

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA**

Situação epidemiológica e fatores associados à presença de *Theileria equi* e *Babesia caballi* em equinos: Revisão de literatura

Elaborado por: Isabella Victória Casco Flores
Graduanda do curso de Medicina Veterinária

**PORTO ALEGRE
2017/1**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA**

Situação epidemiológica e fatores associados à presença de *Theileria equi* e *Babesia caballi* em equinos: Revisão de literatura

Autor: Isabella Victória Casco Flores

**Trabalho apresentado à
Faculdade de Medicina
Veterinária como requisito
parcial para colação de
grau no curso de Medicina
Veterinária**

**Orientador: João Fábio Soares
Coorientador: Stella de Faria Valle**

**PORTO ALEGRE
2017/1**

RESUMO

A Piroplasmose Equina é uma hemoparasitose importante, podendo animais soropositivos ser identificados principalmente nas regiões tropicais e subtropicais das Américas, Ásia, África e Sudeste da Europa. Atualmente existem países em estabilidade e em instabilidade enzoótica para a doença, nos quais a situação epidemiológica pode variar desde endêmica até locais considerados livres, sendo as maiores prevalências observadas em áreas onde a concentração de carrapatos é maior. Os principais prejuízos associados à doença são decorrentes da sua morbidade e mortalidade, diminuição do desempenho de animais atletas, gastos envolvidos com o tratamento e restrição do comércio internacional de animais soropositivos, causando assim enormes perdas para a equinocultura mundial. A forma aguda da doença caracteriza-se pela manifestação de sinais inespecíficos que incluem anemia hemolítica, prostração e febre intermitente. Contudo, apesar da gravidade da infecção aguda, a maioria dos animais desenvolve a forma crônica da doença, sendo assim considerados como reservatórios e fontes de infecção do agente por longos períodos. Por conseguinte, principalmente pelo fato de não existirem hoje medicamentos capazes de reverter o estado de portador de animais que carregam o agente de forma subclínica, é imprescindível a realização periódica de exames laboratoriais capazes de identificar animais cronicamente infectados, separando-os dos demais a fim de assegurar a soronegatividade dos rebanhos, prevenir a entrada da doença em países livres e promover um controle adequado da população de carrapatos e outros possíveis vetores em regiões endêmicas.

Palavras-chave: Piroplasmose, equinos, *Babesia caballi*, *Theileria equi*, carrapatos

ABSTRACT

Equine Piroplasmosis is an important hemoparasitosis, thus seropositive animals can be identified mainly in the tropical and subtropical regions of the Americas, Asia, Africa and Southeast Europe. Currently the disease shown to be in enzootic instability and stability according to each country, where the epidemiological situation can vary from endemic to places considered free, with the highest prevalence observed in areas where the concentration of ticks is higher. The main losses associated with the disease are due to its morbidity and mortality, the performance drop of athlete horses, the costs involved with the treatment and the restriction of the international transport of seropositive animals, causing enormous losses for the world equestrian culture. The acute form of the disease is characterized by the manifestation of nonspecific clinical signs including hemolytic anemia, prostration and intermittent fever. However, despite the severity of the acute infection, most of the animals develop the chronic form of the disease, being considered as reservoirs and sources of infection of the agent for long periods. Therefore, mainly because there are no drugs capable of reversing the carrier status of animals that carry the agent subclinically yet, it is essential to perform periodical laboratory tests to identify chronically infected animals, segregating them from the others in order to ensure the seronegativity of the herds, to prevent the entry of the disease in free countries and to promote an adequate control of the population of ticks and other possible vectors in endemic areas.

Keywords: Piroplasmosis, horses, *Babesia caballi*, *Theileria equi*, ticks

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – (A) <i>Dermacentor nitens</i> ; (B) conhecido popularmente como “carrapato de orelha”; (C) Ciclo biológico de <i>Dermacentor nitens</i>	12
Figura 2– <i>Amblyomma sculptum</i> , caracterizado pela sua ornamentação característica no escudo.....	13
Figura 3 – Ciclo biológico de <i>Amblyomma sculptum</i>	13
Figura 4 – Distribuição de (A) <i>Amblyomma sculptum</i> e (B) <i>Amblyomma</i> spp. por países nas Américas.....	14
Figura 5 – (A) <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> ; (B) Distribuição de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> no mundo.....	14
Figura 6 – Representação gráfica da distribuição da ocorrência de Piroplasmose e Tripanossomíase em equídeos no mundo.....	16
Figura 7 – Representação gráfica da situação epidemiológica da Piroplasmose Equina nos diferentes países do mundo.....	18
Figura 8 - Distribuição de equídeos por região no Brasil.....	21
Figura 9 - Representação gráfica da distribuição de equinos por Estado no Brasil.....	21
Figura 10 - Representação gráfica da distribuição de asininos e muares por Estado no Brasil.....	22
Figura 11 – Representação gráfica do ciclo biológico de <i>Babesia</i> spp.....	25
Figura 12 – Representação gráfica do ciclo biológico de <i>Theileria equi</i>	27
Figura 13 – Esfregaços sanguíneos demonstrando a presença de <i>Theileria equi</i> e <i>Babesia caballi</i> no interior de eritrócitos de equídeos.....	44
Figura 14 – Comparação entre a capacidade de detecção de animais positivos para Piroplasmose Equina utilizando-se cELISA e PCR.....	49
Quadro 1 - População de equídeos no Brasil nos anos de 2009, 2010 e 2011.....	20
Quadro 2 - Principais diagnósticos diferenciais para Piroplasmose Equina que cursam com anemia.....	52
Quadro 3 – Principais diagnósticos diferenciais para Piroplasmose Equina que cursam com anemia e edema.....	56

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	7
2	IMPORTÂNCIA DA PIROPLASMOSE EQUINA	10
3	ETIOLOGIA	12
4	EPIDEMIOLOGIA E SITUAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DA DOENÇA	15
4.1	Ocorrência geográfica	15
4.2	Hospedeiros	20
4.3	Origem da infecção e métodos de transmissão da doença	22
4.4	Ciclo biológico dos piroplasmas	24
4.5	Imunidade do hospedeiro e susceptibilidade à infecção	28
4.5.1	Mecanismos associados ao desenvolvimento da imunidade inata para o agente.....	28
4.5.2	Mecanismos associados ao desenvolvimento da imunidade adquirida para o agente.....	29
4.6	Fatores de risco	31
4.6.1	Fatores associados ao hospedeiro.....	31
4.6.2	Fatores associados ao ambiente.....	32
4.6.3	Fatores associados ao agente.....	34
4.7	Impactos econômicos associados à Piroplasmose Equina	34
5	CARACTERÍSTICAS DA DOENÇA	35
5.1	Patogênese	35
5.2	Resposta imune do hospedeiro frente à presença do agente	37
5.3	Manifestações clínicas	39
6	DIAGNÓSTICO	41
6.1	Achados clínicos	41
6.2	Achados laboratoriais	42
6.2.1	Avaliação hematológica.....	42
6.2.2	Identificação do agente.....	43
6.2.3	Sorologia.....	45
6.2.4	PCR (Reação em Cadeia da Polimerase)	47
6.3	Achados de necropsia	49
6.4	Diagnósticos diferenciais	50
7	TRATAMENTO	58

SUMÁRIO

8	MÉTODOS DE PREVENÇÃO, CONTROLE E ERRADICAÇÃO DA DOENÇA.....	61
8.1	Métodos de prevenção e medidas de biossegurança.....	61
8.2	Erradicação.....	62
8.3	Controle da prevalência.....	62
8.4	Controle do vetor.....	64
8.5	Estabilidade endêmica.....	65
9	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	67
	REFERÊNCIAS.....	69

1 INTRODUÇÃO

A Babesiose Equina é uma hemoparasitose importante, mundialmente distribuída, sendo também conhecida como Nutaliose, Febre Biliar ou Piroplasmose Equina (JARDIM, 2014). Os agentes causadores dessa enfermidade são *Babesia caballi* e *Babesia equi* (hoje reclassificada como *Theileria equi*), podendo estar presente de forma isolada ou ambas as espécies infectando concomitantemente um mesmo animal. A transmissão da doença ocorre principalmente por meio de carrapatos das espécies *Dermacentor nitens*, no caso de infecções por *B. caballi*, e *Amblyomma sculptum*, no caso de infecções por *T. equi*, porém já foram relatados casos envolvendo a espécie *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (FONSECA, 2010).

A distribuição do agente responsável pela Piroplasmose em equinos está diretamente associada à distribuição geográfica e estacional, no caso de *B. caballi*, dos vetores responsáveis pela sua transmissão. Hoje, aproximadamente 120 milhões de cavalos encontram-se infectados por piroplasmas e vivem em áreas endêmicas (NANTES e ZAPPA, 2008), estando a doença disseminada pelas regiões tropicais e subtropicais das Américas, Ásia, África e Sudeste da Europa (UILENBERG, 2006), principalmente devido às limitações associadas ao ciclo biológico dos carrapatos. Assim, é possível afirmar que a prevalência da Piroplasmose Equina é maior em áreas nas quais se observa uma maior concentração de carrapatos, estando apenas 10% da população de equinos no mundo vivendo em áreas consideradas livres desses hemoprotozoários (NANTES e ZAPPA, 2008).

Cavalos que participam de esportes hípicas a nível internacional devem ser mantidos com baixos títulos ou isentos da infecção, uma vez que esta hemoparasitose é considerada como o principal impedimento para o trânsito internacional de equinos. Segundo Radostits (2006), isso se deve ao fato de que países como Canadá, EUA e Austrália, os quais possuem uma indústria equina muito forte, apesar de já serem livres dos piroplasmas equinos, não são livres dos vetores que os transmitem. Logo, a entrada de animais positivos nesses países é terminantemente proibida (seja por importação ou apenas para a participação em competições), pois mesmo que não ocorra a manifestação dos sinais clínicos da doença, esses animais são considerados como reservatórios e fontes de infecção. Ainda, a exportação de equinos para países declarados livres de Piroplasmose só é possível se os animais forem submetidos a protocolos de tratamento especiais para eliminação completa dos agentes antes da viagem e se forem avaliados por métodos sorológicos que comprovem a sua soronegatividade, tanto na saída do país de origem quanto na chegada ao seu destino final

(OIE, 2008). Diante disso, a importância da Piroplasmose Equina não se reserva apenas aos danos individuais causados, mas a todo o plantel e às perdas econômicas geradas aos criadores.

O Brasil possui hoje o maior rebanho de equinos da América Latina e o terceiro maior rebanho do mundo, contando com um plantel composto por aproximadamente 8 milhões de equídeos (PNSE, 2010). Todavia, apesar de a exportação de cavalos ser um importante impulso para a equinocultura nacional, as barreiras sanitárias são hoje o maior entrave para a aceitação do produto brasileiro no exterior, uma vez que a Piroplasmose Equina é considerada endêmica no país. Assim, apesar da qualidade do plantel brasileiro, ainda existe uma restrição à exportação de cavalos para o mercado internacional pelo fato de não ser realizado um controle efetivo para essa enfermidade. Ainda, tratando-se de garanhões importantes e cavalos de alto desempenho que participam de competições esportivas a nível internacional, maiores devem ser os cuidados, principalmente com relação ao controle de vetores e realização periódica de exames laboratoriais que comprovem a ausência desses hemoprotozoários na corrente sanguínea desses animais, elevando assim os custos da produção.

Por essa razão, uma das principais preocupações hoje consiste elaboração de métodos que possibilitem reverter o estado de portadores de animais que apresentem a forma subclínica da doença, uma vez que esses são considerados como sendo os principais reservatórios e fonte de infecção dos agentes causadores da Piroplasmose Equina. Nesse contexto, uma maior importância deve ser dada àqueles animais infectados por *T. equi*, que, diferentemente de *B. caballi*, costuma permanecer no hospedeiro por períodos muito longos. Apesar de o tratamento medicamentoso ter sido uma estratégia utilizada, esse procedimento não foi considerado eficiente, uma vez que até o presente momento não existem drogas capazes de eliminar o estado de portador dos equídeos infectados por *T. equi*. Portanto, enquanto não forem desenvolvidos métodos seguros para eliminação desses agentes do organismo de equinos portadores, os animais devem ser submetidos a um monitoramento laboratorial que assegure uma elevada probabilidade de que todos os avaliados e diagnosticados como negativos estejam de fato livres da infecção por esses hemoparasitos, objetivando-se assim diminuir a ocorrência de falsos-negativos e a permanência de animais positivos no rebanho.

Assim, o presente trabalho tem como principal objetivo evidenciar a importância da Piroplasmose Equina e seus impactos sobre a equinocultura. Para isso, inicialmente serão apresentados dados obtidos a partir de levantamentos epidemiológicos realizados disponíveis na literatura a fim de demonstrar a como a doença encontra-se presente nos diferentes países

do mundo. A seguir será apresentada uma breve descrição sobre as características do agente e da doença, retratando aspectos relacionados à interação entre o protozoário e o hospedeiro, assim como suas consequências. Por fim serão apresentados os métodos de diagnósticos que hoje estão sendo utilizados, os diagnósticos diferenciais que devem ser considerados quando ocorre uma suspeita de Piroplasmose Equina, os tratamentos indicados que tem sido descritos na literatura e os métodos de prevenção e controle para a doença que têm sido realizados.

2 IMPORTÂNCIA DA PIROPLASMOSE EQUINA

Os carrapatos são incontestavelmente os ectoparasitas de maior importância para a espécie equina no Brasil, os quais são capazes de comprometer a saúde e o desempenho desses animais quando são observadas infestações de alta intensidade. Trata-se um parasita hematófago (ou seja, que se alimenta de sangue) pertencente ao filo Arthropoda e classe Arachnida, o qual pode viver na pele dos cavalos. Dentre todas as espécies de carrapatos existentes, as três mais comumente encontradas em equinos no Brasil são: *Dermacentor nitens*, *Amblyomma sculptum* e *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (REVISTA VETERINÁRIA, 2013).

Os carrapatos podem provocar doenças por meio da ingestão de volumes consideráveis de sangue do animal, promovendo anemia; causando a “paralisia do carrapato” (enfermidade séria provocada pela liberação de fortes toxinas presentes na saliva de certas espécies de carrapatos, afetando o sistema nervoso dos animais); criando lesões cutâneas que predispõe a ocorrência de infecções bacterianas secundárias ou miíases; desencadeando a ocorrência de dermatites; ou mesmo gerando estresse aos animais devido à sua presença. Contudo, dentre as inúmeras complicações associadas às infestações, destaca-se a possibilidade de transmissão de inúmeros patógenos, tais como protozoários, vírus, riquetsias (α -proteobactéria) e bactérias para o animal (FONSECA, 2010).

Desse modo, os carrapatos enquadram-se como vetores de inúmeras doenças para a espécie equina, dentre as quais é possível destacar a Piroplasmose Equina, a Erliquiose Equina, a Borreliose, a Febre Hemorrágica da Criméia-Congo, entre outras (MASSARD, 2004). Um dos grandes obstáculos associados às doenças transmitidas por esses ectoparasitas consiste no fato de que elas mimetizam um grande número de outras enfermidades infecciosas e parasitárias (uma vez que na maioria delas os sinais clínicos manifestados incluem febre, apatia e anemia), o que dificulta o diagnóstico específico e tratamento de cada uma.

A Babesiose Equina é uma hemoparasitose importante, mundialmente distribuída, sendo também conhecida como Nutaliose, Febre Biliar ou Piroplasmose Equina (JARDIM, 2014). Os agentes causadores dessa enfermidade são *Babesia caballi* e *Babesia equi* (hoje reclassificada como *Theileria equi*), podendo estar presente de forma isolada ou ambas as espécies infectando concomitantemente um mesmo animal. A sua transmissão ocorre principalmente por carrapatos das espécies *Dermacentor nitens* e *Amblyomma cajennensis sensu lato* (atualmente: *Amblyomma sculptum*), porém já foram relatado casos envolvendo a espécie *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (FONSECA, 2010). Contudo, além da

transmissão através de vetores, já foi descrita a possibilidade de transmissão iatrogênica e via transplacentária de *T. equi*, com uma porcentagem de infecção de até 30% dos potros (NANTES E ZAPPA, 2008).

Em regiões tropicais, como a maior parte do Brasil, a Piroplasmose Equina é uma enfermidade considerada em “estabilidade enzoótica”, apresentando uma prevalência que varia de 5,5 a 96%, de acordo com cada região (HEIM, 2007). O Sul do país, por exemplo, é considerado como uma área de instabilidade enzoótica para a doença, pois a menor ocorrência de carrapatos promove uma baixa transmissibilidade do protozoário, resultando em soropositividade em somente 30% dos animais dessa região (GOLYNSKI, 2008). Contudo, apesar de existirem áreas nas quais praticamente 100% dos equinos estão ou já foram expostos aos parasitas e são soropositivos, grande parte deles não apresenta a forma clínica da doença, sendo apenas portadores assintomáticos do agente. Desse modo, apesar de a exportação de cavalos ser um importante impulso para a equinocultura do país, as barreiras sanitárias são hoje o maior entrave para a aceitação do produto brasileiro no exterior. Portanto, apesar da qualidade do plantel brasileira, ainda existe uma restrição à exportação de cavalos para o mercado internacional pelo fato de não ser realizado um controle efetivo para essa enfermidade nos animais dessa região.

O Brasil possui o maior rebanho de equinos da América Latina e o terceiro maior rebanho do mundo, contando com um plantel composto por aproximadamente 8 milhões de animais, quando somados também muares e asininos. Nesse contexto, somente com a produção de cavalos o país movimenta uma verba calculada hoje em 7,3 bilhões de reais. Já no quesito exportação, entre 1997 e 2009 o número de cavalos exportados vivos aumentou em 524%, gerando assim um lucro de 4,4 milhões de dólares para o país (PNSE, 2010). Diante disso, a importância da Piroplasmose Equina não se reserva apenas aos danos individuais causados, mas a todo o plantel e às perdas econômicas geradas aos criadores. Ainda, deve-se considerar que a exportação de equinos para países declarados livres de Piroplasmose (como os EUA, Austrália, Canadá) só é possível se os animais forem submetidos a protocolos de tratamento especiais para eliminação completa dos agentes antes da viagem e se forem avaliados por métodos sorológicos que comprovem a ausência do mesmo na corrente sanguínea desses animais, tanto na saída do país de origem quanto na chegada ao seu destino final (OIE, 2008).

3 ETIOLOGIA

Segundo Radostits et al. (2006), os piroplasmas são um grupo diversificado de protozoários intracelulares obrigatórios pertencentes ao subfiló Apicomplexa, sendo capazes de parasitar os eritrócitos de diversas espécies animais. Os principais agentes associados à espécie equina são *Babesia caballi* e *Theileria equi*, sendo essas transmitidas principalmente pelos carrapatos do gênero *D. nitens*, ectoparasita monoxeno que se localiza principalmente na região das orelhas e que tem como seu principal hospedeiro o cavalo (Figura 1), e *A. sculptum* (Figura 2, 3 e 4). Todavia, também se encontram presentes na literatura casos envolvendo a espécie *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, ectoparasita monoxeno popularmente conhecido como “carrapato do boi” e que acomete equinos que compartilham pastagens com bovinos (Figura 5).

Figura 1 – (A) *Dermacentor nitens*; (B) conhecido popularmente como “carrapato de orelha”; (C) Ciclo biológico de *Dermacentor nitens*

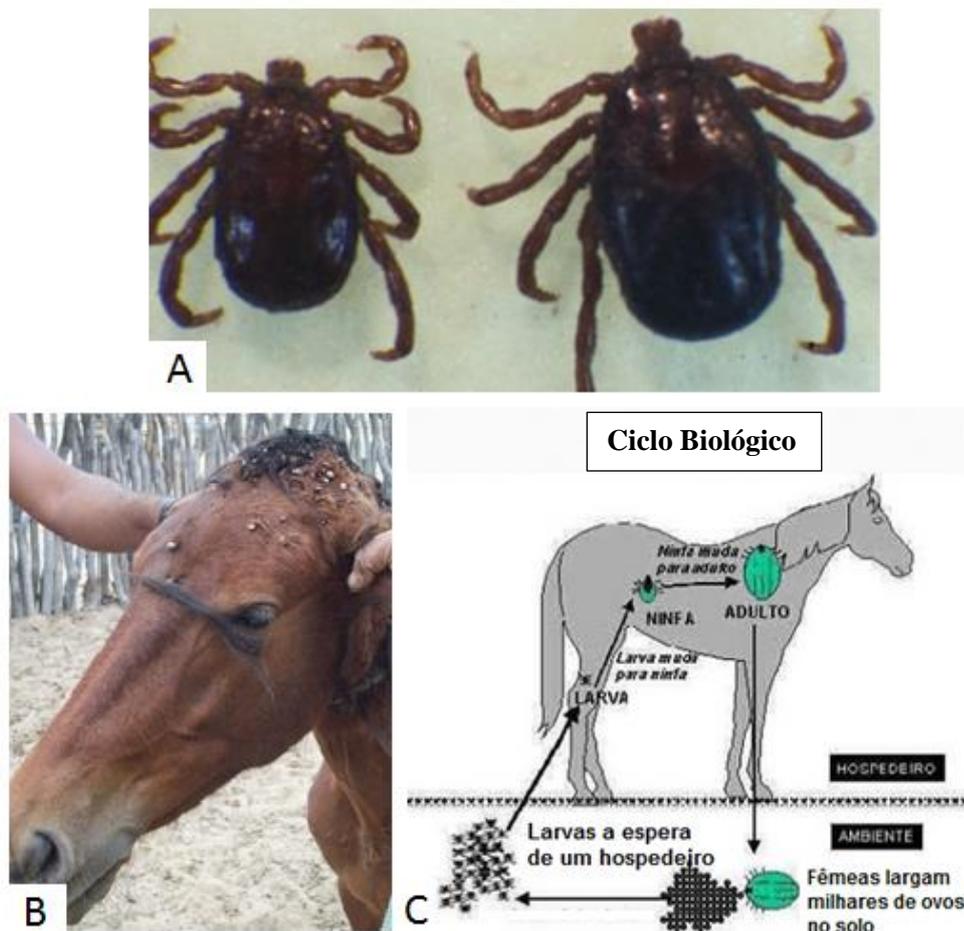
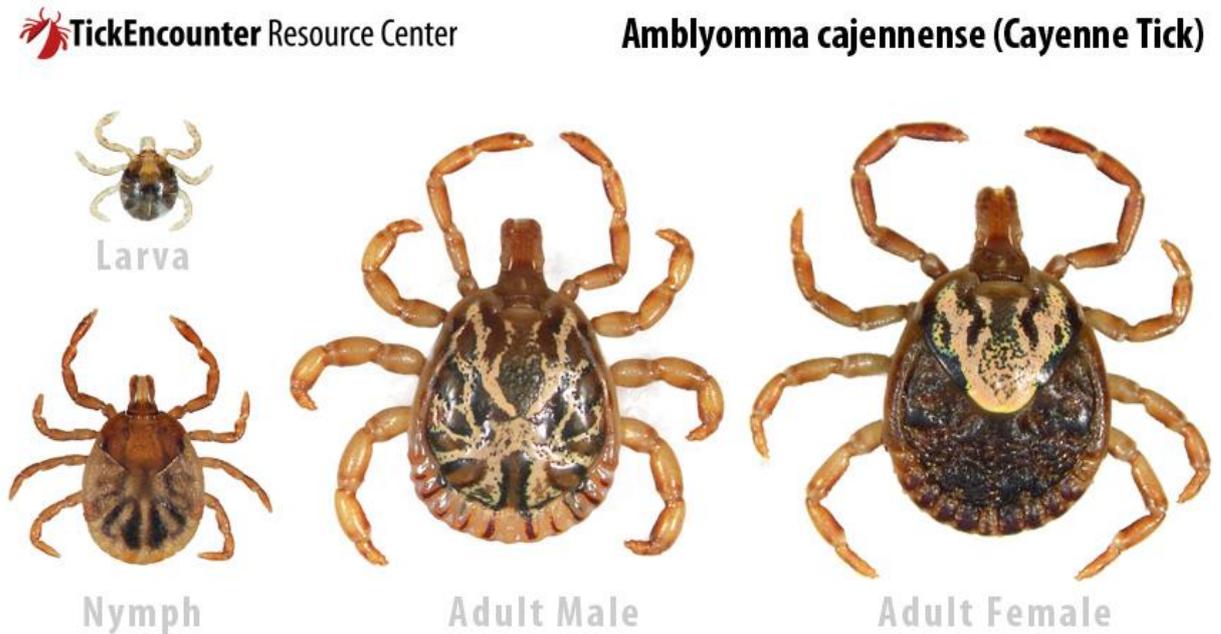
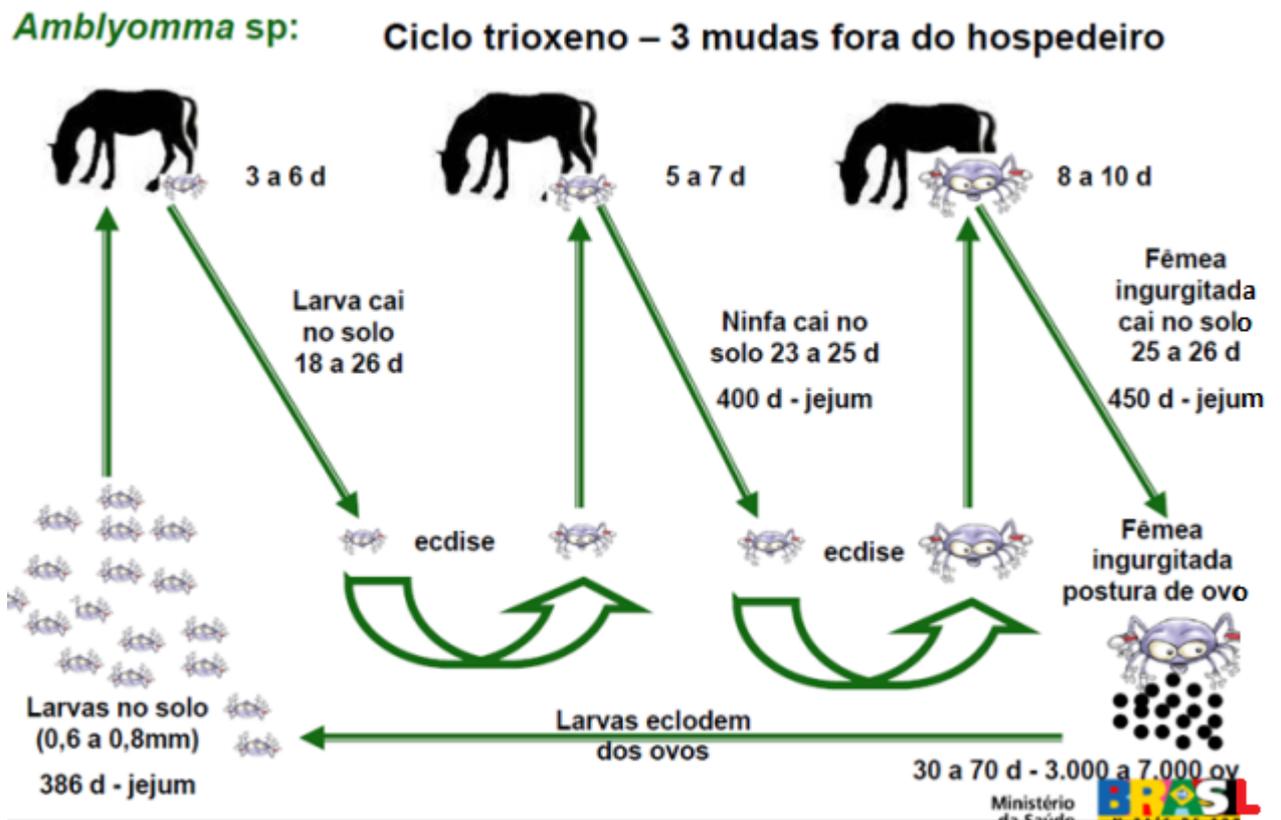


Figura 2– *Amblyomma sculptum*, caracterizado pela sua ornamentação característica no escudo



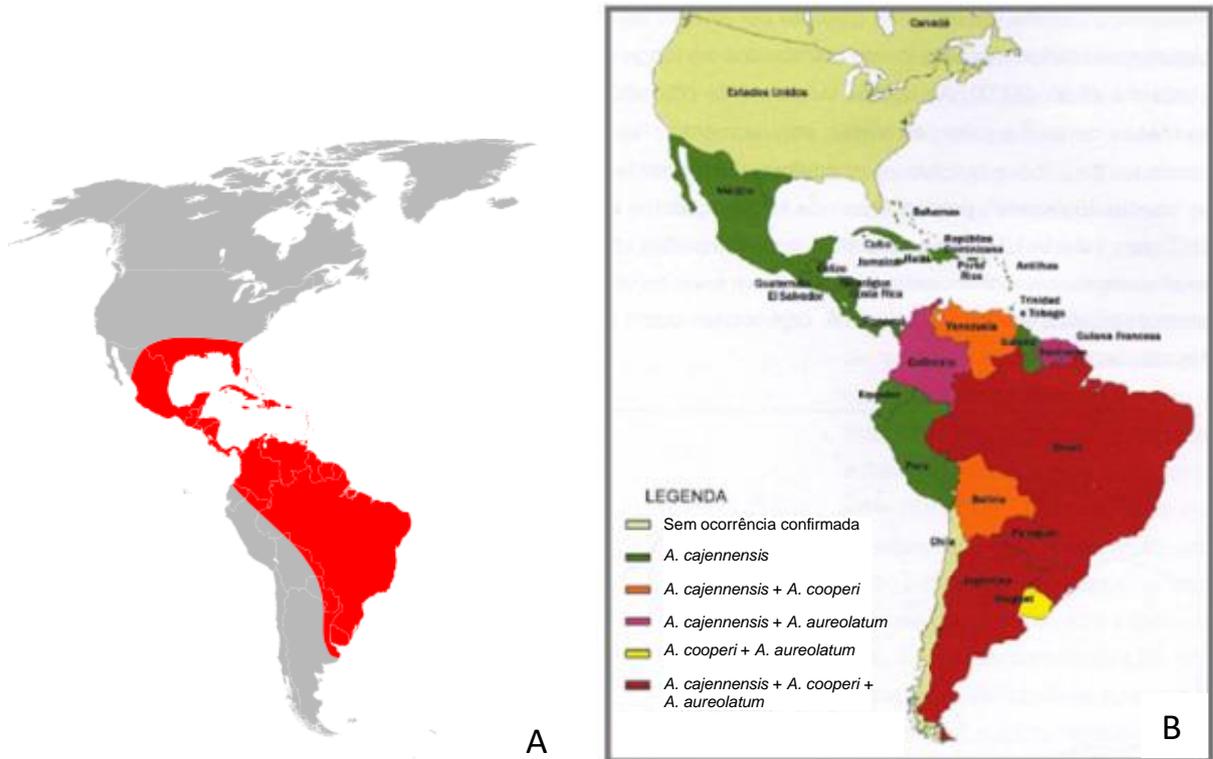
FONTE: TickEncounter Resource Center (2014)

Figura 3 – Ciclo biológico de *Amblyomma sculptum*



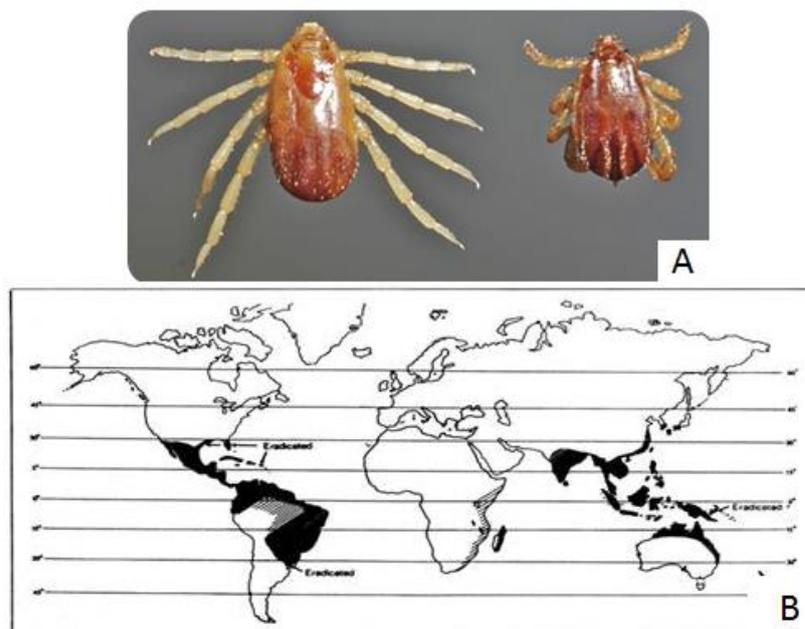
FONTE: JARDIM (2014)

Figura 4 – Distribuição de (A) *Amblyomma sculptum* e (B) *Amblyomma* spp. por países nas Américas



FONTE: manual SUCEN (2011)

Figura 5 – (A) *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*; (B) Distribuição de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* no mundo



FONTE: University of Texas (2014)

B. caballi e *T. equi* (anteriormente classificada como *B. equi*) diferenciam-se entre si pela forma, tamanho, método de multiplicação e resistência aos medicamentos. Assim, com base nessas diferenças, nos últimos anos a taxonomia de *B. equi* foi alterada, tendo sido a sua classificação mais atual redescrita por Mehlhorn e Schein (1998). A partir de então *Babesia equi* foi reclassificada como *Theileria equi*, uma vez que diferente das espécies do grupo *Babesia* spp, essa espécie inicia seu ciclo dentro de linfócitos, antes de parasitar os eritrócitos, e divide-se em quatro merozoítos durante seu ciclo. Desse modo, dentro da ordem Piroplasmida atualmente encontram-se incluídas duas famílias, Babesiidae e Theileriidae, nas quais se encontram inseridas as espécies *Babesia caballi* e *Theileria equi*, respectivamente, protozoários responsáveis pela Piroplasmose em equinos.

A infecção nos hospedeiros vertebrados inicia-se pela inoculação do agente no seu estágio de esporozoíto na corrente sanguínea durante a realização do repasto sanguíneo por carrapatos infectados. Em sua grande maioria, os esporozoítos de *Babesia* spp. invadem diretamente os eritrócitos dos hospedeiros sem haver a necessidade de passar por um estágio prévio de desenvolvimento tissular. Todavia, existe um pequeno grupo (no qual se encontra *T. equi*) reconhecido por invadir primeiramente os linfócitos do hospedeiro, nos quais os esporozoítos evoluem para o estágio de merozoítos, que posteriormente irão invadir os eritrócitos. Depois de parasitadas as células eritrocitárias, estabelecer-se-á um ciclo de reprodução assexuada aparentemente ininterrupto, mesmo frente ao rápido desenvolvimento de uma forte resposta imune desencadeada pela presença do agente (RADOSTITS, 2006).

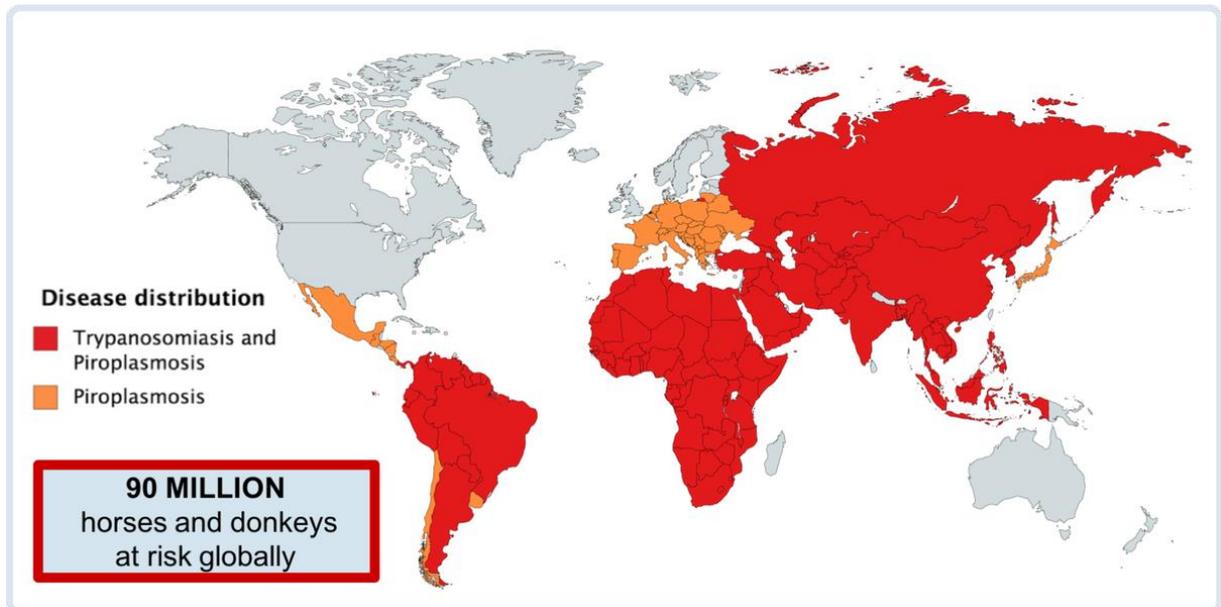
4 EPIDEMIOLOGIA E SITUAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DA DOENÇA

4.1 Ocorrência geográfica

Hoje, aproximadamente 120 milhões de cavalos são infectados por piroplasmas e vivem em áreas endêmicas, estando a doença disseminada pelas regiões tropicais e subtropicais das Américas, Ásia, África e Sudeste da Europa (UILENBERG, 2006), situação graficamente representada pela Figura 6. Apenas 10% da população de equinos no mundo vivem em áreas livres de infecções por essa agente. Nesse contexto, uma maior importância deve ser dada aos cavalos que participam de esportes hípicas a nível internacional, uma vez

que esses devem ser mantidos com baixos títulos ou isentos da infecção pelo fato desta hemoparasitose ser considerada como o principal impedimento para o trânsito internacional de equinos.

Figura 6 – Representação gráfica da distribuição da ocorrência de Piroplasmose e Tripanossomíase em equídeos no mundo



FONTE: <https://pbs.twimg.com>

A distribuição do agente responsável pela Piroplasmose em equinos está diretamente associada à distribuição geográfica e estacional dos vetores responsáveis pela sua transmissão. Desse modo, a *Babesia caballi*, por utilizar como vetores os carrapatos das espécies *Dermacentor* spp., *Hyalomma marginatus*, *Hyalomma truncatum* e *Rhipicephalus evertsi evertsi* encontra-se presente na África, América Central, América do Sul, Europa e Ásia, utilizando como hospedeiros cavalos, mulas e jumentos (RADOSTITS, 2006). Contudo, principalmente devido às limitações associadas ao ciclo biológico dos carrapatos, trata-se de uma doença que ocorre basicamente em países tropicais e subtropicais.

Segundo Nantes e Zappa (2008), países como Canadá, Nova Zelândia, Austrália, Japão, Alemanha, Reino Unido, Irlanda, Holanda e países Escandinavos são considerados livres dos piroplasmas equinos. Desse modo, animais positivos para doença estão impedidos de entrar nestes países ou devem ser submetidos a severas sanções, como quarentena prolongada ou isolamento, antes de fazê-lo. A Austrália é o único país onde a Piroplasmose Equina não se estabeleceu apesar de *T. equi* ter sido introduzida. Já no norte da Europa, apesar

de terem sido observadas algumas das espécies de carrapatos transmissores, não existem até o momento relatos da doença. Com relação ao Japão, apesar de o país também ser considerado livre da Piroplasmose Equina, Ikadai et al. (2002) sugeriram a ocorrência da doença no país devido à detecção de anticorpos anti-*B. caballi* e anti-*T. equi* em 5,4% e 2,2% dos equinos, respectivamente. Todavia, casos autóctones da infecção ainda não foram confirmados.

B. caballi e *T. equi* são endêmicas ou casos da doença já foram relatados no sudeste e leste da Europa, Ásia, África, Arábia, Cuba, Américas do Sul e Central, assim como, em partes do sudeste dos Estados Unidos (OGUNREMI, 2008), como é possível se observar na Figura 8. Na Europa, a Piroplasmose Equina se estende pela Espanha, Portugal, sul da França, Itália e em vários outros países. No sudeste europeu, infecções por *T. equi* são mais frequentemente observadas que aquelas por *B. caballi* (BASHIRUDDIN, 1999). Na Itália prevalências de até 50,4% para *T. equi* e 56,06% para *B. caballi* foram identificadas (MORETTI, 2009). Já na Espanha, soroprevalências de 40% e 28,3% foram observadas para *T. equi* e *B. caballi*, respectivamente, sendo os carrapatos *Rhipicephalus* spp e *Dermacentor* spp considerados como mais presentes no noroeste do país (CAMACHO, 2005).

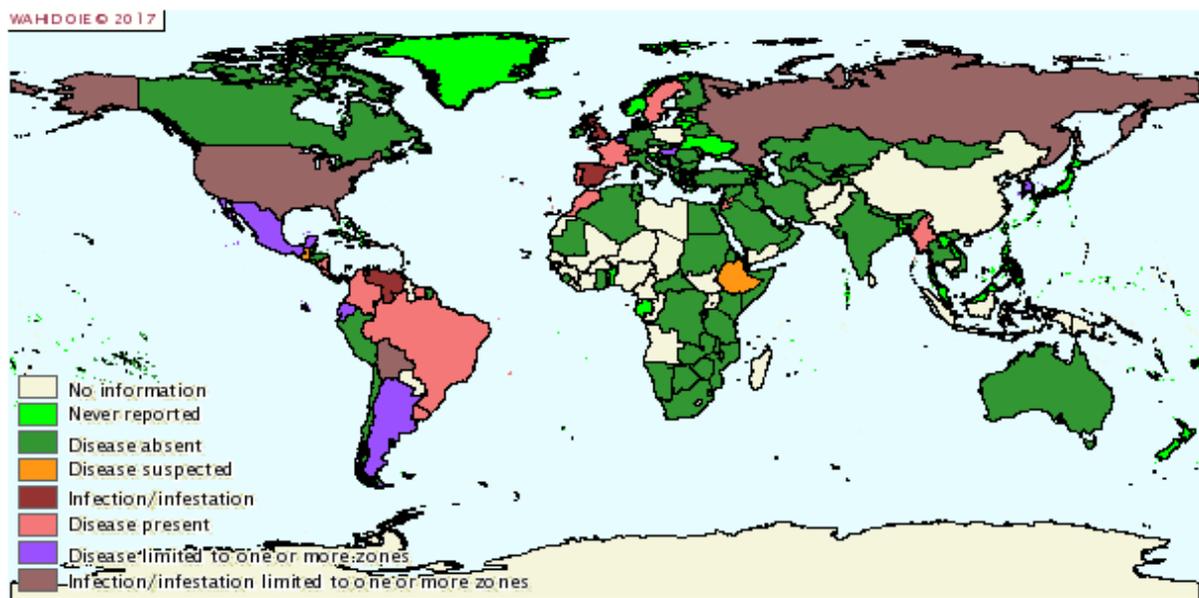
Na África infecções por piroplasmas são relatadas, tendo sido considerada como a principal doença de equinos na África do Sul (OGUNREMI, 2008). Segundo Zweygarth et al. (2002), pesquisas sorológicas realizadas na África do Sul indicaram que a doença encontra-se disseminada por todo o território e que de todas as amostras coletadas de cavalos nas diferentes regiões do país, 80% delas apresentaram-se positivas para *T. equi* e 50% foram positivas para *B. caballi*. Já na Ásia, a China é o país merece destaque, pois segundo Xuan et al. (2002) tanto *T. equi* como *B. caballi* encontram-se disseminadas por todo o território e causam sérias preocupações na porção nordeste do país, sendo a doença considerada endêmica no país.

Nos Estados Unidos, ambas as espécies de piroplasmas foram introduzidas por meio da importação de equinos infectados de Cuba (NANTES e ZAPPA, 2008). Atualmente, porém, o país é considerado como área controlada, uma vez que medidas sanitárias foram adotadas, dentre as quais se destaca a realização de teste sorológico em animais importados. Desse modo, todo animal ingressante no país deve permanecer retido nas unidades de quarentena, e sendo considerados positivos, são enviados de volta ao país de origem ou sacrificados.

A Piroplasmose é uma doença considerada endêmica em toda a América Latina, com exceção do sul do Chile e sul da Argentina, sendo as mais altas prevalências de *T. equi* e *B. caballi* observadas em países como Colômbia e Brasil. Na Argentina, a doença é somente

endêmica nas regiões nordeste e noroeste do país, onde foram descritos casos clínicos associados a *B. caballi* (AGUIRRE, 2004). Este último, assim como Chile e Uruguai, mantém um controle de fronteira, impedindo a entrada de animais soropositivos para as duas espécies do protozoário.

Figura 7 – Representação gráfica da situação epidemiológica da Piroplasmose Equina nos diferentes países do mundo



FONTE: World Organization for Animal Health - OIE (2015)

No Brasil, o primeiro diagnóstico de *B. caballi* foi feito por Costa e Mello em 1963, no estado do Rio de Janeiro, tendo sido outros registros realizados posteriormente em Minas Gerais (1976) e Pernambuco (1988). Os casos de Piroplasmose Equina em geral encontram-se associados a infestações por carrapatos, sendo mais comumente observadas as espécies *D. nitens*, no caso de infecções por *B. caballi*, e *R. (B.) microplus*, no caso de infecções por *T. equi* (LEAL, 2010).

Diversos estudos epidemiológicos foram elaborados com o objetivo de avaliar a prevalência da Piroplasmose Equina nos diferentes Estados do Brasil. Na região Sul, em um estudo realizado por Cunha et al. (1996) no qual equinos provenientes de haras e Jockey Clubs locais foram avaliados para a ocorrência de Piroplasmose Equina, observou-se uma soroprevalência para *T. equi* de 57,89% no Estado do Rio Grande do Sul, sendo o principal vetor associado *R. (B.) microplus*. Resultado semelhante foi observado por Souza et al. (2000), os quais observaram uma prevalência de 50,38% de animais apresentando anticorpo

anti-*T. equi* no Planalto Catarinense. Já Nizoli (2005) verificou uma prevalência de apenas 16,97% de equinos soropositivos para *T. equi* no Rio Grande do Sul.

Estudos realizados para avaliação da ocorrência doença na região Centro-Oeste, por sua vez, apresentaram prevalências maiores, com valores de 96% para *T. equi* e 8,5% para *B. caballi*, além de índices variáveis de 40 a 62,5% para os diversos estágios de *R. (B.) microplus* coletados (BATTSETSEG, 2002a). Em uma microrregião de Goiânia avaliada, a prevalência de anticorpos anti-*B. caballi* chegou a 90,8%, não havendo diferença significativa entre grupos de idades, raças, espécies ou sexo (LINHARES, 1997).

Elevadas taxas de infecção também foram identificadas por Xuan et al. (2001) em equinos provenientes de diferentes fazendas localizadas nos Estados de São Paulo e Mato grosso do Sul, onde 81% e 90% dos animais apresentaram-se soropositivos para *T. equi* e *B. caballi*, respectivamente. Prevalências menores foram encontradas por Kerber et al. (1999) nos mesmos Estados, correspondendo a 37% e 27% de soroprevalência para *T. equi* e *B. caballi*, respectivamente. Essa discrepância com relação aos resultados verificados provavelmente se deve aos diferentes testes utilizados em cada um dos estudos, uma vez que Kerber et al. (1999) utilizaram a técnica de fixação de complemento (TFC), considerada menos sensível que o ensaio imunoenzimático (ELISA) e o teste de aglutinação em látex (LAT), técnicas empregadas por Xuan et al. (2001).

Na região Sudeste, a prevalência descrita em estudos realizados por Heim et al. (2007) no Estado de Minas Gerais foi de 91% para *T. equi* e 83% para *B. caballi* utilizando-se a técnica de imunofluorescência indireta (IFI) e 59,7% para *T. equi* e 12,5% para *B. caballi* quando a mesma avaliação foi realizada utilizando-se a técnica de reação de polimerase em cadeia (PCR). No Estado de São Paulo, *D. nitens*, *A. sculptum* e *R. (B.) microplus* foram identificadas como as únicas espécies de carrapatos parasitando equinos, sendo *D. nitens* a mais frequentemente encontrada. Ainda, o mesmo estudo verificou uma maior incidência de *B. caballi* em relação a *T. equi*, o que se deve provavelmente à maior ocorrência de *D. nitens* nesse Estado (HEUCHERT, 1999). Por fim, estudos sorológicos realizados no Estado do Rio de Janeiro demonstraram prevalências para *T. equi* variando entre 5,5 a 21% e para *B. caballi* variando entre 1,5 a 9,7%. Nesses, as principais espécies de carrapatos encontradas foram *D. nitens* e *A. sculptum* (PEREIRA, 1999)

4.2 Hospedeiros

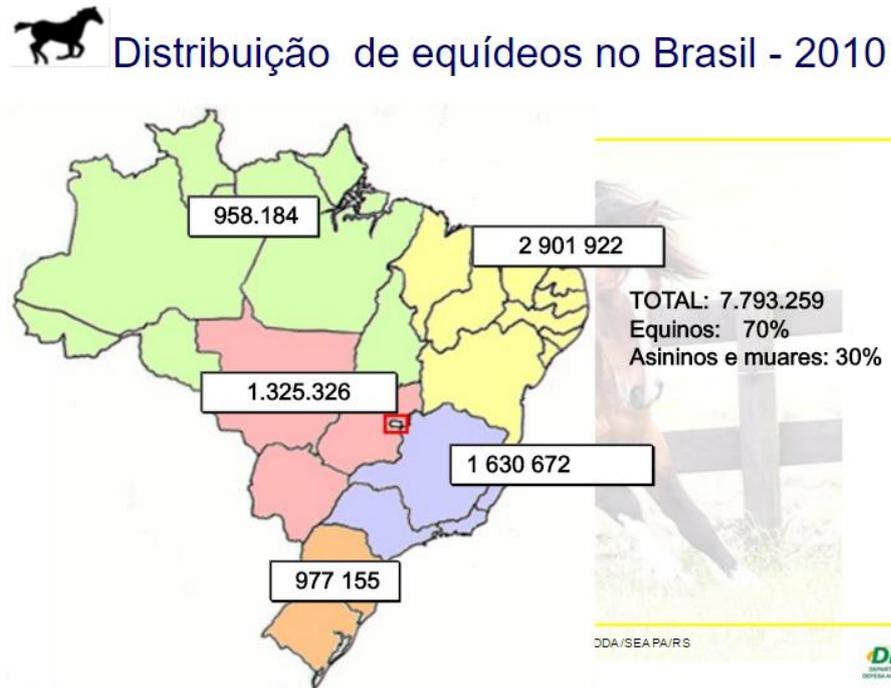
Os hospedeiros vertebrados associados às espécies *T. equi* e *B. caballi* são equinos, jumentos, mulas e zebras. No Brasil, a quantidade (Quadro 1) e a distribuição dos equinos, muares e asininos presentes no país encontram-se representadas pelas Figuras 8, 9 e 10. Segundo Heuchert et al. (1999), estudos soroepidemiológicos realizados em fazendas com criações de cavalos no país indicaram uma prevalência de 79% de éguas soropositivas para *B. caballi* e 49% de éguas soropositivas para *T. equi*. Ainda, avaliando-se a progênie desses animais foi possível identificar que 36% dos potros infectaram-se com *T. equi* nos primeiros 12 meses de vida e que 100% deles foram positivos para *B. caballi* nos primeiros 10 meses de vida. Anticorpos maternos para *T. equi* e *B. caballi* foram identificados em 44 e 68% desses animais, respectivamente. Esses títulos persistiram desde o primeiro até o quinto mês de vida para *T. equi* e do primeiro até o quarto mês de vida para *B. caballi*.

Quadro 1 - População de equídeos no Brasil nos anos de 2009, 2010 e 2011

POPULAÇÃO DE EQUÍDEOS NO BRASIL			
ESPÉCIE	2009	2010	2011
Equinos	5.496.817	5.514.253	5.508.546
Asininos	1.030.584	1.277.419	974.532
Muares	1.275.739	1.001.587	1.269.198
TOTAL	7.803.140	7.793.259	7.752.276

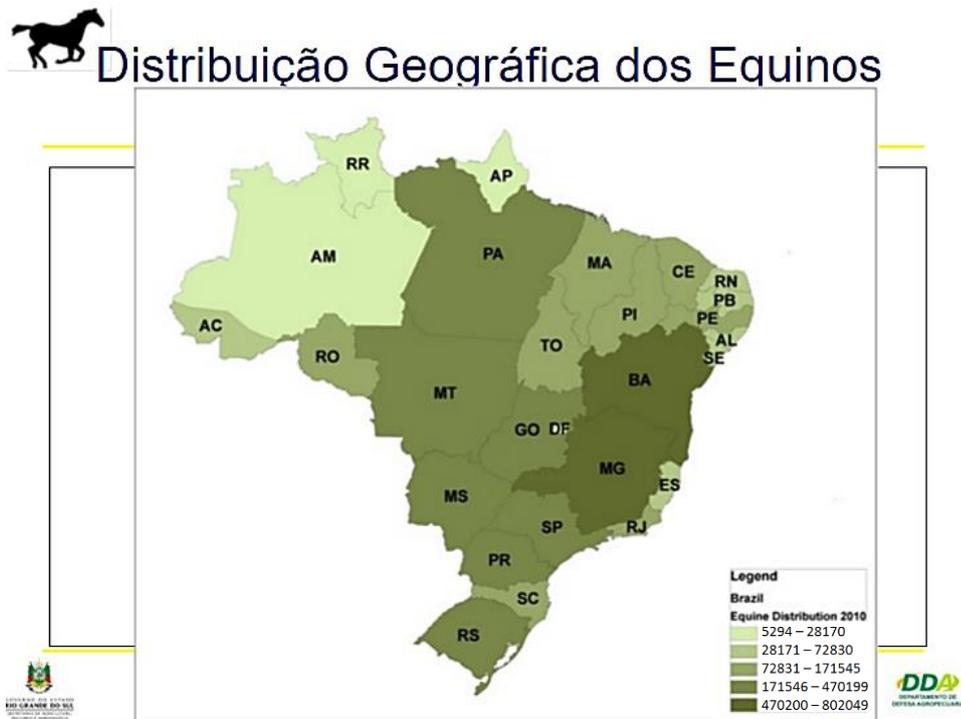
FONTE: Programa Nacional de Sanidade de Equídeos - DGA/DDA/SEAPA/RS (2011)

Figura 8 - Distribuição de equídeos por região no Brasil



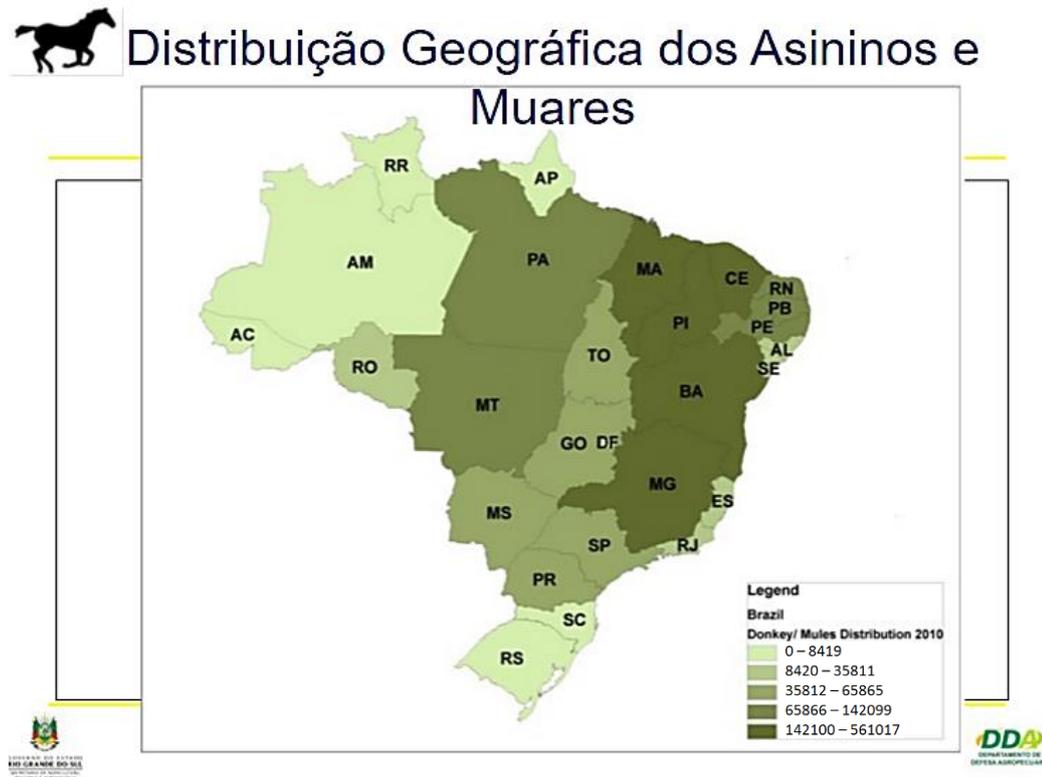
FONTE: Programa Nacional de Sanidade de Equídeos - DGA/DDA/SEAPA/RS (2011)

Figura 9 - Representação gráfica da distribuição de equinos por Estado no Brasil



FONTE: Programa Nacional de Sanidade de Equídeos - DGA/DDA/SEAPA/RS (2011)

Figura 10 - Representação gráfica da distribuição de asininos e muares por Estado no Brasil



FONTE: Programa Nacional de Sanidade de Equídeos - DGA/DDA/SEAPA/RS (2011)

4.3 Origem da infecção e métodos de transmissão da doença

Os piroplasmas são protozoários heteroxenos, ou seja, necessitam de um hospedeiro intermediário e um definitivo para completar seu ciclo de vida (JARDIM, 2014). Carrapatos são os vetores naturais desses protozoários, sendo que as principais espécies associadas à transmissão do agente para a espécie equina são: *D. niten*, *Hyalomma* spp. e *A. sculptum*, mas tendo sido também relatado casos envolvendo a espécie *R. (B.) microplus*. Desse modo, verificou-se que os piroplasmas permanecem e passam grande parte do seu ciclo biológico em hospedeiros invertebrados, fator de extrema relevância a ser considerado durante a elaboração de medidas de controle para a doença (RADOSTITS, 2006).

Segundo Battsetseg et al. (2002), estudos abordando os vetores naturais ou mesmo experimentais para *T. equi* e *B. caballi* envolvidos na transmissão da doença para a espécie equina ainda são escassos. *D. niten* (“carrapato da orelha”) ainda é reconhecida como a única espécie envolvida na transmissão de *B. caballi* para equinos no Novo Mundo. No Brasil as espécies *A. sculptum* e *D. niten* são comumente encontradas em casos de infestações por

carrapatos em cavalos, sendo *D. niten* o vetor natural de maior importância para *B. caballi* e *A. sculptum* o vetor natural de maior importância para *T. equi*.

Todavia, no Brasil *R. (B.) microplus* tem sido apontada como a espécie predominante em diversas regiões onde a infecção por *T. equi* é considerada endêmica, sendo o agente responsável pela manutenção da estabilidade enzoótica, uma vez que a grande parcela da população equina é composta por animais portadores. Assim, no Brasil, além das espécies *A. sculptum* e *D. niten*, *R. (B.) microplus* pode ser classificado como um vetor natural da Piroplasmose Equina. Ainda de acordo Battsetseg et al. (2002), estudos realizados comprovaram que, enquanto por meio da utilização de métodos convencionais de diagnóstico amostras de *R. (B.) microplus* coletados de equinos mostraram-se negativas (tanto para a presença de *T. equi* quanto para *B. caballi*), utilizando-se a técnica de *nested-PCR* tanto segmentos de DNA de *T. equi* quanto de *B. caballi* foram identificados nessas mesmas amostras. Ademais, a identificação de segmentos específicos de DNA de *T. equi* e de *B. caballi* em amostras de ovos e de larvas de *R. (B.) microplus* indicam a possibilidade de transmissão transovariana entre os hospedeiros invertebrados.

Dessa forma, pelo fato de *B. caballi* ser capaz de se reproduzir, além das glândulas salivares, nos ovários das fêmeas de carrapatos, sua transmissão caracteriza-se por ser transovariana (transmissão do agente para os ovos do hospedeiro invertebrado) e transestadial (transmissão do agente presente nas larvas, para as fases de ninfa e adulto), sendo *D. nitens* considerado como o principal reservatório desse patógeno. Todavia, no caso de *T. equi*, apesar de haver a presença de DNA do agente nos ovos dos carrapatos, essas larvas infectadas não são capazes de transmitir o parasita aos hospedeiros. Assim, para *A. sculptum* e *R. (B.) microplus*, assume-se que ocorra somente a transmissão transestadial e intraestadial (esta última aplicada aos machos de *A. sculptum*, que podem se alimentar em vários hospedeiros pelo fato de o seu ciclo biológico ser mais longo), assumindo-se que os equídeos sejam os principais reservatórios do patógeno.

No momento em que os hospedeiros vertebrados infectam-se com o agente, eles passam a atuar como carreadores por períodos variados (mas, em geral, superiores a dois anos). Caso este mesmo animal seja submetido a constantes reinfecções, como ocorre com aqueles indivíduos que vivem em áreas endêmicas, ele poderá atuar como carreador ao longo de toda a sua vida. Contudo, é importante ressaltar que as formas viáveis do protozoário encontram-se presentes na circulação periférica dos hospedeiros somente nos estágios ativos da infecção (RADOSTITS, 2006).

Assim, um maior entendimento sobre o histórico de vida dos carrapatos presentes na propriedade é de suma importância quando se pensam em metodologia para o controle da doença, uma vez que carrapatos que parasitam um único hospedeiro ao longo de sua vida são mais facilmente erradicáveis e disseminam menos a doença que aqueles que se alimentam de dois ou três hospedeiros nesse mesmo período. Todavia, o maior problema ainda reside sobre o controle daquelas espécies de carrapatos capazes de parasitar tanto hospedeiros vertebrados domésticos como silvestres (RADOSTITS, 2006). Ademais, tratando-se especificamente de *T. equi*, existem trabalhos que relatam a possibilidade de espécies de hematófagos alados também poderem estar envolvidas na sua transmissão, entretanto Phipps e Otter (2004) não apontam tabanídeos e espécies de *Stomoxys* como vetores da doença, devido ao fato da probóscide da maioria destes insetos não ser capaz de sugar e manter hemácias parasitadas por *T. equi* e *B. caballi* até picar outro animal sadio.

Ainda, segundo Allsop et al. (2007), *T. equi* pode ser também transmitida por via transplacentária por éguas infectadas no primeiro terço da gestação, enquanto que em *B. caballi* esta forma de transmissão não é observada. Até o presente momento, porém, ainda são escassas as explicações de como ou quando essa transmissão transplacentária ocorre. Sugere-se que a transferência do agente para o potro seja resultante de placentação anormal, danos na placenta ou eritroblastose fetal reversa, contudo a transmissão também foi observada em casos de prenhez normal. Desse modo, acredita-se que esse fato esteja associado a mecanismos fisiológicos específicos da gestação em equinos.

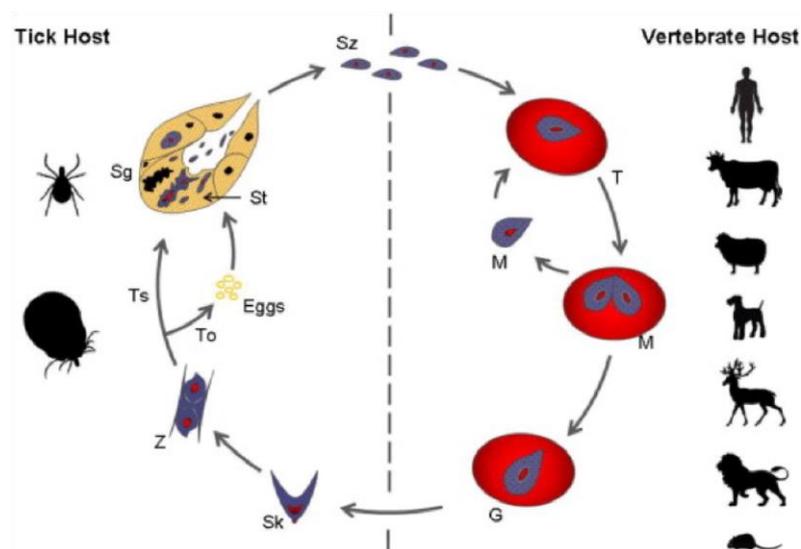
Outro método de transmissão de piroplasmas pode ocorrer através do uso de agulhas ou instrumentais cirúrgicos contaminados. A facilidade com que essa transmissão irá ocorrer de um animal para outro estará diretamente associada ao grau de parasitemia do animal infectado e a espécie de piroplasma envolvida, uma vez que a chance de transmissão de *T. equi* por essa via é muito maior que a de *B. caballi* (RADOSTITS, 2006).

4.4 Ciclo biológico dos piroplasmas

De modo geral, *Babesia* spp. não parasitam nenhuma outra célula dos seus hospedeiros vertebrados além dos eritrócitos. Cada esporozoíto, e posteriormente cada merozoíto, é capaz de penetrar na membrana celular de um eritrócito devido à presença de um complexo apical especializado, e é dentro dele que o mesmo se transformará em um trofozoíto. A partir deste, dois merozoítos serão formados por fissão binária (sendo essas as formas geralmente encontradas quando são realizadas as pesquisas de hematozoários em

esfregaços sanguíneos), os quais irão distender e romper a hemácia parasitada, tornando-se livres para parasitar uma nova célula e repetir o ciclo. Assim, em casos de parasitemia severa, é essa ruptura de hemácia que irá resultar em anemia hemolítica e conseqüentemente na manifestação dos seus sinais clínicos pelos animais. Alguns dos merozoítos formados, porém, no lugar de infectar novas hemácias, darão origem aos pré-gametócitos, formas que, quando ingeridas pelos vetores invertebrados, serão responsáveis pela fase sexuada do ciclo de vida do protozoários (Figura 11).

Figura 11 – Representação gráfica do ciclo biológico de *Babesia* spp



FONTE: <https://www.researchgate.net>

Segundo Bock et al. (2004), é na passagem do agente da corrente sanguínea dos hospedeiros vertebrados para o trato digestório dos vetores invertebrados que ocorre o desenvolvimento de duas populações de corpos estrelados a partir dos gametócitos ingeridos. Durante o repasto, apesar de ocorrer a ingestão tanto das formas de trofozoítos como de merozoítos e gametócitos, somente os gametócitos sobrevivem no trato gastrointestinal dos carrapatos. No interior das hemácias do carrapato os corpos estrelados formados seguem multiplicando-se de forma assexuada, seguindo assim mesmo após o rompimento da célula sanguínea e formando enormes agregados de células multinucleadas. Após concluído o processo de divisão celular, corpos estrelados mononucleares haploides são formados a partir desses agregados, os quais posteriormente darão origem aos gametas. Os gametas haploides então se fundem aos pares (singamia), formando uma célula esférica diploide denominada zigoto (RADOSTITS, 2006).

Os zigotos formados infectam, de forma seletiva, as células do trato digestivo dos hospedeiros invertebrados, aonde então irão se multiplicar por meiose e gerar oocinetos poliplóides (esquizogonia). Posteriormente, células basofílicas são infectadas, sendo no interior dessas que os zigotos seguem seu processo de multiplicação, dando origem a células móveis, os esporocinetos. Esses, por sua vez, migram e infectam as demais células e tecidos do carrapato através da hemolinfa. O estágio final do processo de desenvolvimento desses protozoários se dá nas glândulas salivares dos vetores, onde o estágio final de diferenciação e multiplicação ocorre (esporogonia). Nessa etapa, os esporocinetos darão origem aos esporozoítos (células haploides), formas que serão então posteriormente inoculadas na corrente sanguínea dos hospedeiros vertebrados durante o repasto sanguíneo de carrapatos infectados pelo agente (SCHNITTGER, 2012).

Contudo, segundo Radostits et al. (2006), quando os esporocinetos infectam os oocistos presentes no trato reprodutivo das fêmeas desses carrapatos, sucessivos ciclos de esquizogonia secundários ocorrem. Desse modo, a transmissão transovariana possibilita que os estágios finais de diferenciação e multiplicação do protozoário sigam ocorrendo posteriormente, nos estágios larvais da progênie gerada pelas fêmeas infectadas, concomitante ao seu desenvolvimento. Assim, carrapatos provenientes de fêmeas infectadas já são capazes de transmitir *Babesia* spp. a hospedeiros vertebrados a partir do primeiro repasto sanguíneo.

Ainda, é importante ressaltar que existem diferenças entre os ciclos reprodutivos dos protozoários envolvidas na Piroplasmose Equina. Assim, o ciclo biológico de *B. caballi* caracteriza-se basicamente pela inoculação de esporozoítos pelos carrapatos, os quais invadem imediata e unicamente os eritrócitos do hospedeiro. No interior das hemácias, essas células irão se desenvolver em trofozoítos, os quais posteriormente darão origem a dois merozoítos, caracterizados pelo formato piriforme. Esses se reproduzem até causar hemólise, ficando então livres para invadir novas células. Por fim, no momento em que um *D. nitens*ingere o sangue de equinos contendo eritrócitos infectados, ocorre a formação de esporozoítos nas suas glândulas salivares (forma infectante do agente). Já no caso de *T. equi*, o ciclo biológico pode ser dividido em três fases distintas: esquizogonia, gametogonia e esporogonia. Na fase de esquizogonia, após a inoculação do agente pela picada do carrapato, os esporozoítos invadem primeiramente os leucócitos (linfócitos e monócitos) do hospedeiro, nos quais irão se transformar em microesquizontes, macroesquizontes e finalmente merozoítos. A sua multiplicação é responsável pela ruptura da membrana celular desses leucócitos, liberando os merozoítos no sangue, que, por sua vez, irão invadir os eritrócitos. No interior das hemácias, os parasitas dividem-se sucessivamente por fissões binárias, adquirindo

longo de toda a vida de ninfa ou adulta do carrapato, tanto por fêmeas quanto por machos (RADOSTITS, 2006).

4.5 Imunidade do hospedeiro e susceptibilidade à infecção

A resposta imune desenvolvida por hospedeiros vertebrados frente a infecções por piroplasmas envolve tanto mecanismos associados à imunidade inata quanto à imunidade adquirida. Assim, tanto mecanismos humorais (células T- dependente) quanto celulares estão envolvidos na resposta gerada frente à presença dessa família de protozoários. As células fagocíticas mononucleares são as primeiras acionadas no momento da infecção, tanto em casos de já existir algum tipo de imunidade inata (tratando-se de animais que já foram previamente expostos ao agente) quanto em primo-infecções, sendo suas formas ativas responsáveis pela produção de óxido nítrico. Segundo Radostits et al. (2006), quando eritrócitos infectados por *Babesia* spp. são expostos ao óxido nítrico, é possível se observar rapidamente a morte dos parasitas, comprovando assim o potencial babesicida dessas moléculas.

4.5.1 Mecanismos associados ao desenvolvimento da imunidade inata para o agente

Estudos comprovam a existência de uma relação entre a idade em que ocorreu a primo-infecção e os mecanismos de imunidade desenvolvidos pelos hospedeiros. Animais jovens tendem a apresentar fortes mecanismos de resposta imune inata frente a infecções pelos protozoários, os quais perduram pelos primeiros meses de vida do indivíduo após seu nascimento. Essa resposta, porém, pode ser totalmente suprida caso seja realizada uma esplenectomia nesses animais (RADOSTITIS, 2006).

IL-12 e IL-10 são duas importantes citocinas imunoregulatórias envolvidas nesse processo. Assim, a resposta imune inata em animais jovens associada a infecções por cepas virulentas de *Babesia* spp. está associada à liberação imediata de IL-12 e IFN- θ , transcritos no baço. Essa é posteriormente acompanhada por um breve período no qual ocorre a indução da síntese de óxido nítrico.

Em contrapartida, estudos revelam que a expressão de IL-12 e IFN- θ pelo baço de animais adultos, os quais morreram devido a infecções pelo protozoário, era tardia e menos intensa, sendo ainda acompanhada pela liberação de IL-10. Além disso, diferentemente do

que se observa em animais jovens, anticorpos contra o agente não são identificados em animais adultos mortos (RADOSTITS, 2006).

4.5.2 Mecanismos associados ao desenvolvimento da imunidade adquirida para o agente

Em casos de infecções por piroplasmas em hospedeiros vertebrados, anticorpos protetores e não protetores contra antígenos do agente foram identificados. Soros hiperimunes proveniente de animais recorrentemente infectados ou misturas contendo IgG1 e IgG2 preparadas a partir de soros hiperimunes podem ser utilizados para promover uma imunização passiva em equinos que nunca foram expostos aos protozoários envolvidos na Piroplasmose Equina. Segundo Radostits et al. (2006), trabalhos realizados a partir da inoculação do agente em animais esplenectomizados que receberam previamente soros hiperimunes demonstram que os mesmos foram capazes de se recuperar de forma tão eficiente como se nunca tivessem sofrido da doença.

Respostas imunes fortes e consistentes são observadas comumente após casos de infecções naturais pela maioria das espécies de piroplasmas. Existem trabalhos que demonstram a existência de uma pequena relação entre a queda da imunidade e o nível de anticorpos sanguíneos apresentado no soro dos animais, caracterizando assim uma imunidade duradoura, mas não permanente. Em casos de infecções recorrentes, porém, a imunidade desenvolvida pelo hospedeiro passa a adquirir um caráter mais permanente.

Em casos nos quais os animais recebem tratamento imediato e a doença é combatida de forma eficiente, a morte do protozoário se dá antes que ocorra a produção de anticorpos pelo organismo do hospedeiro, assim nenhum tipo de mecanismo de imunidade se estabelece. Caso não ocorram novos casos da infecção, *Babesia* spp. são capazes de sobreviver no hospedeiro vertebrado por um período variável, em geral em torno de 6 meses, e posteriormente desaparecem. Uma resposta imune considerada como improdutiva surge durante esse período e por aproximadamente mais 6 meses após o desaparecimento do agente do organismo dos hospedeiros, porém após passado esse período (em geral um ano após observada a infecção) o equino novamente irá se tornar suscetível ao agente. Esses períodos de latência da infecção ou de resistência a novas infecções, porém, são extremamente variáveis, principalmente em relação às diferentes raças do hospedeiro e espécie de piroplasma envolvida (RADOSTITS, 2006).

Apesar da agressividade associada aos casos agudos de infecção pelos piroplasmas, indivíduos que sobrevivem geralmente desenvolvem uma boa resposta imune frente a doença,

mas não frente a infecção, ou seja, apesar de não haver a manifestação dos sinais clínicos, o hospedeiro pode permanecer persistentemente infectado pelo agente. Existem casos em que os equinos permanecem anos ou até mesmo o resto de suas vidas infectados por esses hemoprotozoários. *Babesia* spp. são considerados parasitas extremamente adaptados a sobreviverem em seus hospedeiros (RADOSTITS, 2006). Segundo Allred (2000), pelo menos cinco fenômenos distintos contribuem de alguma forma para essa capacidade de sobrevivência do protozoário: rápida variação antigênica, capacidade de citoaderência e sequestro, capacidade de ligação às proteínas de superfície dos eritrócitos do hospedeiro, expressão monoalélica de diferentes membros de famílias multigênicas e o estabelecimento de uma imunossupressão transitória.

Taxas de inoculação mensuram a probabilidade de infecção diária às quais os animais estão submetidos. Tal conceito está baseado na ideia de que animais expostos ao parasita nos primeiros 9 meses de suas vidas tornar-se-ão infectados, imunes e então soropositivos para o agente, permitindo assim que caso a infecção venha a ocorrer, provavelmente isso irá ocorrer sem a manifestação de quaisquer sinais clínicos da doença. Taxas de inoculação entre 0,0005 e 0,005 são consideradas enzoóticamente instáveis, uma vez que uma grande quantidade dos animais nascidos nessas áreas irão chegar aos 9 meses de idade sem terem sido expostos ao hemoparasita. Tal fato resultaria em um aumento dos riscos de manifestação dos sinais clínicos da doença em animais adultos (caracterizando assim uma área de instabilidade enzoótica), o que pode vir a ser um problema, uma vez que primo-infecções em animais mais velhos caracterizam-se por ser mais severas ou até mesmo fatais (CARRIQUE, 2000). Uma alternativa seria a realização de programas de controle do vetor na tentativa de dificultar a transmissão do agente, contudo trata-se de uma medida que demanda maiores gastos e envolve maiores riscos caso não seja realizada de forma correta e eficiente.

Segundo Bock et al. (2004), o conceito de estabilidade endêmica é definido como um estado em que a relação entre os hospedeiros, agentes causadores da doença, vetores envolvidos e ambiente está tão bem estabelecida que a manifestação dos sinais clínicos da doença raramente ou nunca ocorre. Uma área pode ser considerada em estabilidade endêmica para Piroplasmose, ou seja, o rebanho de equinos pode ser considerado imune para a doença quando a taxa de transmissão (ou taxa de inoculação) dos piroplasmas pelo vetor torna-se capaz de imunizar a maior parte dos animais susceptíveis presentes nesse rebanho antes que a resistência conferida pela imunidade passiva fornecida pelas éguas aos seus potros desapareça. Em regiões tropicais, onde a população de vetores encontra-se mais presente, exposições naturais dos animais aos agentes geralmente ocorrem nos primeiros meses de vida

dos potros, conferindo assim aos animais uma imunidade capaz de prevenir a manifestação dos sinais clínicos da doença em animais adultos. Em geral considera-se que se pelo menos 75% do rebanho for exposto ao agente até o primeiro ano de vida dos animais, a incidência da doença será extremamente baixa e um estado de estabilidade endêmica será estabelecido.

4.6 Fatores de risco

4.6.1 Fatores associados ao hospedeiro

Alguns autores consideram a faixa etária como um fator de risco, correlacionando-a diretamente aos índices de animais positivos para *T. equi* e *B. caballi* encontrados no plantel. Corroborando com essa ideia, estudos realizados por Asgarali et al. (2007) demonstraram haver uma maior prevalência de anticorpos anti-*T. equi* em animais mais velhos, enquanto que anticorpos para *B. caballi* foram mais comumente identificados em equinos entre dois e quatro anos de idade. Isso pode ser explicado pelo fato de que animais infectados por *T. equi* permanecem hospedeiros do agente por toda a vida, promovendo assim uma constante estimulação antigênica e manutenção dos níveis de anticorpos circulantes. Já infecções por *B. caballi* persistem por períodos limitados, os quais podem variar entre um a quatro anos, sendo o agente posteriormente eliminado.

Todavia, a idade dos animais não foi identificada como um fator de risco em estudos realizados no Rio de Janeiro, nos quais não foram observadas diferenças significativas na prevalência de anticorpos anti-*T. equi* entre animais de diferentes faixas etárias, concluindo assim que a região avaliada era uma área de estabilidade enzoótica (BOTTEON, 2002). Resultados semelhantes foram encontrados por outros pesquisadores, os quais concluíram que não só o fator idade, mas também sexo, raça e espécie não se apresentavam como fatores de risco para a ocorrência de infecções por *T. equi* e *B. caballi*.

Existe uma variação com relação à susceptibilidade para a infecção e a idade dos animais. O grau de severidade da doença clínica aumenta proporcionalmente com relação à idade dos animais. Contudo, potros nascidos em regiões que não são consideradas em estabilidade enzoótica são considerados extremamente susceptíveis a infecções pelo agente e conseqüentemente ao desenvolvimento da forma clínica da doença desde o nascimento até o segundo mês de vida, momento a partir do qual os mecanismos de imunidade inata começam a agir, persistindo até o sexto mês de vida do animal. Em contrapartida, potros nascidos de éguas consideradas imunes para a doença recebem anticorpos para o agente via colostro,

conferindo assim uma imunidade passiva a esses animais que irá perdurar até o seu terceiro ou quarto mês de vida. As maiores taxas de infecção ocorrem em animais entre o sexto mês de vida até o primeiro ano de idade, sendo menos comum a ocorrência de infecções em animais com mais de cinco anos. Assim, em geral é somente a partir do sexto mês de vida dos animais que o número de animais infectados começa de fato a aumentar em regiões consideradas em estabilidade enzoótica para Piroplasmose Equina (RADOSTITS, 2006).

Em regiões classificadas como endêmicas para a doença, a população de animais mais afetada, caracterizada pela manifestação dos sinais clínicos da doença, é aquela composta por animais susceptíveis (ou seja, que nunca foram expostos aos agentes) que são introduzidos nessas áreas para realização de coberturas, por aquisição de novos animais provenientes de outras regiões, em casos de competições esportivas ou mesmo durante o trânsito dos animais pelo local. Animais nativos de áreas endêmicas raramente manifestam a forma clínica da doença devido à resistência desenvolvida por eles a partir de exposições naturais aos agentes desde os primeiros meses de vida do animal, permitindo assim que a imunidade passiva conferida pelas éguas após o nascimento dos potros via colostro fosse gradualmente substituída pelo desenvolvimento de mecanismos de imunidade ativa desenvolvidos pelo potro. Nesses animais, manifestações severas da forma clínica da doença estão comumente associadas a animais que foram submetidos a situações de estresse intenso, tais como parto, transporte, exercício intenso, fome ou doenças intercorrentes (RADOSTITS, 2006).

4.6.2 Fatores associados ao ambiente

Segundo Radostits et al. (2006), existe uma variação sazonal em relação à prevalência da forma clínica da Piroplasmose em equinos, sendo maiores incidências comumente observada logo após o início do aparecimento da população de vetores. Na Inglaterra, por exemplo, a doença manifesta-se principalmente nas estações de primavera, verão e outono devido ao fato de ser nesse período que a população de carrapatos encontra-se mais presente. Já estudos epidemiológicos realizados por Boldbaatar et al. (2005) demonstraram uma maior prevalência da doença na primavera e em áreas semi-desérticas, onde sugere que haja ótimas condições para o desenvolvimento da população de carrapato. Assim, é possível inferir que a prevalência da Piroplasmose Equina é maior em áreas onde a concentração de carrapatos é mais intensa, logo se conclui que quando o controle do carrapato não é realizado em uma determinada área considerada endêmica, aproximadamente 100% dos equinos tornar-se-ão soropositivos por terem sido expostos aos protozoários em algum momento de suas vidas.

Dentre os fatores climáticos que contribuem para essa flutuação, a temperatura do ar é aquele considerado como mais importante devido à influência do mesmo sobre a atividade dos vetores, uma vez que essa aumenta quanto mais altas forem as temperaturas. A umidade relativa do ar e os níveis de chuva, por sua vez, são considerados como fatores de pouca influência (RADOSTITS, 2006).

As maiores perdas são observadas em áreas marginais, nas quais a população de carrapatos é extremamente variável, estando essa flutuação diretamente associada às condições ambientais. Nas estações mais frias, nas quais a população dos vetores diminui, observa-se uma queda brusca nas taxas de infecção do rebanho e, conseqüentemente, os mecanismos de imunidade para o agente podem ser perdidos, tornando assim os animais novamente susceptíveis ao agente. Em contrapartida, nas estações mais quentes (consideradas mais favoráveis), quando se observa um aumento dessa população de carrapatos, a doença se dissemina rapidamente pelo rebanho, o qual perdeu seus mecanismos de imunidade e encontra-se susceptível para o desenvolvimento da forma clínica da doença. Quadros semelhantes podem ser reproduzidos artificialmente em locais que realizam programas ineficientes para controle de carrapatos, os quais são capazes de reduzir a população de vetores a níveis bem baixos, porém a longo prazo não são capazes de controlar e manter a população nesses níveis.

Ainda tratando da influência exercida por fatores ambientais, Botteon et al. (2002) realizaram estudos a fim de avaliar a soroprevalência para *T. equi* em animais submetidos a diferentes manejos. Com relação aos resultados encontrados, nos sistemas de criação extensivos e de semi-confinamento 89,58% e 87,89% dos animais foram identificados como positivos, respectivamente, enquanto que apenas 45,24% dos animais apresentaram o mesmo diagnóstico nos sistemas confinados. Isso provavelmente ocorre pelo fato de que animais confinados são menos expostos e apresentam menor contato com o vetor. Outros estudos realizados avaliando o impacto dos fatores ambientais demonstraram que cavalos de corrida apresentam menores índices de soropositividade em relação a animais sujeitos a outros tipos de manejos, provavelmente pelo fato de os primeiros serem submetidos a melhores condições de manejo e programa mais intensivos de controle de ectoparasitas em relação aos demais (MORETTI, 2009).

4.6.3 Fatores associados ao agente

Diversos hemoparasitas intra-eritrocitários são capazes de sobreviver à ação do sistema imune dos hospedeiros devido a sua capacidade de rápida variação antigênica. Infecções por piroplasmas que sofreram variações antigênicas ou em casos de superinfecções por esses agentes resultam na presença de populações antigenicamente distintas no interior de um mesmo hospedeiro. Cada nova alteração antigênica apresentada pelo agente é capaz de suspender temporariamente os mecanismos de ataque por parte do sistema imune do hospedeiro, prolongando assim o período de infecção. Mais de 100 formas antigênicas distintas podem ser observadas em casos de infecção por piroplasmas dentro de um mesmo rebanho (ALLRED, 2001).

Diferenças apresentadas por diferentes cepas ou variações antigênicas, porém, não demonstram exercer grande influência na manifestação clínica da doença. Segundo Criado-Fornelio et al. (2004), novas sequências de cepas isoladas de amostras de *B. caballi* e *T. equi* na Espanha demonstram um grau relativamente alto de divergências genéticas dentro do grupo dos piroplasmas.

4.7 Impactos econômicos associados à Piroplasmose Equina

Os índices de mortalidade em casos de surtos de Piroplasmose Equina em rebanhos susceptíveis são extremamente elevados, porém os maiores prejuízos econômicos associados a esses hemoprotozoários nessa espécie estão relacionados a perdas de desempenho dos animais em corridas e rápida disseminação do agente para animais susceptíveis em competições ou outros eventos que reúnam uma grande quantidade de animais. Atualmente, esse problema vem adquirindo importância e mostrando-se cada vez mais presente, uma vez que a movimentação de cavalos entre países para a participação em competições esportivas ou realização de coberturas vem crescendo. Outra categoria de perda associada a essa doença envolve a perda de potros que se infectam pelo agente ainda no útero, no primeiro terço da gestação (RADOSTITS, 2006).

Na década de 1960, a ocorrência de um surto de Piroplasmose clínica nos Estados Unidos associada ao aparecimento de um grande número de casos da doença na Austrália e a identificação de uma grande quantidade de animais soropositivos para o agente no Reino Unido sugeriram a possibilidade de que a Piroplasmose seria uma doença emergente que deveria ser tratada como uma ameaça de importância máxima para a indústria de equinos do

mundo. Contudo, tal fato não se concretizou. Apesar disso, é importante ressaltar que a doença encontra-se hoje incluída na lista de doenças de notificação obrigatória elaborada pela OIE, e que o trânsito de animais soropositivos está terminantemente proibido para países livres da doença.

O Brasil possui hoje o maior rebanho de equinos da América Latina e o terceiro maior rebanho do mundo, contando com um plantel composto por aproximadamente 8 milhões de equídeos (PNSE, 2010). Todavia, apesar de a exportação de cavalos ser um importante impulso para a equinocultura nacional, as barreiras sanitárias são hoje o maior entrave para a aceitação do produto brasileiro no exterior, uma vez que a Piroplasmose Equina é considerada endêmica no país. Assim, apesar da qualidade do plantel brasileira, ainda existe uma restrição à exportação de cavalos para o mercado internacional pelo fato de não ser realizado um controle efetivo para essa enfermidade no país. Ainda, tratando-se de garanhões importantes e cavalos de alto desempenho que participam de competições esportivas em escala internacional, maiores devem ser os cuidados, principalmente com relação ao controle de vetores e realização periódica de exames laboratoriais que comprovem a soronegatividade desses animais, elevando assim os custos da produção. Diante disso, a importância da Piroplasmose Equina não se reserva apenas aos danos individuais causados e custos envolvidos com medicações para o tratamento desses animais, mas a todo impacto que a doença causa sobre o plantel brasileiro e às perdas econômicas geradas aos criadores.

5 CARACTERÍSTICAS DA DOENÇA

5.1 Patogênese

Os piroplasmas são um grupo diversificado de protozoários do filo Apicomplexa, intra-eritrocitários obrigatórios e que são transmitidos aos seus hospedeiros vertebrados por meio de carrapatos. Esse grupo de ectoparasitas é capaz de infestar uma gama variada de hospedeiros vertebrados, sendo que a inoculação dos piroplasmas nesses ocorre durante a realização do repasto sanguíneo por carrapatos infectados. Esses, por sua vez, transmitem os esporozoítos do agente presentes nas suas glândulas salivares para a corrente sanguínea do hospedeiro através da saliva. Dentro do grupo de *Babesia* spp., a maioria dos esporozoítos invade diretamente os eritrócitos do hospedeiro, não havendo a necessidade de realizar um estágio prévio de desenvolvimento intratissular. Uma vez dentro das hemácias, estabelece-se

um ciclo ininterrupto de reprodução assexuada do agente, mesmo frente à ativação de uma resposta imune consistente por parte do organismo do hospedeiro (ALLRED, 2000).

A principal consequência clínica resultante da presença do agente ocorre durante o pico de multiplicação do protozoário nas hemácias do hospedeiro. É nesse estágio que se inicia a manifestação de sinais de hemólise pelo animal, fato que geralmente é observado após transcorridos 7 a 20 dias da inoculação dos esporozoítos de *Babesia* spp. no hospedeiro. Esses sinais de hemólise caracterizam-se pela manifestação de anemia severa, icterícia e hemoglobinúria pelos animais infectados. Em casos mais graves, os animais podem vir a óbito por anóxia tecidual associada à anemia. Já no caso de animais que sobrevivem e tornam-se cronicamente infectados, alterações ósseas e danos na musculatura cardíaca por isquemia são comumente observados (RADOSTITS, 2006).

Apesar de a susceptibilidade dos hospedeiros vertebrados para a ocorrência de infecções por esses piroplasmas diminuir de forma inversamente proporcional à idade do animal, a manifestação da forma clínica da doença é mais severa em animais adultos em relação aos mais jovens. Assim, potros infectados ao nascimento tendem a manifestar sinais mais brandos da doença, enquanto que animais adultos que nunca foram expostos ao agente apresentam sinais mais severos. No caso de animais com idade mais avançada, a doença pode ser fatal.

Animais que sobrevivem ao estágio agudo da infecção tornam-se carreadores do agente, o qual se mantém presente no organismo dos mesmos de forma inofensiva. Nesses casos, observa-se o estabelecimento de um sutil equilíbrio imunológico entre os anticorpos do hospedeiro e a presença do protozoário no interior das suas hemácias, possibilitando assim a manutenção do agente no animal de forma subclínica. Contudo, esse frágil estágio de equilíbrio imunológico pode ser facilmente interrompido no momento em que o animal for submetido a situações que lhe causem estresse, tais como transporte, exercício intenso, fome, prenhez ou doenças intercorrentes.

Principalmente devido a existência desse equilíbrio imunológico em animais carreadores do agente, esses se tornam resistentes a ocorrência de novas infecções pelo protozoário por prolongados períodos. Todavia, no caso de animais constantemente reinfectados, principalmente no caso de equinos que vivem em áreas endêmicas, apesar de o animal não manifestar a forma clínica da doença (devido aos mecanismos de proteção desenvolvidos pelo sistema imune de animais que são expostos aos piroplasmas nos primeiros meses de vida), observa-se uma variação na virulência dos agentes encontrados na corrente sanguínea desses animais. Tal variação pode ser explicada devido à presença intermitente das

formas infectantes do parasita no sangue periférico dos seus hospedeiros (RADOSTITS, 2006).

5.2 Resposta imune do hospedeiro frente à presença do agente

Segundo Zintl et al. (2003), o fenômeno conhecido como resistência inversamente proporcional à idade, caracterizado pela manifestação clínica mais severa da doença em animais que sofreram primo-infecções em idade mais avançada, está diretamente relacionado aos mecanismos de imunidade inata desenvolvidos pelos potros. Esses últimos não evidenciam quaisquer relações com o estágio imunológico das mães e conseqüentemente com a imunidade passiva que elas transferem a sua progênie via colostro. Não obstante o fato de potros nascidos de éguas resistentes à infecção adquirirem anticorpos específicos para o agente via colostro (principalmente IgG), essas imunoglobulinas não são necessárias para sua proteção, uma vez que potros nascidos de éguas susceptíveis (as quais não são capazes de transmitir anticorpos contra o agente via colostro), são igualmente resistentes à forma clínica da doença. Estudos realizados *in vitro* revelam que o desenvolvimento parasitário não ocorre em hemácias de animais jovens resistentes, possivelmente devido à presença de fatores inibitórios nas hemoglobinas fetais.

Animais que sobrevivem às fases agudas da infecção pelo protozoário, tanto aqueles capazes de se recuperar naturalmente como aqueles que recebem tratamento medicamentoso para a cura da doença clínica, tornam-se persistentemente infectados pelo agente, porém resistentes a novas infecções por cepas semelhantes àquelas presentes no seu organismo. Desse modo, métodos de imunização envolvendo a utilização de formas inativas do protozoário ou “extratos” do agente são capazes de conferir proteção ao animal frente a infecções por cepas homólogas ou mesmo heterólogas (devido a mecanismos de imunidade cruzada), fato demonstrado devido aos baixos níveis de parasitemia e diminuição da destruição das células sanguíneas observados.

Essa resistência imunológica desenvolvida pelos hospedeiros vertebrados, porém, não é permanente, logo animais que passam longos períodos em locais livres do agente, mesmo após terem sido previamente expostos, tornam-se novamente susceptíveis a reinfecções. Os mecanismos imunológicos específicos desenvolvidos pelos animais expostos apresentam tanto componentes associados à resposta humoral como celular. Monócitos e linfócitos são os principais mediadores celulares que participam dessa resposta imunológica. Em geral uma elevação na atividade antimicrobiana dessas células é observada no momento em ocorrem os

picos de concentração do agente na corrente sanguínea dos hospedeiros, além de preceder os períodos em que são observadas reduções nos níveis das formas infectantes desses piroplasmas. Tal fato sugere que a presença de monócitos e neutrófilos no sangue periférico corresponde à ativação de mediadores celulares associado à resposta imune inata desenvolvida em exposições prévias do animal ao agente (RADOSTITS, 2006).

Estudos realizados em animais infectados por *Babesia* spp. revelam a presença de anticorpos na corrente sanguínea antes mesmo de os protozoários serem identificados parasitando eritrócitos em esfregaços sanguíneos, indicando assim que os mesmos não apresentam quaisquer efeitos de caráter inibitório sobre a multiplicação do agente no animal. No caso de infecções secundárias pelo agente, porém, os mecanismos de proteção aparentemente estão muito mais associados à ação de um pequeno grupo de anticorpos altamente especializados do que a uma ação conjunta de todos os anticorpos ali presentes. Tal fato explica a razão pelas quais indivíduos resistentes a infecções pelos piroplasmas frequentemente apresentam baixos níveis de anticorpos específicos para o agente. Ainda, a participação do baço no desenvolvimento dessas respostas imunes específicas pode ser ilustrada pelo fato de que animais esplenectomizados que sobreviveram a infecções prévias pelo agente apresentarem recaídas, sendo elas caracterizadas pela manifestação da forma clínica da doença.

Anticorpos específicos para os piroplasmas são produzidos e utilizados nos diagnósticos sorológicos da doença. Titulações mais elevadas são comumente observadas no soro de animais que sofreram inúmeras infecções e reinfecções pelo agente. Contudo, quedas na resposta imune observadas nesses animais não estão associadas a essas titulações de anticorpos. Os mecanismos imunológicos associados à resistência dos indivíduos podem ser transmitidos passivamente a outros animais através de amostras de soros hiperimunes ou colostro. Ainda, os anticorpos são produzidos especificamente de acordo com as cepas presentes no organismo dos hospedeiros, contudo, em casos de infecções por cepas heterólogas do protozoário pode ser observada uma elevação na titulação de anticorpos no soro desses animais (RADOSTITS, 2006).

Transmissões experimentais do agente infectando-se animais susceptíveis resultaram na manifestação da forma clínica aguda da doença, parasitemia e, por fim, culminaram com o desenvolvimento de uma resposta imune pelo hospedeiro. Tal fato foi observado de forma similar tanto em fêmeas prenhes como vazias (GARCIA, 2004).

5.3 Manifestação clínica

O período de incubação de *T. equi* em equinos varia de 2 a 10 dias, podendo chegar até 21 dias dependendo do vetor envolvido. Dois dias após a infecção os esquizogontes de *T. equi* são encontrados parasitando linfócitos, sendo somente por volta do 12° ao 14° dia que os merozoítos passam a ser visualizados no interior dos eritrócitos. Já no caso de *B. caballi*, o período de incubação entre 10 a 30 dias. Com relação à manifestação dos sinais clínicos, estudos realizados por Sakha (2007) demonstraram que *T. equi* é considerada como a espécie de piroplasma mais patogênica, estando *B. caballi* principalmente associada a quadros anêmicos e febre mais persistente.

Na sua forma aguda, a doença clínica inicialmente provoca imobilidade no animal adulto, fazendo com que o mesmo comece a mostrar-se relutante em se movimentar. Em alguns casos, o animal permanece em decúbito lateral, não respondendo a estímulos externos. Outros achados incluem estados de anorexia completa e hipertermia (>40 °C), apesar de que esse aumento na temperatura corporal do animal somente ocorre um dia após o início da manifestação da doença clínica, seguindo de forma intermitente. Aumentos de volume na região distal dos membros também podem ser observados, assim como na região da cabeça e porção ventral do abdômen. Ainda, é possível se verificar a presença de uma espessa camada de muco recobrando as fezes do animal, sendo casos de cólica frequentemente observados nesses animais. Ocasionalmente sinais de bronquite podem ser identificados. A mucosa dos animais apresenta-se rosa pálida, podendo ser constatados casos de icterícia. Grande parte dos animais não manifesta hemoglobinúria (RADOSTITS, 2006).

Em potros, os quais podem infectar-se pela via transplacentária, a manifestação dos sinais clínicos ocorre de forma mais severa. Sinais de icterícia, palidez das mucosas, frequência reduzida das mamadas e debilidade são marcantes, sendo comumente observadas petéquias na mucosa desses animais. A doença clínica perdura por um período de 8 a 10 dias, contudo, em casos mais graves, os potros podem vir a óbito 24 a 48 horas após o início da manifestação dos sinais.

Segundo Ribeiro et al. (1995), em áreas endêmicas os potros infectam-se logo após o nascimento, sendo a parasitemia detectada antes dos 42 dias de idade nesses animais. Nessas condições, a forma clínicas da Piroplasmose Equina não é comumente observada em animais adultos, os quais passam apenas a carrear o agente de forma subclínicas ou crônicas. No caso de infecções de potros que ocorrem *in utero*, observa-se o nascimento de animais normais, os quais podem vir a desenvolver a forma clínica da infecção após o nascimento. O resultado

desta infecção, porém, varia de acordo com o número de protozoários que irão infectar o feto, uma vez que no caso de infecções por *T. equi*, abortos e casos de Piroplasmose Neonatal podem ser observados quando a parasitemia excede 50% (ALLSOP, 2007). Ainda, tratando-se de doenças reprodutivas, infecções por *T. equi* em éguas portadoras são consideradas como a principal causa de abortos em equinos.

Segundo Jardim (2014), os piroplasmas podem causar principalmente anemia hemolítica em equinos, havendo assim liberação de hemoglobina e acúmulo de bilirrubina nos tecidos, além de hemoglobinúria. Além desse, outros sinais clínicos inespecíficos e característicos de infecções que podem ser observados incluem febre, apatia, hiporexia, descoloração da mucosa ocular, depressão, anorexia, lacrimejamento, secreção nasal, quemose, icterícia, hemoglobinúria, taquipnéia, constipação, edema de membros e presença de petéquias nas mucosas oral, nasal e ocular, podendo ainda ser identificados casos de reabsorções embrionárias e abortos em éguas. A maioria dos animais, porém, desenvolve a doença na sua forma subclínica, a qual se caracteriza por não cursar com a manifestação de sinais clínicos visíveis, ocasionando apenas sutis alterações hematológicas e queda no desempenho desses cavalos.

Apesar da gravidade da infecção aguda, a maioria dos animais desenvolve a forma crônica da doença. Nesses, os quais estão geralmente associados à evolução de casos agudos em que os animais não receberam tratamento adequado, o agente pode manter-se por meses no animal, sendo que equinos infectados podem permanecer carregando o agente por períodos de até quatro anos. Segundo Radostits et al. (2006), inoculações experimentais de *T. equi* nesses animais infectados de forma subclínica desencadearam a manifestação de sinais brandos da doença clínica nos animais. Assim, apesar de o protozoário parasitar uma grande quantidade de eritrócitos e causar anemia no hospedeiro, a manifestação dos sinais clínicos de anemia não ocorre. Todavia, no caso de potros recém-nascidos, sinais de icterícia e prostração manifestam-se de forma severa, os quais podem ser observados desde o nascimento do animal até 2 a 3 dias depois.

A baixa infestação por carrapatos observada em cavalos confinados impede a manutenção de taxas de anticorpos suficientes para promover uma proteção adequada a esses animais, assim a doença clínica costuma ser mais comumente observada em equinos mantidos sob regime de confinamento, sendo raramente observada naqueles criados a campo (BOTTEON, 2002).

Contudo, mesmo sem ocorrer a manifestação dos sinais clínicos, a infecção pode diminuir o desempenho dos animais, sendo essa considerada com a principal queixa com

relação à Piroplasmose Equina no caso de cavalos atletas, além de causar perda de peso, hiporexia, letargia, fraqueza, pouca tolerância ao exercício, leve anemia e febre intermitente. Segundo Botteon et al. (1992), animais infectados que manifestaram a forma clínica da doença foram mais acometidos por claudicação que aqueles infectados que não a manifestaram, fato este que pode ser explicado pelo fato de que os quadros anêmicos característicos da doença provocam quedas na capacidade muscular por falta de oxigenação adequada. Nesses casos, o diagnóstico da infecção é essencial, possibilitando assim a realização de um manejo adequado com o objetivo de melhorar o desempenho atlético desses animais. Além disso, em situações de estresse, prenhez e condições climáticas adversas cavalos cronicamente infectados e portadores assintomáticos podem reverter a doença para a sua forma aguda, passando então a manifestar os sinais clínicos visíveis (NANTES E ZAPPA, 2008).

6 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico presuntivo da Piroplasmose Equina é realizado basicamente a partir da observação dos sinais clínicos característicos da doença e avaliações hematológicas, nas quais é possível se identificar uma redução no volume de eritrócitos. Contudo, para a realização de um diagnóstico definitivo deve-se buscar a visualização dos protozoários em esfregaços de sangue, a identificação do DNA do agente por meio de técnicas de PCR ou realiza-lo através da mensuração das respostas imunológicas utilizando-se testes de imunofluorescência indireta ou ELISA.

6.1 Achados clínicos

O diagnóstico presuntivo da doença é dado a partir do histórico de infestação dos animais pelas espécies de carrapatos que atuam como vetores para os agentes da Piroplasmose Equina associado aos sinais clínicos característicos manifestados pelos animais, os quais incluem principalmente quadros fulminantes de febre, prostração e icterícia.

6.2 Achados laboratoriais

6.2.1 Avaliação hematológica

Segundo Radostits et al. (2006), uma anemia severa, apresentando contagem de eritrócitos inferiores a 2000000/ μ L e níveis de hemoglobina abaixo de 3 g/dL, pode ser observada na forma clínica da Piroplasmose equina, a qual está relacionada a fatores intra e extravasculares. No ambiente intravascular é possível se identificar uma ruptura eritrocitária disseminada em decorrência da multiplicação do agente no interior dessas células; já os elementos extravasculares caracterizam-se pela acentuada velocidade com que o baço promove a remoção das hemácias parasitadas da corrente sanguínea. De modo geral, os picos de anemia são observados 9 a 16 dias depois de ocorrida a infecção, sendo observados quadros mais severos em animais infectados por *T. equi* quando comparados àqueles infectados por *B. caballi* (CAMACHO, 2005). Segundo Cunha et al. (1998), porém, apesar da rápida redução do hematócrito observada nos animais durante a fase aguda da infecção, alterações significativas na hematimetria não são comumente identificadas durante a fase crônica.

Quedas significativas na contagem plaquetária e uma diminuição nos níveis de fibrinogênio também são verificadas nesses animais (RADOSTITS, 2006). Tal fato pode ser explicado em decorrência de que o quadro infeccioso incita uma resposta inflamatória sistêmica (principalmente na fase aguda da doença), cujos mediadores inflamatórios podem provocar vasculite periférica, agregação plaquetária e formação de microtrombos. Ainda, tratando-se especificamente das infecções por *T. equi*, durante a etapa em que o agente promove a invasão dos leucócitos ainda é possível se observar quadros de linfopenia e monocitopenia com neutrofilia.

Em alguns casos observa-se um aumento nas enzimas hepáticas aspartato aminotransferase (AST) e gama glutamil transferase (GGT), além de quadros de hipoalbuminemia, os quais estão associados à diminuição do aporte sanguíneo para o fígado pela circulação de microtrombos, promovendo assim pontos de necrose centrolobular. Ainda, um aumento da bilirrubina indireta, resultante da hemólise acentuada, pode ser verificado.

6.2.2 Identificação do agente

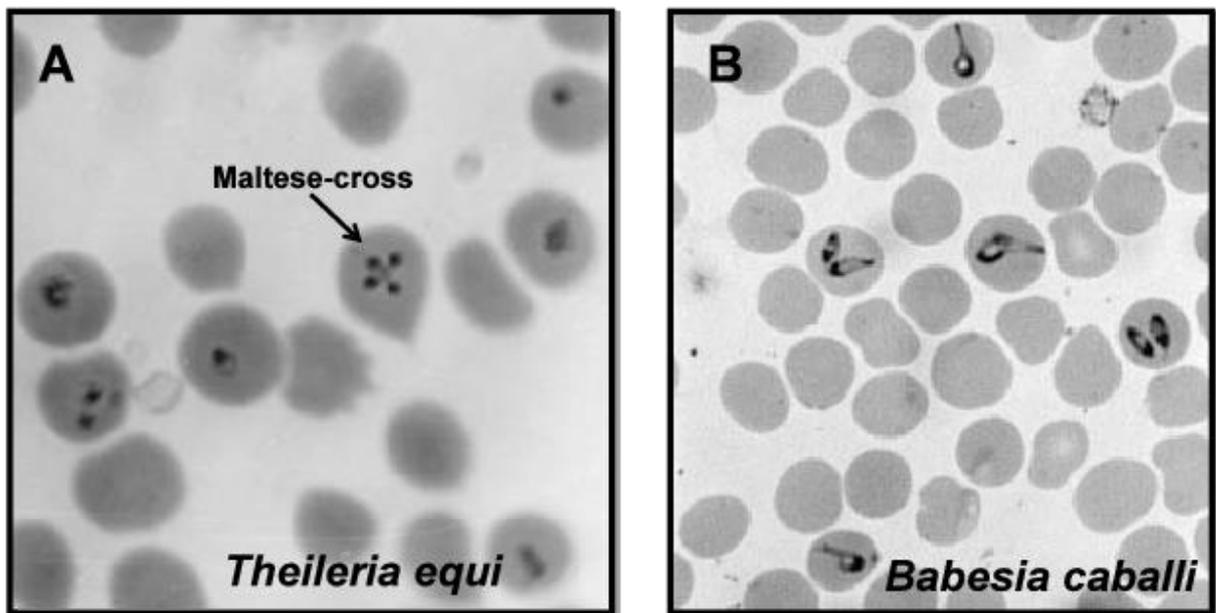
Exame direto de esfregaços sanguíneos. O diagnóstico de piroplasmas em equinos que manifestam a forma clínica da doença depende da comprovação da presença do protozoário em amostras de sangue obtidas a partir de capilares periféricos coradas com corante de Wright ou Giemsa. Apesar de essa ser considerada como a técnica mais comumente utilizada para o diagnóstico direto da Piroplasmose Equina, principalmente devido à rapidez, simplicidade, baixo custo e elevada especificidade, ela é considerada como de baixa sensibilidade (BALDANI, 2008). Desse modo, principalmente devido à intermitência com que o protozoário encontra-se presente no sangue periférico dos hospedeiros e à baixa parasitemia, outra possibilidade seria identifica-lo em amostras obtidas a partir da hemolinfa dos carrapatos encontrados em equinos infectados. Em geral as avaliações microscópicas possibilitam a identificação de parasitemia na escala de 10^5 em casos de camadas finas e 10^6 no caso de camadas mais espessas de sangue em esfregaços sanguíneos. Todavia, não existe uma correlação clínica direta exata entre o percentual de eritrócitos parasitados pelo agente e a severidade dos sinais clínicos (RADOSTITS, 2006).

Com objetivo de se obter melhores resultados, sugere-se que os esfregaços sanguíneos sejam elaborados a partir de amostras de sangue capilar coletadas da ponta das orelhas dos equinos, uma vez que a concentração do protozoário na circulação sistêmica dos hospedeiros é menor. Essa amostra, porém, devem ser obtidas somente após 14 a 16 dias da infecção (no caso de animais que não imunizados, os quais não foram previamente expostos ao agente), momento a partir do qual passa a ser possível observar os estágios típicos de *T. equi* no interior dos eritrócitos (merozoítos em formato piriforme, os quais adotam uma conformação característica conhecida como cruz de Malta, e estágios ovoides). Todavia, mesmo na fase aguda da doença, estima-se que cerca de apenas 1% das hemácias encontram-se parasitadas por *B. caballi* e 7% no caso de *T. equi*, desconsiderando-se, porém, casos de animais imunocomprometidos ou daqueles que nunca foram previamente expostos ao agente, nos quais essa parasitemia pode chegar até 80%. Assim, esfregaços sanguíneos preparados a partir da hemolinfa de carrapatos infectados pelo agente são considerados mais sensíveis e conferem resultados mais confiáveis quando a concentração do protozoário no sangue dos hospedeiros não é tão elevada (BOCK, 2004).

Ao microscópio, as duas espécies de piroplasmas equinos podem ser facilmente diferenciadas, como é possível se verificar na Figura 13, uma vez que *B. caballi*, que se encontra localizada no grupo das grandes Babesias, mede de dois a cinco micrômetros,

enquanto que *T. equi*, pertencente ao grupo das pequenas Babesias, mede de um a três micrômetros (sendo assim facilmente confundidos com artefatos de técnica quando observados ao microscópio devido ao seu pequeno tamanho). Ainda, em esfregaço sanguíneo *T. equi* são identificadas como pequenas inclusões, com formas que podem variar de esféricas a elípticas ou ovoides, as quais se dividem em quatro formas piriformes características, denominadas Cruz de Malta. Já *B. caballi* apresenta-se como pares piriformes unidos em ângulo agudo (HOMER, 2000).

Figura 13 – Esfregaços sanguíneos demonstrando a presença de *Theileria equi* e *Babesia caballi* no interior de eritrócitos de equídeos



FONTE: KUMAR (2009)

Com relação às suas desvantagens, ela é considerada como um teste de baixa sensibilidade para a identificação de animais que apresentam as formas subclínicas e crônicas da doença, uma vez que nesses a parasitemia é extremamente baixa (OGUNREMI, 2008). Em seus estudos, Cunha et al. (1996) observaram uma baixa porcentagem de animais positivos ao utilizarem a técnica de esfregaço sanguíneo (1,5%) em relação à imunofluorescência indireta (57,8%) para identificação de *T. equi*.

Teste de transmissão. A subinoculação de sangue em animais jovens susceptíveis esplenectomizados é considerada uma técnica altamente sensível para a detecção direta de infecções por *Babesia* spp., sendo preconizada principalmente nos casos em que a concentração sanguínea do protozoário nos hospedeiros é baixa. Para a realização do teste,

volumes de 50 a 100 ml de são inoculados por via subcutânea ou intravenosa no animal. Como resultado, no caso de animais positivos para a presença do agente espera-se que o período de incubação até que a manifestação dos primeiros sinais clínicos seja identificada seja mais curto. Os animais devem ser avaliados diariamente e a realização de esfregaços sanguíneos para a identificação do protozoário nas células sanguíneas deve ocorrer no pico da reação febril. Além disso, mensurar-se-ão os níveis sanguíneos de anticorpos anti-Babesia (RADOSTITS, 2006).

6.2.3 Sorologia

Os testes sorológicos possuem um importante papel nos estudos epidemiológicos e no trânsito internacional de equinos, principalmente pelo fato de apresentarem maior probabilidade de detectar animais portadores que o exame de esfregaços de sangue. Segundo Radostits et al. (2006), o diagnóstico de infecções ocorridas em períodos anteriores ou mesmo daquelas que estejam acometendo o animal no momento da realização do exame podem ser perfeitamente realizado por qualquer laboratório que apresente uma ampla variedade de exames sorológicos. Assim, no caso de equinos, os testes mais comumente utilizados incluem o teste de fixação de complemento, imunofluorescência, ELISA e os testes de hibridização (ou sondas de DNA, tais como Western blot), os quais se caracterizam por avaliar a presença de anticorpos contra o agente no sangue dos animais (detectados a partir do 14º dia de infecção).

Um aspecto de extrema relevância que deve ser considerado com relação aos testes sorológicos consiste na sua aplicação nos regulamentos de importação e exportação implementados. Tais regulamentações estabelecem as diretrizes para a liberação ou não da quarentena de animais de alto valor econômico, além de permitirem ou não a entrada desses animais em regiões consideradas como livres da doença. Em 1969, o teste de fixação de complemento foi aceito como o teste oficial para diagnóstico de Piroplasmose Equina pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA). Contudo, desde 2004 o cELISA (ou ELISA competitivo) passou a ser indicado como o método padrão requerido para permitir o trânsito internacional de cavalos para regiões consideradas como livres da doença (OIE, 2014).

Teste de fixação de complemento (TFC). A técnica baseia-se na pesquisa de imunoglobulina M (IgM), a qual apresenta uma concentração mais elevada que as demais imunoglobulinas na resposta imune primária à Piroplasmose Equina, atingindo níveis

detectáveis antes das demais. Todavia, devido ao aumento dos níveis de imunoglobulina G (IgG) no decorrer da infecção (os quais não são considerados hábeis de fixadores de complemento) e da redução nos níveis totais de imunoglobulinas durante a cronicidade da doença, o teste perde sensibilidade (OGUNREMI, 2008). Assim o TFC é ineficiente no diagnóstico de animais portadores assintomáticos, além de requerer grandes quantidades de antígenos para a realização de estudos epidemiológicos de grande escala.

Imunofluorescência indireta (IFI). Trata-se de uma técnica bastante utilizada no diagnóstico da Piroplasmose e alguns pesquisadores consideram sua sensibilidade superior a do TFC. Segundo Ogunremi et al. (2008), no diagnóstico de *B. caballi*, a IFI apresentou sensibilidade de 92% e especificidade de 95%, enquanto que o TFC apresentou sensibilidade de 28% e especificidade de 99%. Um estudo realizado em 1999 objetivou avaliar o uso de antígenos homólogos e heterólogos para a detecção de anticorpos contra *B. caballi* e *T. equi* pela técnica de IFI. A IFI com antígeno homólogo produziu títulos significativamente maiores que a IFI com antígeno heterólogo, indicando assim a existência de diferenças antigênicas entre isolados de diferentes regiões (HEUCHERT, 1999). Com relação as suas desvantagens, elas incluem o fato de a padronização da técnica ser muito difícil e a leitura das lâminas apresentar um caráter subjetivo, variando de acordo com a experiência do laboratorista, além de que pode ocorrer reação cruzada entre *T. equi* e *B. caballi*. Assim, atualmente a utilização da IFI tem sido apenas recomendada como teste complementar (BALDANI, 2007).

ELISA. Trata-se de um teste imunoenzimático que permite a detecção de anticorpos específicos para o agente no plasma e soro sanguíneo. Essa técnica baseia-se na detecção de IgG, imunoglobulina cuja resposta ao antígeno é mais específica e duradoura. Assim, é possível identificar casos em que o animal seja um portador inaparente, uma vez que o título de anticorpos do tipo IgG contra a Piroplasmose permanecem presentes na circulação por toda a vida do animal. A técnica de ELISA é considerada mais sensível que o TFC, sendo utilizado como ferramenta tanto para a detecção da doença na fase aguda como na fase latente (IKADAI, 2002).

Segundo Xuan et al. (2001), testes de aglutinação em látex (LAT) utilizando-se antígenos de merozoítos de *T. equi* recombinantes 1 (EMA-1) tem sido desenvolvidos para a detecção de anticorpos de *T. equi*. Trata-se de uma técnica considerada extremamente simples, rápida, sensível, específica e barata, sendo considerada como uma alternativa frente aos testes de ELISA e imunofluorescência indireta (IFI).

Alguns autores ainda citam a importância da qualidade do antígeno de parasitos intracelulares. Isso ocorre devido à presença de componentes contaminantes, como

fragmentos de eritrócitos, o que torna a padronização dos testes imunológicos um passo crucial, uma vez que a presença desses contaminantes aumenta a ocorrência de reação cruzada. Por esse motivo a importância da utilização de antígenos recombinantes, facilitando assim a padronização de testes e evitando a realização do cultivo *in vitro* dos parasitos (que é duradouro) ou a infecção artificial de equinos para a produção de antígenos. Contudo, a despesa para produção de antígenos recombinantes aumenta o custo do teste para Piroplasmose Equina em relação às preparações antigênicas a partir de parasitos intracelulares (LEAL, 2010).

Por fim, dada à importância de se avaliar de forma individual os animais como parte dos programas de controle de Piroplasmose Equina, culturas sanguíneas devem ser realizadas. Tais testes hoje possibilitam determinar se animais suspeitos são carreadores ou não de *T. equi* (RADOSTITS, 2006). Todavia, deve-se ressaltar que as técnicas sorológicas apresentam algumas limitações, uma vez que reações positivas podem ser observadas em animais que não são mais portadores, principalmente em virtude da persistência de anticorpos anti-*T. equi* e *B. caballi* por até 200 dias após a eliminação completa do agente, possibilitando reações falso-positivas. Outra desvantagem é a possibilidade de ocorrerem reações cruzadas entre as duas espécies de hemoparasitos devido a sua semelhança antigênica (BALDANI, 2007).

6.2.4 PCR (Reação em Cadeia da Polimerase)

Trata-se de uma técnica de identificação direta do agente, realizada por meio da amplificação de um fragmento específico do DNA, utilizando *primers* específicos, até que a sua concentração possa ser detectável (LEAL, 2010). Segundo Radostits et al. (2006), existe um ensaio de PCR universal elaborado com o objetivo de detectar e identificar as nove principais espécies patogênicas de piroplasmas para bovinos, equinos e roedores. A partir da amplificação de segmentos específicos do DNA do protozoário utilizando a técnica de *nested-PCR*, é possível se identificar a espécie do piroplasma por meio da restrição de fragmentos de comprimento polimórfico. Ainda, ensaios de PCR são considerados técnicas extremamente sensíveis, uma vez que são capazes de isolar o DNA do agente mesmo em casos nos quais a sua concentração na corrente sanguínea dos hospedeiros é muito baixa.

Heim et al. (2007) demonstraram em seus estudos a maior eficiência da PCR Multiplex Real-Time em relação à técnica de pesquisa de hematozoários em esfregaço sanguíneo. A técnica molecular apresentou positividade de 59,7% para *T. equi* e 12,5% para *B. caballi*, enquanto que o exame parasitológico obteve 7,2% para *T. equi* e 1% para *B.*

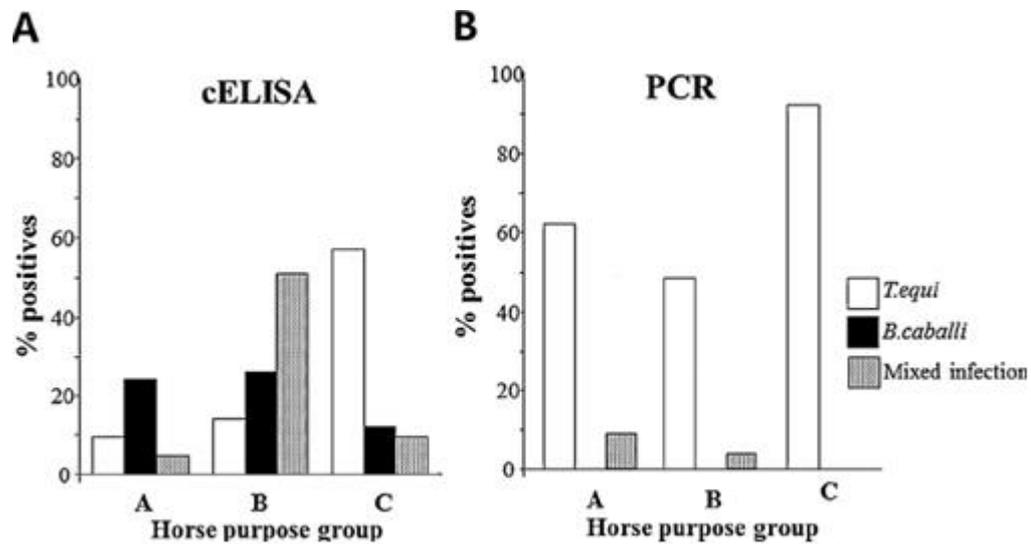
caballi. Ainda, por meio das técnicas de PCR é possível realizar estudos de epidemiologia molecular avaliando diferentes isolados de *T. equi* e *B. caballi*, possibilitando assim a identificação de grupos genéticos distintos dentro de uma mesma espécie.

Nos últimos anos introduziu-se a utilização de sondas de DNA, as quais apresentam como principal vantagem a capacidade de detectar a presença do agente em amostras provenientes de animais necropsiados e nos tecidos dos carrapatos. Desse modo, as técnicas de PCR têm se mostrado métodos diagnósticos extremamente úteis, principalmente devido a sua alta sensibilidade e especificidade, sendo especialmente indicados para a identificação de animais carreadores do agente, em pesquisas e na fase inicial de comercialização no Brasil.

Ensaio de PCR são capazes de detectar a presença de *T. equi* e *B. caballi* em amostras de sangue de equinos que se recuperaram de casos agudos da forma clínica da doença. Tal fato torna-se importante uma vez que, passada a fase aguda, existe o risco de que a doença possa assumir um caráter crônico e subclínico, transformando esses animais em carreadores e possivelmente reservatórios da infecção por longos períodos. Nesses casos, a concentração sanguínea do protozoário é tão baixa que raramente é possível identifica-los em esfregaços sanguíneos (BASHIRUDINN, 1999). Ainda, nessa categoria de animais o teste de fixação de complemento, o qual já foi considerado como o teste padrão-ouro oficial para o diagnóstico de Piroplasmose Equina por mais de 30 anos pela OIE, pode apresentar resultados negativos, enquanto que os mesmos animais serão identificados como positivos utilizando-se as técnicas de PCR. Por fim, as técnicas de *nested-PCR* são consideradas mais eficazes quando comparadas aos métodos de esfregaço sanguíneo e outras técnicas de PCR para detecção de *T. equi* em cavalos, já sendo utilizadas no Brasil para a identificação de infecções naturais de equinos pelo agente (BATTSETSEG, 2002).

Apesar da PCR, em geral, ser descrita como um teste de alta sensibilidade, existem variações entre as técnicas, sendo que muitas vezes elas apresentam desempenho inferior a outros métodos de diagnóstico, como é demonstrado graficamente na Figura 14 (ROSALES, 2013). Segundo Baldani et al. (2008), em estudo comparativo entre cultivo *in vitro*, PCR e *nested-PCR* para diagnóstico de *T. equi* em 15 equinos portadores do agente submetidos ao estresse induzido por exercícios, a *nested-PCR* apresentou 100% de sensibilidade, enquanto que o cultivo *in vitro* detectou 14 animais positivos e a PCR não diagnosticou nenhum animal como positivo. Assim, a técnica de *nested-PCR* normalmente é utilizada para tornar a reação mais eficiente, incrementando sensibilidade (uma vez que diferentemente da técnica de PCR padrão, essa realiza duas etapas de amplificação), sendo assim a mais indicada para a identificação de animais cronicamente infectados.

Figura 14 – Comparação entre a capacidade de detecção de animais positivos para Piroplasmose Equina utilizando-se cELISA e PCR



FONTE: ROSALES (2013)

Segundo Baldani et al. (2008), porém, embora a *nested-PCR* seja considerada a técnica de maior sensibilidade entre as diferentes PCRs, ela apresenta desvantagens, tais como o maior tempo de execução, custo e o aumento do risco de contaminação das amostras. Assim, dado que para a realização de estudos epidemiológicos populacionais são desejáveis técnicas simples, rápidas e de menor custo, atualmente estão sendo introduzidas as técnicas de PCR multiplex, as quais possuem essas características pelo fato de serem capazes de detectar múltiplas sequências-alvo numa mesma amostra (ALHASSAN, 2005).

Assim sendo, a PCR, por ser um método de diagnóstico direto de elevada sensibilidade e especificidade, passou a ser uma técnica amplamente utilizada na identificação de portadores e que, em conjunto com as provas sorológicas, aumentaram a capacidade de detecção de animais nessas condições de infecção, tornando o controle da Piroplasmose Equina mais eficiente.

6.3 Achados de necropsia

Em casos agudos de Piroplasmose, nos quais os animais vêm a óbito poucos dias após o início da manifestação dos sinais clínicos, principalmente devido a crises anêmicas, as lesões tipicamente observadas durante a necropsia incluem icterícia, sangue com aspecto mais fino e aquoso, palidez tecidual, esplenomegalia, baço com consistência macia e pulposa,

hepatomegalia e descoloração marrom enegrecida do fígado. Além desses, um aumento de volume e enegrecimento dos rins pode ser observado, assim como uma urina de coloração vermelho-amarronzada pode ser encontrada ao abrir-se a bexiga. Hemorragias equimóticas podem estar presentes no epicárdio e endocárdio desses animais, além de poder ser observado um aumento na quantidade de um fluido de aspecto hemorrágico no interior do saco pericárdico. Ainda, uma lesão considerada como característica em equinos nesses casos constitui-se de uma coagulação intravascular severa (RADOSTITS, 2006).

Já em casos subagudos ou casos crônicos de longa duração, as carcaças encontram-se emaciadas, não sendo comum a observação de hemoglobinúria. Alterações comumente encontradas em casos agudos também podem estar presentes, contudo manifestam-se de forma menos pronunciada nesses animais. Exames laboratoriais realizados com base em esfregaços sanguíneos obtidos a partir de sangue periférico, amostras do músculo cardíaco e rins são os mínimos requeridos para o estabelecimento de um diagnóstico definitivo para a doença. As amostras de sangue e de tecido devem ser obtidas, coradas com a coloração de Giemsa e avaliadas dentro de, no máximo, oito horas após a morte do animal (RADOSTITS, 2006).

Segundo Radostits et al. (2006), as técnicas de imunofluorescência direta possibilitam a identificação da presença de anticorpos para o agente em tecidos relativamente mais velhos. Assim, amostras de tecidos podem ser consideradas ainda viáveis para avaliação por até cinco dias após a coleta, desde que mantidas em temperaturas inferiores a 22 °C.

6.4 Diagnósticos diferenciais

Para o diagnóstico definitivo de Piroplasmose, antes da realização de quaisquer outros testes que busquem identificar a presença do protozoário no animal, deve-se primeiramente avaliar a presença do vetor no local (salvo casos em que equinos provenientes de regiões endêmicas tenham sido transportados para outros locais em períodos inferiores a um mês). Clinicamente, situações em que são observadas elevada morbidade e casos de mortalidade, nos quais os animais apresentem sinais de icterícia acompanhada de hemoglobinúria e febre são sugestivas para Piroplasmose Equina. Contudo, para o estabelecimento de diagnósticos definitivos a observação do agente por meio da avaliação de esfregaços sanguíneos e a realização de testes de transmissão são consideradas essenciais. Ainda, apesar da observação de lesões que incluem esplenomegalia, icterícia, equimoses no miocárdio, hemoglobinúria, aumento de volume e enegrecimento dos rins e do fígado serem altamente sugestíveis da

doença durante os exames de necropsia dos animais, avaliações laboratoriais que comprovem a presença do agente nos tecidos devem ser realizadas (RADOSTITS, 2006).

Desse modo, casos de síndromes agudas de anemia hemolítica, além de Piroplasmose, deveriam também levar em consideração como possíveis diagnósticos:

- Anemia Infecciosa Equina – Apresenta um curso muito mais longo e recorrente que a Piroplasmose Equina, ocorrendo somente de forma esporádica na população equina e não sendo associada à presença de protozoários nos fluídos corporais ou tecidos do animal;
- Mioglobinúria Paralítica – A presença de colorações de urina mais avermelhadas está associada à ocorrência de mioglobinúria, devendo sempre ser precedida por episódios de exercício intenso e estando associada a elevados teores de creatinina e fosfoquinases no soro desses animais;
- Anemia Hemolítica Aloimune dos Potros – Doença identificada somente por meio de exames laboratoriais que demonstrem uma incompatibilidade entre o soro das éguas e os eritrócitos dos potros;
- Forma cardíaca da Peste Equina Africana – Apresenta lesões edematosas similares às observadas em casos de Piroplasmose Equina, porém não são acompanhadas de icterícia ou hemoglobinúria.

Além dessas, outras patologias que cursam com sinais clínicos semelhantes devem ser consideradas, tais como Leptospirose, Anaplasmose, Arterite Viral, entre outros. Desse modo, os quadros a seguir (Quadros 2 e 3) apresentam alguns dos principais diagnósticos clínicos considerados em casos nos quais a Piroplasmose Equina pode entrar como patologia suspeita, sendo possível identificar quais as diferenças existentes e como diferenciar cada uma delas.

Quadro 2 - Principais diagnósticos diferenciais para Piropasmose Equina que cursam com anemia

DIAGNÓSTICOS DIFERENCIAIS QUE CURSAM COM ANEMIA EM EQUINOS				
DOENÇA	EPIDEMIOLOGIA	SINAIS CLÍNICOS	ACHADOS LABORATORIAIS	TRATAMENTO
Perda de Sangue Crônica	Ocorre de forma esporádica, estando geralmente associada a infestações parasitárias. Outras causas: carcinoma de células escamosas, micose de bolsa gutural	Letargia, taquicardia, palidez das mucosas. Os demais sinais variam de acordo com a causa primária do problema	Anemia microcítica hipocrômica, baixas concentrações de ferro no soro, aumento da capacidade de ligação do ferro no soro, diminuição dos níveis séricos de ferritina e trombocitopenia. Outros achados variam de acordo com a causa primária do problema. Diminuição da relação mielóide/eritróide na medula óssea	Tratamento da causa primária do problema. Administração de sulfato de ferro na dose de 10 a 20 mg/kg, uma vez ao dia até que os níveis séricos de ferro retornem aos valores de referência e a anemia seja resolvida
Anemia Associada a Doenças Crônicas (reações inflamatórias)	Ocorre de forma esporádica, estando associada à presença de doenças crônicas de caráter inflamatório (neoplasias, abscessos com efeito compressivo)	Letargia. Os demais sinais variam de acordo com a causa primária do problema	Anemia normocítica normocrômica branda, baixas concentrações de ferro no soro, leve diminuição ou preservação da capacidade de ligação do ferro no soro, aumento nos níveis séricos de ferritina. Não são observadas alterações na medula óssea	Tratamento da causa primária do problema

Continua

Continuação

DIAGNÓSTICOS DIFERENCIAIS QUE CURSAM COM ANEMIA EM EQUINOS				
DOENÇA	EPIDEMIOLOGIA	SINAIS CLÍNICOS	ACHADOS LABORATORIAIS	TRATAMENTO
Anemia Aplástica	Ocorre de forma esporádica, porém podendo ocorrer na forma de surtos em estábulos nos quais os cavalos forem tratados com eritropoietina humana recombinante (rhEPO)	Letargia, taquicardia, palidez das mucosas. Os demais sinais variam de acordo com a causa primária do problema	Anemia normocítica normocrômica, concentrações normais a elevadas de ferro no soro. Presença de anticorpos para rhEPO. Elevação da relação mielóide/eritróide na medula óssea devido à carência de células da linhagem vermelha	Tratamento da causa primária do problema. Em casos de anemia induzida pela administração de rhEPO, os prognósticos são extremamente desfavoráveis
Intoxicação por Bordo Vermelho (<i>Acer rubrum</i>)	Está associada à ingestão de folhas verdes ou secas de árvores de bordo vermelho. Pode ocorrer tanto de forma esporádica como acometer vários animais a campo. Sua ocorrência é regional, estando associada à distribuição dessa espécie de árvore	Icterícia, hemoglobinúria, depressão, cólica e falência renal	Elevadas concentrações de metahemoglobina no sangue (> 1,5%). Presença de corpúsculos de Heinz nas células da linhagem vermelha do sangue	Terapia suporte, transfusões de sangue. Sugere-se ainda a administração de vitamina C
Isoeritrólise Neonatal	Acomete potros entre os primeiros 4 a 5 dias de vida, sendo um problema associado a éguas múltiparas. Ocorre devido à ingestão de colostro contendo isoanticorpos contra os eritrócitos do próprio potro.	Franqueza, depressão, intolerância ao exercício, icterícia e hemoglobinúria	Anemia, hiperbilirrubinemia, teste de Coombs positivo. Teste de aglutinação para "potro icterico" positivo. Tipificação sanguínea da égua e do garanhão, detecção de isoanticorpos nas éguas	Tratamento conservador. Descanso, limitação do exercício. No caso de potros severamente acometidos, indica-se a realização de transfusões sanguíneas ou concentrado de hemácias de doadores compatíveis

Continua

Continuação

DIAGNÓSTICOS DIFERENCIAIS QUE CURSAM COM ANEMIA EM EQUINOS				
DOENÇA	EPIDEMIOLOGIA	SINAIS CLÍNICOS	ACHADOS LABORATORIAIS	TRATAMENTO
Síndrome dos Pôneis da Raça Fell (FPS)	Acomete pôneis da raça Fell com menos de 18 semanas de vida. Geralmente está associado a problemas hereditários	Franqueza, depressão, pneumonia, diarreia e outras infecções de caráter oportunista	Anemia normocítica normocrômica, leucopenia B-linfocítica, decréscimo das concentrações de imunoglobulinas com a evolução da idade dos potros	Não há
Anemia Hemolítica Autoimune	Geralmente ocorre de forma secundária a outras doenças intercorrentes ou administrações medicamentosas. Pode estar associada a quadros de anemia induzidos por Penicilina	Depressão, palidez das mucosas. Os demais sinais variam de acordo com a causa primária do problema	Anemia, hemoglobinúria ou hemoglobinemia. Teste de Coombs positivo.	Administração de corticoesteroides ou drogas imunossupressoras. Remover a causa primária do problema
Mionecrose por <i>Clostridium spp.</i>	Ocorre de forma esporádica. Geralmente está associada a administrações intramusculares de medicamentos ou vacinas	Na sua forma aguda a doença cursa com quadros fulminantes de necrose muscular, febre, depressão e anemia hemolítica. Já na sua forma crônica são observadas abscedações nos locais de inoculação da solução, icterícia, hemoglobinúria e hemoglobinemia	Anemia, aglutinação das células da linhagem vermelha. Nos casos crônicos ainda é possível se observar a presença de IgM ou IgG na superfície dos eritrócitos	Tratamento da causa primária do problema. Transfusões sanguíneas. Prognóstico desfavorável
Falência Hepática	Ocorre de forma esporádica, estando relacionada à presença de fatores de risco associados a doenças hepáticas	Sinais associados às fases terminais de falência hepática: depressão, perda de peso, icterícia	Achados característicos de doenças hepáticas (envolvendo alterações nos níveis de bilirrubina, AST, ácidos biliares, GGT), anemia, pancitopenia	Não existe tratamento específico. Tratamentos semelhantes aos utilizados em casos de doenças hepáticas. Prognóstico desfavorável

Continua

DIAGNÓSTICOS DIFERENCIAIS QUE CURSAM COM ANEMIA EM EQUINOS				
DOENÇA	EPIDEMIOLOGIA	SINAIS CLÍNICOS	ACHADOS LABORATORIAIS	TRATAMENTO
Hipoplasia Medular (em Standardbreds)	Doença associada a linhagens específicas de cavalos das raças Standardbreds na América do Norte	Intolerância ao exercício, maior predisposição à ocorrência de infecções secundárias	Anemia, pancitopenia	Não há
Distúrbios Mieloides	Ocorre de forma esporádica. Geralmente estão associados à presença de neoplasias de medula óssea (doenças mieloproliferativas, linfosarcomas)	Intolerância ao exercício	Varia de acordo com a causa primária do problema. Anemia normocítica normocrômica. Em alguns casos pode ser observada leucocitose severa. Hipergamaglobulinemia	Tratamento da causa primária do problema
Deficiências Iatrogênicas de Ácido Fólico	Ocorre de forma esporádica, estando diretamente relacionada a animais tratados com medicamentos que inibem o metabolismo do ácido fólico ou que recebem ácido fólico sintético por via oral (situação comumente observada em equinos que são tratados para mieloencefalite por protozoário [MEP])	Sinais variam de acordo com as causas primárias do problema. Depressão, intolerância ao exercício, letargia. Infecções por bactérias não muito comumente observadas podem ocorrer	Anemia branda, linfopenia, neutropenia e baixas concentrações de ácido fólico no sangue	Interrupção da administração de ácido fólico por via oral. Administração parenteral de ácido fólico

FONTE: RADOSTITS (2006)

Quadro 3 - Principais diagnósticos diferenciais para Piroplasmose Equina que cursam com anemia e edema

DIAGNÓSTICOS DIFERENCIAIS QUE CURSAM COM ANEMIA E EDEMA EM EQUINOS				
DOENÇA	EPIDEMIOLOGIA	SINAIS CLÍNICOS	ACHADOS LABORATORIAIS	TRATAMENTO
Piroplasmose Equina (<i>Theileria equi</i> e <i>Babesia caballi</i>)	Doença que apresenta caráter regional, estando relacionada à presença das espécies de carrapatos que atuam como vetores do agente e acometendo mais comumente animais adultos. Alguns animais atuam como carreadores do agente de forma subclínica. Casos de transmissões transplacentária de <i>T. equi</i> já foram identificados	O período de incubação pode variar de 5 a 30 dias. Depressão, relutância em se movimentar, decúbito lateral e febre são comumente observados. Outros sinais incluem edema dependente, cólica, icterícia e presença de petéquias. Animais jovens são mais severamente acometidos. O curso da doença varia de 8 a 10 dias	Observação direta de <i>T. equi</i> nos eritrócitos dos animais infectados. Sorologia positiva para a presença de anticorpos contra o agente utilizando-se os testes de fixação de complemento e imunofluorescência indireta (RIFI). Utilização de PCR para a detecção do DNA do agente	Imidocarb
Anemia Infecçiosa Equina	Doença causada por um RNA vírus. Casos agudos são seguidos por infecções que perduram pelo resto da vida do animal. Sua transmissão ocorre por meio de vetores (moscas da família <i>Tabanidae</i>) ou de forma mecânica (principalmente iatrogênica)	A forma aguda da doença cursa com quadros de febre, anemia, edema dependente e icterícia. Situações em que o animal aparentemente se mostra recuperado são seguidas por recidivas intermitentes, nas quais os mesmos sinais clínicos da forma aguda são observados, porém de forma mais branda	Trombocitopenia, anemia. Testes de AGID e cELISA (ELISA competitivo) positivos	Não existe um tratamento específico. Medidas de controle incluem a eliminação de animais positivos para os testes de AGID e cELISA em diversas jurisdições

Continua

DIAGNÓSTICOS DIFERENCIAIS QUE CURSAM COM ANEMIA E EDEMA EM EQUINOS				
DOENÇA	EPIDEMIOLOGIA	SINAIS CLÍNICOS	ACHADOS LABORATORIAIS	TRATAMENTO
Púrpura Hemorrágica	Doença imunomediada secundária a doenças respiratórias que cursa com a formação de complexos Ag-Ac. Ocorre de forma esporádica e acomete mais comumente animais adultos	Inchaço subcutâneo, assimétrico, não doloroso e que não cursa com a produção de calor no local. Febre branda. Em casos mais severos pode ser observado o acometimento de múltiplos órgãos, incluindo rabdomiólise	Leucocitose com contagem de plaquetas dentro dos valores de referência para a espécie. Títulos séricos elevados de anticorpos anti-M (proteína produzida por algumas espécies do gênero <i>Streptococcus</i>)	Administração de Penicilina e corticoesteroides. Tratamento suporte
Falência Cardíaca Congestiva	Ocorre de forma esporádica	Insuficiência das válvulas cardíacas que cursam com a manifestação de ruídos cardíacos, ritmo cardíaco irregular (fibrilação atrial) e edema dependente simétrico e que não cursa com a produção de calor, geralmente nas porções mais distais do corpo do animal	Não específicos	Não existe um tratamento específico para a doença. Digitálicos e Furosemida podem ser inicialmente administrados
Estrongiloidíase	Está associada à presença de nematoides conhecidos mais comumente como “pequenos estrongilos” (causando ciatostomíase larval), porém historicamente trata-se de uma doença associada aos grandes estrongilos	Os sinais clínicos são mais comumente observados em animais jovens, os quais manifestam febre branda, depressão, diarreia e edema	Anemia e hipoproteinemia. A eliminação de ovos do parasita nas fezes dos animais ocorre de forma intermitente	Administração de anti-helmínticos (Ivermectina, Moxidectina e Benzimidazoles), contudo observa-se cada vez mais um aumento de parasitos resistentes a ação desses medicamentos

7 TRATAMENTO

Existem basicamente duas linhas de tratamento a serem seguidas, as quais podem ser divididas de acordo com o *status* epidemiológico da região avaliada. Assim, primeiramente deve-se buscar identificar se a região na qual se encontram os animais a serem tratados é considerada endêmica ou em instabilidade enzoótica para a doença, dado que no caso da primeira o principal objetivo do tratamento consiste na eliminação da manifestação dos sinais clínicos pelo hospedeiro, enquanto que nas outras se busca promover a eliminação do protozoário.

Assim, no caso de áreas em instabilidade enzoótica, inicialmente busca-se promover a destruição do protozoário nos pacientes. Hoje já se encontram disponíveis no mercado medicamentos eficazes desenvolvidos para esse fim, contudo é importante ressaltar que a fase inicial da doença caracteriza-se pela manifestação aguda dos sinais clínicos. Desse modo, caso não seja realizado um diagnóstico precoce do problema e a implementação do tratamento ocorra tardiamente, o animal pode vir a óbito antes que o agente seja eliminado devido à anemia severa. Ainda, é importante ressaltar que nenhum dos medicamentos desenvolvidos até o momento apresenta quaisquer efeitos sobre aqueles protozoários que se encontram infectando os carrapatos presentes sobre o corpo do animal durante o tratamento (RADOSTITS, 2006).

Atualmente os medicamentos mais utilizados para o tratamento da Piroplasmose incluem Aceturato de Diminazeno, Dipropionato de Imidocarb, Diisetionato de Amicarbalida e Fenamidina. O uso da Parvaquona, Buparvaquona e Atovaquona vem sendo introduzido, apresentando resultados satisfatórios nos testes clínicos realizados. As Tetraciclina já foram amplamente empregadas para este fim, contudo a sua utilização em animais que apresentam a forma clínica aguda da doença foi extinta (RADOSTITS, 2006).

Tratando-se especificamente da Piroplasmose em equinos, ainda não foi estabelecido um tratamento de eleição para a doença. Inúmeras drogas têm sido utilizadas, contudo o único protocolo aparentemente capaz de eliminar infecções por *T. equi* consiste em uma combinação entre Dipropionato de Imidocarb e Buparvaquona. Apesar de *B. caballi* ser mais susceptível a ação dos medicamentos quando comparada a *T. equi*, espera-se que casos de resistência aos tratamentos empregados sejam mais comumente observados na primeira. Ainda, atualmente alguns estudos iniciais abordando o emprego de Triclosan para o combate do agente vêm sendo desenvolvidos (BORK, 2003).

O Dipropionato de Imidocarb é a principal droga utilizada no tratamento da Piroplasmose Equina, porém para a sua administração um rigoroso um regime de tratamento precisa ser seguido. Devem ser administradas quatro injeções pela via intramuscular na dose de 4 mg/kg de peso vivo de uma solução contendo 10% do princípio ativo, com um intervalo de 72 horas entre cada uma das aplicações para *T. equi*. No caso de infecções por *B. caballi*, um regime de duas aplicações de 2 mg/kg de peso vivo, com um intervalo de 24 horas entre as aplicações é considerado suficiente para o controle de infecções agudas pelo agente, contudo não é capaz de eliminar completamente o mesmo da corrente sanguínea dos animais, havendo o risco de que esses venham a se tornar carreadores assintomáticos do protozoário. Considerando que o Cloridrato de Imidocarb é uma solução fortemente ácida, sendo elevadas as chances de ocorrerem reações locais severas nos sítios de aplicação do medicamento, o Dipropionato de Imidocarb vem sendo mais utilizado para o tratamento de equinos. Contudo, é importante ressaltar que asininos são extremamente suscetíveis a esse medicamento, sendo a dose letal do mesmo 2 mg/kg de peso vivo para esses animais (BORK, 2003).

Já a Buparvaquona deve ser administrada de forma parenteral na dose de 4 a 6 mg/kg de peso vivo, sendo assim capaz de controlar infecções agudas por *T. equi*. Contudo, da mesma forma como ocorre com o Dipropionato de Imidocarb, caso o tratamento seja baseado na sua utilização de forma isolada, ele não será capaz de eliminar completamente o agente do corpo do animal, aumento os riscos de que esses venham a se tornar carreadores assintomáticos do protozoário (BORK, 2003). Por fim, deve-se destacar que mesmo após a completa eliminação dos protozoários do organismo dos hospedeiros, são necessários cerca de 200 dias para que uma redução significativa da concentração de anticorpos seja detectada pelo teste de cELISA.

Segundo Kumar et al. (2003), a eficácia terapêutica do Dipropionato de Imidocarb, Artesunato, Arteméter e uma associação entre o Arteméter e a Buparvaquona foram avaliadas em infecções experimentais induzidas em asininos esplenectomizados de origem indiana por *T. equi*. Assim, enquanto o Dipropionato de Imidocarb provocou efeitos deletérios na função hepática desses animais, a associação entre o Arteméter e a Buparvaquona mostrou-se uma alternativa mais segura e potencialmente mais eficaz no tratamento de infecções por *T. equi* para essa espécie animal. Além desses, outros protocolos de tratamento foram sugeridos e demonstraram resultados satisfatórios, tais como a aplicação intramuscular de Imizol na dose de 4 mg/kg de peso vivo, durante três dias, com intervalo de 24 horas entre os tratamentos associado ao uso adicional de 10 ml de Catosal (Phosphorus) durante três dias, vitamina B12

e dois litros de parafina, com objetivo de aliviar a cólica causada pelo medicamento (SAKHA, 2007).

No caso de áreas consideradas endêmicas, como é o caso do Brasil, o objetivo principal do tratamento consiste na eliminação da manifestação dos sinais clínicos pelos animais. Assim, para o tratamento de infecções por *B. caballi* deve ser administrada uma única injeções pela via intramuscular de Dipropionato de Imidocarb, na dose de 2,2 a 4,4 mg/kg de peso vivo. No caso de *T. equi*, o mesmo fármaco deve ser administrado utilizando-se a mesma via, porém na forma de duas aplicações, na dose de 4,4 mg/kg e com intervalo de 24 horas entre os tratamentos.

Devido ao fato de o Dipropionato de Imidocarb apresentar ações análogas à Anticolinesterase, efeitos colaterais como sudorese, salivação, agitação, hipermotilidade intestinal, cólica e diarreia podem ser observados durante a realização dos tratamentos. Assim, com o objetivo de evitar que ocorra a manifestação desses sinais clínicos, sugere-se a realização de uma aplicação pela via intravenosa de N-Butilescopolamina, na dose de 0,3 mg/kg de peso vivo, imediatamente antes à aplicação do antiparasitário intramuscular (RADOSTITS, 2006). Alternativamente, para o tratamento de infecções por *T. equi*, ainda é possível administrar-se pela via intravenosa Oxitetraciclina na dose de 5 a 6 mg/kg de peso vivo, durante 7 dias.

Além da administração de fármacos específicos para o combate do agente, tratamentos suportes devem ser implementados no caso de animais severamente acometidos pela forma clínica da doença. Transfusões sanguíneas e ações que previnam a ocorrência de choque hipovolêmico, como administração de fluídos por via intravenosa para animais desidratados, devem ser efetuadas (RADOSTITS, 2006). Ainda, no caso de animais cronicamente infectados indica-se a administração de suplementações a base de vitaminas e oligoelementos que participem direta ou indiretamente do metabolismo celular, principalmente das células sanguíneas. Nos casos de infecções bacterianas secundárias serem observadas, o uso de antibióticos contra o agente oportunista é recomendado (NANTES E ZAPPA, 2008).

Por fim, principalmente devido às restrições impostas ao comércio internacional de equídeos positivos para *T. equi* e *B. caballi*, preconiza-se também a elaboração de protocolos de tratamento para a eliminação do agente em animais portadores desses hemoparasitos. Os resultados obtidos pela maioria dos pesquisadores até o presente momento indicam que não existe ainda uma droga capaz de eliminar o estado de portador dos equídeos para *T. equi* e os resultados para *B. caballi* ainda são contraditórios. De acordo com Butler et al. (2008), mesmo a realização de cinco aplicações pela via intramuscular de Imidocarb na doses 4,7

mg/kg de peso vivo (sendo essa considerada como uma dosagem alta para o fármaco em questão), com intervalo de 72 horas entre os tratamentos, não foi capaz de eliminar a infecção por *B. caballi*, uma vez que ao serem avaliados utilizando-se técnicas de PCR, todos os animais foram positivos para a presença do agente. Todavia, os tratamentos utilizando-se altas doses de Imidocarb em equinos portadores de *B. caballi* realizados por Schwint et al. (2009) apresentaram resultados satisfatórios, os quais indicaram a eliminação da infecção, uma vez que os resultados obtidos pelas técnicas de PCR utilizada foram negativos, não observou-se infectividade do sangue dos equinos tratados para animais susceptíveis após a realização do tratamento e houve conversão dos animais portadores de soropositivos para soronegativos.

8 MÉTODOS DE PREVENÇÃO, CONTROLE E ERRADICAÇÃO DA DOENÇA

Inicialmente, para que medidas de controle e prevenção da Piroplasmose Equina comecem a ser elaboradas, a situação enzoótica do país ou região deve ser considerada. Em áreas livres, a realização de medidas que evitem a entrada de animais infectados são fundamentais, enquanto que em áreas endêmicas, o objetivo da criação de equinos e o tipo de mercado de comercialização é que determinam o sistema mais apropriado de controle a ser utilizado (LEAL, 2010).

8.1 Métodos de prevenção e medidas de biossegurança

Prevenir a introdução da doença em regiões consideradas não-enzoóticas ou livres da doença depende diretamente da promoção de medidas eficazes de biossegurança que incluam a realização de quarentena (a fim de prevenir a introdução do vetor) e testes laboratoriais que garantam que todos os animais que ingressem nesses locais encontrem-se livres do protozoário. Na indústria equina a movimentação internacional de animais tem se mostrado um assunto de extrema relevância, principalmente no caso de animais de alto valor econômico que viajam para participarem de competições de caráter esportivo que ocorrem anualmente em diversos países do mundo e de garanhões importantes que são mobilizados por curtos períodos de tempo para a realização de coberturas (RADOSTITS, 2006).

Existe hoje uma tendência por parte de diversos países a serem bastante restritivos com relação a suas metodologias de quarentena a fim de se reduzir ao máximo os riscos de introdução do agente. Desse modo, criações de equinos que produzem animais destinados ao

mercado de exportação e animais de alto valor genético criados para esporte de alta *performance* devem ser livres da infecção, portanto não devem apresentar quaisquer contatos com os carrapatos transmissores de *T. equi* e *B. caballi* ao longo de suas vidas (BOTTEON, 2002). Ademais, uma melhoria na relação internacional entre os países poderia ser observada se mais informações a respeito da relação existente a positividade nos testes sorológicos e o potencial de infecção para outros animais fossem obtidas (RADOSTITS, 2006).

8.2 Erradicação

A erradicação da Piroplasmose de uma determinada região depende diretamente da erradicação do vetor do agente. Apesar dessa medida já ter sido alcançada com sucesso nos Estados Unidos, muito provavelmente eles não seriam capazes de realiza-la novamente caso o vetor ingressasse acidentalmente no país devido à movimentação internacional de animais, uma vez que o custo para a fauna selvagem (considerados como potenciais hospedeiros do carrapato) seria extremamente alto. Ainda, outras dificuldades associadas aos programas de erradicação de carrapatos incluem a dificuldade em incluir de fato todos os animais nos programas de tratamento, a capacidade do vetor de parasitar outras espécies animais (não estando ele presente sobre o corpo dos equinos durante a realização dos tratamentos), a disseminação do carrapato ou de animais parasitados devido a intempéries (inundações, tempestades de vento etc.) ou o trânsito ilegal de animais (RADOSTITS, 2006).

Segundo Bianchi et al. (2003), outro grande problema consiste na possibilidade de transmissão transplacentária do protozoário para sucessivas gerações do vetor. Além desse, o aumento do número de ácaros resistentes aos carrapaticidas empregados, fator esse diretamente associado ao nível de infestação dos animais.

8.3 Controle da prevalência

A limitação da prevalência da doença a níveis considerados economicamente sustentáveis exige diferentes medidas, as quais variam de acordo com cada circunstância. Basicamente essas medidas dependem da realização de programas para controle do vetor por meio de administrações constantes de acaricidas e do controle dos equinos infectados (tanto dos manifestem a forma aguda da doença como daqueles que carregam o agente de forma subclínica) por meio da realização de testes laboratoriais e administração de medicamentos capazes de eliminar o protozoário, uma vez que nenhuma vacina para o controle da doença

em equinos foi desenvolvida até o presente momento. Contudo, deve-se destacar que essas medidas são somente parcialmente eficazes, demandam longos períodos de tempo e são dispendiosas (RADOSTITS, 2006).

Em regiões marginais, as quais se localizam próximas a regiões endêmicas, a população de carrapatos varia de acordo com as condições climáticas. Desse modo, é possível se verificar uma queda na imunidade dos animais que ali residem em anos mais secos (quando a população de carrapatos diminui), ao mesmo tempo em que novas exposições ao agente e surtos são observados quando a umidade volta a aumentar, situação em que ocorre uma reintrodução dos vetores naquelas áreas. Assim, quando se é possível realizar previsões com relação à ocorrência prováveis surtos, indica-se a realização de tratamentos profiláticos temporários nos animais antes que os mesmos ocorram (RADOSTITS, 2006).

Em regiões endêmicas, o procedimento mais conveniente e passível de ser realizado consiste em manter a estabilidade da doença na região, fator que está diretamente relacionado aos níveis de infestação de carrapatos. Esses são os responsáveis por manter as taxas de inoculação de *T. equi* e *B. caballi* nos rebanhos, estimulando assim a produção de uma resposta imune que controle as infecções e mantenha o estado de portador do animal. Nessa situação enquadram-se principalmente os equídeos de trabalho de áreas urbanas e rurais, animais criados para reprodução e aqueles criados para lazer que são comercializados dentro dessas áreas endêmicas. Contudo, é importante ressaltar que o nível de infestação de carrapatos a ser mantido deve ser apenas suficiente para estimular a resposta imune dos animais, não devendo desencadear efeito espoliativo ou causar quaisquer outros problemas que afetem a saúde dos animais (CAMACHO, 2005).

Ainda com relação às áreas endêmicas, perdas em decorrência da forma clínica da doença nessas regiões encontram-se geralmente associadas à presença de fatores ambientais estressantes (fome, transporte, prenhez etc.), a infecções intercorrentes por outros agentes ou quando ocorre uma dizimação da população de carrapatos devido à realização de tratamentos intensivos. Nesses casos, a realização de tratamentos profiláticos que visem à eliminação do protozoário e uma diminuição na intensidade de uso dos acaricidas são recomendadas, além da realização de boas práticas de manejo alimentar e higiene (diminuindo assim a ocorrência de situações estressantes que possam induzir a manifestação da forma aguda da doença). Ainda, a existência de uma população mínima de vetores é necessária para assegurar que todos os animais sejam infectados e reinfectados pelos piroplasmas já nos primeiros meses de vida e de forma contínua, de modo a garantir níveis suficientes de infecção para que os

mesmos sejam capazes de desenvolver uma imunidade duradoura que impeça a manifestação da forma clínica da doença (RADOSTITS, 2006).

8.4 Controle do vetor

Segundo Myers et al. (1998), o primeiro programa para o controle de vetores realizado com sucesso, o qual foi capaz de controlar e eventualmente erradicar os carrapatos do gênero *Boophilus* ocorreu nos Estados Unidos. O programa iniciou-se em 1906 e envolveu tanto produtores de animais como funcionários dos Estados e especialistas do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos. Nele estavam incluídas três principais medidas: (1) a eliminação completa dos carrapatos de algumas pastagens ocorreu por meio da remoção de quaisquer espécies animais que poderiam ser utilizadas como hospedeiros pelos ácaros, de modo que estes acabaram morrendo por inanição; (2) o método mais comumente empregado baseou-se na manutenção dos rebanhos nos pastos parasitados, provendo-se assim uma desinfecção dos animais com intervalos de duas semanas entre os tratamentos, utilizando-se soluções de arsênico (as quais foram responsáveis pela morte das fêmeas ingurgitadas); (3) a movimentação interestadual de animais confirmadamente parasitados pelo carrapato por meio da realização de quarentena estava proibida. Essa campanha foi de fato a que apresentou resultados mais duradouros e amplos, tendo sido considerado o programa coordenado de controle contra o carrapato capaz de eliminar o problema da mais extensa área, em amplitude, em escala mundial. O carrapato foi erradicado de uma área superior a um milhão de km² no período de 34 anos. Assim, atualmente o vetor encontra-se presente de forma isolada somente em uma pequena região no Texas, onde reinfestações são comumente observadas devido à movimentação ilegal de animais provenientes do México, demandando que um controle contínuo seja realizado principalmente nas regiões de fronteiras.

Algumas medidas de manejo animal e de manejo das pastagens, porém, podem reduzir significativamente a população de carrapatos presentes em uma determinada região. A separação da criação de equinos e bovinos evita a ocorrência de infestações por *R. (B.) microplus* nos cavalos, assim como a infestação por *A. sculptum* pode ser controlada apenas mantendo-se as pastagens limpas e uniformes, não sendo necessário o emprego de acaricidas. O uso de acaricidas em intervalos corretos, porém, é capaz de controlar a infestação de todos os carrapatos responsáveis pela transmissão de *T. equi* e *B. caballi*. Contudo, essa é uma estratégia considerada particularmente importante para o controle de *D. nitens*, o qual pode ser completamente eliminado caso esses produtos sejam utilizados por períodos prolongados e

retirando-se das pastagens todos os outros possíveis hospedeiros para esta espécie de carrapato além dos equinos (LEAL, 2010).

No caso do continente africano, a Piroplasmose compõe apenas uma pequena porção de todo um importante complexo de doenças transmitidas por carrapatos que se encontram presentes nessa região. Desse modo, programas intensivos de controle de carrapatos têm sido regulamentados e implementados pelo Governo ao longo dos últimos anos. No caso dos demais continentes, porém, os quais se encontram em situações menos complexas, o controle dos vetores é frequentemente realizado por meio da utilização periódica de soluções acaricidas e inspeção dos animais. Já em casos nos quais a doença encontra-se presente de forma endêmica, são mais comumente observados programas para o controle da doença clínica que aqueles que objetivam a erradicação dos vetores. Isso ocorre, pois apesar de a erradicação dos carrapatos ser considerada com uma solução de caráter mais permanente para o problema, ela não é uma medida nada prática, ambientalmente sustentável ou mesmo economicamente justificável, tanto em escala nacional como regional (RADOSTITS, 2006).

8.5 Estabilidade endêmica

Segundo Bock et al. (2004), a aquisição do *status* de estabilidade endêmica dificilmente pode ser considerada como uma medida confiável de controle de uma determinada doença. Isso ocorre, pois em áreas endêmicas os efeitos climáticos, a composição genética dos hospedeiros e as estratégias de manejo exercem um impacto muito maior sobre a taxa de transmissão da doença do que a simples probabilidade de que isso ocorra devido ao *status* de endemia da região. Ademais, “estabilidade endêmica” é um conceito econômico que incorpora o gerenciamento de riscos associado aos limites máximos de perdas esperadas. Desse modo, fatores climáticos, os tipos de animais que compõe o rebanho e os diferentes manejos empregados nas diferentes propriedades, os quais apresentam influência direta sobre esse conceito de estabilidade endêmica, podem apresentar alterações de acordo com as diferentes estações e de um ano para outro.

Outro fator importante a ser considerado é que os modelos de estabilidade enzoótica desenvolvidos nas Américas e na Austrália envolvem interações relativamente simples entre a doença e os vetores envolvidos na sua transmissão. Esse conceito, porém, não pode ser aplicado na situação em que hoje se encontra a África, a qual apresenta uma condição muito mais complexa e menos previsível. Nesse último, encontram-se presentes principalmente quatro doenças importantes transmitidas por carrapatos, inúmeras espécies de potenciais

vetores, diversos reservatórios selvagens e uma gama enorme de animais considerados susceptíveis (BOCK, 2004).

9 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A Piroplasmose Equina é uma hemoparasitose importante, mundialmente distribuída, que atualmente acomete equinos encontrados nas regiões tropicais e subtropicais das Américas, Ásia, África e Sudeste da Europa. Os agentes causadores dessa enfermidade são os protozoários pertencentes à família Piroplasmida, *B. caballi* e *T. equi*, sendo, no Brasil, a veiculação do primeiro restrita à espécie de carrapato *D. nitens* e do segundo às espécies de carrapatos *R. (B.) microplus* e *A. sculptum*.

Apesar da gravidade com que a forma clínica aguda manifesta-se, podendo levar alguns animais a óbito, a maioria dos equinos desenvolve a forma crônica da doença. Assim, mesmo sem haver a manifestação de sinais clínicos, a importância dessa encontra-se no fato de que cavalos aparentemente saudáveis estão carreando o agente, sendo assim considerados como importantes reservatórios e fontes de infecção da doença para animais susceptíveis.

Contudo, um dos primeiros e mais importantes fatores a ser avaliado consiste em classificar a área, região ou país de acordo com o seu *status* em relação à Piroplasmose Equina. A importância dessa classificação encontra-se no fato que o tipo de manifestação clínica esperada, os métodos de diagnóstico, tratamento e controle variam de acordo com a situação na qual cada país se encontra. Dessa forma, em países considerados livres da doença, a chance de ocorrerem surtos nos quais uma grande quantidade de animais manifeste a forma clínica da doença é grande, uma vez que esses não foram expostos ao agente nos primeiros meses de vida, possibilitando assim o desenvolvimento de mecanismos imunes protetores. Com relação aos tratamentos utilizados, esses devem objetivar a eliminação do agente, do mesmo modo como as medidas de controle adotadas devem prevenir a entrada da doença, principalmente por meio da proibição do ingresso de animais positivos no país. Por outro lado, tratando-se de países nos quais a Piroplasmose Equina é endêmica, a ocorrência esperada da forma clínica da doença é baixa, uma vez que a maioria dos animais desenvolve mecanismos imunes protetores já nos primeiros meses de vida. Considerando que nesses locais a maioria dos equinos encontra-se carreando o agente de forma subclínica, os testes diagnósticos escolhidos devem ser capazes de identificar animais nessa condição. Ainda, no que se refere ao tratamento, esse apresenta como principal objetivo eliminar a manifestação dos sinais clínicos da doença, enquanto que dentre as técnicas para o controle da doença encontra-se principalmente a manutenção de níveis adequados de infestação pelos carrapatos, uma vez que a sua erradicação não é considerada como uma medida prática, ambientalmente sustentável ou mesmo economicamente justificável, tanto em escala nacional como regional.

Desse modo, considerando-se que hoje a Piroplasmose é apontada como o principal impedimento para o trânsito internacional de equinos, a importância da doença não se reserva apenas aos danos individuais causados e custos envolvidos com medicações para o tratamento desses animais, mas a todo impacto que a doença causa sobre o plantel brasileiro e às perdas econômicas geradas aos criadores. Assim, apesar da qualidade do plantel brasileira, ainda existe uma restrição à exportação de cavalos para o mercado internacional pelo fato de não ser realizado um controle efetivo para essa enfermidade, impedindo assim exportação de animais para áreas livres (nas quais estão incluídos países com grande importância na indústria internacional de equinos) e prejudicando o desempenho atlético de animais importantes.

Por fim, principalmente pelo fato de até o presente momento não terem sido descobertas drogas capazes de eliminar o estado de portador dos equídeos infectados por *T. equi*, a técnica de PCR, por ser um método de diagnóstico direto de elevada sensibilidade e especificidade, passou a ser amplamente utilizada na identificação de portadores e, em conjunto com as provas sorológicas, aumentaram a capacidade de detecção de animais nessas condições de infecção, tornando o controle da Piroplasmose Equina mais eficiente.

REFERÊNCIAS

- AGUIRRE, D. H.; CAFRUNE, M. M.; RADA, M.; ECHAIDE, T. Babesiosis clínica em equinos de Cerrillos. **Revista de Investigaciones Agropecuarias**. Salta, v. 33, n. 3, p. 123-133, mar. 2004.
- ALHASSAN, A.; PUMIDONMING, W.; OKAMURA, M.; HIRATA, H.; BATTSETSEG, B.; FUJISAKI, K.; YOKOYAMA, N.; IGARASHI, I. Development of a single round and multiplex PCR method for the simultaneous detection of *Babesia caballi* and *Babesia equi* in horse blood. **Veterinary Parasitology**. Japão, v. 129, p. 43-49, abr. 2005.
- ALLSOPP, M. T. E. P.; LEWIS, B. D.; PENZHORN, B. L. Molecular evidence for transplacental transmission of *Theileria equi* from carrier mares to their apparently healthy foals. **Veterinary Parasitology**. África do Sul, v. 148, n. 2, p. 130-136, jun. 2007.
- ALLRED, D. R. Babesiosis: Persistence in the face of adversity. **Trends in Parasitology**. EUA, v. 19, n. 4, p. 51-55, mar. 2000.
- ALLRED, D. R. Antigenic variation in babesiosis: is there more than one 'why'?. **Microbes and Infection**. EUA, v. 3, n. 6, p. 481-491, mai. 2001.
- ASGARALI, Z.; COOMBS, D. K.; MOHAMMED, F.; CAMPBELL, M. D.; CAESAR, E. A serological study of *Babesia caballi* and *Theileria equi* in Thoroughbreds in Trinidad. **Veterinary Parasitology**. Índia, v. 144, n. 1, p. 167-171, mar. 2007.
- BALDANI, C. D.; CANOLA, P. A.; NETO, J. C. L.; MACHADO, R. Z. *In vitro* culture, PCR, and nested PCR for the detection of *Theileria equi* in horses submitted to exercise. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte, v. 60, n. 3, p. 550-558, jun. 2008.
- BALDANI, C. D.; MACHADO, R. Z.; RASO, T. F.; PINTO, A. A. Serodiagnosis of *Babesia equi* in horses submitted to exercise stress. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. Rio de Janeiro, v. 27, n. 4, p. 179-183, abr. 2007.
- BASHIRUDDIN, J.B.; CAMMÀ, C.; REBÊLO, E. Molecular detection of *Babesia equi* and *Babesia caballi* in horse blood by PCR amplification of part of the 16S rRNA gene. **Veterinary Parasitology**. Austrália, v. 84, n. 1, p. 75-83, jul. 1999.
- BATTSETSEG, B.; LUCERO, S.; XUAN, X.; CLAVERIA, F. G.; INOUE, N.; ALHASSAN, A.; KANNO, T.; IGARASHI, I.; NAGASAWA, H.; MIKAMI, T.; FUJISAKI, K. Detection of natural infection of *Boophilus microplus* with *Babesia equi* and *Babesia caballi* in Brazilian horses using nested polymerase chain reaction. **Veterinary Parasitology**. Mato Grosso, v. 107, p. 351-357, jan. 2002a.
- BATTSETSEG, B.; XUAN, X.; IKADAI, H.; BAUTISTA, J. L.; BYAMBA, A. 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 for Parasitology**. Japão, v. 31, n. 4, p. 384-386, abr. 2001.

BIANCHI, M.W.; BARRÉ, N.; MESSAD, S. Factors related to cattle infestation level and resistance to acaricides in *Boophilus microplus* tick populations in New Caledonia. **Veterinary Parasitology**. Oceania, v. 112, n. 5, p. 75-89, fev. 2003.

BOCK, R.; JACKSON, L. VOS, A.; JORGENSEN, W. Babesiosis of cattle. **Parasitology Research**. Australia, v. 129, n. 7, p. 247-269, jun. 2004.

BORK, S.; YOKOYAMA, N.; MATSUO, T.; CLAVERIA, F. G.; FUJISAKI, K.; IGARASHI, I. Growth inhibitory effect of Triclosan on equine and bovine Babesia parasites. **The American Society of Tropical Medicine and Hygiene**. Japão, v. 68, n. 3, p. 334-340, mar. 2003.

BOLDBAATAR, D.; XUAN, X.; BATTSETSEG, B.; IGARASHI, I.; BATTUR, B.; BATSUKH, Z.; BAYAMBAA, B.; FUJISAK, K. Epidemiological study of equine piroplasmosis in Mongolia. **Veterinary Parasitology**. Japão, v. 127, n. 1, p. 29-32, jan. 2005.

BOTTEON, P. T. L.; MASSARD, C. L.; BOTTEON, R. C. C. M.; LOSS, Z. G.; LINHARES, G. F. C. Seroprevalencia de *Babesia equi* em três diferentes sistemas de criação de equinos. **Parasitología Latinoamericana**. Rio de Janeiro, v. 57, n. 7, p.141-145, mar. 2002.

BUTLER, C. M.; NIJHOF, A. M.; VAN DER KOLK, J. H.; DE HASETH, O. B.; TAOUFIK, A.; JONGEJAN, F.; HOUWERS, D. J. Repeated high dose imidocarb dipropionate treatment did not eliminate *Babesia caballi* from naturally infected horses as determined by PCR-reverse line blot hybridization. **Veterinary Parasitology**. Holanda, v. 151, n. 6, p. 320-322, jun. 2008.

CAMACHO, A. T.; GUITIAN, F. J.; PALLAS, E.; GESTAL, J. J.; OLMEDA, A. S.; HABELA, M. A.; TELFORD III, S. R.; SPIELMAN, A. *Theileria (Babesia) equi* and *Babesia caballi* infections in horses in Galicia, Spain. **Tropical Animal Health and Production**. Espanha, v. 37, p. 293-302, fev. 2005.

CARRIQUE, J. J.; MORALES, G. J.; EDELSTEN, M. Endemic instability for babesiosis and anaplasmosis in cattle in the Bolivian Chaco. **Veterinary Journal**. Bolívia, v. 4, n. 2, p. 160-162, mai. 2000.

CRIADO- FORNELIO, A.; GÓNZALEZ-DEL-RÍO, M. A.; BULING-SARAÑA, A.; BARBA-CARRETERO, J. C. The “expanding universe” of piroplasms. **Veterinary Parasitology**. Espanha, v. 119, n.11, p.337-345, ago. 2004.

CUNHA, C. W.; 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. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. Rio Grande do Sul, v.5, p.119-122, mai. 1996.

FONSECA, R. S. Carrapatos em Equinos - Definição, Diagnóstico e Tratamento. **CPT Cursos Presenciais**. Minas Gerais, abr. 2010. Disponível em: <<http://www.cptcursospresenciais.com.br/artigos/equinos/saude-equina/carrapatos-em-equinos--definicao-diagnostico-e-tratamento/>>. Acesso em: 22 abr. 2017.

- GARCIA, T. D.; FIGUEROA, M. J.; ROJAS, M. C.; CANTO, A. G.; FALCON, N. A.; ALVAREZ, M. J. Immune response to *Babesia bigemina* infection in pregnant cows. **Annals of the New York Academy of Science**. EUA, v. 1026, n. 4, p. 298–301, jan. 2004.
- GOLYNSKI, A. A.; FERNANDES, K. R.; BALDANI, C. D.; GOLYNSKI, A. L.; MADEIRO, A. S.; MACHADO, R. Z.; BOTTEON, P. T. L.; MASSARD, C. L. Estudo soropidemiológico da *Babesia equi* em equinos do estado do Rio Grande do Sul determinado pelos testes de imunofluorescência indireta e ELISA. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. Mato Grosso, v. 17, supl. 1, p. 317-321, ago. 2008.
- HEIM, A.; PASSOS, L. M. F.; RIBEIRO, M. F. B.; COSTA-JUNIOR, L. M.; BASTOS, C. V.; CABRAL, D. D.; HIRZMANN, J.; PFISTER, K. Detection and molecular characterization of *Babesia caballi* and *Theileria equi* isolates from endemic areas of Brazil. **Parasitology Research**. Munique, v. 102, p. 63-68, set. 2007.
- HEUCHERT, C. M. S.; GIULLI JR, V.; ATHAIDE, D. F.; FIELDHOFF, K. T. Seroepidemiologic studies on *Babesia equi* and *Babesia caballi* infections in Brazil. **Veterinary Parasitology**. São Paulo, v. 85, n. 4, p. 1-11, set. 1999.
- HOMER, M. J.; DELFIN, I. A.; TELFORD, S. R.; KRAUSE, P. J.; PERSING, D. H. Babesiosis. **Clinical Microbiology Reviews**. EUA, v. 13, n. 3, p. 451-469, jul. 2000.
- IKADAI, H.; NAGAI, A.; XUAN, X.; IGARASHI, I.; KAMIO, T.; TSUJI, N.; OYAMADA, T.; SUZUKI, N.; FUJISAKI, K. Seroepidemiologic studies on 55 *Babesia caballi* and *Babesia equi* infections in Japan. **The Journal of Veterinary Medical Science**. Japão, v. 64, n. 4, p. 325-328, ago. 2002.
- JARDIM, L. S. Babesiose em equinos. **Patologia Veterinária**. Rio Grande do Sul, out. 2014. Disponível em: <<http://patologiaveterinaria12.blogspot.com.br/2014/10/babesiose-em-equinos.html>>. Acesso em: 17 abr. 2017
- KERBER, C. E.; FERREIRA, F.; PEREIRA, M. C.; Control of equine piroplasmiasis in Brazil. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**. São Paulo, v. 66, n. 2, p. 123- 127, jun. 1999.
- KUMAR, S.; GUPTA, A. K.; PAL, Y.; DWIVEDI, S. K. In-vivo therapeutic efficacy trial with artemisinin derivative, Buparvaquone and Imidocarb Dipropionate against *Babesia equi* infection in donkeys. **Journal of Veterinary Medical Science**. Japão, v. 65, n. 4, p. 1171-1177, abr. 2003.
- KUMAR, S.; KUMAR, R.; SUGIMOTO, C. Aperspective on *Theileria equi* infections in donkeys. **Japanese Journal of Veterinary Research**. Japão, v. 56, n. 4, p. 171-180, fev. 2009.
- LEAL, D. C. **Avaliação da PCR, PCR multiplex e nested PCR no diagnóstico de *Theileria equi* em equinos**. 2010. 56 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal Nos Trópicos) – Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia, Salvador. 2010.

LINHARES, G. F. C.; MASSARD, C. L.; ARAUJO, J. L. B. Estudos sobre a epizootiologia de *Babesia caballi* na microrregião de Goiânia. **Anais da Escola de Agronomia e Veterinária**. Goiás, v. 27, n. 2, p. 27-33, mar. 1997.

MASSARD, C. L.; FONSECA, A. H. Carrapatos e doenças transmitidas comuns ao homem e aos animais. **A Hora Veterinária**. Rio de Janeiro, v. 135 (1), p. 15-23, 2004.

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

MORETTI, A.; MANGILI, V.; SALVATORI, R.; MARESCA, C.; SCOCCIA, E.; TORINA, A.; MORETTA, I.; GABRIELLI, S.; TAMPIERI, M. P.; PIETROBELLI, M. Prevalence and diagnosis of Babesia and Theileria infections in horses in Italy: A preliminary study. **The Veterinary Journal**. Itália, v. 184, n. 3, p. 346-350, abr. 2009.

MYERS, J. H.; SAVOIE, A.; RANDEN E. V. Eradication and pest management. **Annual Review of Entomology**. Canada, v. 43, n. 6, p. 471-491, jan. 1998.

NAGASAWA, H.; MIKAMI, T.; FUJISAKI, K. Detection of *Babesia caballi* and *Babesia equi* in *Dermacentor nuttalli* adult ticks. **International Journal for Parasitology**. EUA, v. 31, n. 4, p. 384-386, abr. 2001.

NANTES, J. H.; ZAPPA, V. Nutaliose – Revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. São Paulo, ano VI, n. 10, jan. 2008.

NIZOLI, L. Q. **Alterações hematológicas e humorais de equinos expostos à infecção por *Babesia equi*, na região sul do Rio Grande do Sul**. 2005. 39 f. Dissertação (Mestrado em Clínicas Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 2005.

OGUNREMI, O.; HALBERT, G.; MAINAR-JAIME, R.; BENJAMIN, J.; PFISTER, K.; LOPEZ-REBOLLAR, L.; GEORGIADIS, M. P. Accuracy of an indirect fluorescent-antibody test and of a complement-fixation test for the diagnosis of *Babesia caballi* in field samples from horses. **Preventive Veterinary Medicine**. Canadá, v.1, n. 83, p. 41-51, ago. 2008.

PEREIRA, M. A.V.C. **Situação do parasitismo por *Babesia equi* e *Babesia caballi* em equinos da raça PSI, nos diferentes sistemas de manejo, no Estado do Rio de Janeiro**. 1999. 119 f. Tese (Doutorado em Parasitologia Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 1999

PHIPPS, L. P.; OTTER, A. Transplacental transmission of *Theileria equi* in two foals born and reared in the United Kingdom. **Veterinary Record**. Inglaterra, v. 154, n. 3, p. 406–408, out. 2004.

PIOTTO, M. A. **Determinação da infecção por *Theileria equi* e *Babesia caballi* em equinos alojados no Jockey Clube de São Paulo por meio da técnica de cELISA**. 2009. 63 f. Dissertação (Mestrado em Clínicas Veterinárias) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2009.

PORTAL EDUCAÇÃO. Equinos – Babesiose. Minas Gerais, fev. 2013. Disponível em: <<https://www.portaleducacao.com.br/conteudo/artigos/veterinaria/equinos-babesiose/35359>>. Acesso em: 20 abr. 2017

PROGRAMA NACIONAL DE SANIDADE EM EQUIDEOS (DSA/DDA/SEAPA/RS). Inquérito epidemiológico de anemia infecciosa equina no Estado do RS. Disponível em: <<http://slideplayer.com.br/slide/10263809/>>. Acesso em: 23 jun. 2017

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; HINCHCLIFF, K. W.; CONSTABLE, P. D. Diseases associated with protozoa. **Veterinary Medicine**. 10 ed. Edinbrgh: Saunders Elsevier, 2006, v. 2, cap. 26, p. 1483-1497

REDE PET FÍSIO: centro de reabilitação animal. Paralisia do Carrapato. Disponível em: <<http://petfisio.com.br/paralisia-do-carrapato/>>. Acesso em: 26 jun. 2017.

REVISTA VETERINÁRIA. O controle de parasitas em equinos. Disponível em: <<http://www.revistaveterinaria.com.br/2013/01/21/o-controle-de-parasitas-em-equinos/>>. Acesso em: 26 jun. 2017.

RIBEIRO, M. F. B.; SAITO, J. F.; PIMENTEL, P. V. Babesiose equina. I. Primoinfecção de potros em área endêmica. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Minas Gerais, v. 47, n. 5, p. 641-647, out. 1995.

ROSALES, R.; RANGEL-RIVAS, A.; ESCALONA, A.; JORDAN, L. S.; GONZATTI, M. I. M.; ASO, P. M.; PERRONE, T.; SILVA-ITURRIZA, A.; MIJARES, A. Detection of *Theileria equi* and *Babesia caballi* infections in Venezuelan horses using Competitive ELISA and PCR. **Veterinary Parasitology**. Venezuela, v. 67, n. 33, p. 1-7, fev. 2013.

SAKHA, M. Successful treatment of babesiosis in a horse. **Journal Veterinary Research**. Iran, v. 62, n. 4, p. 155-157, jul. 2007.

SCHNITTGER, L.; RODRIGUEZ, A. E.; FLORIN-CHRISENSEN, M.; MORRISON, D. A. Babesia: a world emerging. **Infect Genet. Evol**, 2012, 12, p. 1788–1809.

SELLON, D. C.; LONG, M. T. L. **Equine Infectious Diseases**. 2. ed. EUA: Elsevier, 2014. p. 475-494.

SOUZA, A. P.; BELLATO, V.; SARTOR, A. A.; SILVA, A. B. Prevalência de anticorpos anti-*Babesia equi* em equinos no Planalto Catarinense. **Ciência Rural**. Santa Catarina, v. 30, n. 1, p. 119-121, nov. 2000.

SPRAYBERRY, K. A.; ROBINSON, N. E. **Robinson's Current Therapy in Equine Medicine**. 7. ed. EUA: Elsevier, 2014. v. 7, p. 336-340.

SCHWINT, O. N.; UETI, M. W.; PALMER, G. H.; KAPPMAYER, L. S.; HINES, M. T.; CORDES, R. T.; KNOWLES, D. P.; SCOLES, G. A. Imidocarb Dipropionate Clears Persistent *Babesia caballi* Infection with Elimination of Transmission Potential. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. EUA, v. 53, n. 10, p. 4327- 4332, jul. 2009.

UILENBERG G. Babesia: a historical overview. **Veterinary Parasitology**. França, v. 31, n. 138 (1-2), p. 3-10, fev. 2006.

WISE, L. N.; KAPPMAYER, L. S.; MEALEY, R. H.; KNOWLES, D. P. Review of equine piroplasmiasis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. Alemanha, v. 27, n. 6, p. 1334-1346, nov. 2013.

WORLD ORGANIZATION FOR ANIMAL HEALTH (OIE). **Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals: Equine Piroplasmiasis**. 2014. 10 p.

XUAN, X.; NAGAI, A.; BATTSETSEG, B.; FUKUMOTO, S.; MAKALA, L. H.; INOUE, N.; IGARASHI, I.; MIKAMI, T.; FUJISAKI, K. Diagnosis of equine piroplasmiasis in Brazil by serodiagnostic methods with recombinant antigens. **The Journal of Veterinary Medical Science**. Japão, v. 63, n. 10, p. 1159-1160, jun. 2001.

ZINTL, A.; MULCAHY, G.; SKERRETT, H. E.; TAYLOR, S. M.; GRAY, J. S. Babesia divergens, a Bovine Blood Parasite of Veterinary and Zoonotic Importance. **Clinical Microbiology Reviews**. Irlanda, v. 16, n. 4, p. 622-636, out. 2003.

ZWEYGARTH, E.; LOPEZ-REBOLLAR, L. M.; NURTON, J.; GUTHRIE, A. J. Culture, isolation and propagation of *Babesia caballi* from naturally infected horses. **Parasitology Research**. África do Sul, v. 88, n.5, p. 460-462, mai. 2002.