

VARIAÇÃO DA SOROTITULAÇÃO AO TESTE DE FIXAÇÃO DE COMPLEMENTO PARA *Babesia equi* E *Babesia caballi* EM EQUÍNOS DA REGIÃO SERRANA DO RIO DE JANEIRO

(VARIATION OF SEROTITULATION TO COMPLEMENT FIXATION TEST FOR *Babesia equi* AND *Babesia caballi* IN EQUINES OF MOUNTAIN REGION OF RIO DE JANEIRO, BRAZIL)

(VARIACIÓN DE LA TITULACIÓN SÉRICA AL TESTE DE FIJACIÓN DE COMPLEMENTO PARA *Babesia equi* Y *Babesia caballi* EN EQUINOS DE LA REGIÓN SERRANA DE RIO DE JANEIRO, BRASIL)

M.A.V. DA COSTA PEREIRA¹, C. L. MASSARD², J. L. H. FACCINI²,
L. F. G. SIQUEIRA³

RESUMO

Este estudo analisou a variação da sorotitulação de 248 animais com suspeita de babesiose equina, por meio do teste de Fixação de Complemento (FC), em cavalos da raça Puro Sangue Inglês (PSI), com a idade entre quatro a seis anos, pertencentes a grandes estabelecimentos equestres (haras e centro de treinamento), da região Serrana do estado do Rio de Janeiro, no período de 1995 a 1997. A queda de desempenho foi evidenciada em 70,0% (174) dos cavalos soropositivos a FC para as babesioses equinas, durante o período experimental. A frequência global média de sororreagentes à *Babesia equi* (Laveran, 1901) foi 21,0% e à *Babesia caballi* (Nuttall & Strickland, 1912) 6,4%, para os estabelecimentos estudados. Houve antagonismo entre as duas babesias. Na variação da sorotitulação o escore de grau quatro (100% de fixação de complemento) foi o mais frequente para *B. equi*, nos estabelecimentos A (Petrópolis) e B (Teresópolis), e para *B. caballi*, no haras C (Nova Friburgo). As espécies de carrapatos identificadas foram *Amblyomma cajennense* e *Anocentor nitens*, com amplo predomínio da primeira.]

PALAVRAS-CHAVE: *Babesia equi*. *Babesia caballi*. Equino.

SUMMARY

This study analyzed the variation of serotitulation of 248 animals with suspected equine babesiosis, through the Complement Fixation Test (CFT) for Troughbread horses, aging four and six years, pertaining to great equestrian establishments (haras and center of training) in the mountain region of Rio de Janeiro State, Brazil, from 1995 to 1997. The reduction of performance was the first signal evidence in 70.0% (174) of the horses positives to the equine CFT for babesiosis during the experimental period. The average global frequency of serum reagents for *Babesia equi* (Laveran, 1901) was 21%, whereas for *Babesia caballi* (Nuttall & Strickland, 1912) was 6.4% in the studied establishments. There was an antagonism between the two *Babesia* sp. In the variation of the serotitulation was evidenced props up of degree four (100% of complement fixation) as the most frequent for *B. equi*, in the establishments A (Petrópolis) and B (Teresópolis), and for *B.*

¹ Universidade Estadual do Norte Fluminense - Darcy Ribeiro. Laboratório de Sanidade Animal, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Universidade Estadual do Norte Fluminense - Darcy Ribeiro (UENF). Avenida Alberto Lamego, 2000, 28013-600, Campos dos Goytacazes, RJ. Tel.: (22) 2726-1679. End.Eletrôn.: angel@uenf.br

² Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

³ Jockey Club Brasileiro.

caballi, in haras C (Nova Friburgo). The species of ticks were identified as *Amblyomma cajennense* and *Anocentor nitens*, with ample predominance of the first one.

KEY-WORDS: *Babesia equi*. *Babesia caballi*. Equine.

RESUMEN

Este estudio analizó la variación de la titulación sérica de 248 animales con sospecha de babesiosis equina, por medio del teste de Fijación de Complemento (FC), en caballos de la raza Puro Sangre Inglés (PSI), con edad entre cuatro y seis años, pertenecientes a grandes establecimientos ecuestres (haras y centro de entrenamiento) de la región serrana del Estado de Rio de Janeiro, Brasil, en el período de 1995 a 1997. La disminución del desempeño fue evidenciada en 70,0% (174) de los caballos seropositivos a FC para babesiosis equina, durante el período experimental. La frecuencia global media de serorreagentes a *Babesia equi* (Laveran, 1901) fue 21,0% y a *Babesia caballi* (Nuttall & Strickland, 1912) 6,4%, para los establecimientos estudiados. Hubo antagonismo entre las dos babesias. En la variación de la titulación sérica el escore de grado cuatro (100% de fijación de complemento) fue el más frecuente para *B. equi*, en los establecimientos A (Petrópolis) y B (Teresópolis), y para *B. caballi* en el haras C (Nova Friburgo). Las especies de garrapatas identificadas fueron *Amblyomma cajennense* y *Anocentor nitens*, con amplio predominio de la primera.

PALABRAS-CLAVE: *Babesia equi*. *Babesia caballi*. Equino.

INTRODUÇÃO

No Brasil, a babesiose equina é considerada endêmica, especialmente nos rebanhos soltos a campo. Kerber et al. (1997) relataram que 90% dos animais são soropositivos para as babesioses, em criações extensivas nas regiões Norte, Nordeste, Centro-oeste e Sudeste. A prevalência de babesiose é bastante distinta nas diferentes regiões do País, como demonstraram, por exemplo, estudos realizados no Rio de Janeiro e em Minas Gerais, em que 85,0 a 100,0% dos equinos examinados pelo teste de Fixação de Complemento (FC) foram portadores de *Babesia sp.*, enquanto no Rio Grande do Sul, o percentual de soropositivos variou de 30,0 a 50,0%, predominando a *B. equi* (ANPC, 1996).

A doença tem ampla distribuição geográfica. Estima-se que apenas 10% da população mundial de equinos vivem em áreas livres de carrapatos e babésias (FRIEDHOFF et al., 1990).

O cavalo Puro Sangue Inglês (PSI) é uma raça geneticamente apurada, o que lhe confere uma grande sensibilidade às infestações por carrapatos, que espoliam e transmitem patógenos (DA COSTA PEREIRA, 1999).

Hirato et al. (1945) foram os primeiros a aplicar a FC para o diagnóstico das babesioses equinas. Em 1969 a FC foi aceita como teste oficial para piroplasmoses equinas pelo "United State of Department Agriculture" (USDA), sendo reconhecido mundialmente (FRIEDHOFF et al., 1990, USDA, 1992). As amostras de *B. equi* e *B. caballi* utilizadas na FC foram isoladas de equinos naturalmente infectados da Flórida (KLINCKMANN, 1981, TENTER, 1984).

Cavalos PSI são mais susceptíveis à doença do que equinos de raças mais rústicas e mestiças, havendo alta taxa de mortalidade e morbidade entre raças especializadas. O retorno às condições normais de trabalho

é prejudicado, não só pela enfermidade, mas também, pelo o tratamento quimioterápico com superdosagens de drogas babesicidas, principalmente em portadores de *B. equi* (ABDOON et al., 1992).

Em regiões altamente endêmicas, os casos graves em PSI ocorrem, geralmente, na primo-infecção, quando os potros perdem a proteção dos anticorpos maternos. A infecção nesse caso ocorre com manifestações clínicas mais acentuadas e um quadro clínico mais brando se apresenta em futuras recidivas, tornando-se os animais portadores assintomáticos para *B. equi.*, os quais, por sua vez, podem servir como fonte de infecção, já que o agente causal não é quimioesterilizável (ANPC, 1996).

O objetivo deste trabalho foi analisar o nível de anticorpos na sorotitulação, por meio da FC, em equinos PSI pertencentes a grandes estabelecimentos equestres da região Serrana do Estado do Rio de Janeiro.

MATERIAL E MÉTODOS

Neste estudo utilizaram-se 248 equinos, PSI, que foram submetidos à sorologia para diagnóstico das babesioses equinas, por meio da FC - "screening-test" (HOLBROOK et al., 1973), no período de 1995 a 1997. Animais, de ambos os sexos, apresentavam idade cronológica de quatro a seis anos, e pertenciam a três grandes estabelecimentos equestres (haras e centro de treinamento) localizados em diferentes municípios da região Serrana do Estado do Rio de Janeiro: Petrópolis (centro de treinamento A) com 105 equinos, Teresópolis (haras B) com 71 e Nova Friburgo (haras C) com 72.

A coleta do sangue foi realizada através do sistema "vacutainer". Os soros eram acondicionados em tubos de ensaio de 5 ml, e mantidos à temperatura de 4°C em caixas

apropriadas contendo gelo. Após a coleta, foram enviados por via aérea a laboratório de análises clínicas veterinárias, em São Paulo, SP, credenciado pelo Ministério da Agricultura do Brasil (MAARA) e pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos da América (USDA), para realizar diagnóstico das babesioses eqüinas.

Foram utilizados antígenos específicos padronizados de *B. caballi* e *B. equi* (USDA), para execução da técnica imunológica de fixação de complemento, indicada para diagnosticar e identificar animais portadores.

A fixação de complemento foi graduada da seguinte forma: escore de grau 4 (++++), 100% de fixação de complemento; de grau 3 (+++), 75%; de grau 2 (++), 50%; de grau 1 (+), 25%; traços, 10% e negativo, não fixou complemento.

Os resultados obtidos foram analisados estatisticamente por meio de análise quantitativa relativa à avaliação do nível de anticorpos na sorotitulação, utilizando o teste do qui-quadrado (χ^2) (VIEIRA, 1998).

A fauna acarológica dos eqüinos foi identificada pela chave taxionômica de Aragão (1945), citado por Da Costa Pereira (1999).

RESULTADOS

Os dados referentes ao número de cavalos soropositivos, total de cavalos examinados e variação da

sorotitulação para piroplasmoses eqüinas, nos três estabelecimentos estudados, estão expressos nas Tabelas 1, 2, 3 e 4.

DISCUSSÃO

A FC, como todo ensaio de imunodiagnóstico, possui falhas, sendo considerados os falsos positivos ou negativos. Os falsos positivos estão relacionados a soros de potros que apresentam anticorpos maternos adquiridos via colostro por imunidade passiva e que, com o tempo, reduzem até desaparecerem (DONNELLY et al., 1982), o que entretanto, não ocorre no presente trabalho, em que estudam apenas eqüinos adultos. Há vários fatores que induzem a um diagnóstico falso negativo, como a produção de imunoglobulinas menos hábeis em fixar o complemento e o uso de drogas babesicidas.

Neste trabalho, o número de animais portadores poderia ter sido maior, visto que o teste não detecta eqüinos assintomáticos, em que a infecção é latente, sendo assim, estes animais apresentariam uma maior produção de anticorpos da classe IgG de resposta secundária e, principalmente, das subclasses IgG₂, IgG₄ e IgG(T), que não são hábeis fixadoras de complemento (MCGUIRE et al., 1971, ROITT, 1998).

Em animais portadores de *B. caballi* é de fato verificado o declínio da produção de anticorpos, sendo o eqüino tratado com drogas babesicidas ou não. Ocorre a eliminação

Tabela 1 - Número de eqüinos da raça Puro Sangue Inglês soropositivos à Fixação de Complemento para babesiose eqüina/número total de eqüinos examinados, pertencentes a três estabelecimentos esportivos (A, B e C), situados na região serrana do Estado do Rio de Janeiro, no período de 1995 a 1997.

Microrregião (haras)	<i>Babesia equi</i> (animais soropositivos/ total examinados)				<i>Babesia caballi</i> (animais soropositivos/ total examinados)			
	1995	1996	1997	Total	1995	1996	1997	Total
Petrópolis (centro de treinamento A)	5/20	3/35	10/50	18/105	0/20	2/35	6/50	8/105
Teresópolis (haras B)	9/18	6/18	15/35	30/71	0/18	1/18	0/35	1/71
Nova Friburgo (haras C)	2/35	0/27	2/10	4/72	5/35	1/27	1/10	7/72
Total	16/73	9/80	27/95	52/248 (21,0%)	5/73	4/80	7/95	16/248 (6,4%)

Tabela 2 - Variação da sorotitulação ao teste de Fixação de Complemento para babesiose eqüina, no centro de treinamento A (Petrópolis), no período de 1995 a 1997.

Escore	<i>Babesia equi</i>		
	1995	1996	1997
4 (++++)	0	2 (66,7%)	3 (30,0%)
3 (+++)	0	0	2 (20,0%)
2 (++)	2 (40,0%)	0	1 (10,0%)
1 (+)	2 (40,0%)	0	2 (20,0%)
Traços	1 (20,0%)	1 (33,3%)	2 (20,0%)
Total	5 (25,0%)	3 (6,0%)	10 (20,0%)

Escore	<i>Babesia caballi</i>		
	1995	1996	1997
4 (++++)	0	0	0
3 (+++)	0	1 (50,0%)	1 (16,7%)
2 (++)	0	1 (50,0%)	2 (33,3%)
1 (+)	0	0	3 (50,0%)
Traços	0	0	0
Total	0	2 (5,6%)	6 (12,0%)

Tabela 3 - Variação da sorotitulação ao teste de Fixação de Complemento para babesiose eqüina, no haras B (Teresópolis), no período de 1995 a 1997.

Escore	<i>Babesia equi</i>		
	1995	1996	1997
4 (++++)	0	3 (50,0%)	4 (26,7%)
3 (+++)	3 (33,3%)	2 (33,3%)	3 (20,0%)
2 (++)	3 (33,3%)	1 (16,7%)	4 (26,7%)
1 (+)	2 (22,2%)	0	1 (6,7%)
Traços	1 (11,1%)	0	3 (20,0%)
Total	9 (50,0%)	6 (33,1%)	15 (42,0%)

Escore	<i>Babesia caballi</i>		
	1995	1996	1997
4 (++++)	0	0	0
3 (+++)	0	0	0
2 (++)	0	0	0
1 (+)	0	0	0
Traços	0	1	0
Total	0	1 (5,5%)	0

Tabela 4 - Variação da sorotitulação ao teste de Fixação de Complemento para babesiose eqüina, no haras C (Nova Friburgo), no período de 1995 a 1997.

Escore	<i>Babesia equi</i>		
	1995	1996	1997
4 (++++)	0	0	1 (50,0%)
3 (+++)	0	0	0
2 (++)	2	0	0
1 (+)	0	0	1 (50,0%)
Traços	0	0	0
Total	2 (5,6%)	0	2 (20,0%)

Escore	<i>Babesia caballi</i>		
	1995	1996	1997
4 (++++)	2 (40,0%)	1	0
3 (+++)	1 (20,0%)	0	0
2 (++)	0	0	0
1 (+)	2 (40,0%)	0	0
Traços	0	0	1
Total	5 (18,5%)	1 (4,0%)	1 (10,0%)

espontânea do parasito com intervalo médio de três a 15 meses (FRIEDHOFF et al., 1990, BRÜNNING, 1996).

O uso de superdosagens de drogas babesicidas (dipropionato de imidocarb - Imizol) em portadores de *B. equi* acarretaria uma diminuição da parasitemia por um período médio de três meses a níveis relativamente baixos em que a produção de anticorpos se reduziria, não podendo ser detectada pela FC, sendo necessária a utilização de testes mais sensíveis para o diagnóstico, como o ELISA Competitivo e PCR (KNOWLES, 1988, ANPC, 1996, DA COSTA PEREIRA, 2002).

A ocorrência de babesiose eqüina nos três estabelecimentos estudados, no período de 1995 a 1997, apresentou características próprias, como a inexistência de portadores de infecções mistas. A proporção de animais infectados por *B. equi* foi significativa (52 animais - 21,0%), sendo evidenciado o escore quatro nos haras A e B; já no haras C a ocorrência de *B. caballi* foi maior.

Segundo Hipólito et al. (1965), Soulsby (1987) e DA Costa Pereira (2002), há uma relação inversamente proporcional entre as infecções causadas pelos dois tipos de babésias, ou seja, quando a proporção de eqüinos portadores de infecção por *B. equi* aumenta, a ocorrência de portadores de *B. caballi* diminui e vice-versa. Essa diferença foi corroborada pelos dados obtidos no haras B no ano de 1996. Nesse ano, houve diminuição do número de infecções por *B. equi*, porém ocorreu aumento dos casos de *B. caballi*.

A não observação de infecção mista em estabelecimentos de grande porte, possivelmente está

relacionada com a homogeneidade do plantel. Neste caso os animais teriam nascidos, criados e treinados em uma mesma região, como ocorre no haras C (Nova Friburgo), não estando expostos a grandes variações ambientais e contatos com carrapatos. Knowles (1988) imputa ao movimento de cavalos como fator de risco para que os animais venham a contrair as babesioses, o que também foi evidenciado por Da Costa Pereira (1999).

Nos estabelecimentos A e B foi encontrado o carrapato *Amblyomma cajennense* parasitando eqüinos e no pasto. No haras C a maior ocorrência foi de *Anocentor nitens*, o que corrobora com Pfeiffer et al. (1992) no Rio de Janeiro e Linhares (1994) em Goiás, que inquiriram este vetor como potencial transmissor de *B. caballi*.

CONCLUSÃO

A soropositividade para *B. equi* foi maior do que para *B. caballi*, no período estudado. Quanto à sorotitulação, o escore de grau quatro foi mais evidenciado para a primeira, possivelmente devido à variação de patogenicidade das cepas. Foi observado o antagonismo entre as babésias. Os vetores encontrados foram *A. cajennense* e *A. nitens*, sendo evidenciada também, quando o segundo ocorre, a presença de *B. caballi*. A presença de *B. equi* não só é um entrave no comércio externo de cavalos, mas também seria um fator predisponente à queda de desempenho em cavalos PSI, evidenciada por meio da classificação nas provas realizadas no Jockey Club

Brasileiro.

ARTIGO RECEBIDO: Agosto / 2004

APROVADO: Agosto / 2005

REFERÊNCIAS

ABDOON, A.M.O., OSMAN, O.M., EL-WASSEILA, M. The epidemiology of equine piroplasmosis in Khartoum District, Sudan. I - Tick prevalence and their parasite rate. **Bulletin Animal Health Production African**, v.40, p.11-4, 1992.

ANPC. **Babesiose equina. Caracterização da doença e avanço na pesquisa.** São Paulo: Associação Nacional de Proprietários de Cavalos de Corrida, 1996. 16p.

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

DA COSTA PEREIRA, M.A.V. **Prevalência de Babesia equi (Laveran, 1901) e Babesia caballi (Nuttall & Strickland, 1912) em equinos da raça PSI.** Seropédica, RJ. 1999. 95p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

DA COSTA PEREIRA, M.A.V. Indicações e contra-indicações no tratamento de babesiose equina em cavalos. **Revista Campolina Horse**, v.13, p.14-15, 2002.

DONNELLY, J., PHILIPPS, L.P., WATKINS, K.L. Evidence of maternal antibodies to *B. equi* and *B. caballi* in foals of seropositive mares. **Equine Veterinary Journal**, v.14, n.2, p.126-128, 1982.

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

HIPÓLITO, O., FREITAS, M.G., FIGUEIREDO, J.B. **Doenças infecto-contagiosas dos animais domésticos.** 4. ed. São Paulo, Melhoramentos, 1965. 596p.

HIRATO, K., NONOMIYA, N., UWANO, Y., KUTH, T. Studies on the complement fixation reaction for equine piroplasmosis. **Japanese Journal of Veterinary Science**, v.77, p.204-205, 1945.

HOLBROOK, A.A., FRERICHS, W.M., ALLEN, P.C. Laboratory diagnosis of equine piroplasmosis. In: INTERNATIONAL CONFERENCE OF EQUINE

INFECTIONS DISEASE, 3., 1973, Kentucky, USA. **Resumos...** p.467-475.

KERBER, C.E., FERREIRA, F., PEREIRA, M.C. Control of equine piroplasmosis in endemic countries. In: WORLD EQUINE VETERINARY CONGRESS, 1997, Padova, Itália. **Resumos...** p.270.

KLINCKMANN, G. Sporozitenstabilate von *Babesia equi* aus *Hyalomma anatolicum anatolicum* und *Rhipicephalus turanicus*. Hanover, GE. 215p. Tese (Doutorado) - Scholl Veterinary Medicine.

KNOWLES, R.C. Equine babesiosis: epidemiology, control and chemotherapy. **Equine Veterinary Science**, v.8, p.61-64, 1988.

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

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

PFEIFER, I.B., FIREDHOFF, 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, Brasil. **Arquivos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro**, v.15, p.105-107, 1992.

ROITT, I.M. **Imunologia. Essential imunology.** 5. ed. São Paulo, Editora Atheneu, 1998. 294p.

SOULSBY, E.J.L. Parasitologia y enfermedades parasitarias - en los animales domesticos. 7.ed. México: Interamericana, 1987. 820p.

TENTER, A.M. **Serodiagnose experimenteller und natürlicher piroplasmeninfektionen der pferde.** Hanover, GE. 1984. 127p. Tese (Doutorado) - Scholl Veterinary Medicine.

USDA. Animal and plant health inspection service, veterinary services (1992), piroplasmosis, dourine and glanders. Complement fixation test - micromethod. Ames: National Veterinary Services Laboratories, 1992. 32p.

VIEIRA, S. **Introdução à bioestatística.** 3. ed. Rio de Janeiro, Editora Campos, 1998. 196p.