

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
VETERINÁRIAS

TESE

Aspectos Epidemiológicos da Babesiose Equina na Região
Norte do Estado do Rio Grande do Sul

Anselmo Afonso Golynski

2007



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

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DA BABESIOSE EQUINA NA
REGIÃO NORTE DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL**

ANSELMO AFONSO GOLYNSKI

Sob a orientação do Professor

Carlos Luiz Massard

e Co-orientação do Professor

Laerte Grisi

Jairo Dias Barreira

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências** no Curso de Pós Graduação em Ciências Veterinárias, Área de Concentração em Parasitologia Veterinária.

Seropédica, RJ
Fevereiro de 2007

636.10896936

G626a

T

Golynski, Anselmo Afonso, 1974-
Aspectos epidemiológicos da
babesiose eqüina na Região norte
do Estado do Rio Grande do Sul/
Anselmo Afonso Golynski. - 2007.
37f. : il.

Orientador: Carlos Luiz
Massard.

Tese (doutorado) -
Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro, Instituto de
Veterinária.

Bibliografia: f. 25-30.

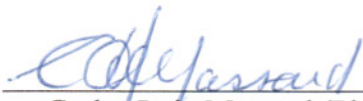
1. Eqüino - Doenças - Rio
Grande do Sul - Teses. 2.
Babesiose em cavalo -
Epidemiologia - Teses. 3.
Babesiose em cavalo - Teses. I.
Massard, Carlos Luiz, 1948-. II.
Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro. Instituto de
Veterinária. III. Título.

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


ANSELMO AFONSO GOLYSKI

Tese submetida ao como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de Concentração em Parasitologia Veterinária.

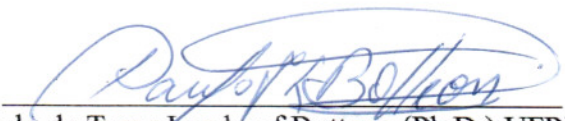
TESE APROVADA EM 27/02/2007.



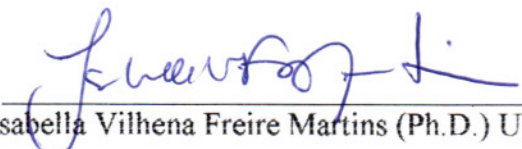
Carlos Luiz Massard (Ph.D.) UFRRJ
(Orientador)



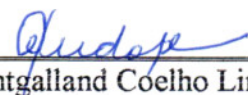
Laerte Grisi (Ph.D.) UFRRJ



Paulo de Tarso Landgraf Botteon (Ph.D.) UFRRJ



Isabella Vilhena Freire Martins (Ph.D.) UFES



Guido Fontgalland Coelho Linhares (PhD.) UFG

*Dedico a minha filha Amanda e a minha
esposa Kátia, a atual razão da minha vida.
A minha Mãe Regina aos meus irmãos e irmãs
Ao meu orientador pelo apoio dado em todas
as horas e aos meus amigos pelo
companheirismo*

(IN MEMORIAN)

A meu pai Afonso por abrir as portas para o meu futuro, iluminando o meu caminho com a luz mais brilhante que pode encontrar: O ESTUDO

AGRADECIMENTOS

Ao professor e orientador CARLOS LUIZ MASSARD, pela orientação, amizade ensinamentos e confiança durante a realização deste trabalho.

Ao professor e amigo ALENCAR VICENTE BARBINOTTO E ELIETI BARBINOTTO pela agradável convivência, amizade e pela dedicação e carinho concedidos a toda minha família, durante toda a realização deste trabalho.

Aos professores LAERTE GRISI, JAIRO DIAS BARREIRA, PAULO BOTTEON e FERNANDO QUEIROZ DE ALMEIDA, pela co-orientação e auxílio durante todo o curso.

A minha esposa KÁTIA ROBERTA FERNANDES pela colaboração, amizade, compreensão e pelo incentivo que foi dedicado no decorrer deste trabalho.

A Doutora CRISTIANE BALDANI e a professora ROSÂNGELA MACHADO pelo apoio, incentivo e amizade.

As amigas, FRANZISKA HUBER, CARINA ELISEI DE OLIVEIRA, PAULA EVANS HUSSEL, MARIA FORLANO, CLARISSA PIMENTEL DE SOUZA, RAQUEL MELO, THAÍS R. CORREIA, ISABELI SILVA, NATHALIE CUNHA e RENATA MADUREIRA pela amizade, estímulo e pelo prestimoso auxílio e contribuição durante toda a realização deste trabalho.

Aos amigos, JARDEL SERPA, LÍRIO MORAES, AFRÂNIO SILVA MADEIRO, GIL VICENTE, MARCOS FRANQUE e THIAGO BAHIENSE, pela amizade e apoio.

Aos meus irmãos em especial JANETE GOLYNSKI, AUDÉRICO GOLYNSKI WAGNER GOLYNSKI e ALEX GOLYNSKI, pela agradável convivência, amizade e pela dedicação e carinho concedidos a Amanda, durante toda a realização deste trabalho.

Aos funcionários da Estação para Pesquisas Parasitológicas W. O. Neitz;

Aos professores do curso de pós-graduação em Parasitologia Veterinária, pelos ensinamentos;

Ao CNPq, pelo auxílio financeiro;

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

Anselmo Afonso Golynski, filho de Afonso Golynski e Regina Wrzesinski, nasceu no dia cinco de janeiro de 1974, no Município de Erechim, Rio Grande do Sul. Coursou o ensino fundamental no Colégio Estadual Princesa Isabel e o ensino médio na Escola Agrotécnica Federal de Concórdia, no Município de Concórdia no Estado de Santa Catarina.

Em março de 1997, ingressou no curso de Ciências Agrícolas da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, graduando-se em abril de 2001.

Durante a graduação foi estagiário do SINTEEG na área de Parasitologia Veterinária no período de setembro de 1999 a março de 2001, sob a orientação do Professor Laerte Grisi onde participou de projetos de pesquisa.

Em março de 2001 ingressou no curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias – Área de concentração Parasitologia Veterinária, nível mestrado, do Departamento de Parasitologia Animal do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, como bolsista da CAPES. Em 27 de fevereiro de 2003 defendeu sua dissertação de mestrado intitulada “Controle de Helmintos de Frangos de Corte Utilizando as Plantas *Mentha piperita*, *Carapa guianensis*, *Artemisia absinthium* e *Chenopodium ambrosioides*”.

Em março de 2003 ingressou no curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias – Área de concentração Parasitologia Veterinária, nível Doutorado nesta mesma Universidade, como bolsista do CNPq.

RESUMO

GOLYNSKI, Anselmo Afonso. **Aspectos epidemiológicos da Babesiose equina na Região Norte do Estado do Rio Grande do Sul.** 2007. 37p Tese (Doutorado em Parasitologia Veterinária, Ciências Veterinárias). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2007.

O trabalho teve por objetivo determinar a prevalência da *Babesia equi* e *B. caballi* em eqüinos da região Norte do Estado do Rio Grande do Sul bem como conhecer as práticas de manejo adotadas e identificar os principais fatores que estão envolvidos na sua transmissão e prevalência. Coletaram-se 380 amostras de sangue, número estatisticamente representativo para a população de eqüinos em estudo, as quais foram analisadas por meio do teste de ELISA e pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e para a *B. caballi* foi utilizado o Elisa competitivo. Do total das amostras, 31,6% e 35,8% foram positivas para *B. equi* ao teste de ELISA e RIFI respectivamente, sendo que, a prevalência de *B. caballi* foi de apenas 0,86%. A concordância entre os testes foi considerada ótima, através do índice Kappa de 0,87. Não foi constatada nenhuma diferença significativa estatisticamente ($p < 0,05$) entre o sexo, raças e faixas etárias dos eqüinos. De acordo com o presente estudo a região Norte do Estado do Rio Grande do Sul é, portanto caracterizada como uma área de instabilidade enzoótica para *B. equi* e *B. caballi* oferecendo riscos reais de ocorrência e perdas econômicas causadas por surtos de babesiose causada por *B. equi* e *B. caballi* especialmente em animais sensíveis, procedentes de áreas indenes, comércio de animais, participação em eventos (esportivos ou recreativos dentro ou fora da Região ou Estado) ou mesmo entre animais nascidos naquela região. Após a análise dos questionários, os sistemas e as finalidades da criação foram os únicos fatores que influenciaram na prevalência das babesioses equinas.

Palavras-chave: Babesiose eqüina, prevalência, epidemiologia.

ABSTRACT

GOLYNSKI, Anselmo Afonso. **Aspects epidemiologic of equine babesiosis from the northern region of the state of Rio Grande do Sul.** 2007. 37p. Thesis (Doctor in Sciences, Veterinary Parasitology) Institute in Veterinary, Animal Parasitology Department, University Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2007.

The present study aimed to determine the prevalence of *Babesia equi* and *B. caballi* in horses from the northern region of the State of Rio Grande do Sul, examining the maintenance practices and identifying the principal factors involved in transmission and infection rates. There were collected 380 blood samples and tested with ELISA and Indirect immunofluorescence (RIFI) for *B. equi* and for *B. caballi* was used competitive ELISA. The sample number was statistically representative for the equine population of the state. Testing positive for *B. equi* by ELISA and RIFI were 31,6% and 35,8%, respectively, of the samples examined. The prevalence of *B. caballi* was 0,86%. The concordance between tests was considered high as shown by the Kappa index of 0,86%. There was not observed a statistically significant difference ($p < 0,05$) between the sex, age and breed of the horses. According to the present study the northern region of the state of Rio Grande do Sul can be characterized as an area of enzootic instability for *B. equi* and *B. caballi*, offering risks of economic losses due to babesiosis outbreaks, especially in sensible animals introduced from indene areas, horse trade and participating in events (as rodeos, auction sales, and others) or even in animals born in the region. Analyzing the questionnaires, the maintaining systems and the purposes of the equine use were the factors that had influence on the prevalence of equine babesiosis.

Key Words: *Babesia equi*, *B. caballi*, prevalence, epidemiology.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1 Histórico dos Agentes Etiológicos de Babesioses em Equinos	2
2.2 Posição Taxonômica	2
2.3 Vetores das Babesioses Equinas no Mundo	3
2.4 Sinais Clínicos e Patologia Clínica das Babesioses Equinas	4
2.5 Prevalência das Babesioses Equinas no Mundo	5
2.5.1 Prevalência nos continentes asiático, africano e europeu	5
2.5.2 Prevalência nas Américas do Norte e Central	5
2.5.3 Prevalência na América do Sul	5
2.5.4 Prevalência no Brasil	6
3 MATERIAL E MÉTODOS	8
3.1 Local do Estudo	8
3.2 Origem do Material, Seleção e Tamanho da Amostra	8
3.3 Questionários	8
3.4 Coleta e Manutenção das Amostras	8
3.5 Teste Sorológico Reação de Imunofluorescência Indireta RIFI	9
3.5.1 Preparação do antígeno	9
3.5.2 Descrição da reação de RIFI	9
3.5.3 Teste do Elisa indireto	10
3.5.4 Preparo do antígeno solúvel	10
3.5.5 Dose de reatividade ótima de antígeno, soro e conjugado	10
3.5.6 Descrição da reação	10
3.5.7 Tratamento dos dados	11
3.5.8 Elisa competitivo	11
3.5.9 Etapas do Elisa competitivo	11
3.5.10 Análise	12
3.6 Análise dos Dados	12
3.6.1 Formação do banco dos dados	12
3.6.2 Caracterização de variáveis	12
3.6.3 Análise epidemiológica	12
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	13
4.1 Prevalência de <i>Babesia equi</i> na Região Norte do Rio Grande do Sul	13
4.2 Prevalência de <i>Babesia caballi</i> na região Norte do Rio Grande do Sul	
4.3 Sistemas de Criação, Práticas de Manejo e Controles Adotadas	22
4.4 Caracterização das Propriedades e Práticas de Controle	25
4.4.1 Caracterização dos entrevistados	25
4.4.2 Administração da propriedade	25
4.4.3 Assistência técnica nas propriedades	26
4.4.4 Animais nascidos na propriedade	27
4.4.5 Importância das parasitoses	27
4.4.6 Tipo de alimentação dos animais	28
4.4.7 Práticas de manejo e controle adotadas	29

4.5 Prevalência de <i>Babesia caballi</i> na região Norte do Rio Grande do Sul.....	30
5 CONCLUSÕES	32
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
7 ANEXOS	42

1 INTRODUÇÃO

A babesiose equina causada por *Babesia equi* ou *Babesia caballi* tem um papel de destaque entre as diversas sanidades que acometem os equídeos. É uma doença cosmopolita, emergente nos países subtropicais, e presente em áreas que abrigam 90% da população eqüina mundial (FRIEDHOFF *et al.*, 1990). É também considerada atualmente, como o principal impedimento para o trânsito internacional de eqüinos, em virtude, dos animais portadores oferecerem um risco de transmissão para uma população livre da piroplasmose. Estas restrições atingem também o Brasil, por apresentar áreas consideradas endêmicas para estas hemoparasitoses, geram limitações aos programas de melhoramento genético e difusão de novas raças. Somente eqüinos sorologicamente negativos para *B. equi* e *B. caballi* podem entrar em áreas livres (WEILAND, 1986).

A população de eqüinos no Brasil é de aproximadamente seis milhões de animais. Estima-se que cerca de quatrocentos mil animais se encontram no Rio Grande do Sul, sendo explorados, para diversas finalidades como tração, esportes, rodeios, lazer, produção de carne indústria de alimentos, consumo direto, exportação, atividades militares, produção de imunobiológicos e mais recentemente para auxílios em atividades de fisioterapia na medicina humana. Qualquer que seja a finalidade, as enfermidades inerentes a essa espécie animal representam um grande problema, podendo prejudicar o rendimento físico, esportivo reduzindo seu desempenho e em alguns casos incapacitá-los ou impedir sua comercialização, podendo até indicar o seu sacrifício.

Nenhum estudo até o momento foi realizado na região Norte do Estado do Rio Grande do Sul para estimar a prevalência da *B. equi* e *B. caballi* assim como, para analisar fatores que podem facilitar a transmissão das babesioses eqüinas.

Neste sentido, desenvolveu-se o presente estudo com objetivo de determinar a prevalência da *B. equi* e *B. caballi* em eqüinos da região Norte do Estado do Rio Grande do Sul bem como conhecer as práticas de manejo adotadas e identificar os principais fatores que estão envolvidos na sua transmissão e prevalência.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Histórico dos Agentes Etiológicos de Babesioses em Equínos

O gênero *Babesia* (Starcovici 1893), foi primeiramente reconhecido por Babes (1888), quando ele procurava determinar a causa de uma doença grave em bovinos no delta do rio Danúbio, na Romênia. O autor chegou à conclusão que o agente etiológico que estava provocando a enfermidade denominada de hemoglobulinúria enzoótica, era um pequeno organismo cocóide, intraeritrocítico, por ele denominado de *Haematococcus bovis*. Em 1893, Starcovici, um dos pesquisadores do grupo de Babes, reavaliou o parasito denominando-o de *Babesia bovis* em homenagem a seu descobridor.

A piroplasmose eqüina foi descrita primeiramente por Theiler (1901), trabalhando com *B. equi*. Laveran (1901) foi o primeiro pesquisador a descrever a natureza intraeritrocítica do agente causal da babesiose eqüina ao examinar esfregaços de sangue periférico de eqüinos da África do Sul, designando-o de *Piroplasma equi*. Posteriormente, Nuttal; Strickland (1910) demonstraram a existência de uma outra espécie de parasito, morfológicamente distinto daquele anteriormente descrito e também causador da piroplasmose eqüina, denominando-o de *Piroplasma caballi*.

Nuttal; Strickland (1910), citados por Pierce (1975) propuseram a designação de *Nuttalia equi* para o protozoário descrito com *P. equi* em função das características morfológicas do parasito serem diferentes das demais espécies do gênero *Piroplasma*, até então conhecidas.

2.2 Posição Taxonômica

A classificação taxonômica de *B. equi* dentro da família *Babesiidae* é discutida há muitos anos, dado a similaridade desse parasito com o gênero *Theileria*; destacando-se a transmissão estágio a estágio pelo carrapato (FRIEDHOFF, 1988); o desenvolvimento em linfócitos antes do ciclo eritrocítico (SCHEIN et al., 1981; MOLTMANN et al., 1983) e o aparecimento de formas intraeritrocíticas em “Cruz de Malta”, como resultado da divisão múltipla do parasito (SCHEIN, 1988).

Estudos ultraestruturais evidenciaram a presença de citóstoma e de uma estrutura alimentar tubular em trofozoítos de *B. equi* (SIMPSON et al., 1967; FRERICHS, HOLBROOK, 1974; SIMPSON, NEAL, 1980), estruturas estas envolvidas no mecanismo de alimentação, muito similares àquelas observadas em parasitos do gênero *Theileria* (CONRAD et al., 1985; FAWCETT et al., 1987).

Estudos de sensibilidade a drogas têm demonstrado que esquizontes exoeritrocíticos de *B. equi* são altamente susceptíveis a drogas esquizonticidas usadas no tratamento de theileriose bovina, tais como buparvacina, que em associação ao imidocarb podem eliminar o parasita (KUTTLER, 1988; ZAUGG; LANE, 1989).

Proteínas de superfície de estágios eritrocíticos de *B. equi* e *Theileria* spp apresentam pesos moleculares similares com 33% a 58% de aminoácidos idênticos (KAPPMEYER et al., 1993). Entretanto, análises comparativas realizadas por meio de técnicas de biologia molecular, indicam que a *B. equi* deve ser caracterizada como um grupo distinto (ALLSOPP et al., 1994), principalmente porque estudos filogenéticos, realizados a partir da avaliação da sequência de RNA ribossomal, demonstraram que este parasito encontra-se num grupo filogenético distante de qualquer espécie do gênero *Theileria* (CRIADO-FORNELIO et al.,

2003) sugerem, com base na análise de diversos modelos de árvores filogenéticas, que *B. equi* e *Cytauxozoon felis* seriam ancestrais de *Theileria* spp. e que esses parasitos estariam situados relativamente distantes de *B. rodhaini*. Assim a criação de uma nova família, como proposto por Allsopp et al. (1994) só faria sentido se essa compreendesse apenas esses dois parasitos.

Estes estudos apontam fortes evidências de que ainda existe certa discussão com relação a taxonomia da *B. equi*. Alguns autores propõem a transferência desse parasito para o gênero *Theileria* (SCHEIN et al., 1981; MOLTMANN et al., 1983; ZAPF; SCHEIN, 1994b, MELHORN; SCHEIN, 1998), enquanto outros propõem a criação de uma nova família (ALLSOPP et al., 1994). Entretanto, até que uma nova classificação seja adotada internacionalmente a denominação *B. equi* (LAVERAN, 1901) será utilizada neste estudo, segundo a classificação proposta por Levine (1988):

Filo: Apicomplexa
Classe: Aconoidasida
Ordem: Piroplasmorida
Família: Babesiidae
Gênero: *Babesia*

2.3 Vetores das Babesioses Eqüinas no Mundo

Enigk (1943, 1944) In Soulsby (1987) revisou as espécies de ixodídeos que são incriminados pela transmissão de *B. equi*, a saber: *Dermacentor reticulatus* (Europa), *Hyalomma excavatum* e *H. plumia* (Grécia e Ásia Central), *H. dromedarii* (Norte da África), *Rhipicephalus bursa* e *R. turanicus* (Antiga União das Repúblicas Socialistas Soviética), *R. evertsi* (África do Sul), *R. sanguineus* (LATREILLE, 1806) (Ásia Central e África do Norte). O mesmo autor sugere que as espécies *B. equi* e *B. caballi*, são antagonicas e que a *B. equi* apresenta-se mais freqüente, minimizando a ocorrência de *B. caballi*. Trabalhos recentes desenvolvidos na Mongólia por Battsetseg et al. (2001) demonstraram através de estudos biomoleculares no hospedeiro intermediário *D. nuttalli*, a ocorrência de 10 e 12,9% de *B. equi* e *B. caballi*, nos ixodídeos estudados.

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

O vetor de *B. equi*, ainda é desconhecido na França, suspeitando-se ser o *R. bursa* (MOREL, 1981).

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

Dentre as espécies que acometem eqüídeos no Brasil, de modo geral, as principais são: *Anocentor nitens* e *Amblyomma cajennense*, porém demonstraram-se incapazes de transmitir a espécie *B. equi* experimentalmente (DENNING, 1988; BARBOSA, 1993; BARBOSA et al., 1995).

Trabalhos recentes reportam a infecção experimental de *B. equi* por *B. microplus* através da microscopia eletrônica de transmissão, que *B. equi* é capaz de se multiplicar em glândulas salivares de *B. microplus* na fase adulta. Este fato sugere o *B. microplus* como possível transmissor natural da *B. equi* principalmente em locais onde se observa que não existe nenhuma outra espécie de vetor possível, concomitantemente, constitua a única espécie ou a espécie predominante encontrada em eqüídeos (CUNHA, 1993; GUIMARÃES et al., 1998ab), justificando sua presença em partes da América Latina, dentre as quais o Brasil.

2.4 Sinais Clínicos e Patologia Clínica das Babesioses Eqüinas

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

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

As enfermidades causadas por *B. equi* ou *B. caballi*, apresentam algumas sintomas semelhantes, que podem ocorrer em maior ou menor grau de intensidade, dependendo do parasitismo e da resistência individual do hospedeiro (SOULE et al., 1984), vale ressaltar, que eqüinos adultos, importados de áreas endêmicas e introduzidos em regiões endêmicas, são consideravelmente mais susceptíveis ao desenvolvimento de um quadro mais severo da doença (SIPPEL et al., 1962). Estudos recentes desenvolvidos por Mujica (2002), no Estado do Rio de Janeiro-Brasil, demonstraram um quadro clínico de infecção aguda, por *B. caballi*, em eqüino sensível destacando a presença de anemia, icterícia, balanopostite e fezes com secreção do tipo mucoíde.

Em infecções agudas por *B. equi* no hemograma demonstra na série vermelha, anemia do tipo microcítica hipocrômica ou anemia normocítica normocrômica (SCHEIN, 1988). Em 53 casos agudos a campo no Chile, observou-se anemia normocítica normocrômica (RUDOLPH, 1971). Na série branca geralmente observa-se neutropenia, linfopenia, eosinopenia e aumento significativo do número de monócitos (RUDOLPH et al., 1975), além de decréscimo do fibrinogênio e elevadas concentrações de bilirrubina plasmática (RISTIC, 1985). Em algumas localidades, os casos clínicos de *B. caballi* são clinicamente inaparentes e raramente responsáveis por anemias severas entre outros sintomas (DE WAAL, 1992). A parasitemia, raramente excede a 1% em infecções por *B. caballi* e geralmente em infecções por *B. equi* se encontram na faixa de 1 a 7%, mas podem chegar a 80% (FRIEDHOFF et al., 1990).

2.5 Prevalência das Babesioses Eqüinas no Mundo

2.5.1 Prevalência nos continentes asiático, africano e europeu

As espécies que provocam as babesioses eqüinas são de ampla distribuição mundial, sendo consideradas limitantes quanto a pecuária eqüina bem com no desenvolvimento genético de raças nativas. De acordo com estudos soroepidemiológicos, tem sido observada alta prevalência de *B. equi* e *B. caballi* na população de eqüinos e zebras na África (YOUNG; PURNELL, 1973; DE WALL et al., 1988; FRIEDHOFF et al., 1990).

Na Europa, *B. equi* e *B. caballi* já foram descritas na França, Bélgica, Espanha e Itália (CORDEIRO del CAMPILLO et al., 1974; CAMACHO et al., 2005). No entanto, Alemanha, Áustria, Suíça e a Grã-Bretanha, são consideradas regiões livres (FRIEDHOFF et al., 1990).

Nos países asiáticos, *B. equi* e *B. caballi* têm sido registradas de forma enzoótica, principalmente na China e Coreia, com exceção da região da Sibéria, onde estes protozoários não foram observados. No Japão Ikadai et al. (2002), ao analisarem 2019 soros de eqüinos coletados entre 1971-1973, detectaram positividade de 2,2% para *B. equi* e 5,4% para *B. caballi* pelo ensaio imunoenzimático (ELISA). Na China Xuan et al. (2002) testaram 70 soros de eqüinos provenientes da província de Xinjiang e observaram 40% (n=28) de positivos para *B. equi* e 24,3% (n=17) para *B. caballi*.

Na Mongólia, vários estudos soroepidemiológicos foram realizados com intuito de caracterizar a ocorrência da babesiose eqüina Avarzed et al. (1997) através da reação de imunofluorescência indireta (RIFI), observaram prevalência de 84,5% de animais positivos para *B. caballi* e 88,2% para *B. equi*. Ikadai et al., (2000), nesta mesma área encontraram 46,4% (n=97) de eqüinos soropositivos para *B. caballi*. Xuan et al. (2001) diagnosticaram 90% (n=36) e 30% (n=12) das amostras de soros de eqüinos positivos para *B. equi* pela aglutinação em látex e cultivo *in vitro*, respectivamente. Prevalências semelhantes foram relatadas por Boldbaatar et al. (2005) ao analisarem soros de 254 eqüinos, observaram que 185 (72,8%) e 102 (40,1%) das amostras analisadas eram positivas para *B. equi* e *B. caballi*, respectivamente, sendo que 30,7% (n= 78) dos soros eram positivos para ambas infecções.

2.5.2 Prevalência nas Américas do Norte e Central

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

2.5.3 Prevalência na América do Sul

No Chile e na Argentina no período de 1970 a 1972, cavalos de corrida e de salto foram vendidos para os EUA, sendo rejeitados na estação de quarentena de Miami e devolvidos aos países de origem, à custa de seus proprietários. Este fato causou grande impacto no comércio internacional de cavalos, por serem os animais portadores assintomáticos de *Babesia* sp. Inquéritos epidemiológicos posteriores, demonstraram que havia animais portadores assintomáticos nesses países sul-americanos. A espécie de carrapato mais encontrada parasitando cavalos no Chile foi o *Otobius megnini* (DUGÉS, 1883 *Apud* PEREIRA, 1999), mas não foi comprovado ser esta espécie a veiculadora de *Babesia* sp. aos eqüinos chilenos (RUDOLPH, 1971).

Exames sorológicos em haras de criação e "studs" na Província de Santiago no Chile revelaram que de um total de 24 haras, foram selecionados 18 correspondentes àqueles que tinham mais 10 animais por plantel. A população foi de 912 animais, dos quais 605 eram

adultos (com seis a 19 anos) e 307 eram potros (com menos de um ano). Por limitação quantitativa de antígeno para o teste TFC, foram escolhidos 118 adultos e 62 potros, num total de 180 animais, que correspondem a 20% da população. 30% dos cavalos adultos e 22,6% dos potros mostraram a variação de decréscimo de títulos de anticorpos ao TFC, contra os antígenos de *B. equi* e *B. caballi* no decorrer da idade. Num total 50 animais foram soropositivos, sendo 96% para *B. equi*, 2% para *B. caballi* e 2% para ambas as espécies. (URCELAY et al., 1973).

Um estudo da prevalência da Babesioses em eqüinos da raça Crioulo, da província de Córdoba na Colômbia, mostrou que de 82 soros de eqüinos pertencentes a 13 fazendas, situadas na região nordeste da Colômbia, testados pelo TFC e pela Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), ambas as *Babesia* foram encontradas em todas as fazendas. O TFC detectou anticorpos para *B. caballi* em 41% e para *B. equi* em 65% animais. A RIFI indicou a prevalência de 90% para *B. caballi* e 94% para *B. equi* prevalência de animais soros-reagentes em diferentes grupos de idade, revelou um significativo declínio, de anticorpos para *B. caballi* ao TFC em animais acima de três anos de idade. Os títulos do TFC para ambas as babesias declinaram gradualmente com o aumento da idade dos animais para *B. caballi*, mas ainda presente em animais com idade superior a nove anos para *B. equi*. Os carrapatos encontrados foram: *A. nitens*, em todas as fazendas e *A. cajennense* em apenas duas fazendas (TENTER et al., 1988).

2.5.4 Prevalência no Brasil

No Brasil, a babesiose eqüina por *B. equi* foi descrita pela primeira vez por Carini (1910) através do diagnóstico clínico e laboratorial em animais originados do Estado de São Paulo. Esta mesma espécie de protozoário foi diagnosticada em animais de corrida com quadro agudo de babesiose (GUIMARÃES et al., 1950).

As babesioses são relativamente freqüentes, sendo a maioria quase sempre causada pela *B. equi* (HIPÓLITO et al., 1965; BARBOSA et al., 1993, 1995; LINHARES, 1994; BITTENCOURT et al., 1997).

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

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

No Estado do Rio Grande do Sul, Cunha et al. (1996) observaram a prevalência de infecção por *B. equi* de 57,9%, pela RIFI, na avaliação realizada em 133 animais do Jockey Club de Pelotas e dois haras na zona sul do Rio Grande do Sul, e verificou a presença de *B. microplus* parasitando cavalos.

Linhares (1994), no centro-oeste, na microrregião de Goiânia, registrou prevalências de 94,7% para *B. equi* e 90,8% para *B. caballi*, utilizando-se a RIFI, com base nestes resultados caracterizou a região como área de estabilidade enzoótica, tanto para criações em regime extensivo quanto semi-intensivo.

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

Bittencourt et al. (1997) estudou eqüinos criados em regime extensivo (FAIZ-UFRRJ) e propriedades vizinhas, na Região Fluminense de Itaguaí, RJ, através da TFC, encontrando prevalências de 84,6% para *B. equi* e de 93,6% para *B. caballi*. Dessa forma, concluiu ser uma

área fortemente enzoótica e potencialmente de risco para animais procedentes de áreas livres de carrapatos, vetores biológicos da enfermidade.

Heuchert et al. (1999) realizaram um estudo soropidemiológico para *B. equi* e *B. caballi* em diferentes propriedades no Estado de São Paulo, e observaram uma prevalência para *B. equi* de 49,21% para eqüinos machos e de 36% para potros de seis meses de idade. O estudo evidenciou que em propriedades cujos animais não apresentavam contato direto ou indireto com bovinos, somente 17,5% dos animais eram infectados com *B. equi* e 89,5% com *B. caballi*, e que apenas a espécie *A. nitens* foi observada nestes eqüinos. Entretanto, em propriedades que havia o contato direto e indireto com bovinos, 89,5% dos eqüinos eram infectados por *B. equi* e foi observada a infestação por *B. microplus* nestes animais.

Souza et al. (2000) ao observarem uma prevalência de 50,38% para *B. equi* em eqüinos de diferentes idades, sexo e raças, nascidos e criados no Planalto Catarinense, Santa Catarina.

Botteon (2002) observou a soroprevalência de 89,58%, 87,89% e 45,24%, nos sistemas de produção de eqüinos extensivo, semi-extensivo e confinado.

Estudos desenvolvidos na mesorregião da Baixada Litorânea Fluminense, com avaliação de 49 animais oriundos do Curral de apreensão da Universidade Federal Fluminense, indicou que aquela mesorregião é de estabilidade enzoótica para espécie *B. equi*, com prevalência de 100%, nas amostras analisadas pela RIFI (SILVA, 2002). Laranjeira (2003) determinou a prevalência de *B. equi* em eqüinos apreendidos nas rodovias do Estado do Rio de Janeiro encontrando uma prevalência 93,2%.

Pereira et al. (2004) determinaram a prevalência de *B. equi* e *B. caballi* através do teste Fixação de Complemento em eqüinos da raça Puro Sangue Inglês de pequenos estabelecimentos eqüestres localizados na região e Sul e Sudeste, encontrando 18,1% para a *B. equi*, 1,5% para *B. caballi* e de 6,0% para infecção mista.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local do Estudo

A região Norte do Estado do Rio Grande do Sul abrange 31 municípios e apresenta área territorial de 5.729,9 quilômetros quadrados. Com clima sub-tropical, a região apresenta as quatro estações bem definidas. A temperatura média anual é de 18,7°C. (Máxima 39°C. Mínima -5°C). As chuvas são irregulares, chegando a precipitação pluviométrica a 1.618mm ano. A região está situada a 768m acima do nível do mar, latitude 27°37'54" e longitude 57°16'52".

3.2 Origem do Material, Seleção e Tamanho da Amostra

Os animais estudados pertenciam a propriedades rurais localizadas na região Norte do Rio Grande do Sul. Todas as propriedades foram selecionadas com base nos dados obtidos pelo Órgão Estadual de Inspeção Veterinária do Estado do Rio Grande do Sul, situado no município de Erechim. Os dados obtidos inicialmente foram confirmados em cada propriedade. O número de municípios estudados na presente pesquisa foi estabelecido (n=31) de acordo com as informações do órgão estadual. A partir dessas informações, as propriedades rurais (n=60) foram escolhidas ao acaso, por meio de sorteio e as visitas agendadas pelo Órgão Estadual, presente em todos os municípios da região Norte do Rio Grande do Sul. Estipulou-se que para fazer parte da amostra a propriedade deveria ter no mínimo cinco equinos. Para o cálculo do tamanho da amostra estudada empregou-se a fórmula $n = \frac{p(1-p)(1,96/\Delta)^2}{\Delta^2}$, segundo Sampaio (1998), baseando-se em uma estimativa de prevalência para a *B. equi* de 57% (CUNHA et al., 1996) e admitindo-se um erro de 5%, obtendo-se assim amostragem de 380 animais, que foram selecionados por meio de uma amostra estratificada (Anexo I).

3.3 Questionários

No período de janeiro a abril de 2003, foram realizadas as visitas a 60 propriedades rurais distribuídas em 31 municípios da região. Para a obtenção dos dados referentes a cada propriedade, foi aplicado um questionário aos proprietários ou responsáveis pelos animais, sempre pelo mesmo recenseador (Anexo II). Foram assim registrados dados biológicos e zootécnicos que poderiam estar relacionados com a prevalência da *B. equi* e *B. caballi* na população equina da região como: concentração de animais nas pastagens (UA), manejo dos animais, existência de outras espécies de animais em consórcio com os equinos, finalidade da criação, participação em eventos esportivos e controle de carrapatos.

3.4 Coleta e Manutenção das Amostras

Foram coletados de cada animal, 10 ml de sangue da veia jugular por meio do sistema *vacuntainer* com anti-sepsia local. As amostras foram devidamente identificadas e mantidas refrigeradas a 4°C até a retração do coágulo. Após retração, as amostras de sangue foram centrifugadas a 3000 rpm por 5 minutos para obtenção das amostras de soros, as quais foram transferidas para tubos tipo *ependorfs* (2ml) usando pipeta automática de 200 µL. Todas as amostras foram devidamente identificadas e armazenadas a temperatura de -20°C até o momento do teste sorológico.

Dos animais utilizados para a coleta de sangue, foram coletados exemplares de carrapatos (quando presentes), nas diferentes regiões do corpo, foram acondicionados mantidos em recipientes com álcool 70^o GL devidamente identificados. A identificação das

espécies foi realizada segundo as chaves de classificação taxonômicas de Aragão, Fonseca (1961), com auxílio de um microscópio estereoscópico.

3.5 Teste Sorológico Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI)

3.5.1 Preparação do antígeno

Para realização da reação de imunofluorescência indireta (RIFI) tornou-se necessário a produção do antígeno purificado, sendo utilizado um equino procedente do curral de apreensão da Universidade (UFRRJ), com aproximadamente dois anos de idade, livre de ectoparasitos e negativo sorologicamente para *B. caballi* e portador de *B. equi*. O animal estudado foi mantido em regime de estabulação permanente, em baia de alvenaria medindo aproximadamente 16 metros quadrados, com proteção contra insetos e outros artrópodes e localizada na Estação Pesquisa Parasitológica W.O.NEITZ, do Departamento de Parasitologia Animal do Instituto de Veterinária. A esplenectomia foi realizada no Hospital Veterinário (setor de Grandes Animais) do Instituto de Veterinária. A esplenectomia foi indicada para exacerbação das formas de multiplicação de *B. equi*.

O animal foi acompanhado, diariamente durante o pós-operatório, avaliando-se a frequência cardíaca e respiratória, tempo de preenchimento capilar, coloração de mucosas, temperatura retal, motilidade intestinal, volume globular, hemograma completo, bem como, através de exames por meio de esfregaços sangüíneos, para determinação da parasitemia, por *B. equi*. A partir do quinto dia pós-cirúrgico, foi observado formas circulantes de *B. equi* em esfregaços sangüíneos corados pelo método de Giemsa e quando a parasitemia por atingiu 80%, e os parâmetros clínicos indicavam morte eminente, procedeu-se a colheita de 500 ml de sangue com solução de Alsever na proporção de 1:1.

A preparação do antígeno para RIFI baseou-se no protocolo utilizado por Baldani (2004). 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. 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°C até o momento do uso.

3.5.2 Descrição da reação de RIFI

As lâminas contendo o extrato antigênico foram descongeladas à temperatura ambiente, em seguida marcada com 14-16 pequenos círculos com esmalte de coloração vermelha. Em cada cavidade foram colocados 10 μL das diluições sucessivas de 1:40 até 1:2560 de cada soro teste, sempre partindo-se da mais diluída para a mais concentrada. As lâminas foram incubadas em câmara úmida a 37°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 μL de anti-IgG de equino conjugado ao isotiocianato de fluoresceína (KPL cat n^o 02-21-06), diluído em 1:100 em solução de PBS, contendo azul de Evans 1mg%. Após a adição do conjugado as lâminas foram incubadas conforme descrito acima e submetido 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, e posteriormente foram observadas em microscópio equipado para fluorescência (Olympus BX- 51). Foram consideradas positivas as reações fluorescentes em soros com diluição $\geq 1:40$.

3.5.3 Teste de Elisa indireto

O teste ELISA foi realizado no laboratório do Departamento de Patologia Animal, FCAV-UNESP/Jaboticabal-SP, conforme protocolo proposto por Baldani et al. (2004).

3.5.4 Preparo do antígeno solúvel

Após a obtenção de sangue altamente parasitado, conforme descrito no item 4.3.1.1, o sangue foi diluído 1:4, em solução salina 0,85%, e os eritrócitos infectados submetidos à lise com solução tris-cloreto de amônio, segundo técnica preconizada por Machado et al. (1994). Os merozoítas de *B. equi* resultantes foram submetidos a nove ciclos de congelamento a -70°C , seguidos de descongelamento a 37°C . A suspensão resultante foi centrifugada a 3000xg, durante 3 horas, em centrífuga refrigerada a 4°C , e alíquotas de 4mL do sobrenadante foram liofilizadas e congeladas a -70°C até o uso. O conteúdo protéico do antígeno solúvel foi determinado pelo método do ácido bicinônico, utilizando-se o *kit* de reagentes BCA (BCA Reagents Kit-Pierce Chemical Company), de acordo com as recomendações do fabricante.

3.5.5 Dose de reatividade ótima de antígeno, soro e conjugado

As diluições ótimas do antígeno e dos soros-controle positivos e negativos foram determinadas pela titulação em bloco, utilizando-se o antígeno nas concentrações de 5, 10, 15 e 20 $\mu\text{g/mL}$, em tampão carbonato-bicarbonato de sódio (0,05M, pH 9,6), e os soros de referência positivos e negativos nas diluições de 1:100; 1:200; 1:400; 1:800; 1:1600 e 1:3200 em tampão PBS 0,01 M pH 7,4, contendo 0,05% de Tween 80 (PBS-Tween 80), acrescido de 5% de leite em pó desnatado. O conjugado equino acoplado à fosfatase alcalina (IgG de coelho anti IgG de equino, SIGMA A-6063) foi diluído 1:15000 em tampão PBS-Tween 80, contendo 5% de leite em pó desnatado.

3.5.6 Descrição da reação

À cavidade das microplacas de fundo plano (NunclonTM Surface, Nunc. Denmark) foram adicionados 100 μL do antígeno solúvel de *B. equi*, diluído em sua concentração ótima de reatividade em tampão carbonato-bicarbonato de sódio 0,05M pH 9,6. Após incubação, durante 12 horas em câmara úmida a 4°C , o excesso de antígeno foi removido por três lavagens consecutivas com tampão PBS 0,01 M pH 7,4, contendo 0,05% de Tween 80. As placas foram bolqueadas com PBS-Tween 80, acrescido de 6% de leite em pó desnatado, em câmara úmida a 37°C por duas horas. Após nova lavagem para remoção do agente bloqueante, foram adicionados, em duplicata, 100 μL dos soros teste e soros de referência positivos e negativos, nas suas diluições ideais de uso em PBS-Tween 80, contendo 5% de leite em pó desnatado. As microplacas foram incubadas a 37°C durante 90 minutos em câmara úmida e a seguir, lavadas conforme descrito anteriormente. Cem microlitros do conjugado diluído em PBS-Tween 80, acrescido de 5% de leite em pó desnatado, foram adicionados a cada cavidade da placa, seguindo-se nova incubação e lavagem, tal como na etapa anterior. O substrato da enzima fosfatase alcalina (paranitrofenilfosfato diluído a

1mg/mL em tampão dietanolamona pH 9,8; SIGMA N-9389) foi adicionado, incubando-se a reação por 45 minutos á temperatura ambiente. Decorrido esse período, a leitura da reação foi realizada em um leitor de microplacas de ELISA (Microplate Reader MRX TC Plus, Dunex Technology), a um comprimento de onda de 405 nm.

3.5.7 Tratamento dos dados

Os valores de densidade óptica média (D.O.) dos soros foram agrupados em níveis de ELISA (NE), os quais variam de 0 (zero) a 9 (nove). O limite máximo do nível zero foi determinado pela média dos valores de densidade óptica de soros de animais não imunes a *B. equi* (potros que não ingeriram colostro), acrescido de dois desvios-padrão. A partir desse limite, os intervalos entre os outros níveis de ELISA foram definidos por acréscimo de 35%, conforme preconizado por Machado et al. (1997) para o sistema de *B. bovis*.

O ponto de corte do teste de ELISA correspondeu a duas vezes e meia o valor médio das densidades ópticas dos soros de referência negativos. A sensibilidade do teste foi definida como o número de indivíduos que o teste foi capaz de identificar como positivos entre aqueles efetivamente infectados, isto é, verdadeiros positivos. A especificidade foi determinada com base na proporção de amostras sabidamente negativas que foram identificadas, acertadamente, pelo método como negativas. Assim, a determinação da sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo foi realizada pelo método do crivo (BRAILE; GODOY, 1999).

A atividade imunológica de cada soro testado foi calculada mediante a determinação do valor A/P (amostra em relação ao positivo), considerando os soros de referência negativos e positivos, de acordo com a seguinte equação:

$$A/P = \frac{\text{Absorbância média da amostra} - \text{Absorbância média do soro de referência negativo}}{\text{Absorbância média do soro de referência positivo} - \text{Absorbância média do soro de referência negativo}}$$

3.5.8 Elisa competitivo

Para o teste ELISA foi importado dos EUA o kit comercial (VMRD, Inc®) e o teste foi realizado no laboratório Departamento de Parasitologia Animal/IV/UFRRJ conforme protocolo proposto pelo fabricante.

3.5.9 Etapas do Elisa competitivo

1. A, B-Adsorção no suporte de anticorpo específico a ser pesquisado. Incubação. Lavagem para eliminar ligações fracas e anticorpos não ligados ao suporte.

2. A, B-Adição de substância bloqueante (proteína). Incubação. A substância bloqueante ocupa os espaços livres no suporte, não ocupados pelo anticorpo. Lavagem para eliminar ligações fracas e proteínas não ligadas ao suporte.

3. A-Adição do antígeno marcado com enzima. O antígeno adicionado é reconhecido pelo anticorpo adsorvido. Incubação.

3. B-adição de uma mistura contendo o antígeno problema (a ser detectado) com o antígeno conhecido marcado pela enzima (3. A). A incubação. O antígeno marcado e o antígeno problema competirão pelo anticorpo específico. O número de ligações resultantes do antígeno marcado é inversamente proporcional á concentração do antígeno problema na

mistura e vice-versa. Lavagem para eliminar ligações fracas e antígenos não ligados ao suporte.

4. A, B-Adição do substrato contendo cromógeno, que atuará sobre a enzima presente no antígeno conhecido.

3.5.10 Análise

A análise foi feita comparando as densidades óticas de ambas as reações (A e B) para avaliar a competitividade. Decorrido esse período, a leitura da reação foi realizada em um leitor de microplacas de ELISA (Microplate Reader MRX TC Plus, Dunex Technology), a um comprimento de onda de 405 nm.

3.6 Análise dos Dados

3.6.1 Formação do banco dos dados

Os dados obtidos a partir dos questionários e dos exames sorológicos foram armazenados em um banco de dados montado no programa EPI INFO 2002 (CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2003).

3.6.2 Categorização de variáveis

Os animais foram considerados positivos e negativos. Para avaliar a faixa etária, os equinos foram divididos em equinos com idade inferior ou igual a cinco anos, equinos com idade maior que cinco anos e inferior ou igual a dez anos e equinos com idade superior a dez anos de idade.

A tecnificação das propriedades foi avaliada através de três fatores seguindo o trabalho realizado por Martins (2005): uso de informatização dos dados dos equinos, de inseminação artificial e de transferência de embrião. Foi considerada tecnificada a propriedade em que os entrevistados citaram dois desses fatores.

3.6.3 Análise epidemiológica

As variáveis de exposição foram caracterizadas para fins de análise. As variáveis consideradas de exposição foram: tipo de alimentação, tipo de cama, sistema de criação, presença de equinos de outras propriedades, consórcio de pastagens com ruminantes, rotação de pastagens, controle de carrapatos, faixa etária, participação em eventos esportivos, finalidade da criação e tempo de criação de equinos.

Com os resultados sorológicos obtidos através da imunofluorescência indireta (RIFI) e pelo ELISA foi calculada a prevalência de *B. equi* na região, bem como foi calculada a concordância entre os dois testes através do índice Kappa.

Para verificar a associação entre as variáveis estudadas, foram utilizados os testes estatísticos do Qui-quadrado (X^2) e quando necessário foi utilizado o Teste de Fisher com auxílio do programa EPI INFO 2002 (CDC, 2003).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Prevalência de *Babesia equi* na Região Norte do Rio Grande do Sul

Das 380 amostras estudadas, 120 (31,6%) foram consideradas positivas para *B. equi* pelo teste de ELISA e 136 delas positivas pela RIFI (35,8%) (Tabela 1). Houve concordância considerada ótima entre o ELISA e a RIFI conforme indicado pelo coeficiente Kappa de 0,87 (0,81-0,99).

Tabela 1. Prevalência de *Babesia equi* pela reação de ELISA e Imunofluorescência Indireta (RIFI), em eqüinos da região Norte do Estado do Rio Grande do Sul.

	ELISA		RIFI	
	Nº Amostras	%	Nº Amostras	%
Positivo	120	31,6	136	35,8
Negativo	260	68,4	244	64,2
Total	380	100	380	100

A prevalência de *B. equi*, de 31,6% observada através do ELISA e de 35,8%, obtida pela RIFI diferem dos resultados obtidos por Cunha et al. (1996) que observaram a prevalência de 57,8% de *B. equi* ao avaliar 133 soros de eqüinos do Jôquei Clube de Pelotas e em dois Haras da Zona Sul do Rio Grande do Sul, através da RIFI, bem como dos resultados de Souza et al. (2000) que observaram a prevalência de 50,3% para *B. equi* em eqüinos de diferentes idades, sexos e raças do Planalto Catarinense no Estado de Santa Catarina.

Os dados obtidos na presente pesquisa quando comparados com os resultados observados em outras regiões do Brasil demonstram que os valores são muito diferentes dos valores referidos para o Estado do Rio de Janeiro, conforme por Pfeiffer Barbosa et al. (1995) que ao estudarem eqüinos criados a campo, em Itaguaí, RJ reportaram prevalência de *B. equi* em 100% dos animais avaliados. Também Bittencourt et al. (1997) encontraram prevalência de 84,6% pela TFC para *B. equi* em eqüinos do município de Seropédica (UFRRJ/RJ). Mais recentemente Botteon et al. (2002) observaram soroprevalência de 89.58%, 87.8% e 45.2% para *B. equi* em eqüinos mantidos em sistemas de produção de eqüinos extensivo, semi-extensivo e confinados respectivamente na região Metropolitana do Estado do Rio de Janeiro.

No Estado de Minas Gerais, Ribeiro; Lima (1989) também observaram prevalência de 92,8%. As elevadas prevalências observadas por diferentes autores realizados nos Estados do Rio de Janeiro e Minas Gerais possibilitam classificar estas áreas como áreas de estabilidade enzoótica para *B. equi* segundo critérios seguidos por Mahoney, Ross (1972).

As diferenças observadas nos percentuais de prevalência entre a região Sudeste e a região estudada, certamente está relacionada à menor distribuição dos carrapatos vetores nas regiões mais ao Sul do Brasil onde fatores climáticos como temperatura, umidade relativa, altitude e índices pluviométricos elevados influenciam o “habitat” das principais espécies que parasitam eqüídeos: os carrapatos *A. nitens* e *A. cajennense*, embora freqüentemente encontrados parasitando eqüídeos no Brasil, experimentalmente não foi revelado o envolvimento destas espécies de carrapatos na transmissão biológica de *B. equi* (DENNIG, 1988). Estudos mais recentes sugerem que *B. microplus*, comum em bovinos como

transmissor experimental de *B. equi* (GUIMARÃES et al., 1998; UETI et al., 2005, FERNANDES et al., 2006ab). Os resultados observados podem explicar a presença da babesiose eqüina por *B. equi* em locais onde o *B. microplus* é a espécie de carrapato predominantemente encontrada parasitando os eqüídeos como foi reforçado pelos resultados obtidos no Estado do Rio Grande do Sul (FREIRE, 1972; CUNHA et al., 1996).

O Brasil apesar de ser conhecido como um país enzoótico para *B. equi*, no entanto, existem algumas regiões incluindo a do presente estudo que, em função de suas condições edafoclimáticas, não favorecem o desenvolvimento do *B. microplus* durante todo o ano e, dessa forma, de acordo com conceitos de Mahoney; Ross (1972), podem ser consideradas regiões de instabilidade enzoótica para *B. equi*.

Heuchert et al. (1999) realizaram um estudo soroepidemiológico para *B. equi* e *B. caballi* em diferentes propriedades no Estado de São Paulo, observaram uma prevalência para *B. equi* de 49,2% para eqüinos machos e de 36,0% para potros até seis meses de idade. O estudo evidenciou que em propriedades cujos eqüinos não apresentavam contatos direto ou indireto com bovinos, somente 17,5% dos animais estavam infectados com *B. equi* e 89,5% com *B. caballi*, e que apenas a espécie *A. nitens* foi observada nestes eqüinos. Nas propriedades que havia o contato direto ou indireto com bovinos, 89,5% dos eqüinos estavam infectados por *B. equi* sendo observado também a infestação por *B. microplus* sobre os eqüinos por eles estudados. Estes fatos foram também observados na presente pesquisa realizada na região Norte do Rio Grande do Sul.

Em consideração aos sexos dos animais foram testadas 198 amostras de machos e 182 de fêmeas, dentre as 198 amostras de machos, 62 delas (31,3%) foram consideradas positivas para *B. equi* por meio do teste ELISA e 73 (36,9%) positivas pela RIFI. Entre as 182 amostras de fêmeas, 58 (31,9%) foram consideradas positivas pelo teste ELISA e 63 (34,6%) positivas pela RIFI (Tabela 2).

Tabela 2. Prevalência de *Babesia equi* de acordo com os sexos de eqüinos pela reação de ELISA e Imunofluorescência Indireta (RIFI), em eqüinos da região Norte do Estado do Rio Grande do Sul.

Sexo	Eqüinos Positivos		Eqüinos Negativos		Prevalência (%)	
	ELISA	RIFI	ELISA	RIFI	ELISA	RIFI
Macho	62	73	136	125	31,3	36,9
Fêmea	58	63	124	119	31,9	34,6
Total	120	136	260	244	31,6	35,8

Considerando as raças dos eqüinos estudados foram coletadas 274 amostras de eqüinos mestiços; 86 amostras de eqüinos da raça Crioulo e 20 eqüinos das raças PSI, Mangalarga e Quarto e Milha, as quais foram agrupados. As prevalências observadas para as raças foram de 30,7%, para mestiços, 34,9% para Crioulo e de 30,0% para as outras raças agrupadas no teste de ELISA e, pela RIFI as prevalências observadas foram de 35,8%, 36,1% e 35,0%, respectivamente, para mestiços, crioulo e outras raças (Tabela 3).

Tabela 3. Prevalência de *Babesia equi* de acordo com as raças pela reação de ELISA e Imunofluorescência Indireta (RIFI), em eqüinos da região Norte do Estado do Rio Grande do Sul.

Raças	Eqüinos Positivos		Eqüinos Negativos		Prevalência (%)	
	ELISA	RIFI	ELISA	RIFI	ELISA	RIFI
Mestiços	84	98	190	176	30,7	35,8
Crioulo	30	31	56	55	34,9	36,1
Outras	06	07	14	13	30,0	35,0
Total	120	136	260	244	31,6	35,8

Considerando as faixas etárias dos animais estudados, 22 eqüinos tinham a idade igual ou inferior a cinco anos, 180 eqüinos tinham idade superior a cinco anos e igual ou inferior a dez anos e outros 178 eqüinos tinham idade superior a dez anos. As prevalências observadas para as faixas etárias foram de 27,3% entre os eqüinos com idade igual ou inferior a cinco anos; 30,0% entre os eqüinos com idade superior a cinco anos e igual ou inferior a dez anos e 33,5% entre os eqüinos com idade superior a dez anos de idade pelo teste ELISA. De acordo com os resultados obtidos pela RIFI as prevalências observadas foram de 36,4%; 35,3% e de 36,2% respectivamente (Tabela 4). Nas análises estatísticas não foram observadas diferenças significativas entre os sexos, raças e faixas etárias dos eqüinos estudados.

Tabela 4. Prevalência de *Babesia equi* de acordo com a faixa etária pela reação de ELISA e Imunofluorescência Indireta (RIFI), em eqüinos da região Norte do Estado do Rio Grande do Sul.

Faixa Etária	Eqüinos Positivos		Eqüinos Negativos		Prevalência (%)	
	ELISA	RIFI	ELISA	RIFI	ELISA	RIFI
≤5	06	08	16	14	27,3	36,4
>5≤10	52	61	128	112	30,0	35,3
10>	62	67	116	118	33,5	36,2
Total	120	136	260	244	31,6	35,8

4.2 Prevalência de *Babesia caballi* na Região Norte do Rio Grande do Sul

De um total de 350 amostras testadas pelo ELISA competitivo apenas três (0,86%) (Tabela 5) foram consideradas positivas para *B. caballi* na região norte do Rio Grande do Sul. Essa baixa prevalência encontrada é explicada pelo fato de que apenas o *B. microplus* é a espécie de carrapato predominantemente encontrada parasitando os eqüídeos no estado do Rio Grande do Sul como foi reportado pelos resultados obtidos por FREIRE (1972) e CUNHA et al. (1996) e pelo nosso trabalho, que apenas o *B. microplus* foi encontrado parasitando os eqüinos. Portanto, como o vetor conhecido da *B. caballi* no Brasil é o *A. nitens* (Mujica, 2002)

e o mesmo não tem sido reportado oficialmente e nem foi identificado pelo nosso estudo, esse fato faz com que haja essa baixa prevalência de *B. caballi* na região Norte do Rio grande do Sul. Os equinos positivos têm como finalidade de criação a participação em eventos esportivos e recreativos dentro e fora da região e do estado, este fato, pode explicar a positividade destes animais. Com esse fator de risco estes equinos provavelmente foram infectados com a *B. caballi* nesses eventos. Este resultado difere dos obtidos em outras regiões do Brasil por Tenter; Friedhoff (1986), analisando soros provenientes do Rio de Janeiro e Espírito Santo, encontraram prevalência de 64% para *B. caballi* em 20 amostras examinadas pela Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), regiões em que o *A. nitens* apresentam elevada ocorrência.

Tabela 5. Prevalência de babesia caballi pela reação de ELISA em equinos da região Norte do Estado do Rio do Sul.

	ELISA	
	Nº Amostras	%
Positivo	3	0,86
Negativo	347	99,14
Total	350	100

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

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

Aspectos Epidemiológicos da babesiose equina na Microrregião Fluminense do Grande Rio - Itaguaí, Estado do Rio de Janeiro foi o tema do trabalho de Bittencourt *et al.* (1997), em que 78 equinos, criados em regime extensivo (FAIZ-UFRRJ) e propriedades vizinhas, na Região Fluminense de Itaguaí, RJ, foram testados pelo TFC (Universidade de Hannover), no período de abril a agosto de 1985. A maioria era portadora de anticorpos circulantes de anti-*B. caballi* (93,6%), o que caracterizou ser uma área fortemente enzoótica e potencialmente de risco para animais procedentes de áreas livres de carrapatos, vetores biológicos da enfermidade.

A maioria destes autores relata prevalências altas para *B. caballi* por serem áreas com presença de *A. nitens*, vetor para esta espécie de *Babesia* no Brasil, o que não ocorre na região norte do Rio Grande do Sul.

4.3 Sistemas de Criação, Práticas de Manejo e Controle Adotadas

Em relação ao sistema de criação o presente trabalho obteve o seguinte resultado: no sistema de criação extensivo a prevalência foi de 20,39%, no intensivo de 39,70% e o semi-extensivo de 38,60% (Tabela 6). Este trabalho obteve resultados diferentes aos relatados por Botteon *et al.* (2002) que observaram soroprevalência de 89,58%, 87,8% e 45,2% para *B. equi* em equinos mantidos em sistemas de produção de equinos extensivo, semi-extensivo e confinado na região Metropolitana do Estado do Rio de Janeiro. Estas diferenças nas

prevalências encontradas pelos autores mostra que no estado do Rio de Janeiro o principal fator de risco para a *B. equi* é a exposição aos potenciais carrapatos vetores *B. microplus*, (Guimarães et al., 1998, Battsetseg et al., 2002, Ueti et al., 2005, Fernandes et al., 2006ab), *A. nitens* e *A. cajennense* embora estes não tenham sido citados como vetores precisam ser melhor estudados.

Tabela 6. Prevalência de *Babesia equi* de acordo com o sistema de criação pela reação de ELISA em equinos da região Norte do Estado do Rio Grande do Sul.

Sistema de criação	Positivos	Negativos	Prevalência (%)
Extensivo	31	121	20,39
Intensivo	27	41	39,70
Semi-extensivo	62	98	38,75

O controle mais adequado e eficaz dos carrapatos é realizado no sistema de criação confinado, diminuindo assim a prevalência de *B. equi* como foi demonstrado por Botteon et al., (2002).

As diferentes prevalências encontradas no presente trabalho demonstram que existem outros fatores de risco para a *B. equi* como a finalidade da criação (Tabela 7), pois, quando a finalidade da criação é apenas para o trabalho temos uma prevalência de apenas 19,3% pois esses animais não saem das suas propriedades diminuindo assim a chance de adquirirem a *B. equi* uma vez que o carrapato incriminado de transmitir a *B. equi* está presente na propriedade, e não consegue se infectar com *Babesia*, não a transmitindo para os equinos da propriedade.

Tabela 7. Prevalência de *Babesia equi* de acordo com a finalidade da criação pela reação de ELISA em equinos da região Norte do Estado do Rio Grande do Sul.

Finalidade	Positivos	Negativos	Prevalência (%)
<i>Criação</i>			
<i>Trabalho</i>	20	67	19,3
<i>Rodeios</i>	30	48	38,5
<i>Rodeios e</i>	70	145	32,6
<i>Trabalho</i>			
Total	120	260	31,6

Quando a finalidade da criação é para rodeios (participação de eventos esportivos e recreativos regionais, estaduais e internacionais) a prevalência aumenta significativamente para 38,5% essa prevalência é explicada pelo fato dos animais estarem expostos a animais com *B. equi* e aos carrapatos vetores infectados. Portanto a finalidade da criação para trabalho e rodeios (participação de eventos esportivos e recreativos regionais, estaduais e internacionais) também estão da mesma forma expostos com animais portadores e carrapatos infectados nos eventos, estes são realizados na região em estudo, em outras regiões, em outros

estados e países. Este estudo mostra claramente que os animais do sistema confinado são criados para que os mesmos participem de eventos esportivos e recreativos regionais, estaduais e internacionais, como também os eqüinos para a finalidade de trabalho e rodeios estão expostos a adquirirem a infecção por *B. equi*.

No presente estudo quando a criação é de somente eqüinos a prevalência foi de 29,41% e na criação mista (bovinos, ovinos ou bubalinos) a prevalência foi de 32,37% (Tabela 8).

Tabela 8. Prevalência de *Babesia equi* de acordo com a criação somente eqüina ou mista com bovinos pela reação de ELISA em eqüinos da região Norte do Estado do Rio Grande do Sul.

Criação de eqüinos	Positivos	Negativos	Prevalência (%)
Somente eqüinos	30	72	29,41
Criação mista	90	188	32,37
Total	120	260	31,6

Estatisticamente não há diferença significativa entre os diferentes tipos de criações de equinos. Heuchert et al., (1999) realizaram um estudo soropidemiológico para *B. equi* e *B. caballi* em diferentes propriedades no estado de São Paulo, e observaram uma prevalência para *B. equi* de 49,2% para eqüinos machos e de 36,0% para potros até seis meses de idade. O estudo evidenciou que em propriedades cujos eqüinos não apresentavam contatos direto ou indireto com bovinos, somente 17,5% dos animais estavam infectados com *B. equi* e 89,5% com *B. caballi*, e que apenas a espécie *A. nitens* foi observada nestes eqüinos. Nas propriedades que havia o contato direto ou indireto com bovinos, 89,5% dos eqüinos estavam infectados por *B. equi* sendo observado também a infestação por *B. microplus* sobre os eqüinos por eles estudados. Este fato foi também observado na presente pesquisa realizada na região Norte do Rio Grande do Sul, onde o carrapato incriminado como vetor *B. microplus* foi encontrado parasitando os eqüinos onde havia o contato direto ou indireto com bovinos, no entanto, os fatores associados como criação mista, participação em eventos esportivos ou recreativos (finalidade de criação) fazem com que estes fatores sejam de importância para a transmissão da *B. equi* na região.

4.4 Caracterização das Propriedades e Práticas de Controle

4.4.1 Caracterização dos entrevistados

As entrevistas realizadas aos responsáveis pelos haras foram respondidas em 90,50% pelo criador e 9,50% pelo peão ou administrador (Figura 1). No estudo realizado por Martins (2005) os responsáveis pelos animais foram os criadores e administradores em 73% dos casos, os peões em 16% dos casos e 10% dos casos os próprios veterinários, e 82,10% peão ou administrador e 17,90% pelo criador respectivamente.

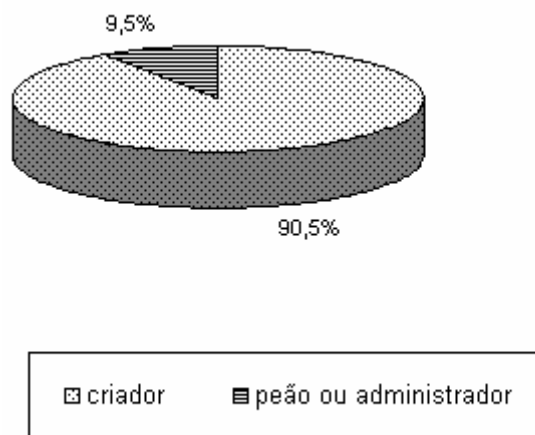


Figura 1. Responsáveis pelas propriedades de eqüinos na região Norte do Rio Grande do Sul.

4.4.2 Administração da propriedade

Em relação à administração das propriedades em 86% das propriedades são feitas pelos criadores e 14% por administrador contratado (Figura 2). No estudo de Martins (2005) a administração dos haras foi realizada em 64,30% por administradores contratados e em 35,70% pelo próprio administrador.

5 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos na presente pesquisa permitem caracterizar a região Norte do Estado do Rio Grande do Sul como área de instabilidade enzoótica para *B. equi*.

A região Norte do Estado do Rio Grande do Sul é uma área de baixo risco para *B. caballi*.

A prevalência da *B. equi* independe do sexo, da raça e faixa etária.

O teste de Imunofluorescência Indireta e o Ensaio Imunoenzimático (Elisa Indireto) são equivalentes para a detecção de anticorpos anti-*B. equi*.

O sistema de criação intensivo e o uso de eqüinos em práticas esportivas são fatores de risco, favorecendo a ocorrência de *B. equi* e *B. caballi*.

Os fatores epidemiológicos avaliados não influenciaram a prevalência de *B. equi* e *B. caballi*.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLSOPP, M.T.E.P; et al. Phylogeny and evolution of the piroplasms. *Parasitology*, v.108, p.147-152, 1994.
- AVARZED, A; DE WAAL, D.T; IGARASHI, I; SAITO, A; OYAMADA, T; TOYODA, Y; SUZUKI, N. Prevalence of equine piroplasmosis in Central Mongolia. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*. v. 64, n. 2, p. 141-145, 1997.
- BALDANI, C.D. **Estudo comparativo de técnicas diretas (esfregação sanguíneo, cultivo “in vitro”, reação em cadeia de polimerase) e indireta (Reação de imunofluorescência, ensaio imunoenzimático e fixação do complemento) no diagnóstico de *Babesia equi* em eqüinos naturalmente infectados.** Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Universidade Estadual Paulista/ Jaboticabal, São Paulo, 2004, 93 p..
- 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.
- BARBOSA, I.P., ROSE, R., PEYMAN, B., FRIEDHOFF, K.T. Epidemiological aspects of equine babesioses in a herd of horses in Brazil. *Veterinary Parasitology*. v. 58, p. 1-8, 1995.
- BATTSETSEG B., XUAN X., IKADAI H., BAUTISTA J. L., BYAMBAA B., BOLDBAATAR D., BATTUR B., BATTSETSEG G., BATSUKH Z., IGARASHI I., NAGASAWA H., MIKAMI T., FUJISAKI K. Detection of *Babesia caballi* and *Babesia equi* in *Dermacentor nuttalli* adult ticks. *International Journal of Parasitology*. v. 31, n. 4, p. 384-386, 2001.
- BITTENCOURT, V.R.E.P., MASSARD, C.L., MASSARD, C.A. Aspectos epidemiológicos da Babesiose Eqüina na Microrregião fluminense do Grande Rio – Itaguaí, Estado do Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*. v. 4, n. 1, p. 13-17, 1997.
- BOLDBAATAR, D; XUAN, X; BATTSETSEG, B; IGARASHI, I; BATTUR, B; BATSUKH, Z; BAYAMBAA, B; FUJISAKI, K. Epidemiological study of equine piroplasmosis in Mongolia. *Veterinary Parasitology*. v. 127, n. 1, p. 29-32, 2005.
- BONE, J.F., CATAcott, E.J., GABE, A.A., HOHNSON, L.E., RILEY, W.F. Equine Medicine and Surgery, 1ª ed., *American Veterinary Publications*, Sta. Barbara, California, 420p. 1963.
- BOTTEON, P.T.L.; MASSARD, C.L.; BOTTEON, R.C.C.M.; LOSS, Z.G.; LINHARES, G.F.C. Seroprevalencia de *Babesia equi* en tres diferentes sistemas de crianza de equinos. Rio de Janeiro – Brasil. *Parasitologia Latinoamericana*. v.57, p. 3-4, 2002.
- 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 Animals Health and Production*. v. 37, n. 4, p. 293-302, 2005.
- CARINI, A. Sobre uma piroplasmose eqüina observada em S. Paulo. *Arquivo da Sociedade de Medicina Cirúrgica de São Paulo*. v. 1, p. 63-66, 1910.
- CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Epi info, 2002. <http://www.cdc.gov/epiinfo/ei2002.htm>. Acesso em 15 de maio 2003.
- CONRAD, P.A., KELLY, B.G., BORWN, C.G. Intraerythrocytic schizogony of *Theileria annulata*. *Parasitology*, v. 91, p. 67-82, 1985.

- CORDERO del CAMPILLO, M.; ORDÁZ ALVAREZ, J.; ROJO VÁZQUEZ, F.A.; ESCUDERO DIAZ, A. Equine babesia infection in Spain. *Trabajos de la Estación Agrícola Experimental de León*, v. 11, p. 11-22, 1974.
- CRIADO-FORNELIO A, MARTINEZ-MARCOS A, BULING-SARANA A, BARBA-CARRETERO J.C. Presence of *Mycoplasma haemofelis*, *Mycoplasma haemominutum* and piroplasmids in cats from southern Europe: a molecular study. *Veterinary of Microbiology*. v. 93, n. 4, p. 307-17, 2003.
- CUNHA, C.W. **Babesiose Equina: Padronização da reação de imunofluorescência para sorodiagnóstico e levantamento epidemiológico em equinos puro sangue Inglês.** Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Universidade Federal de Pelotas, Rio Grande do Sul, 1993, 57 p.
- CUNHA, C.W.; DA SILVA, S. S.; PIMENTEL, C. A.; DAPPER, E. Avaliação da frequência de equinos soropositivos a *Babesia equi* no Jóquei Clube de Pelotas e em dois Haras da Zona Sul do Rio Grande do Sul, RS. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 5, n. 2, p. 119-122, 1996
- DENNING, F. **Erfolgreiche versuche zur Ubertragung von *Babesia equi* durch *Anocentor nitens* and *Amblyomma cajennense*.** Thesis (Doctor in Medicine Veterinary), School of Veterinary Medicine, Hannover, Germany, 1988, p. 122.
- DE WAAL, D.T. Equine piroplasmidosis: a review. *British Veterinary Journal*. v. 148, n. 1, p. 6-14, 1992.
- DeWAAL, D.T. The transovarial transmission of *Babesia caballi* by *Hyalomma truncatum*. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*. v. 57, p. 99-100, 1990.
- DeWAAL, D.T., POTGIETER, F.T. – The transtadial transmission of *Babesia caballi* by *Rhipicephalus evertsi evertsi*. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*. v. 54, p. 655-656, 1987.
- FAWCETT, D.W., CONRAD, P.A., GROOTENHUIS, J.G., MORZARIA, S.P.
Ultrastructure of the intraerythrocytic stage of *Theileria* species from cattle and waterbuck. *Tissue and Cell*, v. 19, p. 643-655, 1987.
- FERNANDES, K.R.; GOLYNSKI, A.A.; FORLANO, M.D.; ELISEI, C.; MADEIRO, A.S.; LINHARES, G.; MASSARD, C.L. Estudo do desenvolvimento de *Babesia equi* (Laveran, 1901) em glândulas salivares de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887). In: XIV Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária e II Simpósio Latino-Americano de Riccttioses, Ribeirão Preto, 2006.
- FERNANDES, K.R.; GOLYNSKI, A.A.; FORLANO, M.D.; ELISEI, C.; MADEIRO, A.S.; LINHARES, G.; MASSARD, C.L. Detecção de *Babesia equi* (Laveran, 1901) em glândulas salivares de ninfas e adultos de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887). In: XIV CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA E II SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE RICCKTTISOSES, 2006, Ribeirão Preto, *Anais...CBPV*, 2006.
- FREIRE, J.J. Revisão das espécies da família Ixodidae. *Revista de Medicina Veterinária*, São Paulo, v. 8, p. 1-6, 1972.
- FRERICHS, W.M.; HOLBROOK, A.A. Treatment of equine piroplasmidosis (*Babesia caballi*) with imidocarb dipropionate. *Veterinary Record*. v. 95, p. 188-189, 1974.
- FRERICHS, W.M., HOLBROOK, A.A., JOHNSON, A.J. Equine piroplasmidosis complement fixation titers of horses infected with *Babesia caballi*. *American Journal Veterinary Research*. v. 30, p. 697-702, 1969.
- FRIEDHOFF, K.T. Piroplasmidosis of horses--impact on the international horse trade *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*. v. 95, n. 19, p. 368-74, 1982.
- FRIEDHOFF, K.T., SMITH, R.D. Transmission of *Babesia* of ticks, p. 267-327. In: RISTIC, M., KREIER, J.P. (eds.). *Babesiosis*, New York: Acad. Press, 1981, 589 p.

- FRIEDHOFF, K.T. Transmission of *Babesia*. In: RISTIC, M. (Ed). Babesiosis of domestic animals and man. Boca Raton: CRS Press, 1988. p. 197-208.
- FRIEDHOFF, K.T.; TENTER, A.M.; MULLER, I. Haemoparasites of equines: impact on international trade of horses. *Revue Scientifique et Technique Office International des Epizooties*, v. 9, p. 1187-1194, 1990.
- GUIMARÃES, A.M., LIMA, J.D., RIBEIRO, M.F.B. Sporogony and experimental transmission of *Babesia equi* by *Boophilus microplus*. *Parasitology Research*. v. 8, 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.
- GUIMARÃES, L.M., ARAÚJO, T.L., LACERDA JR., P.M.G. de. Ocorrência de nuttalirose em eqüinos puro sangue de corrida, em São Paulo. *Revista da Faculdade de Medicina Veterinária de São Paulo*. v. 4, p. 357-362, 1950.
- HEUCHERT, C.M.; DE GIULLI JR, V.; DE ATHAIDE, D.F.; BÖSE, R.; FRIEDHOFF, K.T. Seroepidemiologic studies on *Babesia equi* and *Babesia caballi* infections in Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 85, n. 1, p. 1-11, 1999.
- HIPÓLITO, O., FREITAS, M.G., FIGUEIREDO, J.B. Doenças Infecto-contagiosas dos Animais Domésticos. 4ª ed., *Ed. Melhoramentos*, São Paulo, 1965, 598p.
- HIRATO, K., NONOMIYA, N., UWANO, Y. KUTH, T. Studies on complement fixation reaction for equine piroplasmosis. In: THIRD INTERNATIONAL CONFERENCE ON EQUINE INFECTIONS DISEASES, 1945, Paris, *Anais...*, p.467-475, 1945.
- HOLBROOK, A.A. Biology of equine piroplasmosis. *Journal of American Veterinary Medical Association*. v. 155, p. 453-454, 1969.
- HOLBROOK, A.A., FRERICHS, W.M., ALLEN, P.C. Laboratory diagnosis of equine piroplasmosis. *Proceedings Third International Conference Equine Infections Diseases*, p. 467-475, 1973.
- IKADAI, H; NAGAI, A; XUAN, X; IGARASHI, I; TSUGIHIKO, K; TSUJI, N; OYAMADA, T; SUZUKI, N; FUJISAKI, K. Seroepidemiologic studies on *Babesia caballi* and *Babesia equi* infections in Japan. *Journal of Veterinary Medicine and Science*. v. 64, n. 4, p. 325-328, 2002.
- KAPPMAYER L.S.; PERRYMAN L.E.; KNOWLES, D.P. A *Babesia equi* encodes a surface protein with homology to *Theileria* and *Babesia equi*. *Molecular Biochemical of Parasitology*, v. 62, p. 121-124, 1993.
- KAPPMAYER, L.S., PERRYMAN, L.E., KNOWLES, D.P. A *Babesia equi* gene encodes a surface protein with homology to *Theileria* species piroplasm surface proteins. *Journal of Molecular and Biochemical of Parasitology*., v. 62, p. 121-124, 1993.
- KNOWLES, R.C., HOURRIGAN, J.L., HOLBROOK, A.A. Equine piroplasmosis. *Equine practice*, v. 2, p. 10-14, 1980.
- 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 eqüídeos em Regiões Mesográficas do Estado do Rio de Janeiro**. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias – Parasitologia Veterinária), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2002, 55p.
- LAVERAN, A. Contribution à l'étude de *Piroplasma equi*. *Recuel Médecine Vétérinaire*. v. 8, p. 380, 1901.
- LEVINE, N. D. *Veterinary Protozoology*. Iowa State University Press, Ames, Iowa, 1988.
- LINHARES, G.F.L. **Aspectos biológicos e epidemiológicos das Babesioses de eqüídeos, com ênfase a microrregião de Goiânia, Goiás, Brasil**. Tese (Doutorado em Medicina

Veterinária -Parasitologia Veterinária), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 120 p, 1994.

LITTLEJOHN, A.A. Babesioses, p.211-220. In: BONE, J.F., CATAcott, E.J., GABEL, A.A., JOHNSON, L.E., RILEY, W.F. – Equine Medicine and Surgery, 2ª ed., *American Veterinary Publications*, Sta. Barbara, Califórnia, 300p, 1963.

MACHADO, R.Z. An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies against *Babesia bovis* in cattle. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v.71, p.17-26, 1997.

MAHONEY, D.F.; ROSS, D.R. Epizootiological factors in the control of bovine babesiosis. *Australian Veterinary Parasitology*, v. 48, p. 292-298, 1972.

MARTINS, I.V.F. **Práticas de manejo e controle como determinantes da prevalência de helmintos em éguas da raça Mangalarga marchador na Região Médio Paraíba do Estado do Rio de Janeiro.** Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias – Parasitologia Veterinária), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2005, 104p.

MASSARD, C.L.; FONSECA, A.H.; FACCINI, J. L.H.; FAMADAS, K.M.; FLAUSINO, W.; SILVA, G.V.O, FORLANO, M. D.; MUJICA, F.F.; SOUZA, A.C. Diagnóstico de *Hyalomma dromedarii* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae) em *Camelus dromedarius* importados das Ilhas Canárias - Espanha, para o Estado do Rio Grande do Norte - Brasil. *A Hora Veterinária*. v. 125, p. 58-60, 2001.

MEHLHORN H.; SCHEIN E.; Redescription of *Babesia equi* Laveran, 1901 as *Theileria equi* Mehlhorn, Schein 1998. *Parasitology Research*. v. 84, n. 6, p. 467 – 475, 1998.

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

MOREL, P.C. Sur la distribution et l'écologie des tiques vectrices des babesioses du bétail em Europe occidentale. *Entomology Boug*, v. 1, p. 22-24, 1981.

MUJICA, F.F. – ***Babesia caballi* (Nuttall & Strickland, 1912): Patogenia, transmissão e alterações hemocitárias no carrapato *Anocentor nitens* (Neumann, 1867), vetor biológico nas Américas.** Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias – Parasitologia Veterinária) Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2002, 80 p.

NEITZ, W.O. A consolidation of our knowledge of the transmission of tick-borne diseases. *Onderstepoort Journal Veterinary Research*. 27(2): 115-163. 1956a.

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

NUTTALL, G.H.F., STRICKLAND, C. On the occurrence of two species of parasites Inequine “Piroplasmosis” or “Biliary Fever”. *Parasitology*. v. 51, p. 65-83, 1910.

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

PEREIRA, M.A.V.C., MASSARD, C.L., FACCINI, J.L.H., SIQUEIRA, de, L.F.G. Ocorrência de *Babesia equi* (LAVERAN, 1901) e *Babesia caballi* (NUTTALL & STRICKLAND, 1912) em eqüinos da raça Puro Sangue Inglês de pequenos estabelecimentos eqüestres. *Arquivo do Instituto Biológico de São Paulo*, v. 71, n. 4, p. 405-409, 2004.

PFEIFER BARBOSA, I.B.F. **Epidemiologische untersuchungen über infectionen von pferden mit *Babesia equi* und *Babesia caballi* in Brasilien.** Tese (Doutorado em Medicina Veterinária), Instituto de Parasitologia, Escola de Medicina Veterinária de Hannover, Hannover, 1993, 109 p.

- PFEIFER BARBOSA, I., FRIEDHOFF, K.T., MASSARD, C.L., LINHARES, G.F.C. – Diagnosis of natural infection with *Babesia caballi* (Nuttall & Strickland, 1910) in horses and *Anocentor nitens* (Neumann, 1897) in Itaguaí, Rio de Janeiro, Brazil. *Arquivos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro*. v. 15, p. 105-107, 1993.
- PFEIFER BARBOSA, I.; BOSE, R.; PEYMANN, B.; FRIEDHOFF, K.T.- Epidemiologic aspects of equine babesiosis in a herd of horse in Brazil. *Veterinary Parasitology*. v. 58, p. 1-8, 1995.
- PIERCE, M.A. *Nuttalia* FRANCA 1909 (Babesiidae) preoccupied by *Nuttalia* Dall, 1898 (Psmamobiidae): A reappraisal of the taxonomic position of the avian piroplasms. *International Journal of Parasitology*, v. 34, p. 75-78, 1989.
- RETIEF, G.P. A comparison of equine piroplasmosis in South Africa and the United States. *Journal of American Veterinary Medicine Association*, v. 145, p.912-916, 1964.
- RIBEIRO, M.F.B. & LIMA, J.D. Diagnóstico sorológico da babesiose Equina por *Babesia equi* em Minas Gerais. In: VI SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, Bagé, 1989, *Anais...* CBPV, 1989, p. 111.
- RISTIC, M. Equine babesiosis and trypanosomiasis. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM EQUINE HAEMATOLOGICAL, Michigan, 1985, *Anais...* State University, 1985.
- RUDOLPH, W. Piroplasmosis en caballos de carrera de Chile. *Boletín Chileno de Parasitología*. v. 26, p. 66-68, 1971.
- 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.
- SAMPAIO, I.B.M. *Estatística aplicada à experimentação animal*. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998, 221 p.
- SCHEIN, E – Equine babesioses. In: RISTIC, M. (Ed.) *Babesiosis of domestic animals and man*. Boca Raton: CRS. p. 197-208, 1988.
- SCHEIN, E., REHBEIN, G., VOIGT, W.P, ZWEYGART, E. *Babesia equi* (Laveran, 1901). I. Development in horses and lymphocyte culture. *Tropenmedizin Parasitology*. v. 32, p. 223-27, 1981.
- SILVA, G.V.O. **Caracterização de uma área enzoótica peri-urbana no Estado do Rio de Janeiro com avaliação de aspectos hematológicos e bioquímicos séricos e revisão bibliográfica sobre babesiose equina no continente americano**. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias – Parasitologia Veterinária), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2002, 49 p.
- SIMPSON C. F, NEAL F. C. Ultrastructure of *Babesia equi* in ponies treated with imidocarb. *American Journal of Veterinary Research*. v. 41, n. 2, p. 267-71, 1980.
- SIMPSON, C.F., KIRKHAM, W.W., KLING J.M. Comparative morphologic features of *Babesia caballi* and *Babesia equi*. *American Journal of Veterinary Research*. v. 28, p. 127, p. 1693-1697, 1967.
- SIPPEL, W.L., COOPERRIDER, D.E., GAINER, J.H., ALLEN, R.W., MOUW, J.J.E.B., TEIGLAND, M.B. – Equine piroplasmosis in the United States. *Journal American Veterinary Medicine Association*. v. 141, p. 694-698, 1962.
- SOULE, C., PERRET, C., DORCHIES, P. Babesiose equine a *Babesia equi*: comparaison des techniques de fixation du complement d'immunofluorescence Indirecte et d'ELISA. *Revue de Médecine Vétérinaire*. v. 135, n. 7, p. 419-424, 1984.
- SOULSBY, E.J.L. Parasitologia y Enfermedades Parasitaria – en los Animales Domesticos. 7ª ed., *Interamericana*, Mexico, España, N. York, Brasil, Colombia, Venezuela, 820p, 1987.

- SOUZA, A.P.; SARTOR, A.A.; BELLATO, V.; SILVA, A.B. Prevalência de anticorpos anti *Babesia equi* em equinos do Planalto Catarinense. *Ciência Rural*, v. 30, p. 119-121, 2000.
- STILLER, K., COAN, M.E. Recent developments in elucidating tick vector relationships for anaplasmosis and equine piroplasmiasis. *Veterinary Parasitology*. v. 57, p. 97-108, 1995.
- TAYLOR, W.M., BRYANT, J.E., ANDERSON, J.B., SILLERS, K.H. Equine piroplasmiasis in the United States – a review. *Journal American Veterinary Medicine Association*. v. 155, n. 6, p. 915-19, 1969.
- TENTER, A.M. **Serodiagnose experimenteller und natürlicher Piroplasmieninfektionen der Pferde**. Dissertation, School Veterinary Medicine, Hannover, 1984.
- TENTER, A.M.; OTTE, M.J., GONZALEZ, C.A., ABUABARA, Y. Prevalence of piroplasmiasis in equines in the Colombian province of Cordoba. *Tropical Animal Health Production*. v. 29, p. 93-98, 1988.
- TENTER, A.M.; FRIEDHOFF, K.T. Serodiagnosis of experimental and natural *Babesia equi* and *B. caballi* infections. *Veterinary Parasitology*, v. 21, n. 2, p.139, 1986.
- THEILER, A. Die pferde malaria. *Schweizer Archiv Fur Tierheilkunde*, Zurich, v. 43, p. 252-256, 1901.
- THOMPSON, P.H. – ticks as vectors of equine piroplasmiasis. *Journal American Veterinary Medicine Association*. v. 155, n. 2, p. 454-457, 1969.
- UETI, M.W.; PALMER, G.H.; KAPMEYER, L.S.; STATFIELD M.; SCOLES, G.A.; KNOWLES, D.P. Ability of the vector tick *Boophilus microplus* to acquire and transmit *Babesia equi* following feeding on chronically infected horses with low-level parasitemia. *Journal of Clinical Microbiology*. v. 43, n. 8, p. 3.755-3.759, 2005
- URCELAY, S., CORREA, J., RUDOLPH, W. Piroplasmiasis en caballos de carrera. Estudio serológico e criaderos de la Provincia de Santiago. *Boletín Chileno de Parasitología*. v. 28, p. 6-9, 1973.
- XUAN, Y; ZHANG, S; HUANG, X; BAYIN, C; XUAN, X; IGARASHI, I; FUJISAKI, K; KABEYA, H; MARUYAMA, S; MIKAMI, T. Seroepidemiologic studies on *Babesia equi* and *Babesia caballi* infections in horses in Jilin province of China. *Journal of Veterinary Medicine and Science*. v. 65, n. 9, p. 1015-1017, 2003.
- XUAN, X; CHAHAN, B; HUANG, X; YOKOYAMA, N; MAKALA, L.H; IGARASHI, I; FUJISAKI, K; MARUYAMA, S; SAKAI, T; MIKAMI, T. Diagnosis of equine piroplasmiasis 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 (IF), and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Veterinary Parasitology*, v. 20, p. 43-48, 1986.
- YOUNG, A.S.; PURNELL, R.E. Observations on *Babesia equi* in the salivary glands of *Rhipicephalus evertsi*. *Bulletin of Epizootic Diseases in Africa*, v. 21, p. 377-383, 1973.
- ZAPF, F.; SCHEIN, E. New findings in the development of *Babesia (Theileria) equi* (Laveran, 1901) in the salivary glands of the vector ticks, *Hyalomma* species. *Parasitology of Research*, v. 80, p. 543-548, 1994b.
- ZAUGG J. L., LANE V. M. Efficacy of buparvaquone as a therapeutic and clearing agent of *Babesia equi* of European origin in horses. *American Journal of Veterinary Research*. v. 53, n. 8, p. 1396-1399, 1989.

Anexo 1: Número de propriedades por Município com no mínimo cinco equinos

Município	Número de propriedades por Município	Amostra por Município
Aratiba	12	21
Áurea	3	3
Barão de Cotegipe	25	19
Carlos Gomes	4	5
Centenário	6	8
Barra do Rio Azul	20	23
Campinas do Sul	8	10
Erechim	29	26
Cruz Altense	5	4
Entre Rios do Sul	4	4
Herval Grande	40	38
Faxinalzinho	7	9
Gaurama	5	6
Granado do Corneiro	6	6
Itatiba do Sul	30	30
Benjamim Constante do Sul	8	10
Jacutinga	4	5
Marcelino Ramos	17	18
Mariano Moro	6	6
Ipiranga do Sul	19	18
Paulo Bento	11	12
Ponte Preta	5	6
Quatro Irmãos	3	4
São Valentim	12	13
Florianópolis	16	18
Severiano de Almeida	5	7
Três Arroios	3	4
Trindade	18	19
Viadutos	14	16
Charrua	6	7
Erebango	7	8
TOTAL	358	383



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA ANIMAL

ANEXO 2: QUESTIONÁRIO (AO RESPONSÁVEL PELOS ANIMAIS)

INFORMAÇÕES GERAIS SOBRE A PROPRIEDADE

1. Dados gerais:

Nome da propriedade:

Município de localização:

2. Área da propriedade

Total: _____ ha ou _____ alqueires

Utilizada com os equinos: _____ ha ou _____ alqueires

Pastagem cultivada: _____ ha ou _____ alqueires

Pastagem não cultivada: _____ ha ou _____ alqueires

Pastagem nativa: _____ há ou _____ alqueires

3. Alimentação dos animais

() capim () feno () ração

Forrageira do pasto:

Capim gordura: _____ ha ou _____ alqueires

Capim elefante: _____ ha ou _____ alqueires

Pangola: _____ ha ou _____ alqueires

Tifton: _____ ha ou _____ alqueires

Coast cross: _____ ha ou _____ alqueires

Napier: _____ ha ou _____ alqueires

Alfafa: _____ ha ou _____ alqueires

Capim nativo _____ ha ou _____ alqueires

Outros: _____ ha ou _____ alqueires

4. Localização dos animais

() só em baias

() só em piquetes

() baias e piquetes

5. Camas das baias:

() serragem

() areia e carvão

() outro _____

6. Número de divisões do pasto (piquetes): _____

7. Raça.]

() Crioula

() PSI

() Quarto de Milha

() Mangalarga

() Outra.....

8. Número de animais por categoria

Garanhões: _____

Animais castrados (serviço): _____

Potras desmamadas: _____

Potras ao pé: _____

Rufiões: _____

Éguas: _____

Potros desmamados: _____

Potros ao pé: _____

9. Produção de outros animais

() Sim () Não

() Asininos

() Bovinos

() Caprinos

() Bubalinos

() Galináceos

() Muares

() Ovinos

() Suínos

() Outros equinos

() Aves aquáticas

10. Os equinos estão na mesma pastagem de outros animais

() Sim () Não

11. Método de anotação dos animais

() não tem

() fichas

() informatização dos dados

12. Utiliza inseminação artificial

() sim () não

13. Utiliza monta natural

() sim () não

Garanhão próprio

() sim () não

14. Utiliza transferência de embrião

() sim () não

15. Utiliza limpeza de pasto

() sim () não

periodicidade: _____

método: _____

16. Consulta

Veterinário: () sim () não

Agrônomo: () sim () não

Zootecnista: () sim () não

Técnico agrícola: () sim () não

17. Os técnicos são:

() particulares

() cooperativas

- () outros _____
18. Administração da propriedade
() criador
() administrador contratado
() outro _____
19. Quanto a mão-de-obra?
() familiar
() familiar e contratada
() somente contratada
20. Quem cuida do(s) animais? _____
21. Ha quanto tempo existe a criação? _____
22. Percentual de animais nascido na propriedade _____
23. Abriga animais de outros haras?
() sim () não
- Ficam em áreas separadas?
()sim () não
24. Qual a finalidade de criação dos eqüídeos?
()Lazer ()Leilões
()Trabalho ()Participação em rodeios
()Outros _____
25. Quanto à participação em rodeios, qual a periodicidade destes eventos?
()Uma vez ao ano ()Três vezes
()Duas vezes ()Outro _____

INFORMAÇÕES SOBRE DOENÇAS

1. Quais as doenças que ocorreram nos últimos três anos _____

2. Quais doenças consideram mais importantes _____

3. Qual a época mais propicia ao aparecimento de doenças?
() verão () outono () inverno () primavera
4. Qual o tratamento utilizado para as doenças? _____
5. Qual das parasitoses considera mais importante (ordem crescente)
()carrapatos
()verminose
()mosca dos estábulos
6. Qual a época mais propicia ao aparecimento de carrapatos?

verão outono inverno primavera

7. Qual a época mais propícia ao aparecimento de verminose?

verão outono inverno primavera

8. Qual a época mais propícia ao aparecimento de moscas?

verão outono inverno primavera

9. Uso de métodos de diagnóstico de parasitoses

sim não

exame de fezes periódicos

outro _____

10. Uso de métodos de controle da verminose

sim não

11. Medidas de manejo:

limpeza de pastagem

retirada das fezes nas baias

retirada das fezes nos piquetes

uso de esterqueira

controle químico de ectoparasitos

rotação de pastagem

consórcio de pastagem

troca de cama nas baias

adubação das pastagens

12. Uso de vermífugação

i. sim não

ii. Baseado em:

iii. aspecto dos animais

iv. perda de peso verificada

v. época determinada

vi. outros _____

13. Com que frequência é ou são usado(s) o(s) produto(s)?

1x/mês

3 a 4 x/ano

a cada 6 meses

1x/ano

outro: _____

14. Usa produtos carrapaticidas?

sim não

15. Com que frequência é ou são usado(s) o(s) produto(s)?

1x/mês

3 a 4 x/ano

a cada 6 meses

1x/ano

() outro: _____

16. Tipo de equipamento utilizado para aplicação do carrapaticida?

Banheiros () Bretes ()

Bomba manual () Pour-on ()

Bomba mecânica()

17. Você banha todos os animais ou somente os que apresentam mais carrapatos?

a- todos os animais ()

b- mais parasitados ()

18. Banha todo o corpo do animal?

a- corpo todo ()

b- somente as partes que tem mais carrapatos ()

19. Quantos animais você banha com 20 litros (volume de uma bomba costal) do carrapaticida diluído? _____

20. Você contém os animais quando o produto está sendo aplicado?

()sim () não

21. Qual o intervalo entre os banhos? _____

22. Qual a marca de carrapaticida utilizada?

() Barrage

() Bayticol Por-on

() Butox

() Butox Pour-on

() Cipertrim

() Cipertrim Pour-on

() Cypermil

() Cypermil plus

() Cypermil Pour-on

() Ectomin

() Ectoplus

() Ectoplus Pour-on

() Ultimate

() Ultimate Plus

() Ultimate Pour-onl

() Supocade

() Triatox

() Amitracide

() Ectop

() Nokalt

() Avotan

() Ivotan plus

() Ivomec

() qq produto a base de ivermectina

()outro: _____

23. Quais os produtos usados o ano passado

() Amitracide

() Bayticol Por-on

() Barrage

() Cipertrim

() Cipertrim Pour-on

() Cypermil

() Cypermil plus

() Cypermil Pour-on

() Ectomin

() Ectop

() Ectoplus

() Ectoplus Pour-on

() Nokalt

() Supocade

() Triatox

() Ultimate

() Ultimate Pour-onl

() Ultimate Plus

() Avotan

() Ivotan plus

() Ivomec

() qq produto a base de ivermectina

()outro: _____

24. Quais os produtos usados na última descarrapatização

- Amitracide
- Bayticol Por-on
- Barrage
- Cipertrim
- Cipertrim Pour-on
- Cypermil
- Cypermil plus
- Cypermil Pour-on
- Ectomin
- Ectop
- Ectoplus
- Ectoplus Pour-on
- Nokalt
- Supocade
- Triatox
- Ultimate
- Ultimate Pour-onl
- Ultimate Plus
- Avotan
- Ivotan plus
- Ivomec
- qq produto a base de ivermectina
- outro: _____

25. Na última descarrapatização qual o critério para a escolha do carrapaticida?

- Recomendação do Criador
- Recomendação da Associação
- Recomendação do Veterinário da Cooperativa
- Recomendação do Veterinário do Haras
- Recomendação das Revistas especializadas: _____
- Recomendação de outros criadores
- Recomendação de vendedores de lojas de produtos veterinários
- Recomendação de programas de rádio e TV
- Era o único disponível
- Era o mais barato
- outros _____

26. Escolha da dose utilizada em cada animal

- Consulta o rótulo
- Consulta o Veterinário
- Consulta de outros criadores
- Consulta os vendedores de lojas de produtos veterinários
- outros _____

27. Existe algum produto que já usou e não usa mais?

- sim não

Qual? _____

28. Porque parou de usar o produto?

- efeito indesejável _____ Custo alto
- não encontra mais nas lojas não surge efeito
- outros: _____

29. Pretende continuar com o mesmo esquema de controle?

- sim não

30. Se um outro método estivesse disponível tentaria usá-lo?

- sim não