

ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS E SOROLÓGICAS EM EQUÍNOS EXPERIMENTALMENTE INFECTADOS COM *Babesia equi*

HAEMATOLOGICAL AND SEROLOGICAL CHANGES IN HORSES EXPERIMENTALLY INFECTED WITH *Babesia equi*

Cristina Wetzel da Cunha¹ Sergio Silva da Silva²
Bárbara Lícia Osório³ Cristiana Lückemeyer Dutra³

RESUMO

No presente estudo são relatadas alterações hematológicas e sorológicas apresentadas por equínos, infectados experimentalmente com *B. equi*, em diferentes estágios da infecção e após esterilização química do parasito. Dez equínos, clinicamente saudáveis e sorologicamente negativos para *Babesia* spp, foram inoculados com *B. equi* e tratados com drogas babesicidas durante o pico de parasitemia. Após o tratamento os animais foram divididos em dois grupos: portadores, que desenvolveram a fase crônica da enfermidade e esterilizados, nos quais o parasito foi eliminado. Durante todo o experimento o hematócrito, a parasitemia e o título de anticorpos foram acompanhados, de forma a caracterizar sua dinâmica na fase aguda e na fase crônica da enfermidade, assim como após a eliminação do parasito.

Palavras-chave: babesiose equina, *Babesia equi*, diagnóstico.

SUMMARY

In the present study the haematological and serological changes showed by horses experimentally infected with *B. equi*, during different infection stages and after chemotherapy parasite sterilization, are reported. Ten horses clinically healthy and serologically negative for *Babesia* spp were inoculated with *B. equi* and treated with babesicidal drugs during ascending parasitemia. After the treatment the horses were separated in two groups: carriers, which developed the chronic babesial infection, and sterilized horses, which the parasites were eliminated. During the

whole experiment, hematocrit, parasitemia and antibody titers were monitored to characterize its dynamics in the acute and chronic babesial infection, as well as after elimination of parasites.

Key words: equine babesiosis, *Babesia equi*, diagnosis.

INTRODUÇÃO

Dentre as enfermidades que afetam os equínos destacam-se as doenças parasitárias, onde as hemoparasitoses têm sido mencionadas como importantes causas de danos à sanidade animal com comprometimento da função equina. Neste contexto, a babesiose representa a parasitose de maior importância econômica na equinocultura, determinando tanto prejuízos diretos, que vão desde a queda na performance até a morte de animais, quanto indiretos, devido à restrição de comercialização e trânsito de equínos soropositivos em alguns países (FRIEDHOFF, 1990; BRÜNING, 1996).

A preocupação dos criadores de cavalos com a babesiose equina tem exigido a atenção de veterinários com o diagnóstico da enfermidade. De uma maneira geral, o diagnóstico é realizado a partir de sinais clínicos e da avaliação de alguns parâmetros

¹ Médico Veterinário, MSc., Doutorando em Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Centro de Biotecnologia, Campus Universitário, Prédio 19, 96010-900, Pelotas, RS, Brasil. E-mail: cwcunha@ufpel.tche.br. Autor para correspondência.

² Médico Veterinário, MSc., Professor Assistente, Departamento de Veterinária Preventiva - UFPel.

³ Graduanda em Veterinária - UFPel, Bolsista de Iniciação Científica - CNPq.

do hemograma, como contagem de eritrócitos, hematócrito e contagem diferencial de leucócitos (RUDOLPH *et al.*, 1975), associados à detecção dos parasitos na circulação (PHIPPS, 1995). Rotineiramente, a pesquisa de parasitos é feita em esfregaços sanguíneos corados. Entretanto, esta técnica apresenta algumas limitações durante infecções crônicas, onde a baixa parasitemia pode resultar em um grande número de diagnósticos falso negativos (DE WAAL, 1992; BÖSE, 1995). Nestes casos, o diagnóstico indireto, através da detecção de anticorpos específicos no soro, pode ser útil. No entanto, faz-se necessário maior conhecimento da dinâmica de anticorpos durante as diferentes fases da infecção, assim como da sua relação com os parâmetros hematológicos e clínicos utilizados no diagnóstico da enfermidade.

O presente estudo relata os valores de hematócrito, parasitemia e título de anticorpos apresentados por eqüinos infectados experimentalmente com *B. equi* durante diferentes estágios da infecção e após esterilização química do parasito.

MATERIAIS E MÉTODOS

Dez eqüinos entre 3 e 4 anos de idade, SRD, clinicamente sadios e sorologicamente negativos para *Babesia* spp pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI) foram inoculados experimentalmente com $1,6 \times 10^{11}$ eritrócitos infectados com *B. equi*, por via parenteral. Os animais foram mantidos a campo e periodicamente tratados com carrapaticidas e inseticidas a base de piretróides (Butox[®]) com intervalos de 15 dias, para evitar reinfecções.

O hematócrito, a parasitemia e o título de anticorpos foram monitorados até o 102º DAI, diariamente durante a fase aguda da infecção e semanalmente após o tratamento. Os valores de hematócrito foram obtidos pela técnica de microhematócrito e a parasitemia estimada a partir da contagem de aproximadamente 10.000 hemácias em esfregaço sanguíneo corado com Giemsa. A determinação do título de anticorpos foi feita por reação de imunofluorescência indireta (RIFI), sendo considerados positivos títulos iguais ou maiores que 80 (CUNHA, 1993).

Durante o pico de parasitemia, entre o quinto e 11º dia após a inoculação (DAI), os animais foram tratados com drogas babesicidas (OSÓRIO *et al.*, 1995). Para análise dos dados hematológicos e sorológicos, após o tratamento babesicida, os animais foram divididos em dois grupos: (1) portadores, com três animais que desenvolveram a fase crônica da enfermidade, e (2) esterilizados, com sete animais nos quais o parasito foi eliminado. Para comprovar o

estado de portador ou esterilização do parasito, aos 103 DAI os eqüinos foram submetidos à imunossupressão química com drogas corticóides (CUNHA, C.W., 1995, dados não publicados), com a finalidade de favorecer reagudizações de parasitemia em animais com infecções crônicas (OLADOSU & OLUFEMI, 1992).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos animais inoculados desenvolveram parasitemia detectável em esfregaço sanguíneo entre o 2º e o 7º DAI. Considerando-se os resultados médios dos 10 animais infectados, foi observado pico de parasitemia (0,41%) 7º DAI e queda máxima no hematócrito (de 37% para 27%) no 9º DAI. Os resultados da sorologia demonstraram soroconversão em todos os animais infectados até o 6º DAI, sendo que 30% (3/10) já apresentavam sorologia positiva no 3º DAI.

Após 48 horas do início do tratamento babesicida, os 10 eqüinos apresentaram queda na parasitemia, seguida de resolução da fase aguda da infecção. Considerou-se, para fins de análise, o início da fase crônica aos 13 DAI, quando os três eqüinos que mantiveram-se portadores já haviam sido tratados. Os resultados médios de hematócrito, parasitemia e título de anticorpos dos dois grupos, portadores e esterilizados, estão apresentados na Tabela 1.

A fase crônica da infecção caracterizou-se pela persistência de altos títulos de anticorpos, acima de 2560, e por parasitemia em torno de 0,01%, sem alteração significativa no hematócrito (Figura 1).

Tabela 1 - Caracterização do hematócrito, da parasitemia e do título de anticorpos anti- *B. equi* em eqüinos portadores e em eqüinos esterilizados após tratamento babesicida.

	Portadores (n=3)		Esterelizados (n=7)	
	FA	FC	FA	AT
Hematócito (%)	31	41	31	41
Parasitemia (%)	0,07	0,007	0,07	0,00
Título-AC _(máximo)	640	5120	640	1280

FA - fase aguda
FC - fase crônica
AT - após tratamento babesicida

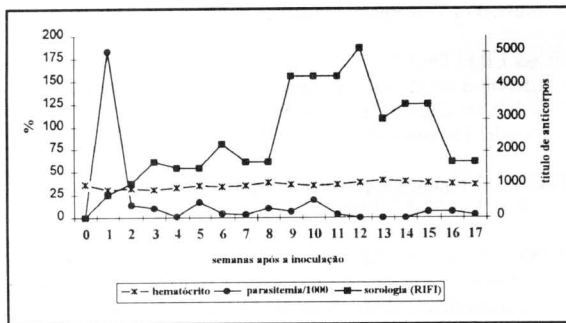


Figura 1 - Hematócrito, parasitemia e título de anticorpos em equinos inoculados experimentalmente com *B. equi* e, posteriormente, mantidos como portadores.

Durante este período, somente foram detectadas parasitemias $\geq 0,01\%$. Considerando que durante a fase crônica os animais podem apresentar parasitemias inferiores a $0,01\%$, estima-se os exames que resultaram negativos tenham apresentado diagnóstico falso negativo. Estes resultados concordam com BÖSE *et al.* (1995) ao indicarem a baixa sensibilidade do exame de esfregaço sangüíneo, quando comparado com outras técnicas de diagnóstico direto.

Os animais que foram esterilizados apresentavam-se negativos no exame de esfregaços sangüíneos, 48 horas após o início do tratamento e com título máximo de anticorpos (1280) por RIFI na quarta semana após a inoculação. O título de anticorpos começou a decrescer a partir do 28° DAI, sendo que os sete equinos tornaram-se soronegativos até o 121° DAI (Figura 2).

Foi observada uma relação inversa entre o hematócrito e o título de anticorpos durante a fase aguda da infecção, cujas oscilações provavelmente estejam relacionadas com a dinâmica do parasito na circulação. DE WAAL *et al.* (1987) e KUTTLER *et al.* (1986) afirmaram que a queda do hematócrito é um

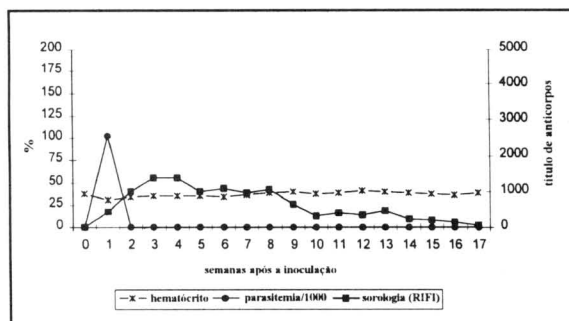


Figura 2 - Hematócrito, parasitemia e título de anticorpos em equinos inoculados experimentalmente com *B. equi* e, posteriormente, esterilizados com drogas babesicidas.

sensível indicador do início de alterações patológicas induzidas pelo parasito e que a ocorrência de parasitemia por *B. equi* está relacionada com aumento dos títulos de anticorpos e queda do hematócrito. No entanto, neste trabalho, as alterações de hematócrito somente foram significativas durante a fase aguda da infecção.

Com base nos resultados obtidos, foi possível concluir que o título de anticorpos está diretamente relacionado com a multiplicação do parasito, mesmo durante baixas parasitemias; o hematócrito cai rapidamente durante a fase aguda da infecção porém, não sofre alterações significativas durante a fase crônica; a técnica de esfregaço sangüíneo possui baixa sensibilidade na detecção do parasito durante baixas parasitemias.

Considerando o exposto, sugere-se que técnicas mais sensíveis e seguras devam ser adotadas para diagnóstico da enfermidade. Atualmente, técnicas de biologia molecular têm representado uma importante ferramenta no diagnóstico de diversas enfermidades. A reação em cadeia da polimerase (PCR) (SAIKI *et al.*, 1988) tem se mostrado mais sensível, específica e rápida no diagnóstico de *B. equi* do que os testes até então empregados (NICOLAYEWSKY *et al.*, 1995).

No diagnóstico da babesiose equina, a análise isolada de hematócrito e título de anticorpos, limita a interpretação do estágio exato da infecção. Por outro lado, a dificuldade no diagnóstico pode ser aumentada em virtude da baixa sensibilidade do exame de esfregaço sangüíneo na detecção do parasito. Considerando estas limitações, os autores tem trabalhado no desenvolvimento de testes de biologia molecular que ofereçam maior segurança na detecção direta do parasito (NICOLAYEWSKY *et al.*, 1995; DUTRA *et al.*, 1996; CUNHA *et al.*, 1997).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BÖSE, R., JORGENSEN, W. K., DALGLIESH, R. J., *et al.* Current state and future trends in the diagnosis of babesiosis. *Veterinary Parasitology*, v. 57, p. 61-74, 1995.
- BRÜNING, A. Equine piroplasmiasis: an update on diagnosis, treatment and prevention. *British Veterinary Journal*, v. 152, p. 139-151, 1996.
- CUNHA, C.W., DELLAGOSTIN, O.A., OZAKI L.S., *et al.* Caracterização do DNA extracromossomal de *Babesia equi*. In: I CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS, 1997. Pelotas, RS. *Anais...* Pelotas, UFPel, 1997. 161 p..
- CUNHA, C.W. *Babesiose Equina: padronização da reação de imunofluorescência para sorodiagnóstico e levantamento epidemiológico em equinos Puro Sangue Inglês*. Pelotas - RS. 57 p. Tese (Mestrado em Veterinária) Curso de Pós-graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas, 1993.

- DE WAAL, D.T. Equine piroplasmosis: A Review. **British Veterinary Journal**, v. 148, p. 6-14, 1992.
- 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*. **Onderstepoort Journal of Veterinary**, v. 54, p. 561-568, 1987.
- DUTRA, C.L., OSÓRIO, B.L., SILVA, S.S., *et al.* Desenvolvimento do diagnóstico de *Babesia equi* pela reação em cadeia da polimerase (PCR). In: V CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 1996. Pelotas, RS **Anais... FURG, UFPEL, UCPEL**, 1996, 257 p.
- FRIEDHOFF, K.T. Hemoparasites of equines: impact on international trade of horses. **Revue Scientifique et Technique-Office International des Epizooties**, v. 9, p.1187-1194, 1990.
- KUTTLER, K.L., GIPSON, C.A., GOFF, W.L., *et al.* Experimental *Babesia equi* infection in mature horses. **American Journal of Veterinary Research**, v. 47, n. 8, p. 1668-1670, 1986.
- OLADOSU, L. A., OLUFEMI, B. E. Haematology of experimental babesiosis and ehrlichiosis in steroid immunosuppressed horses. **Journal of Veterinary Medicine**, v. 39, p. 345-352, 1992.
- OSÓRIO, B.L., DUTRA, C.L., PIMENTEL, C.A. *et al.* Avaliação de diferentes drogas no tratamento de infecções por *Babesia equi*. In: IV CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 1995. Rio Grande, RS **Anais... FURG, UFPEL, UCPEL**, 1995, 219 p.
- PHIPPS, L.P. Equine piroplasmosis, **Equine Veterinary Education**, v. 8, n. 1, p. 33-36, 1995.
- RUDOLPH, W., CORREA, J., ZURITA, L., *et al.* Equine piroplasmosis: leukocytic response to *Babesia equi* (Laveran, 1901) infection in Chile. **British Veterinary Journal**, v. 131, n. 5, p. 601-609, 1975.
- SAIKI, R.K., GELFAND, D.H., STOFFEL, S., *et al.* Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. **Science**, v.239, p.487-491, 1988.
- NICOLAIEWSKY, T.B., IKUTA, N., LUNGE, V.R., *et al.* Desenvolvimento de uma metodologia para diagnóstico molecular de *Babesia equi* pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) em amostras de sangue de eqüinos. In: IX SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 1995. Campo Grande, MS. **Anais... Campo Grande: CBPV**, 1995, 349 p.

Ciência Rural, v. 28, n. 2, 1998.