

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Veterinária



Dissertação

**Aspectos epidemiológicos e controle de theileriose equina na região da
campanha do Rio Grande do Sul – Brasil**

Aníbal Janczak Torres

Pelotas, Fevereiro de 2010

ANIBAL JANCZAK TORRES

**Aspectos epidemiológicos e controle de theileriose equina na região da
campanha do Rio Grande do Sul - Brasil**

Dissertação apresentada à Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, sob orientação do Prof. Dr. Carlos Eduardo Wayne Nogueira, como parte das exigências do programa de Pós Graduação em Veterinária, área de concentração em Clínica Veterinária, para a obtenção do Título de Mestre em Ciências (M.Sc.)

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Wayne Nogueira (DCV/ FV / UFPel)

Pelotas

2010

Dados de catalogação Internacional na fonte:
(Bibliotecária Patrícia de Borba Pereira CRB10/1487)

T 693a Torres, Anibal Janczak

Aspectos epidemiológicos e controle de theileriose equina na região da Campanha do Rio Grande do Sul – Brasil / Anibal Janczak Torres; orientador Carlos Eduardo Wayne Nogueira. – Pelotas : UFPel : 2010.

47 p.

Dissertação (Mestrado) Programa de Pós Graduação em Veterinária Faculdade de Veterinária. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2010.

1. Theileriose equina 2 Rhipicephalus microplus 3. dipropionato de imidocarb I. Título II.Nogueira, Carlos Eduardo Wayne

CDD 636.1

Banca examinadora:

Prof. Dr. Carlos Eduardo Wayne Nogueira (DCV / FV / UFPel)

Prof^a. Dr. Marcio Nunes Corrêa (DCV / FV / UFPel)

Prof. Dr. Leandro Quintana Nizoli (DVP / FV / UFPel)

Prof. Dr. Charles Martins (DCV / FV / UFPel)

Agradecimentos

Agradeço à minha Mãe e ao meu Pai, pessoas que são a minha base, minha formação, meus pensamentos, minhas diretrizes, meus anseios, minha profissão, minha educação...

A eles dedico esta dissertação.

Agradeço ao meu orientador, Carlos Eduardo Nogueira, pela paciência, pelos ensinamentos, pela orientação em minha formação profissional e acadêmica e principalmente, pela amizade durante todos estes anos de trabalho e de convívio.

Resumo

TORRES, Anibal Janczak. **Aspectos epidemiológicos e controle de theileriose equina na região da campanha do Rio Grande do Sul – Brasil, 2010**, Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós- Graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas.

A theileriose equina, causada pelo hemoprotozoário *Theileria equi*, é uma doença endêmica na região da campanha do Rio Grande do Sul. Há indícios de que o carrapato *Rhipicephalus Boophilus microplus* transmita também a theileriose equina e, há pouco tempo, estudos demonstraram experimentalmente esta transmissão. O objetivo do primeiro trabalho foi demonstrar a infestação de carrapatos *Rhipicephalus Boophilus microplus* e o papel importante deste parasita na transmissão de theileriose equina. Em cavalos com contato direto com bovinos, a incidência sorológica da doença foi de 81,8%, sendo que em 31,8% destes animais se encontrou carrapatos *Rhipicephalus Boophilus microplus*. Nos equinos sem contato com bovinos, a incidência sorológica foi de 12% e não se encontrou carrapatos. Diversos estudos têm demonstrado a eficiência no tratamento da doença com dipropionato de imidocarb em diferentes doses, porém a toxicidade deste fármaco se manifesta em alguns animais. A forma aguda é caracterizada por febre, icterícia e morte. A forma crônica é descrita por pêlo arrepiado, hiporexia, queda no desempenho em animais atletas e perda de peso. O objetivo do segundo trabalho foi demonstrar a toxicidade e os efeitos metabólicos do dipropionato de imidocarb em duas doses terapêuticas (2 e 4mg/kg). Foi sugerido, através do perfil hepático e renal, após a administração da droga, que 2mg/kg deste fármaco tem uma toxicidade leve e temporária no período de metabolização da droga. Uma vez infectados com a *T. equi*, os equinos permanecem a vida toda positivos para a doença. Com isso o controle da enfermidade depende da utilização do dipropionato de imidocarb. O objetivo do terceiro trabalho foi demonstrar, através do teste de imunofluorescência indireta e exame clínico, que doses mensais de dipropionato de imidocarb á 2 mg/kg são eficazes para se manter a parasitemia e a clínica da doença controladas, mesmo que os animais sejam submetidos á situações de estresse. Um grupo recebeu mensalmente, por seis meses, 2mg/kg de dipropionato de imidocarb e o outro grupo, 4mg/kg apenas uma vez no primeiro mês. A conclusão desta dissertação é que a incidência da theileriose equina tem relação direta com a convivência com bovinos por facilitar a infestação destes com o carrapato *Rhipicephalus Boophilus microplus*; e que, doses mensais de dipropionato de imidocarb, à 2mg/kg, são eficazes no controle da parasitemia da doença mesmo em situações de estresse e não se demonstram tóxicas para os equinos.

Palavras-chave: theileriose equina, *Rhipicephalus boophilus microplus*, dipropionato de imidocarb.

Abstract

TORRES, Anibal Janczak. **Epidemiological aspects and control of equine theileriosis in the south of Rio Grande do Sul – Brazil, 2010.** Dissertation - Pós- Graduation Program in Veterinarian. Universidade Federal de Pelotas.

The equine theileriosis, caused by *Theileria equi*, is an endemic disease of south of Rio Grande do Sul – Brazil. There are signs that tick *Rhipicephalus boophilus microplus* still transmit that disease and in few time, some studies had experimental demonstrated it. The purpose of the first study of this paper was to demonstrate the tick infestation and the role of it in the transmission of the disease. In equines with contact directly with cattle, the serum incidence of the disease was 81,8% and in this group, 31,8% of this horses had tick infestation. In the equines that didn't have contact with cattle, the incidence of the disease was 12% and no tick was found in this horses. The most efficient drug in the treatment of the disease is imidocarb dipropionate. Many studies had demonstrated different doses and protocols of treatment of the disease and the toxicity of it was obvious. No study had show the sterile of *T. equi* with this drug, but it's a way to treat the acute disease and to control the chronic theileriosis. The acute form of the disease is seemed with fever, icteric and death. The chronic kind of it is seemed with covered coat, hyporexia, low performance in athlete horses and loss of weight. The goal of the second study of this paper was to show the toxicity and the metabolic effects of imidocarb dipropionate drug into two protocols of treatment (two groups, 2 and 4mg/kg) in serum positive horses to theileriosis. It was seemed through hepatic and renal profile that 2mg/kg of the drug have low toxicity. Horses infected with *T. equi* keep with the disease for the rest of your lives, and the drug control with imidocarb dipropionate is necessary. The goal of the third study of this paper was to demonstrated, through immunologic test and clinic examination that 2mg/kg of imidocarb dipropionate monthly can control the chronic disease even in stress situations. One group received monthly, through 6 mouths, 2mg/kg of imidocarb dipropionate and the other group, once, in the beginning of it, 4mg/kg. The conclusion of this paper is that the incidence of equine theileriosis have a directly relation with the catle contact because it cause the tick *Rhipicephalus Boophilus mircoplus* infestation. Mensal dosis with 2mg/kg of imidocarb dipropionate is efficient in the disease control and it had demonstrated that it is not toxic for equine.

Palavras-chave: equine theileriosis, *Rhipicephalus boophilus microplus*, imidocarb dipropionate.

Lista de Figuras

Artigo 1.

Figura 1: Incidência de Theileriose Equina na propriedade 1 (sem a presença de bovinos)	19
Figura 2: Incidência de Theileriose Equina na propriedade 2 (com a presença de bovinos)	20
Figura 3: Estágios de vida e quantidade de carrapatos <i>Rhipicephalus Boophilus microplus</i> encontrados nos animais da propriedade 2 durante o período de experimento	21
Figura 4: Formas de carrapatos <i>Rhipicephalus Boophilus microplus</i> encontrados durante o período de experimento	21
Figura 5: Relação do número de animais com carrapatos e o número de carrapatos encontrados durante o período de experimento	22
Figura 6: Médias pluviométricas na região durante o período de experimento, e nos últimos dez anos na região da campanha.....	22
Figura 7: Chuvas e médias da temperatura no período de experimento	23
Figura 8: Umidade Relativa do Ar normal para cada mês nos últimos dez anos e durante o período de experimento	23
Figura 9: Chuvas e umidade relativa do ar no período de experimento.....	24

Artigo 2.

Figura 1: Média de GGT plasmático em U/L no grupo 1 e 2 – efeito dia ($P < 0,05$)	32
Figura 2: Média de AST plasmático em UI no grupo 1 e 2 – efeito grupo x dia ($P < 0,05$)	33

Artigo 3.

Figura 1: Hematócrito dos animais do grupo A (tratados uma vez com 4 mg/kg)	41
Figura 2: Hematócrito dos animais do grupo B (tratados mensalmente com 2 mg/kg).....	41
Figura 3: Titulação sorológica por imunofluorescência indireta, grupo A (tratados uma vez com 4 mg/kg).....	42
Figura 4: Titulação sorológica por imunofluorescência indireta, grupo B (tratados mensalmente com 2 mg/kg).....	42
Figura 5: Níveis de cortisol sanguíneo dos animais nos diferentes meses no grupo A (tratados uma vez com 4 mg/kg)	43

Figura 6: Níveis de cortisol sanguíneo dos animais nos diferentes meses no grupo B (tratados mensalmente com 2 mg/kg).....43

Lista de Tabelas

Artigo 2.

Tabela 1: Médias das enzimas mensuradas em cada grupo e o erro padrão da média (EPM) .. 32

Tabela 2: Média de GGT plasmático em U/L nos grupo 1 e 2 – efeito grupo (P < 0,05) 33

Tabela 3: Média de AST plasmático em UI no grupo 1 e 2 – efeito grupo (P < 0,05) 33

Tabela 4: Cálcio urinário, efeito grupo (P < 0,05) 34

Artigo 3.

Tabela 1: Titulação para *Theileria equi* pelo teste de imunofluorescência indireta nos animais nos dois grupos 42

Sumário

Resumo	06
Abstract	07
Lista de Figuras	08
Lista de Tabelas	10
1 Introdução	13
2 Artigo 1	
Aspectos epidemiológicos da theileriose equina e sua relação com o carrapato	
<i>Rhipicephalus Boophilus microplus</i> em duas propriedades na região da campanha do Rio	
Grande do Sul – Brasil	15
RESUMO.....	15
INTRODUÇÃO	16
MATERIAIS E MÉTODOS	18
RESULTADOS	19
DISCUSSÃO	24
CONCLUSÃO.....	25
REFERÊNCIAS.....	26
3 Artigo 2	
Efeitos do dipropionato de imidocarb no metabolismo de equinos com theileriose	
crônica.....	29
RESUMO.....	29
INTRODUÇÃO	30
MATERIAIS E MÉTODOS	30
RESULTADOS	31
DISCUSSÃO	34
CONCLUSÃO.....	36
REFERÊNCIAS.....	36

4 Artigo 3

Controle da theileriose equina através da administração de doses mensais de dipropionato de imidocarb	38
RESUMO.....	38
INTRODUÇÃO	39
MATERIAIS E MÉTODOS	40
RESULTADOS	40
DISCUSSÃO	44
CONCLUSÃO.....	45
REFERÊNCIAS.....	45
Considerações Finais	47

1 Introdução

A região da campanha do Rio Grande do Sul, de clima temperado, tem campos extremamente favoráveis à pecuária. A bovinocultura de corte nesta região constitui um grande recurso econômico da região neste estado. Da mesma forma, a criação de equinos da raça Crioula há muito tempo é desenvolvida por fazendeiros que utilizam o cavalo como força de trabalho na pecuária. Há cerca de vinte anos, grandes haras de cavalos Puro Sangue Inglês (PSI) do Brasil elegeram a região como ideal para a criação de cavalos e instalaram-se nos campos no município de Bagé-RS. Com isso, o contato direto e indireto da criação de equinos e bovinos tornaram-se realidade neste local. O carrapato *Rhipicephalus Boophilus microplus*, único encontrado na região, parasita naturalmente bovinos e transmite a doença tristeza parasitária bovina através da infecção de hemoparasitas de *Babesia spp.* A theileriose equina causada pelo hematozoário *Theileria equi* e diagnosticada sorologicamente por imunofluorescência indireta, é umas das principais enfermidades que acomete equinos na região da campanha do Rio Grande do Sul. Em sua forma crônica, animais atletas apresentam queda no desempenho, anemia moderada, hiporexia e pêlo arrepiado. Animais positivos para a doença parecem servir como reservatório para a transmissão. A forma de transmissão mais evidente é através da infestação de carrapatos. O único carrapato encontrado na região é o *Rhipicephalus Boophilus microplus*, o mesmo que parasita bovinos e transmite babesiose bovina. Observa-se na região que equinos que convivem com bovinos, tem maior incidência para a doença. Nenhum estudo conseguiu provar a esterilização da theileriose equina através de fármacos theilericidas, com isso, uma vez infectados, os equinos permanecem nesta condição por toda a vida. O medicamento mais eficiente no controle da doença é o dipropionato de imidocarb. Estudos demonstraram que doses altas deste fármaco se mostraram tóxicas nos animais.

O objetivo do trabalho foi demonstrar a infestação do carrapato *Rhipicephalus Boophilus microplus* em equinos criados diretamente com bovinos e a relação da infestação deste carrapato com a theileriose equina, diagnosticada por imunofluorescência indireta. A partir disto, se estabelecer um protocolo terapêutico com a dose de 2mg/kg que seja eficaz no controle profilático da doença crônica, não permitindo reagudizações desta e mantendo uma parasitemia de *T. equi* baixa nos animais positivos, mesmo em situações de estresse. Também

foi proposto demonstrar que esta dose de 2mg/kg de dipropionato de imidocarb é segura para os animais, com toxicidade baixa, pela análise de enzimas que demonstram atividade renal e hepática.

2 Artigo 1

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

TORRES, Anibal J. ¹; FARIAS, Nara A.R. ²; NIZOLI, Leandro Q. ²; NOGUEIRA, Carlos E.W. ².

¹ Pós-Graduação em Veterinária, UFPel;

² Doutor. Professor. UFPel;

Universidade Federal de Pelotas (UFPel) - Campus Universitário, Caixa Postal 354 CEP 96010-900 Pelotas, RS, Brasil;
anibaltorres@ig.com.br

RESUMO

A theileriose equina é considerada uma das principais doenças parasitárias em cavalos. É causada pela infecção de *Theileria equi*, transmitida naturalmente por carrapatos. O carrapato *Rhipicephalus Boophilus microplus* é o único encontrado na região e parasita principalmente bovinos e ocasionalmente equinos. O objetivo do trabalho foi relacionar a incidência da doença com a convivência dos equinos com bovinos e à infestação de carrapatos *Rhipicephalus Boophilus microplus* nestes cavalos. Foram utilizados 47 equinos divididos em duas propriedades. Em uma propriedade, 25 animais criados a campo sem convívio direto com bovinos e em outra propriedade, 22 animais, também criados a campo com convívio direto com bovinos. Durante um ano, foram colhidas informações como sinais clínicos dos animais, sorologia para theileriose equina, infestação por carrapatos nestes equinos e características climáticas da região. Os equinos que não convivem com bovinos tiveram sorologia positiva para theileriose equina de 12%. Já os equinos que convivem diretamente, a sorologia positiva foi de 81,2%. Somente se encontrou carrapatos *Rhipicephalus Boophilus microplus* nos equinos que são criados em conjunto com bovinos. Percebeu-se a importância do papel deste carrapato na transmissão da doença. Sugere-se que o carrapato *Rhipicephalus Boophilus microplus* seja um parasita alternativo para equinos e que esta infestação ocorra apenas quando existe convívio direto entre equinos e bovinos. Fica evidenciado o papel do *Rhipicephalus Boophilus microplus* na transmissão de *Theileria equi* em equinos.

INTRODUÇÃO

A piroplasmose equina é considerada uma das principais doenças parasitárias em cavalos, com grande impacto econômico na indústria equina. As perdas associadas à infecções por *Theileria equi* e *Babesia caballi* estão relacionadas tanto aos fatores clínicos como à restrição ao trânsito internacional de animais soropositivos. O parasita causa, em grandes parasitemias, crises hemolíticas e anemia. Equinos cronicamente infectados são passíveis de reagudizações com queda no desempenho (KNOWLES et al., 1980; FRIEDHOFF et al., 1990).

Esta hemoparasitose pode ser causada por dois protozoários distintos, *Theileria equi* e *Babesia caballi* que são transmitidas naturalmente através de carrapatos. Os equídeos podem ser parasitados por uma ou ambas as espécies. Os dois agentes são bastante distintos e determinam manifestações da doença diferente. A *Babesia caballi* induz sintomatologia clínica muito mais branda em relação à *Theileria equi* ((AMBAWAT et al., 1999). Em cavalos atletas, a *T. equi* tem se constituído no principal patógeno relacionado a piroplasmose, já que o estresse provocado pelo treinamento induz o aumento da parasitemia (ZWART e BROCKLESBY, 1979). Quando equinos suscetíveis são infectados, desenvolvem a fase aguda da doença a qual cursa com febre, anemia, petéquias na mucosa, hemoglobinúria e icterícia (JAIN, 1993; De WAAL et al., 1988). Após a fase aguda da doença tornam-se portadores, sem sinais de infecção. Estes animais portadores representam um potencial contínuo na transmissão da doença. A gravidade da doença neste estágio depende da patogenicidade da cepa, dose do inóculo e condição imunológica do animal. Em casos de imunossupressão a reagudização da doença é favorecida e os animais podem apresentar diferentes graus de anemia, com agravamento dos sinais clínicos (OLADOSU, 1988; CUNHA et al., 1997; HAILAT et al., 1997).

Durante a fase crônica não há alteração significativa entre o hematócrito de equinos não infectados e de portadores de *T. equi*. Equinos com a doença crônica são considerados reservatório para a transmissão de *T. equi* por carrapatos. Uma vez infectados, os equinos se mantêm com a doença crônica por toda a vida (SHEIN, 1988).

Theileria equi está mundialmente distribuída em regiões tropicais e subtropicais, sendo sua prevalência diretamente relacionada à distribuição de carrapatos capazes de transmissão deste agente (FRIEDHOFF & SOULE, 1996). É estimado que 90% da população mundial de equinos estejam expostas à *T. equi*, ainda que em alguns países a infecção não ocorra de forma endêmica (FRIEDHOFF et al., 1990). Altas prevalências de *T. equi* têm sido associadas com a criação conjunta de equinos e bovinos (KERBER et al., 1999; HEUCHERT et al., 1999). Esta relação sugere que, pelo menos no Brasil, o *Rhipicephalus Boophilus microplus*, principal carrapato de bovinos e em muitas áreas o único encontrado também em equinos, desempenha um papel importante na transmissão de *T. equi*. (FRIEDHOFF, 1988; KNOWLES, Jr. et al, 1992;).

Cunha et al.(1996) no Rio Grande do Sul em um estudo epidemiológico utilizando imunofluorescência indireta para detecção de anticorpos anti-*T. equi* observaram prevalência da doença de 57,9%.

Os ácaros transmissores de *Babesias e Theileria* são parasitos para o homem e animais domésticos. Pertencem à sub-ordem *Ixodides*, à família *Ixodidae* aos gêneros *Anocentor*, *Rhipicephalos*, *Hyaloma e Rhipicephalus Boophilus* e são vulgarmente chamados de carrapatos, (ARMSTRONG, 1998)

Estudos sobre o comportamento de *R.B. microplus* em outros animais demonstraram que o equino pode ser hospedeiro deste carrapato, porém, não com a mesma eficiência que nos bovinos. Após infestações artificiais de larvas deste carrapato em equinos, não se obteve fêmeas ingurgitadas. Através de infestação natural do vetor em equinos, foi possível observar

que o equino é um hospedeiro alternativo para *R.B. microplus* e que desenvolve até uma geração neste, podendo posteriormente terminar seu ciclo nos bovinos (BITTENCOURT et al., 1990).

Foi demonstrada, experimentalmente, a capacidade do *R.B. microplus* em adquirir e transmitir *T. equi* após parasitar equinos com theileriose crônica e com baixos níveis de parasitemia (Massaro, 2005). Após a infecção de *B. microplus* na fase de ninfa, ocorre a reprodução de *T. equi* no aparelho digestivo deste carrapato vetor. O parasita então invade as glândulas salivares do carrapato através da hemolinfa. Nas glândulas salivares ocorre o desenvolvimento para esporozoítos infectantes que, na fase adulta do *R.B. microplus*, é transmitido e infecta equinos susceptíveis (GUIMARÃES, 1998).

Barbosa (1995) encontrou *Rhipicephalus boophilus microplus* apenas em equinos com convívio direto com bovinos. Em cavalos sem convívio ou com convívio indireto com bovinos foi encontrado carrapatos dos gêneros *Amblyomma cajennense* e *Anocentor nitens*.

No centro-oeste do Brasil, se identificou a infestação de carrapatos do gênero *Anocentor nitens*, *Amblyomma cajennense* e *Rhipicephalus Boophilus microplus* com soroprevalência de 17,5% para cavalos sem contato com bovinos, 52% com contato indireto em áreas adjacentes com bovinos e de 100% em cavalos com contato direto com bovinos. *Rhipicephalus Boophilus microplus* apenas foi encontrado em cavalos que mantinham contato direto com bovinos. Em cavalos com contato indireto, só existiu infestação por *A. nitens* e *A. cajennense*. Os achados epidemiológicos evidenciaram a transmissão de *T. equi* pelo carrapato *R.B. microplus* (HEUCHERT, 1999).

Labruna et al. (2001), observando a ocorrência de carrapatos no estado de São Paulo/Br, encontrou *R.B. microplus* em 10% das propriedades estudadas. Em 100% destas propriedades existia criação conjunta com bovinos. Foi sugerido pelo autor que o cavalo seja um hospedeiro secundário para o *R.B. microplus*.

Mason e Norval (1981) demonstraram que a larva e o macho adulto de *R.B. microplus* são capazes de trocar de um hospedeiro a outro em condições adversas. A alta motilidade dos machos e a sua considerável longevidade sugerem para a possibilidade destes se transferirem de animais infectados a não infectados, um aspecto significante na epidemiologia da doença.

Battsetseg (2002), no centro-oeste do Brasil, observou a infestação de fêmeas adultas e ninfas de *Rhipicephalus Boophilus microplus* em equinos. A detecção de DNA específico de *T. equi* nos ovos e larvas de *R.B. microplus* sugere a possibilidade da transmissão transovariana e transtadial por este carrapato. Knowles, em 1992, já tinha provado experimentalmente a transmissão de *T. equi* pelo *B. microplus*. Massaro em 2005, também experimentalmente, confirmou esta transmissão.

O desenvolvimento do esporozoítos de *T. equi* na glândula salivar de fêmeas adultas de *R.B. microplus*, foi observado por Guimarães (1998). A taxa de infecção nos carrapatos com *T. equi* foi de aproximadamente 80%. Percebe-se que a transmissão da doença pelo hospedeiro ocorre ocasionalmente.

Guimarães (1998) também demonstrou que o esporozoítos de *T. equi* é capaz de completar seu desenvolvimento em *R.B. microplus*, o qual é capaz de transmitir o parasita de um hospedeiro a outro. O autor sugere, assim como Massaro (2005), que o *R.B. microplus* seja um vetor natural de *T. equi*.

Este trabalho tem por objetivo avaliar a prevalência sorológica e sinais clínicos de theileriose equina nos cavalos das raças, Crioula e PSI em duas propriedades na região da Campanha do Rio Grande do Sul, relacionando-se a incidência com a infestação de carrapato *Rhipicephalus Boophilus microplus* em equinos que convivem com bovinos diretamente.

MATERIAIS E MÉTODOS

Este experimento teve início em outubro de 2007 e fim em setembro de 2008. Foram utilizados, ao total, 47 equinos divididos em duas propriedades. Na propriedade 1, 25 cavalos da raça Puro Sangue Inglês (PSI), criados em um haras, em sistema de criação sem a presença de bovinos, no município de Bagé-RS, localizada a latitude de 30° 58' 42'' sul, longitude 54° 06' 20'' oeste. Na propriedade 2, 22 cavalos da raça Crioula, em sistema de criação concomitante com bovinos, criados em fazenda no município de Dom Pedrito-RS, latitude 30° 58' 42'' sul, longitude 54° 40' 18'' oeste. As duas propriedades estão distantes 70 km uma da outra em linha reta e se encontram na região da campanha, no sul do estado do Rio Grande do Sul, no Brasil.

Foram observados, no período de experimento, os índices pluviométricos, de umidade relativa do ar e de temperatura média durante o período na região. Os índices pluviométricos e de umidade relativa do ar no período foram comparados com as médias normais na região nos últimos dez anos para se ter parâmetro.

Estes animais foram identificados pela resenha, marca, pelagem, nome e foto. Os animais da propriedade 1 tinham um escore corporal 8-9 (escala de 1 a 10), enquanto os da propriedade 2, um escore corporal 6-7 (escala de 1 a 10, segundo escala de Speirs, 1998). Todos os animais do experimento, nas duas propriedades eram éguas com idade média de 8 anos, entre 3 e 15 anos na propriedade 1; e com idade média de 12 anos, entre 5 e 22 anos na propriedade 2. Peso médio de 500 kg, entre 450-550 kg na propriedade 1 e de 400 kg, entre 370-450 kg na propriedade 2. Os animais da propriedade 1 são mantidos em pastagem cultivada. Os animais da propriedade 2, em pastagens nativas, campos sujos e pastagens cultivadas com manejo de rodízio conforme a disponibilidade de forrageiras.

Foi realizado o exame clínico geral, uma vez ao mês, durante os doze meses do experimento, em todos os animais, para detecção dos sinais vitais e possíveis alterações clínicas. O exame clínico geral consistiu em coletar dados de frequência cardíaca, frequência respiratória, coloração de mucosa oral e ocular, tempo de perfusão capilar, temperatura retal e movimentos intestinais.

Trimestralmente foi colhido sangue total sem anticoagulante de todos os animais. Este sangue foi centrifugado no momento da coleta a 5.000 rpm, e separado o soro o qual foi acondicionado em gelo até ser congelado a -5°C. para a realização do exame sorológico de imunofluorescência indireta para o diagnóstico de theileriose equina. Este exame sorológico foi realizado pelo laboratório de doenças parasitárias da Universidade Federal de Pelotas (UFPel) segundo a técnica descrita por Cunha et al (1998). O hematócrito de todos os animais foi determinado quando realizada a colheita de sangue.

Nas duas propriedades não são realizados banhos carrapaticidas, o controle parasitário com anti-helmínticos foi realizado a cada entrada de estação do ano. Duas vezes no ano o vermífugo utilizado é ivermectina (0,2 mg/kg), a qual também controla ectoparasita.

Foi realizada avaliação da presença de carrapatos, utilizando-se a anamnese com as pessoas que manejavam os equinos, inspeção e um pente fino para coleta dos carrapatos. Esta coleta foi realizada uma vez ao mês durante os doze meses do experimento. Primeiramente foi realizado um exame visual para avaliar a possível infestação. Os equinos eram penteados na região maxilar, pescoço, peito, antebraços, região lombar, região corpórea lateral, ventre, flanco, garupa, períneo e entrepernas. A região nasal, meato nasal, e orelhas foram inspecionadas visualmente para avaliar a presença destes vetores. Todos os carrapatos encontrados foram coletados diretamente a um pote de fundo branco, armazenados com a identificação do equino e anotado a região corporal do animal em que foi encontrado o carrapato. Estes parasitas foram armazenados em potes identificados com o nome de cada

equino respectivo à coleta, contendo algodão úmido e com a tampa furada para a entrada de ar.

Todos os parasitas encontrados foram encaminhados ao laboratório de parasitologia veterinária da UFPel para identificação e classificação. Os instares foram separados por fase e por equino infestado. Nos carrapatos adultos foi coletado hemolinfa para análise direta de *T. equi*. Os parasitas foram armazenados posteriormente em freezer à -5°C .

O método estatístico utilizado foi por distribuição de frequências.

RESULTADOS

No exame clínico, nenhum animal, nas duas propriedades, demonstrou qualquer sinal de theileriose aguda. Nas duas propriedades os dados encontrados foram: frequência cardíaca dos animais entre 32 e 80 batimentos por minuto; frequência respiratória, entre 12 e 36 movimentos por minuto, a coloração de mucosas encontradas foi de rósea pálida e em alguns animais, tendendo à amarelada; tempo de perfusão capilar entre 1 e 3 segundos; movimentos intestinais normais e temperatura retal entre $37,5^{\circ}\text{C}$ e $38,3^{\circ}\text{C}$.

Na propriedade 1 se observou sorologia positiva por imunofluorescência indireta para theileriose equina de 12% nos 25 animais deste grupo, que não convivem diretamente com bovinos, como é demonstrado pela figura 1. Na propriedade 2 se observou sorologia positiva para a doença de 81,8% nos 22 animais deste grupo que convivem diretamente com bovinos, como é demonstrado pela figura 2. Não se obteve alterações nos resultados durante as quatro coletas trimestrais, ou seja, os equinos que eram soropositivos se mantiveram sempre positivos e o mesmo para os soronegativos.

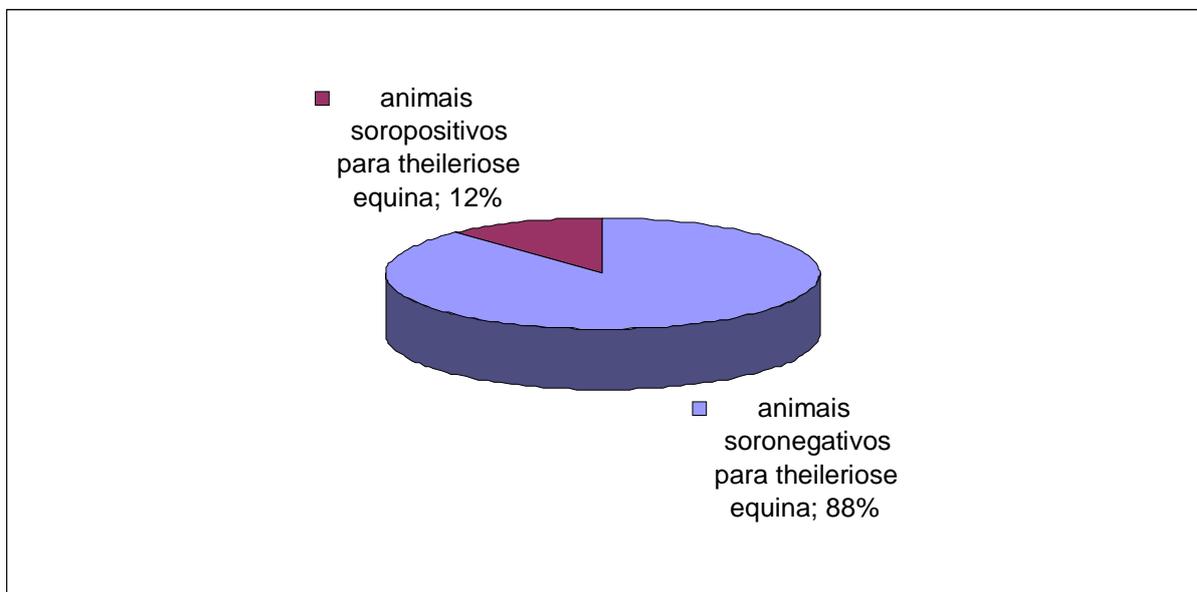


Figura 1: Incidência de Theileriose Equina na propriedade 1 (sem a presença de bovinos)

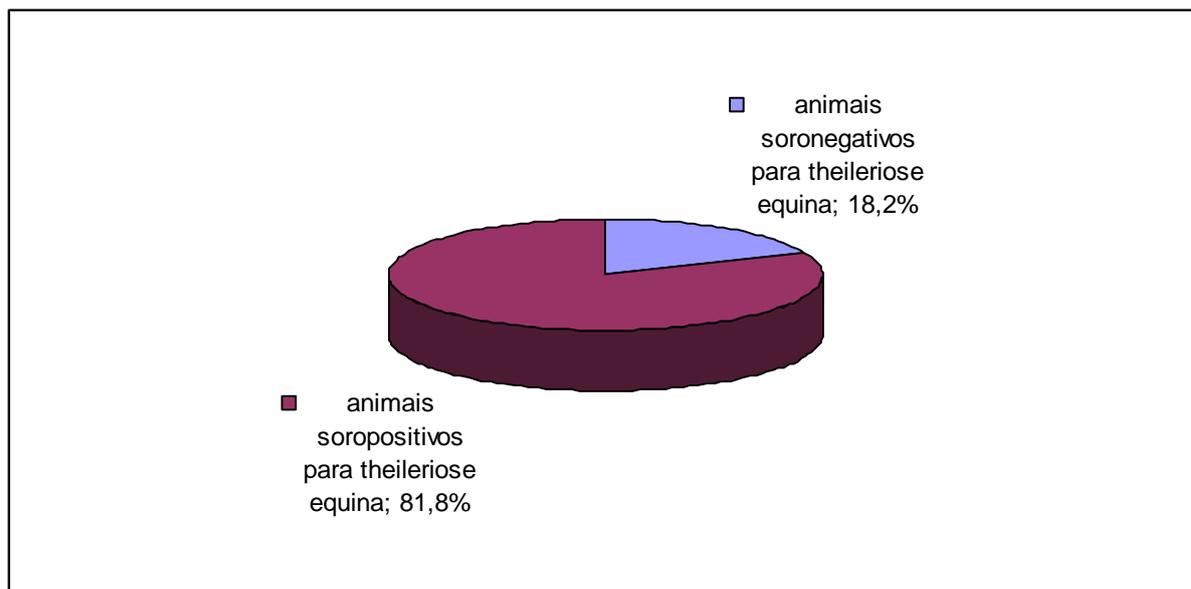


Figura 2: Incidência de Theileriose Equina na propriedade 2 (com a presença de bovinos)

Os animais da propriedade 1 tiveram uma média de hematócrito de 45,5% entre (35-55%). Os animais da propriedade 2, um hematócrito médio de 37,2%, entre (35-50%).

Na propriedade 1 não se encontrou carrapatos nos animais em nenhum momento do experimento. Na propriedade 2, 31,8% dos animais (7 animais) desta propriedade foram infestados por carrapatos durante o período. Todos os carrapatos achados eram do gênero *Rhipicephalus boophilus microplus*. Os carrapatos encontrados foram colhidos da região do peito (90%) e axilas (10%) dos equinos em estudo.

O estágio de vida e a quantidade de carrapatos *R.B. microplus* encontrados na propriedade 2, estão demonstrados na figura 3. Os carrapatos encontrados, 235 (93,25%) eram formas jovens como metalarvas, ninfas, metaninfas, neândros e neóginas. 17(6,75%) eram formas adultas como gonandros e partenóginas, como demonstra a figura 4.

Os meses em que foram encontrados carrapatos foram os meses de dezembro de 2007, janeiro, março, abril, maio, junho e julho de 2008. Apenas em outubro e novembro, de 2007, e agosto e setembro de 2008 não se observou esta infestação, conforme a figura 5.

Dos equinos do grupo 2 em que se encontraram carrapatos, 100% são soropositivos para theileriose equina. Dos equinos do grupo 2 em que não se encontrou carrapatos, 66,67% são soropositivos para theileriose equina.

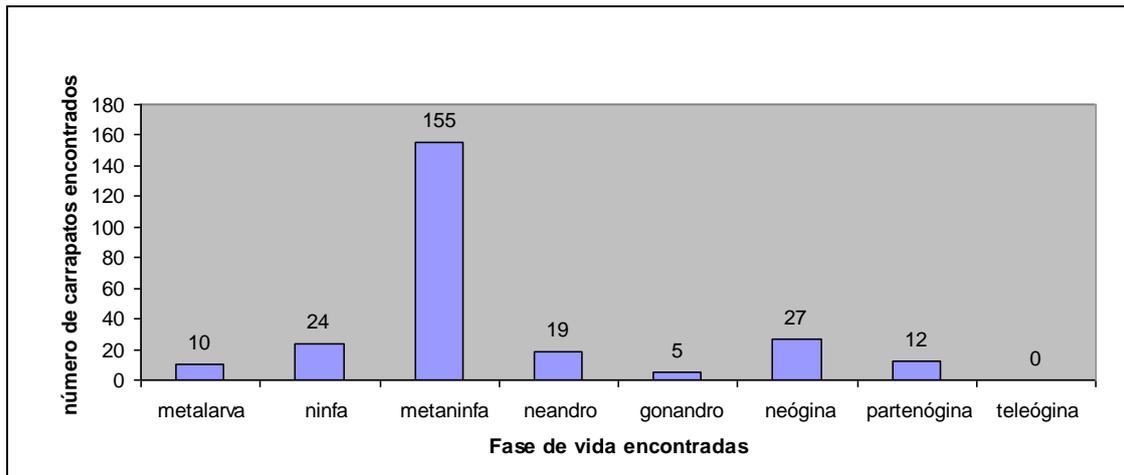


Figura 3: Estágios de vida e quantidade de carrapatos *Rhipicephalus boophilus microplus* encontrados nos animais da propriedade 2 (com a presença de bovinos) durante o período de experimento

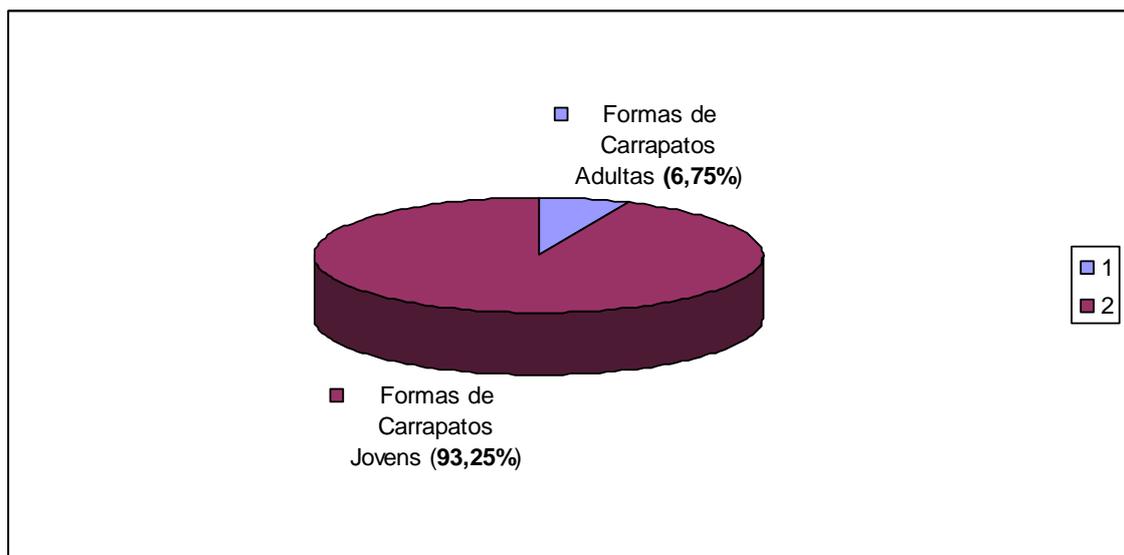


Figura 4: Formas de carrapatos *Rhipicephalus boophilus microplus* encontradas durante o período de experimento

A quantidade de éguas parasitadas e a quantidade de carrapatos colhidos durante os meses de experimento estão na figura 5.

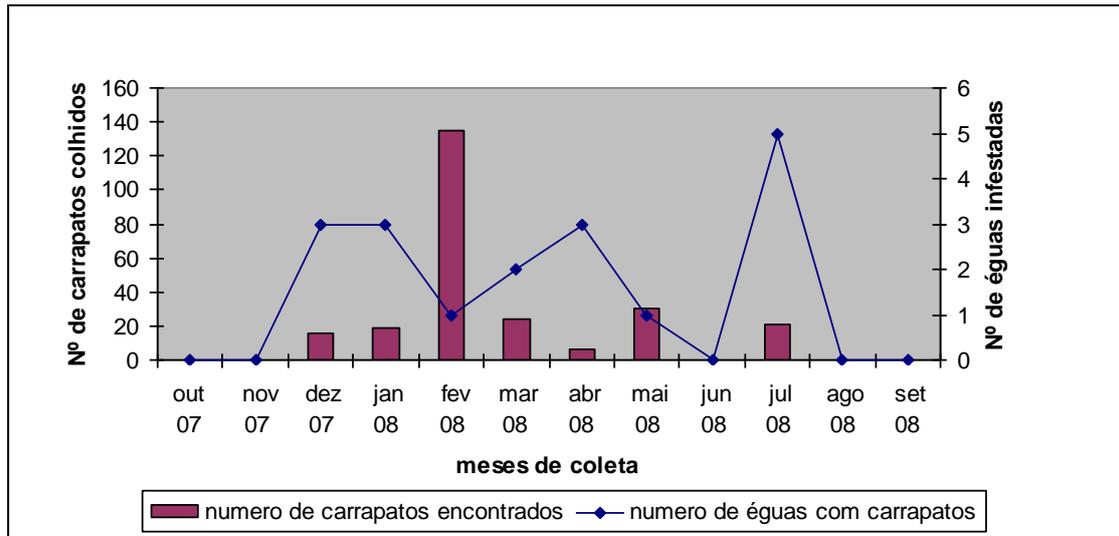


Figura 5: Relação do número de animais com carrapatos e o número de carrapatos encontrados durante o período de experimento

Os índices pluviométricos do período em comparação com as médias pluviométricas nos últimos dez anos estão demonstrados na figura 6, segundo os dados do INMET (Instituto Nacional de Meteorologia) na região de Bagé.

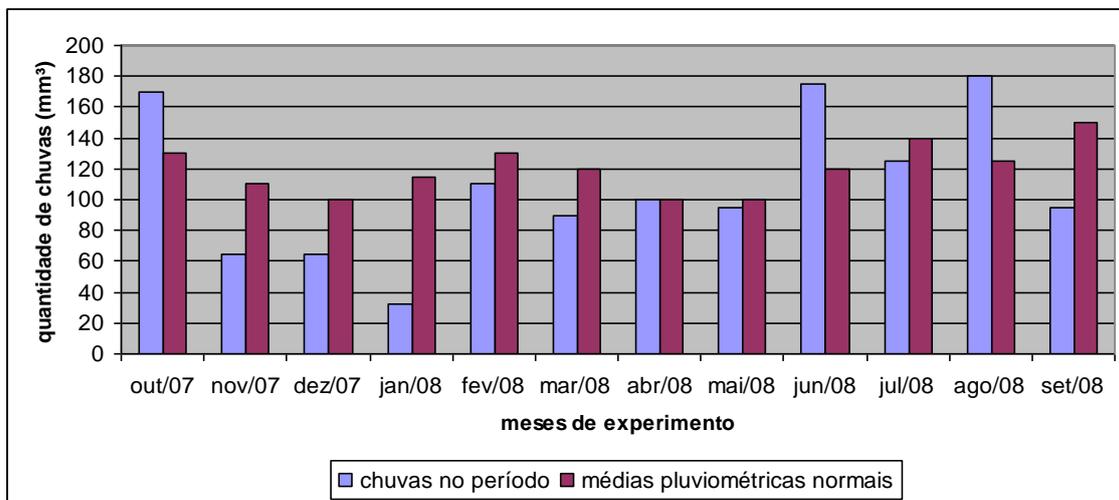


Figura 6: Médias pluviométricas na região durante o período de experimento e nos últimos dez anos na região da campanha

As chuvas no período foram relacionadas com a temperatura média durante o mesmo período e estão propostos na figura 7, segundo dados do INMET (Instituto Nacional de Meteorologia).

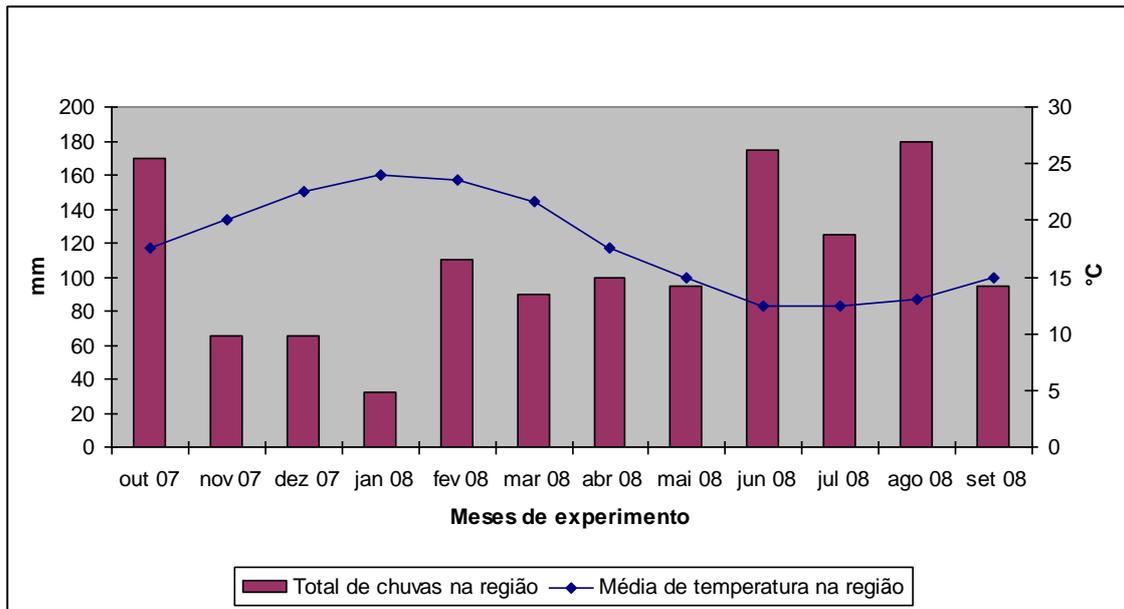


Figura 7: Chuvas e médias da temperatura no período de experimento

A umidade relativa do ar em cada dia de coleta nos meses de experimento foi relacionada com a média de umidade relativa do ar normal na região nos últimos dez anos, segundo dados do INMET (Instituto Nacional de Meteorologia) e estão na figura 8.

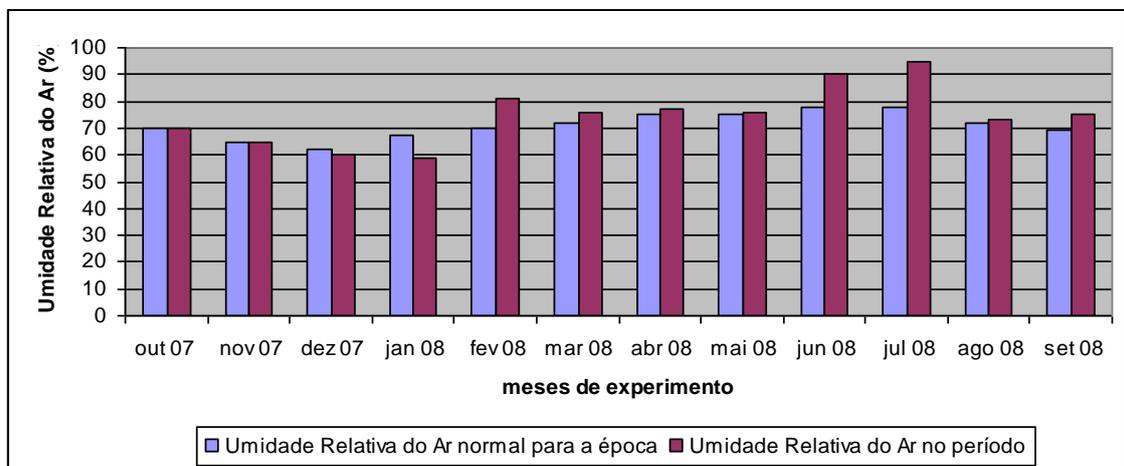


Figura 8: Umidade Relativa do Ar normal para cada mês nos últimos dez anos e durante o período de experimento

As chuvas nos meses de experimento e a umidade relativa do ar nos dias de coleta durante o período foram relacionadas, segundo dados do INMET e estão na figura 9.

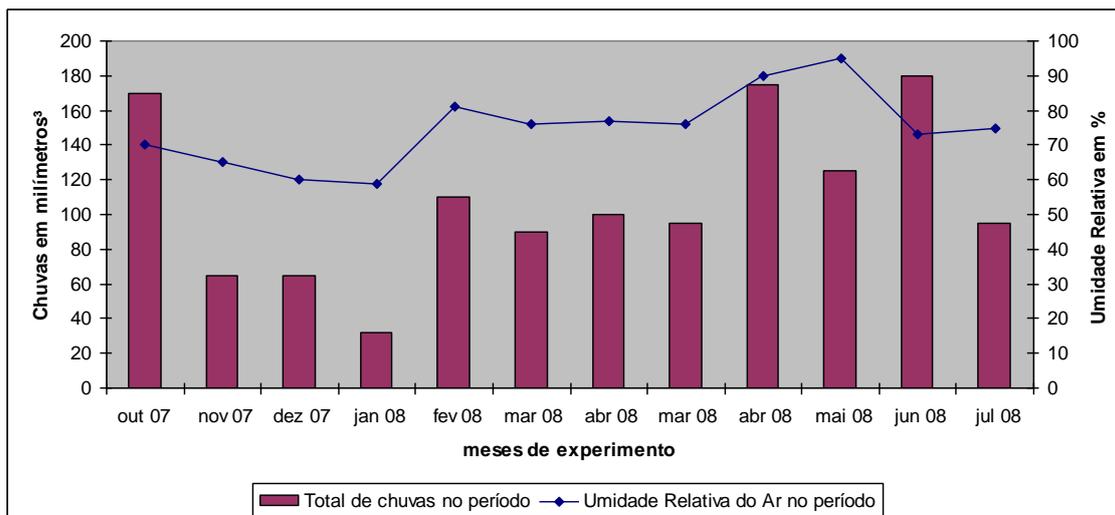


Figura 9: Chuvas e umidade relativa do ar no período de experimento

DISCUSSÃO

Os resultados sorológicos de theileriose equina na região de Campanha (12% em animais da raça PSI em haras (Puro Sangue Inglês), diagnosticado por imunofluorescência indireta, são semelhantes aos de Nizoli (2008) em que observou incidência da doença de 15,05% em animais também da raça (PSI). Já os achados de Nizoli (2008) para a raça Crioula, no mesmo estudo, foram de 55%, inferiores aos deste experimento (81,8%) em animais da raça Crioula em fazenda. Os achados sorológicos de Cunha (1996) na mesma região de haras em Bagé-RS demonstraram uma incidência de 66,10% da doença em 59 animais, que são superiores aos encontrados neste estudo.

Os dados do exame clínico dos animais positivos para theileriose equina não demonstraram alterações clínicas, assim como no estudo de Torres (2008) em animais cronicamente positivos utilizados para trabalho de campo na mesma região. Também não se obteve diferença clínica nem no hematócrito entre os animais positivos e os negativos ($P < 0,05$). Entretanto, Garcia (2008) encontrou o hematócrito dos animais positivos para a doença, inferior em 12,2% aos dos negativos.

Os dados de exame clínico não tiveram relação com a infestação de carrapatos, nem com a determinação do hematócrito e nem com a sorologia positiva para a doença nos meses em que se realizou este exame. Na propriedade 2 não existiu diferença estatística significativa no hematócrito entre os animais infestados e não infestados com carrapatos durante o período ($P < 0,05$).

A ausência de carrapatos nos animais do haras, propriedade 1, é relacionada a não convivência dos equinos diretamente com bovinos, hospedeiros naturais do *Rhipicephalus Boophilus microplus*. Em contrapartida, os equinos da propriedade 2, que convivem diretamente com bovinos, tiveram a infestação de carrapatos em 31,8% das éguas desta propriedade.

Podemos relacionar também a presença de carrapatos, na propriedade 2, com campos de pastagens naturais e mais sujos, o que favorece a presença do vetor. Como explica Cardoso e Franchi (1994), a vegetação é fundamental no ciclo de vida do *Rhipicephalus boophilus microplus*, garantindo abrigo a teleóginas, ovos e larvas, protegendo-os da incidência solar direta e mantendo a temperatura e umidade relativa favoráveis. Desta forma, os campos sujos, com invasoras e arbustos, são excelentes para o carrapato e ocasionam altas infestações. Isto também se relaciona a grande diferença na incidência da doença, diagnosticada por

imunofluorescência indireta, de 81,8% para os equinos da propriedade 2, e de 12% para os da propriedade 1.

Estes dados epidemiológicos são muito semelhantes ao de Heuchert (1999), aonde nas propriedades em que os equinos tinham contato direto com os bovinos, o carrapato encontrado foi apenas o *Rhipicephalus boophilus microplus* e a incidência sorológica de theileriose foi de 100% nestes animais.

Anatomicamente o local do equino em que se encontrou e foi colhidos carrapatos *Rhipicephalus boophilus microplus*, neste experimento, foram no peito (90%) e axilas (10%). Entretanto trabalhando com outros carrapatos, Barbosa (1995) encontrou infestações por *Anocentor nitens*; orelhas (75%), divertículo nasal (25%); e por *Amblyoma cajennense*, pescoço (40%), no peito (35%), cabeça (15%) e região perineal (10%).

Como neste estudo se teve apenas alguns animais na propriedade 2 infestados com carrapatos (31,8%), uma incidência baixa durante o ano de experimento, como demonstram as figura 5, podemos considerar que o equino na região da campanha do RS, seja um hospedeiro alternativo para o *Rhipicephalus boophilus microplus*, assim como concluiu Bittencourt (1990) no Rio de Janeiro e Labruna (2001) em São Paulo.

Segundo Furlong (1993), o período seco, de temperaturas e umidade mais baixas, entre os meses de abril e setembro, prejudica o desenvolvimento da fase de vida livre, fazendo com que o ciclo se alongue. No presente estudo foram observadas chuvas acima da média na região, nos meses de junho/2008 e agosto/2008, o que parece ter influenciado na baixa infestação de carrapatos nos equinos pela quantidade de água que encharcou os campos e prejudicou o desenvolvimento da fase livre no solo, como explica Gonzales (1975). Segundo Brum et al. (1987), os meses que apresentaram maiores infestações de carrapatos na Região Sul do país foram de janeiro a junho, assim como o presente estudo. A chuva abaixo da média nos meses de novembro/2007 à março/2008, aliado a um pico na umidade relativa do ar, principalmente no mês de fevereiro/2008 podem explicar o pico da infestação de carrapatos neste período, como também relaciona Gonzales (1975) em bovinos.

Não foram encontradas teleóginas nos equinos deste experimento em nenhum momento do estudo. As formas adultas encontradas foram gonandros e partenóginas. Como Massaro (2005) demonstrou a transmissão de *T. equi* via glândulas salivares de formas adultas de *R.B. microplus*, acredita-se que partenóginas possam estar envolvidas na infecção. Massaro (2005) também demonstrou que equinos portadores crônicos transmitem *T. equi* para formas jovens ninfas. No presente estudo foi observado que 93,25% dos carrapatos encontrados eram formas jovens, o que pode indicar uma alta transmissão de *T. equi* para estes carrapatos, mesmo que poucas formas adultas cheguem a parasitar os equinos e com isso possam transmitir a doença para animais sorologicamente negativos. Isto se relaciona ao fato de nenhum animal que era soronegativo no primeiro mês de experimento, ter sido infectado nos meses seguintes.

CONCLUSÃO

Sugere-se que o carrapato *Rhipicephalus boophilus microplus* seja um parasita alternativo para equinos e que esta infestação ocorra apenas quando existe convívio direto entre equinos e bovinos. Fica evidenciado o papel do *Rhipicephalus boophilus microplus* na transmissão de *Theileria equi* para equinos.

REFERÊNCIAS

- AMBAWAT, H. K.; MALHOTRA, D. V.; KUMAR, S.; DHAR, S. **Erythrocyte associated haemato-biochemical changes in Babesia equi infection experimentally produced in donkeys.** *Veterinary Parasitology*, v.85, p.319-324, 1999.
- ARMSTRONG, P.M., et al., **Diversity of Babesia infecting deer ticks (Ixodes dammini).** *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 58: 739-742, 1998.
- BARBOSA, I.P., BÖSE, R., PEYMANN, B. *et al.* **Epidemiological aspects of equine babesiosis in a herd of horses in Brazil.** *Veterinary Parasitology*, v. 58, p. 1-8, 1995.
- BATTSETSEG, B.; LUCERO, S.; XUAN, X.; CLAVERIA, F. G.; INOUE, N.; ALHASSAN, A.; KANNO, T.; IGARASHI, I.; NAGASAWA, H.; MIKAMI, T.; FUJISAKI, K. **Detection of natural infection of Boophilus microplus with Babesia equi and Babesia caballi in Brazilian horses using nested polymerase chain reaction.** *Veterinary Parasitology*, v.107, p.351-357, 2002.
- BITTENCOURT AJ, FONSECA AH, FACCINI JLH & BUENO BH, **Comportamento do Boophilus microplus (Canestrini, 1887) (Acari) em infestações artificiais e naturais em diferentes hospedeiros.** *Arquivos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro*, 13:173-182, 1990.
- BRUM, J.G.W.; COSTA, .P.R.P.; RIBEIRO, P.B.; GONZALES, J.C. **Flutuação sazonal de B. microplus (Canestrini, 1887) no município de Pelotas, RS.** *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v.39, n.6, p.891-896, 1987.
- CALLOW, L. L.; MCGREGOR, W.; RODWELL, B. J.; ROGERS, R. J.; FRASER, G.C.; MAHONEY, D. F.; ROBERTSON, G. M. **Evaluation of an indirect fluorescent antibody test to diagnose Babesia equi infection in horses.** *Australian Veterinary Journal*, v.55, p.555-559, 1979.
- CARDOSO, H.; FRANCHI, M. **Garrapata: epidemiologia y control de Boophilus microplus.** In: NARI, A.; FIEL, C. (Eds.) *Enfermidades parasitárias de importancia económica en bovinos.* Montevideo: *Ed. Hemisferio Sur.*, p.369-407, 1994.
- CUNHA, C. W.; SILVA, S. S.; PIMENTEL, C. A.; DAPPER, E. **Avaliação da frequência de eqüinos soropositivos a Babesia equi no Jôquei 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.
- CUNHA, C. W.; SILVA, S. S.; RODRIGUES, A. L.; GUERREIRO, G. **Avaliação do efeito da esplenectomia em eqüinos portadores e livres de Babesia spp.** *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v.6, p.157-160, 1997.
- CUNHA, C. W.; SILVA, S. S.; OSÓRIO, B. L.; DUTRA, C. L. **Alterações hematológicas e sorológicas em eqüinos experimentalmente infectados com Babesia equi.** *Ciência Rural*, v.28, p.283-286, 1998.

DE WALL, 1988 DE WAAL, D. T.; VAN HEERDEN, J.; VAN DEN BERG, S. S.; STEGMANN, G.F.; POTGIETER, F.T. **Isolation of pure Babesia equi and Babesia caballi organisms in horses splenectomized from endemic areas in South Africa.** Onderstepoort Journal Veterinary Research, v.55, p.33-35, 1988.

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

FRIEDHOFF, K.T. **Transmission of Babesia.** In: Ristic M (ed) Babesiosis of domestic animals and man. *CRC, Boca Raton, Fla*, pp 23±52, 1988.

FRIEDHOFF, 1990 FRIEDHOFF, K. T. **Interaction between parasite and tick vector.** International Journal for Parasitology, v.20, n.4, p.525-535, 1990.

FRIEDHOFF & SOULE, 1996 FRIEDHOFF, K. T.; SOULE, C. **An account on equine babesioses.** Revue Scientifique et Technique, v.15, p.1191-1201, 1996.

FURLONG, J. **Controle do carrapato dos bovinos na região Sudeste do Brasil.** *Caderno Técnico da Esc. Veterinária UFMG*, n.8, p.49-61, 1993.

GONZALES, J.C. **O controle dos carrapatos dos bovinos.** Porto Alegre. *Sulina*,. 104p., 1975.

GUIMARÃES, A.M.; LIMA, J.D.; RIBEIRO, M.F.B. **Sporogony and experimental transmission of Babesia equi by Boophilus microplus.** *Parasitol. Res.* 84, 323–327, 1998.

GUIMARÃES, A.M.; LIMA, J.D.; RIBEIRO, M.F.B.; CAMARGOS, E.R.S.; BOZZI, I.A. **Ultrastructure of sporogony in Babesia equi in salivary glands of adult female Boophilus microplus ticks.** *Parasitol. Res.* 84, 69–74, 1998.

HAILAT, 1997 HAILAT, N. Q.; LAFI, S. Q.; AL-DARRAJI, A. M.; AL-ANI, F. K. **Equine babesiosis associated with strenuous exercise: clinical and pathological studies in Jordan.** Veterinary Parasitology, v.69, p.1-8, 1997.

HEUCHERT, 1999 HEUCHERT, C. M. S.; GIULLI Jr., V.; ATHAIDE, D. F.; BÖSE, R.; FRIEDHOFF, K. T. **Seroepidemiologic studies on Babesia equi and Babesia caballi infections in Brazil.** Veterinary Parasitology, v.85, p.1-11, 1999.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA (INMET). Disponível em: <http://www.inmet.gov.br>. Acesso em maio de 2009.

JAIN, N. **Essentials of Veterinary Hematology, Philadelphia: Lea and Febiger,** 240p.,1993;

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

KNOWLES, 1980 KNOWLES, R. C.; HOURRIGAN, J. L.; HOLBROOK, A. A. **Equine Piroplasmosis**. *Equine Practice*, v.2, n.1, p.10-14, 1980.

KNOWLES, D.P.; LOWELL, D.P.; KAPPMAYER, S.; STILLER, D., HENNAGER, S.G., PERRYMAN, L.E. **Antibody to a recombinant merozoite protein epitope identifies horses infected with *Babesia equi***. *J Clin Microbiol* 30: 3122±3126, 1992.

KUTTLER, 1988 KUTTLER, K. L.; GOFF, W. L.; GIPSON, C. A.; BLACKBURN, B. O. **Serologic response of *Babesia equi*-infected horses as measured by complement-fixation and indirect fluorescent antibody tests**. *Veterinary Parasitology*, v.26, p.199-205, 1988.

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*, 97:1-14, 2001.

MASSARO, W.U., ***Babesia equi* – *Boophilus microplus* interface: parasite gene expression and tick acquisition during the chronic phase of infection**. Dissertation, Washington State University, maio 2005

MASON, C.A.; NORVAL, R. **The transfer of *Boophilus microplus* (Acarina: Ixodidae) from infested to uninfested cattle under field conditions**. *Vet Parasitol* 8:185±188, 1981.

MEHLHORN, H.; SCHEIN, E. **Redescription of *Babesia equi* (Laveran, 1901) as *Theileria equi* (Mehlhorn & Schein, 1998)**. *Parasitology Research*, v.84, p.467-475, 1998

NIZOLI L.Q.N. et al. **Frequency of seropositive equines for *Theileria equi* in the Southern Rio Grande do Sul State, Brazil**. *Parasitologia Latinoamericana*. vol.63, n.1-2-3-4, pp. 46-50, 2008.

OLADOSU, 1988 OLADOSU, L. A. **Effects of intravenous corticosteroid on the pathogenicity of *Babesia equi* infection of donkeys (*Equus asinus*)**. *Journal Veterinary Medicine B*, v.35, p.509-514, 1988

SCHEIN, E.. **Equine babesiosis**. In: Ristic M (ed) **Babesiosis of domestic animals and man**. *CRC Press, Boca Raton, Fla*, pp 197±208, 1988.

TORRES, A.J., NOGUEIRA, C.E.W., NIZOLI, L.Q.N., SILVA, S.S., CORRÊA, M.N. **Efeitos do dipropionato de imidocarb (Imizol®) no metabolismo de eqüinos com babesiose crônica**. *A Hora Veterinária*, 166, 2008

ZWART, D.; BROCKLESBY, D. W. **Babesiosis: Non-specific Resistance, Immunological Factors and Pathogenesis**. *Advances in Parasitology*, v.17, p.49-113, 1979.

3 Artigo 2

Efeitos do dipropionato de imidocarb no metabolismo de equinos com theileriose crônica

TORRES, Anibal Janczak¹; SILVA, Sérgio S.²; CORRÊA, Márcio N.³; NIZOLI, Leandro Quintana³; NOGUEIRA, Carlos Eduardo Wayne³.

¹ Pós-Graduação em Veterinária, UFPel;

² Mestre, professor UFPel;

³ Doutor. Professor. UFPel;

Universidade Federal de Pelotas (UFPel) - Campus Universitário, Caixa Postal 354 CEP 96010-900 Pelotas, RS, Brasil;

anibaltorres@ig.com.br

RESUMO

Cavalos que têm diagnóstico de theileriose crônica com repetidas reagudizações ou reinfecções são tratados com doses de dipropionato de imidocarb. O trabalho teve como objetivo demonstrar os possíveis efeitos tóxicos de diferentes doses de dipropionato de imidocarb nos equinos através de avaliações clínica, hematológicas e do perfil hepático e renal. Oito (8) equinos com babesiose crônica foram divididos em dois grupos (grupo 1 e 2) e receberam dipropionato de imidocarb (Imizol[®]) em 2mg/kg e 4mg/kg respectivamente, a cada 72 horas, totalizando 4 aplicações. Alterações na aplicação do fármaco no músculo peitoral foram observadas. Foram observados também aumentos na enzima hepática GGT (gama glutamil transferase) e pequenas alterações na enzima AST (aspartato transaminase) no grupo 2. No perfil renal, não se observou alterações entre os grupos. O cálcio urinário aumentado no grupo 2 foi relacionado com hipercalcemia causada por leve dano renal. Na hematologia não se observou alterações significativas após a aplicação do fármaco durante o período de experimento. A utilização de dipropionato de imidocarb no protocolo profilático, 2mg/kg permite a utilização dos equinos em trabalho, sem reagudizações ou demonstração de parasitemia. A avaliação metabólica destes animais demonstra segurança no protocolo, toxicidade temporária no período de metabolização da droga e eliminação.

INTRODUÇÃO

A piroplasmose equina é uma doença causada por protozoários hemoparasitas, *Theileria equi* e *Babesia caballi*, os quais são transmitidos pelo carrapato. A doença possui melhor prognóstico quando diagnosticada e tratada na fase aguda, no entanto na fase crônica, a eficácia do tratamento diminui e não são obtidos bons resultados. Com isso, cavalos que têm diagnóstico de theileriose crônica com repetidas reagudizações ou reinfecções são tratados com doses de dipropionato de imidocarb (Imizol®). O imidocarb pertence ao grupo das carbanilidas, com nome químico 3,3'-bis-(2-imidazolina-2yl) dipropionato de carbanilida (Meyer, 2005).

Segundo Frerichs et al. (1973), a única dose capaz de eliminar totalmente a parasitemia pela *Theileria equi* é a de 4mg/kg de imidocarb, a cada 72 horas, em quatro aplicações. A aplicação deste protocolo terapêutico pelos autores resultou em resolução da infecção e não induziu efeitos colaterais anticolinesterásicos. De acordo com a Schering-Plough®, fabricante do Imizol® (dipropionato de imidocarb), a dose de 2,4mg/kg é recomendada como theilericida na fase aguda da doença. No entanto, alguns trabalhos nos últimos anos têm proposto a ação do imidocarb em doses menores, como o de Ribas et al. (2004) que demonstrou que a dose de 1,2 mg/kg de dipropionato de imidocarb é eficiente no controle da *Theileria equi* na fase aguda da doença, de forma menos tóxica.

Adams (1981) avaliou a toxicidade do imidocarb em doses de 0, 2, 4, 8, 16 e 32mg/kg, repetidas em 24 horas, através da avaliação das taxas de morbidade, mortalidade, reação tissular no local da aplicação, aumento nos níveis sanguíneos de uréia, AST (aspartato aminotransferase), sorbitol desidrogenase e creatinina fosfoquinase no soro. Nos animais tratados com as doses de 16 e 32mg/kg foram observados, necrose hepática periportal aguda e necrose renal cortical aguda.

Meyer et al. (2005) avaliaram em pôneis sadios a dose de 2 e 4mg/kg, ambos a cada 72 horas, em quatro aplicações, observando alterações na hematologia, nas enzimas renais e hepáticas, além de danos tissulares nos locais de aplicação do medicamento.

Hailat et al. (1997) consideraram equinos atletas com theileriose para avaliar aspectos clínicos e patológicos antes e depois de utilizar o dipropionato de imidocarb. Os animais com a doença aguda foram tratados com quatro aplicações de 4mg/kg a cada 72 horas e, em todos os animais, analisou-se alterações hematológicas, nas enzimas séricas e o quadro patológico da theileriose em comparação com o tratamento da doença.

Considerando estes fatos, objetivou-se demonstrar os efeitos metabólicos de diferentes doses de dipropionato de imidocarb nos equinos com theileriose crônica, mantidos com protocolo profilático, através de avaliações clínicas, hematológicas e bioquímicas (perfil hepático e renal).

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados oito (8) equinos sem raça definida, com peso médio de 439kg (405-500kg) e idade média de 9 anos (6-15), os quais eram utilizados no policiamento urbano. Os animais trabalhavam em média 6 horas por dia, duas vezes na semana na patrulha da cidade. Durante o dia ficavam soltos em um potreiro com pasto nativo e à noite estabulados. Recebiam 3 kg de concentrado com 12% de proteína bruta à noite e pela manhã. Os animais eram avaliados rotineiramente, não apresentando alteração clínica, porém todos eram soropositivos para *Theileria equi*, diagnóstico realizado nos últimos dois anos a partir de exames trimestrais de imunofluorescência indireta e esfregaço sanguíneo. Estes animais

recebiam tratamento profilático com dipropionato de imidocarb (Imizol®) na dose de 1,2mg/kg bimestralmente nos últimos 24 meses, de acordo com o protocolo de Ribas et al. (2004) e Nogueira et al. (2005), com o intuito de evitar a reagudização da doença. Os oito equinos foram divididos aleatoriamente em dois grupos, recebendo dipropionato de imidocarb (Imizol®), a cada 72 horas, por via intramuscular, totalizando quatro aplicações. No grupo 1, a dose foi de 2mg/kg e no grupo 2, de 4mg/kg. As quatro aplicações foram realizadas por via intramuscular, sendo a primeira no músculo peitoral direito, a segunda no esquerdo, a terceira aplicação no músculo semitendinoso direito, e a última aplicação no lado esquerdo. No dia seguinte de cada aplicação, os possíveis danos tissulares do fármaco foram avaliados e fotografados. Estes danos foram classificados de forma subjetiva como, com aumento de volume ou sem aumento de volume. Foi realizado exame clínico geral em todos os animais do experimento, antes da primeira aplicação do dipropionato de imidocarb, e diariamente, do dia 0 ao dia 10 do experimento. O exame clínico geral consistiu em avaliar a coloração das mucosas, o tempo de perfusão capilar na mucosa oral, a frequência respiratória em um minuto, a frequência cardíaca em um minuto, a motilidade do intestino delgado, a motilidade do intestino grosso e a temperatura retal. Os animais foram submetidos a avaliações clínica, hematológica e bioquímica clínica.

Sangue venoso foi colhido por flebocentese, com anticoagulante (EDTA), para a realização de hemograma completo e do perfil hepático. O hemograma foi realizado nos dias 0, 5, 10 e 40. Para análise das enzimas para perfil hepático foram mensuradas gama glutamiltransferase (GGT) e aspartato transaminase (AST) plasmáticos. A colheita das amostras foi realizada antes da primeira aplicação do dipropionato de imidocarb, e nos dias subsequentes a cada aplicação deste fármaco, ou seja, nos dias 0, 1, 4, 7 e 10.

A análise do perfil renal foi realizada através da avaliação de uréia e creatinina no soro e urina, bem como dosagem de cálcio urinário. Para a coleta de urina, foi utilizada sonda uretral, sendo utilizada, nos machos, a aplicação de 15 mg de acepromazina a 1%, para que houvesse a exposição do pênis. A urina era acondicionada em caixa térmica contendo gelo e, imediatamente após todas as coletas do dia, eram encaminhadas para análise. A quantidade de creatinina, uréia e cálcio presente na urina foi avaliada no dia 0, antes da primeira aplicação e 24 horas após as aplicações do dipropionato de imidocarb, sendo desta forma realizada a urinálise nos dias 0, 1, 4, 7, 10. O método utilizado para mensuração das enzimas foi cinético colorimétrico através de kit do laboratório Analisa®. As amostras de sangue e urina foram analisadas nos Laboratórios de Patologia Clínica do HCV-UFPEL e Departamento de Bioquímica- UFPEL e a Imunofluorescência Indireta realizada no Laboratório de Doenças Parasitárias- UFPEL. O material era colhido e acondicionado em caixa térmica com gelo até a entrega para análise.

O método estatístico utilizado neste trabalho foi análise de variância estatística por medidas repetidas usando o teste de Tukey- Kramer, considerando como nível de estatística $P < 0,05$.

RESULTADOS

Os equinos utilizados neste experimento não apresentaram alteração no resultado de imunofluorescência indireta ou no exame de esfregaço sanguíneo que caracterizasse agudização ou parasitemia da doença. No exame clínico foi possível observar mucosas normais (róseas) no início do experimento, com tendência a róseas congestionadas e amareladas no final. Nos demais parâmetros, não foram observadas alterações significativas. Em apenas um dos equinos, do grupo 2, 48 horas após a última aplicação do fármaco, no dia onze (11), foram observados sinais de desconforto abdominal e cólica e ocorreu resolução satisfatória do

problema após terapia específica. As alterações tissulares devido à aplicação do medicamento foram observadas. Quando o medicamento foi aplicado nos músculos do peito, ocorreu 100% de reação, e nenhuma quando aplicado na musculatura dos posteriores. Não houve diferença nas reações por avaliação subjetiva, em comparação às doses utilizadas nos dois grupos de tratamentos, pois as reações foram sempre do mesmo tamanho e foram relacionadas apenas ao local da aplicação.

Tabela 1: Médias das enzimas mensuradas em cada grupo e o erro padrão da média (EPM)

	Grupo 1 (EPM)	Grupo 2 (EPM)	P
GGT	28,33 (B)	37,93 (A)	P < 0,05
AST	51,42 (B)	58,56 (A)	P < 0,05
Uréia Sangue	57,96 (A)	58,86 (A)	P > 0,05
Uréia urina	2688,24 (A)	3009,37 (A)	P > 0,05
Creatinina Sangue	1,59 (A)	1,66 (A)	P > 0,05
Creatinina urina	130,66 (A)	161,24 (A)	P > 0,05
Cálcio urina	14,82 (B)	19,24 (A)	P < 0,05

Na hematologia não se obteve diferença estatística significativa entre os dois grupos durante o período de experimento em nenhuma contagem de células ($P > 0,05$).

No perfil hepático, a análise de GGT teve uma variação significativa nos dois grupos. Conforme a Figura 1, abaixo, analisando-se as médias dos dois grupos através do efeito dia, e na tabela 2 do efeito grupo, pôde-se observar diferença estatística na elevação desta enzima conforme o fármaco era aplicado. O GGT elevou-se mais no grupo 2 do que no grupo 1 nas duas análises. Nos dois grupos, observaram-se níveis de GGT acima dos valores fisiológicos.

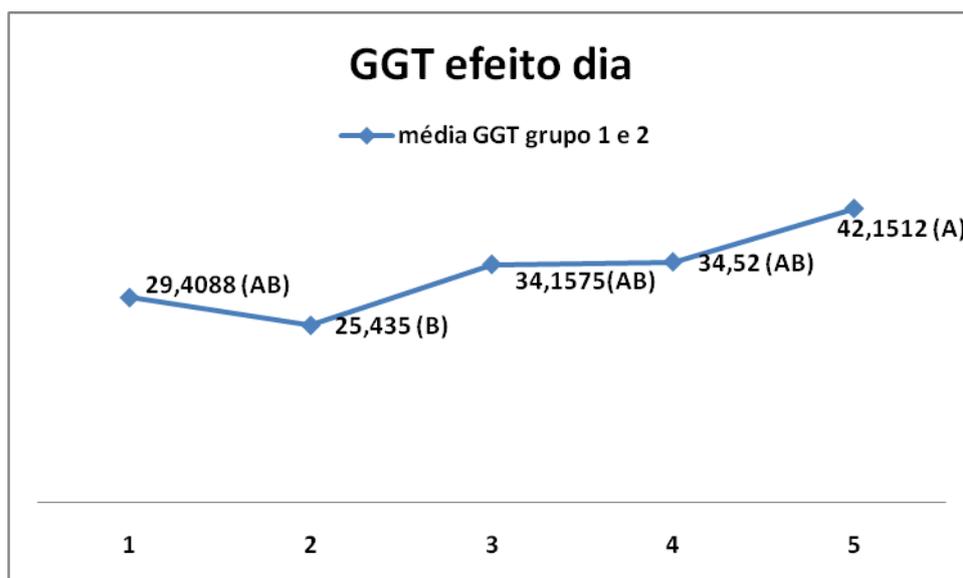
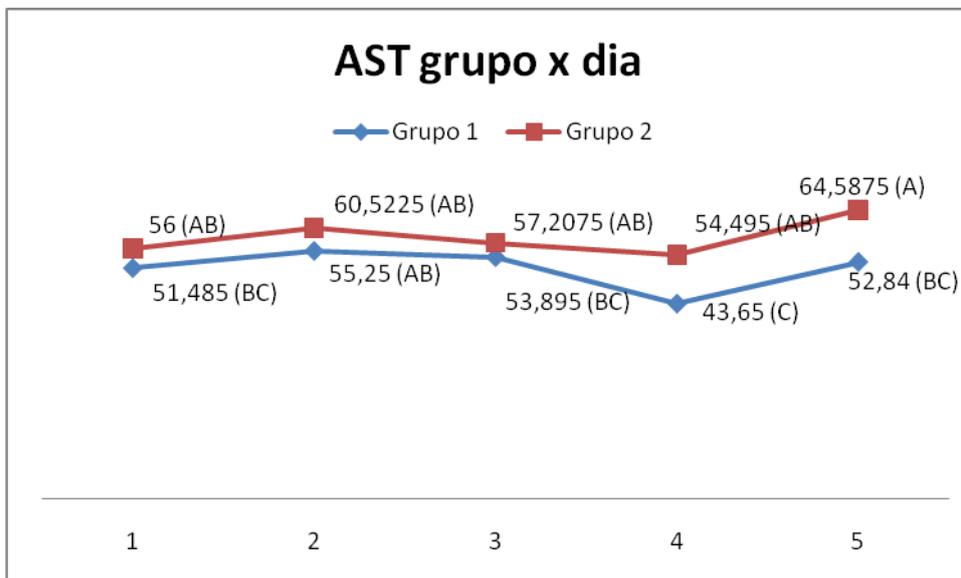


Figura 1: Média de GGT plasmático em U/L no grupo 1 e 2 – efeito dia ($P < 0,05$)

Tabela 2: Média de GGT plasmático em U/L nos grupo 1 e 2 – efeito grupo (P < 0,05)

GGT - Efeito Grupo		Erro Padrão
Grupo 1	28,3335 (B)	2,6321
Grupo 2	37,9335 (A)	2,6321

Na análise da enzima AST observou-se diferença entre os grupos conforme os dias de aplicação do medicamento. A diferença se fez nos dias 7 e 10 de experimento, sendo maior a mensuração de AST no grupo 2, que recebeu 4 mg/kg do fármaco, conforme o gráfico da figura 6. No gráfico da tabela 3, analisando-se a diferença entre os grupos também existe diferença significativa, com maior elevação desta enzima nos animais do grupo 2.

**Figura 2: Média de AST plasmático em UI no grupo 1 e 2 – efeito grupo x dia (P < 0,05)****Tabela 3: Média de AST plasmático em UI no grupo 1 e 2 – efeito grupo (P < 0,05)**

AST - Efeito Grupo		Erro Padrão
Grupo 1	51,4240 (B)	0,97
Grupo 2	58,5625 (A)	0,97

Os resultados da análise de uréia e creatinina no sangue foram comparados com os valores na urina para se observar a curva das concentrações destes elementos. Não existiu diferença estatística nas análises de uréia e creatinina no sangue, nem na urina em nenhum dos dois grupos com $P > 0,05$.

Na análise de cálcio na urina tivemos diferença na comparação entre os dois grupos. O grupo 2, que recebeu 4 mg/kg de imidocarb, apresentou uma maior elevação na mensuração de cálcio do que o grupo 1 (2mg/kg de imidocarb), conforme o gráfico da tabela 4. Não se obteve diferença estatística no cálcio no efeito dia de aplicação do fármaco.

Tabela 4: Cálcio urinário, efeito grupo (P < 0,05)

Cálcio na urina - efeito grupo		Erro Padrão
Grupo 1	14,826 (B)	1,1462
Grupo 2	19,2445 (A)	0,9926

DISCUSSÃO

Os animais utilizados neste experimento mantinham bom desempenho no trabalho de patrulha urbana, recebendo o protocolo de 1,2 mg/kg de dipropionato de imidocarb bimestralmente. Estes animais não demonstraram alteração clínica, com exceção de um cavalo tratado com a dose de 4mg/kg que demonstrou alterações gastrointestinais, com desconforto abdominal. O mesmo ocorreu com Meyer et al. (2005) que também observou cólica moderada em equinos tratados, assim como Frerichs et al. (1973) que também citou hipermotilidade do trato gastrintestinal.

No presente experimento observamos que todos os animais que receberam imidocarb nos músculos do peito demonstraram reação. Em contrapartida, os que receberam na musculatura dos posteriores não tiveram alteração local. Da mesma forma como observado por Meyer et al. (2005), que aplicaram imidocarb na musculatura do pescoço, percebendo aumentos significativos nos locais de aplicação do fármaco em praticamente todos os animais. Frerichs et al. (1973) observaram leve reação muscular à droga. Entretanto, Hailat et al. (1997) citaram que não ocorreu nenhuma lesão muscular após a aplicação da mesma dose de imidocarb. Acreditamos que a reação tissular à aplicação do fármaco seja particular de alguns músculos em que existe perfusão diferenciada ou é proporcional à massa tecidual, causando menor circulação e, conseqüentemente, lenta metabolização do imidocarb.

Hailat et al. (1997) observaram respostas diferentes no tratamento com imidocarb em diferentes grupos. Em um grupo com theileriose aguda e alta hemoparasitose, ocorreu uma grande diminuição no número de hemácias em relação ao pré-tratamento. Em um grupo com parasitemia moderada, mas sem sinais clínicos de theileriose, ocorreu uma leve diminuição no número de hemácias. No grupo de cavalos sem parasitemia e sem sinais clínicos da doença, o tratamento com imidocarb provocou um leve aumento no número de hemácias, o que não ocorreu neste experimento, aonde não existiu diferença estatística na contagem de hemácias entre os grupos nem em relação aos dias de aplicação do fármaco.

A GGT catalisa a transferência de grupos gamacarboxila do glutamato a um peptídeo. É uma enzima associada a membranas, mas também está no citosol, especialmente dos ductos biliares e renais, no pâncreas e intestino delgado. Somente a GGT de origem hepática é encontrada no plasma sanguíneo. Com isso, é indicativa de colestases e proliferação de dutos biliares, aumentando também na cirrose e colangiocarcinoma. Seu aumento no plasma é indicativo de insuficiência hepática crônica. Nos equinos, os valores fisiológicos de GGT são de 4,3 a 13,4 U/L (González e Da Silva, 2006). Hailat et al. (1997) demonstraram queda nos níveis de GGT em equinos altamente infectados com *Theileria equi* após o tratamento com imidocarb. Entretanto, no experimento de Meyer et al. (2005), foi demonstrado um aumento significativo da GGT em pôneis que receberam o mesmo tratamento, porém, como não houve

aumento nos ácidos biliares, desta forma não se concluiu a existência de hepatotoxicidade. No presente experimento foi observado aumento nos níveis plasmáticos de GGT conforme o imidocarb era aplicado nos dois grupos, e existiu maior elevação no grupo 2, que recebeu 4 mg/kg. Fazendo um paralelo, a curva do experimento de Meyer e colaboradores, teve níveis mínimos de GGT de 13 U/L, e máximo, ao final do experimento, de aproximadamente 28 U/L. Em contrapartida encontramos níveis mínimos de GGT, no grupo 1, de 18 U/L, chegando até 50 U/L, no grupo 2. Como esta enzima demonstra dano hepático crônico, especula-se a possibilidade da série de aplicações de dipropionato de imidocarb, ao longo de dois anos, nestes animais, causar contínuos danos hepáticos ou estar relacionado com o metabolismo destes animais que são portadores de theileriose crônica.

Os valores normais de AST no plasma são 10-240 U/L (Meyer et al., 2005). O aumento desta enzima no plasma indica insuficiência hepática aguda e também pode estar associado com problemas musculares (González e Da Silva, 2006). Adams (1981) e Meyer et al. (2005) encontraram níveis sanguíneos de AST, bastante elevados após o tratamento com imidocarb, em comparação com os níveis antes do tratamento. Estes resultados foram similares ao que encontramos no presente experimento, principalmente na dose de 4mg (grupo 2) expressos na Figura 2 e na tabela 3. No entanto, Meyer e colaboradores (2005) observaram que estes níveis voltaram ao que eram antes do tratamento, nos dias subsequentes.

A creatinina se forma endogenamente a partir da conversão da creatina, composto que armazena energia no músculo (fosfocreatina). A creatinina é filtrada pelo glomérulo e não se reabsorve no túbulo, sendo considerada, assim, como melhor marcador da filtração glomerular que a uréia. O aumento de compostos nitrogenados (uréia e/ou creatinina) no sangue é chamado de azotemia, e pode ser de causa pré-renal, renal e pós-renal. Os valores fisiológicos de uréia no sangue são de 10-24mg/dL. Os de creatinina, são de 1,2-1,9mg/dL (González e Da Silva, 2006). É interessante observar que, segundo Stockham e Scott (2002), em eqüinos, a creatinina tende a diminuir primeiro que a uréia no sangue, por ser mais sensível, indicando os primeiros sinais de glomérulo nefrite. Este dado não foi observado no presente experimento. A uréia é sintetizada no fígado a partir da amônia derivada do catabolismo protéico. É excretada por via gastrointestinal e renal, sendo, no rim, filtrada no glomérulo e parcialmente reabsorvida de forma passiva nos túbulos. Segundo Stockham e Scott (2002), a azotemia pode refletir um quadro de lesão pré-renal, renal ou pós-renal com lesão nos glomérulos. Adams (1981) concluiu que o imidocarb causa um aumento nos níveis de uréia no sangue. Meyer et al. (2005) não encontraram alterações significativas nas concentrações de uréia e creatinina no sangue dos seis pôneis tratados com imidocarb, assim como o que ocorreu no presente estudo. Porém, puderam observar uma tendência a aumento de creatinina em dois animais, representando moderada azotemia, assim como moderado aumento da creatinina no sangue e moderada diminuição na urina. Mayer et. al. (2005) também observaram aumento significativo na análise de GGT urinário. Porém, estes valores logo voltaram ao normal, concluindo-se que, durante a excreção da droga do organismo, exista algum dano renal temporário, ou dificuldade na atividade do rim, o que não necessariamente significa nefrotoxicidade. O autor salienta a grande capacidade regenerativa do rim. O achado de glicosúria aliado ao aumento de creatinina fez o autor concluir pela existência de indícios de dano renal causados pela droga. Entretanto, no trabalho de Hailat et al. (1997), não foi encontrado dano renal após o mesmo tratamento em cavalos atletas, avaliados por exame histopatológico, apontando, realmente, para a possibilidade de um dano renal temporário enquanto o imidocarb é excretado. No presente experimento não se observou diferença nos dois grupos na mensuração de creatinina e de uréia, o que não evidenciou dano renal para estes marcadores.

O rim é o órgão fundamental na excreção de cálcio nos eqüinos. Por este fato devem ser consideradas alterações de cálcio na urina (González e Da Silva, 2006). Segundo

Stockham e Scott (2002), a doença renal, aguda ou crônica, causa um decréscimo no “clearance” renal de cálcio em eqüinos, com isso, observa-se hipercalcemia. Podemos concluir, com os resultados deste trabalho, que a dose de 4mg/kg (grupo 2) apresentou um aumento da excreção do cálcio na urina em relação ao grupo 1, como consequência do efeito hipercalcêmico do imidocarb.

Frerichs et al. (1973) descreveram que o pico de concentração sérica de imidocarb, em eqüinos tratados com este fármaco, no terceiro e sexto dia após a aplicação, provavelmente está relacionado ao pico de concentração nos tecidos, primeiro no rim e posteriormente no fígado. Foi encontrada pouca concentração de imidocarb em outros tecidos. Desta forma é possível concluir que a droga é armazenada e concentrada no rim e metabolizada no fígado. Corroborando com estes dados, Belloli et al. (2002) fizeram um estudo da farmacocinética do dipropionato de imidocarb em cavalos, concluindo que ocorra um pico de concentração sanguínea após a primeira hora de aplicação, um pico de concentração urinária após 36 horas e fecal em até 10 dias após a aplicação. Esta eliminação fecal longa indica a eliminação biliar da droga, o que significa o armazenamento hepático. Como este fármaco demonstrou uma característica circulante muito rápida, concluiu-se que o fígado e o rim são os principais órgãos residuais do imidocarb, o que podemos observar no presente experimento através da avaliação do perfil renal e hepático.

CONCLUSÃO

Conclui-se que a utilização de dipropionato de imidocarb na musculatura dos posteriores, no protocolo profilático de 2mg/kg permite a utilização dos equinos em trabalho, com toxicidade renal e hepática moderada temporária no período de metabolização e eliminação da droga. A avaliação metabólica e clínica destes animais demonstram segurança no protocolo utilizado.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, L.G. **Clinicopathological aspects of imidocarb dipropionate toxicity in horses.** *Research in Veterinary Science*, 31, 54-61. 1981.
- BELLOLI, C., Crescenzo, G., Lai, O., Carofiglio, V., Marang, O., Ormas, P.. **Pharmacokinetics of imidocarb dipropionate in horses after intramuscular administration.** *Equine Veterinary Journal*, 34, 625-629. 2002.
- FRERICHS, W.M., Allen P.C., Holbrook, A.A. **Equine piroplasmiasis (*Babesia equi*): therapeutic trials of imidocarb dihydrochloride in horses and donkeys.** *Veterinary Record*, 93, 73-75. 1973
- GONZÁLEZ, F.H., DA SILVA, S.C.. **Introdução á bioquímica clínica veterinária** 330-338; 342-344, segunda edição. 2006
- HAILAT, N.Q. Lafi S.Q., Al-Darraji A.M., Al-Ani F.K.. **Equine babesiosis associated with strenuous exercise: clinical and pathological studies in Jordan.** *Veterinary Parasitology*, 69, 1-8. 1997.

NOGUEIRA, C.E.W.; S. S. SILVA; L. Q. NIZOLI; L. M. RIBAS; L. P. A. N. ALBUQUERQUE. **Efeito quimioprolático do dipropionato de imidocarb na prevenção da agudização de babesiose equina em cavalos portadores da infecção.** *A Hora Veterinária*, n. 146, julho/agosto, 2005, p.15-17, 2005.

MEYER, C. Guthrie, A. J., Stevens, K.B.. **Clinical and clinicopathological changes in six healthy ponies following intramuscular administration of multiple doses of imidocarb dipropionate,** *Journal of the South African Veterinary Association*, 76(1), 26-32. 2005.

RIBAS, L.M., Silva, S.S., Nogueira, C.E.W., Nizoli, L.Q., Krause, L.. **Avaliação da eficácia terapêutica do dipropionato de imidocarb no tratamento de equinos durante infecção aguda por *Babesia equi*.** *A Hora Veterinária*, 137, 33-36. 2004.

STOCKHAM, S.L., SCOTT, M.A. *Veterinary Clinical Pathology*, 277-337. Primeira edição. 2002.

4 Artigo 3

Controle da theileriose equina através da administração de doses mensais de dipropionato de imidocarb

TORRES, Anibal Janczak¹; FEIJÓ, Lorena Soares²; HARTWIG, Felipe Pires²; NIZOLI, Leandro Quintana³; NOGUEIRA, Carlos Eduardo Wayne³.

¹ Pós-Graduação em Veterinária, UFPel;

² Acadêmico do curso de Medicina Veterinária, UFPel;

³ Dr. Professor Adjunto, UFPel.

Universidade Federal de Pelotas (UFPel) - Campus Universitário, Caixa Postal 354 CEP 96010-900 Pelotas, RS, Brasil;
anibaltorres@ig.com.br

RESUMO

A piroplasmose é uma das principais parasitoses em equinos causada pelos hemoprotozoários *Theileria (Babesia) equi* e *Babesia caballi*. Animais acometidos são tratados com dipropionato de imidocarb, porém sabe-se que nenhuma dose é eficaz no tratamento definitivo da doença. Contudo, estudos realizados nos últimos anos propõem a utilização de um protocolo quimioprofilático que controla a doença sem episódios de reagudizações. O objetivo deste trabalho foi demonstrar através do teste de imunofluorescência indireta, ELISA e exame clínico, que administrações mensais de dipropionato de imidocarb na dose de 2 mg/kg são eficazes para se manter a parasitemia e a clínica da doença controladas, mesmo que os animais sejam submetidos á situações de estresse, avaliados pelos níveis de cortisol. O experimento foi realizado com seis equinos de trabalho contínuo, os quais foram divididos em dois grupos, sendo todos soropositivos para *Theileria equi*. O tratamento e controle da Theileriose equina foi realizado com dipropionato de imidocarb, no grupo A na dose de 4 mg/kg apenas uma vez no primeiro mês, e no grupo B na dose de 2 mg/kg uma vez ao mês, por seis meses. Amostras de sangue foram colhidas mensalmente para realização de hemogramas, sorologia e mensuração de cortisol. Não foram observadas diferenças significativas nas análises clínicas, e as variações hematológicas estiveram sempre dentro dos limites fisiológicos, não se considerando ocorrência da doença aguda. No experimento apenas um animal, pertencente ao grupo A, apresentou níveis de cortisol pouco acima do fisiológico. Os animais do grupo B, embora tenham demonstrado acréscimo nos níveis de cortisol, não houve influência na sorologia por IFI, fato explicado pela aplicação mensal de dipropionato de imidocarb na dose de 2 mg/kg. Através das análises clínicas, hematológicas, bioquímicas e sorológicas foi demonstrado que a dose de dipropionato de imidocarb de 2 mg/kg/peso vivo, administrada mensalmente controla Theileriose equina.

INTRODUÇÃO

A theileriose é uma das principais parasitoses em equinos que provoca danos diretos, como perda de rendimento e mortalidade, além de prejuízos indiretos como impedimento para comercialização e restrição do trânsito internacional de animais soropositivos (FRIEDHOFF et al., 1990). A doença é causada por dois hemoprotozoários distintos, *Theileria equi* e *Babesia caballi*, os quais são transmitidos através de carrapatos vetores (KNOWLES & UNISS-FLOID, 1983).

Os sinais clínicos característicos são anemia, icterícia, além de outros sinais inespecíficos como queda de desempenho e inapetência esporádica, comuns na fase de cronicidade da doença (KNOWLES, 1980).

Diversas técnicas de diagnóstico são descritas para a identificação de animais infectados. O teste sorológico de ELISA vem se destacando devido a sua alta sensibilidade ser uma vantagem neste exame laboratorial para pesquisa de theileriose equina (FERREIRA, 1996). Outro teste sorológico, a imunofluorescência indireta (IFI) é sensível e específica na detecção de anticorpos anti *Theileria equi* (CUNHA et al., 1996). Este método tem sido amplamente utilizado em estudos epidemiológicos e em casos onde outros testes são inconclusivos.

Animais diagnosticados soropositivos para theileriose são usualmente tratados com drogas babesicidas, como o dipropionato de imidocarb (Imizol[®]). De acordo com o fabricante, Schering-Plough[®], a dose de 2,4mg/kg é recomendada na fase aguda da doença. Segundo Nizoli (2002), nenhuma dose é eficaz no tratamento definitivo da doença. Contudo, estudos realizados nos últimos anos propõem a utilização de um protocolo quimioprofilático, no qual é realizada a administração de imidocarb na dosagem de 1,2 mg/kg (NOGUEIRA et al., 2005).

A toxicidade da utilização continuada do imidocarb tem sido avaliada através da análise do perfil renal e hepático dos animais tratados (MEYER et al., 2005; ADAMS, 1981). No entanto, Torres et. al. (2008) demonstraram que doses profiláticas de imidocarb á 2 mg/kg tem apenas toxicidade moderada e temporária no período de metabolização da droga, se mostrando uma dose muito mais segura para a fase crônica do que a de 4 mg/kg, recomendada por Adams (1981) para o tratamento da doença.

Sabe-se que a resposta ao tratamento depende do estado imunológico do indivíduo. A resposta do sistema imune aos estímulos de estresse pode aumentar a incidência de doenças em animais estressados, podendo ser atribuído à supressão do seu sistema imunológico (DUNN, 1988).

Estabelecer uma relação entre o efeito do estímulo estressante e o sistema imune é realizado pela mensuração do cortisol endógeno. A explicação para este tipo de resposta ainda está diretamente associada à ação antiinflamatória do cortisol que tem sua secreção aumentada mediante essas situações de estresse. O efeito do estresse no organismo induz mudanças na secreção de hormônios hipofisiários, implicando em falhas na reprodução, alterações metabólicas, comportamento animal e resposta imunológica (BLECHA, 2000).

Devido aos efeitos de imunossupressão do cortisol percebemos a necessidade de um estudo que relacione os níveis plasmáticos de cortisol com a clínica da doença e as variações sorológicas de indivíduos com babesiose crônica.

O objetivo deste trabalho foi demonstrar através do teste de imunofluorescência indireta e exame clínico, que doses mensais de dipropionato de imidocarb á 2 mg/kg são eficazes para se manter a parasitemia e a clínica da doença controladas, mesmo que os animais sejam submetidos á situações de estresse, avaliados pelos níveis de cortisol.

MATERIAIS E MÉTODOS

O período de realização do experimento foi de abril a outubro de 2008, concluindo seis meses de pesquisa.

O experimento foi realizado com seis equinos adultos machos e fêmeas, mestiços Crioulos, com idades entre oito e 18 anos, e peso médio de 450kg (400-500kg). Estes equinos eram utilizados no patrulhamento urbano da polícia montada da cidade de Pelotas/RS, caracterizando-se como animais de trabalho contínuo.

Os animais foram divididos em dois grupos, grupo A e B, compostos por três equinos cada um. A estruturação dos grupos foi realizada de forma aleatória.

Todos os animais utilizados na pesquisa foram diagnosticados soropositivos para Theileriose equina através dos métodos sorológicos de imunofluorescência indireta (IFI) e confirmados pelo teste de ELISA.

O tratamento e controle da theileriose equina foi realizado com dipropionato de imidocarb, porém com doses distintas entre os grupos. No grupo A foi aplicado a dose de 4 mg/kg do fármaco apenas uma vez no primeiro mês. Nos demais 5 meses, foi feita a aplicação de solução fisiológica a 0,9% na mesma quantidade em ml do imidocarb. No grupo B, foi feita a administração de 2mg/kg, uma vez ao mês, por seis meses. Todas as aplicações foram realizadas intramusculares no semitendinoso.

O exame clínico foi realizado nos animais, anterior ao início do tratamento, seguindo posteriormente todos os meses de estudo. No exame foram contempladas avaliações das colorações das membranas mucosas, tempo de perfusão capilar na mucosa oral, frequência respiratória e frequência cardíaca, motilidade intestinal e temperatura retal.

Amostras de sangue foram colhidas mensalmente via flebocentese, utilizando-se anticoagulante ácido etilenodiamonitetracético (EDTA) para realização de hemogramas e mensuração de cortisol. Amostras sem anticoagulante foram colhidas antes do início do experimento e a cada 3 meses (nos meses de julho e outubro) para sorologia por imunofluorescência indireta. Antes do início do experimento foi realizado teste sorológico por ELISA. Estes diagnósticos sorológicos foram realizados pelo Laboratório de Doenças Parasitárias da Faculdade de Veterinária, UFPel. As amostras de sangue foram analisadas no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital de Clínicas Veterinária (HCV), Universidade Federal de Pelotas/RS (UFPel) para a realização de hemogramas. Os testes para mensuração do cortisol sanguíneo foram realizados pelo método de quimiluminescência, no Laboratório Álvaro, situado na cidade de Rio Grande/RS.

O método estatístico utilizado foi por distribuição de frequências.

RESULTADOS

Durante a realização do experimento, na avaliação dos parâmetros clínicos não foram observadas alterações nos animais de ambos os grupos.

Nos resultados hematológicos, o hematócrito nos dois grupos obteve as curvas demonstradas nos gráficos das figuras 1 e 2 abaixo.

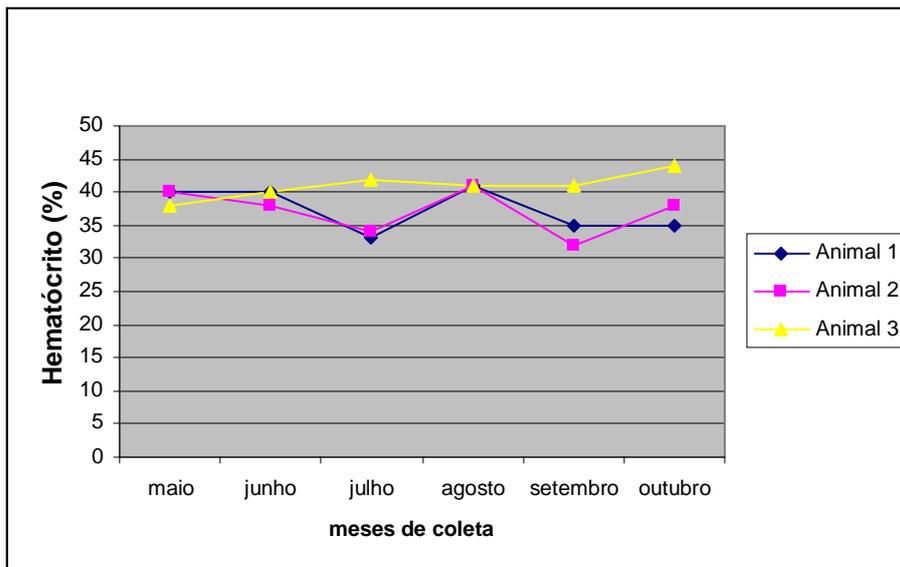


Figura 1: Hematócrito dos animais do grupo A (tratados uma vez com 4 mg/kg).

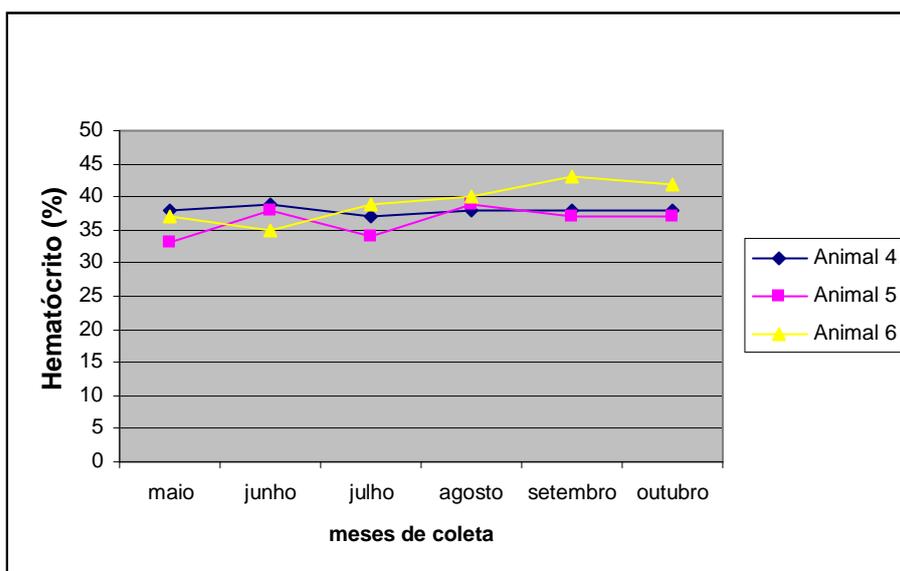


Figura 2: Hematócrito dos animais do grupo B (tratados mensalmente com 2 mg/kg).

Nesses parâmetros de hematócrito, podemos observar que as curvas do gráfico do grupo B, representado na figura 2, demonstraram uma linearidade mais acentuada que a do gráfico do grupo A. No grupo A apenas o animal 3 manteve o valor do hematócrito homogêneo, tendendo a aumentar, enquanto que os demais tiveram oscilações durante a fase de experimento. No grupo B, todos os animais mantiveram o hematócrito, sendo que os animais 5 e 6 demonstraram tendência à elevação deste parâmetro durante o período.

Os resultados do teste sorológico pelo método de imunofluorescência indireta (IFI) indicaram soropositividade em todos os animais de ambos os grupos. A tabela 1 indica a titulação para *Theileria equi* no teste. Os animais com título acima de 80 são considerados positivos para a doença.

Tabela 1: Titulação para *Theileria equi* pelo teste de imunofluorescência indireta nos animais nos dois grupos

Grupo A	Abril	Julho	Outubro
Animal 1	160	320	320
Animal 2	1280	640	640
Animal 3	320	640	320
Grupo B			
Animal 4	640	320	320
Animal 5	320	640	320
Animal 6	1280	640	320

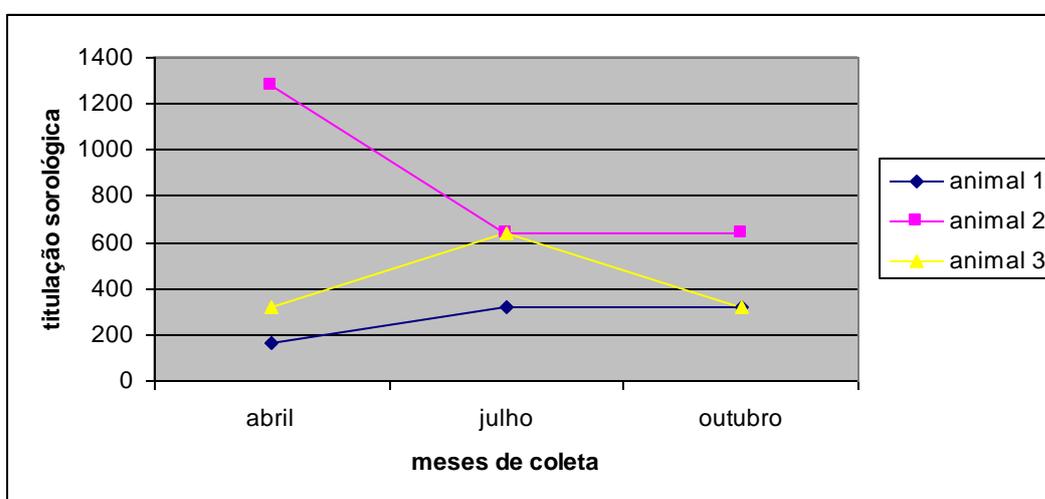


Figura 3: Titulação sorológica por imunofluorescência indireta, grupo A (tratados uma vez com 4 mg/kg).

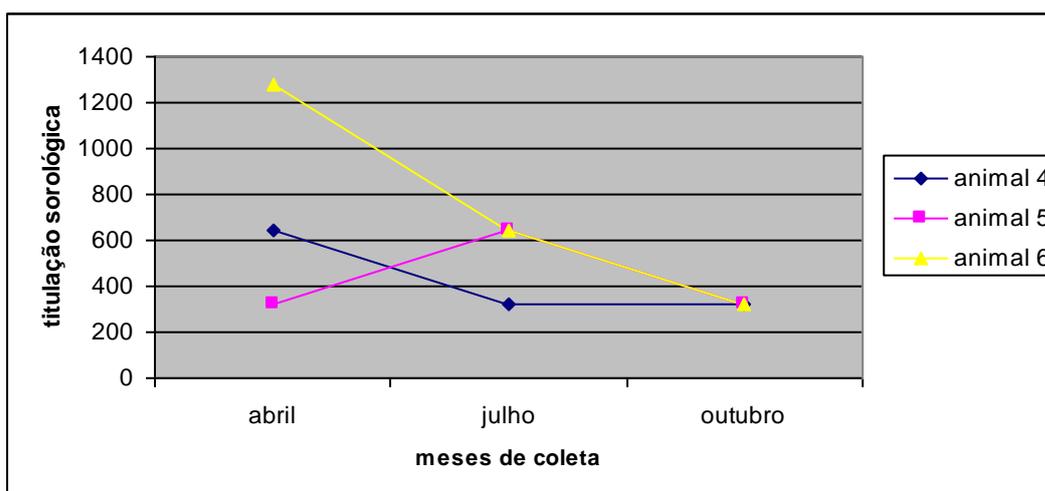


Figura 4: Titulação sorológica por imunofluorescência indireta, grupo B (tratados mensalmente com 2 mg/kg)

No gráfico da figura 3, dos animais tratados apenas uma vez com 4 mg/kg de dipropionato de imidocarb (grupo A), podemos observar que apenas o animal 2 obteve um decréscimo na titulação do mês de abril à julho, se mantendo até o término do experimento. O

animal 3 obteve um aumento na titulação da primeira para a segunda coleta, porém se manteve com a mesma titulação de abril, no mês de outubro. Já o animal 1, obteve um aumento na titulação a partir do início do experimento para os demais meses.

No gráfico da figura 4, dos animais que se manteve com doses mensais de imidocarb á 2 mg/kg (grupo B), observamos os animais 4 e 6 com um decréscimo na titulação do primeiro ao último mês. Já o animal 5, embora tenha obtido um aumento na titulação, no mês de julho, teve sua titulação sorológica de volta aos níveis em que se encontrava no primeiro mês, no último mês de experimento.

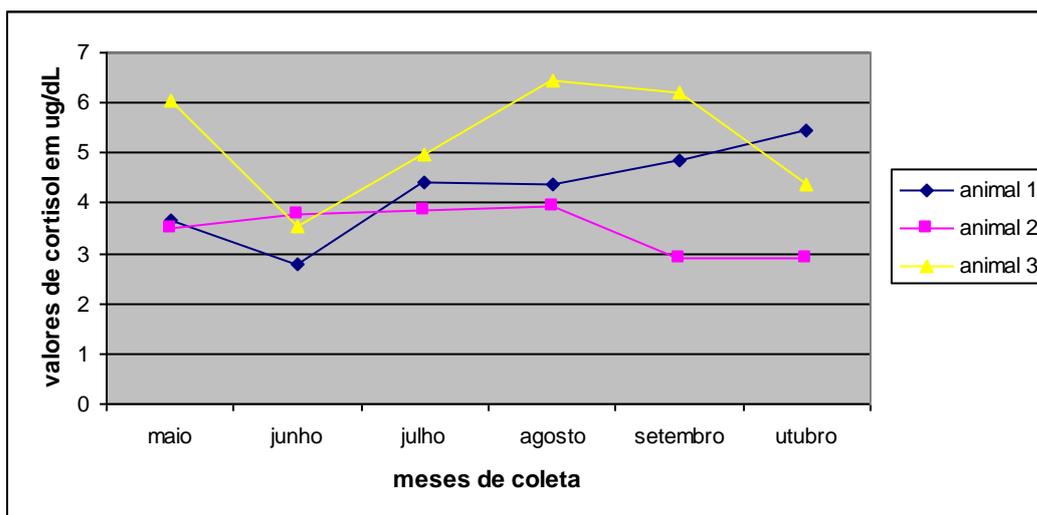


Figura 5: Níveis de cortisol sanguíneo dos animais nos diferentes meses no grupo A (tratados uma vez com 4 mg/kg).

* Valores de referência fisiológica para cortisol: 2,0 a 6,0 ug/dL.

Os resultados ilustrados no gráfico da figura 5, dos níveis de cortisol do grupo A (que recebeu 4 mg/kg apenas uma vez) demonstram que apenas o animal 3 obteve níveis de cortisol acima do fisiológico, o que pode indicar nível de estresse.

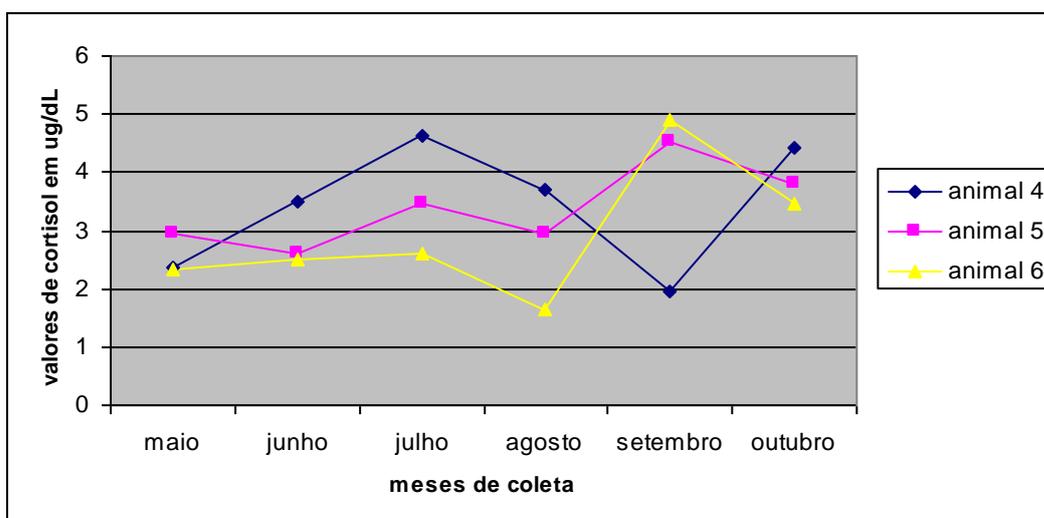


Figura 6: Níveis de cortisol sanguíneo dos animais nos diferentes meses no grupo B (tratados mensalmente com 2 mg/kg)

Analisando os resultados ilustrados pelo gráfico da figura 6, dos níveis de cortisol do grupo B (que receberam 2 mg/kg mensalmente) podemos observar que, embora nenhum animal tenha atingido níveis de cortisol que pudéssemos considerar de estresse, todos os animais deste grupo tiveram variações nestes níveis. Os 3 animais terminaram o experimento com níveis acima do primeiro mês de coleta (maio).

DISCUSSÃO

O diagnóstico pode ser realizado a partir dos sinais clínicos e da avaliação de alguns parâmetros do hemograma como contagem de eritrócitos, hematócrito e contagem diferencial de leucócitos (RUDOLPH et al., 1975), associado à detecção dos parasitos na circulação (PHIPPS, 1995). De acordo com Nizoli et al (2002) o hematócrito e a detecção dos parasitos constituem-se nos melhores parâmetros para avaliação da doença na fase aguda, entretanto no período de cronicidade a determinação de anticorpos específicos caracteriza-se como o método diagnóstico mais confiável. Como no presente experimento não se obteve diferenças significativas nas análises clínicas, e as variações hematológicas estiveram sempre dentro dos limites fisiológicos, não se considerou em nenhum momento doença aguda e, portanto o método de diagnóstico sorológico foi considerado.

Os resultados hematológicos avaliados neste experimento afirmam esta relação do hematócrito com a titulação para a doença, já que os animais do grupo B tiveram valores de hematócrito mais regulares e com tendência a aumentar, do que os animais do grupo A.

O estresse de qualquer tipo, incluindo os agentes ou estímulos nocivos que requerem uma adaptação do organismo, aumenta de modo acentuado os níveis de cortisol (TEXEIRA e PADUA, 2002). De fato, a liberação do cortisol na circulação sanguínea pela adrenal é um dos efeitos claramente resultantes do estresse (SAPOLSKY et al., 2000). Percebe-se assim que uma importante causa do aumento desse hormônio é o exercício físico, que pode chegar a duplicar ou triplicar esses níveis (SNOW & MACKENZIE, 1977; AKIMOTO et al., 2003).

Como neste experimento apenas um animal, pertencente ao grupo A, apresentou níveis de cortisol pouco acima do fisiológico, se considerou que estes animais não foram submetidos a situações de estresse, mesmo sendo animais de trabalho. Portanto foi considerada apenas a curva deste hormônio durante os meses de pesquisa para relacionar com a sorologia.

Analisando o gráfico da figura 3, do grupo A, podemos verificar que apenas o animal 2 não obteve aumento no cortisol durante o experimento, o que podemos relacionar com o resultado da titulação por IFI, aonde este animal foi o único em que teve titulação reduzida durante o experimento. Já os animais 1 e 3, tiveram os níveis de cortisol aumentados, sendo que o animal 3 ultrapassou os níveis fisiológicos já sendo considerado grau de estresse. Este resultado foi relacionado com a titulação sorológica que também teve níveis aumentados, pois parece que alterações no cortisol podem influenciar a parasitemia nestes animais portadores quando não estão protegidos pelo fármaco, como foi o caso do grupo A. No gráfico do grupo B, na figura 4, podemos perceber que, embora tenha ocorrido um acréscimo nos níveis de cortisol durante o período, e a curva deste tenha variado, não houve influência na sorologia por IFI neste grupo. Este fato pode ser explicado pela aplicação mensal de dipropionato de imidocarb na dose de 2 mg/kg.

Torres et al (2008) avaliaram a metabolização do dipropionato de imidocarb no sistema hepático e renal pela mensuração enzimática. Concluiu-se que a dose de 2 mg/kg do fármaco tem uma toxicidade apenas no período de metabolização. Doses de 4 mg/kg mantém uma toxicidade por um período além da metabolização, o que pode ser danoso ao animal em doses repetidas.

Os resultados deste trabalho corroboram com Nogueira et al (2005) que, avaliando características hematológicas, demonstraram que o uso de dipropionato de imidocarb na dose de 1,2 mg/kg pode ser indicado como quimioprolático, reduzindo as chances de reagudização da doença por um período máximo de 30 dias após a aplicação, e que após este período o efeito começa a desaparecer.

CONCLUSÃO

O presente estudo através das avaliações clínicas, hematológicas, bioquímicas e sorológicas sugere que a dose de dipropionato de imidocarb de 2 mg/kg/peso vivo, administrada mensalmente controla theileriose equina.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, L. G. **Clinicopathological aspects of imidocarb dipropionate toxicity in horse.** *Research in Veterinary Science*, v. 31, p. 54-61, 1981.
- AKIMOTO, T., NAKAHORI, C., AIZAKAWA, K., KIMURA, F., FUKUBAYASHI, T., KONO, I. **Acupuncture and responses of immunologic and endocrine markers during competition.** *Medicine and Science of Sports and Exercise*, Madison, v.35, n.8, p. 1296-1302, 2003.
- BLECHA, F. **Immune system response to stress:** In: Moberg, G.P. and Mench, J.A (eds). *The biology of animal stress: basics principles and implications for animal welfare.* CABI Publishing, 111-122, 2000.
- CUNHA, C. W. **Babesiose Equina: Padronização da Reação de Imunofluorescência Indireta para sorodiagnóstico em equinos Puro Sangue Inglês.** 56f. *Tese de Mestrado. Curso de Pós-Graduação em Veterinária - Área de Concentração em Sanidade Animal, UFPel*, Pelotas, 1993.
- CUNHA, C. W.; SILVA, S. S.; PIMENTEL, C. A.; DAPPER, E. **Avaliação da frequência de equinos soropositivos a *Babesia equi* no Jockey Clube de Pelotas e em dois haras da zona sul do Rio Grande do Sul.** *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v.5, p.119-122, 1996.
- DUNN, A. **Nervous system-immune interaction: na overview.** *Journal of Receptor Research*, vol 8, p. 589-607, 1988.
- FERREIRA, A.W.; **Diagnóstico Laboratorial.** 1. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 302p., 1996.
- FRIEDHOFF, K. T.; TENTER, A. M.; MULLER, I. **Haemoparasites of equines: impact on international trade of horses.** *Revue Scientifique et Technique*, v.9, p.1187-1194, 1990.
- KERBER, C. E.; FERREIRA, F.; PEREIRA, M. C. **Control of equine piroplasmiasis in Brazil.** *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, v.66, p.123-127, 1999.

KNOWLES, R. C.; UNISS-FLOYD, R. **Equine Piroplasmosis (Babesiosis) of the *Babesia caballi* type.** *Equine Practice*, v.5, n.3, p.18-22, 1983.

KNOWLES, R. C.; HOURRIGAN, J. L.; HOLBROOK, A. A. **Equine Piroplasmosis.** *Equine Practice*, v.2, n.1, p.10-14, 1980.

MEYER, C. GUTHRIE, A. J., STEVENS, K.B.. **Clinical and clinicopathological changes in six healthy ponies following intramuscular administration of multiple doses of imidocarb dipropionate,** *Journal of the South African Veterinary Association*, 76(1), 26-32. 2005.

NIZOLI, L. Q.; AZEREDO, D. M.; CENTENO, L. B.; PRADO, F. R. A.; SILVA, S. S. **Alterações hematológicas e térmicas, durante a fase aguda e crônica de babesiose, em equinos infectados com *Babesia equi*.** *Resumos do I Congresso Brasileiro de Especialidades em Medicina Veterinária*, Curitiba, 2002.

NOGUEIRA, C. E. W.; SILVA, S. S.; NIZOLI, L. Q.; RIBAS, L. M.; ALBUQUERQUE, L. P. A. N. **Efeito quimioprolifático do dipropionato imidocarb na prevenção da agudização de babesiose equina em cavalos portadores da infecção.** *A Hora Veterinária*, v. 146, p. 17-20, 2005.

PHIPPS, L. P. **Equine piroplasmosis.** *Equine Veterinary Education*, v.8, n.1, p.33-36, 1995.

RUDOLPH, W.; CORREA, J.; ZURITA, L. **Equine piroplasmosis: leukocytic response to *Babesia equi* (Laveran, 1901) infection in Chile.** *British Veterinary Journal*, v.131, n.5, p.601-609, 1975.

TEXEIRA, P.P; PADUA, J.T. **Avaliação dos níveis de Cortisol, Tiroxina, Triiodotironina e Glicose como indicativos de estresse em cavalos Puro Sangue Inglês de corrida, antes e após a competição.** *Ciência Animal Brasileira* 3(1): 39-48, jan./jun.(2002).

TORRES, A.J.; NIZOLI, L.Q.; CORREA, M.N.; SILVA, S.S.; NOGUEIRA, C.E.W. **Efeitos do dipropionato de imidocarb (Imizol[®]) no metabolismo de equinos com Babesiose crônica.** *A Hora Veterinária*, 2008.

SAPOLSKY RM, ROMERO LM, MUNCK AU: **How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions.** *Endocr Rev* 21, 55-89, 2000.

SNOW, D.H.; MACKENZIE, G. **Effect of training on some metabolic changes associated with submaximal endurance exercise in the horse.** *Equine Vet J*, v.9, p.226-230, 1977.

Considerações Finais

A incidência de theileriose equina tem relação direta com a convivência dos equinos com os bovinos por facilitar a infestação nestes de carrapatos *Rhipicephalus Boophilus microplus*, o qual tem papel importante na transmissão de *Theileria equi*. A região da campanha do Rio Grande do Sul é uma área endêmica para a doença, principalmente nos estabelecimentos que tem pecuária de gado de corte e criação de bovinos. O controle da doença na sua forma crônica se faz necessário para que evite a manifestação clínica. Doses mensais de dipropionato de imidocarb, 2mg/kg, são eficazes e não se demonstram tóxicas para os animais. O manejo dos equinos, procurando se evitar o contato com bovinos parece ser uma alternativa para evitar a infestação de carrapatos. Mais estudos sobre o ciclo do carrapato nos cavalos no ambiente endêmico e, alternativas terapêuticas, se buscando otimizar a farmacocinética do dipropionato de imidocarb são necessários.