

ESTUDO SOROEPIDEMIOLÓGICO DA *Babesia equi* EM EQUÍNOS DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL DETERMINADO PELOS TESTES DE IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA E ELISA*

ANSELMO AFONSO GOLYNSKI¹; KATIA ROBERTA FERNANDES¹; CRISTIANE DIVAN BALDANI²; AUDERICO LUIZ GOLYNSKI³; AFRÂNIO S. MADEIRO⁴; ROSANGELA ZACARIAS MACHADO⁵; PAULO DE TARSO L. BOTTEON²; CARLOS LUIZ MASSARD³

ABSTRACT:- GOLYNSKI, A.A.; FERNANDES, K.R.; BALDANI, C.D.; GOLYNSKI, A.L.; MADEIRO, A. S.; MACHADO, R.Z.; BOTTEON, P. DE T.L.; MASSARD, C.L. [Seroepidemiological studies on *Babesia equi* in horses from the State of Rio Grande do Sul determined by indirect immunofluorescence test and Elisa]. Estudo soropidemiológico da *Babesia equi* em equínos do estado do Rio Grande do Sul, Brasil determinado pelos testes de imunofluorescência indireta e ELISA. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 17, supl. 1, p. 317-321, 2008. Universidade Federal de Mato Grosso, Campus Parecis, Rodovia MT-235, Km 12, Mato Grosso, MT 78360-000, Brasil. E-mail: golynsky@yahoo.com.br

This research was performed to study the prevalence of antibodies against *Babesia equi* in horses of the northern region of Rio Grande do Sul state, using ELISA and indirect immunofluorescence antibody test (IFA). The total sera sample was 380, this number was considered as statistically representative of the population, as determined by mathematical model. The prevalence of *B. equi* was 31.6% and 35.8% by ELISA and IFA, respectively. The concordance between the assays was 0.87 (indices kappa), which is considered an optimal result. The results did not show any significant statistical difference ($P<0.05$) between sex, age and horses breed. The results of this study allowed the characterization of the northern region of Rio Grande do Sul as an instable enzootic area for *B. equi*, which indicates a potential risk of economic losses caused by babesiosis outbreaks, especially for sensible horses from non enzootic areas or even born in the studied region.

KEY WORDS: *Babesia equi*, seroprevalence, horse, babesiosis, ELISA, IFA.

RESUMO

O trabalho teve por objetivo estudar a prevalência de *Babesia equi* em equídeos da região Norte do Estado do Rio Grande do Sul que compreende 31 municípios. Coletaram-se 380

amostras de sangue, número estatisticamente representativo para a população de equínos em estudo, as que foram analisadas por meio do teste de ELISA e pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI). Do total das amostras, 31,6% e 35,8% foram positivas para *B. equi* ao teste de ELISA e RIFI, respectivamente, sendo que a concordância entre os testes foi considerada ótima, através do índice Kappa de 0,87. Não foi constatada nenhuma diferença significativa ($P<0,05$) entre sexo, raça e faixa etária dos equinos. De acordo com o presente estudo, a região Norte do Estado do Rio Grande do Sul é, portanto, caracterizada como uma área de instabilidade enzoótica para *B. equi*, oferecendo riscos reais de ocorrência e perdas econômicas causadas por surtos de babesiose causada por *B. equi*, especialmente em animais sensíveis, procedentes de áreas endêmicas ou mesmo entre animais nascidos naquela região.

PALAVRAS-CHAVE: *Babesia equi*, soroprevalência, equino, babesiose, ELISA, RIFI

¹ Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), Campus Parecis, Rodovia MT-235, Km 12, Mato Grosso, MT 78360-000, Brasil. E-mail: golynsky@yahoo.com.br

² Universidade Federal do Tocantins, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (UFT/EMVZ), BR 153, Km 112, Campus Universitário, Araguaína, TO 77800-000, Brasil. E-mail: crisbaldani@uft.edu.br

³ Departamento de Parasitologia Animal, IV, UFRRJ, BR-465 km 07, Seropédica, RJ 23890-000, Brasil. E-mail: carlosmassard@ufrj.br - bolsista CNPq.

⁴ Departamento de Zootecnia, Instituto de Zootecnia, UFRRJ, Seropédica, RJ.

⁵ Departamento de Patologia Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho (FCAV/Unesp), Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane s/n, Jaboticabal, SP 14884-900, Brasil. E-mail: zacarias@fcav.unesp.br - bolsista CNPq.

INTRODUÇÃO

As babesioses equínas são doenças causadas por protozoários de localização intra-eritrocítica denominados *Babesia equi* e *B. caballi*, apresentando como características clínicas comuns febre, anemia, icterícia, hemoglobinúria e fraqueza. Quando não diagnosticadas e tratadas de forma eficaz podem levar os animais à morte. Em condições naturais, esses protozoários são transmitidos por carrapatos dos gêneros *Dermacentor*, *Hyalomma* e *Rhipicephalus* (HOLBROOK et al., 1968; THOMPSON, 1969).

A distribuição geográfica das espécies de *Babesia* que infectam os eqüídeos é semelhante, ocorrendo especialmente nas regiões tropicais e subtropicais do mundo bem como, em algumas áreas de clima temperado (HOLBROOK, 1969; FRERICHS et al., 1969; FRIEDHOFF et al., 1990; PFEIFER BARBOSA et al., 1992). Estudos soroepidemiológicos, têm revelado alta prevalência de *B. equi* e *B. caballi* nas populações de eqüinos e zebras na África (DE WALL et al., 1988). Na Europa, *B. equi* e *B. caballi* já foram descritas na França, Bélgica, Espanha e Itália (CORDEIRO del CAMPILLO et al., 1974; FRIEDHOFF et al., 1990). Alemanha, Áustria, Suíça e a Grã-Bretanha são consideradas regiões livres (FRIEDHOFF et al., 1990). Nos países asiáticos, *B. equi* e *B. caballi* têm sido registradas de forma enzoótica, principalmente na China e Coreia, com exceção da região da Sibéria, onde esses protozoários não têm sido relatados (XUAN et al., 2002).

Nas Américas, as duas formas de babesioses se manifestam enzooticamente em quase todos os países da América Latina, exceto as regiões do Sul do Chile e Argentina (FRIEDHOFF et al., 1990). O Canadá e os Estados Unidos da América são considerados países livres de *B. equi* e *B. caballi*, com exceção do Estado da Flórida (HOLBROOK, 1969) reconhecida como área de instabilidade enzoótica.

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

Estudos soroepidemiológicos para *B. equi* realizados por Tenter e Friedhoff (1986), demonstraram elevada prevalência sorológica dessas espécies ao examinarem soros de animais dos Estados do Espírito Santo e Rio de Janeiro. Desde então, vários estudos sorológicos foram realizados com o intuito de caracterizar a ocorrência das babesioses equínas nas diversas regiões do país, confirmando a existência de elevadas prevalências de *B. equi* e *B. caballi* nos Estados do Rio de Janeiro (PFEIFER BARBOSA et al., 1995; BITTENCOURT et al., 1997; BOTTEON et al., 2002), Minas Gerais (RIBEIRO; LIMA, 1989), Goiás (LINHARES, 1994), Rio Grande do Sul (CUNHA et al., 1996) e São Paulo (HEUCHERT et al., 1999; XUAN et al., 2001), indicando que estas regiões do Brasil são de estabilidade enzoótica para essas espécies do gênero *Babesia*.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a soroprevalência de *B. equi* na região Norte do Estado do Rio Grande do Sul.

MATERIAL E MÉTODOS

A região Norte do Estado do Rio Grande do Sul abrange 31 municípios e apresenta área territorial de 5.729,9 quilômetros quadrados. As amostras foram coletadas em propriedades rurais escolhidas ao acaso, com base nos dados obtidos pelo Órgão Estadual de Inspeção Veterinária do Estado do Rio Grande do Sul, sendo referentes às propriedades com eqüinos em cada município (n=31) da região estudada.

Para o cálculo do tamanho da amostra estudada empregou-se a fórmula $n = p(1-p)/(1,96/\bar{A})^2$, segundo Sampaio (1998), baseando-se em uma estimativa de 57% de prevalência de *B. equi* (CUNHA et al., 1996) e admitindo-se um erro de 5%, obtendo-se assim amostragem de 380 animais, que foram selecionados por meio de uma amostra estratificada.

Foram coletados de cada animal, 10 ml de sangue da veia jugular por meio do sistema a vácuo. As amostras foram identificadas e mantidas refrigeradas a 4°C até a retração do coágulo. Após retração, as amostras de sangue foram centrifugadas a 3000 rpm por 5 minutos para a separação dos soros os que foram armazenados à temperatura de -20°C até o momento do teste sorológico.

O antígeno de *B. equi*, utilizado no teste de imunofluorescência indireta foi obtido de eqüino com infecção natural e aguda por *B. equi*, sendo utilizados como controles positivos e negativos, amostras cedidas pelo laboratório de Imunoparasitologia do Departamento de Parasitologia Veterinária da FCAV-UNESP/Jaboticabal-SP. Utilizou-se anti-IgG de equino conjugado ao isotiocianato de fluoresceína diluído em 1:100 (KPL 02-21-06) em solução de PBS, contendo azul de Evans 1mg%. As amostras de soros foram testadas na diluição 1:80 e a leitura dos resultados realizada em microscópio equipado para fluorescência (Olympus, BX 51) com aumento de 400X (BALDANI, 2004).

O teste ELISA foi realizado no laboratório Departamento de Patologia Animal, FCAV-UNESP/Jaboticabal,SP, conforme técnica descrita por Baldani et al. (2004). A leitura da reação foi realizada em um leitor de microplacas (Dynex Technology) a um comprimento de ondas de 405 nm. O ponto de corte do teste de ELISA correspondeu a duas vezes e meia o valor médio das densidades óticas dos soros de referência negativos.

Para verificar a associação entre as variáveis estudadas foi utilizado o teste estatístico do Qui-Quadrado (χ^2).

RESULTADOS

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

Tabela 1. Prevalência de *Babesia equi* de acordo com ao sexo dos equinos pela reação de ELISA e Imunofluorescência Indireta (RIFI), em equinos da região Norte do Estado do Rio Grande do Sul.

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

ao sexo dos animais foram testadas 198 amostras de machos e 182 de fêmeas, dentre as 198 amostras de machos, 62 delas (31,3%) foram consideradas positivas para *B. equi* por meio do teste ELISA e 73 (36,9%) positivas pela RIFI. Entre as 182 amostras de fêmeas, 58 (31,9%) foram consideradas positivas pelo teste ELISA e 63 (34,6%) positivas pela RIFI (Tabela 1).

Considerando as raças dos equinos estudados foram coletadas 274 amostras de equinos mestiços; 86 da raça Crioulo e 20 equinos das raças PSI, Mangalarga e Quarto e Milha que foram agrupados. As prevalências encontradas para as raças foram de 30,7%, para mestiços; 34,9% para crioulo e de 30,0% para as outras raças no teste de ELISA e pela RIFI as prevalências observadas foram de 35,8%; 36,1% e 35,0% respectivamente para mestiços, crioulo e outras raças (Tabela 2). Ainda, considerando as faixas etárias dos animais estudados, 22 equinos tinham a idade igual ou inferior a cinco anos, 180 tinham idade superior a cinco anos e igual ou inferiores a dez anos e outros 178 tinham idade superior a dez anos.

As prevalências observadas para as faixas etárias foram de 27,3% entre os equinos com idade igual ou inferior a cinco anos; 30,0% entre os equinos com idade superior a cinco anos

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

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

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

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

e igual ou inferior a dez anos e 33,5% entre os animais com idade superior a dez anos de idade pelo teste ELISA. De acordo com os resultados obtidos pela RIFI as prevalências observadas foram de 36,4%; 35,3% e de 36,2%, respectivamente, (Tabela 3). Estatisticamente não foram observadas diferenças significativas entre os sexos, raças e faixas etárias dos equinos estudados.

DISCUSSÃO

As prevalências de *B. equi* de 31,6% observadas através do ELISA e de 35,8% encontrada pela RIFI diferem dos resultados obtidos por Cunha et al. (1996) que encontraram uma prevalência de 57,8% ao testar 133 soros de equinos do Jockey Clube de Pelotas e em dois Haras da Zona Sul Rio Grande do Sul, avaliados através da RIFI, bem como dos resultados de Souza et al. (2000) que observaram uma prevalência de 50,3% para *B. equi* em equinos de diferentes idades, sexos e raças do Planalto Catarinense no Estado de Santa Catarina. Os dados obtidos na presente pesquisa quando comparados com os resultados observados em outras regiões do Brasil demonstram que os valores são muito diferentes dos valores referidos para o Estado do Rio de Janeiro, conforme por Pfeiffer Barbosa et al. (1995) ao estudarem equinos criados a campo em Itaguaí, RJ reportaram prevalência de *B. equi* em 100% dos animais estudados. Também Bittencourt et al. (1997) encontraram prevalência de 84,6% pela TFC para *B. equi* em equinos do município de Seropédica, RJ. Mais recentemente, Botteon et al. (2002) observaram soroprevalência de 89,58%, 87,8% e 45,2% para *B. equi* em equinos mantidos em sistemas de produção extensivo, semi-extensivo e confinado na região Metropolitana do Estado do Rio de Janeiro. No Estado de Minas Gerais, Ribeiro e Lima (1989) também observaram prevalência de 92,8%. As elevadas prevalências observadas por diferentes autores realizados nos Estados do Rio de Janeiro e Minas Gerais possibilitam classificar essas áreas como áreas de estabilidade enzoótica para *B. equi*.

As diferenças observadas nos percentuais de prevalência entre a região sudeste e a região estudada, estão relacionadas a menor distribuição dos carrapatos vetores nas regiões mais ao sul do Brasil onde fatores climáticos como temperatura, umidade relativa, altitude e índices pluviométricos elevados influenciam o habitat das principais espécies que parasitam equídeos: *Anocentor nitens* e *Amblyomma cajennense*, embora frequentemente encontrados parasitando equídeos no Brasil, experimentalmente nenhum resultado positivo foi revelado no envolvimento dessas espécies de carrapatos na transmissão biológica de *B. equi*. (DENNIG, 1988). Estudos demonstram que *Boophilus microplus* é transmissor experimental de *B. equi* em equinos (GUIMARÃES et al., 1998; UETI, et al., 2005; FERNANDES et al., 2006ab). Os resultados observados podem explicar a presença da babesiose equina por *B. equi* em locais onde *B. microplus* é a espécie de carrapato predominantemente encontrada parasitando os equídeos, como foi reforçado pelos resultados obtidos no Estado do Rio Grande do Sul (FREIRE, 1972; CUNHA et al., 1996).

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

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

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos na presente pesquisa permitem caracterizar a região Norte do Estado do Rio Grande do Sul como área de instabilidade enzoótica para *B. equi*, oferecendo assim, riscos reais de ocorrência e perdas econômicas causadas por surtos de babesiose causada por *B. equi*, especialmente em animais sensíveis, procedentes de áreas indenes ou mesmo entre animais nascidos naquela região.

Agradecimentos: Ao Órgão Estadual de Inspeção Veterinária do Estado do Rio Grande do Sul (sede regional de Erechim) pelo auxílio na coleta do material.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BALDANI, C.D.; MACHADO, R.Z.; BOTTEON, P.T.L.; TAKAKURA, F.S.; MASSARD, C.L. An enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of IgG antibodies against *Babesia equi* in horses. *Ciência Rural*, v. 34, n. 5, p. 1525-1529, 2004.
- BITTENCOURT, V.R.E.P.; MASSARD, C.L. Aspectos epidemiológicos da babesiose equina na Microregião Fluminense do Grande Rio-Itaguaí, Estado do Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v. 4, n. 1, p. 13-17, 1997.
- BOTTEON, P.T.L.; MASSARD, C.L.; BOTTEON, R.C.C.M.; LOSS, Z.G.; LINHARES, G.F.C. Seroprevalence of *Babesia equi* in tres diferentes sistemas de criação de equinos. *Parasitologia Latinoamericana*, v. 57, n. 3-4, p. 141-145, 2002.
- CARINI, A. Sobre uma piroplasmose equina observada em São Paulo. Arquivo da Sociedade de Medicina Cirúrgica de São Paulo, v. 1, n. 1, p. 63-66, 1910.
- CORDERO del CAMPILLO, M.; ORDÁZ ALVAREZ, J.; ROJO VÁZQUEZ, F.A.; ESCUDERO DIAZ, A. Equine babesia infection in Spain. *Trabajos de la Estación Agrícola Experimental de León*, v. 11, n. 1, p. 11-22, 1974.
- CUNHA, C.W.; DA SILVA, S. S.; PIMENTEL, C. A.; DAPPER, E. Avaliação da frequência de equinos soropositivos a *Babesia equi* no Jockey Clube de Pelotas e em dois Haras da Zona Sul do Rio Grande do Sul, RS. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 5, n. 2, p. 119-122, 1996.
- DE WALL, D.T.; VAN HEERDEN, J.; VAN DEN BERG, S.S.; STEGMANN, G.F.; POTGIETER, F.T. Isolation of pure *Babesia equi* and *Babesia caballi* organisms in splenectomized horses from endemic areas in South Africa. *Onderstepoort Journal Veterinary Research*, v. 55, n. 1, p. 33-35, 1988.
- DENNIG, F. *Unsuccessful attempts to transmit Babesia equi by Anocentor nitens and Amblyomma cajennense*. 1988, 112f. Tese (Doutorado), Escola de Medicina Veterinária, Hanover, Hanover, 1988.
- FERNANDES, K.R.; GOLYNSKI, A.A.; FORLANO, M.D.; ELISEI, C.; MADEIRO, A.S.; LINHARES, G.; MASSARD, C.L. Estudo do desenvolvimento de *Babesia equi* (Laveran, 1901) em glândulas salivares de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 14 E SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE RICKTTISIOSES, 2, 2006, Ribeirão Preto, SP. *Anais...* Jaboticabal: CBPV, 2006. 1 CD Rom
- FERNANDES, K.R.; GOLYNSKI, A.A.; FORLANO, M.D.; ELISEI, C.; MADEIRO, A.S.; LINHARES, G.; MASSARD, C.L. Detecção de *Babesia equi* (Laveran, 1901) em glândulas salivares de ninfas e adultos de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 14 E SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE RICKTTISIOSES, 2, 2006, Ribeirão Preto, SP. *Anais...* Jaboticabal: CBPV, 2006. 1 CD Rom
- FREIRE, J.J. Revisão das espécies da família Ixodidae. *Revista de Medicina Veterinária*, São Paulo, v. 8, n. 1, p. 1-6, 1972.
- FRERICHS, W.M.; HOLBROOK, A.A.; JOHNSON, A.J. Equine piroplasmosis complement fixation titers of horses infected with *Babesia caballi*. *American Journal Veterinary Research*, v. 30, n. 5, p. 697-702, 1969.
- FRIEDHOFF, K.T.; TENTER, A.M.; MULLER, I. Haemoparasites of equines: impact on international trade of horses. *Scientifique et Technique Office International des Epizooties*, v. 9, n. 4, p. 1187-1194, 1990.
- GUIMARÃES, A.M.; LIMA, J.D.; RIBEIRO, M.F.B. Sporogony and experimental transmission of *Babesia equi* by *Boophilus microplus*. *Parasitology Research*, v. 84, n. 4, p. 323-327, 1998.
- GUIMARÃES, L.M.; ARAÚJO, T.L.; LACERDA JR., P.M.G. Ocorrência de nutaliose em equinos puro sangue de corri-

- da, em São Paulo. *Revista da Faculdade de Medicina Veterinária de São Paulo*, v. 4, n. 2, p. 357-362, 1950.
- HEUCHERT, C.M.; DE GIULLI JR, V.; DE ATHAIDE, D.F.; BÖSE, R.; FRIEDHOFF, K.T. Seroepidemiologic studies on *Babesia equi* and *Babesia caballi* infections in Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 85, n. 1, p. 1-11, 1999.
- HOLBROOK, A.A. Biology of equine piroplasmiasis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 155, n. 2, p. 453-454, 1969.
- HOLBROOK, A.A.; ANTHONY, D.W.; JOHNSON, A.J. Observation on the development of *Babesia caballi* (Nuttall) in the tropical horse tick *Dermacentor nitens* Neumann. *Journal of Parasitology*, v. 15, n. 2, p. 391-396, 1968.
- LINHARES, G.F.L. *Aspectos biológicos e epidemiológicos das babesioses de equídeos, com ênfase a microrregião de Goiânia, Goiás, Brasil*. 1994. 120 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 1994.
- MAHONEY, D.F.; ROSS, D.R. Epizootiological factors in the control of bovine babesiosis. *Australian Veterinary Parasitology*, v. 48, n. 5, p. 292-298, 1972.
- PFEIFER BARBOSA, I.; BOSE, R.; PEYMANN, B.; FRIEDHOFF, K.T. Epidemiological aspects of equine babesioses in a herd of horses in Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 58, n. 1-2, p. 1-8, 1995.
- PFEIFER, I.B.; FRIEDHOFF, K.T.; MASSARD, C.L.; LINHARES, G.F.C. Diagnosis of Natural Infection with *Babesia caballi* (Nuttall & Strickland, 1910) in Horses and *Anocentor nitens* (Neumann, 1898) in Itaguai, Rio de Janeiro, Brazil. *Arquivo Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro*, v. 58, n. 1-2, p. 1-8, 1992.
- RIBEIRO, M.F.B.; LIMA, J.D. Diagnóstico sorológico da babesiose equina por *Babesia equi* em Minas Gerais. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 6, 1989, Bagé, RS. Anais... Bagé: CBPV, 1989. p. 111.
- SAMPAIO, I.B.M. *Estatística aplicada à experimentação animal*. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998. 221 p.
- SOUZA, A.P.; SARTOR, A.A.; BELLATO, V.; SILVA, A.B. Prevalência de anticorpos anti *Babesia equi* em equinos do Planalto Catarinense. *Ciência Rural*, v. 30, n. 1, p. 119-121, 2000.
- TENTER, A.M.; FRIEDHOFF, K.T. Serodiagnosis of experimental and natural *Babesia equi* and *B. caballi* infections. *Veterinary Parasitology*, v. 20, n. 1-3, p. 49-61, 1986.
- THOMPSON, P.H. Ticks as vectors of equine piroplasmiasis. *Journal of American Veterinary Medical Association*, v. 155, n. 2, p. 454-457, 1969.
- UETI, M.W.; PALMER, G.H.; KAPPMAYER, L.S.; STATFIELD M.; SCOLES, G.A.; KNOWLES, D.P. Ability of the vector tick *Boophilus microplus* to acquire and transmit *Babesia equi* following feeding on chronically infected horses with low-level parasitemia. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 43, n. 8, p. 3755-3759, 2005.
- XUAN, X.; CHAHAN, B.; HUANG, X.; YOKOYAMA, N.; MAKALA, L.H.; IGARASHI, I.; FUJISAKI, K.; MARUYAMA, S.; SAKAI, T.; MIKAMI, T. Diagnosis of equine piroplasmiasis in Xinjiang province of China by the enzyme-linked immunorbent assays using recombinant antigens. *Veterinary Parasitology*, v. 108, n. 2, p. 179-182, 2002.
- XUAN, X.; ZHANG, S.; HUANG, X.; BAYIN, C.; XUAN, X.; IGARASHI, I.; FUJISAKI, K.; KABEYA, H.; MARUYAMA, S.; MIKAMI, T. Detection of antibodies to *Babesia equi* in horses by a latex agglutination test using recombinant EMA-1. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, v. 8, n. 3, p. 645-646, 2001.

Recebido em 30 de abril de 2008.

Aceito para publicação em 14 de setembro de 2008.