

1 **AVALIAÇÃO COMPARATIVA DE MÉTODOS DE ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO**
2 **PARA *THEILERIA EQUI* DE AMOSTRAS DE SORO EQUINO DO ESTADO DE**
3 **SÃO PAULO**

4
5 **COMPARATIVE EVALUATION OF METHODS OF IMMUNOENZYMATIC**
6 **ASSAY FOR *THEILERIA EQUI* OF SAMPLES OF EQUINE SERUM OF THE**
7 **STATE OF SÃO PAULO**

8
9 **A.C.Parra^{1*}, M.A. Piotto¹, C.R.Freschi², R.Z.Machado², W.R.Fernandes¹**

10
11 ¹ Departamento de Clínica Médica – FMVZ –USP, Av. Professor Orlando Marques Paiva, 87,
12 CEP 05508-270, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São
13 Paulo, Cidade Universitária, Butantã, São Paulo, SP, Brasil. Email: *acparra@usp.br

14 ² Departamento de Patologia Veterinária - UNESP – FCAVJ - Jaboticabal - SP

15
16 **RESUMO**

17 A presente pesquisa teve como objetivo comparar a sensibilidade e especificidade de dois
18 testes diagnósticos, um ELISA indireto e um ELISA competitivo, para *Theileria equi*, com a
19 finalidade de disponibilizar um teste alternativo para o diagnóstico da babesiose em rebanhos
20 equinos em território nacional. Foram avaliadas 168 amostras de soro equino (suspeitos ou
21 não para babesiose), com idade mínima de um ano, independente de sexo, raça e manejo. Os
22 testes foram realizados segundo especificações de cada fabricante. Os resultados obtidos
23 foram analisados estatisticamente pelo Teste do *Qui-quadrado*. A concordância entre os testes
24 foi de 97,2% entre os animais soropositivos (105 soropositivos no c-ELISA e 108
25 soropositivos no ELISA indireto) e 95,2% dos animais soronegativos (63 soronegativos no c-
26 ELISA e 60 soronegativos no ELISA indireto) . Não foram observadas diferenças
27 estatisticamente significativas entre os dois testes. Concluiu-se que o teste ELISA indireto
28 apresentou alta sensibilidade e especificidade para o diagnóstico de Babesiose por *Theileria*
29 *equi*.

30 Palavras-chave: *Babesia equi*, *Theileria equi*, Elisa indireto, ELISA competitivo, equinos.

31

32

33 **ABSTRACT**

34 The present research had as objective to compare the sensitivity and specificity of the tests of
35 indirect ELISA e competitive ELISA for *Theileria equi*, with purpose to evaluate an
36 alternative test for control of babesiose in equinos flocks in domestic territory. 168 samples of
37 equine serum had been evaluated (suspected or babesiosis does not stop), with minimum age
38 of one year, independent of sex, race and handling. The tests had been carried through
39 according to specifications of each manufacturer, following orientations of each one. The
40 gotten results had been analyzed statistical by the Test of the *Qui-quadrado*. As result,
41 agreement was observed enters the tests of 97,2% of soropositives animals (105 soropositivos
42 in c-ELISA and 108 soropositivos in the indirect ELISA) and 95.2% of the soronegatives
43 animals (63 soronegatives in c-ELISA and 60 soronegatives in the indirect ELISA). Statistical
44 significant differences between Indirect and competitive test ELISA for *Theileria equi* had not
45 been observed. It is concluded that indirect test ELISA showed high sensitivity and specificity
46 for the diagnosis of Babesiosis by *Theileria equi*.

47 Keywords: *Babesia equi*, *Theileria equi*, Indirect ELISA, Competitive ELISA, equine.

48

49 **INTRODUÇÃO**

50 Babesiose equina é uma doença causada por protozoários intraeritrocíticos, *Theileria*
51 *equi* e *Babesia caballi*, e que possui como principal transmissor os carrapatos (CRIADO-
52 FORNELIO et al, 2003). É uma das doenças de maior importância econômica no mercado
53 equino (MELHORN e SCHEIN 1998), sendo considerada a mais patogênica e a causa mais
54 consistente de hemoglobinúria e morte em equinos (ZAUGG e LANE, 1992).

55 A babesiose é uma doença cosmopolita, bastante encontrada nas áreas tropicais e
56 subtropicais do mundo, bem como em algumas regiões de clima temperado (DE WAAL,
57 1992). A ampla distribuição geográfica da babesiose equina está intimamente relacionada às
58 áreas de maior concentração dos seus vetores (FRIEDHOFF, 1998). Segundo Friedhoff et al.

59 (1990), é considerada emergente nos países subtropicais e está presente em áreas que abrigam
60 90% da população equina mundial.

61 Nos equinos infectados por *T. equi*, a doença se caracteriza por febre, anemia, icteícia,
62 hepatomegalia, esplenomegalia, hemoglobínúria e em alguns casos pode levar o animal a
63 morte (SCHEIN, 1998). No entanto, a maioria dos animais que se recuperam de uma infecção
64 aguda ou primária, são portadores do parasito por vários anos, tornando-se reservatórios para
65 os carrapatos vetores (CACCIO et al., 2000; KNOWLES, 1996). Além disso, a infecção por
66 *T. equi* pode ser suprimida por quimioterápicos, mas, não pode ser completamente eliminada
67 (DE WALL & VAN HEERDEN, 1994).

68 Os carrapatos desempenham importante papel na transmissão da babesiose equina. Na
69 América, os vetores de *T. equi* citados até o momento são *Dermacentor variabilis* e *Boophilus*
70 *microplus*, ambos identificados como transmissores experimentais (GUIMARÃES, 1998ab).
71 No Brasil, as principais espécies que parasitam os eqüídeos são *D. nitens* e *Amblyomma*
72 *cajennense*. No entanto, experimentalmente, foi evidenciado que esses carrapatos são
73 incapazes de transmitir *T. equi* (STILLER & COAN, 1995). Estudos mais recentes
74 demonstram a importância do *B. microplus* como parasito de equinos (GUIMARÃES et al.,
75 1998ab; BATTSETSEG et al., 2002) e indicam a sua importância como transmissor natural
76 de *T. equi* e *B. caballii*. Guimarães et al. (1998ab) concluíram, experimentalmente, que o *B.*
77 *microplus* pode funcionar como vetor natural de *T. equi*, uma vez que os esporozoítos são
78 capazes de completar seu desenvolvimento nesse carrapato, que por sua vez, pode transmitir o
79 parasito para outro hospedeiro. A transmissão do parasito também pode ocorrer através de
80 instrumentos veterinários (FARIAS, 2001) e por via transplacentária. RONCATI (2006)
81 avaliou 50 potros (machos e fêmeas) e suas respectivas mães, logo após o parto, utilizando as
82 técnicas de *Real Time* PCR e c-ELISA (ensaio imunoenzimático competitivo - VRMD®), e

83 concluiu que 46% das éguas apresentaram resultado positivo para *Theileria equi* e 73% dos
84 potros positivos nasceram de mães positivas.

85 A piroplasmose pode causar redução de rendimento atlético, abortamento, infecções
86 agudas e morte dos animais acometidos. Além disso, há de se considerar os prejuízos
87 econômicos decorrentes de dificuldade de comercialização (importação e exportação) e a
88 proibição de participação em competições internacionais de animais soropositivos. A morte e
89 a ocorrência de infecção aguda secundária não são tão comuns em áreas endêmicas, mas
90 podem ocorrer quando da reagudização dos quadros crônicos, principalmente em função do
91 estresse ou de doença concomitante (WALL, 1992; BARBOSA et al., 1995; FARIAS, 2001;
92 NAGORE et al., 2004)

93 A transmissão de *Theileria* é usualmente influenciada por dinâmicas das populações
94 de vetores (carrapatos) que são diretamente influenciadas por condições climáticas. Países
95 com grande extensão territorial como o Brasil possuem grande variação climática, o que pode
96 favorecer em algumas áreas, métodos de controle de vetores adequados (HEIM et al., 2007).
97 A maioria das lesões causadas pela *T.equi* são devidas à estase de hemácias situadas em
98 capilares de vários órgãos, determinando a disfunção dos mesmos, enquanto a infecção aguda
99 pode promover hemólise intensa e morte do animal por hipóxia anêmica (FARIAS, 2001). O
100 método diagnóstico para detecção e identificação destes parasitas, mais utilizado no meio
101 equino, consiste exame microscópico de esfregaço sanguíneo, método menos sensível devido
102 a dificuldade da observação do parasito em casos dos animais que apresentem baixa
103 parasitemia, e mesmo em casos agudos no início da doença. Outros métodos de diagnóstico
104 são: teste de fixação de complemento (CFT) e o teste indireto do anticorpo fluorescente
105 (IFAT) que podem ser úteis para detectar infecções antigas, mas reações cruzadas entre
106 espécies já foram relatadas (Bruning, 1996). Atualmente, o método diagnóstico para a
107 Babesiose equina, tanto por *Theileria equi* como para *Babesia caballi* é o ELISA competitivo

108 (c-ELISA). Esse KIT diagnóstico comercial foi desenvolvido nos EUA, utilizando cepas
109 isoladas na região, e é recomendado pela OIE (Organização Internacional de Epizootias –
110 Organização Mundial de Saúde Animal), mostrando ser o teste padrão para trânsito
111 internacional de equinos (LNIV, 2009). O ensaio imunoenzimático competitivo (c - ELISA)
112 tem como princípio o bloqueio da atividade de uma enzima previamente marcada, na qual
113 amostras suspeitas (com ou sem anticorpos específicos) são desafiadas em um recipiente com
114 antígenos específicos. Caso essas amostras possuam anticorpos, estes irão ligar-se aos
115 antígenos, bloqueando estes epítomos, inibindo a ligação das enzimas-marcadas. Quanto mais
116 anticorpos presentes na amostra testada, menor será a coloração da reação. Outra técnica é o
117 ensaio imunoenzimático indireto (iELISA) que dá-se pelo princípio do anticorpo presente na
118 amostra ser envolvido entre o antígeno que reveste a placa experimental e uma enzima-
119 marcada. A adição de uma enzima reagente substrato-cromogênica promove uma cor ao ligar-
120 se ao conjugado antígeno-anticorpo. A coloração produzida na reação é diretamente
121 proporcional a quantidade de anticorpos presentes na amostra suspeita (IDEXX Laboratories
122 2007). As técnicas da biologia molecular, como PCR (*polimerase chain reaction* – reação em
123 cadeia polimerase) provaram ser muito úteis para a detecção e a identificação de muitas
124 espécies de hemoparasitas como do grupo de *Theileria/Babesia* (CACCIO et al, 2000). Estes
125 métodos são baseados em ensaios espécie-específico, que alvejam principalmente o gene do
126 rRNA 18S (SPARAGANO, 1999), mas protocolos específicos da amplificação são
127 necessários para cada espécie, mostrando serem mais específicos, quando comparados a
128 técnicas sorológicas e exame direto de esfregaço sanguíneo.

129 O presente trabalho teve como objetivo avaliar dois testes imunoenzimáticos, um que
130 utiliza como antígeno a proteína recombinante EMA1 (c-ELISA) e o outro antígenos solúveis
131 totais (ELISA indireto), analisando sensibilidade e especificidade dos testes, visto que c-
132 ELISA utiliza-se anticorpos monoclonais, o que o torna mais específico. E ainda verificar se o

133 kit ELISA indireto pode ser utilizado como técnica de rotina para controle de babesiose em
134 rebanho nacionais.

135

136

MATERIAL E MÉTODOS

137 Foram utilizadas 168 amostras de soro equino (suspeitos ou não para babesiose), com
138 idade mínima de 1 ano, independente de sexo, raça e manejo. Desse total, 82 amostras foram
139 colhidas mediante atendimento no Setor de Equinos do Hospital Veterinário da Faculdade de
140 Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e as outras 86 amostras de
141 animais provenientes de propriedades localizadas no Estado de São Paulo. As amostras foram
142 colhidas por venopunção, com a utilização de tubos estéreis a vácuo (sistema de
143 vacuntainer®) com gel ativador de coágulo, para obtenção de soro. Após colheita elas foram
144 centrifugadas, acondicionadas em microtubos identificados e armazenadas a -20°C para
145 posterior análise.

146 As amostras de soro colhidas foram testadas utilizando o kit c-ELISA (ensaio
147 imunoenzimático competitivo, VMRD® – Pullman, WA, USA) e ELISA indireto
148 (BALDANI et al, 2004).

149 Para realização do ensaio c-ELISA, tanto os soros a serem testados como os soros
150 controles (positivo e negativo) foram diluídos com solução tampão (PBS – Tampão fosfato
151 salino) na proporção 1:2. Destas soluções, foi transferido para cada poço da placa-teste, já
152 sensibilizada com antígeno específico, 50µl de cada amostra. Incubou-se a placa por 30
153 minutos em temperatura ambiente. Foram realizadas três lavagens da placa com solução
154 própria para lavagem. Após obtenção da placa lavada e seca, houve adição de 50µl de
155 anticorpo primário em cada poço e incubação da placa por 30 minutos em temperatura
156 ambiente. Foram realizadas três lavagens da placa e secagem da mesma. Houve adição de
157 50µl do anticorpo secundário em cada poço e incubação da placa por 30 minutos em

158 temperatura ambiente. Foram realizadas três lavagens da placa e secagem. Houve adição de
159 50µl de substrato em cada poço e incubação da placa por 15 minutos em temperatura
160 ambiente, protegida de luz. Após a incubação, foi adicionado 50µl de solução *stop* em cada
161 poço e realizada a leitura da placa em leitora de microplaca para ensaio imunoenzimático, no
162 comprimento de onda de 630 nm.

163 O ELISA indireto foi realizado conforme metodologia descrita por Baldani et al.
164 (2004). Resumidamente, a placa foi sensibilizada com 10 µg/mL de antígeno bruto de *T. equi*
165 diluído em tampão carbonato-bicarbonato (pH 9,6). Após incubação “overnight” a 4°C, o
166 excesso de antígeno foi removido por três lavagens em PBS Tween 80 (pH 7,4). A placa foi
167 bloqueada com PBS Tween 80, acrescido de 6% de leite em pó desnatado e incubada a 37°C
168 por 90 minutos. Os anticorpos não ligados foram removidos por lavagens como descrito
169 acima. Cem microlitros de conjugado anti-IgG equino, diluído conforme preconizado pelo
170 fabricante (Sigma Chemical Co.), foi adicionado a cada poço, seguindo-se nova incubação a
171 37°C por 90 minutos. A placa foi lavada e o substrato apropriado (p-nitrofenilfosfato - pNPP)
172 foi adicionado. Após 30 minutos de incubação em temperatura ambiente, a leitura da reação
173 foi realizada em leitor de microplacas de ELISA, a um comprimento de onda de 405 nm.

174

175

RESULTADOS E DISCUSSÃO

176 Das 168 amostras de soro equino analisadas, 63 foram negativas pelo c-ELISA
177 (VRMD®) e 60 foram negativas pelo ELISA indireto, como mostrado no quadro 1.

178 No c-ELISA 37,5% (63/168) dos animais foram soronegativos para *T. equi*, enquanto,
179 35,7% (60/168) se mostraram soronegativos pelo ELISA indireto, o que mostra uma
180 concordância de 96,7% entre os testes em questão. Esses dados corroboram com os achados
181 de Baldani et al. (2004) que demonstraram alta sensibilidade do ELISA indireto, indicando
182 que este teste pode ser apropriado para estudos epidemiológicos no Brasil. Asenzo et al.

183 (2008), comparando o ELISA indireto desenvolvido pelo Centro de Pesquisas Veterinárias da
184 Argentina com o c-ELISA (VRMD®), demonstraram uma especificidade de 99,5% em
185 ambos os testes.

186 Na presente pesquisa, os resultados observados demonstram uma concordância entre
187 os testes de 97,2% dos animais soropositivos e de 95,2% dos animais soronegativos para *T.*
188 *equi*, o que mostra que o ELISA indireto é tão sensível como o c-ELISA (*Standard test*
189 *segundo OIE – World Organisation for Animal Health*) no diagnóstico de theileirose em
190 equinos.

191 Os valores obtidos entre os métodos diagnósticos foram submetidos ao Teste de *Qui*
192 quadrado (X^2), o qual não demonstrou diferença significativa entre eles, evidenciando a
193 confiabilidade do ELISA Indireto comparado ao ELISA competitivo, o qual é recomendado
194 pela OIE (Organização Mundial de Saúde Animal) (LNIV, 2009).

195 As babesioses equinas, causadas por *Theileria equi* e *Babesia caballi*, são
196 enfermidades sanguíneas de grande importância na Medicina Veterinária, acometendo várias
197 espécies animais principalmente equinos (MUNDIM et al., 2008), são endêmicas em muitas
198 regiões do mundo e apresentam alta prevalência (TEGLAS et al., 2005).

199 Em rebanhos equinos, a piroplasmose promove consideráveis perdas econômicas,
200 tanto em relação aos gastos relacionados a tratamento e manutenção dos animais, como
201 também, prejudicando o treinamento e acondicionamento de importantes e valiosos animais
202 atletas (FRIEDHOFF, 1988).

203 O estudo realizado demonstrou que os métodos diagnósticos para *Theileria equi*
204 empregados neste estudo, ELISA competitivo e ELISA indireto, não apresentaram diferenças
205 estatisticamente significativas, mostrando que a produção de anticorpos foi suficiente para ser
206 detectadas em ambos os testes.

- 239 BATTSETSEG, B. et al. Detection of natural infection of *Boophilus microplus* with *Babesia*
240 *equi* and *Babesia caballi* in Brazilian horses using nested polymerase chain reaction. Vet.
241 Parasitol., v. 107, n. 4, p. 351-357, 2002.
242
- 243 BRUNING, A., 1996. Equine piroplasmosis an update on diagnosis. Br. Vet. J. 152, 139–151.
244
- 245 CACCIO, S., CAMMA, C., ONUMA, M., SEVERINI, C. The beta-tubulin gene of *Babesia*
246 and *Theileria* parasites is an informative marker for species discrimination. Int. J. Parasitol.
247 30, 1181–1185. 2000.
248
- 249 CRIADO-FORNELIO, A.; MARTINEZ-MRCOS, A.; BULING-SARANA, A.; BARBARA-
250 CARRETERO, J.C. Molecular studies on *Babesia*, *Theileria* and hepatozoon in Southern
251 Europe: part I. Epizootiological aspects. Veterinary Parasitology. v. 113, p.189-201. 2003.
252
- 253 CUNHA, C.W. Babesiose equina: Padronização da reação de imunofluorescência para
254 sorodiagnóstico e levantamento epidemiológico em equinos Puro Sangue Inglês.
255 Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 1993.
256
- 257 DE WAAL, D.T. Equine piroplasmosis: a review. Br. Vet. J., v. 148, p. 6-14, 1992.
258
- 259 DE WAAL, D. T.; HEERDEN, J. V. Equine babesiosis. In: JAW, C., THOMSON, G. R.,
260 TUSTIN, R. C. (Ed.). Infectious diseases of livestock with special reference to South
261 Africa. vol. 1. Oxford: University Press, 1994. p. 293-304.
262
- 263 FALCE, H.C.; FLECHTMANN, C.H.W.; FERNADEZ, B.C. Ixodidaede (Acari) on horses,
264 mules and asses in the state of Paraná, Brazil. Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e
265 Zootecnia da Universidade de São Paulo. v. 20. p.103-106. 1983.
266
- 267 FARIAS, N. A babesiose equina. In: Riet-Correa, F; Schild, A.L.; Mendez, M.D.C.; Lemos,
268 R.A.A. Doenças de Ruminantes e equinos . São Paulo: Livraria Varela, v.2, p.42-7. 2001.
269
- 270 FREIRE, J.J. Revisão das espécies da Família Ixodidae. Revista Medicina Veterinária, v.8.
271 p.1 – 16. 1972.
272
- 273 FRIEDHOFF, K.T. Transmition of *Babesia*. In: _ Babesiose in domestics animals and man.
274 Boca Raton. Florida, C.R.C press. 1988. p.23 – 52.
275
- 276 FRIEDHOFF, K.T.; TENTER, A.M.; MULLER, I. Haemoparasites of equines: impact on
277 international trade horses. Vet. Scientif. Tech., v. 9, p. 1187-1194, 1990.
278
- 279 HEIM, A.; PASSO, L.M.F.; RIBEIRO, M.F.B.; COSTA-JUNIOR, L.M.; BASTOS, C.V.;
280 CABRAL, D.D.; HIRZMANN, J.; PFISTER, K. Detection and molecular characterization of
281 *Babesia caballi* and *Theileria equi* isolates from endemic areas of Brazil. Parasitology
282 Research , v.102, p. 63-68. 2007
283
- 284 GUIMARÃES, A.M.; LIMA, J.D.; RIBEIRO, M.F.B. Sporogony and experimental
285 transmission of *Babesia equi* by *Boophilus microplus*. Parasitology research. v. 84. p.323-327.
286 1998a.
287

- 288 GUIMARÃES, A.M. et al. Ultrastructure of sporogony in *Babesia equi* in salivary glands of
289 adult female *Boophilus microplus* ticks. Parasitol. Res., v. 84, n. 1, p. 69-74, 1998b.
290
- 291 IDEXX Laboratories. <http://www.idexx.com/production/elisa/> . Acesso em 14 de fevereiro de
292 2011.
293
- 294 KNOWLES, D.P. Control of *Babesia equi* parasitemia. Parasitol. Res., v. 12, p. 195-198,
295 1996.
296
- 297 LNIV. Laboratório Nacional de Investigação Veterinária. [http://www.lniv.min-](http://www.lniv.min-agricultura.pt/PresentationLayer/lniv_conteudoAgregador.aspx?itemMenu=160&menuID=160)
298 [agricultura.pt/PresentationLayer/lniv_conteudoAgregador.aspx?itemMenu=160&menuID=16](http://www.lniv.min-agricultura.pt/PresentationLayer/lniv_conteudoAgregador.aspx?itemMenu=160&menuID=160)
299 [0](http://www.lniv.min-agricultura.pt/PresentationLayer/lniv_conteudoAgregador.aspx?itemMenu=160&menuID=160) . Acesso em 12 de maio de 2009.
300
- 301 MELHORN, H.; SCHEIN, E. Redescription of *Babesia equi* Laveran, 1901 as *Theileria equi*
302 Melhorn, Schein. Parasitology Research, v.84, p.467-475. 1998.
303
- 304 MUNDIM, E.C.S.; FRANCISCO, M.M.S.; SOUZA, J.N.; ALENCAR, M.A.G.; RAMALHO,
305 P.C.D. Incidência de hemoparasitoses em cães (*Canis familiares*) capturados em rua pelo
306 Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) da cidade de Anápolis – GO. Ensaios e ciência:
307 Ciências biológicas, agrárias e da saúde. Vol.XII, n.2. Ano 2008.
308
- 309 NAGORE, D.; GARCIA-SANMARTIN, J.; GARCIA-PEREZ, A.L.; JUSTE, R.A.;
310 HURTADO, A. Detection and identification of equine *Theileria* and *Babesia* species by
311 reverse line blotting: epidemiological survey and phylogenetic analysis. Veterinary
312 Parasitology, v.123, p. 41-54, 2004.
313
- 314 RONCATI, N.W. Ocorrência de *Theileria equi* congênita em potros Puro Sangue Lusitano no
315 Brasil, diagnosticada através da técnica de RT – PCR. Tese (doutorado). Universidade de
316 São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootécnica. Departamento de Clínica
317 Médica. 69.f. 2006
318
- 319 SCHEIN, E. Equine babesiosis. In: RISTIC, M. (Ed.). Babesiosis of domestic animals and
320 man. Boca Raton: CRS Press, 1998. p. 197-208.
321
- 322 SPARAGANO, O. Molecular Diagnosis of *Theileria* and *Babesia* species. J. Veterinary
323 Parasitology. v.13, p.83–92.1999.
324
- 325 STILLER, D.; COAN, M.E. Recent developments in elucidating tick vector relationship for
326 anaplasmosis and equine piroplasmosis. Vet. Parasitol., v. 57, p. 97-108, 1995.
327
- 328 TEGLAS M.; MATERN E.; LEIN S.; FOLEY P.; MAHAN S.M.; FOLEY J. Ticks an tick-
329 borne disease in Guatemalan cattle and horses. Veterinary Parasitology. v.131 (2005), 119 –
330 127.
- 331 WALL, D.T. Equine piroplasmosis: a review. British Veterinary Journal. v.148, p.06 – 14.
332 1992.
333
- 334 ZAUGG, J.L.; LANE, V.M. Efficacy of buparvaquone as a therapeutic and clearing agent of
335 *Babesia equi* of European origin in horses. American Journal veterinary Research, v.53,
336 p.1396 – 1399. 1992.
337

338 **Quadro 1:** Resultados dos testes c – ELISA (ensaio imunoenzimático competitivo -
 339 VMRD®) e ELISA indireto (ensaio imunoenzimático indireto, (BALDANI et al.,
 340 2004)) para *Theileria equi* em soro de equinos do Estado de São Paulo, 2012.
 341

		ELISA indireto		
		+	-	Total
c - ELISA	+	103 (61,3%)	2(1,19%)	105 (62,5%)
	-	5 (2,9%)	58 (34,5%)	63 (37,5%)
Total		108 (64,2%)	60 (35,7%)	168 (100%)

342
 343
 344
 345
 346
 347
 348
 349
 350
 351
 352
 353
 354
 355
 356
 357
 358
 359
 360
 361
 362
 363