



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL**

**PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À INFECÇÃO POR
Leishmania spp., *Babesia caballi* (Nuttall & Strickland, 1910), *Theileria equi* (Mehlhorn
& Schein, 1998), *Toxoplasma gondii* (Nicolle & Manceaux, 1909), *Neospora* spp. EM
EQUÍDEOS SUBMETIDOS A DIFERENTES REGIMES DE CRIAÇÃO**

NEURISVAN RAMOS GUERRA

RECIFE

2017



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL

PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À INFECÇÃO POR
Leishmania spp., *Babesia caballi* (Nuttall & Strickland, 1910), *Theileria equi* (Mehlhorn
& Schein, 1998), *Toxoplasma gondii* (Nicolle & Manceaux, 1909) E *Neospora spp.* EM
EQUÍDEOS SUBMETIDOS A DIFERENTES REGIMES DE CRIAÇÃO

NEURISVAN RAMOS GUERRA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como pré-requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Biociência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Leucio Câmara Alves

RECIFE

2017

Ficha catalográfica

G934p

Guerra, Neurisvan Ramos

Prevalência e fatores de risco associados à infecção por *Leishmania* spp., *Babesia caballi* (Nuttall & Strickland, 1910), *Theileria equi* (Mehlhorn & Schein, 1998), *Toxoplasma gondii* (Nicolle & Manceaux, 1909) e *Neospora* spp. em equídeos submetidos a diferentes regimes de criação / Neurisvan Ramos Guerra. -- 2017.

132 f.: il.

Orientador: Leucio Câmara Alves.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal, Recife, BR-PE, 2017.

Inclui referências.

1. Equideocultura 2. Doenças parasitárias 3. Protozoários
4. Anticorpos 5. DNA I. Alves, Leucio Câmara, orient. II. Título

CDD 636.089

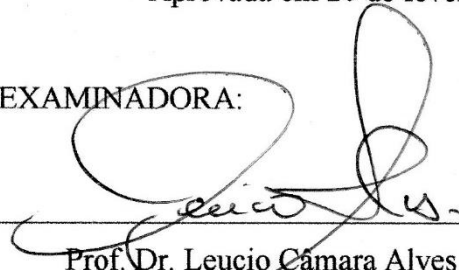
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL

PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À INFECÇÃO POR
Leishmania spp., *Babesia caballi* (Nuttall & Strickland, 1910), *Theileria equi* (Mehlhorn
& Schein, 1998), *Toxoplasma gondii* (Nicolle & Manceaux, 1909), *Neospora* spp. EM
EQUÍDEOS SUBMETIDOS A DIFERENTES REGIMES DE CRIAÇÃO

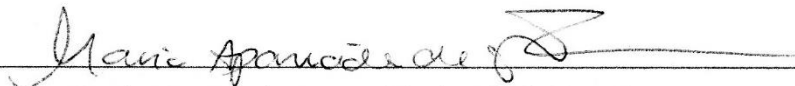
Tese de Doutorado elaborada e defendida por
NEURISVAN RAMOS GUERRA

Aprovada em 20 de fevereiro de 2017.

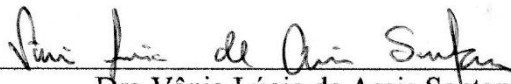
BANCA EXAMINADORA:



Prof. Dr. Leucio Câmara Alves (Orientador)
Professor Titular do Departamento de Medicina Veterinária- UFRPE



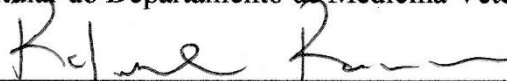
Prof. Dra Maria Aparecida da Glória Faustino
Professora Titular do Departamento de Medicina Veterinária- UFRPE



Dra Vânia Lúcia de Assis Santana
Fiscal Federal Agropecuária
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA



Prof. Dr. Rinaldo Aparecido Mota
Professor Titular do Departamento de Medicina Veterinária - UFRPE



Prof. Dr. Rafael Antônio do Nascimento Ramos
Professor Adjunto da Unidade Acadêmica de Garanhuns – UFRPE

Aos meus pais Antonio Guerra e Francisca Ramos pelo amor, dedicação, apoio e incentivo na minha vida.

AGRADECIMENTOS

A DEUS por guiar os meus passos proporcionando o essencial para toda a minha vida;

À minha família pelo amor, estímulo e apoio em todos os momentos;

Ao professor Leucio Alves pela orientação, aconselhamentos, apoio e amizade;

A minha esposa Hévila Mara Moreira Sandes Guerra pelo companheirismo, paciência e amor;

À Dra Vânia Lúcia de Assis Santana pela amizade e incentivo na minha vida profissional;

A Edson Moura pela grande colaboração nas coletas e estímulo na execução desse estudo;

Aos companheiros de coletas Alexandre Melo, Marcílio, Diogo Firmino, Maria Inês, Sandra Torres, Andrea Calado, Irma López e Luísa Bezerra;

A Rafael Lepold e Bruno Alves pela sua solicitude sempre que precisei de ajuda para a construção desse trabalho;

Aos professores Rosângela Zacarias e Célio Machado pelo apoio no trabalho de piroplasmose equina;

Ao professor Rinaldo Mota pelo apoio nas sorologias de *Neospora* spp. e *Toxoplasma gondii*;

Ao professor Wilton Júnior pela colaboração e solicitude de sempre;

A Jonatas Campos e Elâine Lídia pela disponibilidade no desenvolvimento dos testes *Neospora* spp. e *Toxoplasma gondii*;

A Jussara Valença de Alencar Ramos pela presteza e contribuição nas coletas nos municípios de Igarassu-PE e Itamaracá-PE;

A Rodolfo Goddoy pela cooperação nas coletas em Camocim de São Félix-PE e Moreno-PE;

A Luan, Alexandrino e Eduardo Vieira por terem facilitado as coletas em Lagoa do Carro, Surubim e Limoeiro, respectivamente;

A Maria Eugênia Gama e o veterinário Sérgio por terem possibilitado as coletas no Cabo de Santo Agostinho;

Aos parceiros Arão e Ricardo Ramos pela presteza nas coletas em Ouricuri-PE;

Aos companheiros do Laboratório de Doenças Parasitárias dos Animais Domésticos pela ajuda e motivação tornando o trabalho e o convívio mais agradável;

À Universidade Federal Rural de Pernambuco bem como a todos os profissionais que contribuíram para a minha formação;

À Fundação de apoio à Ciência e Tecnologia do estado de Pernambuco (FACEPE) pelo apoio financeiro.

“A cruz sagrada seja minha luz”.
(São Bento de Núrsia)

RESUMO

A equideocultura do Brasil ocupa posição de destaque mundial, com cerca de oito milhões de cabeças. Doenças causadas por protozoários como *Babesia caballi*, *Theileria equi* e *Neospora* spp. além de parasitos que causam protozooses zoonóticas a exemplo de *Leishmania* spp. e *Toxoplasma gondii* representam um dos principais entraves no desenvolvimento do setor. Diante disso, esse estudo tem como objetivo determinar as prevalências e fatores de risco associados às infecções por *Leishmania* spp., *Babesia caballi* (Nuttall & Strickland, 1910), *Theileria equi* (Mehlhorn & Schein, 1998), *Toxoplasma gondii* (Nicolle & Manceaux, 1909) e *Neospora* spp. em equídeos submetidos a diferentes regimes de criação. Para realização dos exames, foram analisadas 400 amostras de sangue total e soro de equídeos clinicamente saudáveis, incluindo equinos (387/400), muares (9/400) e asininos (4/400) provenientes de 41 propriedades rurais do estado de Pernambuco. Com a finalidade da detecção de *Leishmania* spp., foram realizados os exames parasitológicos diretos e Reação em cadeia da Polimerase (PCR). No intuito de averiguar a presença de infecção por *Babesia caballi* e *Theileria equi* foram utilizados os exames parasitológico direto e Ensaio de Imunoadsorção Enzimática (ELISA), para detecção de imunoglobulinas anti-*Babesia caballi* e anti-*Theileria equi*. Para determinação das soroprevalências da toxoplasmose e neosporose foram utilizados os testes de aglutinação modificado (MAT) para identificação de anticorpos IgG anti-*T. gondii* e IgG anti-*Neospora* spp. Todas as amostras resultaram negativas para *Leishmania* spp. nos testes, o que sugere que os equídeos não participam da cadeia epidemiológica das leishmanioses nas áreas estudadas. Quanto à presença de *B. caballi* e *T. equi*, os testes sorológicos revelaram uma prevalência de anticorpos anti-*Babesia caballi* e anti-*Theileria equi* de 4,3% (17/400; I.C. 2,6 – 6,9%) e 10,8% (43/400; I.C. 8,0 – 14,3), respectivamente e foi detectada co-infecção em 1% (4/400) dos animais. Tais dados permitem caracterizar como áreas de instabilidade enzoótica os locais pesquisados. Anticorpos IgG anti-*T. gondii* foram detectados em 12,5% (50/400) dos animais analisados. Quando avaliados os fatores de risco para infecção por *T. gondii*, apenas o fator mesorregião ($p=0,029$) apresentou associação com a infecção, particularmente Zona da Mata (OR=3). Os resultados revelam a presença do parasito na área estudada, o que pode representar um elo na cadeia de transmissão da toxoplasmose. A soropositividade para *Neospora* spp. total foi de 5,7% (23/400) e as variáveis idade, tipo de criação e região apresentaram significância estatística. Em relação à idade, observou-se que animais acima de 11 anos apresentaram 11,8 vezes de chances a mais de serem sororreagentes quando comparados com os animais jovens (<2,5) e a prevalência encontrada demonstra que o parasito está disperso nas áreas estudadas e que as variáveis idade, tipo de criação e região são fatores de riscos mais importantes para ocorrência da infecção em equídeos, devendo ser considerados na prevenção da doença. Considerando os resultados encontrados no presente estudo, o diagnóstico das diversas doenças presentes no estado de Pernambuco, quando realizado de forma precoce, possibilita a aplicação de medidas preventivas e de controle, contribuindo significativamente com a sanidade animal e saúde pública.

Palavras chave: Equideocultura, Doenças Parasitárias, Protozoários, Anticorpos, DNA.

ABSTRACT

The equid industry in Brazil occupies a prominent position worldwide, with about eight million equids. Diseases caused by protozoa such as *Babesia caballi*, *Theileria equi* and *Neospora* spp. as well as parasites that cause zoonotic protozooses such as *Leishmania* spp. and *Toxoplasma gondii* represent one of the main obstacles in the development of the sector. Therefore, this study aims to detect infection by *Leishmania* spp., *Babesia caballi*, *Theileria equi*, *Toxoplasma gondii* and *Neospora* spp. and their respective risk factors in equidae created with different management forms. To perform the tests, 400 samples of whole blood and serum from clinically healthy equines, including horses, mules and donkeys from 41 rural properties in the state of Pernambuco were analyzed. In order to detect *Leishmania* spp., direct parasitological and Polymerase Chain Reaction (PCR) tests were performed. Concerning the presence of infection by *Babesia caballi* and *Theileria equi*, direct parasitological tests and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) were used for anti-*Babesia caballi* and anti-*Theileria equi* immunoglobulins detection. For the determination of seroprevalences of toxoplasmosis and neosporosis, modified agglutination (MAT) tests were used to identify anti-*T. gondii* IgG antibodies and anti-*Neospora* spp. All samples were negative for *Leishmania* spp. in the tests, suggesting that equidae do not participate in the epidemiological chain of leishmaniasis in the studied areas. The prevalence of anti-*Babesia caballi* and anti-*Theileria equi* antibodies of 4.3% (17/400; CI: 2.6-6.9) and the presence of *B. caballi* and *T. equi* in the serological tests revealed a prevalence of 10.8% (43/400; CI: 8.0 - 14.3), respectively, and co-infection was detected in 1% (4/400) of the animals. These data allow the characterization of areas of enzootic instability in the sites surveyed. Anti-*T. gondii* IgG antibodies were detected in 12.5% (50/400) of the animals analyzed. When evaluating the risk factors for *T. gondii* infection, only the mesoregion factor ($p = 0.029$) was associated with infection, particularly Zona da Mata (OR = 3). The results reveal the presence of the parasite in the studied area, which may represent a link in the transmission chain of toxoplasmosis. Seropositivity for *Neospora* spp. was 5.7% (23/400) and the variables age, breeding type and region presented statistical significance. In relation to age, it was observed that animals older than 11 years presented 11.8 times more chances of being serum-reactive when compared with young animals (<2,5) and the prevalence found shows that the parasite is dispersed in the areas studied and that the variables age, breeding type and region are the most important risk factors for the occurrence of infection in equidae, and should be considered in the prevention of the disease. Considering the results found in the present study, the diagnosis of the various diseases present in the State of Pernambuco, when performed at an early stage, allows the application of preventive and control measures, contributing significantly to animal health and public health.

Keywords: Equid industry, Parasitic Diseases, Protozoa, Antibodies, DNA.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1. LEISHMANIOSE CUTÂNEA EM EQUÍDEOS.....	16
2.1.1. ETIOLOGIA E TRANSMISSÃO	16
2.1.2. DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA	18
2.1.3. PATOGENIA E SINAIS CLÍNICOS.....	19
2.1.4. IMUNIDADE.....	20
2.1.5. DIAGNÓSTICO	21
2.1.6. TRATAMENTO, PREVENÇÃO E CONTROLE	22
2.2. PIROPLASMOSE EQUINA	23
2.2.1. ETIOLOGIA E TRANSMISSÃO	23
2.2.2. DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA	26
2.2.3. PATOGENIA E SINAIS CLÍNICOS.....	29
2.2.4. IMUNIDADE	30
2.2.5. DIAGNÓSTICO	31
2.2.6. TRATAMENTO, PREVENÇÃO E CONTROLE	32
2.3. TOXOPLASMOSE EM EQUÍDEOS	32
2.3.1. ETIOLOGIA E TRANSMISSÃO	32
2.3.2. DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA	34
2.3.3. PATOGENIA E SINAIS CLÍNICOS.....	37
2.3.4. IMUNIDADE	37
2.3.5. DIAGNÓSTICO	38
2.3.6. TRATAMENTO, PREVENÇÃO E CONTROLE	38
2.4. NEOSPOROSE EM EQUÍDEOS	39
2.4.1. ETIOLOGIA E TRANSMISSÃO	39
2.4.2. DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA	41
2.4.3. PATOGENIA E SINAIS CLÍNICOS.....	41
2.4.4. IMUNIDADE	42
2.4.5. DIAGNÓSTICO	43
2.4.6. TRATAMENTO, PREVENÇÃO E CONTROLE	44
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46
4. OBJETIVOS.....	81
4.1. OBJETIVO GERAL.....	81
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	81
CAPÍTULO 1.....	82
PESQUISA PARASITOLÓGICA E MOLECULAR DE <i>Leishmania</i> spp. EM EQUÍDEOS.....	82
CAPÍTULO 2.....	91
FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À INFECÇÃO POR <i>Theileria equi</i> E <i>Babesia caballi</i> EM EQUÍDEOS.....	91

CAPÍTULO 3.....	109
SOROPREVALÊNCIA DE <i>Toxoplasma gondii</i> EM EQUÍDEOS DO NORDESTE DO BRASIL.....	109
CAPÍTULO 4.....	117
PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-<i>Neospora</i> spp. EM EQUÍDEOS CRIADOS EM DIFERENTES SISTEMAS DE MANEJO	117
5. CONCLUSÕES GERAIS	132

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Ciclo biológico de <i>Leishmania braziliensis</i>	17
Figura 2: Ciclo biológico de <i>Babesia caballi</i>	24
Figura 3: Ciclo biológico de <i>Theileria equi</i>	25
Figura 4: Ciclo biológico de <i>Toxoplasma gondii</i>	33
Figura 5: Ciclo biológico de <i>Neospora caninum</i>	40

LISTA DE QUADROS

Revisão de Literatura

Quadro 1: Ocorrência de <i>Babesia caballi</i> e <i>Theileria equi</i> em equídeos de diferentes continentes	27
Quadro 2: Ocorrência de <i>Babesia caballi</i> e <i>Theileria equi</i> em diferentes regiões do Brasil ...	28
Quadro 3: Ocorrência de <i>Toxoplasma gondii</i> em equídeos de diferentes continentes	35
Quadro 4: Ocorrência de <i>Toxoplasma gondii</i> em equídeos de diferentes regiões do Brasil	36

Capítulo 3

Quadro 1: Fatores de Risco associados à infecção por <i>Toxoplasma gondii</i> em equídeos.....	112
--	-----

LISTA DE TABELAS

Capítulo 2

Tabela 1: Prevalência das infecções por *Babesia caballi* e *Theileria equi* em equídeos das diferentes mesoregiões do estado de Pernambuco. 96

Tabela 2: Fatores de risco associados com infecção por *Babesia caballi*. 97

Tabela 3: Fatores de risco associados com infecção por *Theileria equi*. 97

Capítulo 4

Tabela 1: Análise dos fatores de risco associados à infecção por *Neospora* sp. em equídeos criados em diferentes sistemas de criação 123

1.INTRODUÇÃO

A equideocultura representa uma importante cadeia do agronegócio do Brasil (CHAVES et al., 2014) cujo mercado exportador de carne equina é bastante expressivo, sendo o oitavo maior do mundo, fornecendo principalmente a países como a Bélgica, Holanda, Itália, Japão e França (BRASIL, 2016).

Neste sentido, o Brasil possui o quarto maior rebanho mundial de equinos e o maior da América Latina, sendo cerca de oito milhões de animais quando somados aos muares e asininos, dos quais 69,4% de equinos (*Equus caballus*), 14,2% de asininos (*Equus asinus*) e 16,4% de muares (*Equus asinus caballus*) (IBGE, 2014).

Tendo em vista a amplitude e importância do setor de equideocultura para o Brasil deve-se ter um rigoroso controle sanitário deve ser realizado a fim de evitar ou mesmo minimizar os prejuízos causados por diversas doenças, dentre as quais aquelas causadas por parasitos, particularmente protozoários, quer seja do ponto de vista econômico como também de saúde pública, em função do potencial zoonóticos (GOMES et al., 2010).

Assim, na equideocultura, as doenças causadas por protozoários funcionam como um dos principais entraves no desenvolvimento do setor, em função das perdas diretas devido a morbidade, mortalidade e abortos, resultantes de infecções por patógenos como *Neospora* spp. (LOCATELLI-DITTRICH et al., 2006), além das perdas indiretas em função das restrições na comercialização de animais, particularmente nas infecções por *Babesia caballi* e *Theileria equi* (SALIM et al., 2008).

Não obstante, estes animais, podem ainda participar da cadeia epidemiológica de transmissão (GOMES et al., 2010) de patógenos com potencial zoonótico a exemplo de infecções causadas por *Leishmania* spp. e *Toxoplasma gondii*. é de grande relevância, o estudo de zoonoses, das quais

Assim, doenças como piroplasmose equina acarreta em perdas diretas na saúde causando diminuição da performance dos animais, bem como na restrição da exportação ou participação em eventos desportivos internacionais além de custos de tratamento e controle (GUIMARÃES et al., 1997; MARTIN, 1999).

Essa enfermidade assume grande importância no meio equestre, tendo em vista que em áreas endêmicas, o número de casos registrados pode exceder a ocorrência de qualquer outra doença infecciosa equina (DE WAAL & VAN HEERDEN, 2004).

Outra importante doença com repercussão econômica é a aquela causada por *Neospora caninum*, a qual tem sido associada à problemas reprodutivos e doença neonatal, bem como por

N. hughesi, cuja infecção causa desordens neurológicas (VALENÇA et al., 2015). O primeiro, acomete caninos (hospedeiros definitivos) dentre outras espécies, enquanto que o segundo, tem sido descrito em equinos (LINDSAY, 2001).

Por outro lado, estudos sugerem que equídeos possam participar da cadeia epidemiológica da leishmaniose cutânea, servindo como fonte de infecção para diversos vetores, favorecendo, portanto, a transmissão para diversas espécies de animais, incluindo humanos, e da toxoplasmose pelo consumo da carne de equídeos (DUBEY et al., 2009; LOPES et al., 2013).

Neste sentido torna-se necessária a realização do diagnóstico precoce e a identificação de fatores de risco associados à ocorrência destas doenças com o objetivo de auxiliar o planejamento e adoção de políticas sanitária adequadas para o controle destas enfermidades.

Diante disso, o objetivo desta pesquisa foi determinar as prevalências e fatores de risco associados às infecções por *Leishmania* spp., *Babesia caballi*, *Theileria equi*, *Toxoplasma gondii* e *Neospora* spp. em equídeos submetidos a diferentes regimes de criação.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Leishmaniose Cutânea em Equídeos

2.1.1. Etiologia e Transmissão

As leishmanioses são enfermidades de caráter zoonótico causadas por várias espécies de protozoários digenéticos da ordem Kinetoplastida, família Trypanomastidae, gênero *Leishmania*, que acometem o homem e diferentes espécies de animais (ROTUREAU, 2006).

Esses protozoários apresentam duas formas durante seu ciclo evolutivo: uma forma flagelada ou promastigota, encontrada no tubo digestivo dos insetos vetores, bem como em meio de cultura; e outra aflagelada ou amastigota, que é a forma intracelular dos hospedeiros vertebrados (REY, 2001).

As espécies causadoras de Leishmaniose cutânea (LC) consideradas de maior importância médica são: *Leishmania (Viannia) braziliensis* (VIANNA, 1911); *Leishmania (Viannia) guyanensis* (FLOCH, 1954); *Leishmania (Viannia) lindenbergi* (SILVEIRA *et al.*, 2002); *Leishmania (Viannia) shawi* (Lainson *et al.*, 1989); *Leishmania (Viannia) lainsoni* (SILVEIRA *et al.*, 1987); *Leishmania (Viannia) naiffi* (LAINSON & SHAW, 1989) e *Leishmania (Leishmania) amazonensis* (LAINSON & SHAW, 1972) (FUNASA, 2007). A principal espécie causadora de leishmaniose tegumentar é *L. braziliensis*, seguida de *L. guyanensis* e *L. amazonensis*.

Em equídeos, já foram descritas como causadoras da doença as espécies: *L. infantum* (KOEHLER *et al.*, 2002; SOLANO-GALLEGO *et al.*, 2003; ROLÃO *et al.*, 2005), *L. braziliensis* (BONFANTE-GARRIDO & BARRETO, 1980; BARBOSA-SANTOS *et al.*, 1994; BRANDÃO-FILHO *et al.*, 2003; FERNÁNDEZ-BELLON *et al.*, 2006) e *L. siamensis* (REUSS *et al.*, 2012).

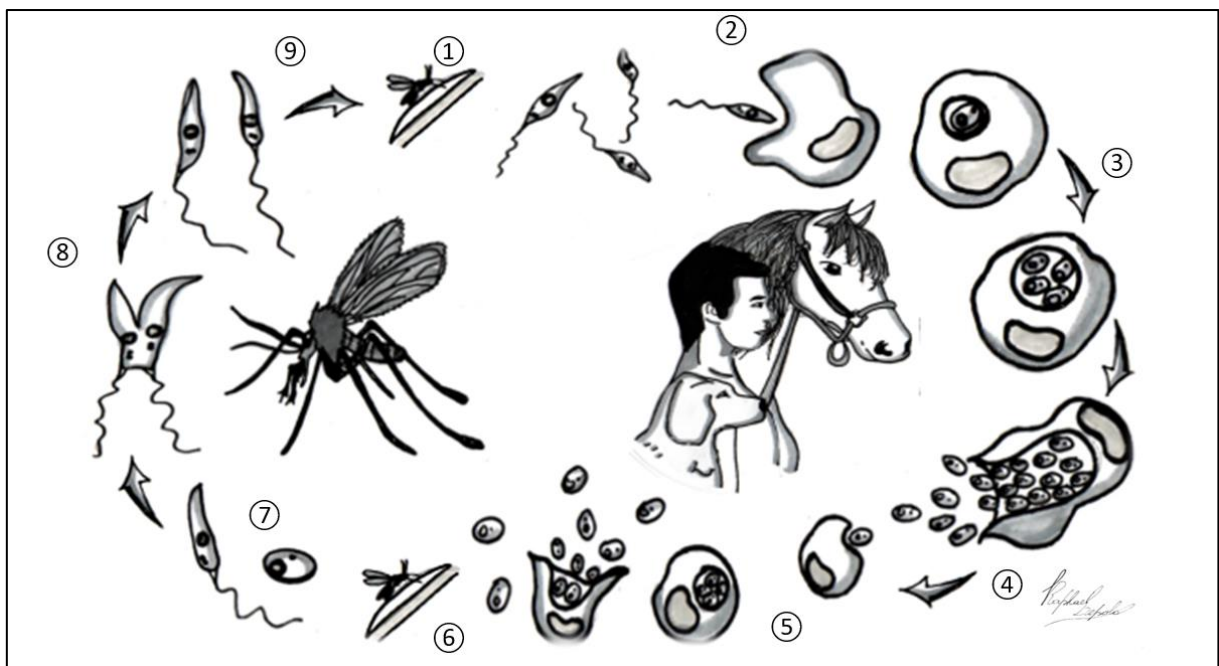
Este gênero possui apenas duas formas durante seu ciclo evolutivo, a forma amastigota e a promastigota. A forma amastigota é tipicamente ovóide ou esférica, medindo 3 - 6,5µm por 1,5 - 3 µm, com núcleo, cinetoplasto, e flagelo rudimentar, encontrada nas células do sistema fagocítico mononuclear, principalmente macrófagos, dos hospedeiros vertebrados e a forma promastigota é alongada, medindo entre 16 – 40µm de comprimento por 1,5 - 3 µm de largura, possuindo citoplasma, núcleo, cinetoplasto e flagelo livre.

A principal forma de transmissão de *Leishmania* ao ser humano e outros mamíferos ocorre quando a fêmea do flebótomo vetor exerce o hematofagismo em um hospedeiro vertebrado, ingerindo macrófagos infectados pelas formas amastigotas (Figura 1). Esses macrófagos se rompem no trato intestinal do inseto liberando os parasitos, que por divisão

binária se multiplicam e se transformam em promastigotas infectantes oito a vinte dias depois da infecção do vetor (DESJEUX, 2004).

No momento em que o flebótomo infectado realiza novo repasto sanguíneo, ocorre a transmissão do parasito para um novo hospedeiro vertebrado; no novo organismo a forma promastigota será fagocitada por macrófagos, transformando-se em amastigota. A multiplicação dos protozoários no interior das células ocupa todo o citoplasma, deslocando o núcleo até o rompimento da membrana celular, ocasionando a liberação das amastigotas no tecido, sendo essas novamente fagocitadas, dando início a processo inflamatório local (NIEVES;PIMENTA, 2000; REY, 2001).

Figura 1: Ciclo biológico de *Leishmania braziliensis*.



1-Flebotomíneo ao realizar a ingestão do sangue, deposita através de sua saliva formas promastigotas de *Leishmania* sp; 2-Invasão da forma promastigota em macrófagos; 3-Depois da transformação da forma promastigota em amastigota no macrófago ocorre a multiplicação por divisão binária; 4-Lise do macrófago e liberação das formas amastigotas na circulação; 5-Invasão de macrófagos e multiplicação das formas amastigota por divisão binária; 6-O flebótomo ingere sangue contendo as formas amastigotas; 7-Transformações da forma amastigota em promastigotas; 8-Formas promastigotas procíclicas iniciam o processo por divisão binária passando a promastigotas metacíclicas; 9-Migração das formas promastigotas pela válvula faríngea do flebótomo.

Desta forma, a transmissão é realizada por insetos da ordem Diptera, família *Psychodidae*, subfamília *Phlebotominae*, gêneros *Phlebotomus* (velho mundo) e *Lutzomyia* (novo mundo) (GENARO et al., 2002).

Nas Américas são divididos em três gêneros, sendo o gênero *Lutzomyia* o de maior importância médica e estando dividido em vários subgêneros, estando as espécies mais importantes, envolvidas na transmissão de LC, nos subgêneros *Lutzomyia*, *Psychodopygus* e *Pintomyia* (MARCONDES, 2001).

No Brasil, as principais espécies envolvidas na transmissão da LC são: *Lutzomyia flaviscutellata*, *L. whitmani*, *L. umbratilis*, *L. intermedia*, *L. wellcome* e *L. migonei* (BRASIL, 2007).

2.1.2. Distribuição Geográfica

Do ponto de vista epidemiológico a LC inicialmente constituía-se apenas uma enfermidade de animais silvestres, incluindo marsupiais, desdentados, carnívoros e mesmo primatas (GONTIJO & CARVALHO, 2003).

É difícil avaliar o envolvimento de equinos pois apesar de serem altamente atraentes para flebotomos, é possível que roedores silvestres infectados sirvam como fonte de infecção na área peridomiciliar. Dessa forma, a grande questão é saber se os ciclos nos diferentes habitats são independentes e autosustentáveis (BRANDÃO-FILHO et al. 2003)

Poucos tem sido os estudos sobre LC em equídeos no mundo. Na América do Sul, casos clínicos de leishmaniose em equinos são tantos que os esses animais têm sido propostos como reservatórios de *Leishmania braziliensis* (TOLEZANO, 1994; FERNÁNDEZ-BELLON et al., 2006).

No Brasil, o primeiro registro de leishmaniose em equídeos foi realizado por Alencar (1959) no estado do Ceará quando encontrou um jumento infectado, seguido de relato na Bahia, também em jumento infectado com *L. braziliensis* (VEXENAT et al., 1986).

Após isso, vários outros registros, em momentos distintos, foram realizados em diversos outros estados de diferentes regiões do Brasil.

Assim, em Pernambuco, foi detectada uma positividade de 13,8% em equinos através da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) a partir de material de biópsia de pele (BRANDÃO-FILHO et al., 2003). A detecção se deu por meio de inoculação de material a partir de biópsia de uma pequena lesão, além de estudo histopatológico e esfregaço do material da lesão que demonstrou a presença de formas amastigotas. No Rio de Janeiro, foram detectados 30,8% de positividade em lesões com úlceras de onde foram realizadas biópsias para visibilização dos

parasitos por microscopia (AGUILAR, RANGEL & DEANE, 1986). Nesse estado, já se havia diagnosticado em um mular, que apresentavam o parasito em lesões ulceradas (AGUILAR E RANGEL, 1986); e por último um equino com lesões ulcerativas, sendo confirmada o diagnóstico de *L. braziliensis* (BARBOSA-SANTOS et al., 1994). No Espírito Santo FALQUETO et al. (1987) encontraram dois equinos infectados naturalmente e a identificação se deu por imprint de material de biópsia para corado com Giemsa. Em São Paulo, foi encontrado animal positivo com os parasitos detectados em material a partir de úlceras na pele (YOSHIDA et al., 1990).

Em Minas Gerais, Soares et al. (2013) detectaram infecção mista por *L. braziliensis* e *L. infantum*. Esse diagnóstico foi baseado na detecção de DNA do parasito nas lesões na PCR e presença de anticorpos através de Imunofluorescência Indireta e ELISA. No Paraná foi detectada a presença de anticorpos em 76,3% dos animais testados, através do teste de aglutinação direta (DAT). Esses animais foram testados ainda por PCR que confirmou a presença de DNA do protozoário em 7,1% dos equinos (VEDOVELLO FILHO et al., 2008). No mesmo estado, anticorpos anti-*Leishmania braziliensis* foram detectados em 11% dos equídeos analisados no ELISA. A infecção foi confirmada na PCR que revelou positividade de 16,3% (TRUPPEL et al., 2014).

2.1.3. Patogenia e sinais clínicos

A Leishmaniose Cutânea se caracteriza por úlceras de fundo granuloso e bordas salientes de difícil cicatrização (BRASIL, 2010). Já a forma cutâneo-mucosa, menos frequente, apresenta-se com metástases graves e mutilantes na região nasobucofaríngea (MODABBER, 1993). Por fim, a forma cutâneo-difusa, de ocorrência mais rara, caracteriza-se por maciço comprometimento dérmico de natureza crônica (BRASIL, 2000).

Na fisiopatogenia das leishmanioses, os macrófagos são, ao mesmo tempo, células hospedeiras, apresentadoras de antígeno para o sistema imune e efetoras para a destruição do parasito (BRASIL, 2010).

No entanto, o nível baixo ou ausência de anticorpos anti-*Leishmania* sp encontrados leva a supor que a leishmaniose cutânea é a única forma clínica em equinos (KOEHLER et al., 2002; ROLÃO et al., 2005).

Dessa forma, esse protozoário é capaz de produzir uma variedade de lesões cutâneas em equinos, tais como em caninos e humanos (ROLÃO et al. 2005).

Equinos, muare e asininos podem desenvolver lesões cutâneas, particularmente na cabeça, orelhas, pescoço, membros (RAMOS-VARA et al., 1996) e escroto (BONFANTE-

GARRIDO et al., 1981; SPICKER et al. 2010). As lesões mais comuns são pápulas isoladas ou múltiplas ou nódulos, que são frequentemente ulcerados (BARBOSA-SANTOS et al., 1994). Nódulos faciais e na região inguinal com superfícies alopecicas e crostosas também foram relatados (SOLANO-GALLEGO et al., 2003).

Entretanto, algumas lesões regridem espontaneamente (SPICKER et al. 2010). Além disso, as respostas imunes desenvolvidas por eqüinos são geralmente eficazes o que impede o desenvolvimento da doença (FERNÁNDEZ-BELLON et al., 2006).

1.1.4. Imunidade

As infecções por *Leishmania* spp levam a uma ativação específica da resposta imunológica por parte do hospedeiro. A infecção parasitária acarreta uma expansão de diversos tipos celulares, caracterizada pelo aumento de células T CD4+, apresentando um perfil de citocinas Th1 ou Th2 (HOLZMULLER et al., 2006; REIS et al., 2006). Se a resposta for do tipo Th1, citocinas como IL-2, IFN- γ , TNF- α e IL-12 serão produzidas, ativando os macrófagos e, conseqüentemente, levando a destruição dos parasitos. Mas, se a resposta for do tipo Th2 serão produzidos IL-4 e IL-10, que inibem a ativação macrofágica e, conseqüentemente, as formas clínicas aparecerão. Esse protozoário é capaz de direcionar a diferenciação de células T para uma resposta do tipo Th2, caracterizada pela persistência da infecção (BOGDAN; ROLLINGHOFF, 1998; REIS et al., 2006).

Assim, há um consenso geral que as células T e a imunidade mediada por células contribuem para a patogênese das diferentes formas de leishmaniose cutânea (SOUZA et al., 2005). Embora altos títulos de anticorpos sejam observados em todas as manifestações clínicas, ainda não está completamente esclarecido o papel de anticorpos específicos na imunidade contra a leishmaniose cutânea (TRUJILLO et al., 1999).

Na forma cutânea localizada, há uma forte resposta de células T, com citocinas do tipo Th1, como IFN- γ e IL-12, e uma alta frequência de células B (LOUZIR et al., 1998; VIEIRA et al., 2002).

Por sua vez, a resposta imune mediada por células T na infecção por *L. (V.) braziliensis*, comparada a *L. major*, tem sido menos estudada devido alguns fatores a saber: dificuldade no crescimento *in vitro* deste parasito, ineficiente conversão em promastigotas metacíclicos, além da resistência de muitas espécies de animais, particularmente camundongos, frente a infecção, devido a inabilidade dessa espécie de *Leishmania* de inibir a resposta Th1 (LIMA et al., 1999).

Por outro lado, paralelamente à existência de uma resposta imunológica por parte do hospedeiro, a sobrevivência e a persistência parasitária dependem de estratégias de escape da resposta imune inata e adaptativa (REIS et al., 2006).

1.1.5. Diagnóstico

Nos animais, o diagnóstico clínico é difícil de ser confirmado e estabelecido, devido a uma grande variedade de sinais clínicos apresentados e à forma assintomática da doença (FEITOSA et al., 2000; GONTIJO & MELO, 2004). Por isso, o diagnóstico definitivo da leishmaniose cutânea é realizado através da detecção do seu agente causal em lesões de pele ou em meio de cultura (GONTIJO & CARVALHO, 2003).

Assim, são indicados os métodos parasitológicos por meio de citologia esfoliativa das lesões cutâneas de pele íntegra e lesionada (ALVES & FAUSTINO, 2005) sendo esta última, o padrão ouro devido a sua alta especificidade (REITHINGER et al., 2007).

Dessa forma, a microscopia direta é o procedimento de primeira escolha por ser mais e rápido, de menor custo e de fácil execução (GONTIJO & CARVALHO, 2003). Entretanto, apesar de 100% de especificidade, a sensibilidade desse método é baixa e altamente variável. Outro método parasitológico é o isolamento do parasito em meio de cultura (BRASIL, 2010) que além da confirmação do agente etiológico, permite posterior identificação e caracterização da espécie envolvida (REITHINGER et al., 2007).

Por sua vez, a inoculação em animais de laboratório, apesar da alta sensibilidade, é onerosa e demanda tempo no desenvolvimento do parasito (SZARGIKI, 2005). Em alguns casos, a técnica de imunohistoquímica pode ser aplicada para aumentar a sensibilidade e especificidade para a detecção do antígeno nos tecidos (FERRER, 1999).

Por outro lado, existem os testes imunológicos, dentre os quais existe a Intradermorreação de Montenegro (IDRM) que apresenta facilidade do processo e curto tempo para obtenção do resultado (48 horas), o que faz deste teste o principal método indireto realizado para diagnóstico da LC em áreas endêmicas (GONTIJO et al., 2002). Este procedimento fundamenta-se na resposta imune celular e consiste no exame de reação de hipersensibilidade tardia após a administração intradérmica de um antígeno padronizado, preparado com componentes extraídos de promastigotas de cultura. Esta hipersensibilidade celular tardia é caracterizada por infiltrado inflamatório com predominância de linfócitos e macrófagos (GONTIJO & CARVALHO, 2003).

Existem ainda, os exames sorológicos que por serem mais rápidos, menos invasivos e permitirem utilização em grande escala, são frequentemente utilizados nos estudos epidemiológicos que visam o controle da doença em áreas endêmicas (SZARGIKI, 2005) e em pesquisas para triagem e determinação de reservatórios (ZOVEIN et al., 1984).

Na LTA, de uma forma geral, os títulos de anticorpos são baixos, ressaltando-se que *L. braziliensis* induz uma maior reposta de anticorpos comparada com outras espécies responsáveis pela doença (ROMERO et al., 2005).

Assim, diversos exames sorológicos foram desenvolvidos para o diagnóstico da doença dentre os quais: Teste de Aglutinação Direta (DAT), Reação de Imunofluorescência indireta (RIFI) e Ensaio Imunoenzimático – ELISA (TRUPPEL et al., 2014).

No entanto, quando aplicado em estudos epidemiológicos na LTA, a especificidade do ELISA pode tornar-se baixa, devido à ocorrência de reações inespecíficas (UCHÔA et al., 2001).

Nesse sentido, Szargiki et al. (2009) e Barros-Freitas et al. (2009) recomendam, para *L. braziliensis*, a utilização do antígeno específico no teste de ELISA como ferramenta diagnóstica nos casos suspeitos de LTA em áreas endêmicas.

Contudo, apesar da alta sensibilidade e baixa especificidade (BRITO et al., 2000; GONTIJO e CARVALHO, 2003), a RIFI é a técnica sorológica mais utilizada (BRASIL, 2010).

Por fim, dentre as técnicas de biologia molecular, particularmente, a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) (GÁLLEGO, 2004; IKEDA-GARCIA e FEITOSA, 2006) está sendo bastante utilizada e apresenta bons resultados para o diagnóstico da LC (REITHINGER et al., 2007) com melhores sensibilidades e especificidades quando comparada com os métodos parasitológicos convencionais (REITHINGER e DUJARDIN, 2007) e sorológicos (BRASIL, 2010).

1.1.6. Tratamento, Prevenção e Controle

Não existe um programa para o tratamento de equídeos infectados, assim como não há um programa de prevenção e controle específico para as leishmanioses cutâneas nestes animais.

No Brasil, o controle da infecção em humanos é realizado pelo diagnóstico e tratamento precoce dos casos humanos (BRASIL, 2010), eliminação de reservatórios caninos infectados, e redução da população de flebotomíneos (DESJEUX, 2004).

Entretanto, a prevenção e o controle da doença são difíceis devido à complexidade das na epidemiologia das leishmanioses cutâneas e das poucas alternativas disponíveis para um efetivo controle dos vetores (REITHINGER et al., 2007).

Nesse sentido, o controle químico desses vetores é preconizado quando ocorre casos humanos da doença, num período máximo de seis meses, em áreas novas ou em surto, associado a evidências de que a transmissão esteja ocorrendo no ambiente domiciliar ou ainda, quando houver a ocorrência de casos humanos enfermos na faixa etária inferior a 10 anos (BRASIL, 2010).

2.2. Piroplasmose Equina

2.2.1. Etiologia e Transmissão

Babesia caballi e *Theileria equi* são protozoários intra-eritrocitários incriminados pela doença nos equídeos, cuja transmissão é realizada principalmente por carrapatos ixodídeos (ZAUGG, 2006).

Esses protozoários pertencem ao Filo Apicomplexa (BISHOP et al., 2004; MANS, PIENAAR & LATIF, 2015), o qual é composto por quatro ordens, entre elas a Piroplasmorida que possui dois gêneros, a saber: *Babesia* e *Theileria* (ADL et al., 2012), que apresentam ciclos biológicos e ação patogênica diferenciadas (WISE et al., 2013).

Na infecção por *B. caballi*, os merozoítos encontram-se intra-eritrocitários com morfologia piriforme, possuindo de 2-5 µm de comprimento e 1,3-3,0 µm de diâmetro (LEVINE, 1985; OIE, 2014). Os merozotos emparelhados e unidos nas suas extremidades posteriores são característicos no diagnóstico de infecção por *B. caballi*.

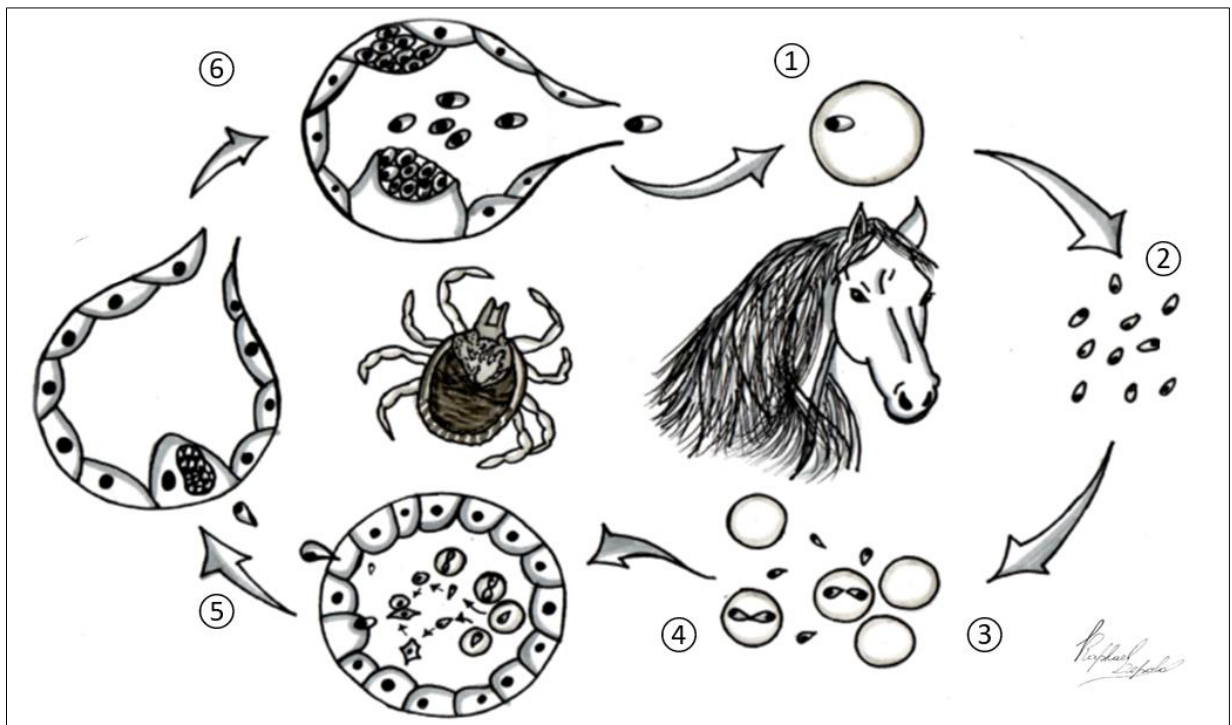
Com relação à infecção por *T. equi*, o protozoário era conhecido como *Babesia equi*, contudo em função de apresentar estádios exo-eritrocitários (em linfócitos) no hospedeiro vertebrado, com o desenvolvimento de microesquizontes e macroesquizontes, o que o aproxima de membros do gênero *Theileria* (ZAUGG, 2002), foi reclassificado como *T. equi* (MELHORN & SCHEIN, 1998).

Do ponto de vista estrutural, os merozoítos possuem morfologia piriforme, redondos ou ovóides, com tamanho de 2-3µm de comprimento (LEVINE, 1985) apresentando uma característica morfológica típica de quatro merozoítos em forma de pêra, formando uma tétrade conhecido como o arranjo "cruz de Malta" (HOLBROOK et al., 1968; OIE, 2014).

Ambos podem infectar um mesmo animal simultaneamente (MASLIN et al., 2004; POSADA-GUZMÁN et al., 2015) e os animais infectados podem permanecer portadores destes parasitos por longos períodos, atuando como fontes de infecção para seus vetores.

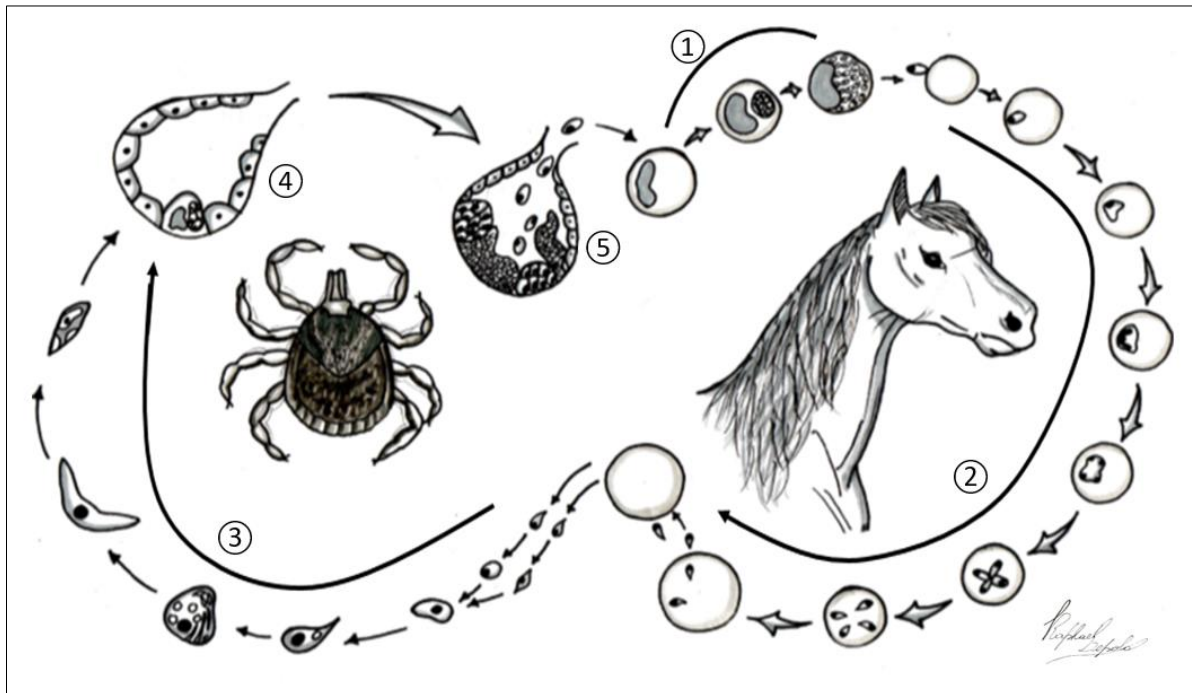
O ciclo biológico de ambos os protozoários envolve estágios nos hospedeiros vertebrados e carrapatos, evoluindo em três fases distintas a saber, esporozoítos, merozoítos e gametócitos (WISE et al., 2014). A duração do ciclo nos carrapatos varia na dependência da espécie envolvida e após a inoculação no hospedeiro vertebrado. *B. caballi* penetra diretamente nos eritrócitos (Figura 2), enquanto que *T. equi* infecta inicialmente células mononucleares (Figura 3) e posteriormente eritrócitos (WISE et al., 2013).

Figura 2: Ciclo biológico de *Babesia caballi*.



1-Hemácia infectada com *Babesia caballi*; 2-Merozoítos; 3-Infecção de novas hemácias; 4-Desenvolvimento da fase de gamogonia; 5-Instalação dos cinetos na glândula salivar do artrópode; 6-Formação e liberação da forma esporozoíta.

Figura 3: Ciclo biológico de *Theileria equi*.



1-Evolução de microesquizonte para o estágio de macroesquizonte para então ocorrer a liberação dos merozoítos; 2-Desenvolvimento dos merozoítos na célula sanguínea; 3-Desenvolvimento do estágio de gamogonia, fase que gera o zigoto ao final do processo; 4-Início da fase de esporogonia, instalação do cineto na glândula salivar do carrapato; 5-Desenvolvimento e liberação dos esporozoítos.

Desta forma, a transmissão por carrapatos é realizada de forma transestadial (KIZILARSLAN et al., 2015) e transovariana, para *B. caballi* (Figura 2) e, além destas formas aquela intraestadial (WISE et al., 2013) para *T. equi* (Figura 3). Ademais, suspeita-se que a transmissão seja possível através de picadas de insetos hematófagos (NANTES e ZAPPA, 2008).

A transmissão de *B. caballi* é realizada por pelo menos 15 espécies de carrapatos ixodídeos, dos gêneros *Anocentor*, *Hyalomma* e *Rhipicephalus* (WISE et al. 2013) enquanto *T. equi* por 14 espécies incluindo os gêneros já mencionados além de *Amblyomma* (SUMBRIA et al., 2014) e *Haemaphysalis* (IKADAI et al., 2007).

No Brasil, pelo menos três carrapatos são comumente encontrados em equídeos (KERBER et al., 2009). *Anocentor nitens*, espécie monóxena, de maior difusão no país e tem o equino como seu principal hospedeiro, localizando-se preferencialmente no pavilhão auricular, *Amblyomma cajennense*, espécie heteróxena (GUIMARÃES; TUCCI & BARROS-BATTESTI, 2001) bastante difundida em todos os estados das regiões Sudeste e Centro-Oeste (LABRUNA et al., 2001; VIEIRA et al., 2004), e *Rhipicephalus Boophilus microplus*, também espécie monóxena, sendo a infestação frequente em equinos que compartilham o pasto com bovinos (RIBEIRO et al., 1999; LABRUNA et al., 2001).

No Brasil, *R. B. microplus* é considerado o principal responsável pela transmissão da *T. equi* (HEUCHERT et al., 1999), podendo ainda, transmitir *B. caballi* (BATTSETSEG et al., 2002).

Não obstante, a transmissão iatrogênica desses parasitos através de transfusão de sangue contaminado, injeções e instrumentos cirúrgicos tem sido apontada (UILENBERG, 2006) para ambas espécies de piroplasmídeos.

Por sua vez, *T. equi* pode ser também transmitida por via transplacentária e a infecção pode ocorrer no primeiro trimestre da gravidez, enquanto que na *B. caballi* esta forma de transmissão não tem sido observada (ALLSOP et al., 2007).

2.2.2. Distribuição Geográfica

A distribuição geográfica está relacionada à presença do carrapato, sendo a maior ocorrência da doença predominante em regiões tropicais e subtropicais (GARCÍA-BOCANEGRA et al. 2013). Assim, Wise et al. (2013) afirmam que *B. caballi* e *T. equi* são endêmicos na América Central, América do Sul, África, Ásia, Oriente médio e sul da Europa (Quadro 1).

Soroprevalência entre 20% e 90% é relatada na América Latina, onde a prevalência de *T. equi* é maior que a de *B. caballi* (TEGLAS et al., 2005; CASTELLANOS et al., 2010; ROSALES et al., 2013; WISE et al., 2013), exceto no sul da Argentina e do Chile que são livres da enfermidade (KERBER et al., 1999).

No Brasil, Kerber et al. (1999) apontam alta soroprevalência da infecção em regiões de clima marcadamente tropical ou subtropical (Quadro 2).

Quadro 1: Ocorrência de *Babesia caballi* e *Theileira equi* em equídeos de diferentes continentes

Continente	País	Ocorrência	Método	Autor
África	África do Sul	<i>B. caballi</i> - 71,4% <i>T. equi</i> - 100%	RIFI	Motloang et al. (2008)
	Egito	<i>T. equi</i> - 41,6%	Parasitológico direto	Salib et al. (2013)
	Iran	<i>T. equi</i> - 50,94%	PCR	Abedi et al. (2015)
Europa	Hungria	<i>B. caballi</i> - 6,19%	cElisa	Homok et al. (2007)
	Turquia	<i>T. equi</i> - 25%	RIFI	Oncel et al. (2007)
		<i>B. caballi</i> - 34,6% <i>T. equi</i> - 21,59%	RIFI	Acici et al. (2008)
		<i>B. caballi</i> - 9,6% <i>T. equi</i> - 12,8%	RIFI	Karatepe et al. (2009)
	Suíça	<i>B. caballi</i> e <i>T. equi</i> - 7,3%	RIFI	Sigg et al. (2010)
	Itália	<i>B. caballi</i> - 0,3% <i>T. equi</i> - 8,2%	RIFI	Grandi et al. (2011)
	Espanha	<i>B. caballi</i> e <i>T. equi</i> 7,5%	RIFI	Vega & Domingo et al. (2012)
Ásia	Coréia	<i>B. caballi</i> - 0% <i>T. equi</i> - 1,1%	ELISA	Seo et al. (2011)
	Jordânia	<i>T. equi</i> - 14,1%	cELISA	Abutarbush et al. (2012)
	Mongólia	<i>B. caballi</i> - 51,6% <i>T. equi</i> - 19,6%	Elisa	Munkhjargal et al. (2013)
	Índia	<i>B. caballi</i> - 75% <i>T. equi</i> - 1,11%	ELISA	Sumbria et al. (2016)
América	Venezuela	<i>B. caballi</i> - 11,1% <i>T. equi</i> - 15,2%	RIFI	De Vera et al. (2006)
	México	<i>B. caballi</i> - 27,4% <i>T. equi</i> - 45,2%	RIFI	Cantú-Martinez et al. (2012)
	Colômbia	<i>B. caballi</i> e <i>T. equi</i> - 18,25%	Parasitológico direto	Calderón et al. (2013)

Quadro 2: Ocorrência de *Babesia caballi* e *Theileria equi* em diferentes regiões do Brasil

Região	Estado	Método	Ocorrência	Autor
Norte	Pará	RIFI	<i>B. caballi</i> – 45% <i>T. equi</i> – 62%	Pfeifer-Barbosa et al. (2000)
Centro-Oeste	Goiás	RIFI	<i>B. caballi</i> – 90,8%	Linhares et al. (1997)
	Mato Grosso	PCR	14%	Barros et al. (2015)
Sudeste	Minas Gerais	RIFI	<i>T. equi</i> – 60,45%	Ribeiro et al. (1999)
		RIFI	<i>B. caballi</i> – 83% <i>T. equi</i> – 83%	Heim et al. (2007)
	São Paulo	RIFI	<i>T. equi</i> – 49%	Heuchert et al. (1999)
		ELISA	<i>T. equi</i> – 75%	Baldani et al. (2004)
		ELISA, FC e RIFI	<i>T. equi</i>	Baldani et al. (2007)
		ELISA	<i>B. caballi</i> - 54.1% <i>T. equi</i> - 21.6%	Kerber et al. (2009)
		nPCR	<i>T. equi</i> – 63,53%	Baldani et al. (2010)
		RIFI	<i>T. equi</i> – 100%	
	Parasitológico Direto	<i>T. equi</i> – 3,52%		
	Rio de Janeiro	RIFI	<i>B. caballi</i> – 75%	Pfeifer-Barbosa et al. (1992)
		RIFI FC	<i>T. equi</i> – 100% <i>B. caballi</i> – 61,7%	Pfeifer-Barbosa et al. (1995)
		RIFI	<i>T. equi</i> – 73,55%	Botteon et al. (2002)
		FC	<i>T. equi</i> – 18,1% <i>B. caballi</i> - 1,5% Mista – 6%	Da Costa Pereira et al. (2004)
		FC	<i>T. equi</i> – 21% <i>B. caballi</i> – 6,4%	Da Costa Pereira et al. (2005)
		nPCR	<i>T. equi</i> – 100%	Jacob et al. (2010)
RIFI		<i>T. equi</i> – 81,09%	Santos et al. (2011)	
Sul	Santa Catarina	RIFI	<i>T. equi</i> - 50,38%	Souza et al. (2000)
	Rio Grande do Sul	RIFI	<i>T. equi</i> – 57,9%	Cunha et al. (1996)
		ELISA	<i>T. equi</i> – 31,6%	Golynski et al. (2008)
		RIFI	<i>T. equi</i> – 35,8%	
	RIFI	<i>T. equi</i> - 90,9%	Torres et al. (2012)	
	Paraná	ELISA	<i>T. equi</i> - 61%	Prochno et al. (2014)
ELISA		<i>B. caballi</i> – 78,3% <i>T. equi</i> – 69,2% Mista – 50,0%	Vieira et al. (2014)	

2.2.3. Patogenia e sinais clínicos

Clinicamente, a doença caracteriza-se por febre, anemia, depressão, ataxia, anorexia, fraqueza, epífora, secreção nasal mucóide, edema, icterícia, hemoglobinúria e anemia (RONCATI et al., 2011), podendo ocorrer a morte dos animais 48 horas após o início dos sinais clínicos ou evolução para fase crônica que pode persistir por meses (RONCATI et al., 2011).

A doença clínica associada à infecção por *T. equi* é muito mais grave, assim como a taxa de mortalidade é mais elevada, do que aquela causada por *B. caballi* (SAKHA, 2007).

Fatores estressantes como treinamento intenso, transporte, condições climáticas adversas ou qualquer outra doença concomitante pode induzir a manifestação clínica em equinos que já foram expostos aos agentes da babesiose (REED & BAYLY, 2000).

Embora alguns detalhes da patogênese permaneçam desconhecida, a infecção por *T. equi* ou *B. caballi* causa lise de eritrócitos resultando em hemólise intravascular (WISE et al., 2013), liberação de hemoglobina e acúmulo de bilirrubina nos tecidos, e hemoglobinúria (RONCATI, 2006).

Por outro lado, eritrócitos infectados (WISE et al., 2013) e não infectados (WISE et al., 2014) são removidos da circulação pelos macrófagos contribuindo ainda mais para ocorrência da anemia.

Vários fatores isoladamente ou em conjunto podem ser responsabilizados por esta remoção. Assim, em infecções experimentais de asininos esplenectomizados por *T. equi*, Ambawat et al. (1999) observaram a modificação da bioquímica da membrana do eritrócito, o que induz a remoção destas células da circulação.

Por outro lado, níveis de malondialdeído (marcador de peroxidação lipídica) estão significativamente aumentados na infecção por *T. equi*, sugerindo que a acumulação de íons oxidativos também contribua para lise eritrocitária (AMBAWAT et al., 1999).

Por sua vez, estudos apontam que alterações na membrana eritrocitária como aumento da densidade, diminuição dos resíduos de ácido siálico, alteração nas concentrações de lipídeos e redução de algumas enzimas levam a acúmulo de imunoglobulinas na superfície eritrocitária e também são importantes no reconhecimento e remoção através do sistema fagocitário mononuclear (WEISS & MCCLAY, 1998).

Independente do quadro de anemia, os eritrócitos infectados causam microtrombos por aglutinação de pequenos vasos causando estase venosa e vasculite (ALLEN, FRERICHS & HOLBROOK, 1975a; DE WAAL, VAN HEERDEN & POTGIETER, 1987), determinando

diferentes graus de trombocitopenia e tempos de coagulação tanto em *T. equi* como em *B. caballi* (ALLEN, FRERICHS & HOLBROOK, 1975 b).

Hipóteses relativas à patogênese de diminuição de contagem de plaquetas incluem destruição imunomediada, sequestro pelo baço e/ou consumo excessivo (WISE et al., 2013).

A transmissão placentária de éguas infectadas para seus fetos tem sido registrada (PHIPPS & OTTER, 2004; ALLSOPP, LEWIS & PENZHORN, 2007; GEORGES, EZEOKOLI & SPARAGANO, 2011; CHHABRA et al., 2012) podendo resultar em aborto, sobretudo no final da gestação, morte fetal ou infecção neonatal.

2.2.4. Imunidade

Ambas, imunidade humoral e celular, estão envolvidas na infecção por *T. equi* e *B. caballi* (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2008). Imediatamente após a inoculação dos esporozoítos pelos carrapatos, os anticorpos da classe IgG provenientes de infecções prévias podem se ligar e neutralizar esta forma do protozoário, impedindo a sua entrada nas hemácias (HOMER et al., 2000).

Os mecanismos de proteção na babesiose equina incluem neutralização de parasitos extracelulares, bloqueando sua entrada nas células hospedeiras, ou opsonização dos protozoários livres e de eritrócitos infectados com consecutiva lise através do sistema complemento (CUNHA et al., 2006).

Sendo assim, os anticorpos séricos produzidos após a exposição de *T. equi* e *B. caballi* podem opsonizar, aglutinar ou imobilizar os protozoários (CUNHA et al., 2006). Os anticorpos juntamente com o sistema complemento e as células citotóxicas podem destruir e/ou controlar a população parasitária destes protozoários (ABBAS, LICHTMAN & PILLAI, 2008).

A dinâmica de anticorpos detectáveis por métodos sorológicos na infecção por *T. equi* começa ao redor dos 15-20 dias e os isotipos envolvidos são da classe IgG(a), IgG(b) no início da fase aguda da doença e IgG(T) ao final desta fase (CUNHA et al., 2006).

Contudo, o principal mecanismo de defesa contra *T. equi* e *B. caballi* dentro dos macrófagos é a imunidade mediada por células, particularmente a ativação do macrófago por citocinas derivadas das células T CD4+ Th1, principalmente o IFN- γ que estimula a atividade microbicida dos fagócitos, promovendo a destruição intracelular de organismos fagocitados (ABBAS, LICHTMAN & PILLAI, 2008).

Por outro lado, proteínas de superfície do estágio intraeritrocitário têm importante participação na patogênese da doença devido ao seu papel no reconhecimento, ligação e penetração dos parasitos no eritrócito do hospedeiro (KUMAR et al., 2003).

Neste contexto, na infecção por *T. equi*, proteínas de 30 e 34 kDa são expostas na superfície das hemácias e são reconhecidos pelo sistema imune equino. Assim, animais que possuem um sistema imune competente e que não tenham sido esplenectomizados, frequentemente, são capazes de controlar a infecção causada pela doença (KNOWLES et al., 1994).

2.2.5. Diagnóstico

O diagnóstico da infecção por *B. caballi* e *T. equi* pode ser realizado através de métodos parasitológicos, sorológicos e moleculares (SANTOS et al., 2009; OIE, 2014).

A detecção laboratorial das espécies de *B. caballi* e *T. equi* é realizada através da pesquisa dos protozoários em estiraços sanguíneos corados com corantes hematológicos convencionais (MARCONDES, 2009). No entanto, este método apresenta baixa sensibilidade, principalmente em animais com baixa parasitemia (AMBROSIO & DE WAHL, 1990; GUIDI et al., 2015).

Face à baixa sensibilidade e especificidade dos testes parasitológicos, foram desenvolvidos os testes sorológicos para o diagnóstico da piroplasmose equina (KNOWLES et al., 1991; BRUNING et al., 1997; KAPMEYER et al., 1999; IKADAI et al., 2000). Esses são amplamente aceitos como ferramentas de vigilância em estudos epidemiológicos devido à sua facilidade de utilização (BRUNING et al., 1997).

O primeiro teste sorológico aplicado para detecção de anticorpos IgG anti-*B. caballi* e *T. equi* foi a Reação de Fixação do Complemento (FC) que, desde 1969, foi considerado o teste oficial para o diagnóstico da piroplasmose equina (FRIEDHOFF, 1982; SANTOS et al., 2009).

Entretanto, atualmente, a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) e o ensaio de imunoadsorção enzimática (ELISA) são os principais testes usados para triagem de animais que são transportados para vários países. Estes testes têm provado ser mais efetivos detectando animais com infecção crônica e tratados com drogas anti-parasitárias, os quais poderiam ser negativos na FC mesmo sendo ainda infectados (OIE, 2014).

Apesar disso, é necessário atentar para a possibilidade de problemas associados com o teste de RIFI que incluem reações cruzadas, julgamento subjetivo do técnico e o custo elevado do antígeno (BAKHEIT et al., 2007).

Por outro lado, os avanços nas técnicas de biologia molecular têm resultado na melhor detecção, identificação e caracterização genética de muitos hemoparasitos (CACCIO et al., 2000; NAGORE et al., 2004a).

Assim, a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) tem sido aplicada na detecção de infecção por *B. caballi* e *T. equi* apresentando maior sensibilidade e especificidade em comparação com os ensaios sorológicos (GEYSEN et al., 2003; BULING et al., 2007; JEFFERIES et al., 2007; SIBEKO et al., 2008) identificando animais infectados com baixas parasitemias ou em casos crônicos (POSADA-GUZMÁN et al., 2015).

2.2.6. Tratamento, Prevenção e Controle

O dipropionato de imidocarb é o principal fármaco utilizado para o tratamento da piroplasmose equina (MORRIS, 2000). Nas infecções por *B. caballi*, a dose recomendada é de 2,2mg/Kg, por via intramuscular, sendo repetida após 24 horas, enquanto que nas infecções por *T. equi*, a dose recomendada é de quatro aplicações de 4mg/Kg, sendo repetida a cada 72 horas (VIAL & GORENFLOT et al., 2006).

Essa droga é eficaz na redução da parasitemia e, quando administrada na dose e no tempo adequado, pode também erradicar a infecção por *B. caballi* (MORRIS, 2000) diferentemente de *T. equi* que a infecção não pode ser totalmente eliminada com o uso de fármacos (SALIM et al., 2008).

Algumas medidas de manejo animal bem como das pastagens podem reduzir significativamente a população de carrapatos, diminuindo ou cessando a transmissão desses protozoários (LABRUNA et al., 2001).

A separação da criação de equinos e bovinos evita a infestação por *R. B. microplus* nos equídeos, assim como a infestação por *A. cajennense* pode ser controlada sem o uso de drogas antiparasitárias, mantendo os pastos uniformes e limpos (LABRUNA et al., 2001).

Por outro lado, o uso de acaricidas em intervalos corretos controla a infestação de todos os carrapatos transmissores de *T. equi* e *B. caballi*. Já a erradicação química é raramente recomendada em áreas endêmicas, mas pode ser indicada para animais que estão prestes a ser transportados de um país endêmico para outro, livre da doença (KUTSCHA, 2008).

2.3. TOXOPLASMOSE EM EQUÍDEOS

2.3.1. Etiologia e Transmissão

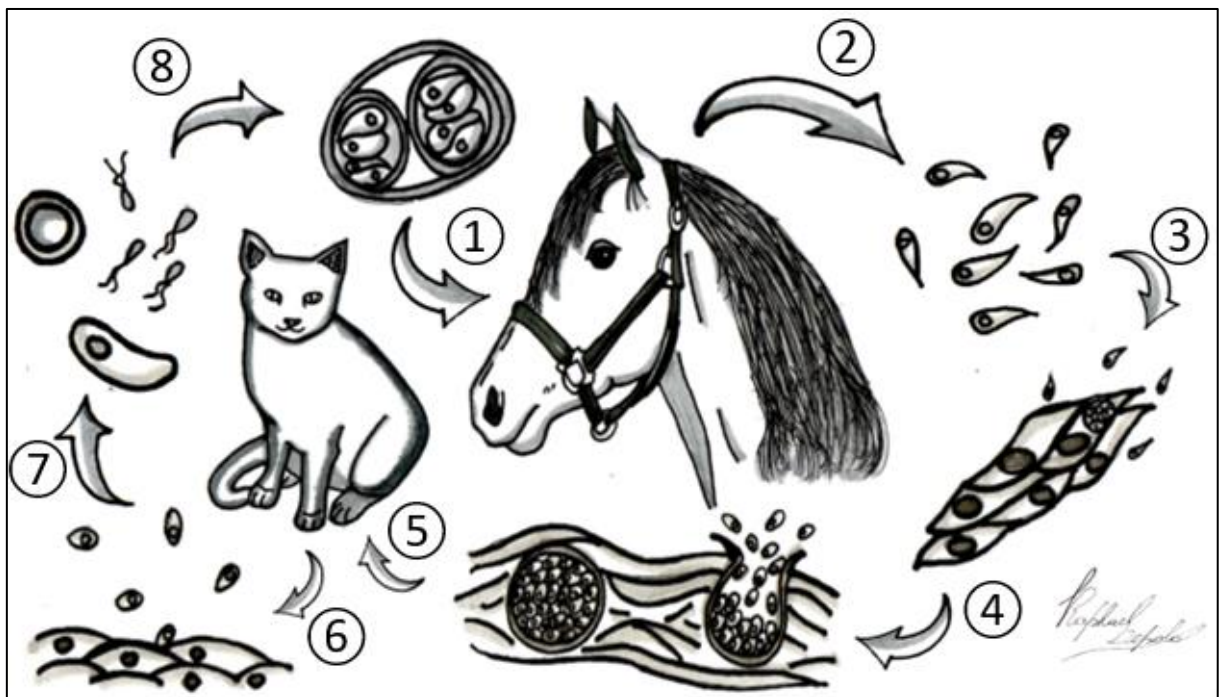
Toxoplasma gondii (NICOLLE & MANCEAUX, 1908), parasito pertencente ao Reino Protista, filo Apicomplexa, classe Sporozoa, ordem Eucoccidiida, subordem Eimeriina, família Sarcocystidae e subfamília Toxoplasmatinae (LEVINE et al., 1980). Esse parasito é um

coccídeo intracelular obrigatório, que infecta naturalmente o homem, os animais selvagens e domésticos, e também os pássaros.

No seu ciclo biológico, após a ingestão dos bradizoítos encistados do *T. gondii* pelos felídeos (hospedeiros definitivos), os oocistos aparecem nas fezes após 4 a 5 dias e continuam a ser excretados, freqüentemente, em grandes quantidades, por três a 20 dias. Esses oocistos esporulam em dois a quatro dias, em condições favoráveis, e tornam-se infectivos para todos os vertebrados (MAROBIN et al., 2004) na primo-infecção.

Os felídeos, notadamente os gatos, desempenham papel fundamental na transmissão do *T. gondii* para o homem e outros animais (LANGONI et al., 2001), sendo os únicos hospedeiros definitivos do parasito e transmissores de forma sexuada (SILVA et al., 2006). Por eliminarem oocistos dos parasitos pelas fezes são a única fonte de infecção dos animais herbívoros. Os oocistos são resistentes às condições ambientais e resultam da fase sexuada do ciclo, que é limitada ao epitélio intestinal desses animais (DAGUER et al., 2004).

Figura 4: Ciclo biológico de *Toxoplasma gondii*.



1-Ingestão de oocistos esporulados presentes em água e alimentos contaminados; 2-Liberação dos esporozoítos na circulação; 3-Invasão dos esporozoítos nas células; 4-Formação de cistos contendo bradizoítos; 5-Ingestão de carne contendo cistos de bradizoítos por felinos domésticos; 6-Invasão das formas bradizoítas nos enterócitos do felino; 7-Diferenciação de bradizoítos em taquizoítos e gametócitos; 8- Formação e maturação do zigoto em oocistos que serão eliminados nas fezes para então se transformarem em oocistos esporulados.

Os equídeos se infectam através da ingestão ou inalação de oocistos esporulados presentes no alimento, na água e na cama que foram contaminados com fezes de felídeos infectados (LANGONI et al., 2007).

Vale salientar que a ingestão de tecidos não cozidos de equídeos clinicamente saudáveis, contendo cistos de *T. gondii*, pode causar infecção no homem (MENDONÇA et al., 2001; OLIVEIRA et al., 2013). Embora o consumo de carne dessas espécies no Brasil não seja expressivo, o País exporta esse produto, daí a grande importância econômica e sanitária da toxoplasmose nessa espécie (POMARES et al., 2011).

Pode, ainda, ocorrer transmissão através da ingestão de leite de asininos tanto para os potros (MANCIANTI et al., 2014) como para humanos quando utilizado na alimentação destes devido às suas propriedades (TAFARO et al., 2007; POLIDORI & VINCENZETTI, 2013).

2.3.2. Distribuição Geográfica

A infecção por *T. gondii* em equídeos apresenta distribuição cosmopolita e vários estudos foram realizados com diferentes prevalências em diversos países (OLIVEIRA-FILHO et al., 2012) (Quadros 3 e 4).

Quadro 3: Ocorrência de *Toxoplasma gondii* em equídeos de diferentes continentes

Continentes	País	Prevalência	Método	Autor	
Ásia	Coréia do Sul	2,6%	RIFI	Gupta et al. (2002)	
	Arábia Saudita	31,6%	SABIN-FELDMAN	Alanazi et al. (2011)	
	Iraque	72,2%	LAT	Alshaery & Mansour (2012)	
	China	25,0%	MAT	Yang et al. (2013)	
		27,1%	HAI	Miao et al. (2013)	
	Japão	0,0%	LAT	Matsuo et al. (2014)	
	Irã	48,5%	MAT	Tavalla et al. (2015)	
	Turquia	20,6%	SABIN-FELDMAN	Akca et al. (2004)	
		28%	SABIN-FELDMAN	Güçlü et al. (2007)	
		7,2%	SABIN-FELDMAN	Karatepe et al. (2010)	
		62%	SABIN-FELDMAN	Balkaya et al. (2011)	
	África	Egito	40,5%	RIFI	Ghazy et al. (2007)
			53,8%	PCR	Shaapan et al. (2012)
52,1%			LAT		
50,8%			ELISA		
39,2%			MAT		
Nigéria		37,1%	HAI	Aganga et al. (1983)	
Sudão		30,4%	LAT	Ibraim et al. (2014)	
Tunísia		17,7%	MAT	Boughattas et al. (2011)	
Europa	Portugal	13,3%	MAT	Lopes et al. (2013)	
	República Tcheca	8%	SABIN-FELDMAN	Hejlíček & Literák (1994)	
		23%	LAT	Bártová et al. (2010)	
	Holanda	7%	ELISA	Van Knapen et al. (1982)	
	Grécia	1,8%	ELISA	Kouam et al. (2010)	
	Suécia	0,5	ELISA	Ugla et al. (1990)	
		1%	DAT	Jakubek et al. (2006)	
	Itália	30,7%	MAT	Rinaldi et al. (2008)	
	Espanha	17,8%	MAT	García-Bocanegra et al. (2012)	
América	EUA	6,9%	MAT	Dubey et al. (1999)	
		0,4%	MAT	Dubey et al. (2003)	
	México	6,1%	MAT	Alvarado-Esquivel et al. (2012)	
	Costa Rica	34%	ELISA	Dangoudoubiyam et al. (2011)	
	Argentina	13,1%	MAT	Dubey et al., 1999b	

Quadro 4: Ocorrência de *Toxoplasma gondii* em equídeos de diferentes regiões do Brasil

Região	Estado	Prevalência	Método	Autor
Nordeste	AL	14,4%	RIFI	Valença et al. (2015)
	PB	7,8%	RIFI	Oliveira-Filho et al. (2012)
		9,8%	RIFI	Oliveira et al. (2013)
	RN	26,3%	RIFI	
	SE	0%	RIFI	
	PE	29%	RIFI	
	BA	1,5%	RIFI	Mendonça et al. (2001)
Centro-Oeste	MT	13,7%	RIFI	Vidotto et al. (1997)
	MS	21,4%	RIFI	
		32,8%	RIFI	Laranjeira, Ishizuka & Hyakutaki (1985)
Sudeste	MG	12,8%	RIFI	Naves et al. (2005)
	RJ	4,4%	RIFI	Gazêta et al. (1997)
	SP	24,8%	RIFI	Costa et al. (1986)
		41,5%	RIFI	Vidotto et al. (1997)
		47,1%	RIFI	Villalobos et al. (2005)
		5,9%	RIFI	Coiro, Langoni & Silva, 2012
Sul	PR	46,82%	RIFI	Carleti et al. (2002)
		58,96%		
		23,4%	RIFI	Vidotto et al. (1997)
		12,2%	RIFI	Garcia et al. (1999)
		28,5%	RIFI	Navarro et al. (2002)
		2,7%	RIFI	Locatelli-Ditrich et al. (2006)
	RS	8%	HAI	Silva et al. (1981)
		2%	HAI	Braccini et al. (1992)
		59%		Barcelos et al. (1997)

2.3.3. Patogenia e sinais clínicos

Os taquizoítos disseminam-se pelo sistema vascular e atingem vários órgãos, como o Sistema Nervoso Central (SNC), músculo esquelético, vísceras e olhos (DUBEY et al., 1998; SILVA et al., 2006).

Nestes tecidos, os taquizoítos se multiplicam intracelularmente e, caso a multiplicação seja intensa, causam lise celular e desencadeiam reação inflamatória local (SILVA et al., 2006).

O desenvolvimento da resposta imune protetora leva ao encistamento do parasito, formando os cistos teciduais que contêm os bradizoítos, forma de multiplicação lenta, os quais podem permanecer latentes sem causar doença por vários anos. Dessa forma, encontram-se protegidos da ação do sistema imune e de drogas (DUBEY et al., 1998).

As infecções em equídeos por *T. gondii* normalmente são subclínicas e o diagnóstico baseia-se em técnicas sorológicas, que permitem detectar a presença de anticorpos específicos contra o parasito (AKCA et al., 2004).

Os equídeos estão entre as espécies domésticas mais resistentes à infecção pelo parasito, apesar de não ser muito frequente. Podem apresentar alguns sinais clínicos, caracterizados por aborto, nascimento de potros fracos, incoordenação, hiperexcitabilidade, perda de apetite, prostração, diarreia, pneumonia, alterações locomotoras, corrimento nasal e alterações oftalmológicas, como cegueira (DUBEY et al., 2009; LANGONI et al., 2007; NAVES et al., 2005; TASSI, 2007).

Por outro lado, as formas bradizoíticas do parasito foram isoladas de tecido muscular de animais saudáveis, indicando que o consumo de carne dessas espécies, inadequadamente preparada, poderia constituir uma via de transmissão para a infecção humana, e também para animais de zoológicos, em especial para os felídeos. Esses, quando primo-infectados, podem eliminar oocistos no ambiente pelas fezes (DUBEY, 1985).

2.3.4. Imunidade

A imunidade contra o *T. gondii* é complexa e envolve dois tipos de resposta: humoral e celular (DO CARMO et al., 2015). A resposta humoral é caracterizada pela produção de imunoglobulinas específicas por linfócitos B, principalmente IgG e IgM (KAISHO & AKIRA, 2001).

Por outro lado, a resposta imune celular é mediada por linfócitos T, que secretam citocinas, mediadores inflamatórios bem conhecidos, capazes de destruir os taquizoítos extracelulares (KAISHO & AKIRA, 2001).

A primeira resposta do hospedeiro contra a infecção é a secreção de citocinas, tais como TNF- α , IFN- γ , IL - 1, IL - 4 e IL - 6 (TITUS, SHERRY E CERAMI, 1991), as quais, apresentaram-se elevadas em equinos com a infecção por *T. gondii* (DO CARMO et al., 2015).

Em pacientes com sorologia positiva para toxoplasmose, os níveis elevados de proteína C-reativa são associados com a infecção aguda ou recorrente (HINZE-SELCH et al., 2010). Em geral, o aumento de citocinas e proteína C reativa estão relacionadas com um mecanismo de proteção do hospedeiro para manter a infecção sob controle (DO CARMO et al., 2015).

2.3.5. Diagnóstico

O diagnóstico da toxoplasmose pode ser realizado por da pesquisa direta de cistos e taquizoítas em tecidos, através de cortes histológicos, seja pela coloração por Hematoxilina e Eosina (HE) ou Imunohistoquímica (IHQ), ou ainda através do Bioensaio, com a inoculação de digeridos de tecido do animal suspeito em camundongos (ROSA et al., 2001).

Além disso, várias técnicas sorológicas são utilizadas visando a detecção de anticorpos IgG anti-*T. gondii* dentre os quais a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) é considerada como padrão ouro (TASSI, 2007). Além disso, outros testes sorológicos como aglutinação modificada (MAT), teste de aglutinação de anticorpos indireta (IHA), aglutinação direta (DAT), ELISA, aglutinação com látex (LAT), bem como o uso do corante Sabin-Feldman (SFDT) também podem ser utilizados, com eficiência semelhante ou inferior à RIFI (ALANAZI et al., 2011; DANGOUDOUBIYAM et al., 2011; JAKUBEK et al., 2006; LANGONI et al., 2007; MATSUO et al., 2014; MIAO et al., 2013).

Por outro lado, os métodos moleculares como a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) são utilizados em diversos estudos (DEHKORDI et al., 2013; MANCIANTI et al., 2014) pelo fato de possuírem alta sensibilidade e especificidade e, em muitos casos, sendo preferível aos testes sorológicos (MONTROYA et al., 2004; CANTOS et al., 2000) ou mesmo, podendo ser usados como teste confirmatório (SHAAPAN et al., 2012). Além disso, pode ser uma ferramenta de auxílio no entendimento da epidemiologia, genética populacional e filogenia do *T. gondii* (SU et al., 2009).

2.3.6. Tratamento, Prevenção e Controle

O tratamento mais utilizado é a associação de sulfadiazina com a pirimetamina, mas estão disponíveis outras sulfonamidas (sulfamerazina, sulfametazina e sulfapirazina), além de clindamicina, dapsona e atovaquona (FIALHO et al., 2009).

A infecção por *T. gondii* deve ser controlada a partir da restrição do acesso de felinos aos alimentos, água e à cama dos animais domésticos, entre os quais, os equídeos, além do acesso daqueles a carcaças desses animais (DUBEY et al. 2009). Além disso, deve-se evitar o fornecimento de carne e vísceras de animais de produção sem prévio tratamento térmico para os felídeos.

Medidas de biosseguridade e higiene ambiental também são essenciais para a prevenção da toxoplasmose (TASSI, 2007). O armazenamento correto de rações, boa higiene das instalações também são importantes, evitando a presença de felinos em criatórios de equídeos, principalmente em locais de armazenamento e fornecimento de alimentos.

2.4. Neosporose em Equídeos

2.4.1. Etiologia e Transmissão

A neosporose é causada por protozoários pertencente ao filo Apicomplexa, classe Sporozoea, ordem Eucoccidiida, família Sarcocystidae, subfamília Toxoplasmatinae, gênero *Neospora* (DUBEY; LINDSAY, 1996), com duas espécies, descritas *Neospora caninum* (DUBEY et al., 1988) e *N. hughesi* (MARSH et al., 1998).

A infecção por *N. caninum* tem sido associada à problemas reprodutivos e doença neonatal, enquanto por *N. hughesi* está relacionada à distúrbios neurológicos (LINDSAY, 2001; VERONESI et al., 2008).

Do ponto de vista morfológico *N. hughesi* se distingue de *N. caninum* devido às diferenças nas proteínas, dos espaços internos transcritos (ITS1) do DNA e na morfologia dos cistos teciduais (MARSH et al., 1998).

A forma de transmissão de *N. caninum* pode ser congênita ou via transplacentária (vertical) e a infecção pós-natal (horizontal) (McALLISTER et al., 1998; DIJKSTRA et al., 2001), ambas já relatadas na espécie equina (ANDERSON et al., 2000; LOCATELLI-DITTRICH, 2002). A transmissão horizontal desse parasito para os hospedeiros intermediários ocorre após a ingestão de oocistos esporulados presentes no ambiente, enquanto que a transmissão vertical se dá através da invasão do parasito nas células uterinas (STELMANN & AMORIM, 2010).

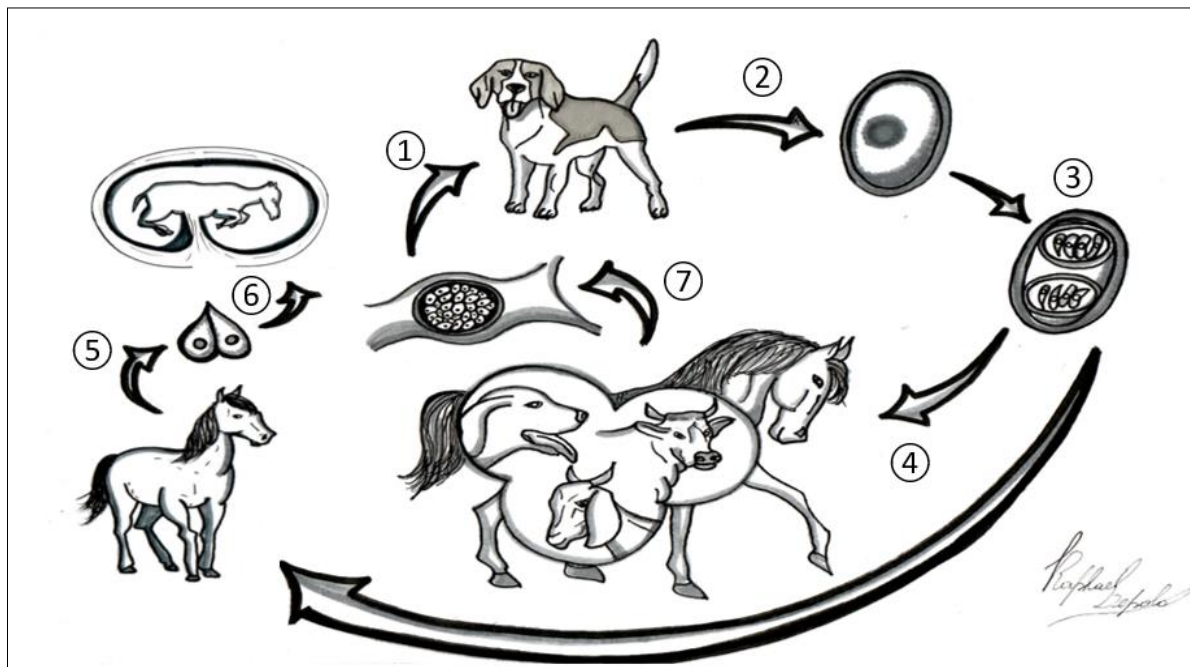
A infecção congênita pelo protozoário já foi relatada em fetos de equinos e em um potro com um mês de idade com cegueira congênita (DUBEY & PORTERFIELD, 1990; LINDSAY et al., 1996; PRONOST et al., 1999; PITEL et al., 2003b). Por sua vez, anticorpos IgG anti-*N.*

caninum foram encontrados em amostras séricas pré-colostrais de potros clinicamente saudáveis, indicando a transmissão vertical do parasito (LOCATELLI-DITTRICH et al., 2006a).

O ciclo biológico completo de *N. hughesi* é desconhecido, assim como os modos de transmissão deste parasito aos equídeos permanecem ainda não compreendidos (REED et al., 2016), diferentemente de *N. caninum* (Figura 5) que já está elucidado. Entretanto, muitos estudos sugerem a transmissão transplacentária na infecção por *N. hughesi* em equídeos (PUSTERLA et al., 2011; ANTONELLO et al., 2012; HOWE et al., 2014).

Os estágios do ciclo de vida do *N. caninum* são os taquizoítos, cistos contendo bradizoítos e oocistos (MCALLISTER et al., 1998). Já as formas identificadas do ciclo de vida de *N. hughesi* são taquizoítos e cistos teciduais com bradizoítos. Não foram até o momento, identificados oocistos deste parasito (LOCATELLI-DITTRICH et al., 2006). Os taquizoítos são ovóides e multiplicam-se rapidamente por endodiogenia, penetrando ativamente nas células hospedeiras, localizando-se no citoplasma ou dentro do vacúolo parasitóforo (MARSH et al., 1998; DUBEY et al., 2001).

Figura 5: Ciclo biológico de *Neospora caninum*.



1- Ingestão de cistos teciduais contendo bradizoítos, presentes na musculatura dos hospedeiros intermediários; 2 - Liberação dos oocistos não-esporulados nas fezes do hospedeiro definitivo; 3- Oocistos esporulados no ambiente, contaminando água, solo e alimentos; 4- Ingestão dos oocistos esporulados por hospedeiros intermediários; 5- Transmissão transplacentária nos hospedeiros intermediários; 6- Infecção dos fetos por taquizoítos; 7- Formação de cistos com bradizoítos teciduais na musculatura dos hospedeiros intermediários.

Os hospedeiros definitivos (cães e coiotes), quando ingerem os cistos de *N. caninum*, eliminam os oocistos não esporulados nas fezes. No meio ambiente ocorre a esporulação, formando-se dois esporocistos, cada qual com quatro esporozoítos. Cães e coiotes são os únicos hospedeiros definitivos identificados até o momento, mas suspeita-se que outros canídeos silvestres possam também servir como hospedeiros definitivos e eliminar oocistos nas fezes (STELMANN & AMORIM, 2010).

Em se tratando de *N. hughesi*, o hospedeiro definitivo ainda é desconhecido, permanecendo incerta a forma de exposição dos equinos a este parasito e se há outros hospedeiros intermediários (REED et al., 2016).

2.4.2. Distribuição Geográfica

N. caninum e *N. hughesi* foram descritos pela primeira vez no cérebro de cães, na Noruega em 1984, e medula espinhal de um equino nos Estados Unidos (BJERKAS et al., 1984; MARSH et al., 1998), respectivamente. A partir daí, muitos estudos sobre *Neospora* spp. em equídeos foram realizados em diversos países do mundo por meio de diferentes técnicas de diagnóstico. Assim, Arábia Saudita (ABDULLAH & ALYOUSIF, 2013), Israel (KIGLER et al., 2007), Irã (MORAVEJI et al., 2011; HOSSEINI et al., 2011), Jordânia (TALAFHA et al., 2015), Turquia (KILBAS et al., 2008), Coreia do Sul (GUPTA et al., 2002), França (PITEL et al., 2001), Itália (CIARAMELLA et al., 2004), Suécia (JAKUBEK et al., 2006), República Tcheca (BARTOVÁ et al., 2010), Canadá (WOBESER et al., 2009), México (YEARGAN et al., 2013), Costa Rica (DANGOUDOUBIYAM et al., 2011), Colômbia (BLANCO et al., 2014), Peru (LUZA et al., 2015) e Chile (PATITUCCI et al., 2004) com prevalência variando entre 1% e 50%.

No Brasil, também já foram realizados trabalhos acerca da prevalência de *Neospora* spp. em equídeos tendo sido relatado em alguns estados como Rio Grande do Sul (QUEVEDO et al., 2015), Santa Catarina (ABREU et al., 2014), Paraná (LOCATELLI-DITTRICH et al., 2006), São Paulo (STELMANN et al., 2011), Rio de Janeiro (STELMANN, 2014), Minas Gerais (RIBEIRO et al., 2016), Bahia (GALVÃO et al., 2015) e Alagoas (VALENÇA et al., 2015) com taxas variando entre 1,87% e 64,0%.

2.4.3. Patogenia e sinais clínicos

A patogenia da infecção tanto por *N. caninum* como *N. hughesi* ainda não foi completamente esclarecida nos equídeos (TOSCAN et al., 2010). Na maioria dos casos, o parasito pode permanecer no hospedeiro intermediário por muitos anos, sem necessariamente

causar sinais clínicos, os quais podem ocorrer em casos de imunossupressão (LOCATELLI-DITTRICH et al., 2006).

Em equinos, infecções por *N. caninum* estão mais relacionadas à ocorrência de aborto em qualquer época da gestação, principalmente no terço médio, além de doenças neonatais, como nascimento de potros fracos (LOCATELLI-DITTRICH et al., 2006).

A infecção por *N. hughesi* está associada a sinais neurológicos, fazendo parte do complexo da Mieloencefalite Protozoária Equina (MPE) (DUBEY et al., 2001; KLIGLER et al., 2007).

De acordo com Dubey et al. (2007), esta espécie causa sintomatologia neurológica porque o cisto do parasito se aloja no tecido nervoso do animal. Assim, os animais acometidos podem apresentar ataxia dos membros posteriores e, em alguns casos, dos quatro membros, e anormalidades no modo de andar, acentuadas quando o animal caminha com a cabeça elevada ou quando anda em círculos (CHEADLE et al., 1999; DUBEY et al., 2001).

A infecção por *Neospora* spp. em equídeos está associada a distúrbios reprodutivos, neonatais, viscerais e neurológicos (LOCATELLI-DITTRICH et al., 2006). Desse modo, sinais clínicos como aborto, cegueira, perda de peso, paralisia de membros posteriores, mudança de comportamento, ataxia e incoordenação podem ser observados em animais infectados (DUBEY et al. 2007).

Os abortos por *N. caninum* decorrem dos taquizoítos que se originam da reativação de bradizoítos, e/ou cistos teciduais ou de oocistos ingeridos durante a gestação (HEMPHILL et al., 2000). Assim, os taquizoítos multiplicam-se rapidamente, atravessam a placenta e infectam o feto, e, dependendo da idade gestacional, pode ocorrer o aborto (LOCATELLI-DITTRICH et al., 2006).

Entre os fatores que influenciam a patogênese do aborto destacam-se o período gestacional em que ocorre a parasitemia, a quantidade e duração da parasitemia, a eficiência da resposta imune materna e a capacidade da resposta imune do feto (HEMPHILL et al., 2000).

2.4.4. Imunidade

Estudos acerca da resposta imune à infecção por *N. caninum* são escassos, existindo principalmente na espécie bovina.

A imunidade mediada por células é a principal resposta efetiva do organismo ao *N. caninum*. A infecção experimental por *N. caninum* induz a ativação do eixo Th1, caracterizada por altos níveis de interferon gama (IFN-g) e uma resposta humoral, particularmente IgG2 (LOCATELLI-DITTRICH, 2006). Esse tipo de resposta Th1 controla a multiplicação dos

taquizoítos, sendo associada à proteção contra os patógenos intracelulares como *Neospora* spp. (INNES et al., 2002).

A existência de anticorpos específicos é importante, sendo bastante útil no auxílio ao diagnóstico e em estudos epidemiológicos. Entretanto, a ação dos anticorpos na imunidade protetora permanece desconhecida, mas provavelmente, sua função seria ajudar no controle da propagação do *N. caninum* através da neutralização dos taquizoítos extracelulares (CONRAD et al., 1993; INNES et al., 2002). Dessa forma, não existindo uma resposta imune, os taquizoítos continuam sua multiplicação, levando a destruição celular até a morte do hospedeiro (LOCATELLI-DITTRICH et al., 2006).

A resposta imunológica somada a outros fatores fisiológicos induzem a diferenciação dos taquizoítos em bradizoítos, estabelecendo-se uma infecção cística tecidual persistente (BUXTON et al., 2002). A destruição celular e o desenvolvimento da doença dependem da competência dos taquizoítos em penetrar e se multiplicarem nas células hospedeiras, assim como a inibição da sua multiplicação depende do *status* imune do hospedeiro (LOCATELLI-DITTRICH et al., 2006).

A infecção na fase inicial da gestação normalmente é fatal devido à imaturidade imunológica do feto bovino. Contudo, um feto imunocompetente pode ser capaz de resistir à infecção, porém, provavelmente nascerá infectado com o parasita (ANDERSON et al., 2000; INNES et al., 2002).

No feto equino, os linfócitos T estão presentes a partir dos 100 dias de gestação, podendo assim sintetizar e secretar imunoglobulinas, particularmente, IgM e IgG (PERRYMAN et al., 1980). A existência de quantidades significativas de IgG em potros recém-nascidos e antes da ingestão de colostro é bastante sugestiva de exposição intrauterina ao antígeno (COOK et al., 2001).

2.4.5. Diagnóstico

Diante da problemática ocasionada pela neosporose, é crucial estabelecer o diagnóstico a fim de evitar mais perdas possibilitando, inclusive, determinar medidas de controle e profilaxia. Devido aos sinais da neosporose serem inespecíficos, o diagnóstico clínico da doença é difícil. Consequentemente, o diagnóstico laboratorial torna-se imprescindível para confirmação da infecção por *Neospora* sp. (PACKHAM et al., 2002).

Dessa forma, o diagnóstico da neosporose pode ser realizado através de métodos parasitológicos, sorológicos (SILVA, 2005) ou moleculares (JENKINS et al., 2002).

O diagnóstico parasitológico pode ser realizado através dos exames histopatológico, imunohistoquímico e o isolamento *in vitro* e *in vivo* (HEMPHILL et al., 2000; HOANE et al., 2006).

Entre os testes sorológicos mais utilizados, destaca-se a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), que apresenta alta sensibilidade (VARDELEON et al., 2001) sendo um teste de referência (HEMPHILL et al., 2000), Ensaio Imunoenzimático (ELISA), com alta sensibilidade e especificidade (HOANE et al., 2005; HOWE et al., 2014), soroaglutinação direta, a qual é uma ferramenta valiosa em estudos epidemiológicos (HEMPHILL et al., 2000), e Western blot (LOCATELLI-DITTRICH et al., 2006) que é teste confirmatório por distinguir infecção por *N. caninum* de *N. hughesi* em várias espécies animais (STELMANN & AMORIM, 2010).

Já os testes moleculares para identificação de *Neospora* spp. incluem PCR convencional, PCR semi-quantitativo, nested PCR em tubo único ou PCR seguida por hibridização por sonda (JENKINS et al., 2002). Tais técnicas moleculares são de grande utilidade no diagnóstico de *Neospora* sp., pois permitem amplificar quantidades muito pequenas de DNA, mesmo em tecidos que estejam autolisados e têm uma alta sensibilidade e especificidade.

2.4.6. Tratamento, prevenção e controle

Não foram desenvolvidas estratégias eficazes para o controle e tratamento da neosporose em equídeos. Assim, vários fármacos como decoquinato, depudecina, toltrazuril, ponazuril, artemisinina e os extratos de ervas medicinais têm sido utilizados *in vitro* (cultivo celular) e *in vivo* (camundongos) para o tratamento da neosporose. Entretanto, de acordo com Kwon et al. (2003), não há comprovação da eficácia terapêutica desses compostos. Apesar disso, equinos acometidos pela enfermidade são tratados com ponazuril (5 mg/kg, a cada 24 horas, durante 30 dias).

Para se prevenir a neosporose é necessário que os fatores de risco da neosporose equina sejam elucidados (LOCATELLI-DITTRICH et al., 2006b). De modo geral, a idade tem sido um fator importante a ser considerado na ocorrência da doença em equinos, particularmente animais acima de 10 anos (GRAY et al., 1996; MARSH et al., 1996; CHEADLE et al., 1999; FINNO et al., 2007b).

Deve-se considerar, ainda, o conhecimento das vias de infecção, biologia de *Neospora* sp., a utilização de ferramentas diagnósticas na detecção da infecção nos animais, bem como o

uso de uma vacina eficiente na prevenção da mesma, abortamento ou até mesmo no bloqueio da eliminação de oocistos pelos hospedeiros definitivos (DUBEY et al., 2007).

Não existe ainda vacinas contra essa enfermidade para equídeos. Entretanto, as vacinas até aqui desenvolvidas contra neosporose em outra espécie animal não conferiram uma imunidade eficiente contra o abortamento nas fêmeas acometidas por *Neospora* sp. (ROMERO et al., 2004; INNES et al., 2007).

3. Referências Bibliográficas

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia celular e molecular**. 6. ed. Rio de Janeiro: Saunders Elsevier, 2008.

ABDULLAH, D.; ALYOUSIF, S. Seroprevalence of Neospora spp. in horses from Central Province of Saudi Arabia. **African Journal of biotechnology**, v.12, p.982-985, 2013.

ABEDI, V.; RAZMI, G.; SEIFI, H. AND NAGHIBI, A. Molecular detection of *equine* piroplasms in donkeys (*Equus asinus*) in North Khorasan province, Iran. **Iranian Journal of Veterinary Research**, v. 16, n. 2, p. 202-204. 2015.

ABEDI, V.; RAZMI, G.; SEIFI, H.; NAGHIBI, A. Molecular and serological detection of Theileria equi and Babesia caballi infection in horses and ixodid ticks in Iran. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v.5, p.239-44, 2014.

ABREU, R.A.; WEISSA, R.R.; THOMAZ-SOCCOLA, V.LOCATELLI-DITTRICH, R.; LASKOSKIB, L.M.; BERTOLA, M.A.F.; KOCHA M.O.; ALBANA, S.M.; GREENCA, K.T. Association of antibodies against Neospora caninum in mares with reproductive problems and presence of seropositive dogs as a risk factor. **Veterinary Parasitology**, v.202, p.128-131, 2014.

ABUTARBUSH, S.M.; ALQAWASMEH, D.M.; MUKBEL, R.M.; AL-MAJALI, A.M. Equine babesiosis: Seroprevalence, risk factors and comparison of different diagnostic methods in Jordan. **Transboundary and Emerging Disease**, v.59, p.72-78. 2012.

ACICI, M.; UMUR, S.; GUVENC, T.; ARSLAN, H.H.; KURT, M. Seroprevalence of *equine* babesiosis in the Black Sea region of Turkey. **Parasitology International**, v.57: p.198-200. 2008.

ADL, S.M.; SIMPSON, A.G.; LANE, C.E.; LUKEŠ, J.; BASS, D.; BOWSER, S.S.; BROWN, M.; BURKI, F.; DUNTHORN, M.; HAMPL, V.; HEISS, A.; HOPPENRATH, M.; LARA, E.; LEGALL, L.; LYNN, D.H.; MCMANUS, H.; MITCHELL, E.A.D.; MOZLEY-STANRIDGE, S.E.; PARFREY, L.W.; PAWLOWSKI, J.; RUECKERT, S.; SHADWICK, S.; SCHOCH, C.; SMIRNOV, A.; SPIEGEL, F.W. The revised classification of eukaryotes. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 59, n. 5, p. 429-493, 2012.

AGANGA, A. O.; KWANASHIE, G. G.; BELINO, E. D. *Toxoplasma* antibodies in polo horses of Nigeria. **International Journal of Zoonoses**, Taiwan, v. 10, n. 2, p. 155-158, 1983.

AGUILAR, C.M.; RANGEL, E.F. Leishmaniose tegumentar em uma mula (*Equus caballus* x *Equus asinus*) em área endêmica no Estado do Rio de Janeiro. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 81, p. 239-240, 1986.

AGUILAR, C.M.; RANGEL, E.F.; DEANE, L.M. – Cutaneous leishmaniasis in frequent in equines from an endemic area in Rio de Janeiro, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 81, p.471-472, 1986.

AKCA A.; BABUR C.; ARSLAN, M.O.; GICIK, Y.; KARA, M.; KILIC, S. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in horses in the province of Kars, Turkey. **Veterinary Medicine —Czech**, v.49, p.9–13, 2004.

ALANAZI, A.D.; ALYOUSIF, M.S. Prevalence of Antibodies to *Toxoplasma gondii* in Horses in Riyadh Province, Saudi Arabia. **Journal of Parasitology**, v. 97, n. 5, p. 943-945, 2011.

ALENCAR, J.E. Um caso de leishmaniose tegumentar em *Equus asinus*. **XVI Congresso Brasileiro de Higiene**, Niterói, Brasil, 1959.

ALLEN, P.C.; FRERICHS, W.M.; HOLBROOK, A.A. Experimental acute *Babesia caballi* infections. I. Red blood cell dynamics. **Experimental Parasitology**, v.37, p.67–77, 1975.

ALLEN, P.C.; FRERICHS, W.M.; HOLBROOK, A.A. Experimental acute *Babesia caballi* infections. II. Response of platelets and fibrinogen. **Experimental Parasitology**, v.37, p.373-379, 1975.

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**, v.148, p.130–136, 2007.

ALSHAHERY, M.N.; MANSOUR, R.S. Detection of *Toxoplasma gondii* antibodies in horses in Mosul, Iraq. **Iraqi Journal of Veterinary Sciences**, v. 26, n.2, p. 39-41, 2012.

ALVARADO-ESQUIVEL, C.; RODRÍGUEZ-PEÑA, S.; VILLENA, I.; DUBEY, J.P. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in domestic horses in Durango State, Mexico. **Journal of Parasitology**, v. 98, n. 5, p. 944-945, 2012.

ALVES, L. C.; FAUSTINO, M. A G. **Leishmaniose visceral canina**. Manual da Schering-Plough, São Paulo, 2005.14 p.

AMBAWAT, H.K.; MALHOTRA, D.V.; KUMAR, S.; DHAR, S. Erythrocyte associated haematobiochemical changes in *Babesia equi* infection experimentally produced in donkeys, **Veterinary Parasitology**, v.85, p.319–24, 1999.

AMBROSIO, R.; DEWAHL, D.T. Diagnosis of parasitic disease. **Revue Scientifique et Technique**, v.3, p.756–778, 1990.

ANDERSON, M.L., ANDRIANARIVO, A.G., CONRAD, P.A. Neosporosis in cattle. **Animal Reproduction Science**, v.60-61, p.417-431, 2000.

ANTONELLO AM, PIVOTO FL, CAMILLO G, et al. The importance of vertical transmission of *Neospora* sp. in naturally infected horses. **Veterinary Parasitology**, v.187, n.3–4, p. 367–370, 2012.

ARROSO-FREITAS, A.P.T.; PASSOS, S.R.L.; MOUTA-CONFORT, E.; et al. Accuracy of na ELISA and indirect immunofluorescence for the laboratory diagnosis of American tegumentar leishmaniasis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.103, n._, p.383-389, 2009.

BAKHEIT, M.A., SEITZER, U., MBATI, P.A., AHMED, J.S. Serological diagnostic tools for the major tick-borne protozoan diseases of livestock. **Parassitologia**, v. 49, s. 1, p. 53–62, 2007.

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.

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**, v. 27, n. 4, p. 179-183, 2007.

BALDANI, C.D.; NAKAGHI, A.C.H.; MACHADO, R.Z. Occurrence of *Theileria equi* in horses raised in the Jaboticabal microregion, São Paulo State, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 19, n. 4, p. 228-232, 2010.

BALKAYA, I.; BABUR, C.; CELEBI, B.; UTUK, A.E. Seroprevalence of toxoplasmosis in donkeys in Eastern Turkey. **Israel Journal of Veterinary Medicine**, v. 66, p. 39-42, 2011.

BARBOSA, I. P., MOLNÁR, L. É.; DIAS, H.T. DETERMINATION OF THE SEROLOGICAL PREVALENCE OF *EQUINE* BABESIOSES BY IFA TEST IN THE STATE OF PARÁ, BRAZIL. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 9, n. 1, p. 7-10, 2000.

BARBOSA-SANTOS, E.G.O.; MARZOCHI, M.C.A.; URTADO, W.; QUEIRÓS, F.; CHICARINO, J.; PACHECO, R.S. Leishmaniasis Disseminated by *Leishmania braziliensis* in a Mare (*Equus caballus*) Immunotherapy and Chemotherapy Assays. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 89, n.2, p.217-220, 1994.

BARCELOS, A.S.; LAGAGGIO, V.R.A.; CENCI, A.; COLOMBO, F.H.; KATZER, L.H.; NOAL, S.A. Pesquisa de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em equinos de Uruguaiana-RS-Brasil. In: **IV Jornada Integrada de Pesquisa, Extensão e Ensino da Universidade Federal de Santa Maria-RS**, p.565, 1997.

BARROS, E. M., BRAGA, Í. A., SANTOS, L. G. F., ZILIANI, T. F., MELO, A. L. T., BORGES, A. M. C. M.; SILVA, L.G.; AGUIAR, D. M. Detection of *Theileria equi*, *Babesia caballi* and anti-*Ehrlichia* spp. antibodies in equides from the Pantanal of Mato Grosso State. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.67, n. 3, p. 716-722, 2015.

BÁRTOVÁ E., SEDLÁK K., SYROVÁ M., LITERÁK I. *Neospora* spp. and *Toxoplasma gondii* antibodies in horses in the Czech Republic. **Parasitology Research**, v.107, p.783–785, 2010.

BATTSETSEG, B.; LUCERO, S.; XUAN, X.; CLAVERIA, F.; BYAMBAA, B.; BATTUR, B.; BOLDBAATAR, D.; BATSUKH, Z.; KHALIUNAA, T.; BATTSETSEG, G.; IGARASHI, I.; NAGASAWA, H.; FUJISAKI, K. Detection of equine *Babesia* spp. gene fragments in *Dermacentor nuttalli* Olenov 1929 infesting Mongolian horses and their amplification in egg and larval progenies. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 64, p. 727–730, 2002.

BISHOP, R., MUSOKE, A., MORZARIA, S., GARDNER, M., NENE, V. Theileria: intracellular protozoan parasites of wild and domestic ruminants transmitted by ixodid ticks. **Parasitology**, v.129, p.271–283, 2004.

BJERKAS, I.; MOHN, S.F.; PRESTHUS, J. Unidentified cyst-forming Sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. **Zeitschrift für Parasitenkunde**, v.70, n.2, p.271-274, 1984.

BLANCO, R.D.; PATARROYO, J.H.; VARGAS, M.I.; CARDONA, J.A.; ARAÚJO, L.S.; GOMEZ, V.E. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora* spp. em jumentos (*Equus asinus*) no estado de Sucre – Colômbia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.66, n.2, p.450-454, 2014.

BOGDAN, C., ROLLINGHOFF, M. The immune response to *Leishmania*: mechanisms of parasite control and evasion. **International Journal of Parasitology**, Oxford, v.28, n.1, p.121-134, 1998.

BONFANTE-GARRIDO, R.; BARRETO, T. Leishnaniasis tegumentaria americana en el Distrito Urdaneta. **Boletín de Ia Oficina Sanitaria Panamericana**. 1980

BONFANTE-GARRIDO, R.; MELÉNDEZ, E.; TORRES, R.; MORILLO, N.; ARREDONDO, C. & URDANETA, I. – Enzootic equine cutaneous leishmaniasis in Venezuela. Trans. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, 75:471,1981.

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

BOUGHATTAS, S.; BERGAOUI, R.; ESSID, R.; AOUN, K.; BOURATBINE A. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection among horses in Tunisia. **Parasites & Vectors**, v.4, p.218, 2011.

BRACCINI, G.L.; CHAPLIN, E.L.; STOBE, N.S.; ARAÚJO, F.A.P.; SANTOS, N.R. Resultados de exames laboratoriais realizados no setor de protozoologia da Faculdade de Veterinária da UFRGS, Porto Alegre, nos anos de 1986 a 1990. **Arquivos da Faculdade Veterinária da UFRGS**, v. 20, p. 134-149, 1992.

BRANDÃO-FILHO, S. P.; BRITO, M.E.; CARVALHO, F.G.; ISHIKAWA, E.A.; CUPOLILLO, E.; FLOETER-WINTER, L.; SHAW, J.J. Wild and synanthropic hosts of *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis* in the endemic cutaneous leishmaniasis locality of Amaraji, Pernambuco State, Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 97, n. 3, p. 291-296, 2003.

BRASIL, 2016. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/equideos>. Acessado em 12.10.2016.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE (MS), DEPARTAMENTO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. 5ª.ed. Ministério da Saúde, Brasília, 2000. 61p.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana** / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. – 2. ed. atual. – Brasília : Editora do Ministério da Saúde, 2010. 180 p.

BRASIL. Ministério da saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual de vigilância da Leishmaniose tegumentar americana**, Brasília, DF, 2007, 180 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana** / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. – 2. ed. atual. – Brasília: Editora do Ministério da Saúde, p. 180 2010.

BRITO, M.E.; MENDONÇA, M.G.; GOMES, Y.M.; et al. Identification of potentially diagnostic *Leishmania braziliensis* antigens in human cutaneous leishmaniasis by Immunoblot Analysis. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v.7, n.2, pp.318-321, 2000.

BRUNING, A. Equine piroplasmosis an update on diagnosis, treatment and prevention. **British Veterinary Journal**, v.152, n.2, p. 140-151, 1996.

BRUNING, A.; PHIPPS, P.; POSNETT, E.; CANNING, E.U. Monoclonal antibodies against *Babesia caballi* and *Babesia equi* and their application in serodiagnosis. **Veterinary Parasitology**, v. 58, p. 11–26, 1997.

BULING, A.; CRIADO-FORNELIO, A.; ASENZO, G.; BENITEZ, D.; BARBACARRETERO, J.C.; FLORIN-CHRISTENSEN, M. A quantitative PCR assay for the detection and quantification of *Babesia bovis* and *B. bigemina*. **Veterinary Parasitology**, v. 147, p. 16–25, 2007.

BUXTON, D.; MCALLISTER, M.M.; DUBEY, J.P. The comparative pathogenesis of neosporosis. **TRENDS in Parasitology**, v..18, n..12, 2002.

CACCIO, S.; CAMMA, C.; ONUMA, M.; SEVERINI, C. The beta-tubulin gene of *Babesia* and *Theileria* parasites is an informative marker for species discrimination. **International Journal Parasitology**, v. 30, p. 1181–1185. 2000.

CALDERÓN, A.; CARDONA, J.; VERGARA, Ó. Frequency of *Babesia* spp. in horses of montería, Córdoba (Colômbia). **Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica**, v. 16, n. 2, p. 451-458, 2013.

CANTOS, G. A.; PRANDO, M. D.; SIQUEIRA, M. V.; TEIXEIRA, R. M. Toxoplasmose: ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e diagnóstico. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v.46, n.4, p.335-341, 2000.

CANTÚ-MARTÍNEZ, M.A.; SEGURA-CORREA, J.C.; SILVA-PÁEZ, M.L.; AVALOS-RAMÍREZ, R.; WAGNER, G.G. Prevalence of antibodies to *Theileria equi* and *Babesia caballi* in horses from northeastern Mexico. **Journal of Parasitology**, v. 98, p. 869–870, 2012.

CARLETTI, R.T., CONTENTE, A.P.A., NAVARRO, I.T., PRUDENCIO, L.B., TSUTSUI, V.S., MARANA, E.R.M. & ROMÃO, G.O. 2002. Surto de toxoplasmose em Santa Isabel do Ivaí - PR, Brasil: sorologia em animais domésticos. In: **XXIX Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária** (Gramado-Brasil). p.60.

CASTELLANOS, R.; CANELON, J.L.; CALZOLAIO, V.; AGUINACO, F.; LOPEZ, A.; MONTESINOS, R. “Estudio hematológico y detección de hemoparasitos en caballos criollos venezolanos de dos hatos del estado de Apure, Venezuela (Hematologic study in Venezuelan Creole horses from two herds of the state of Apure, Venezuela)”, **Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad del Zulia**, v. 20, n. 2, p. 153–160, 2010.

CHAVES, N. P.; BEZERRA, D. C.; SANTOS, H. P.; PEREIRA, H. DE M.; GUERRA, P. C.; SILVA, A. L. A. Ocorrência e fatores de risco associados à identificação da anemia infecciosa equina em equídeos de tração. **Ciência Animal Brasileira**, v.15, n. 3, P. 301-306, 2014.

CHEADLE, M.A.; LINDSAY, D.S.; ROWE, S.; DYKSTRA, C.C.; WILLIAMS, M.A.; SPENCER, J.A.; TOIVIO-KINNUCAN, M.A.; LENZ, S.D.; NEWTON, J.C.; ROLSMA, M.D.; BLAGBURN, B.L. Prevalence of antibodies to *Neospora* sp. in horses from Alabama and characterization of an isolate recovered from a naturally infected horse. **International Journal for Parasitology**, v.29, n. 10, p.1537–1543, 1999.

CHHABRA, S.; RANJAN, R.; UPPAL, S.K.; SINGLA, L.D. Transplacental transmission of *Babesia equi* (*Theileria equi*) from carrier mares to foals. **Journal Parasitological Disease**, v.36, n.1, p.31–33, 2012.

CIARAMELLA, P.; CORONA, M.; CORTESE, L.; PIANTEDOSI, D.; SANTORO, D.; DI LORIA, A.; RIGATO, R. Seroprevalence of *Neospora* spp. in asymptomatic horses in Italy. **Veterinary Parasitology**, v.123, n.1-2, p.11–15, 2004.

COIRO, C. J.; LANGONI, H.; SILVA, R. C. Epidemiological aspects in the *Leptospira* spp. and *Toxoplasma gondii* infection in horses from Botucatu, Sao Paulo, Brazil. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 32, n. 10, p. 620-623, 2012.

CONRAD, P.A.; BARR, B.C.; SVERLOW, K.W.; ANDERSON, M.L.; DAFT, B.; KINDE, H.; DUBEY, J.P.; MUNSON, L. ARDANS, A. *In vitro* isolation and characterization of a *Neospora* sp. from aborted bovine fetuses. **Parasitology**, v. 106, p. 239-249, 1993.

COOK, A.G., BUECHNER-MAXWELL, V., MORROW, J.K., WARD, D.L., PARKER, N.A., DASCANIO, J.J., LEY, W.B., COOPER, W. Interpretation of the detection of *Sarcocystis neurona* antibodies in the serum of Young horses. **Veterinary Parasitology**, v.95, p.187-195, 2001.

COSTA, A.J.; ISHIZUCA, M.M.; MRQUE, L.C.; VIDOTTO, O.; ROCHA, U.F.; IKEDA, A. Toxoplasmosis frequency in equines from the North region of São Paulo State, Brazil. **Ars Veterinária**, n. 2, p. 75-79, 1986.

CUNHA, C.W.; McGUIRE, T.C.; KAPPEMEYER, L.S.; HINES, S.A.; LOPEZ, A.M.; DELLAGOSTIN, O.A.; KNOWLES, D.P. Development of specific immunoglobulin G_a (IgG_a) and IgG_b antibodies correlates with control of parasitemia in *Babesia equi* infection. **Clinical and Vaccine Immunology**, v.13, p. 297-300, 2006.

CUNHA, C.W.; SILVA, S.S.; PIMENTEL, C.A.; DAPPER, E. Avaliação da frequência de equinos soropositivos a *Babesia equi* no Joquei Clube de Pelotas e em dois haras da zona sul do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 5, p. 119-122, 1996.

DA COSTA PEREIRA, M. A. V., MASSARD, C. L., FACCINI, J. L. H., SIQUEIRA, L. F. G. Ocorrência de *Babesia equi* (Laveran, 1901) e *Babesia caballi* (Nuttall&Strickland,1912) em

equinos da raça puro sangue inglês de pequenos estabelecimentos equestres. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 71, n. 4, p. 405-409, 2004.

DA COSTA PEREIRA, M.A.V.; MASSARD, C.L.; FACCINI, J.L.H.; SIQUEIRA, L.F.G. Variação da sorotitulação ao teste de fixação de complemento para *Babesia equi* e *Babesia caballi* em equinos da região serrana do Rio de Janeiro. **Ars Veterinaria**, v. 21, n. 3, p. 338-343, 2005.

DAGUER, H.; TRIQUEIRO, R.; COSTA, T. Soroprevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em bovinos e funcionários de matadouros da microrregião de Pato Branco, Paraná, Brasil. **Ciência Rural**, v. 34, p. 1133-1137, 2004.

DANGOUDOUBIYAM, S.; OLIVEIRA, J.B.; VIQUEZ, C.; GOMEZ-GARCIA, A.; GONZALEZ, O.; ROMERO, J.J.; KWOK, O.C.; DUBEY, J.P.; HOWE, D. K. Detection of antibodies against *Sarcocystis neurona*, *Neospora* spp., and *Toxoplasma gondii* in horses from Costa Rica. **Journal of Parasitology**, v. 97, n. 3, 522-524, 2011.

DE MOURA, A.B.; MATIELLO, J.P.; SILVA, M.O.; SOUZA, A.P.; SARTOR A.A. Antibodies against *Toxoplasma gondii* in horses from the coastal and mountain mesoregions of the state of Santa Catarina, Brazil. **Semininas: Ciências Agrárias**, v.37, n.1, p. 203-211, 2016.

DE VERA, M.; GUILLÉN, A.T.; GARCÍA, F.; CONTRERAS, R.; SIERRALTA, A.; LEÓN, E. Seroprevalencia de la babesiosis *equina* en caballos pura sangre de carrera alojados en los hipódromos La Rinconada y Nacional de Valencia, Venezuela. **Veterinária Tropical**, v. 31, n. 1-2, p. 43-52. 2006.

DE WAAL DT AND VAN HEERDEN J. Equine Babesiosis. In du Plessis,I. (Ed.), *Infectious Diseases of Livestock*. Oxford University Press, Cape Town, p. 425- 434, 2004.

DE WAAL, D.T.; VAN HEERDEN, J.; POTGIETER, F.T. An investigation into the clinical pathological changes and serological response in horses experimentally infected with *Babesia equi* and *Babesia caballi*. **Journal Veterinary Research**, v.54, p. 561–568, 1987.

DEHKORDI FS, BORUJENI MR, RAHIMI E, ABDIZADEH R: Detection of *Toxoplasma gondii* in raw caprine, ovine, buffalo, bovine, and camel milk using cell cultivation, cat bioassay, capture ELISA, and PCR methods in Iran. **Foodborne Pathogens and Disease**, v.10, p.120–125, 2013.

DESJEUX, P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 27, n. 5, p. 305-318, 2004.

DIJKSTRA, T.; EYSKER, M.; SCHARES, G.; CONRATHS, F.J.; WOUDA, W.; BARKEMA, H.W. Dogs shed *Neospora caninum* oocysts after ingestion of naturally infected bovine placenta but not after ingestion of colostrum spiked with *Neospora caninum* tachyzoites. **International Journal for Parasitology**, v.31, p.747-752. 2001.

DO CARMO, G.M.; DA SILVA, A.S.; KLAUCK, V.; PAZINATO, R.; MOURA, A.B.; DUARTE, T.; BOCHI, G.V.; MORESCO, R.N.; STEFANI, L. M. Immunological response and markers of cell damage in seropositive horses for *Toxoplasma gondii*. **Comparative immunology, microbiology and infectious diseases**, v. 38, p. 9-13, 2015.

DUBEY J.P. & PORTERFIELD M.L. *Neospora caninum* (Apicomplexa) in an aborted equine fetus. **Journal of Parasitology**, v.76, n.5, p.732-734, 1990.

DUBEY J.P., VENTURINI M.C., VENTURINI L., MCKINNEY J. & PECORARO M. Prevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in horses from Argentina. **Veterinary Parasitology**, v. 86, p. 59-62, 1999b.

DUBEY JP, LINDSAY DS. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. **Veterinary Parasitology**, v.67, n.1- 2, p.1-59, 1996.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; SPEER, C. A. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites and sporozoites and biology and development of tissue cysts. **Clinical Microbiology Review**, v. 11, p. 267-299, 1998.

DUBEY, J.P. History of the discovery of the life cycle of *Toxoplasma gondii*. **International Journal of Parasitology**, v.39, n. 8, p. 877–82, 2009.

DUBEY, J.P. Persistence of encysted *Toxoplasma gondii* in tissues of *equids* fed oocysts. **American Journal of Veterinary Research**, v.46, p.1753-1754, 1985.

DUBEY, J.P., CARPENTER, J.L., SPEER, C.A., TOPPER, M.J.; UGGLA, A. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.192, n.9, p.1269-1285, 1988.

DUBEY, J.P.; LIDDELL, S.; MATTSON, D.; SPEER, C.A.; HOWE, D.K.; JENKINS, M.C. Characterization of the Oregon isolate of *Neospora hughesi* from a horse. **Journal of Parasitology**, v.87, n.2, p.345-353, 2001.

DUBEY, J.P.; MITCHELL, S.M.; MORROW, J.K.; RHYAN, J.C.; STEWART, L.M.; GRANSTROM, D.E.; ROMAND, S.; THULLIEZ, P.; SAVILLE, W.J.; LINDSAY, D.S. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum*, *Sarcocystis neurona*, and *Toxoplasma gondii* in wild horses from Central Wyoming. **Journal of Parasitology**, v. 89, p. 716-720, 2003.

DUBEY, J.P.; SCHARES, G.; ORTEGA-MORA, L.M. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. **Clinical Microbiology Reviews**, v.20, n.2, p.323–367, 2007.

DUBEY, J.P.; THULLIEZ, P.; ROMAND, S.; KWOK, O.C.H.; SHEN, S.K.; GAMBLE, H.R. Serologic prevalence of *Toxoplasma gondii* in horses slaughtered for food in North America. **Veterinary Parasitology**, v. 86, p. 235-238, 1999a

FALQUETO, A.; VAREJÃO, J.B.M.; SESSA, P.A. Cutaneous leishmaniasis in horse (*Equus caballus*) from endemic area in the state of Espírito Santo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.82, p.443, 1987.

FEITOSA, M. M.; IKEDA, F. A.; LLUVIZOTTO, M. C. R.; PERRI, S. H. V. Aspectos clínicos de cães com leishmaniose visceral no município de Araçatuba, São Paulo (Brasil). **Clínica Veterinária**, ano 5, n. 28, p. 36-44, 2000.

FERNÁNDEZ-BELLON, H.; SOLANO-GALLEGO, L.; BARDAGÍ, M.; ALBEROLA, J.; RAMIS, A.; FERRER, L.: Immune response to *Leishmania infantum* in healthy horses in Spain. **Veterinary Parasitology**, v.135, p.181–185, 2006.

FERRER, L. M. Clinical aspects of canine leishmaniasis. In: KILLICK-KENDRICK. Canine leishmaniasis: an update, 1999. Barcelona, **Proceedings of canine leishmaniasis fórum**. Barcelona, 1999. p. 6 – 10.

FIALHO, C.G.; TEIXEIRA, M.C.; ARAUJO, F.A.P.D. Toxoplasmosse animal no Brasil. **Acta scientiae veterinariae**, v. 37, n. 1, p. 1-24, 2009.

FINNO CJ, ALEMAN M, PUSTERLA N. Equine protozoal myeloencephalitis associated with Neosporosis in 3 horses. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.21, p.1405–1408, 2007.

FRIEDHOFF, K. T. Die piroplasmen der *equiden* - Bedeutung für den internationalen pferdeverkehr. **Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift**, v. 95, n. 19, p. 368-374, 1982.

FUNASA. **Manual de controle da leishmaniose tegumentar americana**. Brasília, Ministério da Saúde, 2007. 179p.

GÁLLEGO, M. Zoonosis emergentes por patógenos parasitos: las leishmaniosis. **Revue Scientifique et Technique the Office International des Epizooties**, v. 23, n. 2, p. 661-676, 2004.

GALVÃO, C.M.M.Q.; REZENDE-GONDIM, M.M.; CHAVES, A.C.R.; SCHARES, G.; RIBAS, J.R.L.; GONDIM, L.F.P. Brazilian donkeys (*Equus asinus*) have a low exposure to *Neospora* spp. **Brazilian Journal Veterinary Parasitology**, v. 24, n. 3, p. 340-344, 2015.

GARCIA, J. L.; NAVARRO, I. T.; OGAWA, L.; OLIVEIRA, R. C. Soroprevalência do *Toxoplasma gondii*, em suínos, bovinos, ovinos e *equinos*, e sua correlação com humanos, felinos e caninos, oriundos de propriedades rurais do norte do Paraná-Brasil. **Ciência Rural**, v. 29, n. 1, p. 91-97, 1999.

GARCÍA-BOCANEGRA, I.; ARENAS-MONTES, A.; HERNÁNDEZ, E.; ADASZEK, L.; CARBONERO, A.; ALMERÍA, S.; JAÉN-TÉLLEZ, J.A.; GUTIÉRREZ-PALOMINO, P.; ARENAS, A. Seroprevalence and risk factors associated with *Babesia caballi* and *Theileria equi* infection in equids. **The Veterinary Journal**, v. 195, p. 172–178, 2013.

GARCÍA-BOCANEGRA, I.; CABEZÓN, O.; ARENAS-MONTES, A.; CARBONERO, A.; DUBEY, J. P.; PEREA, A.; ALMERÍA, S. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in equids from Southern Spain. **Parasitology International**, v. 61, n. 3, p. 421-424, 2012.

GAZÊTA, G.S.; DUTRA, A.E.A.; NORBERG, A.N.; SERRA-FREIRE, N.M.; SOUZA W.J.S.; AMORIM, M.; LOPES, L.M.S. Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em soros de equinos no estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 6, p. 87-91, 1997.

GENARO, O. *et al.* *Leishmaniose Tegumentar Americana*. In: NEVES, D.P. **Parasitologia Humana**. 10.ed. São Paulo: Atheneu. 2002. p.36-53.

GEORGES KC, EZEOKOLI CD, SPARAGANO O, *et al.* A case of transplacental transmission of *Theileria equi* in a foal in Trinidad. **Veterinary Parasitology**, v. 175, p.363–366, 2011.

GEYSEN, D.; DELESPAUX, V.; GEERTS, S. PCR-RFLP using Ssu-rDNA amplification as an easy method for species-specific diagnosis of Trypanosoma species in cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 110, p. 171–180, 2003.

GHAZY, A.A.; SHAAPAN, R.M.; ABDEL-RAHMAN, E.H. Comparative serological diagnosis of toxoplasmosis in horses using locally isolated *Toxoplasma gondii*. **Veterinary Parasitology**, v. 145, p. 31–36, 2007.

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, Brasil determinado pelos testes de imunofluorescência indireta e ELISA. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, v. 17, p. 317–321, 2008.

GOMES, L.H.; VIEIRA, A.M.L.; TAKAOKA, N.Y. Manual de vigilância de zoonoses e manejo de equídeos do Estado de São Paulo. **Secretaria de estado da Saúde de São Paulo**, v.2, p.1-33, 2010.

GONTIJO, B.; CARVALHO, M. L. R. Leishmaniose Tegumentar Americana. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.36 n.1, p.71-80, 2003.

GONTIJO, C. M. F.; SILVA, E. S.; FUCCIO, M. B.; SOUSA, M. C. A.; PACHECO, R. S.; DIAS, E. S.; ANDRADE FILHO, J. D.; BRAZIL, R. P.; MELO, M. N. Epidemiological studies of an outbreak of cutaneous leishmaniasis in the Rio Jequitinhonha Valley, Minas Gerais, Brazil. **Acta Tropical**, v.81, p.143-150, 2002.

GONTIJO, C.M.F.; MELO, M.N. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. **Revista Brasileira Epidemiologia**, v.7 n.3, 2004.

GRANDI, G.; MOLINARI, G.; TITTARELLI, M.; SASSERA, D.; KRAMER, L.H. Prevalence of *Theileria equi* and *Babesia caballi* infection in horses from Northern Italy. **Vector Borne Zoonotic Disease**, v.11, n.7, p.955–956, 2011.

GRAY, M.L.; HARMON, B.G.; SALES, L.; DUBEY, J.P. Visceral neosporosis in a 10-year-old horse. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.8, p.130-133, 1996.

GÜÇLÜ Z, KARAER Z, BABÜR C, KILIÇ S. Investigation of *Toxoplasma gondii* antibodies in sport horses bred in Ankara province. **Türkiye Parazitoloji Dergisi**, v.31, p. 264–267, 2007.

GUIDI, E.; PRADIER, S.; LEBERT, I.; LEBLOND, A. Piroplasmiasis in an endemic area: analysis of the risk factors and their implications in the control of Theileriosis and Babesiosis in horses. **Parasitology research**, v. 114, n. 1, p. 71-83, 2015.

GUIMARÃES, A. M.; LIMA, J. D.; TAFURI, W. L.; RIBEIRO, M. F. D.; SCIAVICCO, C. J. S.; BOTELHO, A. C. C. Clinical and histopathological aspects of splenectomized foal infected by *Babesia equi*. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 17, n. 4, p. 211-216, 1997.

GUIMARÃES, J.H.; TUCCI, E.C.; BARROS-BATTESTI, D.M. Ectoparasitos de importância veterinária. Editora Plêiade/FAPESP, São Paulo. 218p. 2001.

GUPTA, G.D.; LAKRITZ, J.; KIM, J.H.; KIM, D.Y.; KIM, J.K.; MARSH, A.E. Seroprevalence of *Neospora*, *Toxoplasma gondii* and *Sarcocystis neurona* antibodies in horses from Jeju island, South Korea. **Veterinary Parasitology**, v.106, n.3, p.193-201, 2002.

HEIM, A; PASSOS L. M.; RIBEIRO, M.F.; 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**, v.102, p.63-68, 2007.

HEJLÍČEK K, LITERÁK I. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in horses in the Czech Republic. **Acta Parasitologica**, v. 39, p. 217–219, 1994.

HEMPHILL, A.; GOTTSTEIN, B.; CONRATHS, F.J.; MEERSCHMAN, F.D.; ELLIS, J.T.; INNES, E.A.; McALLISTER, M.M., ORTEGA-MORA, L.M., TENTER, A.M., TREES, A.J., UGGLA, A., WILLIAMS, D.J.L., WOUDA, W. An European perspective on *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v.30, p.877-924, 2000.

HEUCHERT, C. M., DE, G. V., JR., DE ATHAIDE, D. F., BOSE, R., FRIEDHOFF, K. T. Seroepidemiologic studies on *Babesia equi* and *Babesia caballi* infections in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 85, p. 1-11, 1999.

HINZE-SELCH D, DÄUBENER W, ERDAG S, WILMS S. The diagnosis of a personality disorder increases the likelihood for seropositivity to *Toxoplasma gondii* in psychiatric patients. **Folia Parasitologica**, v.57, p. 129–135, 2010.

HOANE J.S.; YEARGAN, M.R.; STAMPER, S.; SAVILLE, W.J.; MORROW, J.K.; LINDSAY, D.S.; HOWE, D.K. Recombinant NhSAG1 ELISA: a sensitive and specific assay for detecting antibodies against *Neospora hughesi* in equine serum. **Journal of Parasitology**, v.91, n.2, p.446–452, 2005.

HOANE, J.S.; GENNARI, S.M.; DUBEY, J.P.; RIBEIRO, M.G.; BORGES, A.S.; YAI, L.E.O.; AGUIAR, D.M.; CAVALCANTE, G.T.; BONESI, G.L.; HOWE, D.K. Prevalence of *Sarcocystis neurona* and *Neospora* spp. infection in horses from Brazil based on presence of serum antibodies to parasite surface antigen. **Veterinary Parasitology**, v.136, p. 155-159, 2006.

HOLBROOK, A.A.; ANTHONY, D.W.; JOHNSON, A.J. Observations on the development of *Babesia caballi* (Nuttall) in the tropical horse tick *Dermacentor nitens* Neumann. **The Journal of protozoology**, v. 15, p. 391–396, 1968.

HOLZMULLER, P., BRAS-GONÇALVES, R., LEMESRE, J. R. Phenotypical characteristics, biochemical pathways, molecular targets and putative role of nitric oxide-mediated programmed cell death in *Leishmania*. **Parasitology**, London, v. 132, p. S19-S32, 2006.

HOMER, M.J.; AGUILAR-DELFIN, I.; TELFORD III, S.R.; KRAUSE, P.J.; PERSING, D.H. Babesiosis. **Clinical Microbiology Review**, v. 13, p. 451–469, 2000.

HORNOK, S.; EDELHOFER, R.; FÖLDVÁRI, G.; JOACHIM, A.; FARKAS R. Serological evidence for *Babesia canis* infection of horses and an endemic focus of *B. caballi* in Hungary. **Acta Veterinaria Hungarica**, v. 55, n. 4, p. 491-500, 2007.

HOSSEINI, M.H.; MORAVEJI, M.; TAHAMTAN, Y.; RAHIMIAN, A.; MOHAMMADI, G.; NAMAVARI, M.M. Seroprevalence of *Neospora* spp. in Horses in North East of Iran. **Iranian Journal of Parasitology**, v. 6, n.2, p.64-68, 2011.

HOWE, D.K.; MACKAY, R.J.; REED, S.M. Equine Protozoal Myeloencephalitis. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v.30, p.659–675, 2014.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – Produção da Pecuária Municipal, v.42, p.1-39, 2014.

IBRAHIM, A.M.; OSMAN, O.M.; ALI, R.H.M.; ISMAIL, A.A.; ANGARA, T.E.E.. Sero-Prevalence of *Toxoplasma Gondii* in Different Horses Groups from Khartoum State, Sudan. **Journal of Applied and Industrial Sciences**, v.2, n.4, p. 152-157, 2014.

IKADAI, H.; OSORIO, C.R.; XUAN, X.; IGARASHI, I.; KANEMARU, T.; NAGASAWA, H.; FUJISAKI, K.; SUZUKI, N.; MIKAMI, T. Detection of *Babesia caballi* infection by enzyme-linked immunosorbent assay using recombinant 48- kDa merozoite rhoptry protein. **International Journal for Parasitology**, v.30, p. 633-635, 2000.

IKADAI, H.; SASAKI, M.; ISHIDA, H.; MATSUU, A.; IGARASHI, I.; FUJISAKI, K.; OYAMADA, T. Molecular evidence of *Babesia equi* transmission in *Haemaphysalis longicornis*. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 76, p. 694-697, 2007.

IKEDA-GARCIA, F. A.; FEITOSA, M. M. Métodos de Diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina. **Clínica Veterinária**, ano XI, n. 62, p. 32-38, 2006.

INNES, E.A., ANDRIANARIVO, A.G., BJÖRKMAN, C., WILLIAMS, D.J.L., CONRAD, P.A. Immune responses to *Neospora caninum* and prospects for vaccination. **Trends in Parasitology**, v.18, n.11, p.497-504, 2002.

INNES, E.A.; BARTLEY, P.ÇM.; MARLEY, S.W.; WRIGTH, S.E.; BUXTON, D. Comparative host-parasite relationships in ovine toxoplasmosis and bovine neosporosis and strategies for vaccination. **Yaccine**, v. 25, p. 5495-5503, 2007.

JACOB, J. C. F; BEZERRA, L. L.; SANTOS, H. A.; SILVA, P. C. A.; MASSARD, C. L. Inquérito Epidemiológico pelo Nested-PCR para Detecção de *Babesia equi* em um Programa de Transferência de Embrião. In: XXIV REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, Porto de Galinhas. **Acta Science Veterinariae**, v. 38, n. 2, p. 379, 2010.

JAKUBEK, E.B.; LUNDÉN, A.; UGGLA, A. Seroprevalences of *Toxoplasma gondii* and *Neospora* sp. infections in Swedish horses. **Veterinary Parasitology**, v.138, n. 3-4, p.194-199, 2006.

JEFFERIES, R.; RYAN, U.M.; IRWIN, P.J. PCR-RFLP for the detection and differentiation of the canine piroplasm species and its use with filter paper-based technologies. **Veterinary Parasitology**, v. 144, p. 20–27. 2007.

JENKINS, M.; BASZLER, T.; BJORKMAN, C. SCHARES, G.; WILLIAMS, D. Diagnosis and seroepidemiology of *Neospora caninum* – associated bovine abortion. **International Journal for Parasitology**, v.32, p.631-636. 2002.

KAISHO, T.; AKIRA, S. Dendritic-cell function in Toll-like receptor and MyD88 knockout mice. **Trends in Immunology**, v. 22, p. 78–83, 2001.

KAPPEMEYER, L.S.; PERRYMAN, L.E.; HINES, S.A.; BASZLER, T.V.; KATZ, J.B.; HENNAGER, S.G.; KNOWLES, D.P. Detection of *equine* antibodies to *Babesia caballi* by recombinant *B. caballi* Rhoptry-Associated Protein 1 in a Competitive Inhibition Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 37, p. 2285-2290, 1999.

KARATEPE, B.; BABÜR, C.; KARATEPE, M.; KILIÇ, S. Seroprevalence of toxoplasmosis in horses in Niğde Province of Turkey. **Tropical Animal Health and Production**, v. 42, p. 385–389, 2010.

KARATEPE, BILGE; KARATEPE MUSTAFA; ÇAKMAK AYŞE; KARAER ZAFER; ERGÜN GÜL. Investigation of seroprevalence of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in horses in Nigde province, Turkey. **Tropical Animal Health and Production**, v.41, p. 109-113, 2009.

KERBER, C.E., LABRUNA, M.B., FERREIRA, F., DE WALL, D.T., KNOWLES, D.P., GENNARI, S.M. Prevalence of *equine* piroplasmosis and its association with tick infestation in the State of São Paulo, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.18, p. 1–8, 2009.

KERBER, C.E.; FERREIRA, F.; PEREIRA, M.C. Control of *equine* piroplasmosis in Brazil. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v. 66, p. 123-127, 1999.

KILBAS, Z.G.; ADANIR, R.; AVCIOGLU, H. Seroprevalence of *Neospora caninum* in racehorse in Ankara, Turkey. **Acta Parasitologica**, v.53, n.3, p.315-316, 2008.

KIZILARSLAN, F.; YILDIRIM, A.; DUZLU, O.; INCI, A.; ONDER, Z.; CILOGLU, A. Molecular Detection and Characterization of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in Horses (*Equus ferus caballus*) in Turkey. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 35, p. 830–835, 2015.

KLIGER EB, SHKAP V, BANETH G, MILDENBERG Z, STEINMAN A. Seroprevalence of *Neospora* spp among asymptomatic horses, aborted mares and horses demonstrating neurological signs in Israel. **Veterinary Parasitology**, v. 148, n.2, p. 109-113, 2007.

KNOWLES, D.P., PERRYMAN, L.E., KAPPMAYER, L.S., HENNAGER, S.G. Detection of equine antibody to *Babesia equi* merozoite proteins by a monoclonal antibody-based Competitive Inhibition Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 29, p. 2056-2058, 1991.

KNOWLES, D.P.JR.; KAPPMAYER, L. S.; PERRYMAN. L. E. Specific immune responses are required to control parasitemia in *Babesia equi* infection. **Infection and Immunity**, v.62, p. 1909-1913, 1994.

KOEHLER K., STECHELE M., HETZEL U., DOMINGO M., SCHONIAN G., ZAHNER H. & BURKHARDT E. Cutaneous leishmaniosis in a horse in southern Germany caused by *Leishmania infantum*. **Veterinary Parasitology**, v.109, p.9-17, 2002.

KOUAM, M.K.; DIAKOU, A.; KANZOURA, V.; PAPADOPOULOS, E.; GAJADHAR, A.A.; THEODOROPOULOS, G. A seroepidemiological study of exposure to *Toxoplasma*, *Leishmania*, *Echinococcus* and *Trichinella* in equids in Greece and analysis of risk factors. **Veterinary Parasitology**, v. 170, p.170–175, 2010.

KUMAR, S.; KUMAR, Y.; MALHOTRA, D.V.; DHAR, S.; NICHANI, A.K. Standardisation and comparison of serial dilution and single dilution enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) using different antigenic preparations of the *Babesia (Theileria) equi* parasite. **Veterinary Research**, v. 34, n. 1, p. 71-83, 2003.

KUTSCHA, J. Effects of Specific *Equine* Babesiosis Treatments on *Equine* Oro-caecal Transit Time as measured by the Lactose 13C-Ureide Breath Test. PhD thesis, the Faculty of Veterinary Medicine of the Ludwig-Maximilians-University Munich. p.27-32. 2008.

KWON H., KIM J.H., KIM M., LEE J.K., HWANG W.S., KIM D.Y. Anti-parasitic activity of depudecin on *Neospora caninum* via the inhibition of histone deacetylase. **Veterinary Parasitology**, v.112, p.269–276, 2003.

LABRUNA, M.B.; KERBER, C.E.; FERREIRA, F.; FACCINI, L.H.; WAAL, D.T.; GENNARI, S. Risk factors to tick infestations and their occurrence on horses in the state of São Paulo, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 97, p. 1-14, 2001.

LAINSON, R. & SHAW, J.J. *Leishmania (Viannia) naiffi* sp. n. a parasite of the armadillo, *Dasypus novemcinctus* (L.) in Amazonian Brazil. **Annales Parasitologie Humanie Comparée** 64: 3-9, 1989.

LAINSON, R.; SHAW, J. J. Leishmaniasis of the New World: taxonomic problems. **British Medical Bulletin**, v. 28, n.1, p. 44-48, 1972.

LANGONI, H.; SILVA, A.V.; CABRAL, K.G.; CUNHA, E.L.P.; CUTOLO, A.A. Prevalência de toxoplasmose em gatos dos Estados de São Paulo e Paraná. **Brazilian Journal of Veterinary Research Animal and Science**, v. 38, n. 5, p. 243-244, 2001.

LANGONI, H.; SILVA, A.V.; PEZERICO, S.B.; LIMA, V.Y. Utilization of modified agglutination test and indirect immunofluorescent antibody test for the detection of *Toxoplasma gondii* antibodies in naturally exposed horses. **Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science**, v. 44, p. 27-32, 2007.

LARANGEIRA, N.L.; ISHIZUKA, M.M.; HYAKUTAKE, S. Prevalência da toxoplasmose equina avaliada pela técnica de imunofluorescência indireta, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana**, v. 99, n.2, p. 158-162, 1985.

LEVINE, N.D. Apicomplexa. The Piroplasms. In: **Veterinary Protozoology**. Iowa State University Press Ames, p. 291-328, 1985.

LEVINE, N.D.; CORLISS, J.O.; COX, F.E.G.; DEROUX, G.; GRAIN, J.; HONIGBERG, B.M.; LEEDALE, G.F.; LOEBLICH, A.R.; LOM, J.; LYNN, D.; MERINPELD, E.G.; PAGE,

F.C.; POLJANSKY, G.; SPRAGUE, V.; VAVRA, J.; WALLACE F.G. A newly revised classification of the Protozoa. **Journal Protozoology**, v. 27, p. 37-58, 1980.

LIMA, H. C., DEKREY, G. K., TITUS, R. G. Resolution of an infection with *Leishmania braziliensis* confers complete protection to a subsequent challenge with *Leishmania major* in BALB/c mice. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 94, n. 1, p.71-76, 1999.

LINDSAY DS, STEINBERG H, DUBIELZIG RR, et al. Central nervous system neosporosis in a foal. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.8, p.507–510, 1996.

LINDSAY, D.S.; DUBEY, J.P. Direct agglutination test for the detection of antibodies to *Sarcocystis neurona* in experimentally infected animals. **Veterinary Parasitology**, v.95, n.2-4, 179-186, 2001.

LINHARES, G.F.C.; MASSARD, C.L.; ARAÚJO, J.L.B. Estudos sobre a epizootiologia de *Babesia caballi* (Nuttall e Strickland, 1910) na microrregião de Goiânia, Estado de Goiás. **Anais da Escola de Agronomia e Veterinária**, v. 27, n. 2, p. 27-33, 1997.

LOCATELLI-DITTRICH, R. Diagnóstico sorológico, isolamento, cultivo e caracterização molecular de *Neospora caninum* em bovinos leiteiros e em equinos no Estado do Paraná, Brasil. 2002. 184f. Tese (Doutorado) – Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná. 2002.

LOCATELLI-DITTRICH, R.; DITTRICH, J.R.; RICHARTZ, R.R.T.B.; GASINOJOINEAU, M.E.; ANTUNES, J.; PINCKNEY, R.D.; DECONTO, I.; HOFFMANN, D.C.S.; THOMAZ-SOCCOL, V. Investigation of *Neospora* sp. and *Toxoplasma gondii* antibodies in mares and in precolostral foals from Parana state, Southern Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 135, p. 215-221, 2006a.

LOCATELLI-DITTRICH, R.; HOFFMANN, D.C.S.; DITTRICH, J.R. Neosporose Equina – Revisão. **Archives of Veterinary Science**, v.11, p.1-10b, 2006.

LOPES, A. P.; SOUSA, S.; DUBEY, J. P.; RIBEIRO, A. J.; SILVESGTRE, R.; COTOVIO, M.; SCHALLIG, H. D. F. H.; CARDOSO, L.; CORDEIRO-DA-SILVA, A. Prevalence of antibodies to *Leishmania infantum* and *Toxoplasma gondii* in horses from the north of Portugal. **Parasites & Vectors**, v. 6, n. 1, p. 178-184, 2013.

LOUZIR, H., *et al.* Immunologic determinants of disease evolution in localized cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania major*. **The Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v. 177, n. 6, p. 1687-1695, 1998.

LUZA, M.; SERRANO-MARTÍNEZ, E.; TANTALEÁN, M.; QUISPE, M.; CASAS, G. Primer reporte de *Neospora caninum*, en caballos de carrera de Lima, Perú. **Salud y Tecnología Veterinaria**. v.1, p.40-45, 2013.

MANCIANTI, F.; NARDONI, S.; PAPINI, R.; MUGNAINI, L.; MARTINI, M.; ALTOMONTE, I.; SALARI, F.; D'ASCENZI, C.; DUBEY, J. P. Detection and genotyping of *Toxoplasma gondii* DNA in the blood and milk of naturally infected donkeys (*Equus asinus*). **Parasites & vectors**, v.7, n. 1, p. 1, 2014.

MANS, B.J.; PIENAAR, R.; LATIF, A.A. **A review of Theileria diagnostics and epidemiology**. International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife, v. 4, p. 104–118, 2015.

MARCONDES, C. B. Doenças transmitidas e causadas por artrópodes. Ed. Atheneu. 1ª edição. 557p. 2009.

Marcondes, C.B. Flebotomíneos. In:_____. Entomologia médica e veterinária. São Paulo: Atheneu, 2001. P. 13-30.

MAROBIN, L.; FLORES, M. L; RIZZATTI, B. B. Prevalência de anticorpos para *Toxoplasma gondii* em emas (*Rhea americana*) em diferentes criatórios do Estado do Rio Grande do Sul. **The Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science**, v. 41, p.5-9, 2004.

MARSH, A.E.; BAAR, B.C.; MADIGAN, J.; LAKRITZ, J.; NORDHAUSEN, R.; CONRAD, P.A. Neosporosis as a cause of equine protozoal myeloencephalitis. **Journal of the American Veterinary Medicine Associatio**, v.209, n.11, p.1907-1913, 1996.

MARSH, A.E.; BARR, B.C.; PACKHAM, A.E.; CONRAD, P.A. Description of a new *Neospora* species (Protozoa: Apicomplexa: Sarcocystidae). **Journal of Parasitology**, v. 84, n.5, p.983–91, 1998.

MARTIN, R. Equine piroplasmiasis: the temporary importation of seropositive horses into Australia. **Australian Veterinary Journal**, v. 77, n. 5, p. 308–309, 1999.

MASLIN, J; BEUGNET, F.; DAVOUST, B.E.; KLOTZ, F. “Babesioses,” **EMC—Maladies Infectieuses**, vol. 1, n. 4, p. 281–292, 2004.

MATSUO, K.; KAMAI, R.; UETSU, H.; GOTO, H.; TAKASHIMA, Y.; NAGAMUNE, K. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in cattle, horses, pigs, and chickens in Japan. **Parasitology International**, v. 63, n. 4, p. 638-639, 2014.

MCALLISTER, M.M.; DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S.; JOLLEY, W.R.; WILLS, R.A.; MCGUIRE, A.M. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal of Parasitology**, v.28, p.1473-8, 1998.

MELHORN, H., SCHEIN, E. Redescription of *Babesia equi* Laveran, 1901 as *Theileria equi* Melhorn, Schein 1998. **Parasitology Research**, v. 84: p. 467-475, 1998.

MENDONÇA, A.D.O.; CERQUEIRA, E.J.L.; ARAUJO, W.N.D.; SILVA, E.M.; SHIMABUKURO, F. H.; SARKIS, D. T.; SHERLOCK, I.; LANGONI, H. Inquérito sorológico para toxoplasmose em equídeos procedentes de duas regiões do Estado da Bahia, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 22, n. 2, p.115 – 118, 2001.

MIAO, Q.; WANG, X.; SHE, L.N.; FAN, Y.T.; YUAN, F.Z.; YANG, J.F.; ZHU, X.Q.; ZOU, F.C. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in horses and donkeys in Yunnan Province, Southwestern China. **Parasites & Vectors**, v. 6 n.1, p.1, 2013.

MODABBER, F. Leishmaniasis. In: Tropical disease research - progress 1991-92: eleventh programme report of the UNDP/WHO Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases (TDR). WHO, Geneva, 1993. p. 77-91.

MONTOYA J.G.; LIESENFELD D.O. Toxoplasmosis. **Lancet**. v.363, p.1965-1976. 2004.

MORAVEJI, M.; HOSSEINI, M.H.; AMRABADI, O.; RAHIMIAN, A.; NAMAZI, F.; NAMAVARI, M. Seroprevalence of *Neospora* spp. in horses in South of Iran. **Tropical Biomedicine**, v.28, n.3, p.514–517, 2011.

MORRIS, D.D. Doenças do Sistema Hemolinfático. In: **Medicina Interna Equina**, 1 ed., Editora Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, p. 491, 2000.

MOTLOANG, M.Y.; THEKISOE, O.M.; ALHASSAN, A.; BAKHEIT, M.; MOTHEO, M.P.; MASANGANE, F.E.; THIBEDI, M.L.; INOUE, N.; IGARASHI, I.; SUGIMOTO, C.; MBATI,

P.A. Prevalence of *Theileria equi* and *Babesia caballi* infections in horses belonging to resource-poor farmers in the north-eastern Free State Province, South Africa. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v. 75, n. 2, p.141-146, 2008.

MUNKHJARGAL, T.; SIVAKUMAR, T.; BATTSETSEG, B.; NYAMJARGAL, T.; ABOULAILA, M.; PUREVTSEREN, B.; BAYARSAIKHAN, D.; BYAMBAA, B.; TERKAWI, M.A.; YOKOYAMA, N.; IGARASHI, Y.O. Prevalence and genetic diversity of equine piroplasms in Tov province, Mongolia. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 16, p.178-185, 2013.

NAGORE, D.; GARCÍA-SANMARTÍN, J.; GARCÍA-PÉREZ, A.L.; JUSTE, R.A.; HURTADO, A. Detection and identification of equine *Theileria* and *Babesia* species by reverse line blotting: epidemiological survey and phylogenetic analysis. **Veterinary Parasitology**, v. 123; p. 41-54, 2004.

NANTES, J.H.; ZAPPA, V. Nutaliose - Revisão de Literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, n. 10, 2008

NAVARRO, I.T.; FREIRE, R.L.; CARLETTI, R.T.; CONTENTE, A.P.A.; NAVARRO, I.T.; PRUDENCIO, L.B.; TSUTSUI, V.S.; MARANA, E.R.M.; ROMÃO, G.O. Surto de toxoplasmose em Santa Isabel do Ivaí - PR, Brasil: sorologia em animais domésticos. In: **XII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária** (Rio de Janeiro, Brasil). 2002.

NAVARRO, I.T.; LISBOA, J.A.N.; REICHMANN, P.; FREIRE, R.L.; CONTENTE, A.P.A.; MARANA, E.R.M.; PRADO, J.P.; PRUDENCIO, L.B.; TSUTSUI, V.S. Estudo soroepidemiológico de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em equinos atendidos no hospital veterinário da Universidade Estadual de Londrina-PR. In: **XII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária** (Rio de Janeiro, Brasil). p.89. 2002.

NAVES, C.S.; FERREIRA, F.A.; CARVALHO, F.S.; COSTA, G.H. Soroprevalência da toxoplasmose em equinos da raça mangalarga marchador no município de Uberlândia, Minas Gerais. **Veterinária Notícias**, v.11, n. 1, p. 45-52, 2005.

NICOLLE, C.; MANCEAUX, L. Sur une infectio a corps de *Leishmania* (ou du organismes voisins) du *gondii*. **Comptes Rendus Academy Science**, v.147, p. 763-766, 1908.

NIEVES, E.; PIMENTA, P.F.P. Developmente of *Leishmania (Viannia) brasiliensis* and *Leishmania (Leishmania) amazonensis* in the sand fly *Lutzomyia migonei* (Diptera: Psychodidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 37, n 1, p. 134-140, 2000.

OIE. World Organization for Animal Health, Equine Piroplasmosis. Aetiology, Epidemiology, **Diagnosis, Prevention and Control References. 2014.** Disponível em: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/AnimalHealthintheWorld/docs/pdf/Diseasecards/EQ_UINE_PRIOPLASMOSIS.pdf. Acessado em: 10.04.2016.

OLIVEIRA FILHO, R.B.; MALTA, K.C.; OLIVEIRA, J.M.; ALBUQUERQUE, P.P.F., MOTA, R.A., SANTANA, V.L.A.; ALVES, L.C.; PINHEIRO JÚNIOR, J. W. Situação epidemiológica da infecção por *Toxoplasma gondii* em equídeos na microrregião do Brejo Paraibano. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 10, p. 995-1000, 2012.

OLIVEIRA, E.; DE ALBUQUERQUE, P.P.F.; DE SOUZA NETO, O.L.; FARIA, E.B.; PINHEIRO JÚNIOR, J.W.P.; MOTA, R.A. Occurrence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in mules and donkeys in the northeast of Brazil. **The Journal of parasitology**, v. 99, n. 2, p. 343-345, 2013.

ONCEL, T.; VURAL, G.; GICIK, Y.; ARSLAN, M.O. Detection of *Babesia (Theileria) equi* (Laveran, 1901) in horses in the Kars province of Turkey, **Türkiye Parazitoloji Dergisi**, v. 31, p. 170–172, 2007.

PACKHAM, A.E.; CONRAD, P.A.; WILSON, W.D; JEANES, L.V.; SVERLOW, K.W.; GARDNER, I.A.; DAFT, B.M.; MARSH, A.E.; BLAGBURN, B.L.; FERRARO, G.L.; BARR, B.C. Qualitative evaluation of selective tests for detection of *Neospora hughesi* antibodies in serum and cerebrospinal fluid of experimentally infected horses. **Journal of Parasitology**, v.88, n.6, p.1239-1246, 2002.

PATITUCCI, A.N.; PÉREZ, M.J.; CÁRCAMO, C.M.; BAEZA, L. Presencia de anticuerpos sericos contra *Neospora caninum* en equinos en Chile. **Archivos de Medicina Veterinária**, v.36, n.2, p.203-206, 2004.

PERRYMAN, L.E., MCGUIRE, T.C., TORBECK, R.L. Ontogeny of lymphocyte function in the equine fetus. **American Journal of Veterinary Research**, v.41, p.1197-1200, 1980.

PFEIFER BARBOSA, I. BÖSE, 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 BARBOSA, I.; FRIEDHOFF, K.T., MASSARD, C.L., LINHARES, G.F.C. Diagnosis of Natural Infection with *Babesia caballi* (Nuttall & Strickland, 1910) in Horses and *Anocentor nitens* (Neumann, 1898) in Itaguaí, Rio de Janeiro, Brazil. **Arquivo Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro**, v. 58, n. 1-2, p. 1-8, 1992.

PHIPPS, L.P.; OTTER, A. Transplacental transmission of *Theileria equi* in two foals born and reared in the United Kingdom. **Veterinary Record**, v. 154, n. 13, p. 406–408, 2004.

PITEL, P.H.; PRONOST, S.; ROMAND, S.; THULLIEZ, P.; FORTIER, G.; BALLEZ, J.J. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in horses in France. **Equine Veterinary Journal**, v.33, p. 205–207, 2001b.

POLIDORI, P.; VINCENZETTI, S. Use of donkey milk in children with cow's milk protein allergy. **Foods**, v.2, p. 151–159, 2013.

POMARES, C.; AJZENBERG, D.; BORNARD, L.; BERNARDIN, G.; HASSEINE, L.; DARDÉ, M. L.; MARTY, P. Toxoplasmosis and horse meat, France. **Emerging Infectious Diseases Journal**, v. 17, n. 7, p. 1327-1328, 2011.

POSADA-GUZMÁN, M.F.; DOLZ, G.; ROMERO-ZÚÑIGA, J. J. E JIMÉNEZ-ROCHA, A. E. Detection of *Babesia caballi* and *Theileria equi* in Blood from Equines from Four Indigenous Communities in Costa Rica. **Hindawi Publishing Corporation Veterinary Medicine International**, v. 2015, p. 6, 2015.

PROCHNO, H.C.; SCORSIN, L.M.; DE MELO, F.R.; BALDANI, C.D.; FALBO, M.K.; AQUINO, L.C.T.D.; LEMOS, K.R. Seroprevalence rates of antibodies against *Theileria equi* in team roping horses from central-western region of Paraná. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 23, n. 1, p. 85-89, 2014.

PRONOST, S.; PITEL, P.H.; ROMAND, S.; THULLIEZ, P.; COLLOBERT, C.; FORTIER, G. *Neospora caninum*: first case in France in an aborted equine fetus. Analysis and perspectives. **Pratique Veterinaire Equine**, v.31, n.122, p.111-114, 1999.

PUSTERLA, N.; CONRAD, P.A.; PACKHAM, A.E.; MAPES, S. M.; FINNO, C. J.; GARDNER, I. A.; BARR, B. C.; FERRARO, G. L.; WILSON, W. D. Endogenous transplacental transmission of *Neospora hughesi* in naturally infected horses. **Journal of Parasitology**, v.97, v.2, p.281–285, 2011.

QUEVEDO, P.S.; AVILA, L.F.C.; SAGGIN, A.; SILVEIRA, T.R.; FEIJÃO, L.S.; FREY JR., F.; CURCIO, B.R.; FARIAS, N.A. Verificação da transmissão vertical de *Neospora* spp. em equinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.35, n.1, p. 29-32, 2015.

RAMOS-VARA, J.A.; ORTIZ-SANTIAGO, B.; SEGALÈS, J.; DUNSTAN, R.W. Cutaneous leishmaniasis in two horses. **Veterinary Pathology**, v.33, p.731–734, 1996.

REED, S.M.; FURR, M.; HOWE, D.K.; JOHNSON, A.L.; MACKAY, R.J.; MORROW, J.K.; PUSTERLA, N.; WITONSKY, S. Equine Protozoal Myeloencephalitis: An Updated Consensus Statement with a Focus on Parasite Biology, Diagnosis, Treatment, and Prevention. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.30, p. 491–502, 2016.

REIS, A. B.; MARTINS-FILHO, O. A.; TEIXEIRA-CARVALHO, A.; CARVALHO, M.G.; MAYRINK, W.; FRANÇA-SILVA, J.C.; GIUNCHETTI, R.C.; GENARO, O.; CORRÊA-OLIVEIRA, R. Parasite density and impaired biochemical/hematological status are associated with severe clinical aspects of canine visceral leishmaniasis. **Research in Veterinary Science**, v.81, n.1, p.68-75, 2006.

REITHINGER, R.; DUJARDIN, J.; LOUZIR, H.; PIRMEZ, C.; ALEXANDER, B.; BROOKER, S. Cutaneous leishmaniasis. **Lancet Infectious Diseases**, v.7, n.9, p.581-596, 2007.

REITHINGER, R.; DUJARDIN, J. C. Molecular Diagnosis of Leishmaniasis: Current Status and Future Applications. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 45, n. 1, p. 21-25, 2007.

REUSS, S.M.; DUNBAR, M.D.; MAYS, M.B.C.; OWEN, J.L.; MALLICOTE, M.F.; ARCHER, L.L.; WELLEHAN JR, J.F.X. Autochthonous *Leishmania siamensis* in Horse, Florida, USA. **Emerging Infectious Diseases**, v. 18, n. 9, 2012.

REY, L. Parasitologia. 3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 856 p.

RIBEIRO, M. F.; COSTA, J. O.; GUIMARAES, A. M. Epidemiological aspects of *Babesia equi* in horses in Minas Gerais, Brazil. **Veterinary Research Communications**, v. 23, p. 385-390, 1999.

RIBEIRO, M.J.M.; ROSA, M.H.F.; BRUHN, F.R.P.; GARCIA, A.M.; ROCHA, C.M.B.M.; GUIMARÃES, A.M. Seroepidemiology of *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma gondii* and *Neospora* spp. among horses in the south of the state of Minas Gerais, Brazil. **Brazilian Journal Veterinary Parasitology**, v. 25, n. 2, p. 142-150, 2016.

RINALDI, L.; SCALA A. Toxoplasmosis in livestock in Italy: an epidemiological update. **Parassitologia**, v.50, p. 59–61, 2008.

ROLÃO, N.; MARTINS, M.J.; JOÃO, A.; CAMPINO, L. Equine infection with *Leishmania* in Portugal. **Parasite**, v.12, p.183-186, 2005.

ROMERO, G. A. S.; ORGE, M. G. O.; GUERRA, M. V. F; et al. Antibody response in patients with cutaneous leishmaniasis infected by *Leishmanis (Viannia) braziliensis* or *Leishmania (Viannia) guyanensis* in Brazil. **Acta Tropica**, v.93, n._, p.49-56, 2005.

ROMERO, J.J.; PEREZ, E.; FRANKENA, K. Effect of a killed whole *Neospora caninum* tachyzoite vaccine on the crude abortion rate of Costa Rican dairy cows under field conditions. **Veterinary Parasitology**, v. 123, p. 149-159, 2004.

RONCATI, N. V.; BACCARIN, R. Y. A.; DE OLIVEIRA MASSOCO, C.; FERNANDES, W. R. Ocorrência de *Theileria equi* congênita em potros Puro Sangue Lusitano diagnosticada por RT-PCR. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.9, n. 1, p. 46-52. 2011.

RONCATI, N.V. Ocorrência de *Theileria equi* congênita em potros Puro Sangue Lusitano no Brasil, diagnosticada através da técnica de RT-PCR. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Clínica Médica, São Paulo, 69f. 2006.

ROSA, C.; KASAI, N.; SOUZA, S.L.P.; GUERRA, J.L.; REGO, A.A.; GENNARI, S.M. Comparação das Técnicas de Imuno-Histoquímica e Bioensaio em Camundongos para Pesquisa de *Toxoplasma gondii* em Tecidos de Caprinos, Experimentalmente Inoculados. **Arquivo do Instituto Biológico**, v.68, n.1, p.13-17, 2001.

ROSALES, R.; RANGEL-RIVAS, A.; ESCALONA, A.; JORDAN, L.S.; GONZATTI, M.I.; ASO, P.M.; PERRONE, T.; SILVA-ITURRIZA, A.; MIJARES, A. “Detection of *Theileria equi* and *Babesia caballi* infections in Venezuelan horses using Competitive-Inhibition ELISA and PCR.” **Veterinary Parasitology**, v. 196, n. 1-2, p. 37–43, 2013.

ROTUREAU, B. Are New World leishmaniasis becoming anthroponoses? **Medical Hypotheses**, v. 67, p.1235–1241, 2006.

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

SALIB, F.A.; YOUSSEF, R. R.; RIZK, L.G.; SAID, S.F. Epidemiology, diagnosis and therapy of *Theileria equi* infection in Giza, Egypt. **Veterinary world**, v.6, n. 2, p. 76-82, 2013.

SALIM, B.O.M.; HASSAN, S.M.; BAKHEIT, M.A.; ALHASSAN, A.; IGARASHI, I.; KARANIS, P.; ABDELRAHMAN, M.B. Diagnosis of *Babesia caballi* and *Theileria equi* infections in horses in Sudan using ELISA and PCR. **Parasitology Research**, v. 103, p. 1145-1150, 2008.

SANTOS, T. M.; FERRAZ, P. N.; DE ALMEIDA, F. Q.; MASSARD, C.L.; BALDANI, C. D.; BOTTEON, P.D.T.L.; SANTOS, H.A.; MACHADO, R.Z.; DE MORAES ANDRADE, C. Estudo comparativo de três métodos de diagnóstico para detecção de anticorpos anti-*Theileria equi* em eqüinos de áreas endêmicas do estado do Rio de Janeiro. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 46, n. 6, p. 484-490, 2009.

SANTOS, T.M.; ROIER, E.C.R.; SANTOS, H.A.; PIRES, M.S.; VILELA, J.A.R.; MORAES, L.M.B.; ALMEIDA, F.Q.; BALDANI, C.D.; MACHADO, R.Z.; MASSARD, C.L. Factors associated to *Theileria equi* in equids of two microregions from Rio de Janeiro, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.20, p.235–241, 2011.

SEO, M.G.; YUN, S.H.; CHOI, S.K.; CHO, G.J., PARK, Y.S.; KWON, O.D.; CHO, K.H.; KIM, T.H.; JEONG, K.S.; PARK, S.J.; KWON, Y.S.; KWAK, D. Seroprevalence of equine piroplasms in the Republic of Korea. **Veterinary Parasitology**, v. 179, n. 1-3, p. 224-226, 2011.

SHAAPAN, R.M.; ABO-ELMAATY, A.M.; ABD EL-RAZIK, K.A.; ABD EL-HAFEZ, S.M. PCR and serological assays for detection of *Toxoplasma gondii* infection in sport horses in Cairo, Egypt. **Asian Journal of Animal and Veterinary Advance**, v. 7, p.158- 165, 2012.

SIBEKO, K.P.; OOSTHUIZEN, M.C.; COLLINS, N.E.; GEYSEN, D.; RAMBRITCH, N.E.; LATIF, A.A.; GROENEVELD, H.T.; POTGIETER, F.T.; COETZER, J.A.W. Development and evaluation of a real-time polymerase chain reaction test for the detection of *Theileria parva* infections in Cape buffalo (*Syncerus caffer*) and cattle. **Veterinary Parasitology**, v.155, p.37–48, 2008.

SIGG, L.; GERBER, V.; GOTTSTEIN, B.; DOHERR, M.G.; FREY, C.F. Seroprevalence of *Babesia caballi* and *Theileria equi* in the Swiss horse population. *Parasitology International*, v. 59, p. 313–317, 2010.

SILVA, F.W.S.; ALVES, N. D.; AMÓRA, S.S.A.; TEXEIRA, F.H.V.; ACCIOLY, M.P.; CARVALHO, C.G.; NÓBREGA, R.M.; FILGUEIRA, K.D.; FEIJÓ, F.M.C. TOXOPLASMOSE: UMA REVISÃO. **Ciência Animal**, v.16, n. 2, p.71-77, 2006.

SILVA, N.R.S.; CHAPLIN, E.L.; ARAUJO, F.A.P.; PEREIRA, R.A.P. Prevalência de anticorpos toxoplásmicos em soros de equinos no município de Porto Alegre, RS. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, v. 9, p. 105-107, 1981.

SILVA, R.A.M.S. Antibodies to toxoplasmosis in horses from Pantanal, Brazil. *Veterinária e Zootecnia*, v.12, n.1/2, p. 20-25, 2005.

SILVEIRA, F.T., ISHIKAWA, E.A., DE SOUZA, A.A., LAINSON, R. An outbreak of cutaneous leishmaniasis among soldiers in Belem, Pará State, Brazil, caused by *Leishmania (Viannia) lindenbergi* n. sp. A new leishmanial parasite of man in the Amazon region. **Parasite**, v.9, n.1, p. 43-50, 2002.

SILVEIRA, F.T.; SHAW, J.J.; BRAGA, R.R.; ISHIKAWA, E. Dermal leishmaniasis in the amazon region of Brazil: *Leishmania (Viannaia) lainsoni* sp. a new parasite from the state of Pará. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.82, p.289–292, 1987.

SOARES, I.R.; SILVA, S.O.; MOREIRA, F.M.; PRADOA, L.G.; FANTINI, P.; MARANHÃO, R. DE P.; DA SILVA FILHO, J.M.; MELO, M.N.; PALHARES, M.S. First evidence of autochthonous cases of *Leishmania (Leishmania) infantum* in horse (*Equus*

caballus) in the Americas and mixed infection of *Leishmania infantum* and *Leishmania (Viannia) braziliensis*. **Veterinary Parasitology**, v.197, p.665–669, 2013.

SOLANO-GALLEGO, L.; FERNÁNDEZ BELLON, H.; SERRA, P.; GALLEG0, M.; RAMIS, A.; FONDEVILLA, D.; FERRER, L. Cutaneous leishmaniosis in three horses in Spain. **Equine Veterinary Journal**, v.35, n.3, p.320-323, 2003.

SOUZA, A.P.; SARTOR, A.A.; BELLATO, V.; SILVA, A.B. Prevalência de anticorpos anti-*Babesia equi* em equinos do Planalto Catarinense. **Ciência Rural**, v. 30, p.119–120, 2000.

SOUZA, M.A.; SILVA, A.G; AFONSO-CARDOSO, S.R.; FAVORETO JUNIOR, S.; FERREIRA, M.S. Perfil de isotipos de imunoglobulinas e subclasses de IgG na leishmaniose tegumentar americana. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 38, n. 2, p. 137-141, 2005.

SPICKLER, R. A., ROTH J.A., GALYON, J., LOFSTEDT, J. Emerging and exotic diseases of animals - 4th edition, p. 383, 2010.

STELMANN, U.J.P. Fatores associados à infecção por *Sarcocystis neurona*, *Neospora spp.* e *Toxoplasma gondii* em equinos da microrregião serrana do estado do Rio de Janeiro (Tese). Rio de Janeiro: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; 2014. 119p. Tese (Doutorado em Ciencia, Tecnologia e Inovacao em Agropecuaria). Pro-Reitoria de Pesquisa e Pos-Graduacao, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropedica, RJ, 2014.

STELMANN, U.J.P.; AMORIM, R.M. Mieloencefalite protozoária equina. **Veterinária e Zootecnia**, v.17, n.2, p.163-176, 2010.

STELMANN, U.J.P.; ULLMANN, L.S.; LANGONI, H.; AMORIM, R.M. Equine neosporosis: search for antibodies in cerebrospinal fluid and sera from animals with history of ataxia. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.33, n.2, p.99-102, 2011.

SU, C.; SHWAB, E.K.; ZHOU, P.; ZHU, X.Q.; DUBEY, J.P. Moving towards an integrated approach to molecular detection and identification of *Toxoplasma gondii*. **Parasitology**, v. 137, n.1, p. 1-11, 2010.

SUMBRIA, D., SINGLA, L.D., SHARMA, A., MOUDGIL, A.D., BAL, M.S. Equine trypanosomosis in central and western Punjab: prevalence, haemato-biochemical response and associated risk factors. **Acta Tropica**, v. 138, p. 44–50, 2014.

SUMBRIA, D.; SINGLA, L.; SHARMA, A. *Theileria equi* and *Babesia caballi* infection of equids in Punjab, India: a serological and molecular survey. **Tropical Animal Health and Production**, v. 48, p. 45–52, 2016.

SZARGIKI, R. Comparação de métodos diagnósticos em leishmaniose tegumentar americana. 2005. 93f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia, Parasitologia e Patologia Geral) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

SZARGIKI, R.; CASTRO, E. A.; LUZ, E.; KOWALTHUK, W.; MACHADO, A.M.; THOMAZ-SOCCOL, V. Comparison of serological and parasitological methods for Cutaneous Leishmaniasis diagnosis in the State of Paraná, Brazil. **Brazilian Journal of Infectious Disease**, v.13, n.1, p.47-52, 2009.

TAFARO, A.; MAGRONE, T.; JIRILLO, F. Immunological properties of donkey's milk: its potential use in the prevention of atherosclerosis. **Current Pharmaceutical Design**, v. 13, p. 3711–3717, 2007.

TALAFHA, A.Q.; ABUTARBUSH, S.M.; RUTLEY, D.L. Seroprevalence and Potential Risk Factors Associated with *Neospora* spp. Infection among Asymptomatic Horses in Jordan. **Korean Journal for Parasitology**, v. 53, n. 2, p.163-167, 2015.

TASSI, P. *Toxoplasma gondii* infection in horses. A review. **Parassitologia**, v. 49, n. 1-2, p. 7-15, 2007.

TAVALLA, M.; SABAGHAN, M.; ABDIZADEH, R.; KHADEM VATAN, S.; RAFIEI, A.; PIRANSHAHI, A.R. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora* spp. Infections in Arab Horses, Southwest of Iran. **Jundishapur journal of microbiology**, v. 8, n. 3, 2015.

TEGLAS, M.; MATERN, E.; LEIN, S.; FOLEY, P.; MAHAN, S.M. E FOLEY, J. "Ticks and tick-borne disease in Guatemalan cattle and horses," **Veterinary Parasitology**, v. 131, n. 1-2, p. 119–127, 2005.

TITUS, R. G.; SHERRY, B.; A. CERAMI. The involvement of TNF, IL-1 and IL-6 in the immune response to protozoan parasites. **Immunoparasitology Today**, p.13-16, 1991.

TOLEZANO, J. E. Ecoepidemiological aspects of American cutaneous leishmaniasis in the state of São Paulo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 89, p. 427– 434, 1994.

TORRES, A.J.; FINGER, I.S.; FARIAS, N.A.R.; NIZOLI, L.Q.; SILVA, S.S.; NOGUEIRA, C.E.W. Aspectos epidemiológicos da Theileriose equina e sua relação com o carrapato *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* em duas propriedades na região da campanha do Rio Grande do Sul-Brasil. **Revista Ibero-latinoamericana de parasitología**, v.71, n.1, p. 70-71, 2012.

TOSCAN, G.; CADORE, G.C.; PEREIRA, R.C.F.; SILVA, G.B.;CEZAR, A.S.; SANGIONI, L.A.; OLIVEIRA, L.S.S.; VOGEL, F.S.F. Neosporose equina: ocorrência de anticorpos anti-*Neospora* spp. e associação entre *status* sorológico de éguas e de suas crias. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, n.8, p.641-645, 2010.

TRUJILLO, C.; RAMÍREZ, R.; VÉLEZ, I.D.; BERBERICH, C. The humoral immune response to the kinetoplastid membrane protein-11 in patients with American leishmaniasis and chagas disease: prevalence of IgG subclasses and mapping of epitopes. **Immunology Letters**, Amsterdam, v. 70, n. 3, p. 203-209, 1999.

TRUPPEL, J.H.; OTOMURA, F.; TEODORO, U.; MASSAFERA, R.; COSTA-RIBEIRO, M.C.V.; CATARINO, C.M.; DALAGRANA, L.; FERREIRA, M.E.M.C.; THOMAZ-SOCCOL, V. Can Equids Be a Reservoir of *Leishmania braziliensis* in Endemic Areas? **PLOS ONE**, v.9, n.4, 2014.

UCHÔA, C.M.A.; SERRA, C.M.B.; DUARTE, R.; MAGALHÃES, C.M.; SILVA, R.M.; THEOPHILO, F.; FIGLIUOLO, L.P.; HORTA, F.T.; MADEIRA, M.F. Aspectos sorológicos e epidemiológicos da leishmaniose tegumentar americana canina em Maricá, Rio de Janeiro, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.34, n.6, p.563-568, 2001.

UGGLA, A.; MATTSON, S.; JUNTTI, N. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in cats, dogs and horses in Sweden. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.31, p. 219-222, 1990.

VALENÇA, S.R.F.A.; VALENÇA, R.M.B.; PINHEIRO JUNIOR, J.W.; ALBUQUERQUE, P.P.F.; SOUZA NETO, O.L.; MOTA, R.A. Risk factors of occurrence of *Toxoplasma gondii* among horses in the state of Alagoas, Brazil. **Acta Parasitologica**, v.60, n.4, p.707–711, 2015.

VALENÇA, S.R.F.A.; VALENÇA, R.M.B.; PINHEIRO JUNIOR, J.W.; ALBUQUERQUE, P.P.F.; SOUZA NETO, O.L.; MOTA, R.A. Risk Factors for Occurrence of Anti-*Neospora* spp. Antibodies in Horses From Alagoas, Brazil. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.35, p.917–921, 2015.

VAN KNAPEN, F.; FRANCHIMONT, J.H.; VAN DER LUGT, G. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in farm animals in The Netherlands and its implication for meat inspection. **The Veterinary Quarterly**, v. 4, p.101–105, 1982.

VARDELEON D, MARSH AE, THORNE JG, LOCH W, YOUNG R, JOHNSON PJ. Prevalence of *Neospora hughesi* and *Sarcocystis neurona* antibodies in horses from various geographical locations. **Veterinary Parasitology**, v.95 p.273-282, 2001.

VEDOVELLO FILHO, D., JORGE, F.A., LONARDONI, M.V.C., TEODORO, U., SILVEIRA, T.G.V. American Cutaneous Leishmaniasis in horses from endemic areas in the North-Central Mesoregion of Paraná State, Brazil. **Zoonoses Public Health**, v.55, p.149–155, 2008.

VEGA, S.; DOMINGO, R. Study of the serological prevalence of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in pure Spanish breed horses in the Valencian community. Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. **Veterinary Medicine**, v. 69, n. 1-2, p. 1-6, 2012.

VERONESI, F.; DIAFERIA, M.; MANDARA, M. T.; MARENZONI, M. L.; CITTADINI, F.; FIORETTI, D.P. *Neospora* spp. infection associated with equine abortion and/or stillbirth rate. **Veterinary Research Communications**, v.32, n. 1, p. 223–226, 2008.

VEXENAT, J.A.; BARRETTO, A.C.; ROSA, A.C.O.; SALES, C.C.; MAGALHÃES, A. Infecção natural de *Equus asinus* por *Leishmania braziliensis braziliensis* - Bahia, Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.81, p.237-238, 1986.

VIAL, H.J.; GORENFLOT, A. Veterinary Chemotherapy against babesiosis. **Parasitology**, v.138, p. 147–160, 2006.

VIDOTTO, O.; KANO, F.S.; FREIRE, R. L.; MITSUKA, R.; OGAWA, L.; BANESI, G.; NAVARRO, I.T.; FRANCISCON, F.S.G. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em equinos procedentes de quatro Estados (SP, PR, MS e MT) abatidos em Apucarana, PR. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 18, n. 1, p. 9-13, 1997.

VIEIRA, A.M.L.; SOUZA, C.E.; LABRUNA, M.B.; MAYO, R.C.; SOUZA, S.S.L.; CAMARGO-NEVES, V.L.F. **Manual de Vigilância Acarológica**. São Paulo: Secretaria de Estado da Saúde/Superintendência de Controle de Endemias, 2004.

VIEIRA, M. D. G. S., OLIVEIRA, F., ARRUDA, S., BITTENCOURT, A. L., BARBOSA JR, A. A., BARRAL-NETTO, M., & BARRAL, A. B-cell infiltration and frequency of cytokine producing cells differ between localized and disseminated human cutaneous leishmaniasis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 97, n.7, p. 979-83. 2002.

VIEIRA, R.F.; BIONDO, A.W.; NASCIMENTO, D.D.; VIEIRA, T.S.; FINGER, M.A.; SICUPIRA, P.M.; DUTRA, L.H.; DECONTO, I.; BARROS-FILHO, I.R.; DORNBUSCH, P.T.; BIONDO, A.W.; VIDOTTO, O. Seroepidemiological survey of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in horses from a rural and from urban areas of Parana State, southern Brazil. **Ticks Tick Borne Disease**, v. 4, n.6, p.537–541, 2013.

VILLALOBOS, E.M.C.; LARA, M.C.C.S.H.; CUNHA, E.M.S.; SOARES, R.M. Ocorrência de anticorpos anti- *Toxoplasma gondii* em soro de eqüídeos oriundos de Propriedades da região do vale do ribeira, estado de São Paulo e abatidos em matadou-ro no estado do Paraná. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 72, n.2, p. 1-64, 2005.

WEISS, D.J.; MCCLAY, C.B. Studies on the pathogenesis of the erythrocyte destruction associated with the anemia of inflammatory disease. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 17, n. 4, p. 90 - 93, 1998.

WISE, L. N.; KAPPEMEYER, L. S.; MEALEY, R. H. AND KNOWLES, D. P. “Review of equine piroplasmiasis,” **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 27, n. 6, p. 1334–1346, 2013.

WISE, L.N.; PELZEL-MCCLUSKEY, A.M.; MEALEY, R.H.; KNOWLES, D.P. Equine Piroplasmiasis. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 30, n. 3, p. 677-693, 2014.

WOBESER, B.K.; GODSON, D.L.; REJMANEK, D.; DOWLING, P. Equine protozoal myeloencephalitis caused by *Neospora hughesi* in an adult horse in Saskatchewan. **Canadian Veterinary Journal**, v.50, p.851–853, 2009.

YANG, N.; MU, M.Y.; YUAN, G.M.; ZHANG, G.X.; LI, H.K.; HE, J.B. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in slaughtered horses and donkeys in Liaoning province, northeastern China. **Parasite & Vectors**, v. 6, p. 140, 2013.

YEARGAN, M.R.; ALVARADO-ESQUIVEL, C.; DUBEY, J.P.; HOWE, D.K. Prevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona* and *Neospora hughesi* in horses from Mexico. **Parasite**, v.20, n.29, 2013.

YOSHIDA, E.L.A.; CORREA, F.M.A.; MARQUES, A.S.; STOLF, H.O.; DILLON, N.L.; MOMEN, H.; GRIMALDI JR, G. Human, canine and Equine (*Equus caballus*) leishmaniasis due to *Leishmania braziliensis* (= *L. braziliensis braziliensis*) in the south-west region of São Paulo State, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.85, p. 133-134, 1990.

ZAUGG, J. L. Babesiosis. In Smith, B.P., **Large Animal Internal Medicine**. p. 1051- 1055, St. Louis, Missouri, USA: Mosby Inc., 2002.

ZAUGG, J.L. Babesiose. In: SMITH, B. P. **Medicina Interna de Grandes Animais**, 3ed. Barueri: Barueri, p. 1051-1055, 2006.

ZOVEIN, A.; EDRISSIAN, G.H.; NADIM, A. Application of the indirect fluorescent antibody test in serodiagnosis of cutaneous leishmaniasis in experimentally infected mice and naturally infected *Rhombomys opimus*. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.78, p.73-77, 1984.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GERAL

Determinar as prevalências e fatores de risco associados às infecções por *Leishmania* spp., *Babesia caballi* (Nuttall & Strickland, 1910), *Theileria equi* (Mehlhorn & Schein, 1998), *Toxoplasma gondii* (Nicolle & Manceaux, 1909), *Neospora* spp. em equídeos submetidos à diferentes regimes de criação

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Detectar DNA de *Leishmania* spp. a partir de sangue de equídeos, através da Reação em Cadeia da Polimerase;
- Determinar a prevalência de anticorpos IgG anti-*Babesia caballi* e anti-*Theileria equi* em soro de equídeos através do Ensaio de Imunoadsorção Enzimática e avaliar os fatores de risco associados às infecções;
- Determinar a prevalência de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii*, através do Teste de Aglutinação Modificado e avaliar os fatores de risco associados às infecções;
- Determinar a prevalência de anticorpos IgG anti- anti-*Neospora* spp., através do Teste de Aglutinação Modificado e avaliar os fatores de risco associados às infecções;

CAPÍTULO 1

Pesquisa parasitológica e molecular de *Leishmania* spp. em equídeos

Pesquisa Parasitológica e Molecular de *Leishmania* spp. em equídeos

Neurisvan Ramos Guerra¹; Hévila Mara Moreira Sandes Guerra¹; Edson Moura da Silva¹; Maria Inês de Assis Cavalcanti¹; Jussara Valença de Alencar Ramos²; Maria Eugênia Farias Gama³; Leucio Câmara Alves¹

¹ Laboratório de Doenças Parasitárias dos Animais Domésticos, Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco

²Secretaria de Saúde – Prefeitura Municipal de Igarassu – PE

³Secretaria de Saúde – Prefeitura Municipal do Cabo de Santo Agostinho – PE

Resumo

As leishmanioses são doenças parasitárias de caráter zoonótico causadas por várias espécies de protozoários do gênero *Leishmania*, que acometem o homem e diferentes espécies de animais. Nos equídeos, independentemente da espécie de *Leishmania* a manifestação clínica é cutânea, sendo relatada a presença nódulos, pápulas, lesões ulceradas, lesões crostosas e regiões de alopecia. Estudos em equídeos ainda são pontuais, sendo na sua maioria, inquéritos sorológicos cujos resultados podem revelar animais falso-positivos devido à ocorrência de reações cruzadas. Diante disso, esse trabalho teve como objetivo realizar pesquisa molecular de *Leishmania* spp. em Equídeos de Áreas Endêmicas do Nordeste do Brasil. Um total de 400 amostras de sangue de equídeos clinicamente saudáveis foram analisadas por meio de testes parasitológico direto e reação em cadeia da polimerase (PCR). Esse foi o primeiro estudo que contemplou diversas mesorregiões do estado de Pernambuco realizando avaliação parasitológica e molecular de *Leishmania* spp. em equídeos, os quais resultaram negativos tanto nos esfregaços de sangue em lâmina quanto na PCR. O presente estudo sugere que os equídeos não participam da cadeia epidemiológica das leishmanioses no estado de Pernambuco.

Palavras-chave: Leishmanioses; Doença infecciosa; Zoonoses; Saúde pública.

Abstract

Leishmaniasis are zoonotic parasitic diseases caused by several protozoan species of the genus *Leishmania* that affect man and different species of animals. In equidae, regardless of the species of *Leishmania* the clinical manifestation is cutaneous, being reported the presence of nodules, papules, ulcerated lesions, crusted lesions and regions of alopecia. Studies in equines are still punctual, most of which are serological surveys whose results may reveal false-positive animals due to the occurrence of cross-reactions. Therefore, this work aimed to perform molecular research on *Leishmania* spp. In equids of Endemic Areas of Northeastern Brazil. A total of 400 blood samples from clinically healthy equidae were analyzed by direct parasitological tests and polymerase chain reaction (PCR). This was the first study that

contemplated several mesoregions of the state of Pernambuco performing parasitological and molecular evaluation of *Leishmania* spp. in equids, which were negative in both blood smears and PCR. The present study suggests that equidae do not participate in the epidemiological chain of leishmaniasis in the state of Pernambuco.

Keywords: Leishmaniasis; Infectious disease; Zoonoses; Public health.

Introdução

As leishmanioses são doenças parasitárias de caráter zoonótico causadas por várias espécies de protozoários do gênero *Leishmania*, que acometem o homem e diferentes espécies de animais (ROTUREAU, 2006). De acordo com a espécie de *Leishmania* envolvida, duas formas da doença são vistas: a tegumentar e a visceral (LYNN & MCMASTER, 2008), com amplo espectro de manifestações clínicas que abrange desde cura espontânea, em algumas formas tegumentares, à doença fatal na infecção visceral (MARZOCHI & MARZOCHI, 1994).

Em equídeos, a infecção por *Leishmania* spp. já foi identificada no Sudão (MUKHTAR et al., 2000) na Alemanha (KOEHLER et al., 2002; MÜLLER et al., 2009), Suíça (MÜLLER et al., 2009), Espanha (SOLANO-GALEGO et al., 2003; FERNÁNDEZ-BELLON, 2006), Portugal (ROLÃO et al., 2005) e Itália (SGORBINI et al., 2014). No continente Americano, a doença foi detectada nos Estados Unidos da América (REUSS et al., 2012), Porto Rico (RAMOS-VARA et al., 1996), Venezuela (MORALES et al., 2010) e Argentina (MAZZA, 1927).

No Brasil, o primeiro registro de leishmaniose cutânea em equídeos foi realizado em *Equus asinus* no estado do Ceará (ALENCAR, 1959), e somente após duas décadas nos estados da Bahia (VEXENAT et al., 1986), Rio de Janeiro (AGUILAR & RANGEL, 1986; AGUILAR et al., 1986; AGUILAR et al., 1987; BARBOSA-SANTOS et al., 1991), Espírito Santo (FALQUETO et al., 1987), Pernambuco (BRANDÃO-FILHO et al., 2003), Paraná (VEDOVELLO FILHO et al., 2008; TRUPPEL et al. 2014), São Paulo (YOSHIDA et al., 1990; FEITOSA et al., 2012) e Minas Gerais (SOARES et al., 2013).

Nos equídeos, independentemente da espécie de *Leishmania*, a manifestação clínica é cutânea, não havendo um padrão característico, sendo relatada a presença de nódulos, pápulas, lesões ulceradas, lesões crostosas e regiões de alopecia (KOEHLER et al., 2002; SOLANO-GALLEGO et al., 2003; ROLÃO et al., 2005; VEXENAT et al., 1986; FALQUETO et al., 1987; BARBOSA-SANTOS et al., 1994; VEDOVELLO FILHO et al., 2008).

Estudos em equídeos ainda são pontuais, sendo na sua maioria, inquéritos sorológicos (CERQUEIRA et al., 2003; DUARTE et al., 2001; VILLALOBOS et al., 2010; SGORBINI et

al., 2014) cujos resultados podem revelar animais falso-positivos devido à ocorrência de reações cruzadas (REITHINGER et al., 2003b).

Diante disso, esse trabalho teve como objetivo avaliar a prevalência de *Leishmania* spp. em equídeos de áreas endêmicas do estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil.

Material e Métodos

Área de estudo e Animais

Esse trabalho foi realizado na Região Metropolitana do Recife, Zona da Mata, Agreste e Sertão (IBGE 2010), no estado de Pernambuco (8° 4' 14" S, 37° 15' 57" O), Nordeste do Brasil.

Foram analisadas 400 amostras de sangue de equídeos clinicamente saudáveis, incluindo equinos (387/400), muares (4/400) e asininos (9/400) de ambos os sexos com idade de até 25 anos provenientes de 41 propriedades rurais.

Dados referentes às características dos animais e dos rebanhos, sistema de criação, presença de outros animais, idade, sexo, raça, aptidão e condição física foram coletados por meio de questionários investigativos. O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal Rural de Pernambuco sob a licença de número 036/2014.

Exame Parasitológico direto

De cada animal utilizado, foram confeccionados esfregaços de sangue os quais foram corados pelo método Panótico Rápido LB® (LABORCLIN) para a pesquisa de formas amastigotas em microscopia óptica.

Extração de DNA e Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

DNA foi extraído a partir de 200µL de sangue por meio do QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen®, Santa Clarita, CA, USA).

Todas as amostras foram analisadas por meio da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) utilizando-se Top Taq™ Master Mix Kit (250) Qiagen (3 mM MgCl₂, 400 µM each dNTP).

A PCR específica para *Leishmania* spp. foi realizada como descrito por Michalsky et al. (2002) usando os iniciadores L1 (5'-GGG GAG GGG CGT TCT GCG AA-3') e L2 (5'-GGC CCA CTA TAT TAC ACC AAC CCC-3').

Em um volume final de 25 μ L foi usada a seguinte mistura: 12,5 μ L do Mix; 2,0 μ L de cada primer (10 pmol/ μ L); 5,5 μ L de água ultrapura e 3 μ L de DNA.

Todo o material utilizado foi previamente esterilizado para evitar contaminação. Em todas as reações foram usados DNA extraído de sangue de animais infectados e livres do parasito como controles positivos e negativos, respectivamente.

Resultados e Discussão

Esse foi o primeiro estudo que contemplou diversas mesorregiões do estado de Pernambuco realizando avaliação parasitológica e molecular de *Leishmania* spp. em equídeos, os quais resultaram negativos tanto nos esfregaços de sangue em lâmina quanto na Reação em Cadeia da Polimerase.

A leishmaniose equina tem sido um achado comum nas Américas Central e do Sul (SHAW, 2002), particularmente, *L. braziliensis*, indicando ser os equídeos são reservatórios nas áreas peri-urbanas do Brasil (AGUILAR et al., 1987), sendo a doença cutânea a única forma evidenciada em equídeos (KOEHLER et al., 2002).

A ausência de infecção em equinos demonstra a não participação desta espécie na epidemiologia da leishmaniose nas áreas estudadas.

Os animais aqui examinados eram clinicamente saudáveis o que, por si só, não elimina a possibilidade de estarem infectados como observado por Cerqueira et al. (2003), que relataram que mesmo após infectados, os animais permaneciam aparentemente saudáveis.

No estado de Pernambuco, área do presente estudo, já houve identificação de equino positivo para *Leishmania braziliensis* (BRANDÃO FILHO et al., 2003). Contudo, foi um estudo pontual com poucos animais avaliados em um único local. De acordo com Tolezano (1994) apesar de estudos demonstrarem a infecção de equídeos pelo protozoário, nenhum comprovou sua participação no ciclo infeccioso da doença.

Conclusão

O presente estudo sugere que os equídeos não participam da cadeia epidemiológica das leishmanioses no estado de Pernambuco.

Referências

AGUILAR, C.M.; RANGEL, E.F. Leishmaniose tegumentar em uma mula (*Equus caballus* x *Equus asinus*) em área endêmica no Estado do Rio de Janeiro. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 81, p. 239-240, 1986.

AGUILAR, C.M.; RANGEL, E.F.; DEANE, L.M. – Cutaneous leishmaniasis in frequent in equines from an endemic area in Rio de Janeiro, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 81, p.471-472, 1986.

AGUILAR, C.M.; RANGEL, E.F.; GRIMALDI, G. & MOMEM, H. Human, Canine and Equine Leishmaniasis Caused by *Leishmania braziliensis braziliensis* in an Endemic Area in the State of Rio de Janeiro. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 82, n.1, p.143, 1987.

ALENCAR, J.E. Um caso de leishmaniose tegumentar em *Equus asinus*. XVI Congresso Brasileiro de Higiene, Niterói, Brasil, 1959.

BARBOSA-SANTOS, E.G.O.; MARZOCHI, M.C.A.; URTADO, W.; QUEIROZ, F.J.; CRUZ, J.B.; PACHECO, R.; MOMEN, H. Forma mucocutânea e disseminada da infecção natural por *Leishmania (V.) braziliensis* em uma égua *Equus caballus*. I. Apresentação de um caso. In: Resumos dos Anais da IV Jornada Científica da Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, p. 110, 1991.

BARBOSA-SANTOS, E.G.O.; MARZOCHI, M.C.A.; URTADO, W.; QUEIRÓS, F.; CHICARINO, J.; PACHECO, R.S. Leishmaniasis Disseminated by *Leishmania braziliensis* in a Mare (*Equus caballus*) Immunotherapy and Chemotherapy Assays. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 89, n.2, p.217-220, 1994.

BRANDÃO-FILHO, S. P.; BRITO, M.E.; CARVALHO, F.G.; ISHIKAWA, E.A.; CUPOLILLO, E.; FLOETER-WINTER, L.; SHAW, J.J. Wild and synanthropic hosts of *Leishmania (Viannia) braziliensis* in the endemic cutaneous leishmaniasis locality of Amaraji, Pernambuco State, Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 97, n. 3, p. 291-296, 2003.

CERQUEIRA, E.J.L.; SHERLOCK, I.; GUSMÃO, A.; BARBOSA JUNIOR, A.A. E NAKATANI, M. Inoculação experimental de *Equus asinus* com *Leishmania chagasi* Cunha & Chagas, 1937, **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.36, n. 6, p. 695-701, 2003

DUARTE, R.; THEOPHILO, F. A. O.; MARZOCHI, M. C. A.; FERREIRA, F. C.; OLIVEIRA, M. R. F.; MENDES, F. A.; GONZAGA, R. A. Sorologia para leishmaniose em equino no município do Rio de Janeiro. I Boletim de divulgação técnica e científica, v.4, p.8, 2001.

FALQUETO, A.; VAREJÃO, J.B.M.; SESSA, P.A. Cutaneous leishmaniasis in horse (*Equus caballus*) from endemic area in the state of Espírito Santo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.82, p.443, 1987.

FEITOSA, F.L.F.; LEAL, J.; MENDES, L.C.N; PEIRÓ, J.R.; PERRI, S.H.V.; LIMA, V.H.F.; MARCONDES, M. Estudo soroepidemiológico de leishmaniose em equinos na região de Araçatuba-SP, Brasil, área endêmica para leishmaniose visceral. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, v. 49, n. 6, p. 500-502, 2012.

FERNÁNDEZ-BELLON, H.; SOLANO-GALLEGO, L.; BARDAGÍ, M.; ALBEROLA, J.; RAMIS, A.; FERRER, L.: Immune response to *Leishmania infantum* in healthy horses in Spain. **Veterinary Parasitology**, v.135, p.181–185, 2006.

IBGE, 2010. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/estadosat/perfil.php?lang=&sigla=pe>. Acessado em: 19.11.2016

KOEHLER K., STECHELE M., HETZEL U., DOMINGO M., SCHONIAN G., ZAHNER H. & BURKHARDT E. Cutaneous leishmaniosis in a horse in southern Germany caused by *Leishmania infantum*. **Veterinary Parasitology**, v.109, p.9-17, 2002.

LYNN, M.A.; MCMASTER, W.R. Leishmania: conserved evolution – diverse diseases. **Trends Parasitology**, v.24, n.3, p.103-105, 2008.

MARZOCHI, M.C.; MARZOCHI, K.B. Tegumentary and visceral leishmaniasis in Brazil: emerging anthroponosis and possibilities for their control. **Cadernos de Saúde Pública**, v.10, n. 2, p.359-375, 1994.

MAZZA, S. – leishmaniasis cutánea en el caballo y nueva observacion de la misma en el perro. **Bol. Inst. Clín. Quirúrgico**, v.3, p.462-464, 1927.

MICHALSKY, E.M.; FORTES-DIAS, C.L.; PIMENTA, P.F.P.; SECUNDINO, N.F.C.; DIAS, E.S. Assessment of PCR in The Detection of *Leishmania* spp in experimentally Infected Individual Phlebotomine Sandflies (DIPTERA: PSYCHODIDAE: PHLEBOTOMINAE). **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.44, n.5, 255-259, 2002.

MORALES, B.A.A.; GARCÍA, F.; ROSSINI, V.M.; COMERMA, S.S.; CHACÓN, T.; HERRERA, L.; GÓMEZ, M.S. Lesiones cutaneas parasitarias en el asno *Equus asinus* de Choroní, Estado Aragua, Venezuela. **Neotropical Helminthology**, v. 4, n. 2, p. 179-182, 2010.

MUKHTAR, M.M.; SHARIEF, A.H.; SAFFI, S.H.; HARITH, A.E.; HIGAZZI, T.B.; ADAM, A.M.; ABDALLA, H.S. Detection of antibodies to *Leishmania donovani* in animals in a kala-azar endemic region in eastern Sudan: a preliminary report. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.94, n.1, p.33-36, 2000.

MULLER, N.; WELLE, M.; LOBSIGER, L.; STOFFEL, M.H.; BOGHENBOR, K.K.; HILBE, M.; GOTTSTEIN, B.; FREY, C.F.; GEYER, C.; BOMHARD, W.V. Occurrence of *Leishmania* sp. in cutaneous lesions of horses in Central Europe. **Veterinary Parasitology**, v.166, p. 346–351, 2009.

RAMOS-VARA, J.A.; ORTIZ-SANTIAGO, B.; SEGALÈS, J.; DUNSTAN, R.W. Cutaneous leishmaniasis in two horses. **Veterinary Pathology**, v.33, p.731–734, 1996.

REITHINGER, R.; ESPINOZA, J. .C.; COURTENAY, O.; DAVIES, C. R.. Evaluation of PCR as a diagnostic massscreening tool to detect *Leishmania* (*Viannia*) spp. in domestic dogs (*Canis familiaris*). **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, n._, p. 1486-1493, 2003b.

REUSS, S.M.; DUNBAR, M.D.; MAYS, M.B.C.; OWEN, J.L.; MALLICOTE, M.F.; ARCHER, L.L.; WELLEHAN JR, J.F.X. Autochthonous *Leishmania siamensis* in Horse, Florida, USA. **Emerging Infectious Diseases**, v. 18, n. 9, 2012.

ROLÃO, N.; MARTINS, M.J.; JOÃO, A.; CAMPINO, L. Equine infection with *Leishmania* in Portugal. **Parasite**, v.12, p.183-186, 2005.

ROTUREAU, B. Are New World leishmaniasis becoming anthroponoses? **Medical Hypotheses**, v. 67, p.1235–1241, 2006.

SGORBINI, M.; BONELLI, F.; PIZZOLLI, I.; TOGNETTI, R.; CORAZZA, M. Seroprevalence of *Leishmania* sp. Infection in Healthy Horses Housed in Endemic Areas in Tuscany. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 34, p.572–574, 2014.

SHAW, J.J. New World leishmaniasis: the ecology of leishmaniasis and the diversity of leishmanial species in Central and South America. In Farrell, J. World Class Parasites: *Leishmania*, Kluwer Academic Publishers, Boston, Dordrecht, London, p. 11-3, 2002.

SOARES, I.R.; SILVA, S.O.; MOREIRA, F.M.; PRADOA, L.G.; FANTINIA, P.; et al. First evidence of autochthonous cases of *Leishmania* (*Leishmania*) *infantum* in horse (*Equus*

caballus) in the Americas and mixed infection of *Leishmania infantum* and *Leishmania (Viannia) braziliensis*. **Veterinary Parasitology**, v.197, p.665–669, 2013.

SOLANO-GALLEGO, L.; FERNÁNDEZ BELLON, H.; SERRA, P.; GALLEGO, M.; RAMIS, A.; FONDEVILLA, D.; FERRER, L. Cutaneous leishmaniasis in three horses in Spain. **Equine Veterinary Journal**, v.35, n.3, p.320-323, 2003.

TOLEZANO, J. E. Ecoepidemiological aspects of American cutaneous leishmaniasis in the state of Sao Paulo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 89, p. 427– 434, 1994

TRUPPEL, J.H.; OTOMURA, F.; TEODORO, U.; MASSAFERA, R.; COSTA-RIBEIRO, M.C.V.; CATARINO, C.M.; DALAGRANA, L.; FERREIRA, M.E.M.C.; THOMAZ-SOCCOL, V. Can Equids Be a Reservoir of *Leishmania braziliensis* in Endemic Areas? **PLOS ONE**, v.9, n.4, 2014.

VEDOVELLO FILHO, D., JORGE, F.A., LONARDONI, M.V.C., TEODORO, U., SILVEIRA, T.G.V. American Cutaneous Leishmaniasis in horses from endemic areas in the North-Central Mesoregion of Paraná State, Brazil. **Zoonoses Public Health**, v.55, p.149–155, 2008.

VEXENAT, J.A.; BARRETTO, A.C.; ROSA, A.C.O.; SALES, C.C.; MAGALHÃES, A. Infecção natural de *Equus asinus* por *Leishmania braziliensis braziliensis* - Bahia, Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.81, p.237-238, 1986.

VILLALOBOS, E.M.C.; CARVALHO, P.R.; LARA, M.C.C.S.H.; MARQUES, E.C.; SOUZA, M.C.A.M.; FELICIO, P.S.; CUNHA, M.S.; CUNHA, E.M.S. Prevalence of Immune Response of Healthy Equines with Antibodies Anti *Leishmania chagasi* in Endemic Area of Leishmaniasis. **Middle-East Journal of Scientific Research**, v. 5, n.6, p.520-534, 2010.

YOSHIDA, E.L.A.; CORREA, F.M.A.; MARQUES, A.S.; STOLF, H.O.; DILLON, N.L.; MOMEN, H.; GRIMALDI JR, G. Human, canine and Equine (*Equus caballus*) leishmaniasis due to *Leishmania braziliensis* (= *L. braziliensis braziliensis*) in the south-west region of São Paulo State, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.85, p. 133-134, 1990.

CAPÍTULO 2

**Fatores de risco associados à infecção por
Theileria equi e *Babesia caballi* em equídeos**

Fatores de risco associados à infecção por *Theileria equi* e *Babesia caballi* em equídeos

**Neurisvan Ramos Guerra¹; Rosangela Zacarias Machado³; Célio Raimundo Machado³;
Carla Roberta Freshi³; Edson Moura da Silva¹; Hévila Mara Moreira Sandes Guerra¹;
José Wilton Pinheiro Júnior²; Leucio Câmara Alves¹**

¹Laboratório de Doenças Parasitárias dos Animais Domésticos - Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Recife, PE, Brasil

²Laboratório de Bacterioses dos Animais Domésticos - Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Recife, PE, Brasil

³Imunodot, Jaboticabal - SP

Resumo

Piroplasmose equina é uma enfermidade que acomete equinos, asininos, muares e zebras sendo causada pelos protozoários *Babesia caballi* e *Theileria equi* que invadem os eritrócitos causando sua destruição. Os animais infectados geralmente apresentam sinais clínicos tais como depressão, intolerância ao exercício, anemia, icterícia, hemoglobinúria, distúrbios sistêmicos e sinais de cólica. Em função da escassez de estudos epidemiológicos relacionados com a piroplasmose equina, o objetivo desse estudo foi determinar os fatores de risco associados à infecção por *B. caballi* e *T. equi*. Para tanto, foram utilizadas 400 amostras de sangue e soros de equídeos sendo analisadas por meio de exame parasitológico direto e Ensaio de Imunoadsorção Enzimática. Não foram observados *B. caballi* e *T. equi* nas análises microscópicas e os testes sorológicos revelaram uma prevalência de anticorpos anti-*B. caballi* e anti-*T. equi* de 4,3% (17/400; I.C. 2,6 – 6,9%) e 10,8% (43/400; I.C. 8,0 – 14,3), respectivamente. Foi detectada co-infecção em 1% (4/400) dos animais. A idade foi a única variável que revelou diferença significativa para ambos os protozoários. Para *B. caballi*, o fator sexo estava associado à infecção. Para *T. equi*, idade, aptidão e criação consorciada com bovinos foram fatores de risco. Os resultados demonstram que *B. caballi* e *T. equi* estão distribuídos por todas as áreas estudadas. A baixa prevalência de anticorpos contra esses protozoários revela o risco de surtos de infecção por esses patógenos e permite caracterizar as localidades estudadas como áreas de instabilidade enzoótica.

Palavras-chave: Instabilidade enzoótica, sorologia, protozoários, Babesiose, Theileriose

Abstract

Equine piroplasmosis is a disease that affects equines, donkeys, mules and zebras being caused by the protozoa *Babesia caballi* and *Theileria equi* that invade the erythrocytes causing their destruction. Infected animals usually present clinical signs such as depression, exercise intolerance, anemia, jaundice, hemoglobinuria, systemic disorders and signs of colic. Due to the scarcity of epidemiological studies related to equine piroplasmosis, the objective of this study was to determine the risk factors associated with *B. caballi* and *T. equi* infection. For this purpose, 400 blood samples and equine sera were analyzed and analyzed by direct parasitological examination and Enzyme linked immunosorbent assay. *B. caballi* and *T. equi* were not observed in the microscopic analyzes and the serological tests revealed a prevalence of anti-*B. caballi* and anti-*T. equi* antibodies of 4.3% (17/400, CI 2.6-6.9) and 10, 8% 43/400; C.I. 8.0 - 14.3), respectively. Co-infection was detected in 1% (4/400) of the animals. Age was the only variable that revealed significant difference for both protozoa. For *B. caballi* the sex factor was associated with infection. For *T. equi* besides the age, aptitude and creation in consortium with bovines. The results demonstrate that *B. caballi* and *T. equi* are distributed throughout the studied areas. The low prevalence of antibodies against these protozoa reveals the risk of outbreaks of infection by these pathogens and allows characterizing the areas studied as enzootic instability.

Key words: Enzootic instability, Serology, Protozoa, Babesiosis, Theileriosis.

Introdução

Piroplasmose equina, enfermidade endêmica em muitas regiões tropicais e subtropicais, incluindo a África, Ásia, Américas Central e do Sul, Caribe e Europa (OIE, 2014; WISE et al., 2013), acomete equinos, asininos, muares e zebras sendo causada pelos protozoários *Babesia caballi* e *Theileria equi* (LAUS et al., 2015) que invadem os eritrócitos causando sua destruição (ALANAZI et al., 2012).

Ambos os agentes podem infectar um mesmo animal simultaneamente (MASLIN et al., 2004; ALANAZI et al., 2012; POSADA-GUZMÁN et al., 2015), e sua transmissão é realizada por espécies de carrapatos pertencentes aos gêneros *Dermacentor*, *Hyalomma* e *Rhipicephalus* (UETI et al., 2008; KAMYINGKIRD, et al., 2014), além da transmissão mecanicamente por agulhas ou instrumentos cirúrgicos contaminados (UILENBERG, 2006; KIZILARSLAN et al., 2015).

A doença pode causar significativas perdas econômicas na equideocultura (WISE et al., 2014) representando um problema no comércio internacional de equídeos (BAHRAMI et al., 2014).

Os animais infectados geralmente apresentam sinais clínicos tais como depressão, intolerância ao exercício, anemia, icterícia, hemoglobinúria, distúrbios sistêmicos e sinais de cólica (ZOBBA et al., 2008). Aqueles animais que sobrevivem à fase aguda da infecção podem carrear o parasito por longos períodos, particularmente, nas infecções por *T. equi* (DE WAAL, 1992; ELISA et al., 2016).

Embora o Brasil seja considerado um país endêmico, estudos epidemiológicos realizados até o momento são restritos a algumas áreas (HEIM et al., 2007), assim como os fatores de risco associados com a infecção (TENTER & FRIEDHOFF et al., 1986; PFEIFER BARBOSA et al., et al., 1993; PFEIFER BARBOSA et al., 1995; HEUCHERT et al., 1999; PFEIFER BARBOSA et al., 2000; XUAN et al., 2001; HEIM et al., 2007; BALDANI et al., 2007; BALDANI et al., 2010).

Em função dos graves prejuízos econômicos causados pela piroplasmose equina e da escassez de estudos epidemiológicos relacionados com essa doença (SANTOS et al., 2014; SOUTO et al., 2014), o objetivo desse estudo foi determinar os fatores de risco associados com a infecção por *B. caballi* e *T. equi*.

Material e Métodos

Área de estudo e amostras

Esse trabalho foi realizado no estado de Pernambuco (8° 4' 14" S, 37° 15' 57" O) que está localizado na região Nordeste do Brasil e é dividido em quatro mesorregiões, a saber: Região Metropolitana do Recife, Zona da Mata, Agreste e Sertão (IBGE, 2010). Quanto à população de equídeos, o estado possui 189.757 animais, sendo 114.523 equinos, 47.384 asininos e 27.850 muares (IBGE, 2006).

Considerado-se o número de equídeos de Pernambuco ($n > 10.000$), com uma prevalência estimada de 50%, margem de erro de $\pm 5\%$ e um nível de confiança de 95%, o cálculo amostral resultou em 384 amostras. Utilizou-se 400 amostras de sangue e soros de equídeos clinicamente saudáveis, incluindo equinos (387/400; 96,75%), muares (4/400; 1%) e asininos (9/400; 2,25%), machos (234/400; 58,5%) e fêmeas (166/400; 41,5%) com idade entre 2 meses à 25 anos. Os animais eram provenientes de quatro diferentes mesorregiões e 41 propriedades rurais, sendo os rebanhos selecionados por conveniência não-probabilística.

Dados referentes às características dos animais e dos rebanhos, sistema de criação, presença de carrapatos, presença de outros animais, idade, sexo, raça, aptidão, condição física e compartilhamento de agulhas foram coletados por meio de questionários investigativos. O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética Para o Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal Rural de Pernambuco sob a licença de número 036/2014.

Teste Parasitológico

Foram confeccionados estiraços sanguíneos das amostras de sangue coletadas em lâminas para microscopia. Essas foram coradas com Panótico (Laborclin) e examinadas em microscópio óptico (40 e 100X) utilizando de óleo de imersão.

Ensaio de Imunoabsorção Enzimática - ELISA Indireto

O teste foi realizado conforme descrito por Baldani et al. (2004) sendo utilizados soros de animais infectados e livres dos parasitos como controles positivos e negativos, respectivamente, e a leitura realizada a um comprimento de onda de 405 nm.

Análise dos Dados

Para o estudo de fatores de risco associados com a infecção, foi realizada análise multivariada usando modelo de regressão logística, tendo como variáveis dependentes os resultados obtidos nos testes (positivo e negativo). As variáveis independentes consideradas no modelo foram aquelas que revelaram significância estatística $<0,200$. Esta probabilidade foi estipulada para que possíveis fatores de risco do evento não fossem excluídos da análise (HOSMER; LEMESHOW, 1989). O programa EpiInfoTM 7 foi utilizado para a execução dos cálculos estatísticos e o nível de significância adotado foi de 5,0%.

Resultados

Não foram observados *B. caballi* e *T. equi* nas análises microscópicas e os testes sorológicos revelaram uma prevalência de anticorpos anti-*B. caballi* e anti-*T. equi* de 4,3% (17/400; I.C. 2,6 – 6,9%) e 10,8% (43/400; I.C. 8,0 – 14,3), respectivamente. Foi detectada co-infecção em 1% (4/400) dos animais. As prevalências por mesorregião estão apresentadas na Tabela 1. Entre as 41 fazendas amostradas, 52,5% foram positivas para anticorpos contra *B. caballi* e *T. equi*.

A relação dos fatores de risco com a infecção por *B. caballi* e *T. equi* estão descritas abaixo (Tabela 2 e 3), onde pode se observar que a idade foi a única variável que revelou diferença significativa para ambos os protozoários.

Quanto à espécie, apenas equinos apresentaram positividade para *B. caballi*, sendo observada prevalência de 4,4% (17/387) mas não revelou significância ($p = 0,742$). Já para *T. equi*, foi observada soropositividade em equinos e muares sendo 10,9% (42/387) e 11,1% (1/9), respectivamente.

Com relação às raças dos equinos, Mangalarga Machador foi a que apresentou maior positividade (7,8%; 8/103) seguida por Quarto de Milha (3,5%; 7/208), Mestiças (2,5%, 2/78), enquanto Mangalarga (0%, 0/5) não teve animal reagente para *B. caballi*.

Por sua vez, a maior prevalência para *T. equi*, ocorreu na raça Mangalarga (20%; 1/5) seguida por Quarto de Milha (10,9%; 22/201), Mangalarga Marchador (10,7%; 11/103) e Mestiços (10,2%; 8/78).

A infestação por carrapatos foi observada apenas em 4% (1/25) e 8% (2/25) dos animais soropositivos para *B. caballi* e *T. equi*, respectivamente.

Nos animais submetidos ao uso compartilhado de agulhas foi observada positividade de 4,5% (15/330) e 10,3% (394/296) para *B. caballi* e *T. equi*, respectivamente.

Quanto ao sistema de criação, os animais mantidos semi-estabulados apresentaram a maior positividade sendo 5% (7/141), seguidos de estabeulados com 4% (4/101) e criados à campo com 3,8% (6/158) para *B. caballi*. Já para *T. equi*, observou-se 13,9% (14/101) dos animais estabeulados, seguidos dos semi-estabulados com 12,1% (17/141) e os criados à campo os quais revelaram 7,6% (12/158) de positividade.

Por fim, no manejo alimentar, foi observada a presença de anticorpos anti-*B. caballi* em 2,2% (2/89) dos não suplementados, 4,7% (8/170) dos suplementados e 5% (7/141) naqueles com alimentação mista. Anticorpos anti-*T. equi* foram detectados em 10,1% (9/89) dos não suplementados, 10% (17/170) dos suplementados e 12,1% (17/141) daqueles com alimentação mista.

Tabela 1: Prevalência das infecções por *Babesia caballi* e *Theileria equi* em equídeos das diferentes mesoregiões do estado de Pernambuco.

	<i>Babesia caballi</i>				<i>Theileria equi</i>			
	Positivo		Negativo		Positivo		Negativo	
Mesoregião	FA	FR	FA	FR	FA	FR	FA	FR
Região Metropolitana	5	4,59	104	95,41	6	5,50	103	94,50
Zona da Mata	6	6,67	84	93,33	14	15,56	76	84,44
Agreste	3	2,56	114	97,44	15	12,82	102	87,18
Sertão	3	3,41	85	96,59	8	9,09	80	90,91

F.A. – Frequência absoluta; F.R. – Frequência relativa (%)

Tabela 2: Fatores de risco associados com infecção por *Babesia caballi*.

Fator de Risco	Odds Ratio	Intervalo de confiança de 95%	Valor P
Sexo			
Fêmea/Macho	2,10	0,78-5,63	0,1404
Idade			
>11/2,5-11	1,04	0,12-8,59	0,969
<2,5/2,5-11	3,66	1,33-10,09	0,011*

* Nível de significância de 5%

Tabela 3: Fatores de risco associados com infecção por *Theileria equi*.

Fator de risco	Odds Ratio	Intervalo de confiança de 95%	Valor P
Idade			
>11/<2,5	3,91	0,62-24,58	0,144
2,5-11/<2,5	6,28	1,48-26,61	0,012*
Aptidão			
Tração / Reprodução	1,58	0,25-10,07	0,622
Sela / Reprodução	2,91	0,87-9,76	0,081
Consórcio com bovinos			
Não/sim	1,66	0,88-3,13	0,117

* Nível de significância de 5%

Discussão

No exame parasitológico não foram detectados *B. caballi* e *T. equi*, constatando-se que esses animais são portadores assintomáticos (HOLBROOK, 1969). A baixa parasitemia bem como sensibilidade e especificidade desse teste justifica os resultados obtidos.

Anticorpos anti-*B. caballi* e anti-*T. equi* foram detectados em 4,3% e 10,8% dos animais, respectivamente. A maior soroprevalência para *T. equi* em relação a de *B. caballi* pode ter ocorrido devido à persistência da infecção pelo primeiro parasito durante anos (RUEGG et al., 2007), diferentemente da instabilidade da infecção por *B. caballi* (DE WAAL & VAN HEERDEN, 1994; GARCÍA-BOCANEGRA et al. 2013).

Essa diferença de soroprevalência entre ambos os protozoários corroboram com os resultados encontrados em várias áreas endêmicas do mundo, particularmente na Arábia Saudita (ALANAZI et al. , 2012); Kuwait (DONNELLY et al., 1980b); Omã (DONNELLY et al., 1980a); Turquia (KARATEPE et al., 2009; SEVINC et al., 2008); Iraque (AL- SAAD, 2009); Emirados Árabes Unidos (JAFFER et al , 2010); Irã (ABEDI et al., 2014); Etiópia (GIZACHEW et al., 2013); Paquistão (HUSSEIN et al., 2014); Tailândia (KAMYINGKIRD et al., 2014); Sudão (SALIM et al., 2008); Índia (SUMBRIA et al., 2016); Itália (ELISA et al.,

2016; LAUS et al., 2013); Espanha (GÁRCIA-BOCANEGRA et al., 2013); França (GUIDI et al., 2015); Portugal (RIBEIRO et al. 2013); Suíça (RUEGG et al., 2007); África do Sul (MOTLOANG et al., 2008) e México (CANTÚ-MARTINEZ et al., 2012).

A taxas de prevalência aqui detectadas são concordantes com aquelas reportadas no Brasil, nos estados do Rio de Janeiro (PFEIFER BARBOSA et al., 1995; BITTENCOURT et al., 1997; BOTTEON et al., 2002; CAMPOS et al., 2013), São Paulo (HEUCHERT et al., 1999; XUAN et al, 2001), Minas Gerais (RIBEIRO; LIMA, 1989), Goiás (LINHARES, 1997) e Rio Grande do Sul (CUNHA et al., 1996). Tais estudos confirmaram uma maior soropositividade para *T. equi* em comparação a *B. caballi* indicando que as diversas regiões do Brasil são classificadas como áreas de instabilidade enzoótica para piroplasmose equina (MAHONEY E ROSS, 1972).

Dessa forma, esses animais oferecem risco para transmissão de piroplasmose equina a outros equídeos susceptíveis, particularmente nas infecções por *T. equi*, uma vez que animais infectados se tornam carreadores desses protozoários (ABUTARBUSH et al., 2012) e a presença de carrapatos pode contribuir para a disseminação da doença (VERONESI et al., 2014; LAUS et al., 2015). Nesse estudo não foi observada significância na relação de animais soropositivos e a infestação por carrapatos, entretanto, devem ser consideradas as outras formas de transmissão.

Por outro lado, a razão da superior prevalência de anticorpos IgG anti-*T. equi* deve ser explicada porque a presença do parasita pode estimular a produção de imunoglobulinas e manutenção de níveis detectáveis no soro destes animais (ROTHSCHILD et al., 2013), enquanto que as infecções com *B. caballi* não são persistentes (NIZOLI, 2005) e o declínio na produção de anticorpos ocorre normalmente (FRIEDHOFF et al, 1990;. BRUNNING., 1996, PEREIRA et al, 2004).

Quando essas variáveis independentes foram submetidas à análise multivariada, somente idade e sexo foram fatores de risco associados com infecção por *B. caballi* (Tabela 2) e, idade, aptidão e criação consorciada com bovinos foram associadas com infecção por *T. equi* (Tabela 3).

A maior soroprevalência para *B. caballi* em animais jovens poderia refletir a susceptibilidade a este parasito e a resistência à infecção em animais mais velhos (DE WAAL & VAN HEERDEN, 1994; NIZOLI, 2005; GARCÍA-BOCANEGRA et al. 2013) pois, sabe-se que equídeos infectados por este parasito podem eliminá-lo completamente em até quatro anos (DE WAAL & VAN HEERDEN, 1994; BASHIRUDDIN et al. 1999; SELTON 2004;

GÁRCIA-BOCANEGRA et al., 2013) e, dessa forma, ocorre o declínio de anticorpos independente de ser instituído um tratamento (PEREIRA et al., 2004).

Por sua vez, na infecção por *T. equi*, os animais mais velhos tiveram mais chances de ser infectados (OR=6,28) devido à longa persistência deste parasito (RUEGG et al, 2007) e o estado portador desses animais (KOUAM et al, 2010; GARCÍA-BOCANEGRA et al, 2013; ELISA et al., 2016).

Esses resultados foram diferentes daqueles relatados em alguns estudos que não encontraram associação significativa entre idade e estado de infecção (SHKAP et al., 1998; ACICI et al., 2008; KARATEPE et al., 2009; MORETTI et al., 2010; SIGG et al., 2010; MUJICA et al., 2011 & STEINMAN et al., 2012).

Neste sentido, não só a presença de carrapatos, mas também o estado de carreador deve ser considerado (KOUAM et al., 2010a; GARCIA-BOCANEGRA et al., 2013; KARATEPE et al., 2009; VIEIRA et al., 2013; MUNKHJARGAL et al., 2013; STEINMAN et al. 2012; RAPOPORT et al. 2014; GUIDI et al., 2015) para se entender esta variável.

Por outro lado, fatores climáticos podem facilitar o ciclo biológico dos carrapatos nestas áreas e aumentar a taxa de transmissão desses protozoários (YOUNG & LEITCH, 1981; CHILTON & BULL, 1994, GÁRCIA-BOCANEGRA et al., 2013).

A prevalência foi maior nas fêmeas para ambos os protozoários sem, entretanto, haver associação estatística entre sexo e infecção, diferenciando-se de vários estudos onde esta variável foi um fator de risco importante para infecção (SEVINC et al., 2008; RUEGG et al., 2007; GARCÍA-BOCANEGRA et al., 2013).

No que diz respeito à raça não houve associação da infecção com as raças estudadas. Contudo, houve maior prevalência das infecções nas raças Mangalarga e Mangalarga Machador, apesar de que nada tem sido sugerido sobre a susceptibilidade de raças de equinos brasileiras para esta enfermidade, sugerindo que práticas inapropriadas de manejo possam ser responsáveis por estes resultados (WISE et al., 2013).

Conclusão

B. caballi e *T. equi* estão distribuídos por todas as áreas estudadas. A baixa prevalência de anticorpos contra esses protozoários revela o risco de surtos de infecção por esses patógenos e permite caracterizar as áreas estudadas como instabilidade enzoótica.

Referências

- ABEDI, V.; RAZMI, G.; SEIFI, H.; NAGHIBI, A. Molecular and serological detection of *Theileria equi* and *Babesia caballi* infection in horses and ixodid ticks in Iran. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v.5, p.239–44, 2014.
- ABUTARBUSH, S.M., ALQAWASMEH, D.M., MUKBEL, R.M. AND AL-MAJALI, A.M. Equine babesiosis: Seroprevalence, risk factors and comparison of different diagnostic methods in Jordan. **Transboundary and Emerging Disease**, v.59, p.72–78, 2012.
- ACICI, M.; UMUR, S.; GUVENC, T.; ARSLAN, H.H.; KURT, M. Seroprevalence of equine babesiosis in the Black Sea region of Turkey. **Parasitology International**, v.57, p.198-200, 2008.
- ALANAZI, A.D.; ALYOUSIF, M.S.; HASSIEB, M.M. Seroprevalence study on *Theileria equi* and *Babesia caballi* antibodies in horses from central province of Saudi Arabia. **Journal of Parasitology**, v. 98, p. 1015–1017, 2012.
- AL-SAAD, K.M. Acute babesiosis in foals. **Journal of Animal and Veterinary Advances**; v. 8, p. 2585–2589, 2009.
- BAHRAMI, S.; GHARDAN, A.R.; BORUJENI, M.P.; SALARPUR, M.V. Epidemiology of *Theileria equi* in Persian Arab horses from Iran. **Veterinarni Medicina**, v. 59, n. 9, p. 409–414, 2014.
- 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**, v. 27, n. 4, p. 179-183, 2007.
- 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, 2004.
- BALDANI, C.D.; NAKAGHI, A.C.H.; MACHADO, R.Z. Occurrence of *Theileria equi* in horses raised in the Jaboticabal microregion, São Paulo State, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.9, n.4, p.228-232, 2010.

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**, v.84, p.75-83, 1999.

BITTENCOURT, A. J.; MASSARD, C. L.; MASSARD, C. A. 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., BOTTEON, R.C.C.M., LINHARES, G.F.C., MASSARD, C.L., LOSS, Z.G. Seroprevalência de *Babesia equi* em três diferentes sistemas de criação de equinos. Rio de Janeiro – Brasil. **Parasitologia Latinoamericana**, v.57, p. 141-145, 2002.

BRÜNING, A. Equine piroplasmiasis: an update on diagnosis, treatment and prevention. **British Veterinary Journal**, v.152, n.2, p. 140-151, 1996.

CAMPOS, C.H.C.; PRADO, R.F.S.; GUIMARÃES, A.; DA SILVA, A.T.; BALDANI, C.D.; CORDEIRO, M.D.; PIRES, M.S.; PEIXOTO, M.P.; DOS SANTOS, H.A.; MACHADO, R.Z.; FONSECA, A.H.; MASSARD C.L. Aspectos epidemiológicos e soroprevalência de *Theileria equi* em equinos de uso militar no município de Resende, estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 35, n. 2, p.106-112, 2013.

CANTÚ-MARTÍNEZ, M.A., SEGURA-CORREA, J.C., SILVA-PÁEZ, M.L., AVALOS-RAMÍREZ, R., WAGNER, G.G. Prevalence of antibodies to *Theileria equi* and *Babesia caballi* in horses from northeastern Mexico. **Journal of Parasitology**, v.98, p. 869–870, 2012.

CHILTON, N.B.; BULL, C.M. Influence of environmental factors on oviposition and egg development in *Amblyomma limbatum* and *Aponomma hydrosauri* (Acari: Ixodidae). **International Journal for Parasitology**, v. 24, p. 83–90, 1994.

CUNHA, C.W.; SILVA, S.S.; PIMENTEL, C.A.; DAPPER, E. Avaliação da frequência de equinos soropositivos a *Babesia equi* no Jockey Club de Pelotas e em dois haras da zona sul do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 5, p. 119-122, 1996.

DE WAAL, D. T.; HEERDEN, J. V. Equine babesiosis. In: JAW, C., THOMSON, G. R., TUSTIN, R. C. (Ed.). Infectious diseases of livestock with special reference to South Africa. vol. 1. Oxford: University Press, p. 293-304, 1994.

DE WAAL, D.T. Equine piroplasmiasis: A review. **British Veterinary Journal**, v. 148, p. 6–14, 1992.

DONNELLY, J.; JOYNER, L.P.; GRAHAM-JONES, O.; ELLIS, C.P. A comparison of the complement fixation and immunofluorescent antibody tests in a survey of the prevalence of *Babesia equi* and *Babesia caballi* in horses in sultanate of Oman. **Tropical Animal Health and Production**, v. 12, p. 50-60, 1980.

DONNELLY J.; JOYNER, L.P.; FRANK, C. Quantitative epidemiological studies on the prevalence of babesiosis in horses in Kuwait. **Tropical Animal Health and Production**, v. 12, p. 253-258, 1980b.

ELISA, B. P. L.; ROBERTO, N.; VINCENZO, V.; FRANCESCA, I.; ANTONELLA, C.; LUCA, A. G.; FRANCESCO, B.; TERESA, S. M. *Babesia caballi* and *Theileria equi* infections in horses in Central-Southern Italy: Sero-molecular survey and associated risk factors. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 7, p. 462–469, 2016.

FRIEDHOFF, K.T.; TENTER, A.M.; MULLER, I. Haemoparasites of equines: impact on international trade of horses. **Revue Scientifique et Technique Office International des Epizooties**, v. 9, p. 1187- 1194, 1990.

GARCIA-BOCANEGRA, I.; ARENAS-MONTES, A.; HERNANDEZ, E.; ADASZEK, L.; CARBONERO, A.; ALMERIA, S.; JAEN-TELLEZ, J. A.; GUTIERREZ-PALOMINO, P.; ARENAS, A. Seroprevalence and risk factors associated with *Babesia caballi* and *Theileria equi* infection in equids. **The Veterinary Journal**, v. 195, p. 172–178, 2013.

GIZACHEW, A.; SCHUSTER, R.K.; JOSEPH, S.; WERNERY, R.; GEORGY, N.A.; ELIZABETH, S.K.; ASFAW, Y.; REGASSA, F.; WERNERY, U. Piroplasmiasis in Donkeys: A Hematological and Serological Study in Central Ethiopia. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.33, p.18-21, 2013.

GUIDI, E., PRADIER, S., LEBERT, I., & LEBLOND, A. Piroplasmiasis in an endemic area: analysis of the risk factors and their implications in the control of Theileriosis and Babesiosis in horses. **Parasitology research**, v. 114, n. 1, p. 71-83, 2015.

HEIM, A; PASSOS L. M.; RIBEIRO, M.F.; 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**, v.102, p.63-68, 2007.

HEUCHERT, C. M., DE, G. V., JR., DE ATHAIDE, D. F., BOSE, R., FRIEDHOFF, K. T. Seroepidemiologic studies on *Babesia equi* and *Babesia caballi* infections in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 85, p. 1-11, 1999.

HOLBROOK, A.A. Biology of equine piroplasmiasis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.155, p. 453–454, 1969.

HOSMER, D.W.; LEMESHOW, S. Applied logistic regression. New York: John Wiley & Sons, 1989.

HUSSAIN, M. H.; SAQIB, M.; RAZA, F.; MUHAMMAD, G.; ASI, M.N.; MANSOOR, M.K.; SALEEM, M.; JABBAR, A. Seroprevalence of *Babesia caballi* and *Theileria equi* in five draught equine populated metropolises of Punjab, Pakistan. **Veterinary parasitology**, v. 202 n. 3, p. 248-256, 2014.

IBGE, 2006. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/estadosat/temas.php?sigla=pe&tema=censoagro>. Acessado em: 22.10.2016.

IBGE, 2010. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/estadosat/perfil.php?lang=&sigla=pe>. Acessado em: 19.11.2016

KAMYINGKIRD, K.; YANGTARA, S.; DESQUESNES, M.; CAO, S.; MOUMOUNI, P.K.A.; JITTAPALAPONG, S.; NIMSUPAN, B.; TERKAWI, M.A.; MASATANI, T.; NISHIKAWA, Y.; IGARASHI, I.; XUAN, X. Seroprevalence of equine piroplasmiasis in Northern Thailand. **Journal of Protozoology Research**, v. 24, p. 11-17, 2014.

KARATEPE, BILGE; KARATEPE MUSTAFA; ÇAKMAK AYŞE; KARAER ZAFER; ERGÜN GÜL. Investigation of seroprevalence of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in horses in Nigde province, Turkey. **Tropical Animal Health and Production**, v.41, p. 109-113, 2009.

KIZILARSLAN, F.; YILDIRIM, A.; DUZLU, O.; INCI, A.; ONDER, Z.; CILOGLU, A. Molecular Detection and Characterization of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in Horses

(*Equus ferus caballus*) in Turkey. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 35, p. 830–835, 2015.

KOUAM, M.K.; KANTZOURA, V.; GAJADHAR, A.A.; THEIS, J.H.; PAPADOPOULOS, E.; THEODOROPOULOS, G. Seroprevalence of equine piroplasms and host-related factors associated with infection in Greece. **Veterinary Parasitology**, v. 169, n. 3–4, p.273–278, 2010a.

JAFFER, O.; ABDISHAKUR, F.; HAKIMUDDIN, F.; RIYA, A.; WERNERY, U.; SCHUSTER, R.K. A comparative study of serological tests and PCR for the diagnosis of equine piroplasmiasis. **Parasitology Research**, v.106, p. 709–713, 2010.

LAUS, F., VERONESI, F., PASSAMONTI, F., PAGGI, E., CERQUETELLA, M., HYATT, D., TESEI, B., FIORETTI, D.P. Prevalence of tick borne pathogens in horses from Italy. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v. 75, n. 6, p. 715–720, 2013.

LAUS, F.; SPATERNA, A.; FAILLACE, V.; VERONESI, F.; RAVAGNAN, S.; BERIBÉ, F.; CERQUETELLA, M.; MELIGRANA, M.; TESEI, B. Clinical investigation on *Theileria equi* and *Babesia caballi* infections in Italian donkeys. **BMC Veterinary Research**, v. 11, p. 100, 2015.

LINHARES, G.F.C.; MASSARD, C.L.; ARAÚJO, J.L.B. Estudos sobre a epizootiologia de *Babesia caballi* (Nuttall e Strickland, 1910) na microrregião de Goiânia, Estado de Goiás. **Anais da Escola de Agronomia e Veterinária**, v. 27, n. 2, p. 27-33, 1997.

MAHONEY, D. F.; ROSS, D.R. Epizootiological Factors in The Control of Bovine Babesiosis. **Australian Veterinary Journal**, v. 48, p. 292-298, 1972.

MASLIN, J; BEUGNET, F.; DAVOUST, B.E.; KLOTZ, F. “Babesioses,” **EMC—Maladies Infectieuses**, vol. 1, n. 4, p. 281–292, 2004.

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**, v. 184, p.346–50, 2010.

MOTLOANG, M.Y.; THEKISOE, O.M.M.; ALHASSAN, A.; BAKHEIT, M.; MOTHEO, M.P.; MASANGANE, F.E.S.; THIBEDI, M.L.; INOUE, N.; IGARASHI, I.; SUGIMOTO, C.; MBATI, P.A. Prevalence of *Theileria equi* and *Babesia caballi* infections in horses belonging to resource poor farmers in the north-eastern Free State Province, South Africa. **Onderstepoort Journal Veterinary Research**. v. 75, p. 141–146, 2008.

MUJICA, F.F., PERRONE, T., FORLANO, M., CORONADO, A., MELENDEZ, R.D., BARRIOS, N., ALVAREZ, R., GRANDA. Serological prevalence of *Babesia caballi* and *Theileria equi* in horses of Lara State, Venezuela. **Veterinary Parasitology**, v. 178, p.180–183, 2011.

MUNKHJARGAL, T., SIVAKUMAR, T., BATTSETSEG, B., NYAMJARGAL, B., ABOULAILA, M., PUREVTSEREN, B., BAYARSAIKHAN, D., BYAMBAA, B., TERKAWI, M.A., YOKOYAMA, N. AND IGARASHI, I. Prevalence and genetic diversity of equine piroplasms in Tov province, Mongolia. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 16, p. 178–185, 2013.

NIZOLI, L. Q. Alterações hematológicas e humorais de equinos expostos à infecção por *Babesia equi*, na região sul do Rio Grande do Sul. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas. Dissertação (Mestrado em Sanidade Animal) - Universidade Federal de Pelotas. 39p. 2005.

OIE, 2014. Equine Piroplasmosis. Aetiology, Epidemiology, Diagnosis, Prevention and Control References. Disponível em: [http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Animal Health in the World/docs/pdf/Disease cards/EQUINE PRIOPLASMOSIS.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Animal_Health_in_the_World/docs/pdf/Disease_cards/EQUINE_PIROPLASMOSIS.pdf). Acessado em 15.08.2016.

PEREIRA, M. A. V. C., MASSARD, C. L., FACCINI, J. L. H., SIQUEIRA, L. F. G. Ocorrência de *Babesia equi* (Laveran, 1901) e *Babesia caballi* (Nuttall&Strickland,1912) em equinos da raça puro sangue inglês de pequenos estabelecimentos equestres. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 71, n. 4, p. 405-409, 2004.

PFEIFER BARBOSA, I. B. Estudos epidemiológicos sobre infecções com *Babesia equi* e *Babesia caballi* no Brasil. Tese Medicina Veterinária, Escola Medicina Veterinária, Hannover, Alemanha. 1993.

PFEIFER BARBOSA, I.; BÖSE, 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 BARBOSA, L.B.; MOLVÁR, L.É.; DIAS, H.L.T. Determination of the Serological Prevalence of Equine Babesioses by IFA in The State of Pará, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.9, n.1, p.7-10, 2000.

POSADA-GUZMÁN, M.F.; DOLZ, G.; ROMERO-ZÚÑIGA, J.J.; E JIMÉNEZ-ROCHA, A. E. Detection of *Babesia caballi* and *Theileria equi* in Blood from Equines from Four Indigenous Communities in Costa Rica. **Veterinary Medicine International**, v. 2015, p. 6, 2015.

RAPOPORT, A.; AHARONSON-RAZ, K.; BERLIN, D.; TAL, S.; GOTTLIEB, Y.; KLEMENT, E.; STEINMAN, A. Molecular characterization of the *Babesia caballi* rap-1 gene and epidemiological survey in horses in Israel. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 23, p.115–120, 2014.

RIBEIRO, A.J.; CARDOSO, L.; MAIA, J.M.; COUTINHO, T.; COTOVIO, M. Prevalence of *Theileria equi*, *Babesia caballi*, and *Anaplasma phagocytophilum* in horses from the north of Portugal. **Parasitology Research**, v. 112, n.7, p. 2611–2617, 2013.

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, Bagé, 1989. Anais...: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, Bagé, p.111. 1989.

ROTHSCHILD, C.M. Equine piroplasmiasis. **Journal Equine Veterinary Science**, v.33, p.497–508, 2013.

RUEGG, S.R.; TORGERSON, P.; DEPLAZES, P.; MATHIS, A. Age-dependent dynamics of *Theileria equi* and *Babesia caballi* infections in southwest Mongolia based on IFAT and/or PCR prevalence data from domestic horses and ticks. **Parasitology**, v. 134, p. 939–947, 2007.

SALIM, B.O.M.; HASSAN, S.M.; BAKHEIT, M.A.; ALHASSAN, A.; IGARASHI, I.; KARANIS, P.; ABDELRAHMAN, M.B. Diagnosis of *Babesia caballi* and *Theileria equi* infections in horses in Sudan using ELISA and PCR. **Parasitology Research**, v. 103, p. 1145-1150, 2008.

SANTOS, A. I. A.; PIRES, L. C. S. R.; FRESCHI, C. R.; SOUZA, E. A. R.; ARAUJO, A. C.; AZEVEDO, S. S.; MACHADO, R. Z.; HORTA, M. C. DETECÇÃO DE ANTICORPOS

ANTI-*Theileria equi* EM EQUINOS DO MUNICÍPIO DE PETROLINA, PE. XVIII Congresso Brasileiro de Parasitologia veterinária, 2014.

SELLON, D.C. Disorders of the hematopoietic system. In: Reed SM, Bayly WM, Sellon DC (eds) Equine internal medicine, 1st edn. Saunders, Philadelphia, p. 735, 2004.

SEVINC, F., MADEN, M., KUMAS, C., SEVINC, M., EKICI, O.D. A comparative study on the prevalence of *Theileria equi* and *Babesia caballi* infections in horse sub-populations in Turkey. **Veterinary Parasitology**, v. 156, p. 173–177, 2008.

SHKAP, V.; COHEN, I.; LEIBOVITZ, B.; SAVITSKY; PIPANO, E.; AVNI, G.; SHOFER, S.; GIGER, U.; KAPPMAYER, L.; KNOWLES, D. Seroprevalence of *Babesia equi* among horses in Israel using competitive inhibition ELISA and IFA assays. **Veterinary Parasitology**, v. 76, p. 251–259, 1998.

SIGG, L.; GERBER, V.; GOTTSTEIN, B.; DOHERR, M.G.; FREY, C.F. Seroprevalence of *Babesia caballi* and *Theileria equi* in the Swiss horse population. **Parasitology International**, v. 59, p. 313–317, 2010.

SOUTO, P. C.; CRUZ, J. A. L. O.; BOTELHO-ONO, M. S. DANTAS, A. C.; GUIMARÃES, J. A.; VAZ, B. B. D. Babesiose equina por *Theileria equi* – Relato de caso. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, v. 17, n. 3, p. 29, 2014.

STEINMAN, A.; ZIMMERMAN, T.; KLEMENT, E.; LENSKY, I.M.; BERLIN, D.; GOTTLIEB, Y.; BANETH, G. Demographic and environmental risk factors for infection by *Theileria equi* in 590 horses in Israel. **Veterinary Parasitology**, v. 187, p. 558–562, 2012.

SUMBRIA, D.; DAS SINGLA, L.; SHARMA, A. *Theileria equi* and *Babesia caballi* infection of equids in Punjab, India: a serological and molecular survey. **Tropical Animal Health Production**, v. 48, p. 45–52, 2016.

TENTER, A.M.; FRIEDHOFF, K.T. Serodiagnosis of experimental and natural *Babesia equi* and *B. caballi* infections. **Veterinary Parasitology**, v.21, n.2, p.139. 1986.

UETI M.W.; PALMER, G.H.; SCOLES, G.A.; KAPPMAYER, L.S.; KNOWLES, D.P. Persistently infected horses are reservoirs for intrastadial tick-borne transmission of the apicomplexan parasite *Babesia equi*. **Infection and Immunity**, v. 76, p. 3525–3529, 2008.

UILENBERG, G. Babesia: a historical overview. **Veterinary Parasitology**, v.138, p. 3–10, 2006.

VERONESI, F.; MORGANTI, G.; RAVAGNAN, S.; LAUS, F.; SPATERNA, A.; DIAFERIA, M.; MORETTIA, A.; FIORETTIA, D.P.; CAPELLI, G. Molecular and serological detection of tick-borne pathogens in donkeys (*Equus asinus*) in Italy. **Veterinary Microbiology**, v. 173, p. 348–354, 2014.

VIEIRA, T.S.W.J.; VIEIRA, R.F.C.; FINGERC, M.A.P.; NASCIMENTO, D.A.G.; SICUPIRA, P.M.L.; DUTRAD, L.H.; DECONTOC, I.; BARROS-FILHO, I.R.; DORNBUSCH, P.T.; BIONDO, A.W.; VIDOTTO, O. Seroepidemiological survey of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in horses from a rural and from urban areas of Paraná State, southern Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 4, p.537– 541, 2013.

WISE, L. N.; PELZEL-MCCLUSKEY, A. M.; MEALEY, R. H.; KNOWLES, D. P. Equine Piroplasmiasis. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 30, p. 677–693, 2014.

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

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. **Journal of Veterinary Medicine and Science**, v. 63, p. 1159–1160, 2001.

YOUNG, A.S.; LEITCH, B.L. Production of *Rhipicephalus appendiculatus* with high infections of *Theileria parva*. **Journal of Parasitology**, v. 67, p. 751–752, 1981.

ZOBBA, R.; ARDU, M.; NICCOLINI, S.; CHESSA, B.; MANNA, L.; COCCO, R.; PARPAGLIA, M.L.P. Clinical and laboratory findings in equine piroplasmiasis. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 28, p. 301–308, 2008.

CAPÍTULO 3

Soroprevalência de *Toxoplasma gondii* em equídeos do Nordeste do Brasil

(Artigo aceito na Pesquisa Veterinária Brasileira)

Soroprevalência de *Toxoplasma gondii* em equídeos do Nordeste do Brasil¹

Neurisvan R. Guerra^{2*}; Jonatas C. de Almeida³; Elâine L. da Silva³; Edson M. da Silva²; José A. M. dos Santos²; Raphael Lepold²; Rinaldo A. Mota³; Leucio C. Alves².

Abstract.-This paper aims to determine the seroprevalence of toxoplasmosis in horses kept in different forms of breeding system in the state of Pernambuco. For that, 400 blood serum samples from clinically healthy horses were analyzed through the test of modified agglutination (MAT) considering cut-off of 1:25. Data related to the characteristics of the animals and herds, breeding system, presence of other animals, age, gender, breed, aptitude, and physical conditions were collected throughout investigative surveys. IgG anti-*T. gondii* antibodies were detected in 12, 5% (50/400) of the analyzed animals. In the 12 studied towns, there was a positivity in 91, 67% (11/12) with a variation between 4% and 33, 3%. When the risk factors were evaluated, only the mesoregion factor ($p=0,029$) had an association with the infection, particularly the Zona da Mata region (OR=3), followed by the Recife Metropolitan Area (OR=2,2), Agreste Region (OR= 1, 7) and Sertão Region (OR= 1). The results shows the presence of the parasites on the studied area, which may represent a link with the transmission chain of toxoplasmosis which has influence on the public health system, considering that Brazil is the eighth greatest exporter of equine meat in the world.

Indexing Terms: Risk Factor, Public Health, Zoonosis, Parasitic Disease, Serology.

Resumo.- Este estudo teve como objetivo determinar a soroprevalência da toxoplasmose em equídeos mantidos em diferentes formas de manejo no estado de Pernambuco. Para tanto, um total de 400 amostras de soro sanguíneo de equídeos clinicamente saudáveis foram analisados através do teste de aglutinação modificado (MAT) considerando-se *cut-off* de 1:25. Dados referentes às características dos animais e dos rebanhos, sistema de criação, presença de outros animais, idade, sexo, raça, aptidão, condição física foram coletados por meio de questionários investigativos. Anticorpos IgG anti-*T. gondii* foram detectados em 12,5% (50/400) dos animais analisados. Dos 12 municípios estudados, houve positividade em 91,67% (11/12) com variação entre 4,4% e 33,3%. Quando avaliados os fatores de risco, apenas o fator mesorregião ($p=0,029$) apresentou associação com a infecção, particularmente Zona da Mata (OR=3), seguida de Região Metropolitana do Recife (OR=2,2), Agreste (OR=1,7) e Sertão (OR=1). Os resultados revelam a presença do parasito na área estudada, o que pode representar um elo na cadeia de transmissão da toxoplasmose a qual tem repercussão em saúde pública tendo em vista que o Brasil é o oitavo maior exportador de carne equina do mundo.

Termos de Indexação: Fator de risco, saúde pública, zoonose, doença parasitária, sorologia.

Introdução

A toxoplasmose é uma antropozoonose parasitária causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*, parasita intracelular obrigatório (Tenter, Heckeroth & Weiss 2000), que acomete todos os animais homeotérmicos (Webster 2010) distantes da escala zoológica, tendo o gato doméstico como hospedeiro definitivo (Dubey et al., 2008).

Estima-se que mais de um terço da população mundial encontra-se infectada por *T. gondii* variando de acordo com as condições econômicas e hábitos culturais das populações estudadas (Aspinnall et al. 2002).

Entre as espécies domésticas, os equinos são os mais resistentes à infecção por *T. gondii*, podendo ocorrer encefalite (Coiro et al., 2012) além de sinais como hiperirritabilidade, incoordenação, desordens oculares e aborto que podem ser observados (De Moura et al. 2016).

Nesse contexto, o consumo de carne mal cozida está bem estabelecido como um importante fator de risco para infecção por *T. gondii* na população humana em todo o mundo (Boughattas et al. 2011). Embora o consumo de carne equina apresente pouca importância epidemiológica, tem-se observado um

¹ Recebido em

Aceito para publicação em.....

² Laboratório de Doenças Parasitárias dos Animais Domésticos, Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Rural de Pernambuco (UFRPE), Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife, PE, 52171-900, Brasil. Pesquisa de doutorado com apoio FACEPE. *Autor para correspondência: neurisvan.guerra@hotmail.com.

³ Laboratório de Doenças Infeciosas dos Animais Domésticos, Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Rural de Pernambuco (UFRPE), Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife, PE, 52171-900, Brasil.

aumento no consumo de carne de equídeos no Brasil (Coiro et al. 2012) que é um grande distribuidor do produto, sendo o oitavo maior exportador mundial (Brasil 2016).

Vários testes sorológicos para detecção de anticorpos IgG anti-*T. gondii* em equídeos têm sido realizados na identificação de animais sororreagentes em todo o mundo (Ghazy et al. 2007, Kouam et al. 2010), mostrando prevalências que variam entre zero a 90% (Uggla et al. 1990, Hejlícek & Literak 1994, Jakubek et al. 2006, Tassi 2007, Balkaya et al. 2011; Oliveira Filho et al. 2012; Miao et al. 2013; Gharekhani 2014), na dependência do teste utilizado e local de estudo (Dubey et al. 2014).

Considerando a importância da equideocultura no Brasil aliada à repercussão da toxoplasmose em saúde pública, este estudo tem como objetivo determinar a soroprevalência da toxoplasmose em equídeos mantidos em diferentes tipos de manejo.

Material e Métodos

Área de estudo e Animais

Esse trabalho foi realizado no estado de Pernambuco (8° 4' 14" S, 37° 15' 57" O) que está localizado na região Nordeste do Brasil e é dividido em quatro mesorregiões, a saber: Região Metropolitana do Recife, Zona da Mata, Agreste e Sertão (IBGE 2010). Quanto à população de equídeos, o estado possui 189.757 animais (IBGE 2006).

Considerando-se o número de equídeos de Pernambuco ($n > 10.000$), com uma prevalência estimada de 50%, margem de erro de $\pm 5\%$ e um nível de confiança de 95%, o cálculo amostral resultou em 384 amostras.

Um total de 400 amostras de soro equídeos clinicamente saudáveis, incluindo equinos (387/400), muares (4/400) e asininos (9/400) de ambos os sexos com idade de até 25 anos provenientes de 41 propriedades rurais, de quatro diferentes mesorregiões do estado de Pernambuco (8° 4' 14" S, 37° 15' 57" O).

Dados referentes às características dos animais e dos rebanhos, sistema de criação, presença de outros animais, idade, sexo, raça, aptidão, condição física foram coletados por meio de questionários investigativos. O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética Para o Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal Rural de Pernambuco sob a licença de número 036/2014.

Teste de aglutinação modificada

O teste de Aglutinação Modificado foi realizado de acordo com técnica descrita por Desmonts e Remington (1980) considerando-se o *cut-off* de 1:25 (Alvarado-Esquível et al. 2012).

O antígeno utilizado foi preparado a partir de cepa RH de *T. gondii* obtido de camundongos previamente inoculados no Laboratório de Doenças Infecciosas dos Animais Domésticos – Universidade Federal Rural de Pernambuco.

As amostras de soro foram diluídas (1:25) em tampão fosfato salino (PBS) contendo 2 – Mercaptoetanol 0,2M e adicionados 50µL da diluição em poços de placas de poliestireno de fundo em U. Em seguida, adicionou-se a cada diluição de soro, 50 µL dos taquizoítos de *T. gondii* preservados com formalina sendo mixados imediatamente com um pipetador por várias vezes. Após isso, as placas foram cobertas e incubadas em estufa à 37°C overnight.

Em todas as reações foram usados controles positivos e negativos, previamente testados e confirmados. Quanto aos resultados, foram considerados positivos quando se visualizava botão de contorno definido no fundo do poço da placa enquanto que resultado negativo na ausência de botão.

Análise dos dados

Para a análise dos fatores de risco associados à infecção, primeiramente, realizou-se uma análise univariada e, posteriormente, uma análise de regressão logística considerando como variável dependente o resultado obtido na sorologia (positiva ou negativa). As variáveis independentes ou explanatórias consideradas no modelo foram aquelas que apresentaram significância estatística inferior a 0,20. O programa EpiInfo™ 7 foi utilizado para a execução dos cálculos estatísticos e o nível de significância adotado foi de 5,0%.

Resultados

Anticorpos IgG anti-*T. gondii* foram detectados em 12,5% (50/400) dos animais analisados. Dos 12 municípios estudados, houve positividade em 91,67% (11/12) os quais apresentaram variação entre 4,4% e 33,3%.

Quando avaliados os fatores de risco, apenas o fator mesorregião ($p=0,029$) apresentou associação com a infecção, particularmente Zona da Mata (OR=3), seguida de RMR (OR=2,2), Agreste (OR=1,7) e Sertão (OR=1).

Quadro 1: Fatores de Risco associados à infecção por *Toxoplasma gondii* em equídeos.

Variáveis	N	SOROLOGIA		Valor P	Regressão logística OR (I.C. 95%)	Valor P
		Positiva				
Alimentação						
Sem suplementação	89	11	(12,4%)	0,844 ^(A)		
Com suplementação	170	23	(13,5%)			
Mista	141	16	(11,3%)			
Espécie						
Equina	387	48	(12,4%)		1	
Asinina	4	2	(50,0%)	0,040^{(A)*}	7,0 (0,9-51,3)	0,053
Muar	9	0	(0,0%)		**	0,973
Idade (anos)						
<2,5	90	8	(8,9%)	0,339 ^(A)		
Entre 2,5 – 11	276	39	(14,1%)			
≥ 11	34	3	(8,8%)			
Presença de gatos						
Sim	28	4	(14,3%)	0,766 ^(B)		
Não	372	46	(12,4%)			
Raça de equinos						
Mangalarga (ML)	5	1	(20,0%)	0,637 ^(A)		
Marchador (MM)	103	15	(14,6%)			
Quarto de milha	201	21	(10,4%)			
Sem raça definida	91	13	(14,3%)			
Sexo						
Fêmea	165	21	(12,7%)	0,908 ^(A)		
Macho	235	29	(12,3%)			
Tipo de criação						
À campo	158	17	(10,8%)	0,310 ^(A)		
Estabulado	101	17	(16,8%)			
Semi-estabulado	141	16	(11,3%)			
Região						
Sertão	88	6	(6,8%)	0,142 ^(A)	1	
Agreste	116	13	(11,2%)		1,7 (0,6-4,7)	0,290
RMR	107	15	(14,0%)		2,2 (0,8-6,0)	0,113
Zona da Mata	89	16	(18,0%)		3,0 (1,1-8,0)	0,029*

^(A) Teste χ^2 ; ^(B) Teste do Exato de Fisher; N – Total de Amostras; OR – Odds Ratio; I.C. – Intervalo de Confiança; *Associação significativa ao nível de 5,0%; **Indefinido.

Discussão

A prevalência de 12,5% de anticorpos IgG anti-*T. gondii* aqui observada foi superior aos resultados encontrados em estudos na Grécia (Kouam et al. 2010), Turquia (Karatepe et al. 2010), República Tcheca (Hejlíček & Literák 1994) e Brasil (Oliveira Filho et al., 2012), que relataram taxas de prevalência variando entre 1,8% e 8,0% e inferior àquelas observadas na Itália (Rinaldi & Scala 2008), Egito (Ghazy et al. 2007) e Iran (Tavalla et al. 2015) com prevalências variando entre 29% e 48,5%.

A diferença na variação nas taxas de soroprevalência para *T. gondii* em equídeos pode ser justificada em função da utilização dos diferentes testes sorológicos utilizados, cepas de *T. gondii*, o estado imunitário dos animais, idade, manejo e procedência dos animais (Dubey & Beattia 1988), aliado ao fator resistência natural dos equídeos à infecção por *T. gondii* (Mendonça et al. 2001).

Por outro lado, o teste de aglutinação modificado é uma técnica amplamente utilizada e validada para diferentes espécies animais, devido a facilidade de realização e concordância aos outros testes de diagnóstico, resultando em um maior número de resultados positivos e títulos ligeiramente mais altos quando comparados com a RIFI (Silva et al. 2002), sendo apontado como prova de escolha frente ao ELISA e à RIFI para o diagnóstico de anticorpos anti-*T. gondii* em ovinos (Seefeldt et al. 1989)

Neste estudo, a maior prevalência foi detectada na Zona da Mata (17,98%; OR=3), seguida da Região Metropolitana do Recife (14,02%; OR=2,2), Agreste (11,21%; OR=1,7) e Sertão (6,82%; OR=1).

Esta diferença pode ser justificada em virtude das diferenças climáticas existentes, pois o microclima da Zona da Mata e Região Metropolitana do Recife favorece a esporulação do oocisto de *T. gondii* e conseqüentemente a contaminação de alimentos, água e solo (Villena et al. 2012) e posterior infecção nos animais, diferente do Agreste e Sertão, cujo clima é seco e árido, com baixos índices pluviométricos, dificultando a viabilidade do agente no ambiente (Lúcio et al. 2016).

Não obstante, a infecção pelo *T. gondii* em gatos apresenta grande importância na vigilância epidemiológica sendo a presença destes animais um importante fator de risco, que pode quando em número de três ou mais gatos, aumentar em 70% o risco de infecção por *T. gondii* (Jones et al. 2009) nas espécies que co-habitam um determinado ambiente, notadamente em áreas metropolitanas do Brasil (Camargo et al. 1995)

Estudos realizados no Brasil, registraram uma associação entre as variáveis soropositividade à infecção e temperatura ambiente, sendo relatada que em temperaturas mais amena, umidade relativa alta, solo úmido e maior precipitação pluviométrica (Alves et al., 1997), observa-se maiores taxas de prevalência. Estas características são semelhantes às que ocorrem na Zona da Mata e Região Metropolitana do Recife, onde foram constatadas as maiores positivities no presente estudo.

Em função da não observância de diferença significativa na população de felinos, a prevalência de toxoplasmose em equinos em diferentes regiões aqui relatada, parece estar associada a fatores ambientais tais como umidade, temperatura e altitude (Gazêta et al. 1997) que interferem na sobrevivência dos oocistos no ambiente por um longo período (Villena et al. 2004), e conseqüentemente a ocorrência da infecção (Amendoeira et al. 2003).

Contudo, deve ser levado em consideração o deslocamento dos animais entre as regiões (Langoni et al. 2007), já que boa parte dos animais aqui avaliados são atletas e participam de competições hípcas em diferentes localidades do Brasil. Além destes, alguns outros equídeos são criados livres às margens de rodovias e podem sofrer acidentes, sendo importante fonte de infecção para felídeos e assim disseminarem a toxoplasmose no ambiente e para outras espécies (Alvarado-Esquível et al. 2015).

Quanto ao tipo de criação, observou-se uma maior prevalência da infecção entre os animais estabulados (16,8%), seguidos daqueles semi-estabulados (11,3%) e à campo (10,8%). Da mesma forma que justificado anteriormente, com relação a influência do ambiente, na sua grande maioria, os cavalos estabulados eram animais atletas, o que possibilita contato com diferentes ambientes contaminados.

Quando analisados por espécie, o presente estudo revelou uma soropositividade maior em asininos (50%) que equinos (12,4%) e muares (zero), corroborando com observações realizada por Oliveira et al. (2013) em seu estudo no nordeste do Brasil no qual encontrou positividade maior em asininos que em outras espécies.

Esta maior positividade dos asininos pode ser explicada pelo manejo dos animais, os quais eram criados de forma extensiva tendo acesso a outros locais contaminados por oocistos de *T. gondii* e em outras espécies de animais (García-Bocanegra et al. 2012), especialmente gatos domésticos.

Avaliando-se a variável idade, observou-se que a maior prevalência ocorreu nos animais adultos (2,5-11 anos) com 13,78% seguidos dos jovens (<2,5 anos) com 9,64% e por último os mais velhos (>11 anos) que apresentaram 8,82% de positividade, sem significância estatística. Resultado semelhante foi relatado em estudo na Espanha onde foi observada uma maior soropositividade em equídeos adultos (García-Bocanegra et al. 2012).

Apesar de animais poderem se infectar em qualquer fase de sua vida (García-Bocanegra et al. 2012), é provável que a taxa de prevalência seja proporcional à idade do animal em função de maior exposição ao agente etiológico (Boughattas et al. 2011).

Por sua vez, quando avaliada a variável alimentação, também não foram observadas diferenças estatisticamente significativas neste estudo, corroborando com Oliveira Filho et al. (2012) que trabalhando com equídeos no Nordeste do Brasil também não encontrou diferenças.

A prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* aqui observada (12,5%) comprova a circulação do parasito na população de equídeos sendo um dado de grande relevância na saúde pública, pois, apesar de não existir o hábito de consumir carne de equídeos, o Brasil é oitavo maior exportador mundial do produto (Brasil, 2016).

Conclusão

A detecção de anticorpos IgG anti-*T. gondii* revela a presença do parasito na área estudada, o que pode representar um elo na cadeia de transmissão da toxoplasmose a qual tem repercussão em saúde pública.

Referência

- Alvarado-Esquivel C., Alvarado-Esquivel D. & Dubey J.P. 2015. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in domestic donkeys (*Equus asinus*) in Durango, Mexico slaughtered for human consumption. BMC Vet. Res. 11:6.
- Alvarado-Esquivel C., Rodríguez-Peña S., Villena I. & Dubey J.P. 2012. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* Infection in Domestic Horses in Durango State, Mexico. J. Parasitol. 98(5):944-945.
- Alves C.J., Vasconcelos S.A., Navarro I.T. & Barbosa C.S. 1997. Avaliação dos níveis de aglutininas anti-toxoplasma em soros de caprinos de cinco centros de criação do nordeste do Brasil. Revta Bras. Ciênc. Vet. 4(2):75-77.
- Amendoeira M.R.R., Sobral C.A.Q., Teva A., Lima J.N. & Klein C.H. 2003. Inquérito sorológico para a infecção por *Toxoplasma gondii* em ameríndios isolados, Mato Grosso. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 36: 671-676.
- Aspinall T.V., Marlee D., Hyde J.E. & Sims P.F.G. 2002. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in commercial meat products as monitored by polimerase chain reaction – food for thought? Int. J. Parasitol. 32 (9): 1193-1199.
- Balkaya I., Babur C., Celebi B. & Utuk A.E. 2011. Seroprevalence of toxoplasmosis in donkeys in eastern Turkey. Isr. J. Vet. Med. 66: 39-42.
- Boughattas S.; Bergaoui R.; Essid R.; Aoun K.; Bouratbine A. 2011. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection among horses in Tunisia. Parasit. Vectors, 4:218.
- BRASIL, 2016. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/equideos>. Acessado em 12.10.2016.
- Camargo M.C.V., Antunes C.M. & Chiari C.A. 1995. Epidemiologia da infecção por *Toxoplasma gondii* no município de Ribeirão das Neves, MG: I - Importância dos animais domésticos como fonte de infecção do *T. gondii* para o homem. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 28: 211-214.
- Coiro C.J., Langoni H. & Silva R.C. 2012. Epidemiological Aspects in the *Leptospira* spp. and *Toxoplasma gondii* Infection in Horses from Botucatu, São Paulo, Brazil. J. Equine Vet. Sci. 32(10): 620-623.
- De Moura A.B., Matiello J.P., Silva M.O., Souza A.P., Sartor A.A. 2016. Antibodies against *Toxoplasma gondii* in horses from the coastal and mountain mesoregions of the state of Santa Catarina, Brazil. *Semin. Ci. Agr.* 37(1): 203-211.
- Desmonts G. & Remington J.S. 1980. Direct Agglutination Test for Diagnosis of *Toxoplasma* Infection: Method for Increasing Sensitivity and Specificity. J. Clin. Microbiol. 11(6): 562-568.
- Dubey J.P. & Beattia C.P. 1988. *Toxoplasmosis of animals and man*. CRC Press. Boca Raton, FL.USA. 220p.
- Dubey J.P., Jones J.L. 2008. *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States. Int. J. Parasitol. 38 (11): 1257-1278.
- Dubey J.P., Ness S.L., Kwok O.C., Choudhary S., Mittel L.D. & Divers T.J. 2014. Seropositivity of *Toxoplasma gondii* in domestic donkeys (*Equus asinus*) and isolation of *T. gondii* from farm cats. Vet. Parasitol. 199 (1-2): 18-23.
- García-Bocanegra I., Cabezón O., Arenas-Montes A., Carbonero A., Dubey J.P., Perea A., & Almería S. 2012. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in equids from Southern Spain. Parasitol. Int. 61(3), 421-424.
- Gazêta G.S., Dutra A.E.A., Norberg A.N., Serra-Freire N.M., Souza W.J.S., Amorim, M.; Lopes L.M.S. 1997. Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em soros de equinos no Estado do Rio de Janeiro, Brazil. Rev. Bras. Parasitol. Vet. 6(2):87-91.
- Gharekhani, J. 2014. *Toxoplasma gondii* Infection in domestic animals in Hamedan, Iran: a sero-epidemiological study. Bulletin UASVM Vet. Med. 71 (1): 68-72.

- Ghazy A.A., Shaapan R.M., Abdel-Rahman E. H. 2007. Comparative serological diagnosis of toxoplasmosis in horses using locally isolated *Toxoplasma gondii*. *Vet. Parasitol.* 145: 31–36.
- Hejlíček K. & Literák I. 1994. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in horses in the Czech Republic. *Acta Parasitol.* 39(4):217–219.
- IBGE, 2006. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/estadosat/temas.php?sigla=pe&tema=censoagro>. Acessado em: 22.10.2016.
- IBGE, 2010. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/estadosat/perfil.php?lang=&sigla=pe>. Acessado em: 19.11.2016
- Jakubek E., Lunden A. & Uggla, A. 2006. Seroprevalences of *Toxoplasma gondii* and *Neospora* spp. infections in Swedish horses. *Vet. Parasitol.* 138 (3-4): 194- 199.
- Jones J.L., Dargelas V., Roberts J., Press C., Remington J.S., Montoya J.G. 2009. *Clin. Infect. Dis.* 49(6): 878-84.
- Karatepe B., Babür C., Karatepe M., Kiliç S. 2010. Seroprevalence of toxoplasmosis in horses in Niğde Province of Turkey. *Trop. Anim. Health Prod.*; 42 (3):385–389.
- Kouam M.K., Diakou A., Kanzoura V., Papadopoulos E., Gajadhar A.A. & Theodoropoulos G. 2010. A seroepidemiological study of exposure to *Toxoplasma*, *Leishmania*, *Echinococcus* and *Trichinella* in equids in Greece and analysis of risk factors. *Vet. Parasitol.* 170: 170–175.
- Langoni H., Silva A.V., Pezerico S.B. & Lima, V.Y. 2007. Utilization of modified agglutination test and indirect immunofluorescent antibody test for the detection of *Toxoplasma gondii* antibodies in naturally exposed horses. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 44 (1) 27-32.
- Lúcio E.C., Santos, S.M.C., Pimentel J.L., Albuquerque R.A.M., Oliveira J.M.B, Silva Júnior J.L., Albuquerque P.P.F., Mota R.A. & Pinheiro Junior, J.W. 2016. Análise epidemiológica da infecção por *Toxoplasma gondii* em caprinos no estado de Pernambuco, Brasil. *Rev. Bras. Med. Vet.* 38(1):13-18.
- Mendonça A.O.; Cerqueira E.J.L.; Araújo W.N.; Moraes-Silva E.; Shimabukuro F.H.; Sarkis D.T.; Sherlock I.; Langoni H. 2001. Inquérito sorológico para toxoplasmose em equídeos procedentes de duas regiões do estado da Bahia, Brasil. *Semina: Ci. Agr.* 22 (2)115- 118.
- Miao Q., Wang X., She L.N., Fan Y.T., Yuan F.Z., Yang J.F., Zhu X.Q. & Zou F.C. 2013. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in horses and donkeys in Yunnan Province, Southwestern China. *Parasit. Vectors.* 6: 168.
- Oliveira E., Albuquerque P.P.F., Souza Neto O.L., Faria E.B., Pinheiro Júnior J.W. & Mota R.A. 2013. Occurrence of Antibodies to *Toxoplasma gondii* in Mules and Donkeys in the Northeast of Brazil. *J. Parasitol.* 99(2):343-345.
- Oliveira Filho R.B., Malta K.C., Oliveira J.M.B., Albuquerque P.P.F., Mota R.A., Santana V.L.A., Alves L.C. & Pinheiro Junior, J.W. 2012. Epidemiological situation of *Toxoplasma gondii* infection in equids from Brejo Paraibano microregion, *Pesq. Vet. Bras.* 32 (10): 995- 1000.
- Rinaldi L. & Scala A. 2008. Toxoplasmosis in livestock in Italy: an epidemiological update. *Parassitol.* 50 (1-2):59–61.
- Seefeldt S.L., Kirkbride C.A. & Dubey J.P. 1989. Comparison of enzyme-linked immunosorbent assay, indirect fluorescent antibody test, and direct agglutination test for detecting *Toxoplasma gondii* antibodies in naturally aborted ovine fetuses. *Journ. Vet. Diagn. Invest.* 1 (2): 124-127.
- Silva A.V., Cutolo A.A.; Langoni H. 2002. Comparação da reação de imunofluorescência indireta e do método de aglutinação direta na detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma* em soros de ovinos, caprinos, caninos e felinos. *Arq. Inst. Biol.* 69 (1) 7-11.
- Tassi P. 2007. *Toxoplasma gondii* infection in horses – A review. *Parassitol.* 49 (1-2): 7-15.
- Tavalla M., Sabaghan M., Abdizadeh R., Khademvatan S., Rafiei A., & Piranshahi, A.R. 2015. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora* spp. Infections in Arab Horses, Southwest of Iran. *Jundishapur J. Microbiol.*, 8(3)1-5.
- Tenter A.M., Heckeroth A.R. & Weiss L.M. 2000. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *Int. J. Parasitol.* 30:1217-58.
- Uggla A., Mason S. & Juni N. 1990. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in cats, dogs and horses in Sweden. *Acta Vet. Scand.* 31 (2): 219-222.
- Villena I., Aubert D., Gomis P., Ferté H., Ingland J.C., Denis-Bisiaux H., Dondon J.M., Pisano E., Ortis N., Pinon J.M., 2004. Evaluation of a strategy for *Toxoplasma gondii* oocyst detection in water. *Appl. Environ. Microbiol.* 70 4035–4039.
- Villena I., Durand B., Aubert D., Blaga R., Geers R., Thomas M., Perret C., Alliot A., Escotte-Binet S., Thébault A., Boireau P. & Halos L. 2012. New strategy for the survey of *Toxoplasma gondii* in meat for human consumption. *Vet. Parasitol.* 183(3-4):203-208.
- Webster J.P. 2010. Review of “Toxoplasmosis of Animals and Humans. In *Parasit. Vectors* Edited by: Dubey J.P., Second, 3:112.

Legenda de Figuras

Quadro 1. Fatores de risco associados à infecção por *Toxoplasma gondii* em equídeos.

CAPÍTULO 4

**Prevalência de anticorpos anti-*Neospora* sp.
em equídeos criados em diferentes sistemas
de manejo**

Prevalência de anticorpos anti-*Neospora* spp. em equídeos criados em diferentes sistemas de manejo

Neurisvan Ramos Guerra¹, Rinaldo Aparecido Mota², Jonatas Campos de Almeida², Elâine Lídia da Silva², Edson Moura da Silva¹, Hévila Mara Moreira Sandes Guerra¹, Sandra Maria de Torres¹, Leucio Câmara Alves¹

¹Laboratório de Doenças Parasitárias dos Animais Domésticos - Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Recife, PE, Brasil

²Laboratório de Bacterioses dos Animais Domésticos - Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Recife, PE, Brasil

RESUMO

A neosporose tem se tornado uma doença emergente em todo o mundo, acometendo caninos e bovinos, além de caprinos, ovinos, equinos e animais silvestres. A doença é causada por parasitos do gênero *Neospora*, sendo *Neospora caninum* a principal espécie reportada. Entretanto em equinos uma segunda espécie, *Neospora hughesi*, tem sido mais frequentemente reportada em fetos abortados. Tendo em vista a escassez de informações sobre a neosporose equina, e suas consequências, este estudo teve como objetivo determinar a prevalência da infecção em equídeos criados em diferentes sistemas de manejo no Nordeste do Brasil. A sorologia foi realizada em 400 amostras séricas de equídeos por meio do teste de aglutinação modificado (MAT) considerando ponto de corte 1:40. A soropositividade total foi de 5,7% (23/400). As variáveis idade, tipo de criação e região apresentaram significância estatística. Em relação à idade, observou-se que animais acima de 11 anos apresentaram 11,8 vezes de chances a mais de serem sororreagentes, quando comparados com os animais jovens (<2,5). Quanto ao tipo de criação, observou-se que maiores taxas de prevalências ocorreram naqueles animais criados semi-estabulados (9,9%), demonstrando 3,6 vezes mais chances de se tornarem sororreagentes quando comparados aos animais criados estabilados. Quanto à região, observou-se maior positividade na Zona da Mata (11,2%) ou 7,2 vezes mais chances de infecções por *Neospora* spp. A prevalência encontrada demonstra que o parasito está disperso nas áreas estudadas e que as variáveis idade, tipo de criação e região são fatores de riscos mais importantes para ocorrência da infecção em equídeos, devendo ser considerados na prevenção da doença.

Palavras-chave: Neosporose, Fatores de Risco, Teste de Aglutinação Modificado, MAT, equídeos.

ABSTRACT

Neosporosis has become an emerging disease over all the world, affecting canines and cattle, as well as goats, sheep, horses and wild animals. The disease is caused by parasites of the genus *Neospora*, with *Neospora caninum* being the main species reported. However in equines a second species, *Neospora hughesi*, has been more frequently reported in aborted fetuses. Considering the scarcity of information on equine neosporosis and its consequences, this study aimed to determine the prevalence of infection in equids reared in different management systems in Northeast Brazil. Serology was performed on 400 equids serum samples by means of the modified agglutination test (MAT) considering a cut-off point of 1:40. Total seropositivity was 5.7% (23/400). The variables age, breeding type and region presented statistical significance. Regarding age, animals older than 11 years were 11.8 times more likely to be serum-reactive when compared to young animals (<2.5). Regarding the type of breeding, it was observed that higher prevalence rates occurred in semi-stalled animals (9.9%), demonstrating a 3.6-fold increase in serum-reactants compared to reared animals. Concerning to the region, it was observed a greater positivity in the Zona da Mata (11.2%) or 7.2 times more chances of infections by *Neospora* spp. The prevalence found shows that the parasite is dispersed in the studied areas and that the variables age, breeding type and region are the most important risk factors for the occurrence of infection in equids, and should be considered in the prevention of the disease.

Key words: Neosporosis, Risk Factors, Modified Agglutination Test, MAT, equids.

Introdução

A neosporose é uma doença emergente em todo o mundo, acometendo caninos e bovinos além de caprinos, ovinos, equinos e animais silvestres (DUBEY, 2003). Desde o primeiro relato (BJERKÅS et al., 1984) e caracterização do gênero (DUBEY et al., 1988), *Neospora hughesi* tem sido reportado em fetos abortados de equinos (DUBEY & PORTERFIELD, 1990; PRONOST et al., 1999), e em equinos de diferentes idades (GRAY et al., 1996; DAFT et al., 1996; MARSH et al., 1996; HAMIR et al., 1998; CHEADLE et al., 1999), com caracterização molecular de três isolados (CHEADLE et al., 1999; WALSH et al., 2000; DUBEY et al., 2001; MARSH et al., 2001). Por outro lado, a infecção por *N. caninum* em equinos ainda permanece obscura (HOANE et al., 2006).

A prevalência da infecção tem sido reportada na América do Sul, América do Norte, Europa e Ásia, com taxas variando de zero a 64% (PITEL et al. 2003; CIARAMELLA et al. 2004; JAKUBEK et al. 2006; KILBAS et al. 2008; PIANTEDOSI et al. 2009; BARTOVÁ et

al., 2010; MOURA et al., 2013; TALAFHA et al., 2015; QUEVEDO et al., 2015; GENARI et al., 2016; CAZAROTTO et al. 2016; RIBEIRO et al., 2016). Do ponto de vista clínico os animais infectados podem apresentar paralisia dos membros posteriores, incoordenação, ataxia e aborto (STELMANN et al., 2011).

Contudo, poucas informações sobre a neosporose equina, e suas consequências para indústria equina tem sido reportada. Assim, tendo em vista a escassez de dados da infecção por *Neospora* spp em equinos no Nordeste do Brasil, este estudo teve como objetivo determinar a prevalência da infecção em equídeos criados em diferentes sistemas de manejo.

Material e Métodos

Área de estudo e Animais

Esse trabalho foi realizado no estado de Pernambuco (8° 4' 14" S, 37° 15' 57" O), localizado na região Nordeste do Brasil, sendo dividido em quatro mesorregiões, a saber: Região Metropolitana do Recife, Zona da Mata, Agreste e Sertão (IBGE 2010). Quanto à população de equídeos, o estado possui 189.757 animais (IBGE 2006).

Considerando-se o número de equídeos de Pernambuco ($n > 10.000$), com uma prevalência estimada de 50%, margem de erro de $\pm 5\%$ e um nível de confiança de 95%, o cálculo amostral resultou em 384 amostras.

Utilizou-se um total de 400 amostras de soro de equídeos clinicamente saudáveis, incluindo equinos (387/400), muares (4/400) e asininos (9/400) de ambos os sexos com idade de até 25 anos provenientes de 41 propriedades rurais, de quatro diferentes mesorregiões do estado de Pernambuco.

Dados referentes às características dos animais e dos rebanhos, sistema de criação, presença de outros animais, idade, sexo, raça, aptidão, condição física foram coletados por meio de questionários investigativos. O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética Para o Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal Rural de Pernambuco sob a licença de número 036/2014.

Teste de Aglutinação Modificado (MAT)

A sorologia foi realizada por meio do teste de aglutinação modificado (MAT) como descrito por PACKHAM et al. (1998) considerando ponto de corte 1:40 (DUBEY et al., 1999).

As amostras de soro foram diluídas (1:40) em tampão fosfato salino (PBS) contendo 2 – Mercaptoetanol 0,2M e adicionados 50µL da diluição em poços de placas de poliestireno de fundo em U. Em seguida, adicionou-se a cada diluição de soro, 50 µL dos oocistos de *Neospora*

caninum preservados com formalina sendo mixados imediatamente com um pipetador por várias vezes. Após isso, as placas foram cobertas e incubadas em estufa a 37°C overnight.

Em todas as reações foram usados controles positivos e negativos, previamente testados e confirmados. Quanto aos resultados, foram considerados positivos quando se visualizava botão de contorno definido no fundo do poço da placa enquanto que resultado negativo na ausência de botão.

Análise dos dados

Para a análise dos fatores de risco associados à infecção, primeiramente, realizou-se uma análise univariada das variáveis de interesse através do teste de Qui-quadrado de Pearson (X^2) ou Exato de Fisher, quando necessário, e, posteriormente, uma análise de regressão logística considerando como variável dependente o resultado obtido na sorologia (positiva ou negativa). As variáveis independentes ou explanatórias consideradas no modelo foram aquelas que apresentaram significância estatística inferior a 0,20. Essa probabilidade foi estipulada para que possíveis fatores de risco do evento não fossem excluídos da análise (HOSMER & LEMESHOW, 1989). O programa EpiInfo™ 7 foi utilizado para a execução dos cálculos estatísticos e o nível de significância adotado foi de 5,0%.

Resultados e Discussão

Anticorpos IgG anti-*Neospora* sp. foram detectados em todas as mesorregiões e em 66,67% (8/12) dos municípios estudadas comprovando a dispersão do parasito nessas áreas (Tabela 1), com taxas entre os municípios variando de zero a 15,7%. A soropositividade total foi de 5,7% (23/400), resultado próximo àqueles encontrados na França (6%), Brasil (4,1%) e Costa Rica (3,5%), por Pitel et al. (2003), Moura et al. (2013) e Dangoudoubiyam et al. (2011), respectivamente.

A prevalência aqui encontrada foi baixa, comparada com outros estudos no Chile, Colômbia, Estados Unidos, Itália e Irã (BLANCO et al., 2014; PATITUCCI et al. 2004; DUBEY et al., 1999a; CIARAMELLA et al. 2004; MORAJEV et al., 2011; GHAREKHANI et al., 2013) com resultados variado de 19,7% a 52%.

Por outro lado, a prevalência aqui observada foi superior àquelas encontradas em estudos realizados na Argentina (0%), República Tcheca (0,4%) e Coréia do Sul (2,0%) por Dubey et al. (1999b), Bartová et al. (2010) e Gupta et al. (2002), respectivamente.

A variação dos resultados identificados em todo o mundo ocorre devido à utilização de diferentes testes sorológicos em cada estudo, suas limitações, não padronização bem como o ponto de corte adotado (TALAFHA et al., 2015). Além disso, o desenho do estudo, critério de

seleção para coleta de amostras, diferentes níveis de exposição a vários fatores de risco, e fatores de proteção para infecção ou doença dificulta a comparação entre as soroprevalências (JAKUBEK et al., 2006).

Em função de antígenos comuns às espécies de *N. caninum* e *N. hughesi*, reação cruzada tem sido detectada (MARSH et al., 1996, 1998; DUBEY et al., 2001; PACKHAM et al., 2002; GONDIM et al., 2009), o que valida a utilização dos antígenos de *N. caninum* utilizada no presente estudo (WALSH et al., 2000; VILLALOBOS et al., 2012).

Quanto à espécie envolvida nas infecções, a caracterização molecular deve ser realizada (HOANE et al., 2005) para assegurar a(s) espécie(s) envolvidas nas mesorregiões estudadas.

O presente trabalho avaliou fatores de risco (Tabela 1), tendo em vista a importância de identificá-los e entender seu papel na transmissão e epidemiologia da doença para o desenvolvimento e implementação de medidas adequadas para o controle da neosporose equina (TALAFHA et al., 2015).

Em relação à idade, observou-se que animais acima de 11 anos apresentaram 11,8 vezes de chances a mais de serem sororreagentes quando comparados com os animais jovens (<2,5). Esse resultado corrobora com as observações de Kligler et al. (2007) e Karatepe et al. (2012) que encontraram maior prevalência em equídeos com mais de 10 anos de idade e animais velhos respectivamente. Acredita-se, que a idade possa estar relacionada com a maior exposição dos animais à infecção por *Neospora* spp., particularmente através da transmissão horizontal ao longo do tempo.

Quanto ao tipo de criação, observou-se que maiores taxas de prevalências ocorreram naqueles animais criados semi-estabulados (9,9%), seguidos dos criados a campo (3,8%) e estabulados (2,9%). Assim, animais semi-estabulados apresentaram 3,6 vezes de chance a mais de serem soro-reagentes quando comparados com os animais criados estabulados. Nesse caso, é sabido que tanto os animais semi-estabulados como os criados a campo tinha acesso a pasto principalmente nas épocas mais chuvosas do ano, expondo, assim, esses animais aos oocistos presentes no ambiente (VALENÇA et al., 2015).

Quanto à região, as diferenças foram significantes estatisticamente observando-se maior positividade na Zona da Mata (11,2%), seguida de RMR (6,5%), Sertão (4,5%) e Agreste (1,7%).

Tabela 1: Análise dos fatores de risco associados à infecção por *Neospora* sp. em equídeos criados em diferentes sistemas de criação

Variáveis	N	SOROLOGIA		Valor P	Regressão logística OR (I.C. 95%)	Valor P
		Positiva				
Alimentação						
Sem suplementação	89	3	(3,4%)	0,029^{(A)*}	1	0,094
Com suplementação	170	6	(3,5%)		1,0 (0,2-4,3)	
Mista	141	14	(9,9%)		3,1 (0,9-11,3)	
Espécie						
Asinina	4	0	(0,0%)	0,663 ^(A)		
Equina	387	23	(5,9%)			
Muar	9	0	(0,0%)			
Idade (anos)						
<2,5	90	1	(1,1%)	0,046^{(A)*}	1	0,077
Entre 2,5 – 11	276	18	(6,5%)		6,2 (0,8-47,1)	
≥ 11	34	4	(11,7%)		11,8 (1,2-110,3)	
Presença de Cães						
Não	128	3	(2,3%)	0,063 ^(B)	1	0,057
Sim	272	20	(7,4%)		3,3 (0,9-11,3)	
Raça de equinos						
Mangalarga (ML)	5	0	(0,0%)	0,702 ^(A)		
Marchador (MM)	103	8	(7,8%)			
Quarto de milha	201	11	(5,5%)			
Sem raça definida	91	4	(4,4%)			
Sexo						
Fêmea	165	10	(6,1%)	0,823 ^(A)		
Macho	235	13	(5,5%)			
Tipo de criação						
Estabulado	101	3	(2,9%)	0,029^{(A)*}	1	0,723
À campo	158	6	(3,8%)		1,3 (0,3-5,2)	
Semi-estabulado	141	14	(9,9%)		3,6 (1,0-12,9)	
Região						
Agreste	116	2	(1,7%)	0,032^{(A)*}	1	0,255
Sertão	88	4	(4,5%)		2,7 (0,5-15,1)	
RMR	107	7	(6,5%)		4,0 (0,8-19,6)	
Zona da Mata	89	10	(11,2%)		7,2 (1,5-33,8)	

(A) Teste χ^2 ; (B) Teste do Exato de Fisher; N – Total de Amostras; OR – Odds Ratio; I.C. – Intervalo de Confiança; *Associação significativa ao nível de 5,0%; **Indefinido.

A Zona da Mata apresentou 7,2 vezes mais chances de infecção por *Neospora* sp. Nesse sentido, Dubey et al. (2007) sugere que alta temperatura e umidade são condições favoráveis para a sobrevivência do agente sendo compatíveis com o clima dessa região. Diferenças quanto a grupos de diferentes regiões geográficas foram encontradas também nos Estados Unidos da América - EUA (VANDERLEON et al., 2001) e na Jordânia (TALAFHA et al., 2015), porém, nesse último caso, não encontraram significância estatística como no presente estudo.

A presença de outros animais como caninos em contato com os equídeos pode possibilitar a infecção desses, pois o pasto pode ser contaminado com oocistos de *Neospora* sp. de fezes de cães infectados os quais se infectam ao ingerir carcaças, fetos e placentas contaminadas (VILLALOBOS et al., 2012). Entretanto, aqui não houve associação da presença de caninos à infecção, apesar de haver uma maior prevalência entre aqueles animais mantidos em contato com cães (7,4%), concordando com Talafha et al. (2015) que estudou a soroprevalência e fatores de risco de equinos assintomáticos, não revelando significância.

Não houve diferença significativa quanto ao sexo, concordando com resultados de trabalhos na Jordânia (TALAFHA et al. 2015) e no Brasil (VILLALOBOS et al., 2012).

Nenhum dos muares ou asininos examinados foi sororreagente para presença de anticorpos IgG anti-*Neospora* sp, o que vai de encontro a Galvão et al. (2013), que sugere que os asininos são hospedeiros mais eficientes de *Neospora* sp. do que equinos. A razão para esta discordância pode estar na amostragem utilizada no presente trabalho devido ao pequeno número de asininos e muares.

Analisando-se por raças dos equinos avaliados, observaram-se maiores positivities nas raças puras em relação aos mestiços (Tabela 1) mas sem significância estatística. Diferentes soroprevalências de *Neospora* spp. em raças foram relatadas em equinos dos EUA (PUSTERLA et al., 2014) e na Itália (BARTOVÁ et al., 2015). No entanto, não há estudos relacionando sensibilidade de animais de raças puras ou animais mestiços à infecção.

Em relação à alimentação, apesar de não haver significância estatística, observou-se um maior número de animais soro-reagentes submetidos à alimentação mista (9,9%) seguidos daqueles sem suplementação (3,5%) e com suplementação (3,4%). Nesses animais, deve-se levar em consideração que as duas primeiras classes tinham acesso à pastagem que pode estar contaminada com oocistos de *Neospora* spp. provenientes de fezes de cães infectados (VILLALOBOS et al., 2012).

Conclusão

A prevalência de anticorpos IgG anti-*Neospora* spp. encontrada demonstra que o parasito está disperso nas áreas estudadas e que as variáveis idade, tipo de criação e região são fatores de riscos importantes para ocorrência da infecção em equídeos, devendo ser considerados na prevenção da doença.

Referências

- BÁRTOVÁ E., SEDLÁK K., SYROVÁ M., LITERÁK I. *Neospora* spp. and *Toxoplasma gondii* antibodies in horses in the Czech Republic. *Parasitology Research*, v.107, p.783–785, 2010.
- BÁRTOVÁ, E.; MACHAČOVÁ, T.; SEDLÁK, K.; BUDÍKOVÁ, M.; MARIANI, U.; VENEZIANO, V. Seroprevalence of antibodies of *Neospora* spp. and *Toxoplasma gondii* in horses from southern Italy. *Folia Parasitologica*, v.62, n.43, p.1-4, 2015.
- BJERKAS, I.; MOHN, S.F.; PRESTHUS, J. Unidentified cyst-forming Sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. *Z. Parasitenkd.*, v.70, p.271-274, 1984.
- BLANCO, R.D.; PATARROYO, J.H.; VARGAS, M.I.; CARDONA, J.A.; ARAÚJO, L.S.; GOMEZ, V.E. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora* spp. em jumentos (*Equus asinus*) no estado de Sucre – Colômbia. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.66, n.2, p.450-454, 2014.
- CAZAROTTO, C.J.; BALZAN, A.; GROSSKOPF, R.K.; BOITO, J.P.; PORTELLA, L.P.; VOGEL, F.F.; FAVERO, J.F.; CUCCO, D.C.; BIAZUS, A.H.; MACHADO, G.; SILVA, A.S. Horses seropositive for *Toxoplasma gondii*, *Sarcocystis* spp. and *Neospora* spp.: Possible risk factors for infection in Brazil. *Microbial Pathogenesis*, v. 99, p.30-35. 2016.
- CHEADLE, M.A.; LINDSAY, D.S.; ROWE, S.; DYKSTRA, C.C.; WILLIAMS, M.A.; SPENCER, J.A.; TOIVIO-KINNUCAN, M.A.; LENZ, S.D.; NEWTON, J.C.; ROLSMA, M.D.; BLAGBURN, B.L. Prevalence of antibodies to *Neospora* sp. in horses from Alabama and characterization of an isolate recovered from a naturally infected horse. *International Journal for Parasitology*, v.29, n. 10, p.1537–1543, 1999.
- CIARAMELLA, P.; CORONA, M.; CORTESE, L.; PIANTEDOSI, D.; SANTORO, D.; DI LORIA, A.; RIGATO, R. Seroprevalence of *Neospora* spp. in asymptomatic horses in Italy. *Veterinary Parasitology*, v.123, n.1-2, p.11–15, 2004.
- DAFT, B.M.; BARR, B.C.; COLLINS, N.; SVERLOW, K. *Neospora* encephalomyelitis and polyradiculoneuritis in an aged mare with Cushing's disease. *Equine Veterinary Journal*, v. 28, n.3, p. 240-243, 1996.

DANGOUDOUBIYAM, S.; OLIVEIRA, J.B.; VIQUEZ, C.; GOMEZ-GARCIA, A.; GONZALEZ, O.; ROMERO, J.J.; KWOK, O.C.; DUBEY, J.P.; HOWE, D.K. Detection of antibodies against *Sarcocystis neurona*, *Neospora* spp., and *Toxoplasma gondii* in horses from Costa Rica. *Parasitology*, v.97, n.3, p.522–524, 2011.

DUBEY J.P. & PORTERFIELD M.L. *Neospora caninum* (Apicomplexa) in an aborted equine fetus. *Journal of Parasitology*, v.76, n.5, p.732-734, 1990.

DUBEY J.P.; ROMAND, S.; THULLIEZ, P.; KWOK, O.C.; SHEN, S.K.; GAMBLE, H.R. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in horses in North America. *Journal of Parasitology*, v.85, n.5, p.968-969, 1999.

DUBEY, J.P.; LIDDELL, S.; MATTSON, D.; SPEER, C.A.; HOWE, D.K.; JENKINS, M.C. Characterization of the Oregon isolate of *Neospora hughesi* from a horse. *Journal of Parasitology*, v.87, n.2, p.345-353, 2001.

DUBEY, J.P. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *Korean Journal of Parasitology*, v.41, n.1, p.1–16, 2003.

DUBEY, J.P., CARPENTER, J.L., SPEER, C.A., TOPPER, M.J.; UGGLA, A. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v.192, n.9, p.1269-1285, 1988.

DUBEY, J.P.; SCHARES, G.; ORTEGA-MORA, L.M. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. *Clinical Microbiology Reviews*, v.20, n.2, p.323–367, 2007.

DUBEY, J.P.; VENTURINI, M.C.; VENTURINI, L.; MCKINNEY, J.; PECORARO, M. Prevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in horses from Argentina. *Veterinary Parasitology*, v.86, n.1, p.59–92, 1999b.

DUBEY, J.P.; PORTERFIELD, M.L. *Neospora caninum* (Apicomplexa) in an aborted equine fetus. *International Journal for Parasitology*, v.76, n.5, p.732-734, 1990.

DUBEY, J.P.; ROMAND, S., THULLIEZ, P.; KWOK, O.C.; SHEN, S.K.; GAMBLE, H.R. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in horses in North America. *Journal of Parasitology*, v.85, n.5, p.968-969, 1999a.

GALVÃO, C.M.M.Q. Frequência de anticorpos anti-*Neospora* sp. em equinos (*Equus caballus*) e asininos (*Equus asinus*) criados no Estado da Bahia. 43f. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Salvador, 2013.

GENNARI, S.M.; PENA, H.F.J.; LINDSAY, D.S.; LOPES, M.G.; SOARES, H.S.; CABRAL, A.D.; VITALIANO, S.N.; AMAKU, M. Prevalence of antibodies against *Neospora* spp. and *Sarcocystis neurona* in donkeys from northeastern Brazil. *Brazilian Journal Veterinary Parasitology*, v.25, n.1, p.109-111, 2016.

GHAREKHANI, J.; TAVOOSIDANA, GH.R; NADERISEFAT GH.R Seroprevalence of *Neospora* infection in horses and donkeys in Hamedan province, Western Iran. *Veterinary World*, v.6, n.9, p.620-622, 2013.

GONDIM, L.F.P.; LINDSAY, D.S.; MCALLISTER, M.M. Canine and bovine *Neospora caninum* control sera examined for cross-reactivity using *Neospora caninum* and *Neospora hughesi* indirect fluorescent antibody tests. *Journal of Parasitology*, v.95, n.1, p.86-88, 2009.

GRAY, M.L.; HARMON, B.G.; SALES, L.; DUBEY, J.P. Visceral neosporosis in a 10-year-old horse. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v.8, p.130-133, 1996.

GUPTA, G.D.; LAKRITZ, J.; KIM, J.H.; KIM, D.Y.; KIM, J.K.; MARSH, A.E. Seroprevalence of *Neospora*, *Toxoplasma gondii* and *Sarcocystis neurona* antibodies in horses from Jeju island, South Korea. *Veterinary Parasitology*, v.106, n.3, p.193-201, 2002.

HAMIR, A.N.; TORNQUIST, S.J.; GERROS, T.C.; TOPPER, M.J.; DUBEY, J. *Neospora caninum* — associated equine protozoal myeloencephalitis. *Veterinary Parasitology*, v.79, n.4, p.269-274, 1998.

HOANE, J.S.; GENNARI, S.M.; DUBEY, J.P.; RIBEIRO, M.G.; BORGES, A.S.; YAI, L.; AGUIAR, D.M.; CAVALCANTE, G.I.; BONESI, G.L.; HOWE, D.K. Prevalence of *Sarcocystis neurona* and *Neospora* spp. infection in horses from Brazil based on presence of serum antibodies to parasite surface antigen. *Veterinary Parasitology* v.136, n.2, p.155-159, 2006.

HOANE, J.S.; YEARGAN, M.R.; STAMPER, S.; SAVILLE, W.J.; MORROW, J.K.; LINDSAY, D.S.; HOWE, D.K. Recombinant NhSAG1 ELISA: a sensitive and specific assay

for detecting antibodies against *Neospora hughesi* in equine serum. *Journal of Parasitology*, v.91, n.2, p. 446-452, 2005.

HOSMER, D.W.; LEMESHOW, S. *Applied Logistic Regression*. John Wiley and Sons: New York. 241p. 1989.

IBGE, 2006. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/estadosat/temas.php?sigla=pe&tema=censoagro>. Acessado em: 22.10.2016.

IBGE, 2010. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/estadosat/perfil.php?lang=&sigla=pe>. Acessado em: 19.11.2016

JAKUBEK, E.B.; LUNDÉN, A.; UGGLA, A. Seroprevalences of *Toxoplasma gondii* and *Neospora sp.* infections in Swedish horses. *Veterinary Parasitology*, v.138, n. 3-4, p.194-199, 2006.

KARATEPE, M; KARATEPE, B. Investigation of Seroprevalence of *Neospora spp.* in Horses in Nigde Province (Turkey). *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, v.18, p.39-42, 2012.

KILBAS, Z.G.; ADANIR, R.; AVCIOGLU, H. Seroprevalence of *Neospora caninum* in racehorse in Ankara, Turkey. *Acta Parasitologica*, v.53, n.3, p.315-316, 2008.

KLIGLER, E.B.; SHKAP, V.; BANETH, G.; MILDENBERG, Z.; STEINMAN, A. Seroprevalence of *Neospora spp.* among asymptomatic horses, aborted mares and horses demonstrating neurological signs in Israel. *Veterinary Parasitology*, v.148, p.109–113, 2007.

MARSH, A.E.; BAAR, B.C.; MADIGAN, J.; LAKRITZ, J.; NORDHAUSEN, R.; CONRAD, P.A. Neosporosis as a cause of equine protozoal myeloencephalitis. *Journal of the American Veterinary Medicine Association*. v.209, n.11, p.1907-1913, 1996.

MARSH, A.E.; BARR, B.C.; PACKHAM, A.E.; CONRAD, P.A. Description of a new *Neospora* species (Protozoa: Apicomplexa: Sarcocystidae). *Parasitology*, v.84, p.983-991, 1998.

MARSH, A.E.; JOHNSON, P.J.; RAMOS-VARA, J.; JOHNSON, G.C. Characterization of a *Sarcocystis neurona* isolate from a Missouri horse with equine protozoal myeloencephalitis. *Veterinary Parasitology*, v.95, p.143-154, 2001.

MORAVEJI, M.; HOSSEINI, M.H.; AMRABADI, O.; RAHIMIAN, A.; NAMAZI, F.; NAMAVARI, M. Seroprevalence of *Neospora* spp. in horses in South of Iran. *Tropical Biomedicine*, v.28, n.3, p.514–517, 2011.

MOURA, A.B.; DA SILVA, M.O.; FARIAS, J.A.; VIEIRA-NETO, A.; SOUZA, A.P.; SARTOR, A.A.; FONTEQUE, J.H.; BUNN, S.. Anticorpos contra *Neospora* spp em equinos de duas regiões geográficas do Estado de Santa Catarina, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v.22, n.4, p.597-601, 2013.

PACKHAM, A.E.; CONRAD, P.A.; WILSON, W.D; JEANES, L.V.; SVERLOW, K.W.; GARDNER, I.A.; DAFT, B.M.; MARSH, A.E.; BLAGBURN, B.L.; FERRARO, G.L.; BARR, B.C. Qualitative evaluation of selective tests for detection of *Neospora hughesi* antibodies in serum and cerebrospinal fluid of experimentally infected horses. *Journal of Parasitology*, v.88, n.6, p.1239-1246, 2002.

PACKHAM, A.E.; SVERLOW, K.W.; CONRAD, P.A.; LOOMIS, E.F.; ROWE, J.D.; ANDERSON, M.L.; MARSH A.E.; CRAY, C.; BARR, B.C. A Modified Agglutination Test for *Neospora caninum*: Development, Optimization, and Comparison to the Indirect Fluorescent-Antibody Test and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, v.5, n.4, p.467–473, 1998.

PATITUCCI, A.N.; PÉREZ, M.J.; CÁRCAMO, C.M.; BAEZA, L. Presencia de anticuerpos sericos contra *Neospora caninum* en equinos en Chile. *Archivos de Medicina Veterinária*, v.36, n.2, p.203-206, 2004.

PIANTEDOSI, D.; GIUDICE, E.; PIETRA, M.; LUCIANI, A.; BRINI, E.; GUGLIELMINI, C.; PUGLIESE, A.; CIARAMELLA, P. Seroprevalence of *Neospora* spp. in asymptomatic horses in Italy. *Ippologia*, v.20, n.3, p.3–8, 2009.

PITEL, P.H.; LINDSAY, D.S.; CAURE, S.; ROMAND, S.; PRONOST, S.; GARGALA, G.; MITCHELL, S.M.; HARY, C.; THULLIEZ, P.; FORTIER, G.; BALLEST, J.J. Reactivity against *Sarcocystis neurona* and *Neospora* by serum antibodies in healthy French horses from

two farms with previous equine protozoal myeloencephalitis-like cases. *Veterinary Parasitology*, v.111, p.1–7, 2003.

PRONOST, S.; PITEL, P.H.; ROMAND, S.; THULLIEZ, P.; COLLOBERT, C.; FORTIER, G. *Neospora caninum*: first case in France in an aborted equine fetus. Analysis and perspectives. *Pratique Veterinaire Equine*, v.31, n.122, p.111-114, 1999.

PUSTERLA, N.; TAMEZ-TREVINO, E.; WHITE, A.; VAN GEEM, J.; PACKHAM, A.; CONRAD, P.A.C.; KASS, P. Comparison of prevalence factors in horses with and without seropositivity to *Neospora hughesi* and/or *Sarcocystis neurona*. *The Veterinary Journal*, v.200, p.332–334, 2014.

QUEVEDO, P.S.; AVILA, L.F.C.; SAGGIN, A.; SILVEIRA, T.R.; FEIJÃO, L.S.; FREY JR., F.; CURCIO, B.R.; FARIAS, N.A. Verificação da transmissão vertical de *Neospora* spp. em equinos, *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.35, n.1, p. 29-32, 2015.

RIBEIRO, M.J.M.; ROSA, M.H.F.; BRUHN, F.R.P.; GARCIA, A.M.; ROCHA, C.M.B.M.; GUIMARÃES, A.M. Seroepidemiology of *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma gondii* and *Neospora* spp. among horses in the south of the state of Minas Gerais, Brazil. *Brazilian Journal Veterinary Parasitology*, v. 25, n. 2, p. 142-150, 2016.

STELMANN, U.J.P.; ULLMANN, L.S.; LANGONI, H.; AMORIM, R.M. Equine neosporosis: search for antibodies in cerebrospinal fluid and sera from animals with history of ataxia. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v.33, n.2, p.99-102, 2011.

TALAFHA, A.Q.; ABUTARBUSH, S.M.; RUTLEY, D.L. Seroprevalence and Potential Risk Factors Associated with *Neospora* spp. Infection among Asymptomatic Horses in Jordan. *Korean Journal for Parasitology*, v. 53, n. 2, p.163-167, 2015.

VALENÇA, S.R.F.A.; VALENÇA, R.M.B.; PINHEIRO JUNIOR, J.W.; ALBUQUERQUE, P.P.F.; SOUZA NETO, O.L.; MOTA, R.A. Risk Factors for Occurrence of Anti-*Neospora* spp. Antibodies in Horses From Alagoas, Brazil. *Journal of Equine Veterinary Science*, v.35, p.917–921, 2015.

VARDELEON D., MARSH A.E., THORNE J.G., LOCH W., YOUNG R.; JOHNSON P.J. Prevalence of *Neospora hughesi* and *Sarcocystis neurona* antibodies in horses from various geographical locations. *Veterinary Parasitology*, v.95, p.273-282, 2001.

VILLALOBOS, E.M.C.; FURMAN, K.E.; LARA, M.C.C.S.H.; CUNHA, E.M.S.; FINGER, M.A.; BUSCH, A.P.B.; BARROS FILHO, I.R.; DECONTO, I.; DORNBUSCH, P.T.; BIONDO, A.W. Detection of *Neospora* sp. antibodies in cart horses from urban areas of Curitiba, Southern Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v.21, n.1, p.68-70, 2012.

WALSH, C.P.; DUNCAN, R.B.; ZAJAC, A.M.; BLAGBURN, B.L.; LINDSAY, D.S. *Neospora hughesi*: experimental infections in mice, gerbils, and dogs. *Veterinary Parasitology*, v.92, n.2, p.119-128, 2000.

5. Conclusões Gerais

- Os resultados obtidos sugerem que os equídeos não participam da cadeia epidemiológica das leishmanioses no estado de Pernambuco.
- *B. caballi* e *T. equi* estão distribuídos por todas as áreas estudadas. A baixa prevalência de anticorpos contra esses protozoários revela o risco de surtos de infecção por esses patógenos e permite caracterizar as áreas estudadas como instabilidade enzoótica.
- A detecção de anticorpos IgG anti-*T. gondii* revela a presença do parasito na área estudada, o que pode representar um elo na cadeia de transmissão da toxoplasmose a qual tem repercussão em saúde pública.
- A prevalência de anticorpos anti-*Neospora* spp. encontrada demonstra que o parasito está disperso nas áreas estudadas e que as variáveis idade, tipo de criação e região são fatores de riscos importantes para ocorrência da infecção em equídeos, devendo ser considerados na prevenção da doença.