



utilizando amostras de soro de 130 eqüinos procedentes de um haras da região sul do estado do Rio Grande do Sul.

A IFI foi realizada de acordo com o procedimento descrito por CUNHA et al. (1993), sendo utilizados soros controle negativos/positivos e os soros a serem testados diluídos 1:80. Utilizou-se como conjugado o anti-IgG equina total marcada com isotiocianato de fluoresceína (FITC) (SIGMA®), na diluição de 1:160 em PBS, pH 7,2. As reações foram observadas em microscópio de epifluorescência marca NIKON CF UV-F, em aumento de 400 vezes, tendo como fonte luminosa lâmpada de mercúrio de alta pressão.

Foi utilizado um *kit* ELISA comercial (VMRD, Inc. *Babesia equi* Antibody Test Kit, cELISA) e o teste foi realizado conforme recomendação do fornecedor, usando como ponto de corte para a identificação dos soros negativos 40% de inibição da DO dos soros negativos.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 130 amostras de soros analisadas, 19 (14,6%) foram positivas e 103 (79,2%) negativas para ambos os testes, 4 (3,1%) obtiveram positividade para IFI e negatividade para cELISA e 4 (3,1%) negatividade para IFI e positividade para cELISA. A reatividade das amostras de soros para detecção de *T. equi* são mostrados na Tabela 1.

A concordância entre as duas técnicas diagnósticas foi de 93,8 % e observou-se alta associação entre as técnicas ( $\chi^2 = 80,8$ ;  $p < 0,0001$ ).

Tabela 1. Concordância entre os testes de IFI e cELISA para diagnóstico de anticorpos anti-*T. equi*.

ELISA	RIFI		Total
	positivo	negativo	
Positivo	19	4	23
Negativo	4	103	107
Total	23	107	130

A técnica de IFI para o sorodiagnóstico foi padronizada de acordo com CUNHA (1993), sendo utilizados antígenos específicos de *T. equi*, possibilitando descartar a hipótese de haver reação cruzada com soros de animais infectados com *B. caballii*. O teste de cELISA utiliza proteínas recombinantes e anticorpos monoclonais (KNOWLES et al. 1991<sup>ab</sup>).

Novos estudos precisam ser desenvolvidos para esclarecer alguns aspectos problemáticos relacionados ao diagnóstico da *T. equi*, tais como aqueles observados nos animais que apresentaram resultados discordantes entre os testes, entretanto, a boa associação obtida entre o teste de cELISA em comparação com a IFI; resultados similares foram encontrados por RHALEM et al. (2001) comparando cELISA e IFI, nessa mesma comparação foi estabelecida uma concordância de 91% entre os testes.

### 4. CONCLUSÕES

Concluindo, a IFI e o cELISA apresentaram alto coeficiente de concordância. A IFI, com alta sensibilidade, apresentou resultados que sustentam seu uso em inquéritos epidemiológicos, na titulação dos soros e no acompanhamento das variações sorológicas apresentadas pelos animais. O cELISA, por sua alta sensibilidade e especificidade, pode ser empregado nas situações de importações e de trânsito interno de animais oriundos de áreas com alta prevalência que poderiam atuar como fontes de infecção nas áreas onde a theileriose não está presente.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CALLOW, L. L.; MC GREGOR, 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.
- CUNHA, C.W. Babesiose Equina: Padronização da reação de Imunofluorescência indireta para sorodiagnóstico em eqüinos puro sangue inglês. Curso de Pós-Graduação em Veterinária - Área de Concentração em Sanidade Animal, UFPEL, Pelotas, 57 p., 1993.
- FRIEDHOFF, K. T. Interaction between parasite and tick vector. **International Journal for Parasitology**, v.20, n.4, p. 525-535, 1990.
- KNOWLES, D. P. Jr.; PERRYMAN, L. E.; GOFF, W.L.; MILLER, C.D.; HARRINGTON, R.D.; GORHAM, J.R.. A monoclonal antibody defines a geographically conserved surface protein epitope of *Babesia equi* merozoites. **Infection and Immunity**, v. 59, n.7, p.2412-2417, 1991<sup>a</sup>.
- KNOWLES, D. P.; PERRYMAN, L. E.; GOFF, W. L. et al. A monoclonal antibody defines a geographically conserved surface protein epitope of *Babesia equi* merozoites. **Infect Immun**, v. 59, p. 2412-2417, 1991<sup>b</sup>.
- KNOWLES, D. P.; PERRYMAN, L. E.; KAPPEMEYER, L. S.; HENNAGER, S. G. Detection of equine antibody to *Babesia equi* merozoite proteins by a monoclonal antibody-based competitive-inhibition enzyme-linked immunosorbent assay. **J Clin Microbiol** v. 29, p. 2056-2058, 1991.
- KNOWLES, R. C.; HOURRIGAN, J. L.; HOLBROOK, A. A.. Equine Piroplasmiasis. **Equine Practice**, v.2, n.1, p. 10-14, 1980.
- RHALEM, A.; SAHIBI, H.; LASRI, S.; JOHNSON, W. C.; KAPPEMEYER, L. S.; HAMIDOUCH, A.; KNOWLES, D. P.; GOFF W. L. Validation of a competitive enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosing *Babesia equi* infections of Moroccan origin and its use in determining the seroprevalence of *B. equi* in Morocco. **J Vet Diagn Invest**, v. 13, p. 249-251, 2001.