

UFRRJ  
INSTITUTO DE VETERINÁRIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA  
PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS

DISSERTAÇÃO

ASPECTOS CLÍNICOS, LABORATORIAIS E  
EPIDEMIOLÓGICOS DA INFECÇÃO NATURAL POR *Babesia*  
*equi* (Laveran, 1901) EM EQUINOS DA ACADEMIA MILITAR  
DAS AGULHAS NEGRAS

MARCELO DE OLIVEIRA HENRIQUES

2006



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO**  
**INSTITUTO DE VETERINÁRIA**  
**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**  
**PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS**

**Aspectos clínicos, laboratoriais e epidemiológicos da infecção natural por**  
***babesia equi* (Laveran, 1901) em equinos da academia militar das**  
**Agulhas Negras**

**MARCELO DE OLIVEIRA HENRIQUES**

Sob a orientação do Professor

**Gilberto Garcia Botelho**

Dissertação submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Ciências Clínicas.

Seropédica, RJ

Outubro de 2006

636.10896936

H518a

T

Henriques, Marcelo de Oliveira, 1968-.

Aspectos clínicos, laboratoriais e epidemiológicos da infecção natural por *Babesia equi* (Laveran, 1901) em equinos da academia militar das agulhas negras / Marcelo de Oliveira Henriques – 2006.

33 f. : il.

Orientador: Gilberto Garcia Botelho.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária.

Bibliografia: f. 27-33.

1. Babesiose em cavalo - Teses. 2. Equino - Epidemiologia – Teses. 3. Protozoologia veterinária - Teses. I. Botelho, Gilberto Garcia, 1946-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária. III. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE VETERINÁRIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA  
PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS**

**MARCELO DE OLIVEIRA HENRIQUES**

Dissertação submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Ciências** pelo Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração Ciências Clínicas

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 25 / Out / 2006.

---

Dr. Gilberto Garcia Botelho. Ph. D. UFRRJ  
Orientador

---

Dr. Francisco Duque de Mesquita Neto. Ph. D. UFLA

---

Dr. Carlos Luiz Massard. Ph. D. UFRRJ

## **DEDICATÓRIA**

Aos meus pais, meu irmão e demais familiares, mas principalmente aos filhos e esposa, pelo carinho e eterno incentivo para conclusão deste e de todos os outros objetivos. Obrigado por estarem sempre juntos, mesmo quando a distância nos separa.

“É importante sonhar, mas o fundamental é transformar o sonho em realidade”

Mal José Pessoa

## AGRADECIMENTOS

Especial agradecimento ao Prof Gilberto Garcia Botelho, pelo respeito, orientação, amizade e compreensão durante todo o período de realização do Mestrado. Pelo estímulo e exemplo de estudar sempre e de forma organizada, pelas críticas construtivas e conhecimentos inesgotáveis.

Ao Prof Carlos Luiz Massard, pela forma de valorizar seus estudantes, incentivar pelo otimismo, exemplo, alegria e conhecimento técnico. Pelo apoio em inúmeras oportunidades durante a realização do experimento, meu reconhecimento público e respeito.

Aos amigos da Seção de Veterinária da Academia Militar das Agulhas Negras, pelo apoio, pela contribuição nas diversas fases da dissertação, pelo companheirismo e camaradagem típicos da caserna. Meu agradecimento especial aos Oficiais Veterinários - Capitão Carlos Henrique Coelho de Campos, Capitão Beatriz Helena Fuck Telles, Tenente Márcia de Hollanda Passos, Tenente Maximiliano França, Tenente Erivelto Vilela, Tenente Rafael Nunes Coutinho, Tenente Lídia Duque e Tenente Rodrigo Porto, que assumiram muitas vezes minhas missões, permitindo minhas ausências.

Ao Prof Francisco Duque de Mesquita Neto, pela disponibilidade constante, pelo apoio e colaboração nos momentos difíceis, orientação e conselhos para o melhor desenvolvimento da Dissertação. Pela execução dos exames laboratoriais e ensinamentos junto ao microscópio.

Aos amigos Anselmo F. Golinsky e Kátia Roberta Fernandes, pela realização dos exames de imunofluorescência, pela amizade, bom humor e incontáveis apoios nos momentos de necessidade.

Ao Capitão Bruno Pinto, da Cadeira de Estatística da AMAN, pela realização das análises estatísticas, mas principalmente pela atenção dispensada, habitual presteza e colaboração na execução desta importante parcela do experimento.

Ao Comando da Academia Militar das Agulhas Negras e ao Exército Brasileiro, por terem possibilitado a realização do Mestrado, utilizando os equinos, nossos nobres amigos, no presente trabalho.

A todos os professores da Pós-Graduação da UFRRJ, por terem acrescentado à minha formação e crescimento profissional, por terem auxiliado e orientado com críticas e considerações importantes para a conclusão deste projeto.

Aos colegas do curso de Mestrado em Medicina Veterinária, pelos momentos de apoio mútuo, paciência no convívio e principalmente pela amizade.

À minha família pela compreensão, apoio e estímulo para continuar sempre.

A todos que ajudaram na realização deste projeto, direta ou indiretamente.

## **BIOGRAFIA**

MARCELO DE OLIVEIRA HENRIQUES, filho de Eugênio Henriques e Wilma de Oliveira Henriques, nasceu em 10 de julho de 1968, na cidade do Rio de Janeiro, Estado do Rio de Janeiro.

Cursou o primeiro grau na Escola Pio X, no período de 1974 a 1978 e no Colégio Pentágono, no período de 1979 a 1982, na cidade do Rio de Janeiro. No Colégio Bahiense, ingressou em 1983, onde cursou o segundo grau, concluído em 1985.

Em 1986, ingressou no Curso de Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, no município de Seropédica - Rio de Janeiro, concluindo-o em 1990.

Em 1991, aprovado em concurso público, ingressou no Exército Brasileiro, tendo prestado serviço como Médico Veterinário de eqüinos nas cidades do Rio de Janeiro - RJ, em 1991, em Porto Alegre - RS, de 1992 a 1999 e em Resende-RJ desde 1999 até a presente data.

Ingressou no Curso de Mestrado em Medicina Veterinária em Março de 2004.

## RESUMO

HENRIQUES, M. O. **Aspectos clínicos, laboratoriais e epidemiológicos da infecção natural por *Babesia equi* (Laveran, 1901) em eqüinos da Academia Militar das Agulhas Negras.** Seropédica: UFRRJ, 2006. 33 p. (Dissertação, Mestrado em Medicina Veterinária).

Este estudo foi conduzido com o intuito de avaliar achados clínicos, laboratoriais e epidemiológicos na infecção natural de *Babesia equi* em 178 eqüinos mantidos em sistema semi-intensivo de criação, de propriedade da Academia Militar das Agulhas Negras – Exército Brasileiro, situada no município de Resende, Estado do Rio de Janeiro. *Babesia equi* é uma espécie de hemoparasita de elevada prevalência entre eqüídeos de áreas tropicais, sendo de difícil controle, causando perdas econômicas importantes, pelos longos períodos de convalescença, queda de desempenho nos animais acometidos, gastos com medicamentos e mão de obra, além de impor restrições no trânsito de eqüinos, seja para competições hípcas ou comércio internacional. Na Reação de Imunofluorescência Indireta, foi verificada uma prevalência de 85,96% (n=153), podendo ser a área considerada endêmica para *Babesia equi* e em estabilidade enzoótica, não sendo observadas diferenças significativas entre sexo e idade dos animais. Parâmetros laboratoriais como volume globular, hematimetria, plaquetometria, leucometrias global e específica, dosagens de creatinina sérica, albumina e proteínas plasmáticas totais foram conduzidos, podendo-se concluir que no estado de portador assintomático não há variação hematológica ou de bioquímica sérica que possa ser creditada ao protozoário *Babesia equi*.

Palavras chave: babesiose, eqüinos, epidemiologia

## ABSTRACT

HENRIQUES, M. O. **Clinical, laboratory and epidemiological aspects of naturally acquired *Babesia equi* infection (Laveran, 1901) in equines from the Academia Militar das Agulhas Negras.** Seropédica: UFRRJ, 2006. 33 p.

This study was conducted with the purpose to evaluate the clinical, laboratory and epidemiological aspects of naturally acquired *Babesia equi* infection in 178 horses handled in a semi-intensive system, property of the Academia Militar das Agulhas Negras – Brazilian Army, situated in the city of Resende, in the Rio de Janeiro State. *Babesia equi* is a species of hemoparasite of elevated prevalence among equids in tropical regions, being hard to control, causing important economic losses because of the long periods of convalescence, decline of performance in the affected animals, expenses with medication and workers, besides the restrictions in transit of equines, either for hippic competitions or international commerce. In the Indirect Immunofluorescence Reaction, a prevalence of 85,96% (n=153) was verified, therefore the area can be considered endemic for *Babesia equi* and in enzootic stability. There was no significant difference in the age or sex of the seropositive animals. Laboratory parameters like packed cell volume, red blood cell count, platelet count, global and differential white blood cell counts, dosages of seric creatinine, albumin and total plasmatic proteins, all of which led to the conclusion that in the assymptomatic carrier state there is no hematologic or seric biochemical variations that could be attributed to the protozoal *Babesia equi*.

Keywords: babesiosis, equines, epidemiology

## ÍNDICE DE TABELAS

|   |    |
|---|----|
| Tabela 1 - Calendário de medidas profiláticas praticadas em eqüinos da AMAN.....  | 14 |
| Tabela 2. Eqüinos da AMAN utilizados na avaliação clínica, exames hematológicos e bioquímicos.....                          | 15 |
| Tabela 3. Resultados observados na avaliação clínica e na sorologia para <i>B. equi</i> de eqüinos da AMAN.....             | 18 |
| Tabela 4. Valores hematológicos obtidos em eqüinos da AMAN – Exército Brasileiro.....                                       | 19 |
| Tabela 5. Valores observados nas leucometrias global e específica de eqüinos da AMAN – Exército Brasileiro.....             | 20 |
| Tabela 6. Valores de bioquímica sérica obtidos de eqüinos da AMAN – Exército Brasileiro.....                                | 22 |
| Tabela 7. Análise de Variância (ANOVA) para o modelo misto.....   | 22 |
| Tabela 8. Teste de Tukey para comparação das médias dos tipos de trabalho.....  | 23 |
| Tabela 9: Teste de Tukey para o fator sorologia para <i>B. equi</i> de eqüinos da AMAN.....                                 | 23 |
| Tabela 10. Prevalência de <i>Babesia equi</i> em eqüinos da AMAN – Exército Brasileiro.....                                 | 24 |
| Tabela 11. Prevalência de <i>Babesia equi</i> em eqüinos da AMAN – Exército Brasileiro, agrupados segundo sexo.....         | 24 |
| Tabela 12. Prevalência de <i>Babesia equi</i> em eqüinos da AMAN – Exército Brasileiro, agrupados segundo faixa etária..... | 25 |
| Tabela 13. Prevalência de <i>Babesia equi</i> em eqüinos da AMAN – Exército Brasileiro, agrupados segundo raça.....         | 25 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| Figura 1 – Esfregaço sanguíneo com trofozoíta de <i>B. caballi</i> .....  | 03 |
| Figura 2 – Esfregaço sanguíneo com trofozoíta de <i>B. equi</i> , em forma de Cruz de Malta e anelar.....   | 03 |
| Figura 3 – Ciclo biológico de <i>Babesia spp.</i> .....   | 05 |
| Figura 4. Academia Militar das Agulhas Negras, localizada no Município de Resende-RJ.....   | 13 |
| Figura 5. Eqüinos mantidos em sistema de criação semi-intensivo na AMAN.....  | 14 |
| Figura 6. Valores hematológicos médios de eqüinos positivos e negativos na sorologia para detecção de anticorpos anti- <i>B. equi</i> .....                                 | 20 |
| Figura 7. Valores médios observados na leucometria global e específica de eqüinos positivos e negativos na sorologia para detecção de anticorpos anti- <i>B. equi</i> ..... | 21 |

## LISTA DE ABREVIACOES, SIGLAS E SÍMBOLOS

|               |  |
|---------------|--|
| AMAN          | Academia Militar das Agulhas Negras.               |
| ANOVA         | Análise de Variância.                              |
| BH            | Brasileiro de Hipismo.                             |
| DAI           | Dia após inoculação.                               |
| DMSO          | Dimetil-sulfóxido.                                 |
| EB            | Exército Brasileiro.                               |
| EDTA          | cido Etileno diamino tetracético (sal dissódico). |
| ELISA         | Enzyme-linked Immunosorbent Assay.                 |
| EMA 1         | Equi merozoita antígeno 1.                         |
| IFN- $\gamma$ | Gama Interferon.                                   |
| NK            | Células Natural Killer.                            |
| NO            | xido Ntrico.                                     |
| PCR           | Reação em Cadeia de Polimerase.                    |
| PPT           | Proteínas Plasmáticas Totais.                      |
| PSI           | Puro Sangue Inglês.                                |
| RIFI          | Reação de imunofluorescência Indireta.             |
| ROS           | Espécies Reativas Derivadas de Oxignio.           |
| TFC           | Teste de Fixação de Complemento.                   |
| TNF- $\alpha$ | Fator de Necrose Tumoral Alfa.                     |
| VG            | Volume Globular ou hematócrito.                    |
| UFLA          | Universidade Federal de Lavras.                    |
| UFRRJ         | Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.      |

# SUMÁRIO

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO.....</b>                              | <b>1</b>  |
| <b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>                   | <b>2</b>  |
| 2.1 A Babesiose Equina.....                           | 2         |
| 2.2 Etiologia e Classificação.....                    | 2         |
| 2.3 Transmissão e Ciclo Biológico.....                | 4         |
| 2.4 Distribuição Geográfica.....                      | 7         |
| 2.5 Quadro Nosológico e Avaliação Laboratorial.....   | 8         |
| 2.6 Diagnóstico.....                                  | 10        |
| 2.7 Imunidade.....                                    | 11        |
| 2.8 Tratamento.....                                   | 12        |
| <b>3 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>                      | <b>13</b> |
| 3.1 Local de Execução.....                            | 13        |
| 3.2 Origem dos Animais.....                           | 13        |
| 3.3 Avaliação Clínica.....                            | 15        |
| 3.4 Amostras de Sangue Total e Soro.....              | 15        |
| 3.5 Exames Hematológicos.....                         | 16        |
| 3.6 Exames Bioquímicos Séricos.....                   | 16        |
| 3.7 Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI)..... | 16        |
| 3.7.1 Preparação do antígeno.....                     | 16        |
| 3.7.2 Descrição da reação de RIFI.....                | 17        |
| 3.8 Análise Estatística.....                          | 17        |
| <b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>                  | <b>18</b> |
| 4.1 Avaliação Clínica.....                            | 18        |
| 4.2 Hemograma.....                                    | 19        |

|  |           |
|--|-----------|
| <b>4.3 Bioquímica Sérica.....</b>        | <b>21</b> |
| <b>4.4 Prevalência Sorológica.....</b>   | <b>24</b> |
| <b>5 CONCLUSÕES.....</b>                 | <b>27</b> |
| <b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b> | <b>28</b> |

# 1 INTRODUÇÃO

A babesiose equina é uma doença causada por dois hemoprotozoários distintos, *Babesia equi* (Laveran, 1901) e *Babesia caballi* (Nuttall; Strickland, 1912), que acomete membros da família Equidae, com tendência a ser mais severa em equinos adultos. Infecções isoladas ou mistas ocorrem e a transmissão natural da doença é resultante da infestação por carrapatos ixodídeos, podendo também ser por insetos hematófagos, iatrogênica ou transplacentária em menor grau.

Ambas as espécies de hemoparasitos apresentam ampla distribuição geográfica, ocorrendo na maior parte das áreas tropicais e subtropicais do mundo, assim como algumas áreas de clima temperado, seguindo a distribuição dos carrapatos potencialmente transmissores (HOLBROOK, 1969; FRIEDHOFF et al., 1990; PFEIFER BARBOSA et al., 1992). Estima-se que apenas 10% da população mundial de cavalos habitem áreas livres de carrapatos e babésias. O histórico de equinos infectados frequentemente inclui um episódio recente de transporte para áreas endêmicas ou de situações de estresse.

A babesiose equina, também denominada Piroplasmose ou Febre Biliar, pode apresentar grande variedade de sinais clínicos não específicos, o que dificulta o diagnóstico, além de ser potencialmente fatal em grande número de animais não expostos previamente aos agentes etiológicos (20 a 50%).

A importância das babesioses equinas tem crescido pela restrição por parte de países livres destas parasitoses, para trânsito de equinos, seja para competições hípcas ou comércio internacional, gerando limitações aos programas de melhoramento genético e difusão de novas raças (WEILAND, 1986) e também pelo risco constante de dispersão dos agentes etiológicos, de áreas enzoóticas para áreas livres (FRIEDHOOF et al., 1990). Os estudos de prevalência destes hemoparasitos são importantes para a determinação da situação epidemiológica em uma região, indicando uma situação de instabilidade ou de estabilidade enzoótica e, conseqüentemente, se há ou não a necessidade de adoção de medidas preventivas.

A área considerada no presente trabalho foi a Academia Militar das Agulhas Negras (AMAN), do Exército Brasileiro (EB), situada no Município de Resende, no Estado do Rio de Janeiro, onde existem atualmente cerca de 175 equinos e que apresenta casuística clínica de babesiose equina estável.

A particularidade da AMAN, quanto à ocorrência e gravidade de casos clínicos de babesiose, principalmente de animais oriundos recentemente da Coudelaria do Exército Brasileiro, localizada em São Borja-RS, tem se mostrado um desafio para os Médicos Veterinários desta instituição. Os longos períodos de convalescença, queda de desempenho dos animais acometidos, gastos com medicamentos e mão de obra justificam a pesquisa em diagnóstico, prevalência e epidemiologia das espécies de babésias de equinos na região, o que permitirá estabelecer melhores programas de controle e prevenção.

O presente trabalho teve, portanto, os objetivos de realizar levantamento sorológico de *B. equi*, assim como correlacionar sintomatologia clínica, achados laboratoriais e fatores predisponentes nas infecções em equinos do Exército Brasileiro, na Academia Militar das Agulhas Negras.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 A Babesiose Equina

A babesiose equina é uma doença de apresentação aguda, subaguda ou crônica, causada por hemoprotozoários *Babesia caballi* (Nuttall; Strickland, 1912) e *Babesia equi* (Laveran, 1901), que são os únicos parasitos intraeritrocitários em equinos (DE WAAL, 1992). A doença causa significativas perdas econômicas e é largamente distribuída em áreas tropicais e subtropicais, com menor incidência em áreas temperadas, o que corresponde ao habitat dos carrapatos que servem como vetores naturais.

### 2.2 Etiologia e Classificação

Reino: Protista  
Sub-Reino: Protozoa (GOLFUSS, 1818)  
Filo: Apicomplexa Levine, 1970  
Classe: Sporozoa Leuckart, 1879  
Sub-classe: Piroplasmae Levine, 1961  
Ordem: Piroplasmida Wenyon, 1926  
Família: Babesiidae Poche, 1913; Theileriidae Du Toit, 1918.  
Gênero: *Babesia* Starcovici, 1893  
Espécie: *Babesia equi* (Laveran, 1901); *Theileria equi* Mehlhorn e Schein, 1998; *Babesia caballi* (Nuttall; Strickland, 1912).

O agente responsável pela babesiose equina foi identificado pela primeira vez por Laveran (1901) a partir de cavalos na África do Sul, denominando-o *Piroplasma equi*. Em 1912, Nuttall e Strickland demonstraram a existência de uma outra espécie de parasito em eritrócitos de equinos, distinta daquele anteriormente descrita, denominando-a *Piroplasma caballi*. Posteriormente, em revisão sobre sistemática e nomenclatura, foi proposta a classificação destas espécies dentro do gênero *Babesia*, ficando o antigo gênero como sinônimo (PEIRCE, 1975).

Inicialmente, as espécies de babésias foram identificadas baseando-se em parâmetros morfológicos de suas formas intraeritrocitárias (trofozoítas) visíveis em esfregaços sanguíneos de animais vertebrados infectados. Estes métodos tradicionais de classificação estão gradativamente sendo substituídos por métodos de biologia molecular. Babésias são informalmente agrupadas em pequenas e grandes babésias, sendo esta classificação morfológica geralmente consistente com a caracterização filogenética, baseada na sequência de DNA ribossomal (nss-rDNA), a qual mostra que grandes e pequenas babésias estão em dois diferentes grupos filogenéticos (HOMER et al, 2000).

A classificação taxonômica de *Babesia spp* tem lugar no filo Apicomplexa (Sporozoa), classe Aconoidasida (Piroplasmae) e ordem Piroplasmida. Piroplasmas são caracterizados por formas intraeritrocitárias que podem ser em forma de pêra, arredondada ou amebóide. Eles possuem estágio merogônico dentro de eritrócitos dos hospedeiros vertebrados e desenvolvimento sexual e formação de esporozoítos dentro do hospedeiro invertebrado (no caso de *Babesia spp* foram descritos apenas carrapatos). Duas das famílias dentro da ordem são

Babesiidae e Theileriidae, com distinção primária entre elas sendo definida como a ausência de ciclo pré-eritrocitário na *Babesia sp* e a ausência de transmissão transovariana em *Theileria sp* (HOMER et al., 2000).

Simpson et al. (1963) utilizaram sangue de pônei esplenectomizado infectado com *B. caballi* e *B. equi* para comparar a morfologia dos protozoários à microscopia óptica e eletrônica. A *B. caballi* possui comprimento de 2 a 5  $\mu\text{m}$ , podendo ser arredondada ou piriforme e frequentemente vacuolada e bigeminada. A *B. equi* é menor que 3  $\mu\text{m}$  de comprimento, podendo também ser alongada, arredondada ou piriforme e em muitos casos com até 8 corpos dentro da mesma hemácia parasitada.

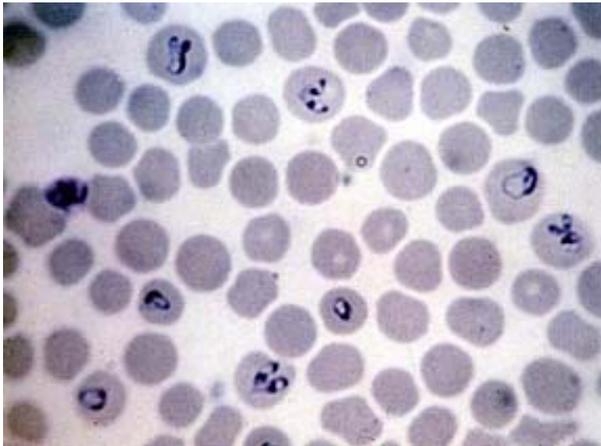


Figura 1. Esfregaço sanguíneo com trofozoíta de *B. caballi*.

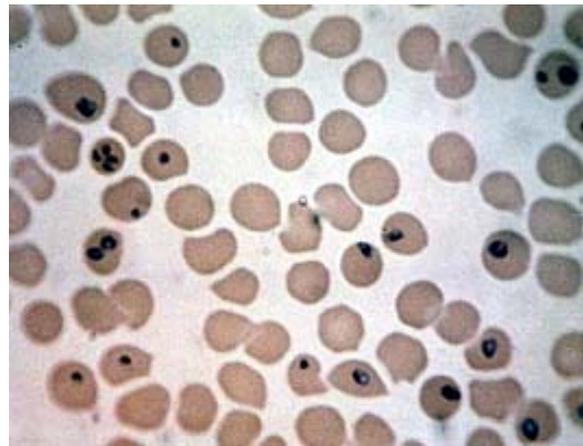


Figura 2. Esfregaço sanguíneo com trofozoíta de *B. equi*, em forma de cruz de Malta e anelar.

Diferenças biológicas da *B. equi*, associadas a uma maior resistência a babesicidas convencionais, levaram alguns taxonomistas a considerá-la mais próxima ao gênero *Theileria* (SCHEIN et al., 1981; MEHLHORN; SCHEIN, 1984). Seu pequeno tamanho, seu desenvolvimento em linfócitos antes do ciclo eritrocitário, ausência de transmissão transovariana no carrapato e o aparecimento de formas intraeritrocitárias em “cruz de Malta” reforçam a proximidade com o gênero *Theileria* (SCHEIN et al., 1981; MOLTSMANN et al., 1983; FRIEDHOOF, 1988). Existe ainda homologia entre proteínas de superfície quando comparados os estágios eritrocíticos de *B. equi* e *Theileria sp* (KNOWLES et al., 1997). Finalmente, Mehlhorn e Schein, em 1998, propuseram a sua reclassificação para *Theileria equi*.

Guimarães et al. (2003) descreveram a ultra-estrutura de trofozoítos de *B. equi* isolados em Minas Gerais, com membrana externa simples em contato direto com o citoplasma de eritrócitos parasitados, não sendo contido em um vacúolo parasitóforo. Mecanismo de alimentação descrito inclui pinocitose, assim como citóstoma e estrutura tubular, similar ao descrito para algumas espécies de *Theileria*, formado por invaginação da membrana plasmática do eritrócito e do trofozoíta e permitindo contato direto com o plasma sanguíneo do hospedeiro, provavelmente possibilitando a ingestão de nutrientes durante fase de rápido crescimento.

Allsopp et al. (1994) realizaram análises comparativas através de técnicas de biologia molecular, que indicaram que *B. equi* deve ser considerada como um grupo distinto, assim como

Katzer et al. (1998) que através de estudos filogenéticos, realizados a partir da avaliação de sequências de RNA ribossomal, demonstraram que *B. equi* encontra-se em um grupo filogenético distante de qualquer espécie de *Theileria*.

### 2.3 Transmissão e Ciclo Biológico

Os protozoários requerem sempre um hospedeiro vertebrado e um invertebrado (carrapato ixodídeo) para manter os ciclos de transmissão. Em condições naturais, estes protozoários são transmitidos por carrapatos dos gêneros *Dermacentor*, *Hyalomma* e *Rhipicephalus* (THOMPSON, 1969) e *Boophilus microplus* (GUIMARÃES et al., 1998ab; FERNANDES et al., 2006ab).

O ciclo biológico (Figura 3) é composto por três estágios de reprodução: a formação e fusão dos gametas dentro do intestino do carrapato (gametogonia), a reprodução assexuada nas glândulas salivares (esporogonia) e a reprodução assexuada no hospedeiro vertebrado (merogonia) (HOMER et al., 2000).

São parasitos de forma redonda, piriforme ou amebóide, se multiplicam nos eritrócitos dos hospedeiros vertebrados por merogonia, para formar dois, quatro ou mais trofozoítas, que ao serem liberados invadem outros eritrócitos. Os esporozoítas são as formas infectantes, sendo inoculado pela saliva do carrapato transmissor. Nos hospedeiros vertebrados, ocorre infecção exclusivamente intraeritrocítica, através de penetração ativa em hemácias, onde ocorre diferenciação em uma forma arredondada ou ovalada designada de trofozoíta que sofrerá divisão binária simples, dando origem a duas estruturas piriformes, os merozoítas. Haverá lise da hemácia parasitada e liberação dos parasitos, que se fixarão e penetrarão em outras hemácias, repetindo sucessivamente o processo de multiplicação (MEHLHORN; SCHEIN, 1984; SCHEIN, 1988).

Algumas formas arredondadas intraeritrocitárias não seguem o processo de divisão binária, sendo denominadas gametócitos. Ao serem ingeridos pelo carrapato, estes gametócitos diferenciam-se em gametas, que apresentam o desenvolvimento de organelas em forma de seta, em sua porção anterior, sendo então chamados de corpos raiados. Estes organismos, contendo esta estrutura em forma de seta, dentro do carrapato hospedeiro, têm sido achados em todas as infecções por *Babesia* ou *Theileria spp.* Na luz intestinal, após completa diferenciação, se unem dois a dois, dando origem ao zigoto. Ainda na luz intestinal ocorre o desenvolvimento de um cineto, chamado oocineto, forma móvel e invasiva, que invade células epiteliais do intestino, movendo-se depois para a hemolinfa e posteriormente tecidos como músculos, ovários e túbulos de Malpighi, onde se multiplicam pelo processo de fissão múltipla, dando origem a inúmeros outros cinetos, agora denominados esporocinetos, por fazerem parte do processo inicial de multiplicação por esporogonia. Estes esporocinetos também são móveis, e após o rompimento da célula infectada, ficam livres e invadem novas células, dando origem a sucessivas gerações (MEHLHORN; SCHEIN, 1984).

Através da infecção dos oócitos, os parasitos passam para os tecidos do embrião em formação e, conseqüentemente, para nova geração de carrapatos (transmissão transovariana). As larvas já eclodem infectadas e o processo de multiplicação, embora com menor intensidade, tem continuidade nos diferentes órgãos deste estágio, como também nos estágios seguintes: ninfas e adultos. Ocorre esporogonia nas glândulas salivares, após infecção dos ácinos pelos esporocinetos. No ácino infectado, há a formação do esporonte que é polimorfo e induz uma hipertrofia celular. No esporonte, após a fixação do carrapato no hospedeiro, se dará a

diferenciação de milhares de formas piriformes pequenas, que por volta do quinto dia de alimentação estão maduros e são lançados através da saliva como formas infectantes para hospedeiros vertebrados (MEHLHORN; SCHEIN, 1984).

Estima-se que milhares de esporozoítas são depositados na derme ao redor da picada do carrapato durante as horas finais de fixação e alimentação deste. A eficiência da transmissão pelo carrapato é atribuída à sua saliva, que provavelmente facilita a infecção, com sua atividade antiinflamatória e imunossupressora (HOMER et al., 2000).

O ciclo de *Babesia equi* apresenta formas de multiplicação em linfócitos no hospedeiro vertebrado, antes de fazer multiplicação em hemácias, diferindo das espécies típicas do gênero (SCHEIN et al., 1981). Após a maturação, que se completa entre o 12º e o 14º dia após infecção natural, o esquizonte se rompe liberando centenas de formas piriformes móveis, os merozoítas, que penetram nas hemácias e se diferenciam em trofozoítas, que se multiplicam por merogonia, dando origem a quatro merozoítas, que formam uma tétrade, conhecida por “cruz de Malta” (SIMPSON et al., 1967; DE WAAL, 1992). A reprodução sexuada ocorre nos carrapatos, de forma semelhante à descrita para *Babesia caballi*, porém, a infecção do carrapato ocorre no estágio de larva ou de ninfa e a transmissão se dá no estágio seguinte. A transmissão transovariana não ocorre para esta espécie (SCHEIN et al., 1981; FRIEDHOFF, 1988). Os cinetos de *B. equi*, originados do zigoto pela reprodução sexuada, passam da luz intestinal para a hemolinfa e atingem diretamente as glândulas salivares do carrapato, onde se multiplicam nos ácidos, por esporogonia, que se completa após a ecdise, por volta do quinto dia de fixação do novo estágio do carrapato no hospedeiro vertebrado. *B. equi* não apresenta fases de multiplicação em outros tecidos do carrapato (MEHLHORN; SCHEIN, 1984).

Os carrapatos transmissores da babesiose pertencem à subordem Ixodides e à família Ixodidae. Estes podem transmitir doenças aos homens e animais domésticos. No Brasil, as principais espécies que parasitam equinos são *Anocentor nitens* e *Amblyomma cajennense* (RIBEIRO et al., 1999), sendo que Pfeifer Barbosa et al. (1992) observaram formas de multiplicação de *B. caballi* em ovários e ovos de *A. nitens*. Linharez (2002) evidenciou a patogenicidade de *B. caballi* tanto para o hospedeiro vertebrado quanto para o carrapato vetor *Anocentor nitens*, comprovada por marcadas alterações nos parâmetros fisiológicos, principalmente oviposição e porcentagem de eclosão. Apesar destes efeitos, níveis baixos de infecção por *B. caballi* em *A. nitens* possibilitam a atuação desta espécie de carrapato como um vetor eficiente.

Guimarães et al. (1998ab) verificaram a transmissão de *B. equi* experimentalmente por *Boophilus microplus*, assim como sua multiplicação em glândulas salivares, sendo a partir de então este carrapato considerado o principal vetor para esta babesia no nosso meio. Battsetseg et al. (2002) realizaram detecção de *B. equi* e *B. caballi* em *Boophilus microplus* naturalmente infectados, em equinos do Brasil, usando nested-PCR e confirmando achados experimentais anteriores. A detecção de DNA de *B. equi* em fêmeas adultas do carrapato, ovos, larvas e ninfas confirma haver esporogonia e o desenvolvimento de esporozoítas de *B. equi* neste vetor e possivelmente também de *B. caballi*.

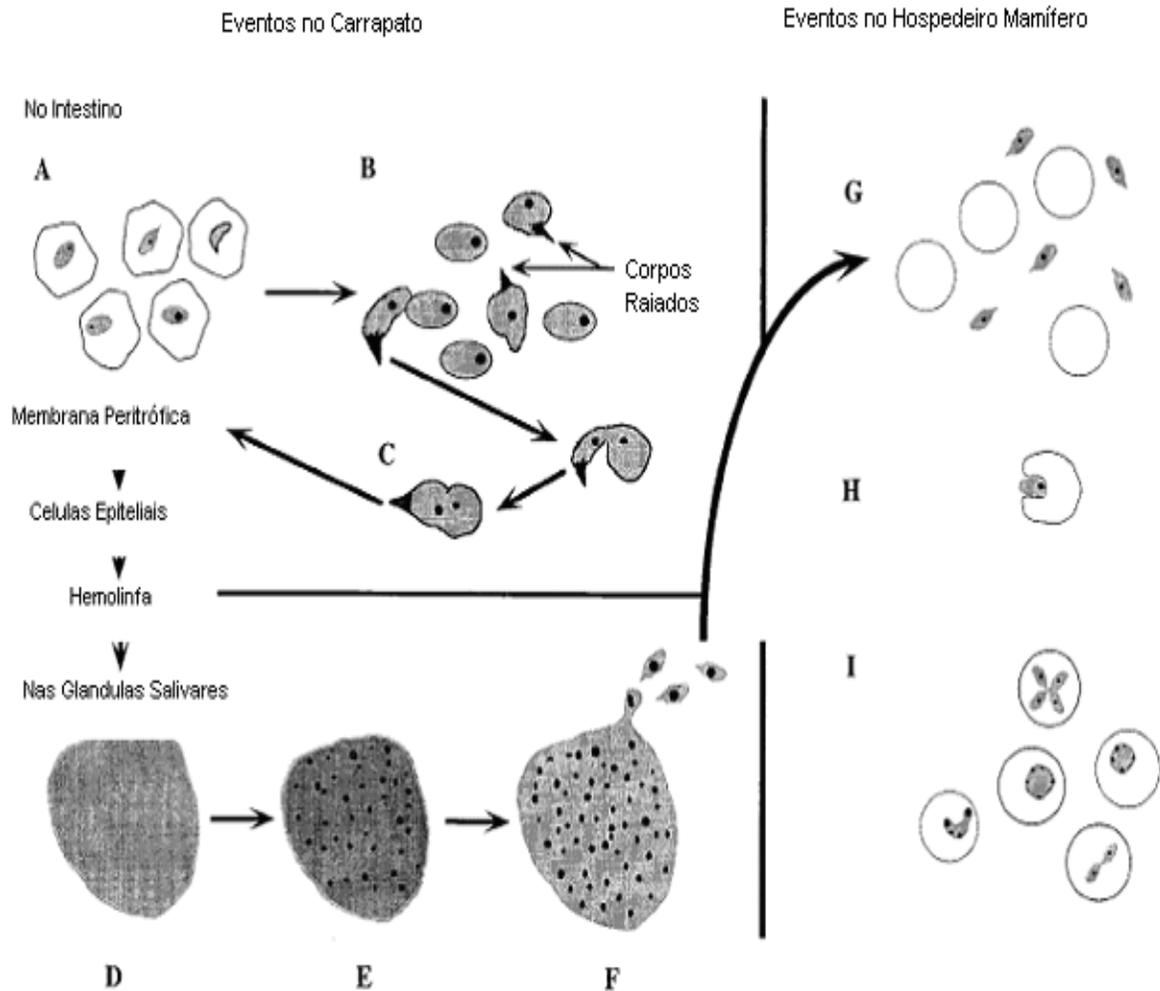


Figura 3 – Ciclo biológico de *Babesia* spp. Eventos no carrapato iniciam com o parasito ainda visível no interior de hemácias ingeridas (A), onde alguns se diferenciam em corpos raiados(B). Os gametas liberados iniciam a fusão e depois de formado o zigoto(C), este irá infectar outros tecidos no interior do carrapato. Na glândula salivar, o parasito infecta o ácino, formando um esporoblasto indiferenciado e multinucleado (D) e após o carrapato iniciar seu repasto alimentar, há a formação de esporozoítas (E), que finalmente são liberados do esporoblasto (F), sendo inoculados no hospedeiro vertebrado (G). Fase pré-eritrocítica de *B. equi* não mostrada no ciclo. Esporozoítas (ou merozoítas) iniciam processo de infecção por invaginação de eritrócitos (H) e tornam-se trofozoítas, iniciando divisão por fissão binária, criando formas anelares e de cruz vistas no esfregaço sanguíneo (I)

Extraído e adaptado de Homer et al. (2000).

Outras formas de transmissão mencionadas na literatura são a intrauterina, considerada relativamente comum para *B. equi* (DONNELLY et al., 1982) e mais rara para *B. caballi* (NEITZ, 1956). Transmissão iatrogênica por meio de agulhas hipodérmicas foi constatada para *B. equi* (FRIEDHOFF et al., 1990). A transmissão de babesiose equina através de instrumentos veterinários ou por dípteros hematófagos não tem importância epidemiológica na manutenção da doença em uma situação enzoótica (KNOWLES et al., 1980).

Ueti et al. (2005) avaliaram a importância epidemiológica e a viabilidade do *Boophilus microplus* adquirir e transmitir *B. equi* ao se alimentar em equinos cronicamente infectados e com baixa parasitemia. Estes vetores adquiriram *B. equi*, que pôde ser detectada em glândulas salivares de até 50% dos carrapatos alimentados, demonstrando, portanto, que equinos com baixa parasitemia são competentes reservatórios na transmissão de *B. equi*.

## 2.4 Distribuição Geográfica

Ambas as espécies de babesias equinas são amplamente distribuídas no mundo, sendo *B. equi* mais prevalente, enquanto *B. caballi* é mais difundida (FRIEDHOFF et al., 1990).

Na Europa, são consideradas áreas livres a Grã-Bretanha, Alemanha, Suíça e Áustria (DONNELLY et al., 1982; FRIEDHOFF et al., 1990). Países como Portugal, Espanha, França, Itália, região europeia da ex-União Soviética, península dos Balcãs e Bélgica são consideradas como de ocorrência para ambas as espécies (FRIEDHOFF et al., 1990).

Na Ásia, todo o território é considerado de ocorrência para *B. equi* e *B. caballi*, com exceção da Sibéria e do Japão (TATEZAWA, 1979; FRIEDHOFF, 1988). Na China, Xuan et al. (2002) testaram 70 soros de equinos provenientes da província de Xinjiang, obtendo 40% de positivos para *B. equi* e 24,3% para *B. caballi*. Na Índia, equinos e muares nativos são geralmente portadores assintomáticos e raramente sofrem infecção clínica, entretanto, quando raças de equinos são importadas para o exército ou para criatórios privados, estes animais sofrem babesiose clínica, com grandes perdas econômicas por mortalidade ou redução da capacidade de trabalho (KUMAR et al., 1997).

Na África, populações de equídeos apresentam elevada prevalência, inclusive quando consideradas espécies selvagens, como zebras (DE WAAL et al., 1988; FRIEDHOFF et al., 1990).

O Canadá e os Estados Unidos da América são considerados livres de *B. equi* e *B. caballi*, com exceção do Estado da Flórida (HOLBROOK, 1969). Toda a América Latina é considerada enzoótica, com exceção do extremo sul do continente (FRIEDHOFF et al., 1990). Aguirre et al. (2004) descreveram dois casos clínicos ocorridos na região noroeste da Argentina, com diagnóstico através de esfregaços sanguíneos corados com Giemsa a 10 % e pela Técnica de Reação em Cadeia de Polimerase (PCR). Foram coletados carrapatos de um dos equinos acometidos, classificados posteriormente como *A. nitens*. Tal achado sugere dispersão meridional do vetor de *B. caballi*, considerando-se que Borges et al. (2000) não observaram a presença de *A. nitens* nos estados brasileiros de Santa Catarina e Rio Grande do Sul, situados ao sul do paralelo 26° S.

No Brasil, o primeiro relato de *Nuttalia equi* foi em 1910, feita por Carini, na cidade de São Paulo, ao examinar esfregaços sanguíneos de equinos. Em 1914, Parreiras e Figueiredo observaram em Minas Gerais uma enzootia em equinos, sendo o parasito encontrado classificado

como *Nuttalia equi* e o agente transmissor o ixodídeo *Amblyomma cajennense*. Costa e Melo (1963) realizaram a primeira confirmação laboratorial de *Babesia caballi* no Brasil, em um equino enfermo proveniente de Paracambi, Estado do Rio de Janeiro.

Linhares (1994) observou prevalência de 94,7 % para *B. equi* e de 90,8% para *B. caballi* na região de Goiânia – Goiás, utilizando RIFI como método de diagnóstico e caracterizando a área como de estabilidade enzoótica para estas enfermidades. Cunha et al. (1996), utilizando RIFI, examinou 133 equinos do Jockey Clube de Pelotas e de dois haras da região sul do Rio Grande do Sul, obtendo 57,9% sorologicamente positivos para *B. equi*.

Em estudo realizado no Estado do Rio de Janeiro, Pfeifer Barbosa et al. (1992) relataram a ocorrência de 75% de cavalos reagentes para *B. caballi* testados por reação de imunofluorescência indireta (RIFI). Botteon (1996) avaliou a prevalência de *B. equi* em equinos em diferentes sistemas de criação, utilizando RIFI, obtendo prevalência de 89,6% para equinos criados extensivamente, 87,1% para equinos mantidos em semiconfinamento e de 45% para equinos criados em estabulação permanente. Bittencourt et al. (1997) obtiveram prevalência de 84,6% para *B. equi* e de 93,6% para *B. caballi* em 78 equinos testados sorologicamente pelo teste de fixação de complemento (TFC) na região de Seropédica e áreas vizinhas, no Estado do Rio de Janeiro.

Kerber et al. (1999) compararam prevalência em diferentes regiões do Brasil, realizando levantamento sorológico em 720 equinos de 28 fazendas, obtendo como resultados 42,5% para *B. equi* e 33% para *B. caballi* em regiões tropicais e de 18,4% para *B. equi* e 4,6% para *B. caballi* em regiões subtropicais, utilizando TFC. Tais resultados ocorreram provavelmente pelo maior desenvolvimento dos carrapatos vetores em regiões tropicais.

Heuchert et al. (1999) realizaram levantamento sorológico das babesioses em equinos de seis criatórios em municípios do Estado de São Paulo, assim como levantamento da presença de ixodídeos nos diferentes tipos de manejo realizados. A prevalência de *B. equi* foi de 49,2% para éguas e 36% para potros e de *B. caballi* foi de 79,4% para éguas e de 100% para potros, o que contrastou com estudos sorológicos realizados em outras regiões geográficas, principalmente no Estado do Rio de Janeiro.

Em 2000, Pfeizer Barbosa et al., através de RIFI, determinaram a prevalência sorológica de babesiose equina no Estado do Pará, onde analisaram 336 amostras para *B. caballi* e 340 amostras para *B. equi*, tendo como resultados na Ilha de Marajó 37,50% positivos para *B. caballi* e 30, 83% para *B. equi*, na microrregião de Bragantina 57,38% positivos para *B. caballi* e 85,48% para *B. equi* e no município de Paragominas, 40,43% positivos para *B. caballi* e 69,79% para *B. equi*.

Laranjeira (2003) avaliou, pelo método de RIFI, a prevalência de *B. equi* em 250 equídeos apreendidos em rodovias no Estado do Rio de Janeiro, obtendo uma prevalência de 93,2%.

Em equinos do Exército Brasileiro, no quartel do Regimento Escola de Cavalaria, na cidade do Rio de Janeiro – RJ, Botteon (2003) realizou levantamento soroepidemiológico para *B. equi*, através de RIFI e Ensaio Imunoenzimático indireto (ELISA), obtendo prevalência de 76,04% e 77,08%, respectivamente.

## 2.5 Quadro Nosológico e Avaliação Laboratorial

Vários determinantes estão envolvidos na severidade dos sinais clínicos, entre eles podendo ser citados idade, imunocompetência e coinfeção com outros patógenos (HOMER et

al., 2000). A doença aguda é caracterizada por febre, podendo ser de caráter intermitente, anemia, letargia, icterícia, hepato e esplenomegalia, hemólise intra e extravascular, hemoglobinúria e hemorragias petequiais em mucosas e, em alguns casos, morte (SCHEIN, 1988; DE WAAL, 1992; KNOWLES, 1996).

*B. equi* (*Theileria equi*) produz anemia hemolítica em equinos susceptíveis que podem prosseguir para um estado crônico de portadores, o que pode resultar em redução da capacidade de transporte de oxigênio, causando diminuição do desempenho de equinos de esporte (HAILAT et al., 1997). Todos os equídeos são susceptíveis, mas animais idosos ou submetidos a situações de estresse, como viagens recentes, são acometidos de forma mais intensa. O período de incubação varia de 12 a 19 dias nas infecções por *B. equi* e de 10 a 30 dias nas infecções por *B. caballi* (DE WAAL, 1992; DE WAAL et al., 1990).

A maioria das hemácias parasitadas é removida pelo sistema mononuclear fagocitário, mas alguns animais severamente acometidos sofrerão hemólise intravascular. Ambawat et al. (1999) estudou alterações hematológicas e bioquímicas em eritrócitos de muare, esplenectomizados e não esplenectomizados, experimentalmente infectados, observando que a bioestrutura do eritrócito foi alterada na babesiose aguda, levando à hemólise e anemia. A mensuração de Malondialdeído (MDA), que é um sensível indicador de oxidação lipídica, indicou acúmulo de íons oxidativos em células vermelhas parasitadas, causando suas lises.

A doença clínica induzida por *B. equi* é mais severa e com mais alta taxa de mortalidade do que aquela causada por *B. caballi*, onde os principais sinais clínicos presentes são anorexia, queda de desempenho e perda de peso, anemia, taquicardia e esplenomegalia. Casos subagudos cursam com sinais clínicos mais brandos e nos casos crônicos são inespecíficos (DE WAAL, 1992). Fatores como clima, transporte, gestação, excesso de trabalho ou doenças concomitantes terão o potencial de indução de doença clínica em animais portadores.

Em infecções agudas por *B. equi*, o quadro hematológico evidencia anemia microcítica hipocrômica ou normocítica normocrômica, neutropenia, linfopenia, eosinopenia e significativa monocitose, além de elevação de bilirrubina plasmática e fibrinogênio (SCHEIN, 1988; RISTIC, 1985). No equino, anorexia e doença hepática devem ser excluídas como causa de hiperbilirrubinemia, antes do diagnóstico de hemólise. A alteração de cor do plasma pode ser indicativa de hemólise intravascular aguda, passando a avermelhado, comum em animais portadores de *B. equi* esplenectomizados, podendo ser detectada por aumento na concentração de hemoglobina corpuscular média (BARTON, 2003).

A classificação da anemia é mais difícil no equino, em virtude dos eritrócitos serem liberados no sangue periférico em estado maduro e por serem raramente encontrados reticulócitos, mesmo em quadro de eritropoese intensa. Índícios de anemia regenerativa, vistos em outras espécies, tais como reticulocitose, policromasia, macrocitose e metarrubrocitose, são incomuns na espécie equina, sendo necessário exame da medula óssea para caracterizar com exatidão a anemia como regenerativa ou arregenerativa (JAIN, 1993; MORRIS, 2000). Pequenos remanescentes nucleares (corpúsculos de Howell-Jolly) podem ser encontrados em pequeno número de eritrócitos de equinos normais, não sendo indicativos de aumento na eritropoese como em outras espécies.

Cunha et al. (1998) estudaram valores de hematócrito, parasitemia e título de anticorpos apresentados por equinos inoculados experimentalmente com *B. equi* durante diferentes estágios da infecção. Todos os dez equinos utilizados, com idades entre três e quatro anos e clinicamente sadios e sorologicamente negativos para *B. equi*, desenvolveram parasitemia detectável em

esfregaços sanguíneos entre o 2º e o 7º dias após inoculação (DAI) e a soroconversão ocorreu até o 6º DAI.

Em condições homeostáticas, a produção de células sanguíneas pela medula óssea processa-se a uma taxa que se aproxima com precisão da taxa de destruição. A vida aproximada dos eritrócitos e das plaquetas de equinos é de 155 dias e sete dias, respectivamente. Em virtude da grande quantidade de músculo liso responsivo à epinefrina na cápsula esplênica dos equinos, o hematócrito desses animais pode aumentar até 40% durante exercício ou em estados de excitação e, de forma correspondente, pode diminuir após sedação. A normalização dos índices hematimétricos após período de excitação acentuada ou exercício vigoroso pode requerer mais de uma hora, sendo necessário considerar tal característica ao interpretar valor de um único hematócrito (MORRIS, 2000).

As proteínas plasmáticas totais (PPT) são úteis para avaliar grau de desidratação, bem como indício da causa fisiopatológica da anemia. Hematócrito aumentado, na presença de aumento de PPT sugere hemoconcentração. Aumento de PPT pode também estar relacionado à hipergamaglobulinemia que ocorre em infecções crônicas, e redução de PPT e do hematócrito indica perda sanguínea (MORRIS, 2000).

Aguirre et al. (2004) descreveram como achados de necropsia em 02 (dois) equinos esplenomegalia, congestão e icterícia generalizadas e gastrite hemorrágica. Hailat et al. (1997) acrescentaram como sinais no exame post-mortem edema subcutâneo e bexiga repleta de urina de cor vermelha escura. Na histopatologia, foi verificada no fígado, uma degeneração centrolobular massiva e necrose de coagulação, com infiltração por células polimorfonucleares, leve hiperplasia de ductos biliares também foi evidenciada. No pulmão, congestão aguda e edema nos espaços alveolares, juntamente com trombose das veias pulmonares e rins com intensa congestão tanto na região medular quanto na cortical, com aumento do endotélio vascular e degeneração difusa do epitélio tubular. Proteína e hemoglobina são visualizadas no interior de túbulos renais, tanto no córtex quanto na medular.

## 2.6 Diagnóstico

O diagnóstico de babesiose deve começar com o histórico, que deve incluir manifestações clínicas, exposição à infestação por carrapatos, recente transfusão sanguínea, história de viagens para áreas endêmicas e esplenectomia. Em sequência, a análise deveria incluir exames de esfregaços sanguíneos, para pesquisa de parasitos, assim como avaliações sorológicas com teste de anticorpos por imunofluorescência indireta (RIFI), ELISA e possivelmente por PCR. O exame de esfregaço sanguíneo para presença do parasito dentro do eritrócito é a técnica mais frequentemente usada para o diagnóstico de infecções por *Babesia sp.* Em geral, a análise do esfregaço depende da experiência do observador e do tempo dispendido no exame. Testes sorológicos por RIFI são úteis no diagnóstico de infecções por *Babesia spp.*, particularmente em infecções crônicas (HOMER, 2000).

O diagnóstico laboratorial de piroplasmose equina até 1967 era baseado na identificação do parasito nas hemácias de equídeos suspeitos e na inoculação de sangue infectado em animais susceptíveis. Posteriormente, os testes sorológicos como fixação de complemento, difusão em agar-gel e imunofluorescência indireta passaram a ser melhores formas de diagnóstico. Holbrook et al. (1969) relacionaram procedimentos, técnica, reagentes e equipamentos de diversos testes sorológicos para piroplasmose equina. O método de imunofluorescência indireta para *B. caballi* apresenta reação específica e não há reação cruzada com o teste para *B. equi*.

Em 1994, Bose e Peymann compararam ELISA com TFC, RIFI e Western Blot, observando que o teste de maior sensibilidade para o diagnóstico de *B. caballi* é o ELISA

Os testes sorológicos para diagnóstico da babesiose equina no Brasil são relativamente recentes, sendo a primeira publicação em 1986, quando Tenter e Friedhoff relataram a presença de 18 animais soropositivos para *B. equi* e 16 soropositivos para *B. caballi*, em 25 cavalos testados por Imunofluorescência Indireta (RIFI).

Baldani et al. (2004) desenvolveram um ensaio de imunoadsorção enzimática (ELISA) para *B. equi*, com a finalidade de detectar portadores crônicos de babesiose equina. Ao testar 90 soros de equinos da região nordeste do Estado de São Paulo, obtiveram aproximadamente 75% (n=67) dos equinos positivos para *B. equi*, indicando ser esta região endêmica para babesiose equina.

## 2.7 Imunidade

Segundo Ristic (1972), a resistência à babesiose depende da presença contínua de protozoário no sangue, devendo haver equilíbrio nas respostas imune, celular e humoral, sem o que a resistência do animal pode ser comprometida.

Os equinos apresentam maior resistência à babesiose nos primeiros meses de vida. Equinos infectados por *B. caballi* permanecem portadores por período de até quatro anos, e nas infecções por *B. equi* permanecerão portadores provavelmente por toda a vida (FRIEDHOOF et al., 1990).

O baço tem importante função no mecanismo de defesa orgânica contra *Babesia spp*, sendo que equinos esplenectomizados não podem controlar a infecção. Mecanismos de filtração e fagocitose, assim como a produção de imunofatores, estão envolvidos na defesa do organismo parasitado (RISTIC, 1972).

A resposta humoral parece ser mais efetiva sobre parasitos livres no plasma do que em hemácias infectadas. O efeito protetor dos anticorpos parece ser restrito ao curto período de tempo, entre o momento de acesso do parasito ao plasma e a invasão de células alvo. Neste estágio, imunoglobulinas G (IgG) podem prevenir a infecção por ligação e neutralização dos esporozoítos (HOMER et al., 2000). Proteínas do estágio eritrocítico de *B. equi* foram identificadas pela pesquisa de anticorpos de equinos infectados, sendo caracterizadas pelo seu peso molecular. Equi merozoita antígeno 1 (EMA 1) tem sido indicado como importante marcador da resposta imune contra *B. equi* (KNOWLES, 1996).

Após se estabelecerem no interior de hemácias, os trofozoítas iniciam sua multiplicação, levando ao surgimento dos sinais clínicos. Nesta fase, células do sistema imune inespecífico serão responsáveis por controlar a crescente parasitemia, através da produção de fatores solúveis como gama interferon (IFN- $\gamma$ ) pelas células natural killer (NK) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), óxido nítrico (NO) e espécies reativas derivadas de oxigênio (ROS) por macrófagos, sendo desconhecido como estas moléculas atuam no desenvolvimento do parasito no interior da hemácia. Na ausência de macrófagos e células NK, uma rápida parasitemia ocorre em um curto período de tempo. A queda da parasitemia é devido à degeneração das babésias no interior dos eritrócitos, que são retirados de circulação pelo baço. Na fase de resolução, linfócitos T produtores de IFN- $\gamma$  são o tipo celular envolvido, sendo proposto que esta substância é diretamente responsável pela degradação intraeritrocitária do parasito (HOMER et al., 2000).

## 2.8 Tratamento

A severidade da resposta clínica do hospedeiro vertebrado é variável, e em muitos casos, recuperação espontânea pode ocorrer após período febril, sem a ocorrência de hemoglobinúria ou anemia marcante. A relação de compostos reconhecidos como tendo propriedades babesicidas *in vivo* inclui Azul Tripan, Quinurônio, Amicarbalide, Dipropionato de Imidocarb, Diminazene, Quinina, Atavaquone, Clindamicina e Azitromicina. Suas efetivas utilizações dependem de legislação específica de cada país e suas disponibilidades comerciais. Tratamento de suporte pode ser necessário e transfusões sanguíneas podem ser necessárias em animais muito anêmicos e de alto valor (VIAL; GORENFLOT, 2006).

Por muitos anos, três babesicidas: Sulfato de Quinorônio, Isotianato de Amicarbalide e Aceturato de Diminazene foram disponíveis para tratamento. Na década de 1970, outro composto foi disponibilizado, Dipropionato de Imidocarb, que rapidamente tornou-se o produto de escolha. Tanto *B. caballi* quanto *B. equi* respondem ao tratamento com drogas babesicidas, mas *B. equi* é mais refratária. O mecanismo pelo qual estes quimioterápicos inibem o desenvolvimento de *Babesia spp* é ainda desconhecido, sendo sugerido que o imidocarb bloqueia a entrada de inositol no eritrócito parasitado por *Babesia spp*, causando morte do parasito (VIAL; GORENFLOT, 2006).

Efeitos colaterais caracterizados por inquietação, dor abdominal, sudorese, respiração acelerada e laboriosa, salivação, rolar no chão, entre outros, não são incomuns após tratamento com imidocarb em doses de 02 mg/kg, em duas aplicações com intervalo de 24 h para *B. caballi* e de 04 mg/kg, em quatro aplicações com intervalo de 72 h para *B. equi*. Tais sinais de toxicidade são consistentes com a atividade inibidora de colinesterase (VIAL; GORENFLOT, 2006). A DL<sub>50</sub> em cavalos foi estabelecida como sendo de 16 mg/kg, em duas doses com intervalo de 24 h e ocorre insuficiência hepática e renal em cavalos tratados com doses elevadas de imidocarb. Asininos parecem ser mais sensíveis ao imidocarb, quando medicados com doses similares às utilizadas para tratamento contra *B. equi*, podendo ocorrer óbito (ADAMS, 1981).

Devem ser incluídos cuidados de suporte, variáveis conforme a gravidade, incluindo repouso, líquidos intravenosos e drogas aintinflamatórias não esteroidais (MORRIS, 2000).

## 3 MATERIAL E MÉTODOS

### 3.1 Local de Execução

O estudo foi realizado na Academia Militar das Agulhas Negras (AMAN), do EB, situada no Município de Resende, no Estado do Rio de Janeiro, com latitude 22° 27' S, longitude 44° 28' W e altitude 440m (Figura 4), onde existem 178 equinos e que apresenta casuística clínica de babesiose equina estável.



Figura 4. Academia Militar das Agulhas Negras, localizada no Município de Resende-RJ.

### 3.2 Origem dos Animais

O EB utiliza em seus efetivos equinos de raças que demonstram aptidão para desempenhar funções de instrução, guarda e esportes, tais como: Brasileiro de Hipismo (BH), Puro Sangue Inglês (PSI), entre outras. Mais recentemente foi introduzida a raça Bretão com a finalidade de tração.

Foram utilizados 178 animais, sendo 95 machos e 83 fêmeas, mantidos em regime de criação semi-intensivo (Figura 5), com calendário de medidas profiláticas contendo vermifugações trimestrais, vacinações contra influenza equina, encefalomielite, tétano, raiva e adenite equina (Tabela 1). A alimentação inclui cinco Kg de concentrado (ração equina de manutenção), oito Kg de verde “in natura”, constituído de coast cross – *Cynodon dactylon* e napier – *Pennisetum purpureum*, 100 g de sal mineralizado para equinos e 50 g de linhaça, diariamente. Os ixodídeos existentes na região são *Anocentor nitens* e *Amblyomma cajennense*,

sendo controlados, nos animais, com banhos carrapaticidas periódicos a cada quinze dias, com cipermetrina.

Tabela 1. Calendário de medidas profiláticas praticadas em equinos da AMAN

| Medida Profilática                  | Data de aplicação                 |
|-------------------------------------|-----------------------------------|
| Vermifugação                        | Fevereiro, Maio, Agosto, Novembro |
| Adenite Equina                      | Fevereiro, Setembro               |
| Anemia Infecciosa                   | Março, Setembro                   |
| Encefalomielite, Tétano e Influenza | Abril                             |
| Raiva                               | Maio                              |



Figura 5. Equinos mantidos em sistema de criação semi-intensivo na AMAN.

Foram selecionados 27 equinos, aleatoriamente, de forma a abranger todas as atividades desempenhadas pelo plantel da AMAN, sendo oito animais de salto, cinco de tração, oito de instrução e seis potros com idade até cinco anos, que se encontravam em período de doma ou início de trabalho, com intuito de acompanhar clinicamente por meio de esfregaços sanguíneos e análises laboratoriais (Tabela 2).

### 3.3 Avaliação Clínica

A avaliação clínica constou de observação referente ao estado geral, seguida de aferição da temperatura retal em repouso, observação de mucosas visíveis, frequência respiratória e cardíaca, registrados em fichas individuais. Tais parâmetros foram avaliados no período de oito a dez horas da manhã, antes de os animais serem submetidos a trabalho ou a temperatura ambiente elevar-se consideravelmente.

Tabela 2. Equinos da AMAN utilizados na avaliação clínica, exames hematológicos e bioquímicos.

| Equino<br>Matrícula | Raça        | Trabalho  | Sexo | Idade<br>(anos) |
|---------------------|-------------|-----------|------|-----------------|
| Apiray 2696         | Bretão      | Tração    | M    | 16              |
| Bacamarte 0548      | PSI         | Salto     | M    | 16              |
| Bafafá 0027         | Anglo-Árabe | Instrução | F    | 19              |
| Bandeira 2202       | Mestiça     | Instrução | F    | 10              |
| Biguá 1266          | Mestiça     | Instrução | M    | 15              |
| Blanche 2699        | Bretão      | Tração    | F    | 15              |
| Bocaina 0644        | BH          | Instrução | F    | 14              |
| Brasa 2231          | Mestiça     | Salto     | F    | 09              |
| Buscapé 0145        | Mestiça     | Instrução | M    | 15              |
| Butuca 2298         | Mestiça     | Salto     | F    | 09              |
| Carancho 2364       | Mestiça     | Salto     | M    | 08              |
| Dote 2609           | Mestiça     | Salto     | M    | 07              |
| Experiência 2858    | Mestiça     | Salto     | F    | 06              |
| Fato 0371           | BH          | Iniciação | M    | 05              |
| Feiticeira 0326     | Bretão      | Tração    | F    | 05              |
| Formatura 0164      | BH          | Iniciação | F    | 05              |
| Fundamento 0061     | BH          | Iniciação | M    | 05              |
| Garrão 0367         | Mestiça     | Iniciação | M    | 04              |
| Hortênsia 2684      | Bretão      | Tração    | F    | 12              |
| Ideafix 3387        | Mestiça     | Salto     | M    | 07              |
| Inspiração 1046     | Mestiça     | Doma      | F    | 02              |
| Milonga 0018        | Mestiça     | Instrução | F    | 11              |
| Quintinha 2701      | Bretão      | Tração    | F    | 16              |
| Underground 3232    | BH          | Salto     | M    | 10              |
| Urubici 0907        | Mestiça     | Salto     | F    | 15              |
| Varsplan 1235       | BH          | Instrução | M    | 14              |
| Yes 1233            | Mestiça     | Instrução | M    | 12              |

### 3.4 Amostras de Sangue Total e Soro

De cada animal foram coletados 10 mL de sangue sem anticoagulante e cinco mL de sangue com o anticoagulante sal dissódico do ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), através da punção da veia jugular, com tubos de vacutainer, sendo o material devidamente identificado.

A preparação da coleta de soro incluiu refrigeração a - 4°C até a retração do coágulo, quando então foi centrifugado a 3000 rpm por 5 minutos, retirando-se alíquotas de dois ml, mantidas em Eppendorfs, devidamente identificadas e armazenadas à temperatura de -20°C até o momento do teste sorológico.

### **3.5 Exames Hematológicos**

As amostras coletadas para hemograma foram enviadas sob refrigeração ao Laboratório de Patologia Clínica da Universidade Federal de Lavras (UFLA). O volume globular foi obtido após centrifugação em centrífuga de micro-hematócrito, utilizando-se tubos capilares; a hematimetria, a plaquetometria e a leucometria global foram realizadas em câmara de Neubauer e a hemoglobimetria avaliada através de espectrofotometria utilizando-se kits comerciais. A coloração dos esfregaços sanguíneos para hematoscopia, leucometria específica e pesquisa de hemoparasitos foi efetuada através da coloração por Corante Rápido Panóptico, sendo estes esfregaços avaliados em microscopia óptica com aumento de 1000X (Coles, 1986; JAIN, 1993).

### **3.6 Exames Bioquímicos Séricos**

As determinações dos valores séricos de creatinina e albumina foram efetuadas por espectrofotometria com a utilização de kits comerciais, e proteínas plasmáticas totais por refratômetro óptico, no Laboratório de Patologia Clínica da Faculdade de Veterinária da Fundação D. André Arcoverde. As globulinas e a relação albumina/globulina foram determinadas através de cálculos aritméticos (KANEKO et al., 1997).

### **3.7 Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI)**

Os testes sorológicos foram realizados no Instituto de Veterinária/UFRRJ, para pesquisa de anticorpos anti-*Babesia equi*, utilizando-se o protocolo de Tenter e Friedhoff (1986) apud Botteon (1996).

#### **3.7.1 Preparação do antígeno**

Para a produção do antígeno foi utilizado um equino com aproximadamente dois anos de idade, livre de ectoparasitos e negativo sorologicamente para hemoprotozoários, que foi mantido na UFRRJ, no Departamento de Parasitologia Animal, de onde foi encaminhado para o Hospital Veterinário da AMAN, sendo submetido à esplenectomia, como forma de baixar a resistência imunológica e, conseqüentemente, permitir a observação dos parasitas na corrente sanguínea. No décimo dia após a esplenectomia foram inoculados aproximadamente 4 mL da cepa Jaboticabal de *B. equi*, criopreservada em 10% de dimetil sulfóxido (DMSO).

Diariamente, o animal foi acompanhado clinicamente por meio da aferição das frequências cardíaca e respiratória, tempo de preenchimento capilar, coloração de mucosas,

temperatura retal, motilidade intestinal, volume globular e por exame parasitológico por meio de esfregaços sanguíneos para determinação da parasitemia. Quando a parasitemia atingiu 80%, realizou-se a colheita de sangue com Alsever na proporção de 1:1.

Para a preparação do antígeno para RIFI, as hemácias foram lavadas quatro vezes com solução salina estéril a 0,85%, com remoção da papa leucocitária na primeira lavagem. A papa de hemácias resultante foi ajustada para a obtenção de uma concentração satisfatória de parasitas, aproximadamente 30 hemácias parasitadas por campo. As lâminas para confecção dos esfregaços delgados e uniformes foram lavadas e desengorduradas com álcool e secadas em temperatura ambiente. Foram realizados esfregaços e após secagem em temperatura ambiente as lâminas contendo o antígeno foram embaladas individualmente em papel higiênico e separadas em blocos contendo cinco lâminas, envoltas em papel alumínio e devidamente identificadas, acondicionadas em recipientes hermeticamente fechados e estocadas a  $-20^{\circ}\text{C}$  até o momento do uso.

### 3.7.2 Descrição da reação de RIFI

As lâminas contendo o extrato antigênico foram descongeladas à temperatura ambiente, em seguida marcadas com 14-16 pequenos círculos com esmalte de coloração vermelha. Em cada cavidade foram colocados 10  $\mu\text{L}$  de cada soro a ser testado. As lâminas foram incubadas em câmara úmida a  $37^{\circ}\text{C}$  por 45 minutos e, a seguir, submetidas a três lavagens por imersão durante cinco minutos cada, em solução salina tamponada (PBS). Após secagem em temperatura ambiente, as cavidades das lâminas foram recobertas com aproximadamente 10  $\mu\text{L}$  de anti-IgG de equino conjugado ao isotiocianato de fluoresceína diluído a 1:100 em solução de PBS, contendo azul de Evans 1mg%. Após a adição do conjugado as lâminas foram incubadas conforme descrito acima e submetidas a duas lavagens por imersão durante cinco minutos cada em PBS, e uma terceira lavagem de 30 segundos em água tridestilada. As lâminas após secagem foram montadas com lamínula e, utilizando-se glicerina tamponada a uma relação 9:1 de glicerina/tampão carbonato-bicarbonato 0,5M pH 9,6, foram posteriormente observadas em microscópio equipado para fluorescência.

### 3.8 Análise Estatística

Os resultados obtidos para avaliação da prevalência sorológica de *B. equi* na população de equinos na AMAN foram analisados pelo método estatístico do qui-quadrado, ao nível de 5% de probabilidade (PEREIRA, 2006).

Para análise dos dados obtidos na hematologia, bioquímica sanguínea e exame clínico, foram selecionados aleatoriamente 27 animais, sendo desses, 22% da raça BH, 19% Bretão, 52% Mestiça e 1% outras raças. Foi utilizado um modelo misto para a experimentação, estabelecendo raça como bloco (controle local) e como fatores o trabalho a que são submetidos os equinos, o sexo e a sorologia para *B. equi*. As variáveis respostas são as relativas à hematologia, bioquímica e exames clínicos. Os Softwares usados nas análises foram o SAS System e o R 2.3.1.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Avaliação Clínica

Dos 27 equinos selecionados para coleta de sangue e avaliação clínica, seis foram considerados negativos no exame sorológico para detecção de anticorpos anti-*B. equi*. Não houve, entretanto, diferenças no exame clínico.

Tabela 3. Resultados observados na avaliação clínica e na sorologia para *B. equi*, em equinos da AMAN.

| Equino<br>Matrícula | Temperatura<br>Retal (°C) | Frequência<br>Cardíaca<br>(/min) | Frequência<br>Respiratória<br>(/min) | Mucosas | Sorologia<br><i>B. equi</i><br>(RIFI) |
|---------------------|---------------------------|----------------------------------|--------------------------------------|---------|---------------------------------------|
| Apiray 2696         | 38,1                      | 36                               | 16                                   | N*      | Positivo                              |
| Bacamarte 0548      | 37,8                      | 40                               | 20                                   | N       | Positivo                              |
| Bafafá 0027         | 37,4                      | 36                               | 18                                   | N       | Positivo                              |
| Bandeira 2202       | 38,1                      | 42                               | 22                                   | N       | Positivo                              |
| Biguá 1266          | 37,6                      | 34                               | 16                                   | N       | Positivo                              |
| Blanche 2699        | 38,0                      | 34                               | 18                                   | N       | Negativo                              |
| Bocaina 0644        | 37,4                      | 40                               | 20                                   | N       | Positivo                              |
| Brasa 2231          | 37,9                      | 36                               | 20                                   | N       | Positivo                              |
| Buscapé 0145        | 38,0                      | 42                               | 18                                   | N       | Positivo                              |
| Butuca 2298         | 38,1                      | 44                               | 22                                   | N       | Positivo                              |
| Carancho 2364       | 37,6                      | 40                               | 18                                   | N       | Positivo                              |
| Dote 2609           | 38,0                      | 36                               | 18                                   | N       | Positivo                              |
| Experiência 2858    | 37,5                      | 42                               | 22                                   | N       | Positivo                              |
| Fato 0371           | 37,8                      | 38                               | 18                                   | N       | Positivo                              |
| Feiticeira 0326     | 37,9                      | 40                               | 22                                   | N       | Negativo                              |
| Formatura 0164      | 37,5                      | 42                               | 20                                   | N       | Positivo                              |
| Fundamento 0061     | 37,4                      | 36                               | 16                                   | N       | Positivo                              |
| Garrão 0367         | 38,0                      | 42                               | 18                                   | N       | Positivo                              |
| Hortênsia 2684      | 37,9                      | 48                               | 16                                   | N       | Negativo                              |
| Ideafix 3387        | 38,1                      | 32                               | 18                                   | N       | Positivo                              |
| Inspiração 1046     | 37,6                      | 36                               | 14                                   | N       | Positivo                              |
| Milonga 0018        | 37,7                      | 38                               | 18                                   | N       | Positivo                              |
| Quintinha 2701      | 38,1                      | 42                               | 26                                   | N       | Negativo                              |
| Underground 3232    | 37,9                      | 34                               | 18                                   | N       | Negativo                              |
| Urubici 0907        | 37,7                      | 40                               | 16                                   | N       | Positivo                              |
| Varsplan 1235       | 37,1                      | 38                               | 20                                   | N       | Positivo                              |
| Yes 1233            | 37,6                      | 38                               | 18                                   | N       | Positivo                              |

\*N - Normocoradas

## 4.2 Hemograma

Os valores médios observados em volume globular (VG), hemoglobimetria, leucometria global e plaquetometria mantiveram-se dentro da normalidade, porém, próximos aos limites mínimos para a espécie, segundo Jain (1993) (Tabela 4 e Figura 6). Valores de hematimetria estiveram abaixo do observado na literatura, tanto para animais portadores assintomáticos quanto para os negativos na sorologia para *B. equi*, havendo a necessidade de desenvolver mais pesquisas no sentido de avaliar faixas de normalidade para os equinos da região, assim como a influência de outros agentes etiológicos como *B. caballi*, vírus da anemia infecciosa equina e *Anaplasma phagocytophila*.

Valores de normalidade considerados foram 32 – 53% para VG, de 11,0 – 19,0 para hemoglobimetria, de 5400 - 14300/ $\mu\text{L}$  para leucometria global, de 1,0 – 3,5 ( $\times 10^5/\mu\text{L}$ ) para plaquetometria, de 6,8 – 12,9 ( $\times 10^6/\mu\text{L}$ ) para hematimetria (JAIN, 1993).

Não houve evidência de hemólise nos equinos positivos para *B. equi* no presente estudo, o que seria caracterizado por anemia, hiperbilirubinemia, com proteínas plasmáticas totais normais ou aumentadas. Plasma de coloração avermelhada indicando hemólise intravascular aguda ocorre em animais intensamente parasitados, não ocorrendo em nenhum dos animais utilizados no experimento.

Os resultados são semelhantes aos encontrados em outros trabalhos onde foram avaliados parâmetros hematológicos de equinos portadores de *B. equi*. Cunha et al. (1998) avaliaram hematócrito de equinos experimentalmente inoculados com *B. equi*, verificando que ocorre rápida queda deste parâmetro na fase aguda da infecção, mas sem sofrer alterações significativas durante a fase crônica.

Silva (2002) descreveu achados semelhantes em eritrograma de equinos naturalmente infectados, no Estado do Rio de Janeiro, com valores de hematócritos nos grupos positivos e negativos sem diferença significativa, estando ambos um pouco abaixo dos valores de referência para a espécie. Tais animais eram oriundos de apreensão, estando em estado nutricional precário, o que justificou os valores encontrados.

Schein (1988) descreveu anemia do tipo microcítica hipocrômica ou normocítica normocrômica em equinos acometidos de babesiose aguda. Camacho et al. (2005) descreveram decréscimo de 43 % no hematócrito de equinos portadores assintomáticos de *B. equi*, obtidos em duas fazendas na Galícia, noroeste da Espanha, quando comparados com equinos negativos. Estes achados diferem dos valores encontrados neste estudo, que apresentou valores de hematócrito e contagem de hemácias dentro das faixas de normalidade e sem diferença significativa entre equinos portadores assintomáticos e negativos para *B. equi*.

Contagens de plaquetas estiveram dentro da faixa de normalidade para a espécie, podendo ser considerado trombocitopenia valores menores que 100.000/ $\mu\text{L}$  (JAIN, 1993).

Tabela 4. Valores hematológicos obtidos em equinos da AMAN – Exército Brasileiro.

| Parâmetro    | Volume Globular (%) | Hemoglobina (g/dL) | Hematimetria ( $\times 10^6$ ) | Leucometria global / $\mu$ L | Plaquetometria / $\mu$ L |
|--------------|---------------------|--------------------|--------------------------------|------------------------------|--------------------------|
| Média        | 33,04               | 11,01              | 5,51                           | 9.083                        | 327.730                  |
| Valor Máximo | 39                  | 13,0               | 6,5                            | 12.200                       | 634.000                  |
| Valor Mínimo | 26                  | 8,63               | 4,31                           | 6.900                        | 102.000                  |

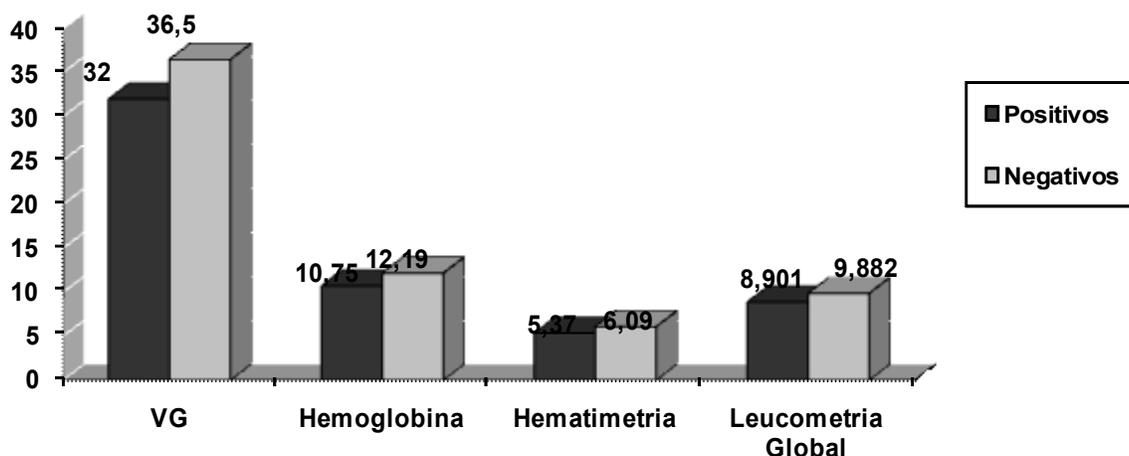


Figura 6. Valores hematológicos médios de equinos positivos e negativos na sorologia para detecção de anticorpos anti-*B. equi*. VG – Volume Globular

Valores observados na leucometria específica encontraram-se dentro dos valores de normalidade, não diferindo entre animais portadores assintomáticos e negativos para *B. equi* (Tabela 5 e Figura 7).

Silva (2002) descreveu achados semelhantes em leucograma de equinos naturalmente infectados, no Estado do Rio de Janeiro, com valores nos grupos positivos e negativos sem diferença significativa. A ocorrência de monocitose significativa naquele experimento, conforme relatado também por Rudolph et al. (1975), estaria justificada pela presença de infecção subclínica ou crônica. Tais achados não foram repetidos no presente experimento, quando considerados os valores médios dos equinos da AMAN.

Valores de normalidade considerados foram 2260 - 8580/ $\mu$ L para neutrófilos, de 00 - 100 para bastões, de 1500 - 7700/ $\mu$ L para linfócitos, de 00 - 1000/ $\mu$ L para monócitos, de 00 - 1000 para eosinófilos e de 00 - 290 para basófilos (JAIN, 1993).

Observou-se ainda discreto desvio à esquerda regenerativo, com valores de bastões ligeiramente acima dos valores da espécie. Quando comparadas as médias de equinos portadores assintomáticos e negativos para *B. equi*, tal desvio foi mais acentuado nestes últimos, não sendo portanto, relacionado à patogenia pelo protozoário.

Tabela 5. Valores observados nas leucometrias global e específica de equinos da AMAN – Exército Brasileiro.

| Parâmetro    | Leucometria global / $\mu$ L | Neutrófilos (/uL) | Bastões (/uL) | Linfócitos (/uL) | Monócitos (/uL) | Eosinófilos (/uL) | Basófilos (/uL) |
|--------------|------------------------------|-------------------|---------------|------------------|-----------------|-------------------|-----------------|
| Média        | 9.083                        | 4.334             | 123           | 3.871            | 280             | 300               | 176             |
| Valor Máximo | 12.200                       | 6.171             | 443           | 8.174            | 1.089           | 1.155             | 531             |
| Valor Mínimo | 6.900                        | 2.186             | 00            | 2.208            | 00              | 00                | 00              |

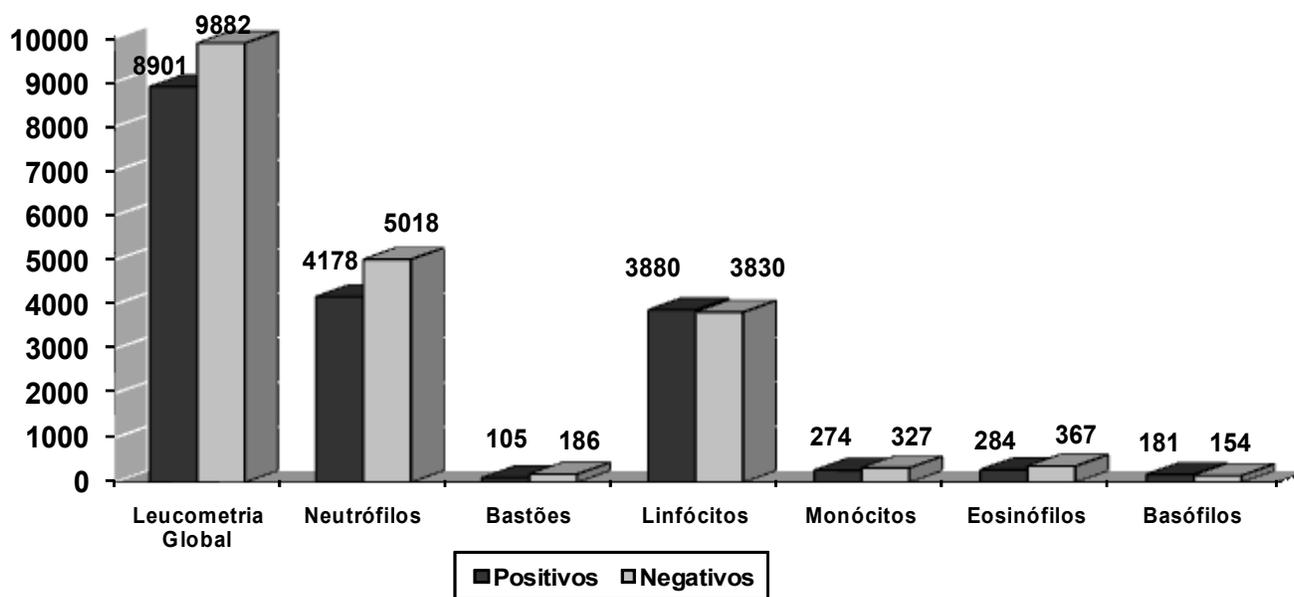


Figura 7. Valores médios observados na leucometria global e específica (células/uL) de equinos positivos e negativos na sorologia para detecção de anticorpos anti-*B. equi*.

### 4.3 Bioquímica Sérica

Valores de referência para albumina são de 2,6 a 3,7 g/dL e para PPT são 5,2 a 7,9 g/dL, estando os animais da AMAN dentro da normalidade (Tabela 6), independente de serem portadores assintomáticos ou negativos para *B. equi*. Com função de transporte e de manutenção de pressão oncótica, ocorrerá elevação da albumina em casos de desidratação; sua redução

ocorrerá em doenças hepáticas, renais, gastrintestinais, má nutrição ou perda de sangue ou plasma (KANEKO et al., 1997).

A creatinina esteve com valor médio dentro da normalidade para equinos (Tabela 6), considerando-se 1,2 a 1,9 mg/dL como valores de referência. Achados relacionados à babesiose aguda incluem elevação da creatinina plasmática, secundária ao dano renal causado por hemoglobinúria, induzida pela destruição aumentada de eritrócitos parasitados, intra ou extravascularmente (KANEKO et al., 1997).

Avaliação da relação albumina/globulina (A/G) permite interpretação das discrasias protéicas, quando utilizada em conjunto com os valores absolutos das frações individuais, fornecendo ao clínico entendimento dos significados das disproteinemias. Em equinos, valores da relação A/G situa-se em torno de 1 (KANEKO et al., 1997).

Tabela 6. Valores de bioquímica sérica obtidos de equinos da AMAN – Exército Brasileiro

| Parâmetro    | Albumina<br>g/dL | Creatinina<br>mg/dL | Proteínas<br>Plasmáticas Totais<br>g/dL | Relação A/G |
|--------------|------------------|---------------------|---|-------------|
| Média        | 3,46             | 1,57                | 6,94                                    | 1,13        |
| Valor Máximo | 4,2              | 6,6                 | 11,4                                    | 1,94        |
| Valor Mínimo | 2,9              | 0,4                 | 5,2                                     | 0,36        |

A análise estatística realizada utilizando-se as variáveis referentes à hematologia, bioquímica sanguínea e ao exame clínico dos 27 equinos empregados no experimento é discriminada a seguir:

O resultado da análise de variância (teste F) é sumarizado na tabela abaixo:

Tabela 7. Análise de Variância (ANOVA) para o modelo misto.

| <b>Variáveis Resposta</b> | <b>Trabalho</b> | <b>Sexo</b> | <b>Sorologia</b> |
|---------------------------|-----------------|-------------|------------------|
| Volume Globular           | *               | NS          | NS               |
| Hemoglobina               | *               | NS          | NS               |
| Hematimetria              | *               | NS          | NS               |
| Leucometria Global        | NS              | NS          | NS               |
| Plaquetometria            | NS              | NS          | NS               |
| Albumina                  | NS              | NS          | NS               |
| Creatinina                | NS              | NS          | NS               |
| PPT                       | NS              | NS          | NS               |
| Relação A/G               | NS              | NS          | NS               |
| Temperatura               | NS              | NS          | NS               |
| Batimentos cardíacos      | NS              | NS          | NS               |
| Frequência respiratória   | NS              | NS          | NS               |

\* Diferença entre médias significativa a 5%.

NS - Diferença entre médias não significativa.

Da ANOVA observa-se que o único fator significativo foi o Trabalho, sendo esta significância relativa às variáveis resultantes do teste hematológico (Volume globular, Hemoglobina e Hematimetria). Aplicando-se o teste de Tukey para detectar-se quais tipos de trabalhos diferem significativamente entre si, obteve-se o seguinte resultado:

Tabela 8. Teste de Tukey para comparação das médias dos tipos de trabalho.

| <b>Comparações</b>    | <b>Volume Globular</b> | <b>Hemoglobina</b> | <b>Hematimetria</b> |
|-----------------------|------------------------|--------------------|---------------------|
| Tração - Salto        | NS                     | NS                 | NS                  |
| Tração - Instrução    | NS                     | NS                 | NS                  |
| Tração - Iniciação    | *                      | *                  | *                   |
| Salto - Instrução     | NS                     | NS                 | NS                  |
| Salto - Iniciação     | NS                     | NS                 | NS                  |
| Instrução - Iniciação | NS                     | NS                 | NS                  |

\* Diferença entre médias significativa a 5%.

NS - Diferença entre médias não significativa.

Conforme observado na Tabela 08, a média observada para os eqüinos de tração difere significativamente da média observada para os eqüinos em iniciação (potros) com relação às variáveis resultantes do exame hematológico. O fator sorologia mostrou-se não significativo para todas as variáveis observadas quando da realização da ANOVA (Tabela 07), porém, o teste de Tukey detectou significância deste fator com as variáveis resultantes do teste hematológico (Tabela 09).

Tabela 9: Teste de Tukey para o fator sorologia para *B. equi* de equinos da AMAN.

| <b>Variáveis Resposta</b> | <b>Sorologia</b> |
|---------------------------|------------------|
| Volume Globular           | *                |
| Hemoglobina               | *                |
| Hematimetria              | *                |
| Leucometria               | NS               |
| Plaquetometria            | NS               |
| Albumina                  | NS               |
| Creatinina                | NS               |
| PPT                       | NS               |
| Relação A/G               | NS               |
| Temperatura corporal      | NS               |
| Batimentos cardíacos      | NS               |
| Frequência respiratória   | NS               |

\* Diferença entre médias significativa a 5%.

NS - Diferença entre médias não significativa.

Essa discordância entre ANOVA e teste de Tukey foi mencionada por Gomes (2000), onde ele apresenta um caso em que houve este achado, mas afirma que estas se devem à aceitação de hipóteses diferentes nas deduções teóricas, sendo, porém, de pouca importância

prática. Portanto, mesmo havendo estas discordâncias o teste de Tukey é válido, devendo ser levado em consideração.

Analisando a Tabela 09, teste de Tukey para sorologia, observa-se que este fator foi significativo na comparação de médias relativas às variáveis resultantes do exame hematológico. Tal resultado vai ao encontro do que se espera em termos de patogenia relacionada ao protozoário.

#### 4.4 Prevalência Sorológica

Das 178 amostras de soros sanguíneos de equinos, 157 foram consideradas positivas, observando-se uma prevalência de 85,96%, conforme Tabela 10.

Os resultados obtidos no presente estudo são semelhantes aos observados em alguns trabalhos realizados no Brasil em criações extensivas e semi-intensivas de equinos. Linhares (1994) observou prevalência de 94,7% em equinos de Goiânia, Goiás, sendo a região considerada como de estabilidade enzoótica. Pfeifer Barbosa et al. (1995) avaliando a soroprevalência de *B. equi* em equinos criados a campo no Estado do Rio de Janeiro, obtiveram uma prevalência de 100%. Botteon (1996) obteve 89,6% de prevalência em equinos de sistemas de criação extensiva e 87,1% em equinos criados em sistema semiconfinado. Estudos realizados na Baixada Litorânea do Rio de Janeiro por Silva (2002), observaram uma prevalência de 95,9% assemelhando-se aos observados por Laranjeira (2003) que ao avaliar a prevalência em diversas regiões, observou valores de 91,6% na região Metropolitana, de 95,7% na região do Médio Paraíba e de 100% para as regiões Serrana, Centro-Sul Fluminense, Baixada Litorânea e da Baía da Ilha Grande. Estes dados demonstram uma situação de estabilidade enzoótica para os equinos da AMAN semelhante ao que ocorre com as demais localidades do Estado do Rio de Janeiro.

Tabela 10. Prevalência de *Babesia equi* em equinos da AMAN – Exército Brasileiro.

|                   | Nº de Animais | Prevalência (%) |
|-------------------|---------------|-----------------|
| Animais positivos | 153           | <b>85,96</b>    |
| Animais negativos | 25            | <b>14,04</b>    |
| <b>Total</b>      | <b>178</b>    | <b>100,00</b>   |

Considerando-se o sexo dos animais avaliados, do total de 178 amostras testadas, 95 eram de machos e 83 de fêmeas, sendo que 86 machos e 67 fêmeas foram positivos. A prevalência de anticorpos para *B. equi* entre os soros de equídeos para machos foi de 90,52% e de 80,72% para fêmeas (Tabela 11). Linhares (1994) encontrou a prevalência de anticorpos para *B. equi* de 91,48% para machos e de 90,50% para as fêmeas, Laranjeira (2003) encontrou uma prevalência de 95,20% para machos e de 91,20% para as fêmeas.

Tabela 11. Prevalência de *Babesia equi* em equinos da AMAN – Exército Brasileiro, agrupados segundo sexo.

| Sexo         | Equinos Testados | Equinos Positivos | Equinos Negativos | Prevalência (%) |
|--------------|------------------|-------------------|-------------------|-----------------|
| <b>Macho</b> | 95               | 86                | 09                | <b>90,52</b>    |
| Fêmea        | 83               | 67                | 16                | <b>80,72</b>    |

|              |            |            |           |              |
|--------------|------------|------------|-----------|--------------|
| <b>Total</b> | <b>178</b> | <b>153</b> | <b>25</b> | <b>85,96</b> |
|--------------|------------|------------|-----------|--------------|

Em relação à faixa etária, dentre as 178 amostras avaliadas; 34 eram de animais com idade igual ou inferior a 05 anos, sendo que 27 eram positivos, demonstrando uma prevalência de 79,41%. Entre a faixa etária de 5 a 10 anos, do total de 48 animais testados, 42 apresentaram-se positivos, representando uma prevalência de 87,50%. Do total de 63 animais com idade entre 10 a 15 anos, 53 eram positivos, observando-se uma prevalência de 84,12%. Dos 33 animais avaliados com idade igual ou superior a 15 anos, 31 eram positivos, demonstrando uma prevalência de 93,94% (Tabela 12). Analisando estatisticamente os dados da Tabela 7, referentes às taxas de prevalência com relação à faixa etária verifica-se que os resultados das taxas de prevalência são semelhantes para os diferentes grupos. Estes resultados também caracterizam uma situação de estabilidade enzoótica para as diferentes faixas etárias, resultados que foram semelhantes aos encontrados por Linhares (1994), onde para os animais menores de dois anos a prevalência foi de 92,20%, para animais de maiores de dois anos e menores que dez foi de 89,20% e para animais maiores de dez anos a prevalência foi de 90,60%. Laranjeira (2003) encontrou prevalência de 86,20% para os animais com menos de um ano idade e de 94,10% para os animais com mais de um ano de idade.

Tabela 12. Prevalência de *Babesia equi* em equinos da AMAN – Exército Brasileiro, agrupados segundo faixa etária.

| <b>Faixa etária</b> | <b>Equinos Testados</b> | <b>Equinos Positivos</b> | <b>Equinos Negativos</b> | <b>Prevalência (%)</b> |
|---------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|------------------------|
| 1-5                 | 34                      | 27                       | 07                       | <b>79,41</b>           |
| 5-10                | 48                      | 42                       | 06                       | <b>87,50</b>           |
| 10-15               | 63                      | 53                       | 10                       | <b>84,12</b>           |
| >15                 | 33                      | 31                       | 02                       | <b>93,94</b>           |
| <b>Total</b>        | <b>178</b>              | <b>153</b>               | <b>25</b>                | <b>85,96</b>           |

Considerando as raças dos animais, dos 178 animais avaliados, 123 eram mestiços, 16 Bretões, 26 Brasileiro de Hipismo, 13 de outras raças. Dos 123 mestiços, 114 apresentaram-se positivos, representando uma prevalência de 92,68%. Dos 16 Bretões, quatro foram positivos com prevalência de 25%. Dos 26 Brasileiro de Hipismo, 22 eram positivos, demonstrando uma prevalência de 84,61%. Entre as outras raças, os 13 animais eram positivos (100%) (Tabela 13). Estatisticamente apenas a raça Bretão apresentou diferença significativa a 5% e esse resultado pode ser explicado pelo manejo, uma vez que esses animais são mantidos sempre nos mesmos piquetes sem cobertura vegetal, com ausência de carrapatos e sem participação em viagens e competições externas da AMAN. Provavelmente estes fatores estão diretamente relacionados com a baixa prevalência de *B. equi* observada para esta raça.

Tabela 13. Prevalência de *Babesia equi* em equinos da AMAN – Exército Brasileiro, agrupados segundo raça.

| <b>Raças</b> | <b>Equinos Testados</b> | <b>Equinos Positivos</b> | <b>Equinos Negativos</b> | <b>Prevalência (%)</b> |
|--------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|------------------------|
| Mestiços     | 123                     | 114                      | 9                        | 92,68                  |
| Bretão       | 16                      | 4                        | 12                       | <b>25,00</b>           |
| BH           | 26                      | 22                       | 4                        | <b>84,61</b>           |
| Outras       | 13                      | 13                       | 0                        | <b>100,00</b>          |
| <b>Total</b> | <b>178</b>              | <b>153</b>               | <b>25</b>                | <b>85,96</b>           |

BH – Brasileiro de Hipismo

## 5 CONCLUSÕES

Nas condições em que o trabalho foi realizado, pode-se concluir que:

A prevalência de 85,96% observada nos animais caracteriza a área estudada como de estabilidade enzoótica para *B. equi*.

A prevalência de *B. equi* independeu da faixa etária e do sexo.

Animais da raça Bretão apresentaram prevalência significativamente menor e, portanto, sob risco de ocorrência de casuística clínica.

Animais em estado assintomático de infecção por *B. equi* não apresentaram variações no hemograma que possam ser atribuídas unicamente à parasitose.

O teste de imunofluorescência indireta mostrou-se eficaz na detecção de anticorpos contra *B. equi* em portadores assintomáticos.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, L. G. Clinical pathological aspects of imidocarb dipropionate toxicity in horses. *Research in Veterinary Science*, Salsbury, v. 31, p. 54-61, 1981.

AGUIRRE, D. H.; CAFRUNE, M. M.; RADA, M.; TORIONE de ACHAIDE, S. Babesiosis clínica en equinos de cerrillos; Salta, Argentina. *RIA*, v. 33, n. 3, p. 123-133, 2004

ALLSOPP, M. T. E. P. et al, Phylogeny and evolution of the piroplasma. *Parasitology*. Cambridge, v. 108, p. 147-152, 1994.

AMBAWAT, H. K.; MALHOTRA, D. V.; KUMAR, S.; DHAR, S. Erythrocyte associated haemato-biochemical changes in *Babesia equi* infection experimentally produced in donkeys. *Veterinary Parasitology*, v. 85, p. 319-324, 1999.

BALDANI, C. D.; MACHADO, R. Z.; BOTTEON, P. T. L.; TAKAKURA, F. S.; MASSARD, C. L. An enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of IgG antibodies against *Babesia equi* in horses. *Ciência Rural*, v. 34, n. 5, p. 1525-1529, 2004.

BARTON, M. H. Diagnostic Approach to Anemia. In: Robinson, N. E. *Current Therapy in Equine Medicine* 5, p. 336-339, Saunders, 2003.

BATTSETSEG, B.; LUCERO, S.; XUAN, X.; CLAVERIA, F. G.; INOUE, N.; ALHASSAN, A.; KANNO, T.; IGARASHI, I.; NAGASAWA, H.; MIKAMI, T.; FUJISAKI, K. Detection of natural infection of *Boophilus microplus* with *Babesia equi* and *Babesia caballi* in brasilian horses using nested polymerase chain reaction. *Veterinary Parasitology*, v. 107, p 351-357, 2002.

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 Ciências Veterinárias*, v. 4, n. 1, p 13-17, 1997

BORGES, L. M. F.; OLIVEIRA, P. R.; RIBEIRO, M. F. B. Seasonal Dynamics of *Anocentor nitens* on horses in Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 89, p 165-171, 2000.

BOSE, R.; PEYMANN, B. Diagnosis of *Babesia caballi* infection in horse by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and Western Blot. *International Journal for Parasitology.*, v. 24, n. 3, p. 341-346, 1994.

BOTTEON, P. T. L. Padronização do Método de ELISA Indireto para Diagnóstico de *Babesia equi* (Laveran, 1901) e Estudo da Importância da *B. equi* no Desempenho de Equinos Atletas. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias – Sanidade Animal) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica - RJ, 67 p, 2003.

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

CAMACHO, A. T.; GUITIAN, F. J.; PALLAS, E.; GESTAL, J. J.; OLMEDA, A. S.; HABELA, M. A.; TELFORD, S. R.; SPIELMAN, A. *Theileria (Babesia) equi* and *Babesia caballi* Infections in Horses in Galicia, Spain. *Tropical Animal Health & Production*, v. 37, n. 4, p. 293 – 302, 2005.

CARINI, A. Sobre uma piroplasmose equina observada em São Paulo. *Arch. Soc. Méd. Cir. São Paulo*, v. 1, p. 63 – 66, 1910.

COLES, E. H. *Veterinary Clinical Pathology*, 4th, Philadelphia, W. B. Saunders, 1986.

COSTA, R. O.; MELO, R. P. Nota prévia sobre ocorrência de *Babesia caballi* (NUTTALL, 1912) em *Equus caballus* no Brasil. *Veterinária*, v. 16, p. 74-75, 1963.

CUNHA, C. W.; SILVA, S. S.; OSÓRIO, B. L.; DUTRA, C. L. Alterações hematológicas e sorológicas em equinos experimentalmente infectados com *Babesia equi*. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 28, n. 2, p. 283-286, 1998.

CUNHA, C. W.; SILVA, S. S.; PIMENTEL, C. A.; DAPPER, E. Avaliação da frequência de equinos soropositivos à *Babesia equi* no Jôquei Clube de Pelotas e em dois haras da zona sul do Rio Grande do Sul, RS. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, Rio de Janeiro, v. 5, p. 119-122, 1996.

DE WALL, D. T. Equine Piroplasmosis: a review. *British Veterinary Journal*, v. 148, p. 6-14, 1992.

DE WALL, D. T.; van HEERDEN, J.; POTGIETER, F. T. The transovarial transmission of *Babesia caballi* by *Hyalomma truncatum*. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, v. 57, p. 99-100, 1990.

DE WALL, D. T.; van HEERDEN, J.; BERG, S. S.; STEGMANN, G. F.; POTGIETER, F. T. Isolation of pure *Babesia equi* and *Babesia caballi* organisms in splenectomized horses from endemic areas in South Africa. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, Schaumburg, v. 55, p. 33-35, 1988.

DONNELLY, J.; PHIPPS, L. P.; WATKINS, K. L. Evidence of maternal antibodies to *Babesia equi* and *B. caballi* in foals of seropositive mares. *Equine Veterinary Journal*. v. 14, p. 126-128, 1982.

FERNANDES, K. R.; GOLYNSKI, A. A.; FORLANO, M. D.; ELISEI, C.; MADEIRO, A. S.; LINHARES, G. F.; MASSARD, C. L. Detecção de *Babesia equi* (LAVERAN, 1901) em glândulas salivares de *Boophilus microplus* (CANESTRINI, 1887). In: *Anais XIV Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária*, Ribeirão Preto – SP, p. 165, 2006a.

FERNANDES, K. R.; GOLYNSKI, A. A.; FORLANO, M. D.; ELISEI, C.; MADEIRO, A. S.;

LINHARES, G. F.; MASSARD, C. L. Estudo do desenvolvimento de *Babesia equi* (LAVERAN, 1901) em glândulas salivares de *Boophilus microplus* (CANESTRINI, 1887). In: Anais XIV Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, Ribeirão Preto – SP, p. 166, 2006b.

FRIEDHOOF, K. T.; TENTER, A. M.; MULLER, I. Haemoparasites of equines: impact on international trade horses. Rev. Scientif. Tech., v. 9, p. 1187-1194, 1990.

FRIEDHOOF, K. T. Transmission of Babesia. In: RISTIC, M. Babesiosis of domestic animals and man. Boca Raton, CRC Press, p. 197-208, 1988.

GUIMARÃES, A. M.; LIMA, J. D.; RIBEIRO, M. F. B. Ultrastructure of *Babesia equi* trophozoites isolated in Minas Gerais, Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária. v. 23, n. 3, p. 101-104, 2003.

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

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

GOMES, F. P., Curso de Estatística Experimental, 14a. Ed, Piracicaba, 2000.

HAILAT, N. Q., LAFI, S. Q., AL-DARRAJI, A. M., AL-ANI F. K. Equine babesiosis associated with strenuous exercise: clinical and pathological studies in Jordan. Veterinary Parasitology. v. 69, p. 1 a 8, 1997.

HEUCHERT, C. M. S.; GIULLI Jr, V.; ATHAIDE, D. F.; BÖSE, R. FRIEDHOFF, K. T. Seroepidemiologic studies on *Babesia equi* e *Babesia caballi* infections in Brazil. Veterinary Parasitology. v. 85, p. 1-11, 1999.

HOLBROOK, A. A. The Biology of Babesia. Development of the Babesia of horses. Proc. 2<sup>nd</sup> International Conference Equine Infectious Diseases, Paris, pp 249-257, 1969.

HOMER M. J.; AGUILAR-DELFIN I.; TELFORD III, S. R., KRAUSE P. J., PERSING D. H., Babesiosis. Clin Microbiol Rev. Jul;13(3):451-69, 2000.

JAIN, N. C. Schalm's Veterinary Hematology. 4th Ed., Philadelphia: Lea & Febiger, 1986.

JAIN, N. C. Essentials of Veterinary Hematology. New York: Saunders, 1993.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 5<sup>th</sup> ed., New York: Academic Press, 1997.

KATZER, F. et al. Phylogenetic analysis of *Theileria* and *Babesia equi* in relation to the

establishment of parasitic populations within novel host species and the development of diagnostic tests. *Mol. Biochem. Parasitol.* Amsterdam, v. 95, n.1, p. 33-44, 1998.

KERBER, C. E.; FERREIRA, F.; PEREIRA, M. C. Control of equine piroplasmiasis in Brazil. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, v. 66. p. 123-127, 1999.

KNOWLES, D. P.; HOURRIGAN, J. L.; HOLBROOK, A. A. Equine piroplasmiasis. *Equine Practice*, v. 2, p. 10-14, 1980.

KNOWLES, D. P.; KAPPMAYER, L. S.; PERRYMAN, L. E. Genetic and biochemical analysis of erythrocyte-stage surface antigens belonging to a family of highly conserved proteins of *Babesia equi* and *Theileria* species. *Molecular and Biochemical Parasitology*, Amsterdam, v. 90, n. 1, p. 69-79, 1997.

KNOWLES, D. P. Control of *Babesia equi* parasitemia. *Parasitology Today*, v. 12, p. 195-198, 1996.

KUMAR, S.; MALHOTRA, D. V.; DAHR, S. Serodiagnosis of *Babesia equi* infection – a comparison of Dot-ELISA, complement fixation test and capillary tube agglutination test. *Veterinary Parasitology*, v. 69, p. 171-176, 1997.

KUTTLER, K.L. World-wide impact of babesiosis, p.1-22. In: RISTIC, M. *Babesiosis of Domestic Animals and Man*. Boca Raton: CRC Press, 1988.

LARANJEIRA, P. V. E. H. Prevalência de *Babesia equi* (Laveran, 1901) em equídeos em regiões mesográficas do Estado do Rio de Janeiro. Tese (Mestrado em Ciências Veterinárias – Parasitologia Veterinária) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica - RJ, 55 p, 2003.

LAVERAN, A. Contribution a l'étude du *Piroplasma equi*. *Recall Medicine Veterinary*, v. 8, 380 p., 1901.

LINHARES, G. F. L. Aspectos biológicos e epidemiológicos das babesioses de equídeos, com ênfase a microrregião de Goiânia, Goiás, Brasil. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária - Parasitologia Veterinária), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 1994, 120 p.

LINHAREZ, F. F. M. *Babesia caballi* (Nuttall & Strickland, 1912): Patogenia, transmissão e alterações hemocitárias no carrapato *Anocentor nitens* (Neumann, 1897), vetor biológico nas Américas. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias – Sanidade Animal) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 80 p, 2002.

MEHLHORN, H.; SCHEIN, E. Redescription of *Babesia equi* Laveran, 1901 as *Theileria equi* Mehlhorn, Schein 1998. *Parasitology Research*. v. 84, p. 467–475, 1998.

MEHLHORN, H.; SCHEIN, E. The piroplasms: life cycle and sexual stages. *Adv. Parasitol.*, 23:37-103, 1984.

MOLTMANN, U. G.; MEHLHORN, H.; SCHEIN, E.; REHBEIN, G.; VOIGT, W.; ZWEYGARTH, E. Fine structure of *Babesia equi* (LAVÉLAN, 1901) within lymphocytes and erythrocytes of horses: an in vivo and in vitro study. *Journal of Parasitology*, v. 69, n. 1, p. 111-120, 1983.

MORRIS, D. D. Doenças do Sistema Hemolinfático In: REED, S. M.; BAYLY, W. M. *Medicina Interna Equina*, Guanabara Koogan, p. 481-518, 2000.

NEITZ, W. O. Classification, transmission and biology of piroplasms of domestic animals. *Ann. New York Acad. Sci.* v.64, p. 56-111, 1956.

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, 1912.

PARREIRAS, P. H.; FIGUEIREDO, A. S. Nuttalliose dos equídeos em Minas Gerais. *Ver. Veterinária e Zootecnia.*, Rio de Janeiro, 4 (1): 3, 1914.

PEREIRA, C. L. Introdução à Epidemiologia Veterinária. Disponível na internet no site: [http://www. Teledata.mz/uevdinap/epidem.html](http://www.Teledata.mz/uevdinap/epidem.html). Acessado em 18 de agosto de 2006.

PEIRCE, M. A. *Nuttallia franca* 1909 (Babesiidae) preoccupied by *Nuttallia* dall 1889 (Psammobiidae): a reappraisal of the taxonomic position of the avian piroplasm. *International Journal for Parasitology*, Oxford, v. 5, p. 285-289, 1975.

PFEIFER BARBOSA, I. B.; MOLNÁR, L. E.; TAVARES DIAS, H. L. Determination of the serological prevalence of equine babesioses by IFA Test in the state of Pará, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 9, n. 1, p. 7-10, 2000.

PFEIFER BARBOSA, I.; BOSE, R.; PEYMANN, B.; FRIEDHOFF, K. T. Epidemiological aspects of equine babesioses in a herd of horses in Brazil. *Veterinary parasitology*, v. 58, p. 01-08, 1995.

PFEIFER BARBOSA, I.; FRIEDHOFF, K. T.; MASSARD, C. L.; LINHARES, G. F. C. Diagnosis of natural infection with *Babesia caballi* (Nuttall & Strickland, 1912) in horses and *Anocentor nitens* (Neumann, 1897) in Itaguaí, Rio de Janeiro, Brazil. *Arquivos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – Ciências da Vida, Seropédica*, v. 15, p. 105-107, 1992.

RIBEIRO, M. F. B., COSTA, J. O., GUIMARAES, A. M. Epidemiological aspects of *Babesia equi* in horses in Minas Gerais. *Brazil Vet. Res. Commun.* n. 2, p. 385–390, 1999.

RISTIC, M. Equine babesioses and trypanosomiasis. In: *International Symposium Equine Haematological*, Michigan State University, 1985.

RISTIC, M. Protozoal Diseases: Babesiosis. In: *Equine Medicine and Surgery*. American Veterinary Publications, Inc. Illinois, p. 137-144, 1972.

RUDOLPH, W.; CORREA, J.; ZURITA, L.; MANLEY, W. Equine piroplasmosis: leukocytic response to *Babesia equi* (Laveran, 1901) infection in Chile. *British Veterinary Journal*, v. 131, p.

601-609, 1975.

RUDOLPH, W. Piroplasmosis en cabalos 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, CRC Press, p. 197-208, 1988.

SCHEIN, E.; REHBEIN, G.; VOIGT, W. T.; ZWEYGARTH, E. *Babesia equi* (LAVÉLAN, 1901). I. Development in horses and lymphocyte culture. Tropenmedizin und Parasitologie, v. 32, p. 223-227, 1981.

SIMPSON, C. F.; BILD, C. E.; STOLIKER, H. E. Electron microscopy of canine and equine *Babesia*, American Journal Veterinary Research, v. 24, n. 100, p. 408 – 414, 1963.

SILVA, G. V. O. Caracterização de uma área enzoótica peri-urbana no Estado do Rio de Janeiro com a avaliação de aspectos hematológicos e bioquímicos séricos e revisão de literatura sobre babesiose equina no continente americano. Tese (Mestrado em Ciências Veterinárias – Parasitologia Veterinária) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica - RJ, 49 p, 2002.

SIMPSON, C. F.; KIRKHAM, W. W.; KLING, J. M. Comparative morphologic features of *Babesia caballi* and *Babesia equi*, American Journal Veterinary Science. v. 28, p. 1693 – 1697, 1967.

TATEZAWA, E. Piroplasmosis of imported ponies. Japanese Medicine Veterinary Journal. Tokyo, v. 54, p. 712-715, 1979.

TENTER, A. M.; FRIEDHOFF, K. T. Serodiagnosis of experimental and natural *Babesia equi* and *Babesia caballi* infections. Veterinary Parasitology, Amsterdam, v. 20, p. 49-61, 1986.

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

UETI, M. W.; PALMER, G. H.; KAPPEMEYER, L. S.; STATDFIELD, M.; SCOLES, G. A.; KNOWLES, D. P. Ability of the tick *Boophilus microplus* to acquire and transmit *Babesia equi* following feeding on chronically infected horses with low-level parasitemia. Journal Clin Microbiology. v. 43, n. 8, p 3755-3759, 2005.

VIAL, H. J.; GORENFLOT, A. Chemotherapy against babesiosis. Veterinary Parasitology, v. 138, p. 147-160, 2006.

XUAN, X.; CHAHAN, B.; HUANG, X.; YOKOYAMA, N.; MAKALA, L.H.; IGARASHI, I.; FUJISAKI, K.; MARUYAMA, S.; SAKAI, T.; MIKAMI, T. Diagnosis of equine piroplasmosis in Xinjiang province of China by the enzyme-linked immunosorbent assays using recombinant antigens. Veterinary Parasitology, v.108, n.2, p.179-182, 2002.

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

YOUNG, A. S. Epidemiology of babesiosis. In: RISTIC, M. *Babesiosis of domestic animals and man*. Boca Raton, CRC Press, p. 197-208, 1988.