M. G.; KANEENE, J.B.; MARTENIUK, J. V.; BANKS, B. D.; SCHOTT, H. C.; MANSFIELD, L. S. A herd-level analysis of risk factors for antibodies to *Sarcocystis neurona* in Michigan equids. *Prev. Vet. Med.*, v.15, n.57, p.7-13, 2003.

SAVILLE, W. J.; REED, S. M.; GRANSTROM, D. E.; HINCHCLIFF, K. W.; KOHN, C. W.; WITTUM, T. E. Seroprevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona* in horses residing in Ohio. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* v.15, n.210, p.519-24, 1997.

SAVILLE, W. J.; REED, S. M.; MORLEY, P. S. GRANSTROM, D. E.; KOHN, C. W.; HINCHCLIFF, K. W.; WITTUM, T. E. Analysis of risk factors for the development of equine protozoal myeloencephalitis in horses. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.217, n.8, p.231-37, 2000.

SERGEANT, E. S. G. Epitools epidemiological calculators. *Aus. Vet. An. Heal. Serv. Aus. Bios. Coop. Res. Cent. Emerg. Infect. Dis.* 2011.

STELMANN, U. J. P.; ULLMANN, L. S.; LANGONI, H.; AMORIM, R. M. Equine neosporosis: search for antibodies in cerebrospinal fluid and sera from animals with history of ataxia. *Rev. Bras. Med. Vet.*, v.33, n.1, p.200-202, 2011.

STELMANN, U. J. P. Fatores associados à infecção por *Sarcocystis neurona*, *Neospora* spp. e *Toxoplasma gondii* em equinos da microrregião serrana do estado do Rio de Janeiro. 2014. Tese (Dout. Ciênc., Tec. Inov. Agr.) UFFRJ, 119p, 2014.

TASSI, P. *Toxoplasma gondii* infection in horses. A review. Parasitol., v.1, n.49, p.7-15, 2007.

TAVALLA, M.; SABAGHAN, M.; ABDIZADEH, R.; KHADEM VATAN, S.; RAFIEI A.; RAZAVI PIRAN SHAHI, A. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora* spp. Infections in Arab Horses, Southwest of Iran. Jundishapur J. Microbiol., v. 21, n.8, p.3, 2015.

TOSCAN G.; CADORE G.C., PEREIRA R.C. F.; SILVA G. B.; CEZAR A. S.; SANGIONI L. A.; OLIVEIRA, L.S. S.; VOGEL, F.S.F.. Equine neosporosis: occurrence of antibodies against *Neospora* spp. and association between the serological status of the mares and of their offspring. Pesq. Vet. Bras., v.30, n.8, p.641-64, 2010.

TOSCAN, G.; VOGEL, F. S. CADORE, G. C.; PEREIRA, R. C. F.; CEZAR, A. S.; SANGIONI, L. A.; OLIVEIRA, L. S. S.; LOPES, S. T. A. Occurrence of antibodies anti-*Neospora* spp. in cart horses and Crioula breed horses from Rio Grande do Sul state. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.63, n.1, p.258-261, 2011.

VAN KNAPEN, F.; FRANCHIMONT, J. H.; VAN DER LUGT, G. Prevalence of antibodies to toxoplasma in farm animals in the Netherlands and its implication for meat inspection. Vet. Quart., v.4, n.3, p.101-105, 1982.

VARDELEON, D.; MARSH, A. E.; THORNE, J. G.; LOCH, W.; YOUNG, R.; JOHNSON, P. J. Prevalence of *Neospora hughesi* and *Sarcocystis neurona* antibodies in horses from various geographical locations. Vet. Parasitol., v.95, n.2-4, p.273-78, 2001.

VIDOTTO, O.; KANO, F. S.; FREIRE, R. L.; MITSUKA, OGAWA, L.; BONESI, G.; NAVARRO, I. T.; FRANCISCON, F. S. G.; Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em equinos procedentes de quarto estados (SP, PR, MS e MT) abatidos em Apucarana-PR. Semina: Ciênc. Agr., v.18, n.1, p.9-13, 1997.

VILLALOBOS, E. M. C.; UENO, T. E. H.; SOUZA, S. L. P.; CUNHA, E. M. S.; LARA, C. C. S. H., GENNARI, S. M.; SOARES, R. M. Association between the presence of serum antibodies against *Neospora* spp. and fetal loss in equines. *Vet. Parasitol.*, v.142, n.3-4, p.372-375, 2006.

VILLALOBOS, E. M. C.; FURMAN, K. E.; LARA, M. C. C. S. H.; CUNHA, E. M. S. FINGER, M. A.; BUSCH, A. P. B.; FILHO, I. R. B.; DECONTO, I.; DORNBUSCH, P. T.; BIONDO, A. W. Detection of *Neospora* sp. Antibodies in cart horses from urban areas of Curitiba, southern Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v.21, n.1, p.68-70, 2012.

WILLIAMS, D. J. L.; HARTLEY, C. S.; BJÖRKMAN C.; TREES, A. J. Endogenous and exogenous transplacental transmission of *Neospora caninum* – how the route of transmission impacts on epidemiology and control of disease. *Parasitol.*, v.136, n.14, p.1895-1900, 2009.

YANG, N.; MING-YANG, M.; GAO-MING, Y.; GUO-XIN, Z.; HONG-KUI, L.; JIAN-IN, H.; Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in slaughtered horses and donkeys in Liaoing province, northeastern China. *Parasit. Vect.*, v.6, n.1, p.140, 2013.

YEARGAN, M. R., ALVARADO-ESQUIVEL, C., DUBEY, J. P., HOWE, D. K. Prevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona* and *Neospora hughesi* in horses from Mexico. *Parasit.*, v.1, n.1, p.20-29, 2013.