

EFEITO DA MIELOENCEFALITE EQUINA POR PROTOZOÁRIO (MEP) E/OU O TRATAMENTO COM DARAPRIM® E TRIBRISSEM® SOBRE A MOTILIDADE E CONCENTRAÇÃO ESPERMÁTICA DE UM GARANHÃO DA RAÇA ÁRABE

EFFECT OF EQUINE PROTOZOAL MYELOENCEPHALITIS (EPM) AND/OR TREATMENT WITH DARAPRIM® AND TRIBRISSEM® ON SPERM MOTILITY AND CONCENTRATION OF AN ARABIAN STALLION

EFFECTO DE LA MIELOENCEFALITIS PROTOZOARIA EQUINA (EPM) Y/O TRATAMIENTO CON DARAPRIM® Y TRIBRISSEM® SOBRE LA MOTILIDAD Y CONCENTRACIÓN DE LOS ESPERMATOZOIDES DE UN SEMENTAL ÁRABE

 <https://doi.org/10.56238/arev7n7-002>

Data de submissão: 01/06/2025

Data de publicação: 01/07/2025

José Frederico Straggiotti Silva
Doutor em Medicina Veterinária
Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro
E-mail: straggio@uenf.br
Lattes: 1845406575748415

Sérgio Aguiar de Barros Vianna
Doutor em Produção Animal
Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro
E-mail: vianna@uenf.br

Francisco Carlos Rodrigues de Oliveira
Doutor em Ciências Veterinárias(URRRJ)
Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro
Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brasil
E-mail foliveira@uenf.br

Júlia Eller Pedretti
Graduanda em medicina veterinária
Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF)
Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brasil
E-mail: 20211300030@pq.uenf.br

Paulo Roberto de Oliveira Almeida Filho
Graduado em Medicina Veterinária
Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF)
Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brasil
E-mail: betoalmeida3x@gmail.com

RESUMO

Mieloencefalite Equina por Protozoário (MEP) é uma patologia neurológica causada pela migração do protozoário *Sarcocystis neurona* (falcatula) no Sistema Nervoso Central (SNC). A MEP é

frequentemente uma doença progressivamente debilitante que afeta o SNC dos cavalos. Sinais clínicos variam de agudos a crônicos, com início insidioso de sinais focais ou multifocais de doença neurológica envolvendo o cérebro e/ou medula espinhal, resultando em um envolvimento difuso e assimétrico do SNC. Os primeiros sinais da doença, como tropeços e batidas frequentes entre os membros podem ser facilmente confundidos com claudicação. Os cavalos afetados com MEP geralmente experimentam uma progressão gradual na gravidade e variedade de sinais clínicos, incluindo ataxia. O tratamento inclui a administração de trimethoprim-sulfamethoxazole ou sulfadiazine e pyrimethamine (TMS-Pyr). Na criação equina evidências empíricas sugerem a possibilidade de efeitos adversos dos medicamentos TMS-Pyr na qualidade do sêmen, comportamento sexual e função ejaculatória. O objetivo deste relato foi o de evidenciar e avaliar o efeito da patologia/tratamento nas características seminais, comportamento sexual e função ejaculatória de um garanhão acometido de MEP.

Palavras-chave: Mieloencefalite Eqüina por Protozoário. Garanhão. Sarcocystis neurona. Sêmen.

ABSTRACT

Equine Protozoal Myeloencephalitis (EPM) is a neurological pathology caused by the migration of the protozoan *Sarcocystis neurona* (falcipula) into the Central Nervous System (CNS). EPM is often a progressively debilitating disease affecting the CNS of horses. Clinical signs range from acute to chronic, with an insidious onset of focal or multifocal signs of neurological disease involving the brain and/or spinal cord, resulting in diffuse and asymmetrical involvement of the CNS. Early signs of the disease, such as frequent stumbling and flapping of the limbs, can be easily confused with lameness. Horses affected with EPM usually experience a gradual progression in the severity and variety of clinical signs, including ataxia. Treatment includes administration of trimethoprim-sulfamethoxazole or sulfadiazine and pyrimethamine (TMS-Pyr). In equine breeding, empirical evidence suggests the possibility of adverse effects of TMS-Pyr on semen quality, sexual behavior and ejaculatory function. The objective of this report was to demonstrate and evaluate the effect of the pathology/treatment on seminal characteristics, sexual behavior and ejaculatory function of a stallion affected by MEP.

Keywords: Equine Protozoal Myeloencephalitis. Stallion. *Sarcocystis neurona*. Semen.

RESUMEN

La mieloencefalitis protozoaria equina (MPE) es una patología neurológica causada por la migración del protozoo *Sarcocystis neurona* (falcipula) al sistema nervioso central (SNC). La MPE es una enfermedad que debilita progresivamente el SNC de los caballos. Sus signos clínicos varían de agudos a crónicos, con un inicio insidioso de signos focales o multifocales de enfermedad neurológica que afectan el cerebro y/o la médula espinal, lo que resulta en una afectación difusa y asimétrica del SNC. Los primeros signos de la enfermedad, como los frecuentes tropiezos y aleteo de las extremidades, pueden confundirse fácilmente con cojera. Los caballos afectados por MPE suelen experimentar una progresión gradual en la gravedad y variedad de los signos clínicos, incluyendo ataxia. El tratamiento incluye la administración de trimetoprima-sulfametoxazol o sulfadiazina y pirimetamina (TMS-Pyr). En la cría equina, la evidencia empírica sugiere la posibilidad de efectos adversos de TMS-Pyr en la calidad del semen, el comportamiento sexual y la función eyacularia. El objetivo de este informe fue demostrar y evaluar el efecto de la patología/tratamiento en las características seminales, el comportamiento sexual y la función eyacularia de un semental afectado por MEP.

Palabras clave: Mieloencefalitis Protozoaria Equina. Semental. *Sarcocystis neurona*. Semen.

1 INTRODUÇÃO

Mieloencefalite eqüina por protozoário (MEP) é uma patologia neurológica causada pela migração do protozoário *Sarcocystis neurona (falcatula)* no Sistema Nervoso Central (SNC). Sinais clínicos resultam de um envolvimento difuso e assimétrico do SNC. Frequentemente, nenhum diagnóstico *ante morte* pode confirmar esta patologia. O tratamento inclui a administração de trimethoprim-sulfamethoxazole ou sulfadiazine e pyrimethamine (TMS-Pyr). Na criação equina evidencias empírica sugerem a possibilidade de efeitos adversos dos medicamentos TMS-Pyr na qualidade do sêmen, comportamento sexual e função ejaculatória. Em camundongos e macacos verificou-se que o tratamento com pyrimethamine reduziu o peso dos testículos, além de reduzir a quantidade dos espermatozoides e a fertilidade. Decisões em relação ao tratamento terapêutico e profilático de garanhões valiosos deverão basear-se num conhecimento dos efeitos colaterais potenciais de tais drogas. O objetivo deste relato foi o de avaliar o efeito da patologia/tratamento nas características seminais, comportamento sexual e função ejaculatória de um garanhão acometido de MEP.

2 REFERÊNCIAL TEÓRICO

A MEP é frequentemente uma doença progressivamente debilitante que afeta o SNC dos cavalos. Sinais clínicos variam de agudos a crônicos, com início insidioso de sinais focais ou multifocais de doença neurológica envolvendo o cérebro e/ou medula espinhal (MACKAY; HOWE 2022).

Os cavalos afetados podem inicialmente exibir sinais incomuns, como disfagia, evidência de vias aéreas superiores anormais claudicação incomum ou atípica, ou mesmo convulsões (DUNIGAN *et al.*, 1995).

Cavalos gravemente afetados podem ter dificuldade para ficar em pé, andar ou engolir e a doença pode progredir muito rapidamente. Em outros casos, os sinais clínicos parecem se estabilizar, apenas para recidivar dias ou semanas depois. A variabilidade dos sinais clínicos deve-se à capacidade do parasita de infectar tanto a massa branca quanto a cinzenta de forma aparentemente aleatória em vários locais ao longo de todo o SNC. Os sinais de envolvimento da substância cinzenta incluem atrofia muscular focal e grave fraqueza muscular, enquanto danos à substância branca frequentemente resultam em ataxia e fraqueza nos membros caudais ao local do dano (MACKAY; HOWE 2022).

Os primeiros sinais da doença, como tropeços e batidas frequentes entre os membros podem ser facilmente confundidos com claudicação. Os cavalos afetados com MEP geralmente experimentam uma progressão gradual na gravidade e variedade de sinais clínicos, incluindo ataxia.

Em alguns casos, no entanto, o início gradual pode dar lugar a uma exacerbação súbita na gravidade da doença clínica, resultando em decúbito (MACKAY; HOWE 2022).

Os sinais vitais nos cavalos afetados são geralmente normais e os animais parecem alerta. Alguns cavalos com MEP podem parecer magros e levemente obnubilados. Exame neurológico frequentemente revela ataxia assimétrica, comprimento assimétrico da passada, particularmente nos membros pélvicos e fraqueza envolvendo um ou todos os membros (MACKAY; HOWE 2022).

Áreas de hiporreflexia, hipoanalgesia, ou perda sensorial completa podem ser encontradas. Os sinais mais comumente observados de doença cerebral incluem os sinais primários do tronco encefálico de obnubilação, inclinação da cabeça, paralisia nervosa e dificuldade em engolir (MACKAY; HOWE 2022).

As anormalidades da marcha resultam mais frequentemente de lesões na medula espinhal e pode ser variável em gravidade, dependendo da localização e extensão dos danos nos tecidos. A MEP deve sempre ser considerada em qualquer cavalo que apresente sinais de doença do SNC. Os cavalos que apresentem tais sinais devem ser submetidos a um exame neurológico completo e exames laboratoriais apropriados realizados para apoiar um diagnóstico de MEP e para excluir outros diagnósticos prováveis. Os testes laboratoriais devem ser considerados auxiliares e não um substituto para um exame clínico aprofundado. Em muitos casos de MEP, há assimetria da marcha e atrofia muscular focal; quando presente, a MEP deve estar no topo da lista de possíveis causas. Esta combinação de sinais provou ser uma característica distintiva muito útil da doença e é útil na diferenciação clínica da MEP de condições neurológicas semelhantes que afetam o cavalo (MACKAY; HOWE 2022).

A MEP ocorre apenas em uma pequena proporção de cavalos infectados com *S. neurona* ou *N. hughesi* (NAHMS 2001). Como consequência, a simples detecção de anticorpos contra esses parasitas tem valor diagnóstico mínimo. Mesmo a presença de anticorpos no fluido cefalorraquidiano não é um indicador definitivo de MEP, uma vez que existe uma transferência passiva normal de anticorpos através da barreira hematoencefálica intacta (FURR, 2002). Por isso o teste de imunodiagnóstico foi evitado por muitos anos por alguns médicos veterinários devido à falta de confiança em seus resultados. O imunodiagnóstico da MEP melhorou muito nos últimos anos devido ao desenvolvimento ensaios semiquantitativos e a utilização de metodologias diagnósticas que detectam a produção intratecal de anticorpos protozoários específicos, indicativos de infecção ativa por protozoários no SNC (MACKAY; HOWE 2022).

O coeficiente de *Goldmann-Witmer* (valor C) e o índice de anticorpos específicos do antígeno (IA) são testes de proporcionalidade que avaliam se há uma quantidade maior de anticorpos

específicos do patógeno no fluido cefalorraquidiano do que teria devido à transferência passiva normal através da barreira hematoencefálica. Aplicação destes ensaios a um conjunto amostral de 29 casos clínicos demonstrou o valor desta metodologia para diagnóstico preciso de MEP (FURR *et al.*, 2011).

Além disso, muitos casos de MEP têm títulos de anticorpos no fluido cefalorraquidiano que excedem em muito, o que estaria presente devido à transferência passiva através da barreira hematoencefálica. Dois estudos examinando uma grande quantidade de cavalos com doença neurológica demonstraram que uma simples proporção de títulos de *S. neurona* no soro do fluido cefalorraquidiano foi suficiente para produção de anticorpos intratecais e um diagnóstico preciso da MEP causada por *S. neurona* (JOHNSON *et al.*, 2013; REED *et al.*, 2013).

O *Western blot* é o padrão-ouro para detecção de anticorpos contra esse parasita (HOANE *et al.*, 2005).

Uma das terapias iniciais para o tratamento de MEP foi uma combinação de sulfadiazina e pirimetamina (SDZ/PYR), que bloqueiam sucessivas etapas da síntese de folato do protozoário. As combinações de sulfonamida/pirimetamina têm sido usadas há muito tempo no tratamento doenças apicomplexas e constituíram as primeiras abordagens terapêuticas para MEP. Nessas combinações, sulfonamidas/sulfadiazina e pirimetamina atuam inibindo sequencialmente a síntese de tetrahidrofolato e, portanto, purina, pirimidina e síntese de ácidos nucleicos (MACKAY; HOWE 2022). Quando ambas as substâncias estão presentes juntas no parasita, em concentrações inibitórias maiores do que as necessárias, suas ações combinadas são sinérgicas (LINDSAY; DUBEY 1999).

A sulfadiazina e a sulfonamida são ideais para uso em formulações de MEP devido à sua capacidade superior de manter concentrações efetivas de tecido do SNC (sistema nervoso central) (DIRIKOLU *et al.*, 2013). As terapias combinadas de sulfonamida/pirimetamina tiveram certas limitações. Para uma resposta sinérgica ideal, os níveis no SNC de ambos os medicamentos devem ser mantidos de forma consistente acima das concentrações inibitórias mínimas exigidas. No entanto, dadas as meias-vidas plasmáticas relativamente curtas desses compostos no cavalo, pode ser um desafio manter, consistentemente, concentrações no SNC plenamente eficazes contra estes agentes (BROWN *et al.*, 1983). Além disso, os esquemas de tratamento com essas combinações podem ser relativamente prolongadas, geralmente, na ordem de cerca de 90 dias, podendo ser significativamente mais longo (DIRIKOLU *et al.*, 2013).

O trabalho experimental com o FDA aprovou a formulação ReBalance que mostrou que a duração do tratamento de 90 dias produziu resultados clínicos de melhora de 2 ou mais graus na função neurológica em 60% a 70% dos pacientes tratados. No geral, parece que a taxa de sucesso do

tratamento com a sulfonamida/pirimetamina combinada foi na faixa de 60% a 70% dos animais tratados, com uma taxa de recidiva na ordem de 10% (REED; SAVILLE, 1996). Uma preocupação significativa com as combinações sulfonamida/pirimetamina é o seu potencial para reações adversas (WELSCH 1991).

Um regime posológico de PYR, 1 mg/kg, e SDZ, 20 mg/kg, administrado uma vez ao dia por via oral por pelo menos 6 meses tem sido considerado o tratamento "padrão" da MEP. Como o folato dietético pode interferir na absorção de diaminopirimidina, medicamentos como PYR (BOGAN et al., 1984) o feno não devem ser fornecido por 2 horas antes ou depois do tratamento.

O PYR administrado por via oral a cavalos a 1 mg/kg/d atinge uma concentração de aproximadamente 0,02 a 0,1 mg/mL no fluido cefalorraquidiano 4 a 6 h após a administração (CLARKE et al. 1992). Curiosamente, esses cavalos tiveram acesso livre ao feno da pradaria durante este estudo, potencialmente reduzindo a biodisponibilidade da droga (BOGAN et al., 1984).

Além disso, como o PYR está concentrado no tecido do SNC em relação ao plasma (CAVALLITO et al., 1978) a concentração no local de ação desejado pode ser de >0,1 mg/mL, significando que concentrações máximas de sulfonamida no fluido cefalorraquidiano após administração única ou múltipla (22–44 mg/kg) foram relatados como sendo de aproximadamente 2 a 8 mg/mL (BROWN et al., 2006; GREEN et al., 1990). A combinação de sulfadiazina e a pirimetamina está disponível como um produto aprovado pela FDA para o tratamento de MEP (ReBalance; PRN Farmacêutica). A pirimetamina tem efeitos colaterais adversos significativos, especialmente quando usada em altas doses, fora do padrão (WELSCH 1991).

As ações requeridas para combater o *S. neurona* podem dar origem a reações adversas no cavalo. Essas reações adversas geralmente estão diretamente relacionadas às suas ações inibitórias sobre o metabolismo da purina, pirimidina e ácidos nucleicos. As reações adversas às combinações sulfonamida/pirimetamina podem incluir anorexia, distúrbios intestinais, urticária e supressão da medula óssea. A supressão da medula óssea pode se manifestar como anemia, neutropenia e/ou trombocitopenia (WELSCH 1991).

A pirimetamina também é conhecida por ser teratogênica e, portanto, deve não ser usada em éguas prenhas e também existem preocupações semelhantes sobre seu uso em garanhões (TORIBIO et al., 1998; BEDFORD; MCDONNELL 1999).

Embora o trimetoprim tenha sido recomendado para uso junto com a pirimetamina, Esta combinação não é mais recomendada. Isso ocorre porque a pirimetamina é um inibidor substancialmente mais eficaz da diidrofolato redutase que o trimetoprima. A inclusão de trimetoprim

na formulação simplesmente atua para reduzir a eficácia do pirimetamina na inibição da diidrofolato redutase (DIRIKOLU *et al.*, 2013).

A toxicidade reflete efeitos diretos sobre a inibição da síntese de folato do paciente. Felizmente, os efeitos colaterais graves são raros, mas podem incluir potencialmente convulsões fatais e decúbito, distúrbios reprodutivos e neonatais, úlceras orais e sinais de supressão da medula óssea, incluindo leucopenia, neutropenia, anemia e trombocitopenia (MACKAY *et al.*, 2017; TORIBIO *et al.*, 1998). A pirimetamina é considerada teratogênica e causa abortos e nascimento em ratos tratados de crias malformadas (CHUNG *et al.*, 1993). Pelo menos quatro casos de síndrome fatal foram observados em potros recém-nascidos de éguas que receberam esses medicamentos durante os últimos estágios da gravidez (MACKAY; HOWE 2022).

Anti-inflamatórios não esteroides, como a flunixin meglumina, são, frequentemente, administrados a equinos moderadamente ou gravemente afetados durante os primeiros 3 a 7 dias de terapia antiprotozoário. No caso de cavalos que estão em perigo de queda ou exibem sinais de envolvimento cerebral recomenda-se o uso adicional de corticosteroides (0,1 mg/kg de dexametasona duas vezes diariamente) e dimetilsulfóxido (1 g/kg na forma de solução IV a 10% ou por sonda nasogástrica duas vezes diariamente) nos primeiros dias para controlar a resposta inflamatória e sinais clínicos. Como o SNC danificado é suscetível à lesão oxidativa utilizam-se comumente fármacos antioxidantes como a vitamina E (20 UI/kg por dia) durante todo o período de tratamento dos cavalos (MACKAY; HOWE 2022).

3 MATERIAL E MÉTODO

Foi acompanhado o caso de um garanhão da raça Árabe de cinco anos de idade no decorrer de seu tratamento quando acometido por MEP. Este garanhão era mantido em uma cocheira com piquete individual e sua alimentação consistia de pastoreio em capim Tifton e arraçoamento três vezes ao dia de quatro quilogramas de ração comercial.

A coleta de sêmen foi realizada através de vagina artificial (VA) modelo Botucatu e Hannover utilizando como parceira um manequim artificial modelo Celle. A temperatura interna da VA durante a coleta oscilou entre 42 a 45°C, sendo o volume de água utilizada na VA de 2 litros para o modelo Hannover e 2,5 para o modelo Botucatu.

Devido à progressão da sintomatologia de incoordenação motora do trem posterior foi utilizado, no decorrer das coletas, um protetor de cabeça acolchoado, além do apoio lateral do garanhão quando sobre o manequim por dois funcionários.

O sêmen coletado foi, imediatamente, conduzido ao laboratório para serem feitas análises de volume, concentração e motilidade. O volume foi determinado, após a filtração do sêmen em gaze estéril sem a porção gelatinosa, mediante a leitura em provetas pré-aquecidas ($\pm 37^{\circ}\text{C}$). Uma alíquota de 50 μL de sêmen foi colocada em 9,95 mL de formol-citrato e cuidadosamente homogeneizada para posterior preenchimento da câmara de Neubauer® determinando-se, então, a concentração espermática. A motilidade foi verificada em um microscópio contraste de fase num aumento de 400 vezes, após a colocação de uma gota de sêmen “in natura” de diâmetro de três milímetros entre lâmina e lamínula pré-aquecidas. Após o procedimento de análise de sêmen descrito, aquelas amostras com uma motilidade progressiva acima de 40% e uma concentração acima de 50 milhões/mL foram diluídas em Kenney (1975) para sua utilização imediata na inseminação artificial.

O tratamento da MEP foi, inicialmente, o tratamento convencional nas doses recomendadas pelos laboratórios de Tribbrissem® (Tribbrissem® 1 mL/30Kg P.V. = 14 mL/dia) e Daraprim® (Daraprim® 1 mg/Kg P.V. = 16 tablets/dia). Na recidiva do quadro da MEP aumentaram-se as dosagens para 24 tabletas/dia de Daraprim® e um volume de 30 mL de Tribbrissem®/dia e sua retirada gradual foi de um terço da dose por período até a cura do quadro de MEP.

4 DESCRIÇÃO DO CASO, RESULTADOS E DISCUSSÃO

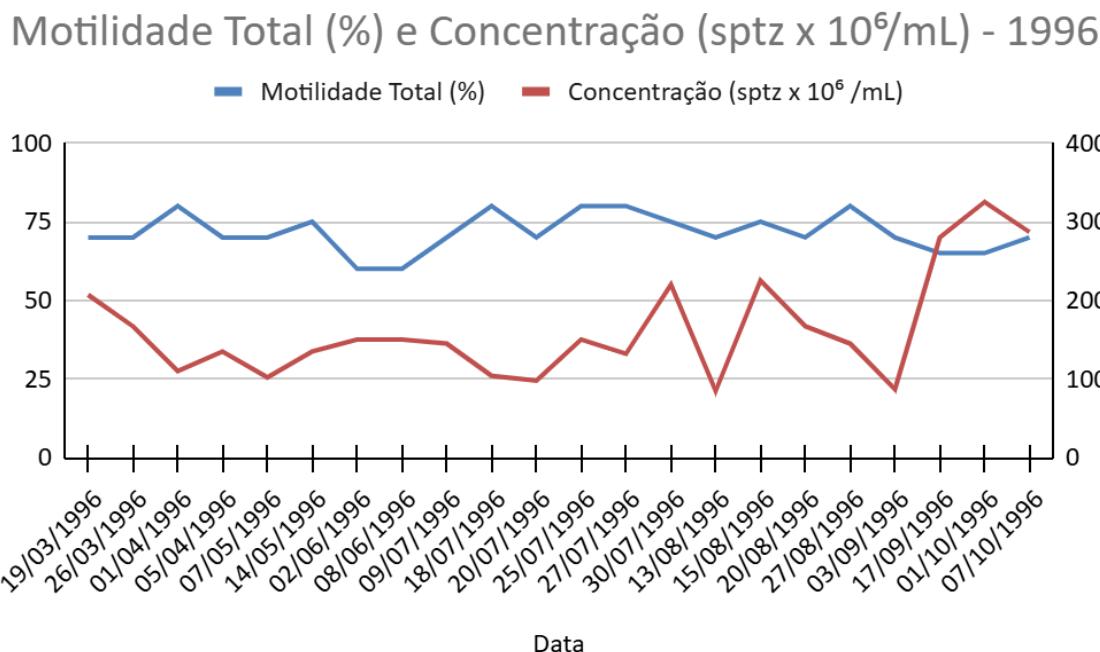
Ao longo do ano de 1996 pode-se observar que a qualidade do sêmen do garanhão estudado, que consta na Figura 1, mostra-se normal, com uma motilidade total em torno de 75% e uma concentração espermática em torno de 100 a 200 milhões de espermatozoides por mililitro (sptz/mL).

No início da primavera do ano de 1997 o garanhão foi encontrado em seu piquete coberto de terra e grama, possivelmente associado com a queda de um galho verificado dentro deste piquete. Não foram observadas lesões ou edemaciações em nenhum local do corpo do garanhão neste momento. Depois de decorrido duas semanas do incidente, o garanhão apresentava uma leve sintomatologia motora, isto é, estava puxando seu membro posterior direito. A partir de então, os sinais começaram a progredir, acentuando-se a movimentação anormal do trem posterior.

Os cascos posteriores, na passada, eram arrastados demonstrando uma passada hipométrica. O exame em picadeiro com areia profunda demonstrou sinal de fraqueza do trem posterior. Ao observar-se sua movimentação em círculo verificou-se hipermetria do membro posterior direito, estando o membro contra-lateral mais próximo do normal.

Ao fazer a volta quando puxado, em estação, o garanhão empregava diversos passos extras para fazer o giro no raio requerido, balançando seus membros e os colocando em uma posição anormal. No trote o andamento anormal era mais aparente.

Figura 1: Qualidade seminal normal de um garanhão da raça Árabe ao longo do ano de 1996 antes de ser acometido por Mieloencefalite por Protozoário (MEP) e ser tratado com Daraprim® e Tribbrissem®.



Fonte: Elaborado pelos autores.

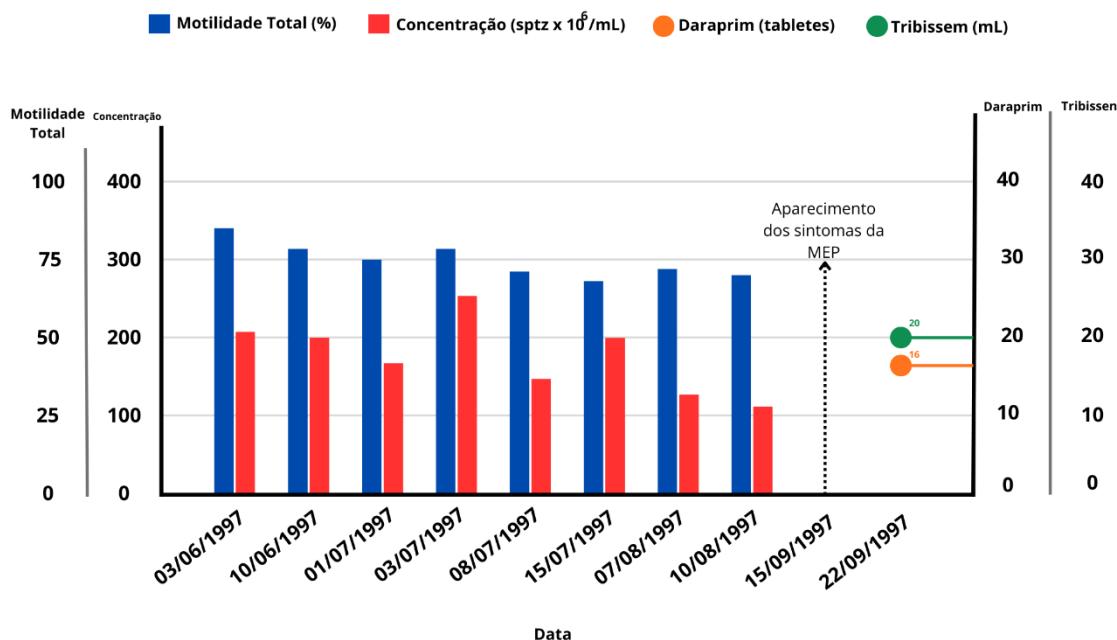
O garanhão no teste da cauda apresentou uma inabilidade acentuada de se manter em equilíbrio quando puxado para os lados. No teste de pastrar apresentou grande dificuldade de fazê-lo. Foi verificada uma grande atrofia da musculatura do grupo de músculos dos membros posteriores. Os membros anteriores não apresentaram problemas de postura e coordenação.

O garanhão após passar por exaustivos exames clínicos foi tratado para MEP com Daraprim® (16 tabletas), Tribbrissem® (20 mL) por um longo período e anti-inflamatório não esteroide por cinco dias a partir do dia 22 de setembro de 1997 (Figura 2).

Foi coletado fluido encéfalo raquidiano do garanhão e enviado para o laboratório *Equine Biognostics Inc.*, ligado a Universidade de Kentucky – USA. O resultado do teste para MEP foi recebido no dia 15 de outubro de 1998 e mostrou-se positivo no *Western Blot* e negativo para o PCR, ambos no fluido encéfaloraquidiano, demonstrando a exposição ao parasita *S. neurona* e uma provável doença ativa.

Figura 2: Qualidade seminal de um garanhão da raça Árabe ao longo do ano de 1997 ao ser acometido por Mieloencefalite por Protozoário (MEP) e ter-se iniciado o tratamento com Daraprim® e Tribrissem®.

Motilidade Total e Concentração Espermática e sua relação com o tratamento para MEP - 1997

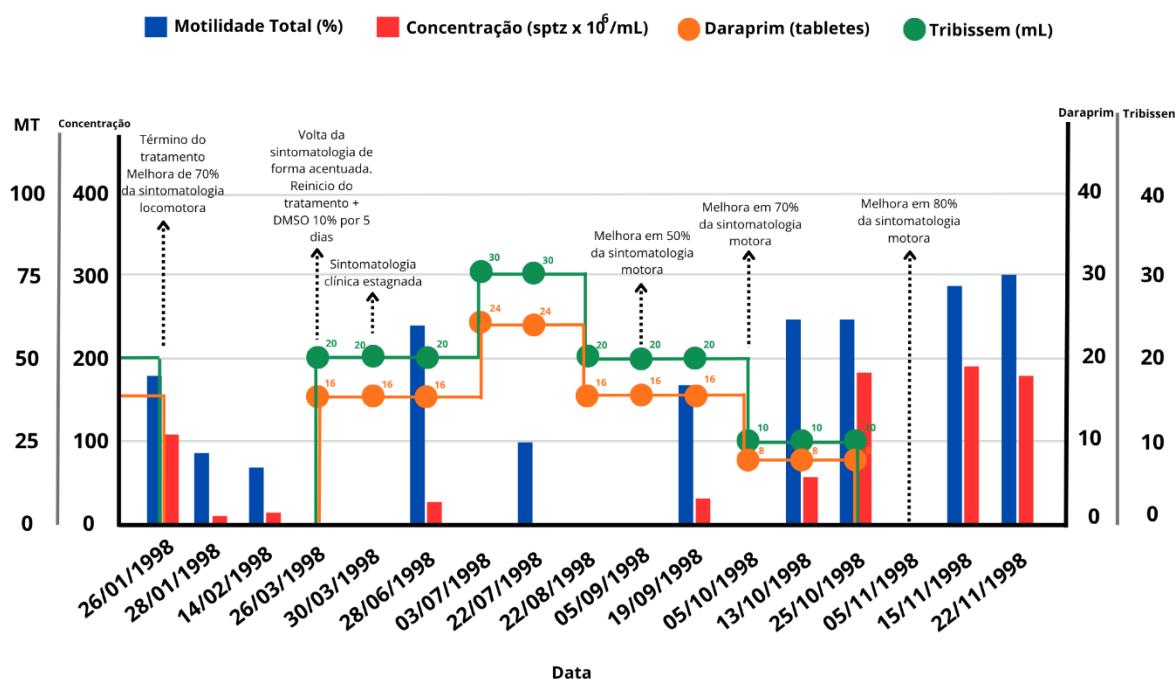


Fonte: Elaborado pelos autores.

No dia 26 de janeiro de 1998 observou-se uma melhora na incoordenação motora do animal, terminando-se, assim, o tratamento quando se observou uma melhora estimada em 70% de sua sintomatologia clínica de incoordenação motora. Neste dia, 26/01/1998, coletou-se o garanhão e seu sêmen mostrou uma motilidade total de 45% e concentração de 110×10^6 sptz/mL. Já nos dias 28 de janeiro de 1998, verificou-se uma motilidade total de 20% e uma baixa concentração de espermatozoides (12×10^6 sptz/mL) e em 14 de fevereiro de 1998 a motilidade foi de 15% e a concentração de 15×10^6 sptz/mL.

Figura 3: Qualidade seminal de um garanhão da raça Árabe ao longo do ano do tratamento com Daraprim® e Tribrissem® contra a Mieloencefalite por Protozoário (MEP) e sua recuperação ao final do ano de 1998.

Motilidade Total e Concentração Espermática e sua relação com o tratamento para MEP - 1998



Fonte: Elaborado pelos autores.

A partir do dia 26 de março de 1998 verificou-se o retorno da sintomatologia de incoordenação motora dos membros posteriores de forma acentuada e, imediatamente, se reinicio o tratamento com Daraprim® (16 tabl.) e Tribrissem® (20 mL), além de se administrar por cinco dias, 0,8 g/Kg P.V. solução a 10% de DMSO IV. Passados cinco dias, no dia 30 de março de 1998 a sintomatologia parou de evoluir, mas perdurou, tornando as coletas de sêmen muito difíceis, de forma que foram necessários, além do condutor do garanhão, mais dois funcionários para equilibrarem o garanhão em cima do manequim. Inclusive o garanhão foi vestido por um capacete acolchoado na cabeça para evitar choque quando saia do manequim e tombava no local da coleta. Neste momento, seu sêmen apresentou no dia 28 de junho de 1998 uma motilidade de 60% e uma concentração de $2,5 \times 10^6$ sptz/mL.

Como a sintomatologia do distúrbio locomotor dos membros posteriores do garanhão não evoluiu, nem no sentido de melhoria ou piora, aumentou-se a partir do dia 03 de julho de 1998 a dosagem do Daraprim® para 24 tabletas e Tribrissem® para 30 mL. Efetuando-se uma coleta de sêmen no dia 22 de julho deste mesmo ano, constatou-se uma grande queda na qualidade seminal, verificando-se uma motilidade de 25% e uma concentração espermática de 1×10^6 sptz/mL.

Um mês depois, no dia 22 de agosto de 1998 procedeu-se com a diminuição da dose inicial em 1/3, resultando, portanto, numa dosagem de 16 tabletes de Daraprim® e 20 mL de Tribrissem®.

Constatou-se uma estimativa de 50% na melhora da sintomatologia do aparelho locomotor do garanhão no dia 05 de setembro de 1998. Na data de 19 de setembro deste ano verificou-se, no sêmen do garanhão, uma motilidade de 40% e uma concentração espermática de 35×10^6 sptz/mL.

No dia 05 de outubro foi constatada uma estimativa de melhora da sintomatologia de seu quadro clínico de 70% quando, então, se diminuiu mais 1/3 a dose dos medicamentos, passando sua dosagem a ser de 8 tabletes de Daraprim® e 10 mL de Tribrissem®.

Efetuando-se coleta de sêmen nos dias 13 e 25 de outubro constatou-se uma motilidade de 60% com concentração de 65×10^6 sptz/mL e 60% com concentração de 180×10^6 sptz/mL, respectivamente.

No dia 05 de novembro de 1998 observou-se uma estimativa de melhora de 80% da patologia do sistema locomotor do garanhão e, então, decidiu-se interromper o tratamento.

Após a interrupção do tratamento efetuou-se uma coleta, no dia 15 de novembro, cujo o sêmen apresentou uma motilidade de 70% e concentração espermática de 190×10^6 sptz/mL e no dia 22 de novembro de 1998 foi de 75% e 175×10^6 sptz/mL. A partir de então, o garanhão foi considerado curado da MEP, permanecendo com alguma sequela de distúrbio no aparelho locomotor posterior e as características do sêmen estabilizaram.

Focando apenas no início, término, retorno da patologia, reinício e término definitivo do tratamento verificam-se a relação do intervalo temporal e dosagem dos fármacos. Em 22 de setembro de 1997 se iniciou o tratamento com a dosagem prescrita de 16 cápsulas de 25 mg/dia de Daraprim® e 20 mL de Tribrissem® por quase 4 meses (término do tratamento em 26 de janeiro 1998). Dois meses após o término do tratamento voltam os sintomas da MEP e se reinicia o tratamento com as mesmas dosagens de Daraprim® e Tribrissem® do início do tratamento. Então a dosagem foi alterada para 24 tabletes de Daraprim® e 30 mL de Tribrissem decorridos em torno de três meses e meio, devido a não melhoria da sintomatologia. Esta alta dosagem destes medicamentos foi aplicada por 49 dias. Decorrido este período houve uma redução de um terço desta quantidade, isto é, 16 tabletes de Daraprim® e 20 mL de Tribrissem® que se manteve por 43 dias. Passado os 43 dias a dosagem foi reduzida em dois terços a até 05/11/1998 com uma duração de 1 mês e, finalmente, decorrido este mês cessou com sucesso o tratamento do garanhão.

Verificou-se uma duração de em torno de quatro meses o tratamento inicial com as dosagens de fármacos recomendadas pelos fabricantes, onde ocorreu uma boa remissão da sintomatologia no final deste período. Após um intervalo de um mês retornou a sintomatologia de forma grave e o

tratamento, com uma dosagem diferenciada da dosagem dos fármacos, durou em torno de mais quatro meses para, então, resolver a patologia da MEP definitivamente. Esta longa duração do tratamento corrobora com Dirikolu *et al.* (2013) que afirma que os esquemas de tratamento com essas combinações podem ser relativamente prolongadas, geralmente, na ordem de cerca de 90 dias, podendo ser significativamente mais longo. Bogan *et al.* (1984) consideram a duração do tratamento “padrão” para MEP por pelo menos 6 meses, empregando-se um regime posológico de PYR, 1 mg/kg, e SDZ, 20 mg/kg, administrado uma vez ao dia por via oral.

Pode-se concluir, no relato deste caso, haver uma grande probabilidade de uma relação de causa efeito entre o aspecto da enfermidade MEP/tratamento com a qualidade seminal do garanhão avaliada através da motilidade e concentração espermática. Adicionando-se, também, na conclusão acima que o tratamento convencional nas doses recomendadas de Tribbrissem®, Daraprim® não foi eficiente, uma vez que após o tratamento com as doses recomendada pelos laboratórios ocorreu uma recidiva com a volta de sintomatologia grave da MEP, sendo necessário um aumento da dosagem para 24 tabletas/dia de Daraprim® e um volume de 30 mL de Tribbrissem®/dia e sua retirada gradual para a cura do quadro de MEP. A dosagem feita pelo laboratório do produto Daraprim® corresponde ao preconizado como dentro do tratamento padrão (1 mg/kg), mas com relação ao Tribbrissem® a dosagem recomendada pelo laboratório de sulfadiazina está abaixo (13 mg/Kg) do recomendado. Bogan *et al.* (1984) considera como tratamento “padrão”, em relação a sulfadiazina, 20 mg/kg, administrado uma vez ao dia por via oral por pelo menos 6 meses. Levando em conta que a dosagem da sulfadiazina do tratamento “padrão” é mais elevada do que a que feita neste trabalho que é a recomendada pelo laboratório do produto Tribrissem® poder-se-ia explicar a recidiva da MEP e sua cura após o aumento da dosagem dos medicamentos empregados na continuação do tratamento neste relato de caso. Além de que, embora o trimetoprim tenha sido recomendado para uso junto com a pirimetamina, esta combinação não é mais recomendada. Isso ocorre porque a pirimetamina é um inibidor substancialmente mais eficaz da diidrofolato redutase que o trimetoprima, portanto, conforme relatado por Dirikolu *et al.* (2013) a inclusão de trimetoprim na formulação, simplesmente, atua para reduzir a eficácia da pirimetamina na inibição da diidrofolato redutase. O produto Tribbrissem® que contém a substância trimetoprina poderia explicar em parte a ineficácia da primeira tentativa de tratamento contra a MEP neste garanhão, ocorrendo a cura após a reincidência da MEP graças ao grande aumento na dosagem geral dos medicamentos empregados, que, provavelmente, se contrapôs a este efeito atenuante da trimetoprima sobre a pirimetamina pelo atingimento do nível eficaz das drogas no combate deste protozoário.

REFERÊNCIAS

- BEDFORD, S.J.; MCDONNELL, S.M. Measurements of reproductive function in stallions treated with trimethoprim-sulfamethoxazole and pyrimethamine. **J Am Vet Med Assoc**, v. 215, p. 1317–9, 1999. Disponível em: https://avmajournals.avma.org/view/journals/javma/215/9/javma.1999.215.09.1317.xml?tab_body=pdf, Acesso em: 12/07/2023.
- BOGAN, J.A.; GALBRAITH, A.; BAXTER, P.; ALI, N.M.; MARRINER, S.E. Effect of feeding on the fate of orally administered phenylbutazone, trimethoprim and sulphadiazine in the horse. **Vet Rec**, v. 115(23), p. 599–600, 1984. Disponível em: <https://madbarn.com/research/effect-of-feeding-on-the-fate-of-orally-administered-phenylbutazone-trimethoprim-and-sulphadiazine-in-the-horse/>, Acesso em: 03/04/2023.
- BROWN, C.M.; MORROW, J.K.; CARLETON, C.L.; RAMANATHAN B.; REDDY, R.; VAIDYA, V.; KARTHIKEYAN, S.M.; ZULFIKAR, A.A.; KANNADKAR, V.S. et al. Persistence of serum antibodies to *Sarcocystis neurona* in horses moved from North America to India. **J Vet Intern Med**, v. 20(4), p. 994–7, 2006. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1939-1676.2006.tb01817.x>, Acesso em: 03/04/2023.
- BROWN, M.P.; KELLY, R.H.; STOVER, S.M. Trimethoprim-sulfadiazine in the horse: serum, synovial, peritoneal, and urine concentrations after single-dose intravenous administration. **Am J Vet Res**, v. 44, p. 540–3, 1983. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6869949/>, Acesso em: 11/11/2023.
- CAVALLITO, J.C.; NICHOL, C.A.; BRECKMAN, W.D. J.R.; DEANGELIS, R.L.; STICKNEY, D.R.; SIMMONS, W.S.; SIGEL, C.W. Lipid-soluble inhibitors of dihydrofolate reductase. I. Kinetics, tissue distribution, and extent of metabolism of pyrimethamine, metoprine, and etoprime in the rat, dog, and man. **Drug Metab Dispos**, v. 6(3), p. 329–37, 1978. Disponível em: [https://dmd.aspetjournals.org/article/S0090-9556\(25\)06350-0/pdf](https://dmd.aspetjournals.org/article/S0090-9556(25)06350-0/pdf), Acesso em: 12/11/2023.
- CLARKE, C.R. MACALLISTER, C.G.; BURROWS, G.E.; EWING, P.; SPILLER, D.K.; BURROWS, S.L. Pharmacokinetics, penetration into cerebrospinal fluid, and hematologic effects after multiple oral administrations of pyrimethamine to horses. **Am J Vet Res**, v. 53(12), p. 2296–9, 1992. Disponível em: <https://avmajournals.avma.org/view/journals/ajvr/53/12/ajvr.1992.53.12.2296.xml>, Acesso em: 12/02/2024.
- CHUNG, M.K.; HAN, S.S.; ROH, J.K. Synergistic embryotoxicity of combination pyrimethamine and folic acid in rats. **Reprod Toxicol**, v. 7(5), p. 463–8, 1993. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/089062389390091K>, Acesso em: 03/03/2024.
- DIRIKOLU, L.; FOREMAN, J.H.; TOBIN, T. Current therapeutic approaches to equine protozoal myeloencephalitis. **J Am Vet Med Assoc**, v. 242(4), p. 482–91, 2013. Disponível em: <https://avmajournals.avma.org/view/journals/javma/242/4/javma.242.4.482.xml>, Acesso em: 11/11/2024.

DUNIGAN, C.E.; OGLESBEE, M.J.; PODELL, M., MITTEN, L.A.; REED, S.M. Seizure Activity Associated with Equine Protozoal Myeloencephalitis. **Prog Vet Neurol**, v. 6(2), p. 50–4, 1995. Disponível em: <https://europepmc.org/article/AGR/IND20529774>, Acesso em 24/07/2024.

FURR, M. Antigen-specific antibodies in cerebrospinal fluid after intramuscular injection of ovalbumin in horses. **J Vet Intern Med**, v. 16(5), p. 588–92, 2002. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1939-1676.2002.tb02392.x>, Acesso em: 08/08/2024.

FURR, M.; HOWE, D.; REED, S.; YEARGAN, M. Antibody coefficients for the diagnosis of equine protozoal myeloencephalitis, **J Vet Intern Med**, v. 25(1)p. 138–42, 2011. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1939-1676.2010.0658.x>, Acesso em: 08/08/2024.

GREEN S.L.; MAYHEW, I.G. BROWN, M.P.; MONTIETH, G.. Concentrations of trimethoprim and sulfamethoxazole in cerebrospinal fluid and serum in mares with and without a dimethyl sulfoxide pretreatment. **Can J Vet Res**, v. 54(2), p. 215–22, 1990. Disponível em: <https://PMC1255637/>, Acesso em: 08/08/2024.

HOANE, J.S.; YEARGAN, M.R.; STAMPER, S.; SAVILLE, W.J.; MORROW, J.K.; LINDSAY, D.S.; HOWE, D.K. Recombinant NhSAG1 ELISA: a sensitive and specific assay for detecting antibodies against *Neospora hughesi* in equine serum. **J Parasitol**, v. 91(2), p. 446–52, 2005. Disponível em: <https://bioone.org/journals/journal-of-parasitology/volume-91/issue-2/GE-395R/RECOMBINANT-NhSAG1-ELISA--A-SENSITIVE-AND-SPECIFIC-ASSAY-FOR/10.1645/GE-395R.full>, Acesso em: 12/09/2024.

JOHNSON, A.L.; MORROW, J.K.; SWEENEY, R.W. Indirect Fluorescent Antibody Test and Surface Antigen ELISAs for Antemortem Diagnosis of Equine Protozoal Myeloencephalitis. **J Vet Intern Med**, v. 27(3), p. 596–9, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23517480/>, Acesso em: 12/09/2024.

LINDSAY, S.D.; DUBEY, J.P. Determination of activity of pyrimethamine, trimethoprim, sulfonamides, and combinations of pyrimethamine and sulfonamides against *Sarcocystis neurona* in cell cultures. **Vet Parasitol**, v. 82, p. 205–10, 1999. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401799000205>, Acesso em: 03/04/2024.

MACKAY, R.J.; MCLELLAN, J.; MALLICOTE, M. Pyrimethamine toxicosis in horses given a compounded medication. **Equine Vet Ed**, v. 30(12), p. e468–71, 2017. Disponível em: <https://beva.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/eve.12812>, Acesso em: 07/06/2024

MACKAY, R.J.; HOWE, D.K. Equine Protozoal Myeloencephalitis, **Vet Clin North Am Equine Pract**, v. 38(2), p. 249-268, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35810151/>, Acesso em: 12/07/2024.

NAHMS. **Equine Protozoal Myeloencephalitis (EPM) in the U.S.** In: USDA:APHIS: VS. Fort Collins, CO: Centers for Epidemiology and Animal Health; 2001. p. 1–46. Disponível em: https://www.aphis.usda.gov/sites/default/files/equine98_is_econcost.pdf, Acesso em: 09/03/2024.

REED, S.M.; HOWE, D.K.; MORROW, J.K.; GRAVES, A.; YEARGAN, M.R.; JOHNSON, A.L.; MACKAY, R.J.; FURR, M.; SAVILLE, W.J.A.; WILLIAMS, N.M. Accurate antemortem diagnosis of equine protozoal myeloencephalitis (EPM) based on detecting intrathecal antibodies against

Sarcocystis neurona using the SnSAG2 and SnSAG4/3 ELISAs. **J Vet Intern Med**, v. 27(5), p. 1193–200, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24033423/>, Acesso em: 12/07/2024.

TORIBIO, R.E.; BAIN, F.T.; MRAD, D.R. et al. Congenital defects in newborn foals of mares treated for equine protozoal myeloencephalitis during pregnancy. **J Am Vet Med Assoc**, v. 212(5), p. 697–701, 1998. Disponível em: <https://avmajournals.avma.org/view/journals/javma/212/5/javma.1998.212.05.697.xml>, Acesso em: 12/07/2024.

WELSCH, B.B. Treatment of equine protozoal myeloencephalitis. **Compend Contin Educ Pract Vet**, v. 13, p. 1599–602, 1991. Disponível em: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/19922266772>, Acesso em: 02/02/2023.