

**ESTUDOS SOBRE A EPIZOOTIOLOGIA DE *Babesia caballi*
(NUTTALL & STRICKLAND, 1910) NA MICRORREGIÃO DE
GOIÂNIA, ESTADO DE GOIÁS¹**

Guido Fontgalland Coelho Linhares², Carlos Luiz Massard³ e
José Luiz de Barros Araújo³

ABSTRACT

Studies on the Epizootiology of *Babesia caballi*, in the Micro-Region of Goiânia, State of Goiás, Brazil.

A serological study of *Babesia caballi* was performed in 512 serum samples of equines in the micro-region of Goiânia. The prevalence of antibodies anti-*Babesia caballi* determined by the immunofluorescent antibody test was 90,8%, i.e. 465 out of 512 serum were positive. All serum were tested in dilutions ranging from 1:40 to 1:2560. The most frequent titer was 1:320. No statistically significant differences were observed among age groups, breeds, species and sex. Based on these results the region was characterized as a highly enzootic area for *B. caballi*. The economic importance of the disease in the region was considered to be related to the potencial risk that it shows for susceptible animals imported from free areas.

KEY WORDS: *Babesia caballi*, babesiosis, equine, apicomplexa, Babesiidae, serology.

RESUMO

Foi realizado um estudo sorológico de *Babesia caballi* em uma amostra de 512 soros de eqüídeos da microrregião de Goiânia. A prevalência de anticorpos anti-*B. caballi*, determinada através da reação de imunofluorescência indireta, foi de 90,8%, correspondendo a 465 soros positivos. Os soros foram testados nas diluições de 1:40 a

1 – Entregue para publicação em Agosto de 1997.

2 – Escola de Veterinária DA Universidade Federal de Goiás, C. P. 131. CEP. 74001-970 Goiânia - GO.

3 – Instituto de Biologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, CEP. 23851-970.

1:2560. O título mais freqüente foi 1:320. Não foi verificada nenhuma diferença estatisticamente significativa entre os resultados para diferentes faixas etárias, raças, espécies ou sexo. De acordo com estes resultados a região estudada foi caracterizada como uma área de elevada estabilidade enzoótica para *B. caballi*. Conclui-se, portanto, que a maior importância econômica da enfermidade causada por este parasito, na microrregião de Goiânia, se concentra no risco em potencial que expõe a animais suscetíveis importados de áreas livres da infecção.

PALAVRAS-CHAVE: *Babesia caballi*, equino, apicomplexa, Babesiidae, sorologia.

INTRODUÇÃO

O protozoário *Babesia caballi* (Nuttall & Strickland 1910) é responsável por um quadro infeccioso em equídeos, que se caracteriza, principalmente, por anemia hemolítica. É um parasito intra-eritrocitário, transmitido por algumas espécies de carrapatos dos gêneros *Dermacentor* (= *Anocentor*), *Hyalomma* e *Rhipicephalus*. Apresenta ampla distribuição geográfica, sendo freqüente em países de clima tropical e subtropical, assim como em algumas regiões temperadas do Velho Mundo (De Waal 1992).

Considera-se que a maior importância econômica da babesiose equina está no risco de sua dispersão, através do movimento de animais de áreas enzoóticas para áreas livres. Países livres adotam rígidas restrições na importação de equídeos de áreas enzoóticas (Weiland 1986, Kuttler 1988, Friedhoff *et al.* 1990, De Waal 1992).

A enfermidade é enzoótica em toda a América Latina com exceção do sul do Chile e sul da Argentina, ocorrendo, portanto, em todas as áreas de distribuição geográfica do carrapato transmissor *Anocentor nitens*. Os Estados Unidos e Canadá são livres de *B. caballi*, no entanto mantêm permanente estado de vigilância epidemiológica (Rudolph *et al.* 1975, Friedhoff *et al.* 1990).

No Brasil, o primeiro diagnóstico de *B. caballi* foi feito por Costa & Mello (1963) em um cavalo enfermo no Estado do Rio de Janeiro. Posteriormente, outros registros foram feitos por Lima *et al.* (1976), em Minas Gerais, e Rocha *et al.* (1988), em Pernambuco. Alta percentagem de cavalos reagentes sorologicamente foi verificada por Tenter & Friedhoff (1986), nos Estados do Espírito Santo e Rio de Janeiro, assim como por Pfeifer Barbosa (1993) e Pfeifer Barbosa *et al.* (1995), no Rio de Janeiro.

Para a região Centro-Oeste, local de desenvolvimento deste trabalho, não há, até o momento, nenhuma referência na literatura sobre o assunto.

O trabalho teve como objetivo principal desenvolver estudo epizootiológico da babesiose equina por *B. caballi*, através de levantamento sorológico, em rebanhos de equídeos criados em condições naturais de cerrado, visando ao registro de dados que possam ser utilizados no controle, bem como à avaliação da importância econômica da enfermidade na região.

MATERIAL E MÉTODOS

O levantamento sorológico foi realizado na microrregião de Goiânia, Estado de Goiás, onde prevalece a característica fisiográfica do cerrado, sendo constituída pelos seguintes municípios: Goiânia, Trindade, Guapó, Aragoiânia, Aparecida de Goiânia, Hidrolândia, Bela Vista, Senador Canedo, Bonfinópolis, Leopoldo de Bulhões, Santa Tereza, Nerópolis e Goianira (Indur 1991).

O tamanho da amostra foi calculado segundo metodologia do Centro Panamericano de Zoonoses (1973). Adotaram-se os valores de 95% para o grau de confiança, 10% para o erro admitido e uma prevalência esperada de 90%, determinada através de pré-experimento, aplicando-se o teste sorológico em 100 amostras de soro de eqüídeos da região.

As amostras foram colhidas em 48 propriedades rurais, em criações extensivas e semi-extensivas. De cada animal foi colhida uma amostra de sangue sem anticoagulante, por punção da veia jugular, em tubos de vidro de 15 ml. Após, aproximadamente, duas horas de repouso, as amostras foram centrifugadas (3.000 rpm por 5 minutos) para a separação dos soros, sendo estes mantidos à temperatura de -20 °C, por um período máximo de dois meses, até a realização do exame sorológico.

Os dados referentes aos animais e às propriedades foram registrados na ficha de colheita de material.

Para a determinação da prevalência de anticorpos anti-*B. caballi*, utilizou-se a reação de imunofluorescência indireta (RIFI), conforme protocolo de Tenter & Friedhoff (1986). Os antígenos de *B. caballi* utilizados foram preparados conforme Tenter *et al.* (1988), utilizando-se parasitos mantidos em meio de cultura. As hemácias foram submetidas a 5 lavagens em solução salina tamponada e a diluição determinada em 1:40, por apresentar concentração satisfatória de parasitos (aproximadamente 3%).

O conjugado anti-IgG eqüína, marcado com isotiocianeto de fluoresceína (FITC - Sigma), foi utilizado na diluição de 1:80, conforme resultado de titulação prévia.

Os soros foram testados nas diluições de 1:40 a 1:2.560. Como diluente, foi utilizada salina tamponada, adicionada de azul de Evans na proporção de 1:1.000.

As leituras das lâminas foram feitas em microscópio de epifluorescência² com objetiva de 50x e ocular de 10x.

Como controles negativos para o teste foram utilizadas amostras de soro de um cavalo livre de infecção, proveniente do Estado do Alabama, Estados Unidos. Os controles positivos foram obtidos de dois cavalos, 45 dias após o diagnóstico de *B. caballi* ao exame do esfregaço sanguíneo, no Laboratório de Doenças Parasitárias da Escola de Veterinária-Universidade Federal de Goiás.

Os resultados foram submetidos a avaliações quantitativas, pelo teste do qui-quadrado (X^2), para a verificação de possíveis associações entre os fatores espécie, raça, idade e sexo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas propriedades rurais visitadas foram colhidas, no total, 512 amostras de sangue de equídeos. Este número é superior ao mínimo recomendado pelo Centro Panamericano de Zoonoses (1973) para estudos de prevalência.

Os estudos sorológicos detectaram, na população estudada, uma prevalência de anticorpos fluorescentes anti-*B. caballi* de 90,8% (465 amostras positivas entre 512 testadas), na população de equídeos estudada, independente de raça, sexo, idade e espécie.

De acordo com os resultados obtidos neste trabalho e com base nos conceitos descritos por Mahoney & Ross (1972) para babesiose bovina, a região estudada se caracteriza como área de elevada estabilidade enzoótica para a babesiose equina por *B. caballi*.

Resultados semelhantes têm sido registrados por outros pesquisadores na América Latina. Hourrigan & Knowles (1979) observaram que aproximadamente um terço dos cavalos provenientes da América Central, América do Sul e Caribe são reagentes ao teste de fixação do complemento e registraram uma prevalência de 89% para *B. caballi* em Porto Rico. Na Colômbia, Tenter & Friedhoff (1986) observaram prevalência de 98% pela RIFI.

Outras publicações relataram taxas de prevalência muito inferiores como Miranda (1986), que observou 33,6% de positivos para *Babesia* spp no ano de 1980 e 24,3% em 1983, na Província de Formosa (Argentina).

No Brasil, Tenter & Friedhoff (1986) encontraram 64% de soros positivos, pela RIFI, no Espírito Santo e Rio de Janeiro. Ainda no Rio de Janeiro, Pfeifer Barbosa (1993) observou 70% pela RIFI e Pfeifer Barbosa *et al.* (1995) verificaram taxas entre 59,5% e 65,5%, pela técnica de Western blot.

Diferenças regionais nas taxas de prevalências são interpretadas como resultado da influência de fatores relacionados ao ambiente e tipo de manejo.

Não foi observada diferença estatisticamente significativa da prevalência entre os diferentes grupos etários, espécies ou sexo (Tabelas 1, 2, 3).

Os títulos positivos ocorreram entre 1:40 e 1:2560, sendo que o mais frequente foi o de 1:320 (Tabela 4). Estes resultados estão dentro da faixa esperada para estudos de população, de acordo com Weiland (1986).

Tabela 1 – Frequência absoluta e relativa de soros positivos à reação de imunofluorescência indireta para *B. caballi*, com relação às diferentes faixas etárias, em eqüídeos da microrregião de Goiânia.

Faixa etária	N.º animais	Frequência	
		Absoluta	Relativa
< 2m	13	12	92,3%
2 - 4m	29	27	93,1%
5 - 7m	26	23	88,5%
8 - 11m	55	51	92,7%
12-24m	88	81	92,0%
>2 <10a	215	193	89,2%
10a	86	78	90,6%
Total	512	465	90,8%

Tabela 2 – Frequência absoluta e relativa de soros positivos à reação de imunofluorescência indireta (RIFI) para *B. caballi* com relação às diferentes espécies de eqüídeos da microrregião de Goiânia.

Espécie	Amostras	Soros reagentes
Eqüina	483	437 (90,5%)
Asinino	003	003 (100,0%)
Muar	026	025 (96,2%)
Total	512	465 (90,8%)

Tabela 3 – Frequência absoluta e relativa dos soros positivos à reação de imunofluorescência indireta (RIFI) para *B. caballi* com relação ao sexo de eqüídeos da microrregião de Goiânia.

Sexo	Amostras	Soros reagentes
Macho	197	180 (91,4%)
Fêmea	315	285 (90,5%)
Total	512	465 (90,8%)

Tabela 4 – Frequência de soros positivos à reação de imunofluorescência indireta para *B. caballi* de acordo com títulos em eqüídeos da microrregião de Goiânia.

Título	Frequência	
	Absoluta	Relativa
1: 40	45	9,7%
1: 80	53	11,4%
1: 160	79	17,0%
1: 320	98	21,1%
1: 640	82	17,6%
1:1280	71	15,3%
1:2560	37	8,0%
TOTAL	465	100,0%

CONCLUSÕES

De acordo com os resultados referentes à prevalência sorológica observada em eqüídeos de diferentes faixas etárias, raças e sexo, no rebanho estudado, conclui-se que a microrregião de Goiânia apresenta características de elevada estabilidade enzoótica para a babesiose eqüina por *Babesia caballi*. Podem ser considerados, portanto, pequenos os riscos de ocorrência de surtos epizootiológicos com perdas econômicas significativas. No entanto, a alta prevalência de anticorpos específicos para o parasito é um forte indicativo de que a região oferece alto risco para animais suscetíveis provenientes de áreas livres da enfermidade.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Dr. Imke Pfeifer Barbosa, da Universidade de Hannover, pelos antígenos de *B. caballi* cedidos, e ao Dr. John Kirk, do Texas Veterinary Medical Diagnostic Laboratory - University of Alabama - USA, pelo envio de amostras de soro controle negativo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Centro Panamericano de Zoonosis. 1973. Procedimientos para estudios de prevalencia de enfermedades cronicas en el ganado. Buenos Aires : C.P.Z. (Nota Técnica nº 18). 33 p.

- Costa, R. P. & R. P. Mello. 1963. Nota prévia sobre a ocorrência de *Babesia caballi* (Nuttall, 1910) em *Equus caballus* no Brasil. Veterinária, 16 : 74-5.
- De Waal, D. T. 1992. Equine piroplasmiasis : a review. British Vet. J., 148 : 6-14.
- Friedhoff, K. T., A. M. Tenter & I. Muller. 1990. Haemoparasites of equines: impact on international trade horses. Rev. Scientif. Tech., 9 : 1187- 94.
- Hourrigan , J. L. & R. C. Knowles. 1979. Equine piroplasmiasis. Am. Assoc. of Equine Practitioners Newsletter, 1: (119-28) .
- Instituto de Desenvolvimento Urbano e Regional (Indur). 1991. Programa de macrozoneamento geoambiental do estado de Goiás. Goiânia. Secretaria do Desenvolvimento do Centro-Oeste - Sudeco. 12 p.
- Kuttler , K. L. 1988. World-wide impact of babesiosis. In Ristic, M. Babesiosis of domestic animals and man. Boca Raton: CRC Press. p.1-22.
- Lima, J. D., J. Biondini & R. Reis. 1976. *Babesia caballi* infection in a pure-bred horse in Minas Gerais, Brazil. Arq. Esc. Vet. UFMG, 28 : 87-92.
- Mahoney , D. F. & D. R. Ross. 1972. Epizootiological factors in the control of bovine babesiosis. Aust. Vet. J., 48 : 292-8.
- Miranda, A. O. 1986. Equine infectious anaemia and babesiosis: clinical and serological investigation in the subtropical area of Argentina. Veterinaria, Argentina, 3 : (39-42).
- Pfeifer Barbosa, I. B. F. 1993. Epidemiologische untersuchungen über infektionen von pferden mit *Babesia equi* und *Babesia caballi* in Brasilien. Tese de doutorado. Instituto de Parasitologia da Escola de Medicina Veterinária de Hannover. 109 p.
- Pfeifer Barbosa, I., R. Bose, B. Peymann & K. T. Friedhoff. 1995. Epidemiological aspects of equine babesiosis in a herd of horses in Brazil. Vet. Parasitol., 58 : (1-8).
- Rocha, J. M., N. A. Costa, H. Vieira Filho & S. P. Alencar. 1988. Diagnóstico da babesiose por *Babesia caballi* no Município de Garanhuns - PE. In XXI Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, Salvador, Bahia. Resumo 202. Anais
- Rudolph, W., J. Correa, L. Zurita & W. Manley. 1975. Equine piroplasmiasis: leukocytic response to *Babesia equi* (Laveran, 1901) infection in Chile. Brit. Vet. J., 131: (601-9).
- Tenter, A. M. & K. T. Friedhoff . 1986. Serodiagnosis of experimental and natural *Babesia equi* and *Babesia caballi* infections. Vet. Parasitol., 20 : (49-61).
- Tenter, A. M., M. J. Otte, C. A. Gonzalez & Y. Abuabara. 1988. Prevalence of piroplasmiasis in equines in the Colombian province of Cordoba. Trop. An. Hth. Prod., 29: (93-8) .
- Weiland, G. 1986. Species-specific serodiagnosis of equine piroplasma infections by means of complement fixation test (CFT), immunofluorescence (IIF), and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Vet. Parasitol., 20 : (43-8).