

**CARACTERIZAÇÃO DE UMA ÁREA ENZOÓTICA PERI-URBANA
NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO COM AVALIAÇÃO DE
ASPECTOS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS SÉRICOS E
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA SOBRE BABESIOSE EQUINA NO
CONTINENTE AMERICANO**

GIL VICENTE OLIVEIRA DA SILVA

2002

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS -
PARASITOLOGIA VETERINÁRIA

**CARACTERIZAÇÃO DE UMA ÁREA ENZOÓTICA PERI-URBANA
NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO COM AVALIAÇÃO DE
ASPECTOS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS SÉRICOS E
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA SOBRE BABESIOSE EQUINA NO
CONTINENTE AMERICANO**

GIL VICENTE OLIVEIRA DA SILVA

SOB A ORIENTAÇÃO DO PROFESSOR:
Dr. CARLOS LUIZ MASSARD

Tese submetida como requisito parcial
para a obtenção do grau de *Magister
Scientiae* em Ciências Veterinárias
Parasitologia Veterinária.

SEROPÉDICA, RIO DE JANEIRO
FEVEREIRO, 2002

**CARACTERIZAÇÃO DE UMA ÁREA ENZOÓTICA PERI-URBANA
NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO COM AVALIAÇÃO DE
ASPECTOS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS SÉRICOS E
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA SOBRE BABESIOSE EQUINA NO
CONTINENTE AMERICANO**

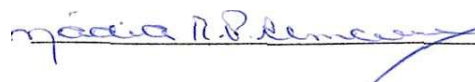
GIL VICENTE OLIVEIRA DA SILVA

APROVADA EM: 27/02/2002

Dr. CARLOS LUIZ MASSARD



Dra. NÁDIA Regina PEREIRA ALMOSNY



Dr. ADIVALDO HENRIQUE DA FONSECA



*“In memoriam: à minha avó materna,
DELAIDE FRANCISCA DE OLIVEIRA, a quem devo
meu eterno agradecimento, pelas
inesgotáveis lições de vida.
Sinto grande orgulho em ter conhecido,
convivido e desfrutado do .seu carinho e amor na minha
caminhada terrena... ”*

*“A minha filha muita amada, **GIULIA**,
que brilhou minha existência com seu nascimento.
À minha amada, **EDNA**,
que muitas vezes segurou os pilares do nosso lar, e mostrou-se
grande nas nossas dificuldades,
encorajando-me sempre a continuar.
À minha amada mãe, **JORGINA**,
que desde o momento de minha concepção,
só fez amar, dedicar e acreditar em mim”.*

*“Ao meu pai, VICENTE, e ao meu tio, JORGE MATIAS,
Por terem me dado, desde cedo, o precioso
exemplo de como ser um homem digno,
honesto e trabalhador, e principalmente por terem sempre
acreditado em mim ”.*

*“Todo Homem que encontro é superior a mim
em alguma coisa. E nesse particular
eu aprendo dele.”*

EMERSON

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. CARLOS LUIZ MASSARD, do Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), pela orientação, amizade e estímulo no decorrer do Curso de Mestrado.

À Professora Dra. NÁDIA REGINA PEREIRA ALMOSNY, do Departamento de Patologia e Clínica Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense (UFF), a quem posso chamar de “Mãe Científica”, pela co-orientação, paciência, amizade, estímulo e confiança depositados durante toda a trajetória do Curso de Mestrado.

A todos os professores do Departamento de Parasitologia Animal da UFRRJ, que contribuíram decisivamente para a minha maturidade profissional, alguns com considerações relevantes ao meu trabalho de dissertação, outros simplesmente pelos exemplos de austeridade e bom senso que lhes é peculiar.

Aos meus colegas de pós-graduação, em especial os colegas: CARLOS RUBENS PONCHINI CARVALHO, JAIRO DIAS BARREIRA, FRANKLIN FEDERICO MUJICA LINAREZ, MARIA DALILA FORLANO RIERA e CARLOS EUGÊNIO DA

SILVA, por suas considerações sempre relevantes, pela amizade, paciência e presteza para comigo, bem como pelo excelente convívio.

Aos colegas médicos veterinários, monitores e estudantes de graduação, atuantes no Laboratório de Patologia Clínica da UFF, dentre os quais: CARLOS FREDERICO GITSO TEIXEIRA DA SILVA, DANIEL DE BARROS MACIEIRA, ALEXANDRE DE SÁ, ANDERSON OLIVEIRA MONTEIRO, JULIANA LOPES REIS e RENATO BOGUS, pela presteza e colaboração na execução da parte prática do experimento, bem como suas considerações relevantes que só fizeram enriquecer o conteúdo deste trabalho.

Ao Professor EVERALDO BOTELHO, responsável pela Fazenda Experimental da UFF, em Cachoeira de Macacu, pela atenção dispensada durante a realização das colheitas de material.

Aos funcionários da Fazenda da UFF, pela presteza e auxílio na ocasião de coleta de dados do trabalho.

Aos funcionários do Departamento de Parasitologia Animal, pela presteza e apoio constante, durante o Curso de Mestrado.

BIOGRAFIA

GIL VICENTE OLIVEIRA DA SILVA, filho de Vicente João da Silva e Jorgina Francisca Oliveira da Silva, nascido a 20 de Abril de 1975, na cidade do Rio de Janeiro, estado do Rio de Janeiro.

Cursou o primeiro grau no Colégio Delta, Santa Cruz, Rio de Janeiro, no período de 1979 à 1986, de onde saiu com o 6º ano concluído e na Escola Municipal .João Proença, Campo Grande, Rio de Janeiro, onde concluiu o 8º ano em 1988. Posteriormente ingressou no Colégio Estadual Professor Fernando de Almeida Raja Gabaglia, Campo Grande, Rio de Janeiro, onde cursou e concluiu o segundo grau em 1991

Em agosto de 1992, ingressou no Curso de Graduação em Medicina Veterinária na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, município de Seropédica, Rio de Janeiro. Foi, durante a graduação, Bolsista de Iniciação Científica, PIBIC/CNPq, do Instituto de Biologia, Departamento de Parasitologia Animal, no período de julho de 1996 a julho de 1997, sob orientação do Professor Dr. Carlos Luiz Massard, desenvolvendo o projeto de título: “Ocorrência de *Ehrlichia* spp. em animais silvestres no Estado do Rio de Janeiro”

Estagiou no Laboratório de Patologia Clínica Veterinária da Faculdade de Veterinária, Departamento de Clínica Veterinária, na Universidade Federal Fluminense, Vital Brasil, Niterói, Rio de Janeiro, no período de 1996 a 1997, sob orientação da Professora Dra. Nádia Regina Pereira Almosny.

Ingressou no Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária - Parasitologia Veterinária, em março de 2000, onde se encontra atualmente.

SUMÁRIO

	Pág.
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	4
2.1. Posição taxonômica	6
2.2. Transmissores	7
2.3. Sintomatologia e patologia clínica	9
2.4 Diagnóstico	11
2.5. Soroepidemiologia das babesioses eqüinas nas Américas	14
2.5.1. Soroepidemiologia nas Américas do Norte e Central	14
2.5.2. Soroepidemiologia na América do Sul	14
3. MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1. Local de execução	20
3.2. Origem dos animais	21

	Pág.
3.3. Determinação do tamanho da amostra	23
3.4. Coleta do material e obtenção de amostras de sangue total	24
3.5. Confecção dos esfregaços sangüíneos para exame paras	24
3.6. Exames hematológico	24
3.7. Plaquetometria	25
3.8. Exames bioquímico-sérico	26
3.9. Testes sorológicos	26
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
4.1. Avaliação clínica	28
4.2. Prevalência sorológica	31
4.3. Hemograma	32
4.3.1. Eritrograma	32
4.3.2. Plaquetometria	33
4.3.3. Fibrinogênio	33
4.4. Leucograma	34
4.5. Bioquímica sérica	34
4.5.1. Função f	34
4.5.2. Função hepática	35
5. CONCLUSÕES	37
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38

ÍNDICE DAS TABELAS

	Pág.
Tabela 1. Resultados observados na reação de Imunofluorescência Indireta e Microscopia Óptica em eqüinos de apreensão da Região de Cachoeiras de Macacu, RJ	29
Tabela 2. Resultados observados no hematócrito, hemoglobina, hematimetria, fibrinogênio e plaquetometria de eqüinos de apreensão da Região de Cachoeiras de Macacu, RJ	33
Tabela 3. Resultados observados na leucometria global e específica de eqüinos de apreensão da Região de Cachoeiras de Macacu, RJ	34
Tabela 4. Resultados observados nas determinações séricas de uréia e creatinina de eqüinos de apreensão da Região de Cachoeiras de Macacu, RJ	35

Tabela 5. Resultados observados na avaliação das atividades séricas de Alanina Aminotransferase (ALT), Aspartato Aminotransferase (AST), Fosfatase Alcalina, Gama Glutamil Transferase (GGT), bilirrubina total e bilirrubina direta de eqüinos de apreensão da Região de Cachoeiras de Macacu, RJ 36

ÍNDICE DAS FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Foto da Fazenda da Universidade Federal Fluminense, mostrando a proximidade dos animais com a mata nativa	21
Figura 2. foto evidenciando a região de baixada, onde encontra-se situada a Fazenda	22
Figura 3. Foto da seringa utilizada para contenção dos animais para coleta de material	22
Figura 4. Esfregaço sangüíneo com trofozoíta de <i>Babesia equi</i> em forma de tétrede e anelar. Coloração de Giemsa (400X)	30

Figura 5. Esfregaço sangüíneo com trofozoíta de *Babesia equi* em forma de tríade e uma forma puntiforme isolada. Coloração de Giemsa (400X)

RESUMO

Este estudo foi conduzido para avaliar a situação da prevalência de *Babesia equi* (Laveran, 1901) no Município de Cachoeira de Macacu, Rio de Janeiro, Brasil. Foram utilizados para a pesquisa, os exames de esfregaço de sangue periférico à microscopia óptica e a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), como triagem. Foram utilizados neste estudo 49 cavalos de apreensão da Fazenda da Universidade Federal Fluminense, localizada em Cachoeira de Macacu. Na microscopia óptica, observou-se a prevalência de 22,49% (11 animais) e na RIFI foi observada a prevalência de 95,92% (47 animais) reações positivas. Através destes dados, pode-se considerar que a área estudada é endêmica para *Babesia equi*. Foram avaliados parâmetros hematológicos, tais como. Hematócrito, Hematimetria, Plaquetas, Fibrinogênio, Leucometria Global e Específica. Os perfis bioquímicos renais e hepáticos da população estudada, utilizando avaliação das enzimas: Uréia e Creatinina; AST, ALT, GGT e Fosfatase Alcalina, e avaliação da Bilirrubina. Notou-se que no estado portador assintomático, os parâmetros hematológicos e

Bioquímico-séricos, não sofrem variações que possam ser atribuídas unicamente ao protozoário.

SUMMARY

This survey was carry out to evaluate the prevalence situation of protozoa *Babesia equi* (Laveran, 1901), in Cachoeira de Macacu, Rio de Janeiro, Brazil. Were used to research it the peripheric blood smears for direct examination on optical microscope and Immunofluorescence Indirect Reaction (IFIR), as screening test. Were used in this survey 49 horses of Universidade Federal Fluminense Farm, localized in Cachoeira de Macacu. In optical microscope, was observed the prevalence of 22,49% (11 animals) and in the IFIR, were observed the prevalence of 95,92% (47 animals). Based on these results, the studied area can be considered as being endemic to *B. equi*. Were evaluated hematological parameters, stich as: Packed Cell Volume, Red Blood Cell Count, Platelets, Fibrinogene, White Blood Cell Count and White Blood Cell Specific Count. The serum biochemical profiles of kidneys and liver were used to evaluate these animals. The enzymes that were used in it, were: Urea and Creatinine; ALT, AST, GGT, Alcaline Fosfatase and Bilirrubine. Was observed that ant mats in the assymptomatics status, don't suffer any variation in the hematological and serum biochemical parameters, that can be credited just to these protozoa.

1. INTRODUÇÃO

A babesiose eqüina é uma doença anemiante de ampla distribuição mundial, considerando-se que somente 10% do plantel de eqüinos no mundo vivam em áreas consideradas livres. Esta doença acomete solípedes da Família Equidae, tem como agentes etiológicos: *Babesia equi* (Laveran, 1901) Mehlhorn & Schein, 1998 e *Babesia caballi* (Nuttall & Strickland, 1910). Recentemente, houve uma mudança taxonômica com relação à espécie *B. equi*, pois foram observadas esquizogonias (tipo de reprodução assexuada comum aos protozoários) pré-eritrocítica em linfócitos, o que proporcionou subsídios para que os autores da redescricao da espécie e alocá-la entre os espécimes pertencentes à Família Theileriidae. A espécie *B. caballi*, pertence à Família Babesiidae. Estas espécies são transmitidas biologicamente por ixodídeos aos eqüinos, muares e zebras. Animais com baixa parasitemia e os hospedeiros invertebrados envolvidos na transmissão podem funcionar como reservatórios e introduzir estas protozooses em áreas livres do parasitismo. Cabe salientar, porém, que esta não é a única forma de transmissão, podendo ocorrer também por via iatrogênica e transplacentária.

Quanto aos métodos diagnósticos, é de consenso internacional, na atualidade, a utilização do Teste de Fixação de Complemento (TFC), que se baseia na detecção de anticorpo ou antígeno. Este método foi oficializado no ano de 1969, pelo United States Department of Agriculture (USDA), sendo obrigatório por ocasião da importação e exportação de cavalos, bem como em: leilões, exposições, esportes equestres, realizados no País e no exterior. Utiliza-se também rotineiramente a observação de lâminas à microscopia direta coradas pelo Giemsa, este método mostra-se pouco elucidativo em quadros subclínicos, tendo em vista a baixa parasitemia. Os testes de Aglutinação em Tubos Capilares, Imunofluorescência, ELISA (Teste imunoenzimático) são mais sensíveis em comparação ao TFC, porém apresentam pouca especificidade. Todavia, a utilização de ELISA de inibição competitiva com anticorpo monoclonal, demonstra alto grau de especificidade (KNOWLES, 1991). A utilização da detecção através de Reação de Polimerase de Cadeia “Polimerase Chain Reaction” (PCR) é considerada específica e mais eficiente se comparada com a microscopia óptica. Recentemente, o cultivo *in vitro* de culturas de eritrócitos de eqüinos tem sido utilizado com relativo sucesso na detecção de infecções subclínicas, o que tem demonstrado como um caminho promissor, tendo em vista o baixo custo e a alta sensibilidade do processo.

A pesquisa direcionada a aspectos epidemiológicos das babesioses eqüinas assume um grande vulto do ponto de vista científico e econômico. A eqüinocultura nacional vem se destacando com relação à busca da excelência na criação, passando a ser considerada um dos setores que mais gera empregos e divisas para o País.

Este trabalho teve como propósito de unir-se aos demais trabalhos sobre aspectos clínicos e epidemiológicos da babesiose eqüina no Estado do Rio de Janeiro e contribuir para o esclarecimento da amplitude da população portadora assintomática no plantel fluminense.

2. REVISÃO DA LITERATURA

DUPONT & BARREIROS TERRA (1952) *apud* PEREIRA (1999), formular um histórico sobre a piroplasmose. Wiltshire descreve, na África do Sul, uma Infecção grave dos solípedes, a qual denominou de Febre Biliar, que apresentava como características principalmente: anemia progressiva, icterícia e febre irregular. Em 1901, Laveran descreve a espécie *Piroplasma equi*. Em 1902, a febre biliar ou a piroplasmose era confundida com a peste negra. Em 1910, Nuttall prova a existência de dois hematozoários distintos, causando a piroplasmose: um deles, o maior (2,5 a 4 µm), semelhante a *Babesia bigemina*, foi incluído no gênero *Babesia*, e para o menor (1 a 2,5 µm), propôs-se o gênero *Nuttalia*. o primeiro relato de nuttalliose causada por *Nuttalia equi* no Brasil, foi feito por Carini em 1910, no Estado de São Paulo.

DEKOCK (1918) publicou Um trabalho relatando o insucesso do tratamento da nuttalliose (termo empregado a partir de 1912 por NUTTALL & STRICKLAND, referindo-se à infecção por *Nuttalia equi*) em cavalos, com o uso de uma gama de componentes químicos como o azul de trypan, o qual foi efetivo para *B. caballi*.

KELSER (1922), reportou a epizootia da doença em 17 cavalos do exército dos EUA, que desembarcaram no Panamá. A associação do ixodídeo *Anocentor* (*Dermacentor*) *nitens* com piroplasmose eqüina, incriminando-o como possível agente transmissor da *B. caballi*, identificando o último como o agente etiológico da doença. A piroplasmose eqüina tomou proporções endêmicas nos Estados Unidos da América (EUA) em 1961, devido à importação de animais originários de Cuba, região endêmica para a enfermidade, que chegaram Flórida, e que possivelmente disseminaram a doença para outros estados, devido ao intenso trânsito de cavalos e presença do vetor *A. nitens*, transmissor de *B. caballi* (ROBY & ANTHONY, 1963; BRYANT *et al.* , 1969; THOMPSON, 1969; BRÜNNING, 1996). Nos EUA foi verificada a presença de outras espécies de carrapatos considerados potenciais vetores, a saber: o *Rhipicephalus sanguineus*, está presente na maioria dos estados em maior incidência nos Estados da Flórida e Nova York e o *A. nitens* na Flórida. O *R. sanguineus* pode transmitir por via transovariana *B. caballi* por quatro gerações (MAURER, 1962).

Segundo FRIEDHOFF (1990) com a colonização americana foram trazidas várias espécies de carrapatos do Velho Mundo, que parasitavam os animais domésticos e que se adaptaram muito bem nas Américas e com o passar dos anos, principalmente devido às contínuas exportações de animais, carrapatos das Américas, também se adaptaram muito bem no Continente Europeu; o que demonstra que o fator capacidade de adaptação dos vetores favoreceu a transmissão de patologias em vários continentes.

2.1. Posição taxonômica

Reino Protista.

Sub-reino: Protozoa (Goldfuss, 1818).

Filo: Apicomplexa Levine, 1970.

Classe: Sporozoea Leuckart, 1879.

Sub-classe: Piroplasmae Levine, 1961.

Ordem: Piroplasmida Wenyon, 1926.

Família. Babesiidae Poche, 1913.

Gênero: *Babesia* Starcovici, 1893.

Espécie: *Babesia equi* (Laveran, 1901) / *Babesia caballi* Nuttall & Strickland, 1910.

A classificação para *B. equi* ainda é um assunto com muitas discordâncias, entre vários autores, uma vez que parasitos desta espécie, apresentam características biológicas disparees daquelas consideradas para o gênero *Babesia*, como por exemplo: esquizogonia exoeritrocítica em linfócitos, a presença de citóstoma e de uma estrutura alimentar tubular em trofozoítos de *B. equi* (SIMPSON *et al.*, 1967; FRERICHS & HOLBROOK, 1974; SIMPSON & NEAL, 1980), essas estruturas envolvidas no mecanismo de alimentação, são muito similares àquelas observadas no gênero *Theileria* (SCHEIN, 1981, MELHLORN & SCHEIN, 1984; SOULSB Y, 1987; EUZEB Y, 1988, ZAPF & SCHEIN, 1994).

Outra linha de pesquisa que prefere criar uma nova família para *B. equi*, que possivelmente se denominaria Nicollidae e seu nome passaria a ser *Nicollia equi*, sendo também futuros integrantes desta família: *B. microti* e *B. rodhaini* (COX, 1994).

2.2. Transmissores

ENIGK (1943, 1944) in SOULSBY (1987) revisou as espécies de ixodídeos que são incriminados pela transmissão de *B. equi*, a saber: *Dermacentor reticulatus* (Europa), *Hyalomma escavatum* e *H. plumia* (Grécia e Ásia Central), *H. dromedarii* (Norte da África), *Rhipicephalus bursa* e *R. turanicus* (Antiga União das Repúblicas Socialistas Soviética), *R. evertsi* (África do Sul), *R. sanguineus* (Ásia Central e África do Norte).

NEITZ (1956a) verificou que alguns vetores de *B. caballi* permanecem com o poder de infectividade por duas gerações, sem se alimentar em animal infectado, enquanto que outros, mantêm a infecção por somente dois estádios sucessivos, do ciclo de vida de uma geração. Para este autor, os vetores de *B. caballi* seriam três espécies do gênero *Dermacentor*: *D. marginalis* (= *D. reticulatus*), *D. pictus* e *D. silvarum*; quatro do gênero *Hyalomma*: *H. volgense*, *H. anatolicum* (= *H. escavatum*), *H. marginatum* e *H. dromedarii*; que fora recém introduzida em nossa plataforma continental (MASSARD, 2001) e duas do gênero *Rhipicephalus*: *R. sanguineus* e *R. bursa*. Os vetores de *B. equi* seriam duas espécies do gênero *Dermacentor*: *D. marginatus* e *D. pictus*, quatro espécies do gênero *Hyalomma*: *H. anatolicum anatolicum*, *H. marginatum detritum*, *H. escavatum* e *H. uralense detritum*, e três espécies do gênero *Rhipicephalus*: *R. bursa*, *R. sanguineus* e *R. evertsi*. *R. equi* é transmitida predominantemente pela via transestadial, exceto quanto espécie *H. Anatolicum*, que faz

transmissão transovariana. *B. caballi*, transmitida predominante por via transovariana (NEITZ, 1956b).

ERSHOV (1956) in SOULSBY (1987), sugeriu a existência de antagonismo entre as duas babesias, que as infecções por *B. equi* são mais freqüentes do que as produzidas por *B. caballi*.

Os vetores de *B. caballi* na França são: *Dermacentor reticulatus*, *A. marginatus* e *A. marginatum*. O vetor de *B. equi* ainda é desconhecido na França, suspeitando-se ser o *Rhipicephalus bursa* (MOREL, 1981).

No Marrocos, *B. equi* foi isolada de carrapatos adultos naturalmente infectados da espécie *H. marginatum* (MOLTMANN *et al.*, 1983).

Babesia caballi foi diagnosticada em glândulas salivares de *H. truncatum* e estudada ao nível da microscopia eletrônica. Esta espécie de carrapato foi encontrada em animais domésticos e silvestres, com ampla distribuição na África do Sui, provavelmente um hábil vetor de *B. caballi* nesta região (BLOWIN & DEWAAL, 1989). A transmissão transovariana de *B. caballi* pelo *H. truncatum* (DEWAAL, 1990) e a transmissão transtadial por *R. evertsi* (DEWAAL & POTGIETER, 1987), demonstram a dupla possibilidade de transmissão do agente causal ao vetor.

Babesia equi é altamente infectiva para ninfas de *H. anatolicum* e *R. turanicus*: 85 a 92% das ninfas podem adquirir infecção com elevada parasitemia (FRIEDHOFF *et al.*, 1990).

Dentre as espécies que acometem eqüídeos de modo geral, as principais são: *Anocentor nitens* e *Amblyomma cajennense*, porém demonstraram-se incapazes de transmitir a espécie *B. equi* experimentalmente (STILLER & COAN, 1995).

PFEIFER *et al.* (1992) diagnosticaram *B. caballi* em cavalos infestados naturalmente por *A. nitens* em estudos realizados na FAIZ-UFRRJ, Brasil.

Recentes trabalhos reportam a transmissão experimental de *B. equi* por *Boophilus microplus* que demonstraram através da microscopia eletrônica de transmissão, que *B. equi* é capaz de se multiplicar em glândulas salivares de *B. microplus* na fase adulta, demonstrando a transmissão transtadial desse hemoparasito. Este fato sugere que o *B. microplus* possivelmente possa ser um transmissor natural da *B. equi*, justificando sua presença em partes da América Latina, dentre as quais o Brasil, esta espécie possa se tratar do provável vetor onde se observa que não existe nenhuma outra espécie de vetor possível, concomitantemente, constitua a única espécie ou a espécie predominante encontrada em eqüídeos (CUNHA, 1993; GUIMARÃES *et al.*, 1998ab).

2.3. Sintomatologia e patologia clínica

Babesia equi e *B. caballi* são parasitos distintos, que diferem na morfologia, na capacidade e via de transmissão dos vetores e no período de incubação das enfermidades por elas causadas, que varia de 10 a 30 dias para *B. caballi* (DEWAAL, 1990) e 12 a 19 dias para *B. equi* (DEWAAL, 1992).

A severidade das infecções por *B. equi* e *B. caballi* está intimamente ligada ao número de parasitos que induzem a primo-infecção e das taxa de reprodução da amostra dos parasitos envolvidos. Observou-se que existem diferenças notórias, no que tange a apresentação geral da infecção grave por *R. caballi* em comparação com a *B. equi* (MASSARD, 1993).

Em geral as infecções graves de *B. caballi* resultam em disfunções de diversos

órgãos devido às aglomerações dos parasitos desta espécie nos capilares viscerais, resultando em fragilidade capilar com rompimento e escape de eritrócitos (hemorragias). No fígado observa-se atrofia e degeneração da veia centrolobular e necrose. Nos casos agudos de infecção por *B. caballi*, os sintomas são freqüentemente caracterizados por: inapetência, febre com temperatura média entre 38 e 40°C, mucosas congestas, taquicardia e taquipnéia. A infecção por *B. equi* resulta, principalmente, na destruição de eritrócitos, devido à intensa multiplicação intraeritrocitária, sobrevivendo à morte por anemia (HOLBROOK, 1969).

Nos casos agudos de infecções por *B. equi*, o sintoma característico é a febre, muitas vezes de natureza intermitente, com temperatura variando de 39,5 a 42,3°C (TAYLOR *et al.*, 1969), em casos mais graves pode ocorrer hemoglobinúria (SIPPEL *et al.*, 1962; RETIEF, 1964; RUDOLPH *et al.*, 1975; MAHONEY, 1977). É comum observar-se mucosas pálidas e/ou ictéricas, com petéquias e e/ou equimoses e edemas de membros. Há casos em que sintomas digestivos podem estar associados, tais como: eólica ou constipação, freqüentemente seguidas de diarréia e/ou fezes ressecadas, principalmente em casos de infecção por *B. equi* (LITTLEJOHN, 1963 *in* BONE *et al.*, 1963).

As enfermidades causadas por *B. equi* e/ou *B. caballi*, apresentam algumas sintomas semelhantes, que podem ocorrer em maior ou menor grau de intensidade, dependendo do parasitismo e da resistência individual do hospedeiro (SOULE & PERRET, 1990), vale ressaltar, que equinos adultos, importados de áreas indenes e introduzidos em regiões endêmicas, são consideravelmente mais susceptíveis ao desenvolvimento de um quadro mais severo da doença (SIPPEL *et al.*, 1962).

Em infecções agudas por *B. equi*, o hemograma demonstra na série vermelha, anemia do tipo microcítica hipocrômica ou anemia normocítica normocrômica (SCHEIN,

1988). Em 53 casos agudos a campo no Chile, observou-se anemia normocítica normocrômica (RUDOLPH, 1971). Na série branca geralmente se encontra neutropenia, linfopenia, eosinopenia e aumento significativo do número de monócitos (RUDOLPH *et al.*, 1975), além de decréscimo do fibrinogênio e elevadas concentrações de bilirrubina plasmática (RISTIC, 1985).

A babesiose clínica ocorre principalmente em duas circunstâncias: a primeira quando movimento de cavalos susceptíveis para áreas endêmicas, a segunda quando cavalos portadores são movidos para áreas não endêmicas, mas que contêm vetores, capazes de transmitir as espécies de babesias a cavalos susceptíveis (KNOWLES, 1988).

A parasitemia, raramente excede a 1% em infecções por *B. caballi* e geralmente em infecções por *B. equi* se encontram na faixa de 1 a 7%, mas em alguns casos podem chegar a 80% (FRIEDHOFF *et al.*, 1990).

Os animais portadores crônicos, principalmente de *B. equi*, são os que causam maior preocupação e prejuízos.

2.4. Diagnóstico

HIRATO *et al.* (1945), foi quem primeiro reportou a possibilidade de aplicação do Teste de Fixação de Complemento (TFC) para o diagnóstico das babesioses eqüinas, primeiramente envolvendo *B. caballi*. Em março de 1969 o TFC foi aceito como teste oficial para piroplasmoses eqüinas pelo USDA, sendo desde então reconhecido e utilizado mundialmente (FRIEDHOFF, 1982). As amostras de *B. equi* e *B. caballi* (USDA) utilizadas no TFC foram isoladas de cavalos naturalmente infectados da Flórida criopreservadas e mantidas

por várias passagens em pôneis e vetores. No caso de *B. caballi*, se utilizaram passagens em *A. nitens* e para *B. equi* passagens em *Hyalomma anatolicum anatolicum* e *Rhipicephalus turanicus* (KLINCKMANN, 1981; TENTER, 1984).

O TFC detecta títulos de anticorpos, a partir de oito dias do início da infecção, declinando entre dois e três meses pós-infecção, por eliminação espontânea ou terapêutica com drogas babesicidas em caso de infecção por *B. caballi*. A partir daí, as reações imunológicas diagnosticadas através do TFC, podem se tornar negativas num intervalo de três a 15 meses para *B. caballi*, e para *B. equi* o animal se mantém por toda a vida como portador (FRIEDHOFF, 1982; BRONNING, 1996).

Em casos de exportação de cavalos de áreas endêmicas para os Estados Unidos, Canadá, Japão e Austrália, utilizado o TFC com o “screening”, e em casos contraditórios, pode-se associar a imunofluorescência indireta e futuramente o ELISA, que se encontra em fase de pesquisa (BOSE & PEYMAN, 1994).

Atualmente as pesquisas têm avançado para o desenvolvimento de novos testes de diagnóstico, que na maioria das vezes são mais sensíveis na detecção de portadores assintomáticos (Ex: Enzyme Linked immunosorbent Assay – ELISA), mas o TFC ainda, o teste mais específico para o diagnóstico das babesioses eqüinas (BRÜNNING, 1996).

Uma razão primária para que ocorram resultados falsos negativos no TFC é a presença da imunoglobulina da classe das IgG (T) que não fixa complemento e é bastante encontrada no soro de eqüinos (MCGUIRE *et al.*, 1971). As imunoglobulinas do grupo das IgG que tem hábil poder de fixação de complemento são IgG1 e IgG3 (ROITT, 1998).

O teste de imunofluorescência indireta é o método mais utilizado atualmente, sendo empregado no diagnóstico de todas as espécies do gênero *Babesia* (BASE *et al.*, 1995). Foi

utilizada pela primeira vez por RISTIC & SIBINOVIC em 1964 para o diagnóstico de babesiose. Comparada com o TFC, apresenta maior sensibilidade e especificidade (DONNELLY et al., 1980). Este método pode detectar anticorpos já a partir do sexto dia pós-infecção (DEWAAL et al., 1987) e mesmo com uma única infecção, os anticorpos podem ser detectados um ano e meio após a inoculação (WEILAND, 1986; KUTTLER et al., 1988). O custo por teste é baixo e a maioria dos reagentes necessários são prontamente disponíveis ou de preparação local. Normalmente não mais que 70-90 amostras podem ser examinadas por dia (BOSE et al., 1995).

O método sorológico mais sensível é o ELISA, embora exista necessidade de adaptação para um protocolo mais simples, o que quando alcançado, proporcionará a facilidade da automação possibilitando o manejo de grandes amostras em períodos relativamente mais curtos dos que observados em testes atuais. Foi adaptado para pesquisa de anticorpos anti-*Babesia divergens* por PURNELL et al. (1976). Comparado ao TFC e à RIFI, apresenta sensibilidade maior, no entanto tem se verificado reações cruzadas entre as diversas espécies de *Babesia*, entre elas *B. equi* e *B. caballi* (AICHER, 1984; SOULE et al., 1984). Atualmente, ensaios imunoenzimáticos do tipo competitivo com a utilização de anticorpos monoclonais, vem sendo desenvolvidos e demonstrado um alto grau de sensibilidade e especificidade, embora ainda pouco exequível ao nível de diagnóstico de rotina por tratar-se de uma técnica laboriosa (KNOWLES et al., 1998).

2.5. Soroepidemiologia dos babesioses eqüinos nas Américas

2.5.1. Soroepidemiologia nas Américas do Norte e Central

Com o advento da padronização do TFC, atenuou-se as eventuais discordâncias de dados no National Veterinary Service Laboratories (USDA) entre os anos de 1986-1990 que revelaram, a saber: em 65.911 soros de eqüinos de várias raças que passaram pelas estações de quarentena, cerca de 2.880 (4,4%) foram soropositivos para infecção por *B. caballi* ao TFC e de 67.517 soros testados para infecção por *B. equi*, 5.246 (7,8%) foram soropositivos (ZAUGG & LANE, 1992).

Observa-se um Quadro díspar do anterior quando se trata da América Central. Nestes animais, cerca de 1/3 do plantel destinado às importações para os EUA, eram soropositivos para uma ou ambas as babesias. Em Porto Rico, 89% dos cavalos examinados eram soropositivos para *B. caballi* e 25% para *B. equi* (HOLBROOK *et al.*, 1973 *apud* PEREIRA, 1999).

2.5.2. Soroepidemiologia na América do Sul

No Chile e na Argentina no período de 1970 a 1972, cavalos de corrida e de salto foram vendidos para os EUA, sendo rejeitados na estação de quarentena de Miami e devolvidos aos países de origem, às custas de seus proprietários. Este fato causou grande impacto no comércio internacional de cavalos, por serem os animais portadores

assintomáticos de *Babesia* sp. Inquéritos soroepidemiológicos posteriores, demonstraram que havia animais portadores assintomáticos nesses países sul-americanos. A espécie de carrapato mais encontrada parasitando cavalos no Chile foi o *Otobius megnini* (Dugés, 1883), mas não foi comprovado ser esta espécie a veiculadora de *Babesia* sp. aos eqüinos chilenos (RUDOLPH, 1971).

Exames sorológicos em haras de criação e “studs” na Província de Santiago no Chile, revelaram que de um total de 24 haras, foram selecionados 18 correspondentes àqueles que tinham mais 10 animais por plantel. A população foi de 912 animais, dos quais 605 eram adultos (com seis a 19 anos) e 307 eram potros (com menos de um ano). Por limitação quantitativa de antígeno para o teste TFC, foram escolhidos 118 adultos e 62 potros, num total de 180 animais, que correspondem a 200% da população. 300% dos cavalos adultos e 22,6% dos potros mostraram a variação de decréscimo de títulos de anticorpos ao TFC, contra os antígenos de *B. equi* e *B. caballi* no decorrer da idade. Num total de 50 animais, 96% foram soropositivos para *B. equi*, 2% para *B. caballi* e 2% para ambas. Dos 18 haras, 14 (77,8%) apresentou animais soropositivos para as duas espécies, tanto em adultos quanto em potros; concluindo que a enfermidade se encontra em áreas de cavalos PSI, com nível similar aos hipódromos da Província de Santiago, fato relacionado ao intercâmbio entre haras e hipódromos. Foi também observado que *B. equi*, não foi como quanto já foi relatada em outros países, onde considerada tão patogênica nesta região: causa enfermidade e alta mortalidade (URCELAY *et al.*, 1973).

Um estudo da prevalência da piroplasmose em eqüinos da raça Criolla, da província de Córdoba na Colômbia, mostrou que de 82 soros de eqüinos pertencentes a 13 fazendas, situadas na região nordeste da Colômbia, testados pelo TFC e pela Reação de

Imunofluorescência Indireta (RIFI), ambas as babesias foram encontradas em todas as fazendas. O TFC detectou anticorpos para *B. caballi* em 41% e para *B. equi* em 65% animais. A RIFI indicou a prevalência de 90% para *B. caballi* e 94% para *B. equi* prevalência de animais soro-reagentes em diferentes grupos de idade, revelou um significativo declínio, de anticorpos para *B. caballi* ao TFC em animais acima de três anos de idade. Os títulos do TFC para ambas as babesias declinaram gradualmente com o aumento da idade dos animais para *B. caballi*, mas ainda presente em animais com idade superior a nove anos para *B. equi*. Os carrapatos encontrados foram: *Anocentor nitens*, em todas fazendas e *Amblyomina cajennense* em apenas duas fazendas (TENTER *et al.*, 1988).

No Brasil as babesioses são relativamente freqüentes, sendo a maioria quase sempre causada pela *B. equi* (HIPÓLITO *et al.*, 1965; BARBOSA *et al.*, 1993, 1995; LINHARES, 1994; BITTENCOURT *et al.*, 1997).

A *B. caballi* parece ser uma espécie de baixa prevalência no continente americano, principalmente na América do Sul, sendo, contudo, freqüente no Continente Europeu e no Asiático. No Brasil esta espécie foi primeiramente encontrada no Estado do Rio de Janeiro por COSTA & MELLO (1963, 1965) em equino mestiço e no Estado de Minas Gerais por LIMA *et al.* (1976).

TENTER & FRIEDHOFF (1986), analisando soros provenientes do Rio de Janeiro e Espírito Santo, encontraram prevalência de 72% para portadores de infecção por *B. equi* e 64% para *B. caballi* em 20 amostras examinadas pela Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI).

RIBEIRO & LIMA (1989) em Minas Gerais, observaram uma prevalência de 72% para portadores de infecção por *B. equi*, examinados através da RIFI.

No Estado do Rio Grande do Sul, CUNHA (1993) observou a prevalência de Infecção por *B. equi* de 57,9%, pelo RIFI, em avaliação realizada em 133 animais do Jockey Club de Pelotas e dois haras na zona sul do Rio Grande do Sul, e verificou a presença de *B. microplus* parasitando cavalos.

LINHARES (1994), no centro-oeste, na microrregião de Goiânia, registrou prevalências de 94,7% para *B. equi* e 90,8% para *B. caballi*, utilizando-se a RIFI, caracterizando área como de estabilidade enzoótica e trabalhou com eqüinos criados em regime extensivo e semi-intensivo.

BARBOSA (1993, 1995) verificou elevada prevalência de babesioses, no setor de eqüinocultura da Fazenda do Instituto de Zootecnia (FAIZ), da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), observando que a soropositividade ao TFC em 60 eqüinos, era de 96,7% para *B. equi* e 61,7% para *B. caballi*, em diagnóstico realizado no Laboratório do Instituto de Parasitologia da Universidade de Hannover, Alemanha.

BOTTEON (1996) observou que em 121 amostras em regime extensivo, sem e Intensivo, os 27 animais criados em regime de estabulação permanente, apresentavam títulos menores ao RIFI (mais freqüente 1:40), sendo que estes animais apresentavam maior susceptibilidade à enfermidade, devido à Instabilidade enzoótica a que estavam expostos. A Pesquisa foi realizada nos municípios de Seropédica, Japeri, Paracambi, Miguel Pereira, Nova Iguaçu, Itaguaí e Rio de Janeiro.

“Aspectos Epidemiológicos da Babesiose Eqüina na Microrregião Fluminense do Grande Rio - Itaguaí, Estado do Rio de Janeiro” foi o tema do trabalho de BITTENCOURT *et al.* (1997), em que 78 eqüinos, criados em regime extensivo (FAIZ-UFRRJ) e propriedades vizinhas, na Região Fluminense de Itaguaí, RJ, foram testados pelo

TFC (Universidade de Hannover), no período de abril a agosto de 1985. A maioria era portadora de anticorpos circulantes anti-*B. equi* (84,6%) e/ou anti-*B. caballi* (93,6%), o que caracterizou ser uma área fortemente enzoótica e potencialmente de risco para animais procedentes de áreas livres de carrapatos, vetores biológicos da enfermidade.

No Brasil, a piroplasmose, considerada como uma endemia, especialmente nos rebanhos soltos a campo. Segundo a experiência do Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias Paddock, Jockey Club de São Paulo (referência para o diagnóstico de piroplasmose Equina), 90% dos animais são soropositivos para as babesioses, em deste, centro-oeste e sudeste. Em estudo realizado com 720 eqüinos de várias raças originárias de 28 fazendas de diferentes regiões do país: Mato Grosso, São Paulo, Minas Gerais, Paraná e Rio Grande do Sul, demonstrando a existência de *B. equi* e *B. caballi*, em todas as regiões diagnosticadas pelo TFC e presença das espécies de carrapatos: *A. nitens*, *A. cajennense* e *B. microplus*, parasitando os cavalos. Foram observadas baixas prevalências de *B. caballi* e *B. equi* em áreas subtropicais, provavelmente isto ocorra, por um maior desenvolvimento de várias espécies de carrapatos em regiões tropicais. O controle de carrapato indicado neste trabalho, o "spray", contendo deltametrina (piretróide), à diluição de 25 mg/l a cada três semanas, durante um ano, em áreas tropicais, tentando com isto reduzir a infestação no pasto. Em áreas subtropicais, é suficiente utilizar o produto a cada três semanas, nas estações de primavera e verão. Os assuntos acima mencionados foram tema de trabalho apresentando no Congresso da Associação Mundial de Veterinária Equina, realizado em Padova, na Itália (KERBER, 1997). Em fazendas onde há associação de eqüinocultura com ^hovinocultura e não há controle de carrapatos, foi encontrada alta

prevalência, especialmente de infecções por *B. equi* (KERBER, 1997; SIQUEIRA, 1997).

No Brasil a prevalência de babesiose, bastante distinta nas diferentes regiões do país, como por exemplo: estudos realizados no Rio de Janeiro e em Minas Gerais, demonstraram que 85% a 100% dos eqüinos examinados pelo TFC, são portadores de *Babesia* sp.; enquanto no Rio Grande do Sul, o percentual de soropositivos fica em torno de 30 a 50% (ANPC, 1996).

PEREIRA (1999) descreve que a ocorrência de *B. equi*, a qual teve oportunidade de avaliar, era superior a *B. caballi* em todas as situações. Também notou que as condições de criação e os métodos ineficazes ao controle e vetores são fatores predisponentes à ocorrência da infecção pelos agentes causadores de babesiose eqüina em estabelecimentos que possuam portadores ditos assintomáticos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Local de execução

Para realização do experimento foram utilizadas as seguintes instalações:

- Avaliação parasitológica dos esfregaços sangüíneos foi realizada na Estação para Pesquisas Parasitológicas W.O. Neitz, pertencente ao Departamento de Parasitologia Animal/Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), localizada no Município de Seropédica, Rio de Janeiro;
- As coletas das amostras foram realizadas na Fazenda Experimental da Universidade Federal Fluminense (UFF), no Município de Cachoeira de Macacu, Rio de Janeiro;
- Os exames hematológicos e bioquímicos séricos foram realizados no Laboratório de Patologia Clínica Veterinária, Departamento de Clínica Veterinária, Campus Vital Brasil, da UFF localizado no Município de Niterói, Rio de Janeiro;

- Os exames sorológicos das amostras foram realizados no Laboratório de Imunodiagnóstico, Departamento de Patologia Animal, da Faculdade de Ciência Agronômica e Veterinária, Campus Jaboticabal, da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal, São Paulo.

3.2. Origem dos animais

Foi utilizada amostragem do tipo conveniência para seleção dos animais utilizados neste experimento dentre animais nascidos e criados na Fazenda Experimental da UFF (Figuras 1, 2 e 3) e dos pertencentes à região geográfica correspondente ao Município de Cachoeira da Macacu.



Figura 1. Foto da Fazenda da Universidade Federal Fluminense, mostrando a proximidade dos animais com a mata nativa.

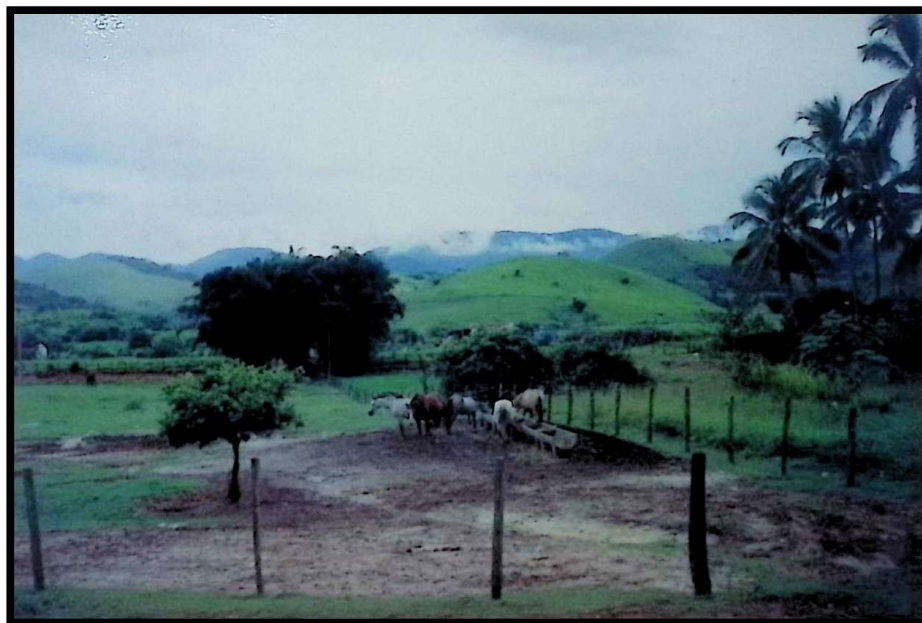


Figura 2. Foto evidenciando a região de baixada, onde encontra-se situada a Fazenda.

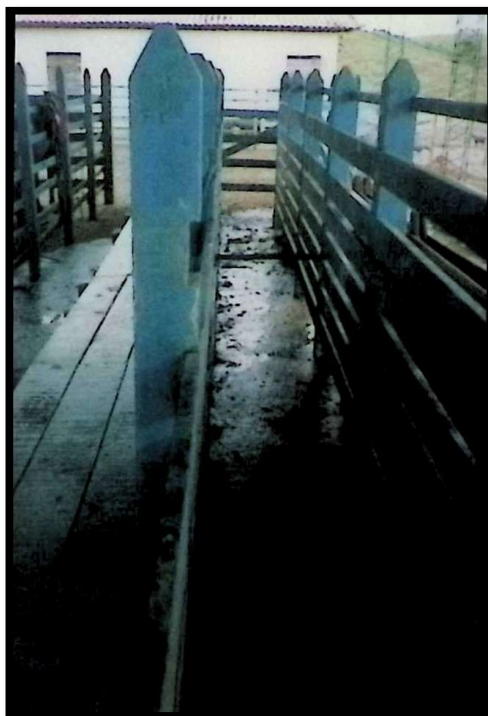


Figura 3. Foto da seringa utilizada para contenção dos animais para coleta de material.

3.3. Determinação do tamanho da amostra

A amostra estudada foi calculada baseando-se na metodologia do CENTRO PAN-AMERICANO DE ZOONOSIS (1973) para estudos de prevalência de enfermidades crônicas.

A fórmula utilizada foi a seguinte:

$$N = \frac{P (100-P) 4^*}{(EP/100)^2} + 30\%$$

Onde:

N = Tamanho da amostra.

P = Prevalência esperada.

E = Margem de erro.

4 = Número aproximado $(1,96)^2$, que é o fator que determina o grau de confiança do resultado, de 95%.

Levando-se em consideração um pré-experimento realizado por MASSARD 1993 (dados não publicados) em animais provenientes do Curral de Apreensão da UFRRJ e, considerando que as condições daquele plantel sejam similares ao plantel da Fazenda Experimental da UFF, bem como a prevalência esperada, utilizou-se a prevalência de 98%, que foi observada entre 100 animais avaliados, à luz do TFC, naquela ocasião no Plantel da UFRRJ. Estimou-se, então, o tamanho da amostra em um mínimo de 43 soros. Foram utilizados 49 animais.

3.4. Coleta do material e obtenção de amostras de sangue total e soro

Foram coletadas amostras de sangue de eqüinos parasitados por carrapatos, que na região são predominantemente as espécies *A. cajennenses* e *B. microplus* (BOTELHO - Notificação Pessoal). A amostra representava 70% do Plantel da Fazenda. Os animais estudados estavam na faixa de idade entre oito meses a seis anos. Foram procedidas venipunção jugular, utilizando o sistema Vacutainer®, visando a obtenção de duas amostras de sangue: a primeira em tubos com ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), como anticoagulante para utilização na hematologia e outra sem nenhum tipo de anticoagulante para utilização na bioquímica sérica e na sorologia.

3.5. Confecção dos esfregaços sangüíneos para exame parasitológico

Foram procedidos esfregaços de sangue periférico, utilizando as primeiras e segundas gotas de sangue após punção de vasos periféricos (NEITZ & THOMAS, 1938). A região eleita para coleta foi à orelha dos animais, sendo procedidas tricotomias prévias e utilizando para punção agulhas estéreis. Após secarem em temperatura ambiente, os esfregaços foram fixados utilizando álcool metílico pelo período de 5 minutos.

3.6. Exames hematológicos

Os hemogramas compunham-se de avaliação do volume globular, hematimetria, hemoglobinometria, leucometria global, específica, hematoscopia e leucocitoscopia.

O volume globular era efetuado em centrífuga para micro hematócrito¹, utilizando-se tubos capilares (COLES, 1986).

A hematimetria e leucometria global foram realizadas em câmara de NeubauerIm1)T0l utilizando-se, respectivamente, soro fisiológico (Hematimetria) e líquido de Turk (Leucometria) (COLES, 1986).

Hemoglobinometria era avaliada através de testes espectrofotométricos utilizando-se kits comerciais².

A coloração dos esfregaços sangüíneos para a leucometria específica, hematoscopia, leucocitoscopia e pesquisa de parasitos foi efetuada através da coloração de Giemsa (JAIN, 1993).

As leucometrias específicas foram realizadas com esfregaços sangüíneos obtidos na ocasião da venipunção jugular, sendo os esfregaços corados pelo Giemsa e avaliados à luz da microscopia óptica com a utilização do aumento de 1000X. Seguindo técnicas descritas por COLES (1986).

3.7. Plaquetometria

A contagem de plaquetas foi realizada em câmara de Neubauer^{improved} utilizando-se, como diluente, oxalato de amônio a 5% (COLES, 1986).

¹ Fanen

² Labtest

3.8. Exames bioquímico-séricos

A determinação dos valores séricos de Uréia, Creatinina, glicose, Aspartato Amino Transferase (AST) e Alanina Amino Transferase (ALT), Gama Glutamil-Transferase, Proteínas totais e Albumina foram efetuadas por espectrofotometria³ com a utilização de kits comerciais⁴ nas dependências do Laboratório de Patologia Clínica Veterinária da UFF.

A Bilirrubina indireta, globulinas e relação Albumina Globulina foram determinadas através de cálculos aritméticos (KANEKO, 1997).

Os níveis plasmáticos de fibrinogênio foram determinados por Refratometria⁵, conforme técnica descrita por COLES (1986).

3.9. Teste sorológico

O teste sorológico utilizado foi a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), empregado em todas as amostras coletadas para pesquisa de anticorpos anti-*B. equi*. Utilizando-se o protocolo de TENTER & FRIEDHOFF (1986) *apud* BOTTEON (1996).

A execução da RIFI foi procedida nas dependências do Laboratório de Imunodiagnóstico, Departamento de Patologia Animal, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Universidade Paulista, Campus Jaboticabal (UNESP/FCAV).

³ Baush & Lomb S.A.

⁴ Labtest

⁵ Atago S.A.

As lâminas utilizadas no teste eram provenientes da cepa obtida de um potro de um dia, de Jaboticabal, São Paulo, gentilmente cedidas pela Prof. Dr. Rosângela Zacarias Machado.

Para a execução do teste foram retiradas do congelador as amostras que foram processadas no mesmo dia, sendo deixada em repouso à temperatura ambiente por 10 minutos. Em seguida, utilizando solução *Phosphate Buffered Saline* (PBS), procedeu-se a diluição 1:80 do soro teste, bem como o soro proveniente de um potro negativo para *B. equi* e *B. caballi* ao nível sorológico e também negativo no PCR. Foi adicionado na reação o Azul de Evans, a fim de evitar possíveis ocorrências de fluorescência inespecífica, na proporção 1:10000.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Avaliação clínica

Os animais estavam aparentemente normais, sendo que três apresentavam-se ligeiramente mais magros. Nenhum animal, entretanto, apresentavam sinais ou sintomas compatíveis com infecção por *B. equi* (HOLBROOK, 1969; TAYLOR et al., 1969).

A falta de sinais e sintomas foi relacionada a uma relação parasito-hospedeiro elevada e estável, o que também está relacionado com as características climáticas da região, onde faz calor o ano todo (MASSARD, 2002 - Informação Pessoal).

Observou-se que 11 animais (22,49%) apresentavam, em microscopia óptica de imersão (1000X), formas intraeritrocíticas compatíveis com *B. equi* (Tabela 1; Figuras 4 e 5). Estes resultados foram ligeiramente superiores aos encontrados na literatura. BOTTEON (1996) observou a prevalência de 16,67% quando avaliou eqüinos da região de Seropédica (RJ) criados em sistema extensivo. A prevalência de LINHARES (1994) na região de Goiânia foi de 16,2%. Esta prevalência mais elevada foi relacionada ao fato de

Tabela 1. Resultados observados na Reação de Imunofluorescência Indireta e Microscopia óptica em eqüinos de apreensão da Região de Cachoeiras de Macacu, RJ.

Animais	RIFI	Exame ao Microscópio óptico
1	+	-
2	+	-
3	+	-
4	+	-
5	+	-
6	+	+
7	+	-
8	+	-
9	-	-
10	+	-
11	+	-
12	+	-
13	+	-
14	+	-
15	+	+
16	+	-
17	+	-
18	+	+
19	+	-
20	+	-
21	+	+
22	+	-
23	+	+
24	-	-
25	+	+
26	+	-
27	+	+
28	+	-
29	+	-
30	+	-
31	+	+
32	+	-
33	+	+
34	+	-
35	+	-
36	+	-
37	+	-
38	+	-
39	+	-
40	+	+
41	+	-
42	+	-
43	+	-
44	+	+
45	+	-
46	+	-
47	+	-
48	+	-
49	+	-

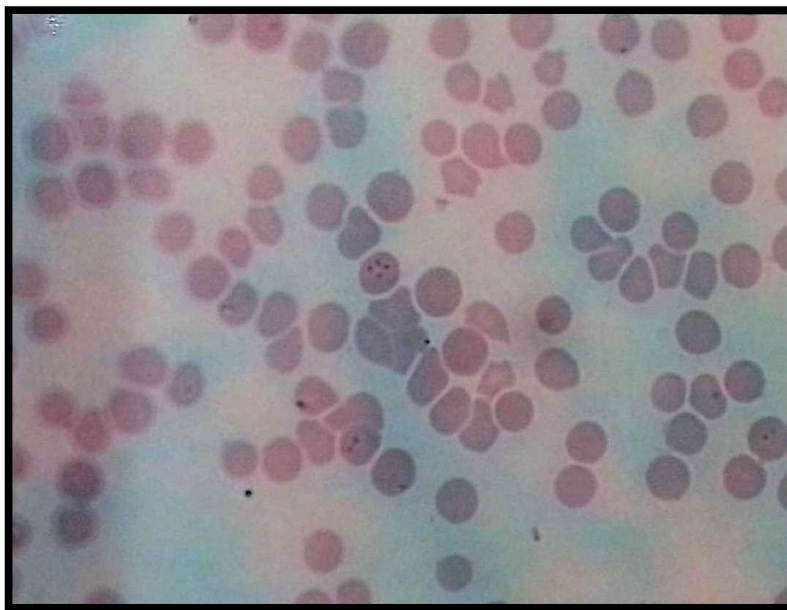


Figura 4. Esfregaço sanguíneo com trofozoíta de *Babesia equi* em forma de tétrade e anelar. Coloração d Giemsa (400X).

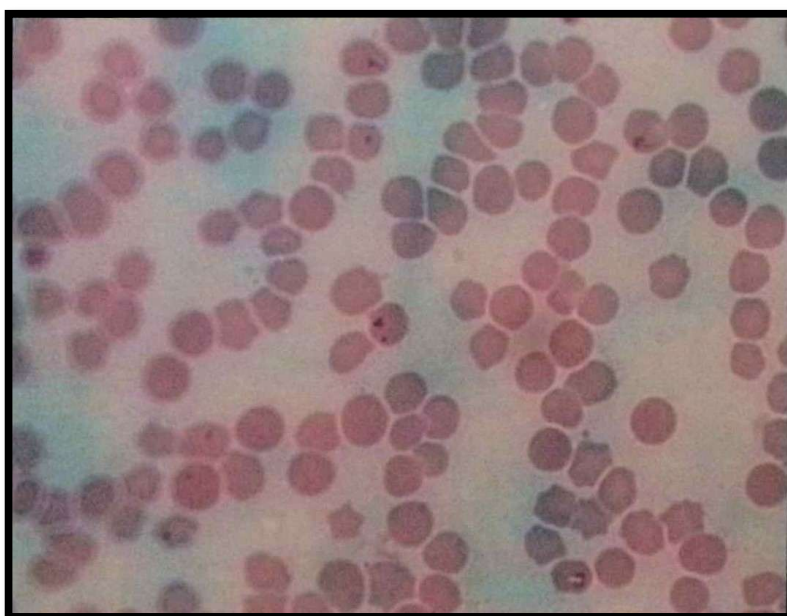


Figura 5. Esfregaço sanguíneo com trofozoíta de *Babesia equi* em forma de tríade e uma forma puntiforme isolada. Coloração de Giemsa (400X).

serem os eqüinos do presente trabalho, animais de apreensão, estressados e debilitados, pela elevada ocorrência de carrapatos e devido a estes autores terem trabalhado em região diferente da do presente levantamento.

Em nenhum animal foram observadas formas parasitárias compatíveis com a espécie *B. caballi*.

4.2. Prevalência sorológica

De um total de 49 amostras de soro testadas, 47 foram positivas para *B. equi* o que corresponde a 95,92% da amostra (Tabela 1), o que caracteriza a região como área de estabilidade enzoótica para *B. equi*. Dados coincidentes com LINHARES (1994) que observou a prevalência de 94,7% para *B. equi* em eqüinos da região de Goiânia. Este autor trabalhou com animais provenientes dos sistemas extensivo e semi-extensivo.

Dados que coincidem com os descritos por PFEIFER BARBOSA (1995) em estudo realizado no Rio de Janeiro com 20 potros, pertencentes ao plantel da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, em regime extensivo, em que os autores consideravam a área como de alta estabilidade enzoótica.

MAHONEY & ROSS (1972) *apud* BOTTEON (1996) citaram que nessas condições os riscos de surtos e perdas econômicas são reduzidos, preceitos estes que são compatíveis com a população autóctone, o que não é necessariamente verdade com animais recém introduzidos neste ecossistema e que sejam provenientes de regiões de instabilidade enzoótica, ou livres do protozoário.

A baixa parasitemia e a não expressão clínica da protozoose causada pela *B. equi*, sugeriu que em condições naturais e em áreas com estabilidade enzoótica elevada existe

uma grande população de animais em estado subclínico da doença, o que em última análise, torna-se um grave problema quanto à oferta de potenciais reservatórios, não detectáveis ao exame clínico comum.

4.3. Hemograma

4.3.1. Eritrograma

As médias de hematócritos observadas nos grupos positivo e negativo foram semelhantes e estavam levemente abaixo das observadas na literatura (Tabela 2), que descreve como valores normais para este índice os situados entre 32 e 48% (COWELL & TYLER, 1992; JAIN, 1993; KANEKO, 1997; RADOSTITITS *et al.*, 2000). Os valores ligeiramente abaixo da faixa citada na literatura foram relacionados a condições nutricionais, tendo em vista que estes animais eram oriundos de apreensões e estavam no plantel a pouco tempo. Possíveis infecções crônicas, entretanto, podem levar um animal a estado anêmico devido ao elevado desvio do ferro que ocorre nestas situações (FELDMAN *et al.*, 2000). Os valores de referência foram obtidos nos Estados Unidos da América e os autores não caracterizaram a região deste país onde estavam estes animais, para que se pudessem comparar os valores mínimos obtidos. No presente levantamento, a região compreendia a Baixada Litorânea do Estado do Rio de Janeiro e se tratava de animais sem raça definida. Ao nível do mar os valores do eritrograma são mais baixos (KANEKO, 1997; FELDMAN *et al.*, 2000). Estes dados demonstraram a importância de um trabalho que determine os valores normais para a região da Baixada Litorânea do Rio de Janeiro e áreas afins.

Tabela 2. Resultados observados no hematócrito, hemoglobina, hematimetria, fibrinogênio e plaquetometria de eqüinos de apreensão da Região de Cachoeiras de Macacu, RJ.

Parâmetros	Hematócrito	Hemoglobina (g/dl)	Hematimetria (x 10 ⁶)	Fibrinogênio	Plaquetometria
Média	29,02041	9,68	6,00469388	314,285714	188632,653
Desvio Padrão	3,418636	1,14	0,79855886	163,299316	55722,7863
Valor Máximo	35	12,7	7,36	800	330000
Valor Mínimo	20	6,7	4,12	200	93000

O estudo do eritrograma revelou normocitose e normocromia, conforme também descreveu RUDOLPH (1971). Em eqüinos, a rápida resposta esplênica está relacionada à não ocorrência da reação hemolítica, observada em outras espécies (JAIN, 1993; FELDMAN, 2000; REED & BAYLKY, 2000).

4.3.2. Plaquetometria

A contagem de plaquetas esteve dentro dos valores da normalidade.

4.3.3. Fibrinogênio

Os valores médios de fibrinogênio estiveram normais, o que está compatível com infecções subclínicas. Valores elevados de fibrinogênio relatados por RISTIC (1985) estão relacionados a infecções agudas.

4.4. Leucograma

Os valores encontrados na leucometria global (Tabela 3) não diferiram entre os animais e estiveram dentro das citadas na literatura (COWELL & TYLER, 1992; KANEKO, 1997; FELDMAN *et al.*, 2000). Na leucometria específica, observou-se que o número de neutrófilos e linfócitos estavam dentro do patamar de normalidade. Entretanto, a média de monócitos estava elevada, apresentando os animais, monocitose significativa, conforme relatos de RUDOLPH *et al.* (1975). A monocitose foi relacionada a infecções crônicas ou subclínicas (FELDMAN *et al.*, 2000).

Tabela 3. Resultados observados na leucometria global e específica de eqüinos de apreensão da Região de Cachoeiras de Macacu, RJ.

Parâmetros	Leucometria global (mm ³)	Basófilos %	Eosinófilos %	Mielócitos %	Metamielócitos %	Bastões %	Neutrófilos %	Linfócitos %	Monócitos %
Média	9502,041	0,204	7,755	0	0,020	0,612	53,592	31,041	6,714
Desvio Padrão	3529,312	0,612	3,854	0	0,143	0,953	12,41	12,055	4
Valor Máximo	18700	3	16	0	1	4	74	62	24
Valor Mínimo	4700	0	1	0	0	0	30	15	2

4.5. Bioquímica sérica

4.5.1. Função renal

Os valores encontrados de uréia e creatinina (Tabela 4) estiveram dentro dos limites da normalidade descritos por KANEKO (1997) e RADOSTITTS *et al.* (2000), o que revelou

que animais portadores subclínicos de *B. equi* em regiões de estabilidade enzoótica não demonstram alterações renais compatíveis com a reação hemolítica determinada pela babesiose, conforme descreveram KANEKO (1997), FELDMAN *et al.* (2000) e RADOSTITITS *et al.* (2000).

Tabela 4. Resultados observados nas determinações séricas de uréia e creatinina de eqüinos de apreensão da Região de Cachoeiras de Macacu, RJ.

Parâmetros	Uréia (mg/dl)	Creatinina (mg/dl)
Média	47,74286	1,232353
Desvio Padrão	7,792692	0,134211
Valor Máximo	70	1,5
Valor Mínimo	32	1

4.5.2. Função hepática

A atividade sérica média de Alanina Amino Transferase (ALT) esteve normal, conforme KANEKO (1997), FELDMAN *et al.* (2000), RADOSTITITS *et al.* (2000) e vasta literatura. Esta enzima, entretanto, não é fidedigna para avaliar a função hepática em eqüinos, sendo costumeiramente usada para diagnosticar hepatopatias em pequenos animais.

A atividade média de Aspartato Amino Transferase (AST) também esteve dentro da faixa de normalidade indicando não haver lesão celular hepática diagnosticável.

Os valores de normalidade nesta espécie determinam atividades bastante elevadas (KANEKO, 1997, FELDMAN *et al.*, 2000; RADOSTITITS *et al.*, 2000). As atividades de fosfatase alcalina e Gama Glutamil Transferase (γ GT) também estiveram dentro dos limites de normalidade (Tabela 5), o que ratifica as atividades de AST. Entretanto, devido a particularidades anatômicas do fígado dos eqüinos que possuem canalículos biliares bastante distendidos para compensar a ausência da vesícula biliar, as enzimas que indicam estase biliar não costumam ter suas atividades elevadas na doença hepática, sendo mais comum elevação em colestases pós-hepáticas (REED & BAYLKY, 2000). Assim, um equino poderia ter lesão hepática e atividades de fosfatase alcalina e γ GT normais.

Os valores de bilirrubinas total e direta estiveram dentro da normalidade (Tabela 5) indicando não estar ocorrendo redução da capacidade metabólica hepática, na ocasião da coleta.

Tabela 5. Resultados observados na avaliação das atividades séricas de Alanina Aminotransferase (ALT), Aspartato Aminotransferase (AST), Fosfatase Alcalina, Gama Glutamil Transferase (GGT), bilirrubina total e bilirrubina direta de eqüinos de apreensão da Região de Cachoeiras de Macacu, RJ.

Parâmetros	ALT (UI)	AST (UI)	Fosfatase Alcalina (UI)	GGT (UI)	Bilirrubina Total (mg/dl)	Bilirrubina Direta (mg/dl)	Bilirrubina Indireta (mg/dl)
Média	2,873529	90,74118	81,4666667	12,70556	0,317297	0,054865	0,262432
Desvio Padrão	1,609688	4,90282	56,6986478	11,20314	0,397853	0,026835	0,389069
Valor Máximo	5,8	91,6	163	58,4	2,1	0,13	2,03
Valor Mínimo	1	63	2	1,1	0,04	0,1	0,03

5. CONCLUSÕES

1. A prevalência na microscopia óptica é relativamente superior em animais de apreensão, pois estes vivem em condições de estresse e de condições nutricionais não favoráveis, possuem um alto grau de possibilidade de entrarem em contato com o(s) eventual(ais) vetor(es).

2. Em região de estabilidade enzoótica, existe uma elevada população assintomática que se transforma em reservatórios potenciais de *B. equi*.

3. Animais em estado assintomático de infecção por *B. equi*, não apresentam variações no eritrograma que possam ser atribuídas ao parasito, unicamente.

4. As condições de manejo, bem como, a localização geográfica de um plantel é relevante no que tange alterações no leucograma em animais portadores assintomáticos para *B. equi*.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANPC. Associação Nacional de Proprietários de Cavalos de Corrida. **Babesiose Equina.**

Caracterização da Doença e Avanço na Pesquisa. 1996. 16 p.

BARBOSA, I. P. **Epidemiological studies of Infections with *Babesia equi* and *Babesia caballi* in Brazil.** 1993. 34 f. Dissertation (Medical Veterinary) - School of Veterinary Medicine, Hannover, Germany.

BARBOSA, I. P.; ROSE, R.; PEYMANN, B.; FRIEDHOFF, K. T. Epidemiological aspects of equine babesioses in a herd of horses in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 58, p. 1-8, 1995.

BITTENCOURT, V. R. E. P.; MASSARD, C. L.; MASSARD, C. A. Aspectos epidemiológicos da Babesiose Equina na Microrregião fluminense do Grande Rio – Itaguaí, Estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 4, n. 1, p. 13-17, 1997.

BLOOD, D. C.; RADOSTITS, O. M. **Veterinary Medicine**. 7. ed. London: Baillière Tindall, 1987. 1263 p.

BLOWIN, E. F.; DEWAAL, D. T. The fine structure of developmental stages of *Babesia caballi* in the salivary glands of *Hyalomma truncatun*. **Onderstepoort Journal Veterinary Research**, v. 56, p. 189-195, 1989.

BONE, J. F.; CATACOTT, E. J.; GABE, A. A.; HOHNSON, L. E.; RILEY, W. F. **Equine Medicine and Surgery**. 1. ed. St. Barbara, California: American Veterinary Publications, 1963. 420 p.

BÖSE, R.; PEYMAN, B. Diagnosis of *Babesia caballi* infections in horses by enzyme-linked immunosorbent assay and western blot. **International Journal for Parasitology**, v. 24, p. 341-346, 1994.

BOTTEON, P. T. L. **Influência dos sistemas de criação de equinos na prevalência de *Babesia equi* (= *Nuttalia equi*) (Laveran, 1901)**. 1996. 69 f. Tese (Mestrado em Medicina Veterinária - Parasitologia Veterinária) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Itaguaí.

BRÜNNING, A. Equine piroplasmiasis an update on diagnosis, treatment and prevention (review). **British Veterinary Journal**, v. 152, p. 139-151, 1996.

BRYANT, J. E.; ANDERSON, J. B.; WILLERS, K. H. Control of equine piroplasmosis in Florida. **Journal American Veterinary Medicine Association**, v. 154, n. 9, p. 1034-1036, 1969.

CARINI, A. 1910. In: DUPONT, O.; BARREIROS TERRA, A. B. Nuttalliose Eqüina. **Veterinária**, v. 6, n. 2, p. 3-7, 1952.

COWELL, R. L.; TYLER, R. D. **Cytology and Hematology of the horse**. Ed. Mosby, 1992. 242 p.

COX, F. E. G. The evolutionary expansion of the sporozoa. **International Journal of Parasitology**, v. 24, p. 1301-1316, 1994.

CUNHA, C. W. da. **Babesiose Eqüina: Padronização da reação de imunofluorescência para sorodiagnóstico e levantamento epidemiológico em eqüinos puro sangue Inglês**. 1993. 57 f. Tese (Mestrado) - Universidade Federal de Pelotas, Rio Grande do Sul, 1993. 57p.

DEWAAL, D. T. The transovarial transmission of *Babesia caballi* by *Hyalomma truncatum*. **Onderstepoort Journal Veterinary Research**, v. 57, p. 99-100, 1990.

DEWAAL, D.T. Equine piroplasmosis: a review. **British Veterinary Journal**, v. 148, p. 6-14, 1992.

DEWAAL, D. T.; POTGIETER, F. T. The transtadial transmission of *Babesia caballi* by *Rhipicephalus evertsi evertsi*. **Onderstepoort Journal Veterinary Research**, v. 54, p. 655-656, 1987.

DUPONT, O.; BARREIROS TERRA, A. B. Nutaliose Eqüina. **Revista Veterinária**, v. VI, n. 2, p. 3-7, 1952.

ENIGK, K. Die Überträger der Pferdepiroplasmose, ihre Verbreitung und Biologie. Arch. Wiss. Prakt. Tierheilk, v. 78, p. 209-240, 1943. In: SOULSBY, E. J. L. **Parasitologia y Enfermidades Parasitaria - en los Animales Domesticos**. 7. ed. Mexico, España, N. York, Brasil, Colombia, Venezuela: Interamericana, 1987. 820 p.

ENIGK., K. Weitere Untersuchungen zur Überträgerfrage der Pferdepiroplasmose. Arch. Wiss. Prakt. Tierheilk, v. 79, p. 58-60, 1944. In: SOULSBY, E. J. L. **Parasitologia y Enfermidades Parasitaria - en los Animales Domesticos**. 7. ed. Mexico, España, N. York, Brasil, Colombia, Venezuela: Interamericana, 1987. 820 p.

ERSHOV, R. Parasitology and parasitic diseases of Livestock. USSR: State Publ. House for Agricultural Literature, 1956, p. 388-406. In: SOULSBY, E. J. L. **Parasitologia y Enfermidades Parasitaria - en los Animales Domesticos**. 7. ed. Mexico, España, N. York, Brasil, Colombia, Venezuela: Interamericana, 1987. 820 p.

EUZEBY, J. On the taxonomy of haemosporidians. **The Piroplasma Sciences Veterinaires Medicine Comparee**, v. 90, n. 3, p. 181-200, 1988.

FELDMAN, B. V.; ZINKL, J. G; JAIN, N.C. **Schalm's veterinary hematology**. 5. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. 1344 p.

FRIEDHOFF, K. T.; TENTER, A. M.; MÜLLER, F. Hemoparasites of equines: impact on international trade of horses. **Revue Scientifique et Technique Office International epizootie**, v. 9, n. 4, p. 1184-1187, 1990.

GUIMARÃES, A. M.; LIMA, J. D.; RIBEIRO, M. F. B.; CAMARGOS, E. R. S.; BOZZI, I. A. Ultraestructure of sporogony in *Babesia equi* in salivary glands of adult female *Boophilus microplus* ticks. **Parasitology Research**, v. 60, p. 69-74, 1998a.

GUIMARÃES, A. M.; LIMA, J. D.; RIBEIRO, M. F. B. Sporogony and experimental transmission of *Babesia equi* by *Boophilus microplus*. **Parasitology Research**, v. 84, n. 4, p. 323-327, 1998b.

HERMAN, M.; BAUMANN, D.; WEILLAND, G.; SALIS, B. V. First report of equine babesiosis as a herd problem in Switzerland. **Pferdeheiekunde**, v. 3, n. 1, p. 17-24, 1987.

HIPÓLITO, O.; FREITAS, M. G.; FIGUEIREDO, J. B. **Doenças Infecto-contagiosas dos Animais Domésticos**. 4. ed. São Paulo: Ed. Melhoramentos, 1956. 598p.

HIRATO, K.; NONOMIYA, N.; UWANO, Y.; KUTH, T. Studies on complement fixation reaction for equine piroplasmosis. *In: Third International Conference on Equine Infections Diseases*. Paris: 1945. p. 467-475.

HOLBROOK, A. A.; FRERICHS, W. M.; ALLEN, P. C. Laboratory diagnosis of equine piroplasmosis. **Proceedings Third International Conference Equine Infections Diseases**, p.467-475, 1973.

HOURRIGAN, J. L.; KNOWLESS, R. C. **Newsletter of the American Association of equine practioners**, v. 1, p. 119-128, 1979.

JAIN, N. **Essentials of Veterinary Hematology**. Lea & Febiger, 1993. 417 p.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 5. ed. New York: Academic Press, 1977. 932 p.

KELSER, R.A. A note on Equine Piroplasmosis. **Abstract Bacteriology**, v. 6, p. 21-22, 1922.

KERBER, C. E.; FERREIRA, F.; PEREIRA, M. C. Control of equine piroplasmosis in endemic Countries. *In*: WORLD EQUINE VETERINARY CONGRESS, 1997, Padova, Itália. **Anais...** Padova, Itália: 1997.

KLINCKMANN, G. **Sporozootenstadien von *Babesia equi* aus *Hyalomma anatolicum anatolicum* und *Rhipicephalus turanicus***. 1981. Dissertation – Scholl Veterinary Medicine, Hannover.

LAVERAN, A. Contribution à l'étude de *Piroplasma equi*. **Recueil Médecine Vétérinaire**, v. 8, p. 380, 1901.

LIEBISCH, A.; RAHMAN, M. S. Zum vorkommen und zur uektorreillen bedeutung der zecken *Dermacentor marginatus* (Sulzer, 1779) und *Dermacentor reliculatus* (Fabricius, 1794) in Deutschland. **Tropenmedicine Parasitology**, v. 27, p. 393-404, 1976.

LIMA, J. D.; BIONIDINI, J.; REIS, R. Babesiose causada por *B. caballi* (Nuttall & Strickland, 1910) em eqüino da raça Postier em Minas Gerais, Brasil. **Arquivos da Escola de Veterinária UFMG**, v. 87, p. 92, 1976.

LINHARES, G.F.C. **Aspectos biológicos e epidemiológicos das babesioses de eqüídeos, com ênfase à microrregião de Goiânia, Goiás, Brasil**. 1994. 105 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Itaguaí.

LITTLEJOHN, A. A. Babesiosis. In: BONE, J. F.; CATACTE, E. 1; GABEL, A. A.; JOHNSON, L. E.; RILEY, W. F. **Equine Medicine and Surgery**. 2. ed. Sta. Barbara, California: American Veterinary Publications, 1963. p. 211-220.

MAURER, F. D. Equine piroplasmosis - another emergency disease. **Journal American Veterinary Medicine Association**, v. 141, a 2, p. 6, 159-175, 1962.

McGUIRE, T. C.; VAN HOOSIER, G. L; HENSON, J. B. The complement-fixation reaction in equine Infectious anemia: demonstration of inhibition by IgG(T). **The Journal of Immunology**, v. 107, n 6, p. 1738-1744, 1971.

MOLTMANN, Y. G.; MEHLHORN, H; SCHEIN, G.; VOIGT, W. P.; ZWEYFARTH, E. *Babesia equi* (Laveran, 1901). 1. Development In horses and in lymphocyte culture. **Zeitschrift der Tropenmedizin und Parasitologie**, v. 32. p. 223-227, 1983.

NEITZ, W. O. Classification, transmission and biology of piroplasms of domestic animals. **Annual New York Academic Science**. v. 64, n 2, p. 56-111, 1956a.

NEITZ, W. O. A consolidation of our knowledge of the transmission of tick-borne diseases. **Onderstepoort Journal Veterinary Research**. v. 27, n. 2, p. 115-163, 1956b.

NUTTALL, G. H. F.; STRICKLAND, C. On the occurrence of two species of parasites in equine “Piroplasmosis” or “Biliary Fever”. **Parasitology**, v. 5, n. 1, p. 65-83, 1912.

PEREIRA, M. A. V. C. **Situação do parasitismo por *Babesia equi* (Laveran, 1901) e *Babesia caballi* (Nuttall & Strickland, 1912) em eqüinos da raça PSI, nos diferentes sistemas de manejo, no Estado do Rio de Janeiro.** 1999. 96 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária - Parasitologia Veterinária) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Itaguaí.

PFEIFER, I. B.; FRIEDHOFF, K. T.; MASSARD, C. L.; LINHARES, G. F. C. Diagnosis of natural Infection with *Babesia caballi* (Nuttall & Strickland, 1910) in horses and *Anocentor nitens* (Neumann, 1897) in Itaguaí, Rio de Janeiro, Brazil. **Arquivos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro**, v. 15, p. 105-107, 1992.

RADOSTITIS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses.** 9 ed. London: W. B. Saunders, 2000. 1877p.

REED, S. M.; BAYLY, W. M. **Medicina Interna Eqüina.** Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan S.A., 2000. 936 p.

RIBEIRO, M. F. B.; LIMA, J. D. Diagnóstico sorológico da babesiose equina por *Babesia equi* em Minas Gerais. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, VI., 1989, Bagé, Rio Grande do Sul. **Anais...** Bagé, Rio Grande do Sul: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 1989. p. 111.

RISTIC, M. Equine babesiosis and trypanosomiasis. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM EQUINE HAEMATOLOGICAL, 1985, Michigan. **Anais...** Michigan: State University, 1985.

ROBY, T. O.; ANTHONY, D. W. The transmission of equine piroplasmosis by the tropical horse tick, *Dermacentor nitens* Neumann. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 142, p. 768-769, 1963.

ROITT, I. M. **Essential Immunology**. 5. ed. São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais: Editora Atheneu, Biblioteca Biomédica, 1998. 294 p.

RUDOLPH, W. Piroplasmosis en caballos de carrera de Chile. **Boletín Chileno de Parasitología**, v. 26, p. 66-68, 1971.

SCHEIN, E. Equine babesiosis. In: RISTIC, M. **Babesiosis of domestic animals and man**. Boca Raton, Florida, USA: CRC Press, 1988. p. 197-208.

SCHEIN, E.; REHBEIN, G.; VOIGT, W. P.; ZWEYGART, E. *Babesia equi* (Laveran, 1901). 1. Development in horses and lymphocyte culture. **Tropenmedicine Parasitology**, v. 32, p. 223-227, 1981.

SIPPEL, W. L.; COOPERRIDER, D. E.; GAINER, J. H.; ALLEN, R. W.; MOUW, J. E. B.; TEIGLAND, M. B. Equine piroplasmosis in the United States. **Journal American Veterinary Medicine Association**, v. 141, p. 694-698, 1962.

SIQUEIRA, F. G. Médico Veterinário da Clínica Veterinária Eqüina, Jockey Club Brasileiro, Rio de Janeiro. **Comunicação Pessoal**, 1997.

SOULE, C.; PERRET, C.; DORCHIES, P. Babesiose equine a *Babesia equi*: comparaison des techniques de fixation du complement d'immunofluorescence Indirecte et d'ELISA. **Revue de Médecine Vétérinaire**, v. 135, n. 7, p. 419-424, 1984.

SOULSBY, E. J. L. **Parasitologia y Enfermedades Parasitária – em los Animales Domesticos**. 7. ed. Mexico, España, N. York, Brasil, Colombia, Venezuela: Interamericana, 1987. 820 p.

STILLER, K.; COAN, M. E. Recents developments in elucidating tick vector relationships for anaplasmosis and equine piroplasmosis. **Veterinary Parasitology**, v. 57, p. 97–108, 1995.

TAYLOR, W. M.; BRYANT, J. E.; ANDERSON, J. B.; SILLERS, K. R. Equine piroplasmosis in the United States – a review. **Journal American Veterinary Medicine Association**, v. 155, n. 6, p. 915-919, 1969.

TENTER, A. M. **Serodiagnose experimenteller und natürlicher Piroplasmeninfektionen der Pferde**. 1984. Dissertation - School Veterinary Medicine, Hannover.

TENTER, A. M.; OTTE, M. J.; CONZALEZ, C. A.; ABUABARA, Y. Prevalence of piroplasmosis in equines in the Colombian Province of Cordoba. **Tropical Animal Health Production**, v. 20, p. 93-98, 1988.

THOMPSON, P. H. Ticks as vectors of equine piroplasmosis. **Journal American Veterinary Medicine Association**, v. 155, n. 2, p. 454-457, 1969.

URCELAY, S.; CORREA, J.; RUDOLPH, W. Piroplasmosis en caballos de carrera. Estudio serológico e criaderos de la Provincia de Santiago. **Boletín Chileno de Parasitología**, v. 28, p. 6-9, 1973.

WEILAND, O. Species-specific serodiagnosis of equine piroplasma Infections by means of complement fixation test (CFT), immunofluorescence (IF), and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Veterinary Parasitology**, v. 20, p. 43-48, 1986.