

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

ESCOLA DE VETERINÁRIA

Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal

Nayara Toledo Da Silva

INTOXICAÇÃO POR ACETURATO DE DIMINAZENO EM UM CÃO (*Canis lupus familiaris*): REVISÃO DE LITERATURA E RELATO DE CASO

Belo Horizonte

2024

Nayara Toledo da Silva

INTOXICAÇÃO POR ACETURATO DE DIMINAZENO EM UM CÃO (*Canis lupus familiaris*): REVISÃO DE LITERATURA E RELATO DE CASO

Monografia apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção de título de Especialista – Residência em Medicina Veterinária.

Área de atuação: Patologia Animal

Tutora: Profa. Dra. Ayisa Rodrigues de Oliveira

Belo Horizonte

2024

S586i Silva, Nayara Toledo da,1997 -
Intoxicação por Aceturato de Diminazeno em um cão (*Canis lupus familiaris*): Revisão de Literatura e Relato de caso/ Nayara Toledo da Silva.- 2024.

49f: il.

Orientadora: Ayisa Rodrigues de Oliveira

Monografia apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária da UFMG, como requisito parcial para obtenção do título Especialista - Residência em Medicina Veterinária

Área de atuação: Patologia Animal

Bibliografia: f.: 34 – 40.

1. Cão – Doenças - Teses – 2. Patologia – Teses – 3. Veterinária – Teses - I. Oliveira, Ayisa Rodrigues de – II. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária – III. Título.

CDD – 636.089

Bibliotecária responsável Cristiane Patrícia Gomes CRB 2569
Biblioteca da Escola de Veterinária, UFMG.

PROGRAMA DE RESIDÊNCIA INTEGRADA EM MEDICINA VETERINÁRIA

ATA DE DEFESA DE TCR DE NAYARA TOLEDO DA SILVA

Às 8:30 horas do dia 22/11/2024, reuniu-se, na Escola de Veterinária da UFMG a Banca Examinadora do Trabalho de Conclusão do Curso, para julgar em exame final, a defesa do TCR intitulado: INTOXICAÇÃO POR ACETURATO DE DIMINAZENO EM UM CÃO (*Canis lupus familiaris*): REVISÃO DE LITERATURA E RELATO DE CASO, como requisito final para a obtenção do Título de Especialista em **PATOLOGIA ANIMAL**.

Abrindo a sessão, o Presidente da Banca, PROFA. AYISA RODRIGUES DE OLIVEIRA, após dar a conhecer aos presentes o teor das Normas Regulamentares da Defesa do TCR, passou a palavra ao candidato(a), para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa do(a) candidato(a). Logo após, a Banca se reuniu, sem a presença do(a) candidato(a) e do público, para julgamento da TCR, tendo sido atribuídas as seguintes indicações:

	Aprovada	Reprovada
Prof. AYISA RODRIGUES DE OLIVEIRA	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prof. BENITO SOTO BLANCO	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prof. FELIPE MARTINS PASTOR	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Pelas indicações, o (a) candidato (a) foi considerado (a): Aprovado

Reprovado

Nota: 90 pontos

Para concluir o Programa, o(a) candidato(a) deverá entregar a versão final do TCR no repositório da UFMG, acatando, se houver as modificações sugeridas pela banca. Para tanto terá o prazo máximo de 30 dias a contar da data da defesa.

O resultado final, foi comunicado publicamente ao(a) candidato(a) pelo Presidente da Banca. Nada mais havendo a tratar, o Presidente encerrou a reunião e lavrou a presente ata, que será assinada por todos os membros participantes da Banca Examinadora.

Belo Horizonte, 22 de novembro de 2024.

Assinatura dos membros da Banca:







AGRADECIMENTOS

Primeiramente, sou profundamente grata a Deus por me guiar e permitir que eu alcançasse meu sonho de me tornar patologista veterinária pela UFMG. Agradeço de coração aos meus pais, Antônio e Maria, e ao meu irmão, Diego, pelo apoio incondicional que me ofereceram ao longo da graduação e, ainda, agora na pós-graduação. Ao meu querido marido, Douglas, expresso minha eterna gratidão por seu amor, por cuidar de mim de todas as formas possíveis e por estar ao meu lado sempre que precisei de apoio.

Sinto uma profunda admiração e gratidão por todos os professores que, ao longo da minha formação em Medicina Veterinária, desempenharam um papel fundamental no meu desenvolvimento pessoal e profissional. Um agradecimento especial aos Professores Roselene Ecco, Roberto Maurício Carvalho Guedes, Rogéria Serakides, Natália de Melo Ocarino, Renato de Lima Santos e Felipe Martins Pastor, cujas orientações iluminaram meu caminho, especialmente na fascinante e vasta área da patologia. Um agradecimento carinhoso à Profa. Ayisa Rodrigues de Oliveira, cuja valiosa orientação durante meu período de residência foi fundamental para meu crescimento. Agradeço também ao professor Benito Soto Blanco pela solicitude e apoio em todos os exames toxicológicos e esclarecimentos durante estes anos.

Aos meus colegas de residência e pós-graduação, que compartilharam não apenas os desafios e as alegrias dos nossos dias, mas também a paixão pela patologia, meu sincero agradecimento. Em especial, quero reconhecer Acácia, Camila, Lorena, Tatyana e Caio, cujas amizades tornaram essa jornada ainda mais significativa. Também não posso deixar de agradecer aos funcionários do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária e do Hospital Veterinário, especialmente Leimar, Valéria, Vitalina, Cidinha e Luiz, por toda a amizade ao longo desses anos.

RESUMO

A intoxicação por aceturato de diminazeno, um antiprotozoário utilizado no tratamento de doenças como tripanossomíase e babesiose, é conhecido por causar alterações clínicas e anatomopatológicas significativas, especialmente no sistema nervoso central. Este estudo descreve os aspectos anatomopatológicos e toxicológicos dessa intoxicação em um cão Whippet, macho, de um ano de idade, previamente diagnosticado com leishmaniose visceral e tratado com diminazeno. Após tratamento intramuscular e oral com o fármaco, o animal apresentou sinais neurológicos agudos que culminaram na morte. A necropsia revelou focos de hemorragia e malácia no tronco encefálico, congestão sistêmica, hemorragia pulmonar, além de hemorragias no endocárdio ventricular esquerdo e serosa da bexiga. Na avaliação histopatológica, o tronco encefálico apresentou necrose fibrinoide, hemorragias multifocais e encefalite neutrofílica severa, alterações previamente relatadas na literatura como características da intoxicação por diminazeno. A análise toxicológica de amostras de fígado e rim confirmou concentrações elevadas do fármaco, corroborando o diagnóstico. Este caso reforça a necessidade de considerar a intoxicação por diminazeno no diagnóstico diferencial de lesões encefálicas em cães tratados com este antiparasitário. A avaliação conjunta do histórico clínico com os achados anatomopatológicos e toxicológicos é indispensável para o diagnóstico definitivo especialmente em casos de intoxicação.

Palavras-chave: necrose fibrinoide; *Leishmania infantum*; encefalite; toxicologia; patologia.

ABSTRACT

Diminazene aceturate intoxication, an antiprotozoal agent used in the treatment of diseases such as trypanosomiasis and babesiosis, is known to cause significant clinical and pathological alterations, particularly in the central nervous system. This study describes the pathological and toxicological aspects of this intoxication in a one-year-old male Whippet dog, previously diagnosed with visceral leishmaniasis and treated with diminazene. Following intramuscular and oral administration of the drug, the animal developed acute neurological signs that culminated in death. Necropsy findings included foci of hemorrhage and malacia in the brainstem, systemic congestion, pulmonary hemorrhage, as well as hemorrhages in the left ventricular endocardium and bladder serosa. Histopathological evaluation revealed fibrinoid necrosis, multifocal hemorrhages, and severe neutrophilic encephalitis in the brainstem, alterations previously reported in the literature as characteristic of diminazene intoxication. Toxicological analysis of liver and kidney samples confirmed high concentrations of the drug, supporting the diagnosis. This case underscores the need to consider diminazene intoxication in the differential diagnosis of encephalic lesions in dogs treated with this antiparasitic drug. The integration of clinical history, pathological findings, and toxicological analyses is essential for a definitive diagnosis, particularly in cases of suspected intoxication.

Keywords: fibrinoid necrosis; *Leishmania infantum*; encephalitis; toxicology; pathology.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Intoxicação por aceturato de diminazeno em um cão: achados macroscópicos. Tronco encefálico com áreas milimétricas multifocais a coalescentes de hemorragia e malacia (seta); (* = cerebelo). Barra de escala = 1 cm. 23
- Figura 2.** Intoxicação por aceturato de diminazeno em um cão: histopatologia. (A) Hemorragia focalmente extensa intensa associada a infiltrado inflamatório neutrofílico acentuado, tronco encefálico, H&E, 200X. (B) Arteriolas e vênulas com espaços de Virchow-Robin expandidos, infiltrado inflamatório neutrofílico transmural ocasional, deposição de material eosinofílico fibrilar e amorfo abaixo do endotélio (necrose fibrinoide), tronco encefálico, H&E, 200X..... 25
- Figura 3.** Intoxicação por aceturato de diminazeno em um cão: imunohistoquímica anti-Leishmania. Macrófagos subcapsulares com amastigotas intracitoplasmáticas imunomarcadas em magenta, baço (cromógeno magenta) 1000X..... 25

LISTA DE ABREVIATURAS

AINEs	Anti-inflamatórios Não Esteroides
APCC	Centro de Controle de Envenenamentos de Animais da América
CIATox ES	Centro de Informação Toxicológica do Espírito Santo
CIATox RS	Centro de Informação Toxicológica do Rio Grande do Sul
ELISA	Ensaio de Imunoabsorção Enzimática
GC	Cromatografia Gasosa (<i>Gas Chromatography</i>)
GC/MS	Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massa (<i>Gas Chromatography/Mass Spectrometry</i>)
HE	Hematoxilina e eosina
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (<i>High-Performance Liquid Chromatography</i>)
IM	Intramuscular
IV	Intravenosa
kDNA	DNA do Cinetoplasto
LC-MS/MS	Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massa em Tandem (<i>Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry</i>)
LVC	Leishmaniose Visceral canina
MS	Espectrometria de Massa (<i>Mass Spectrometry</i>)
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
RIFI	Reação de Imunofluorescência Indireta
RM	Ressonância Magnética

SNC	Sistema Nervoso Central
TC	Tomografia Computadorizada
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
Unesp	Universidade Estadual Paulista

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	12
2.1 Intoxicações na medicina veterinária.....	12
2.2 Achados clínicos e anatomopatológicos em casos de intoxicação.....	15
2.3 Intoxicação por aceturato de diminazeno.....	15
2.3.1 Patogênese e diagnósticos diferenciais da necrose fibrinoide.....	18
2.4 Avaliação toxicológica.....	20
2.5 Patogênese e diagnósticos diferenciais da necrose fibrinoide.....	18
3 RELATO DE CASO.....	21
3.1 Discussão.....	27
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	30
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	31

1 INTRODUÇÃO

As intoxicações na medicina veterinária são frequentes em animais de companhia e podem decorrer de diversas causas (Brolo et al., 2015). Entre os animais domésticos, os cães são os mais frequentemente afetados, com as intoxicações por medicamentos e pesticidas sendo as mais prevalentes (Caloni et al., 2012; Means & Wismer, 2018). No Brasil há poucos registros governamentais relacionados à intoxicação em animais; entretanto, ao analisar os dados disponíveis é possível observar que a maioria dos casos está relacionada ao uso de medicamentos humanos, seguido de plantas e inseticidas, entre outros (Gomes et al., 2022). Além disso, cães e gatos são frequentemente vítimas de intoxicações intencionais, com o carbamato aldicarbe, seguido por anticoagulantes (dicumarínico) e o fluoroacetato de sódio, sendo os agentes tóxicos mais comumente envolvidos, especialmente em casos de maus-tratos (Araújo et al., 2024; Xavier et al., 2007). A necropsia e a análise histopatológica são fundamentais para determinar a causa da morte, entretanto, possuem limitações, especialmente na identificação precisa do fármaco envolvido nos casos de intoxicação. Essas limitações destacam a importância do teste toxicológico complementar para alcançar um diagnóstico definitivo. Contudo, devido à falta de recursos, baixa acessibilidade ou desinteresse por parte do tutor, o exame toxicológico por vezes não é realizado, comprometendo a conclusão diagnóstica.

Na medicina veterinária a intoxicação medicamentosa muitas vezes ocorre pelo uso inadequado dos medicamentos, seja por dosagens incorretas, uso inadequado, ou pela falta de consideração das características fisiológicas do animal (Brolo et al., 2015). O aceturato de diminazeno, conhecido também como Berenil[®], é um agente quimioterápico antiparasitário utilizado há muitas décadas no tratamento de infecções parasitárias, como a tripanossomíase (Kuriakose, 2012) e a babesiose em animais de produção e cães (Miller et al., 2005). Recentemente, seu potencial como anti-hipertensivo e imunomodulador tem sido investigado (Kuriakose et al., 2014; Qaradakhi et al., 2020). No entanto, a fisiopatogenia da sua toxicidade, especialmente no sistema nervoso central (SNC), é pouco conhecida. Estudos indicam que

doses repetidas ou elevadas podem resultar em neurotoxicidade devido ao efeito cumulativo (Oliveira & Freitas, 2015).

O aceturato de diminazeno tem uso terapêutico em diferentes espécies, com doses recomendadas que variam de acordo com a espécie e a finalidade do tratamento. No tratamento da babesiose em cães, a dose recomendada é de 3,5 mg/kg, administrada por via intramuscular (Khristianovsky; Belimenko, 2021). Em bovinos, para tratamento da tripanossomíase, a dose recomendada varia de 3,5 a 7,2 mg/kg (Oliveira & Freitas, 2015). No entanto, o perfil toxicológico do fármaco ainda é pouco estudado. Em um estudo *in vitro* que avaliou sua eficácia contra *Leishmania donovani*, foi observado que o aceturato de diminazeno não foi seletivo, causando efeitos citotóxicos tanto no parasita quanto em células mononucleares humanas (Jean-Moreno et al., 2006).

No Brasil, o tratamento de cães com leishmaniose visceral canina (LVC), causada por *Leishmania infantum*, é controverso. Os medicamentos recomendados demonstraram baixa eficácia, causando apenas remissão temporária dos sinais clínicos, sem prevenir a recorrência. Além disso, esses medicamentos têm efeito limitado na infectividade dos flebotomíneos, falhando em reduzir o papel dos cães como reservatórios, o que aumenta o risco de desenvolvimento de parasitas resistentes aos medicamentos, especialmente aqueles usados no tratamento humano (Brasil, 2006). Desde 2016, o medicamento utilizado no tratamento padrão da leishmaniose canina no Brasil é a miltefosina. No entanto, o tratamento de cães tem mostrado eficácia clínica limitada, e os animais tratados podem continuar com uma alta carga parasitária e, conseqüentemente, disseminar o parasita (Gonçalves et al., 2024).

Este estudo tem como objetivo descrever os aspectos patológicos e toxicológicos da intoxicação por aceturato de diminazeno em um cão tratado para leishmaniose visceral canina.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Intoxicações na medicina veterinária

O risco de intoxicação depende de fatores como dose, forma do medicamento, via de exposição, espécie envolvida e condições de saúde do animal, como doenças renais ou hepáticas concomitantes que podem influenciar no metabolismo e excreção do tóxico (Humm &

Greensmith, 2019). Mesmo quando administrados em doses terapêuticas e de forma correta, medicamentos veterinários podem causar toxicidade e reações adversas, que podem ser leves ou potencialmente fatais. Essas reações podem ser decorrentes da toxicidade do medicamento ou de respostas idiossincráticas (reação individual e imprevisível ao medicamento). O monitoramento e a notificação de efeitos adversos, uso incorreto ou mesmo uso *off-label* (sem indicação) de medicamentos veterinários são fundamentais. No entanto, relata-se pouca colaboração dos médicos veterinários e da população em geral nas notificações (Siroka & Svobodova, 2013). A intoxicação em cães e gatos é um desafio frequente na prática veterinária. Os pacientes podem apresentar-se assintomáticos, mesmo após exposição conhecida a um agente tóxico, ou manifestar sinais clínicos inespecíficos que podem ou não estar relacionados à intoxicação (Humm & Greensmith, 2019; Siroka & Svobodova, 2013).

No Brasil há 32 centros de assistência toxicológica humana, entretanto, apenas dois — o Centro de Informação Toxicológica do Rio Grande do Sul (CIATox RS) e o do Espírito Santo (CIATox ES) — possuem dados sobre intoxicação em animais. Em 2022, o CIATox ES registrou 581 casos de exposição de animais a agentes tóxicos, 78% envolvendo cães e 20% gatos. Os agentes mais comuns foram medicamentos de uso humano (22,87%), plantas (20,25%) e produtos veterinários (9,12%). Dentre os medicamentos de uso humano, os antidepressivos lideraram com 12,16% dos casos, seguidos por antibióticos com 6%. Houve registro de dez óbitos, estes relacionados a agrotóxicos (30%), plantas tóxicas (30%), animais peçonhentos (20%), produtos veterinários (10%) e uma combinação de produtos químicos industriais e veterinários (10%) (Gomes et al., 2022). Estudos em universidades e hospitais veterinários brasileiros indicam que, a maioria dos casos de intoxicações na medicina veterinária envolvem os cães e as intoxicações são majoritariamente causadas por agrotóxicos como carbamatos, organofosforados e piretroides. Entre os fármacos de uso humano estão anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), benzodiazepínicos (ansiolíticos) e barbitúricos (sedativos hipnóticos), e dentre os fármacos de uso veterinário os parasiticidas são os mais frequentes (Medeiros et al., 2009; Tremori et al., 2018).

Tremori et al. (2018) investigaram 42 casos de necropsia de cães e gatos com histórico de intoxicação entre 2009 e 2014 na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade Estadual Paulista – Unesp – Campus de Botucatu, dos quais apenas 52,4%

passaram por exame toxicológico. A intoxicação por carbamatos foi a mais prevalente (73%), seguida por organofosforados (9%), piretroides (4,5%) e cumarínicos (4,5%). A causa da morte foi atribuída principalmente à insuficiência cardiorrespiratória e choque hipovolêmico, com achados histológicos de congestão, degeneração e hemorragia no fígado, rins e cérebro. Além disso, como demonstrado por Siqueira et al. (2015), por vezes a intoxicação ocorre por uma combinação de substâncias tóxicas.

Em Milão, o Centro de Controle de Intoxicação Humana relata que entre 2006 e 2012 foram registrados 1.415 atendimentos de animais intoxicados, com predomínio de cães (70%), seguido de gatos (30%). Nos cães, 79% das intoxicações foram causadas por medicamentos de uso humano, destacando-se drogas sedativas hipnóticas, seguido de anti-inflamatórios não esteroides (AINEs). Enquanto nos gatos 77% dos casos envolveram medicamentos de uso veterinário, sendo mais frequentes os parasiticidas permetrina e imidaclopride. O uso indevido, a administração inadequada e a ingestão acidental foram as principais causas de intoxicação em ambas as espécies (Caloni et al., 2014).

Na Romênia, foram avaliados casos de cães e gatos tratados na Clínica de Emergência da Faculdade de Medicina Veterinária de Cluj-Napoca no período de 2009-2019. Dos 41.854 arquivos analisados, foram detectados 256 casos de intoxicação. Os rodenticidas anticoagulantes foram os principais agentes tóxicos, seguidos pelo etilenoglicol. O envenenamento por rodenticidas anticoagulantes era mais comum no outono-inverno, mas pode ser observado durante todo o ano. As intoxicações por etilenoglicol tendem a ocorrer com mais frequência no inverno, já que esse composto é utilizado como anticongelante em sistemas de refrigeração de automóveis (Neagu et al., 2021).

Nos Estados Unidos, foram analisados dados de cães e gatos expostos a toxinas registrados pelo Centro de Controle de Envenenamentos de Animais da América (APCC) entre 2016 e 2017. Nesse período, os medicamentos de uso humano se destacaram como os principais agentes tóxicos, representando 17% a 17,5% das exposições. Os analgésicos, antidepressivos e digitálicos foram os mais comuns. As intoxicações alimentares, incluindo o consumo de chocolate, alho, cebola e uvas, também foram significativas, correspondendo a 10,9% das chamadas em 2017. Além disso, produtos veterinários e itens domésticos, como detergentes e

produtos de limpeza, contribuíram com 8,9% e 6,3% das exposições, respectivamente (Means & Wismer, 2018).

2.2 Achados clínicos e anatomopatológicos em casos de intoxicação

Os achados clínicos em casos de intoxicação em animais variam conforme o tipo de tóxico envolvido, a dose e a via de exposição. Os sinais clínicos podem se manifestar de forma aguda ou crônica, apresentando sinais clínicos que incluem, mas não se limitam a vômitos, diarreia, convulsões, letargia, ataxia e alterações comportamentais (Humm & Greensmith, 2019; Siroka & Svobodova, 2013). Vômitos, diarreia, salivação excessiva e dor abdominal indicam irritação ou lesão na mucosa gastrointestinal. Ademais, sinais neurológicos como ataxia, tremores, convulsões e depressão do sistema nervoso central são comuns em intoxicações por substâncias como organofosforados e benzodiazepínicos (Humm & Greensmith, 2019; Siroka & Svobodova, 2013). Dificuldades respiratórias podem ser observadas em animais com edema pulmonar e/ou pneumonia, com causas que variam conforme os agentes tóxicos envolvidos. Além disso, arritmias, taquicardia e hipotensão podem ocorrer, especialmente em intoxicações por medicamentos cardiotoxicos, como digitálicos (Caloni et al., 2012; Means; Wismer, 2018).

O carbamato, popularmente conhecido como “chumbinho”, é um pesticida restrito ao uso agrícola, mas frequentemente comercializado ilegalmente como rodenticida doméstico. Esse composto, assim como os organofosforados, inibe de forma reversível a acetilcolinesterase, resultando na hiperestimulação dos receptores muscarínicos e nicotínicos. Os sinais clínicos de intoxicação por estes compostos incluem sialorreia, diarreia, tremores musculares, hipersensibilidade e, em casos graves, convulsões e morte. Os achados de necropsia em casos de intoxicação por carbamatos e organofosforados frequentemente revelam congestão generalizada, edema e congestão pulmonar (Araújo et al., 2024; de Siqueira et al., 2015).

Os piretróides, amplamente utilizados no controle de ectoparasitas como pulgas e carrapatos, atuam no sistema nervoso, interferindo na condução dos impulsos elétricos pelos canais de sódio na membrana celular dos neurônios. Essa ação leva à hiperestimulação dos

neurônios, podendo resultar em tremores, convulsões e morte. Em casos de intoxicação por piretróides, podem ser observados congestão e edema pulmonar, congestão sistêmica e hemorragia no encéfalo (Araújo et al., 2024).

Os rodenticidas anticoagulantes, como por exemplo o dicumarínico e a varfarina, atuam por meio da inibição da enzima vitamina K1-2,3 epóxido redutase. Esse mecanismo impede a regeneração da vitamina K ativa, essencial para a síntese dos fatores de coagulação II, VII, IX e X (Gulati; Gulati, 2018). Os sinais clínicos de intoxicação variam conforme o local da lesão, frequentemente apresentando sinais inespecíficos como dispneia, hemoptise, letargia, inapetência, vômito e dificuldade respiratória. As hemorragias normalmente são extensas, generalizadas, múltiplas e podem ocorrer em diversas regiões do corpo, incluindo cavidade torácica, cavidade abdominal, pele, trato gastrointestinal, cavidade nasal e mucosas (Stroope et al, 2022).

É importante notar que os sinais clínicos causados por muitos tóxicos podem se assemelhar entre si. Além disso, a maioria dos tóxicos não provoca lesões macroscópicas ou histológicas específicas, o que exige uma investigação mais aprofundada para um diagnóstico conclusivo. Idealmente, em casos de intoxicação, o diagnóstico é estabelecido quando os sinais clínicos são compatíveis com o tóxico suspeito, os achados patológicos sustentam essa suspeita e os testes analíticos confirmam a presença do tóxico nos tecidos em níveis compatíveis com intoxicação (Gwaltney-Brant, 2016). Portanto, a observação do histórico clínico e epidemiológico, associada aos achados anatomopatológicos de animais possivelmente intoxicados, é essencial para direcionar as suspeitas e o exame toxicológico, que em conjunto proporcionam um diagnóstico definitivo assertivo.

2.3 Intoxicação por aceturato de diminazeno

O aceturato de diminazeno, conhecido popularmente como " Berenil[®] ", é um medicamento veterinário que pertence à classe das diamidinas aromáticas, caracterizado por dois grupos aminofenil conectados por uma ponte de triazeno. Desde sua introdução, aproximadamente em 1955, tem sido utilizado no tratamento de infecções parasitárias, como

babesiose e tripanossomose, em diversas espécies animais. Mesmo após mais de seis décadas, continua a ser a primeira escolha para o tratamento da babesiose canina em regiões endêmicas, especialmente na África (Khristianovsky & Belimenko, 2021; Kuriakose et al., 2014; Qaradakhi et al., 2020).

O aceturato de diminazeno tem sido investigado por sua capacidade de ativar a via alternativa do sistema renina-angiotensina (SRA), atuando na modulação da enzima conversora de angiotensina 2 (ECA2). Essa modulação aumenta a conversão de angiotensina II (Ang II) em angiotensina (1-7), um peptídeo associado a efeitos vasodilatadores, consequentemente cursando com redução da pressão arterial (Kuriakose & Uzonna, 2014; Qaradakhi et al., 2020). A angiotensina (1-7) atua predominantemente por meio da ativação do receptor Mas (MasR), estimulando efeitos como vasodilatação e produção de óxido nítrico (NO) (Phillips; de Oliveira, 2008; Laroux et al., 2001). Contudo, em casos de vasodilatação excessiva, pode haver desestabilização do equilíbrio hemodinâmico, resultando em hipotensão severa e hipóxia tecidual.

Embora eficaz, o aceturato de diminazeno é conhecido por sua toxicidade, mesmo em doses terapêuticas, e que frequentemente se manifesta como efeitos adversos no sistema nervoso central (SNC). A neurotoxicidade pode estar diretamente relacionada à dosagem e à administração repetida, resultando em efeitos cumulativos do fármaco (Oliveira, Freitas, 2015; Brolo et al., 2015). Casos de intoxicação por diminazeno foram documentados em várias espécies, incluindo camelídeos (Seixas et al., 2017), camundongos (Oliveira & Silva, 2022) e cães (Flores et al., 2014; Han et al., 2014). Em casos de intoxicação por diminazeno observa-se hemorragias e necrose fibrinoide no tronco encefálico. Essas alterações são relevantes em diferentes espécies, como os cães e camelídeos. A necrose fibrinoide se caracteriza pela hialinização das paredes vasculares e ocasionalmente é acompanhada por edema perivascular e infiltrado inflamatório. Nos camelídeos também pode-se observar achatamento dos giros cerebrais e herniação do cerebelo (Flores et al., 2014; Seixas et al., 2017).

Um estudo analisou um caso bem-sucedido de tratamento de intoxicação por diminazeno em um cão. O animal, que apresentava quadro de babesiose e anemia, foi tratado com transfusão de sangue total, seguida de uma dose IM de aceturato de diminazeno de 3,5 mg/kg. Após dois dias, o cão apresentou ataxia, nistagmo e convulsões ocasionais. Inicialmente,

foi administrado diazepam 1 mg/kg, IV e infusão de solução salina. Contudo, os sinais clínicos pioraram, levando à administração de fenobarbital 6 mg/kg, IV e succinato de metilprednisolona 30 mg/kg, IV, ambas duas vezes ao dia. Após essa terapia, os sinais neurológicos diminuíram, e as doses de fenobarbital e metilprednisolona foram gradualmente ajustadas para 2 mg/kg e 10 mg/kg, respectivamente. Após quatro semanas de tratamento, todas as medicações foram interrompidas, e o cão alcançou um estado clínico normal, exceto por uma leve ataxia residual (Han et al., 2014). É fundamental ressaltar que não existe um antídoto específico para essa intoxicação, e cada caso deve ser avaliado individualmente.

2.3.1 Patogênese e diagnósticos diferenciais da necrose fibrinoide

A necrose fibrinoide é uma alteração patológica que ocorre na parede dos vasos sanguíneos, caracterizada pela deposição de fibrina, conferindo um aspecto hialino e homogêneo aos tecidos afetados. Descrita inicialmente por Neumann em 1880, essa lesão também está associada a processos inflamatórios, como nas síndromes vasculíticas, e é considerada um marcador importante de dano vascular. Histologicamente, a necrose fibrinoide apresenta perda da estrutura celular e da membrana basal capilar, geralmente acompanhada por trombose e infiltrado inflamatório, sugerindo uma resposta inflamatória significativa (Bajema, Bruijn 2000; Rosenblum, 2008).

Em cães, a necrose fibrinoide pode ser observada em diferentes doenças, como a leptospirose, onde é associada ao dano vascular disseminado. Essa alteração se caracteriza pela deposição de material fibrinoide nas paredes dos vasos sanguíneos, levando à perda da integridade vascular e contribuindo para o desenvolvimento de hemorragias. Em casos hiperagudos, embora as manifestações hemorrágicas sejam evidentes, a necrose fibrinoide é considerada a principal responsável pelas hemorragias pulmonares observadas, em vez de um distúrbio primário de coagulação. Além disso, cães com uremia também podem apresentar necrose fibrinoide, que afeta arteríolas e artérias musculares em diversas regiões, como o sistema gastrointestinal e os rins (Rissi & Brown, 2014).

Essa lesão é também observada em condições de hipertensão severa, onde a elevação abrupta da pressão arterial causa danos às células endoteliais e aumenta a permeabilidade vascular. Como resultado, proteínas plasmáticas, incluindo fibrinogênio, extravasam e se convertem em fibrina, promovendo a deposição desse material nas paredes de pequenas artérias e arteríolas. Esse processo é particularmente comum em órgãos de alto fluxo sanguíneo, como o cérebro, onde a necrose fibrinoide está associada à formação de aneurismas miliares e ao risco aumentado de hemorragias cerebrais, especialmente em pacientes com hipertensão crônica. Estudos experimentais em modelos animais demonstram que elevações abruptas da pressão arterial podem, por si só, causar necrose fibrinoide, independentemente da presença de outros fatores circulantes, o que reforça o papel direto da hipertensão na degeneração das paredes arteriolas e na predisposição a hemorragias (Rosenblum, 2008).

Nos casos de intoxicação por diminazeno, observa-se frequentemente necrose fibrinoide nos vasos do tronco encefálico, acompanhada por hemorragia e infiltrado inflamatório predominantemente neutrofílico (Flores et al., 2014; Seixas et al., 2017). Embora o exato mecanismo dessa lesão ainda não esteja completamente elucidado, fatores como hipotensão severa e hipóxia tecidual podem desencadear dano endotelial significativo, levando à deposição de fibrina e à ruptura da integridade vascular. Além disso, a hemorragia observada nesses casos pode contribuir para agravar a disfunção microvascular. Estudos adicionais são necessários para compreender de forma mais detalhada a fisiopatogenia envolvida na necrose fibrinoide em intoxicações por diminazeno, especialmente no contexto de comprometimento hemodinâmico sistêmico e respostas inflamatórias locais.

A necrose fibrinoide em cães é, portanto, considerada uma condição multifatorial e pode ser diagnosticada pela coloração de H&E, devendo ser interpretada em conjunto com as alterações clínicas, histórico, demais achados histopatológicos e análise toxicológica, quando presente. Nos casos de intoxicação por diminazeno especificamente, não há uma definição exata do mecanismo de formação da necrose fibrinoide.

2.4 Avaliação toxicológica

Os laboratórios de toxicologia não possuem uma única "triagem toxicológica" capaz de identificar todos os tóxicos conhecidos. Dessa forma, é necessário realizar ensaios individuais direcionados, com base nas suspeitas, para guiar os exames (Gwaltney-Brant, 2016). Os métodos analíticos em toxicologia envolvem uma série de técnicas que auxiliam na identificação e quantificação de substâncias tóxicas nas amostras. Entre os métodos mais comuns estão a inspeção visual, bioensaios, reações químicas, espectrometria de massa e cromatografia (Gwaltney-Brant, 2016; Romano et al., 2020).

A inspeção visual é utilizada para identificar contaminantes visíveis, como plantas ou algas tóxicas. Os bioensaios utilizam organismos vivos para detectar agentes tóxicos, embora sejam menos usados atualmente devido à evolução das técnicas analíticas, sendo aplicados em casos específicos, como na detecção de toxina botulínica por inoculação em camundongos (Gwaltney-Brant, 2016).

Reações químicas são empregadas em testes qualitativos para detectar compostos, como no caso do teste com sulfato de ferro, que indica a presença de cianeto com a formação de azul da Prússia. Além disso, a espectroscopia e a espectrofotometria permitem identificar substâncias químicas por meio da absorção de luz, baseando-se em assinaturas de comprimento de onda características (Gwaltney-Brant, 2016).

Os imunoenaios, que utilizam anticorpos para identificar toxinas, são comumente empregados em testes de triagem e, quando apresentam resultados positivos, requerem confirmação por métodos mais precisos, como a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC/MS). A espectrometria de massa, por sua vez, ioniza as amostras e separa os íons com base na relação massa/carga, permitindo a identificação rápida e precisa de substâncias tóxicas, especialmente metais e moléculas orgânicas (Gwaltney-Brant, 2016; Romano et al., 2020).

A cromatografia é uma técnica amplamente utilizada na detecção de drogas, pesticidas e outros compostos tóxicos, separando substâncias com base em suas propriedades químicas. O processo envolve a passagem de uma fase móvel através de uma fase estacionária, onde os

diferentes constituintes da amostra interagem de forma distinta com a fase estacionária, resultando em sua separação. Entre as diversas técnicas cromatográficas disponíveis, a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC/MS) são as mais frequentemente empregadas na toxicologia veterinária (Filigenzi, 2018; Gwaltney-Brant, 2016; Romano et al., 2020).

A GC/MS é considerada o padrão-ouro para análise química em toxicologia, especialmente na identificação de compostos orgânicos e voláteis, devido à sua precisão e rapidez. Por outro lado, a HPLC destaca-se por sua alta sensibilidade, sendo ideal para a detecção de baixas concentrações de substâncias tóxicas em amostras complexas, como sangue e urina. A HPLC segrega os compostos com base em suas interações com o material da coluna cromatográfica, permitindo uma identificação precisa do tóxico (Gwaltney-Brant, 2016; Romano et al., 2020). Além da HPLC, a cromatografia gasosa (GC) é amplamente utilizada, particularmente para compostos voláteis, como solventes e gases tóxicos. No entanto, a HPLC é preferida para a análise de compostos não voláteis (Romano et al., 2020).

3 RELATO DE CASO

Um cão macho, da raça Whippet, com um ano de idade, diagnosticado previamente com leishmaniose visceral canina (LVC) e tratado previamente com aceturato de diminazeno por via intramuscular e oral, foi submetido à necropsia no Setor de Patologia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (EV-UFMG) após morte aguda precedida por sinais neurológicos.

De acordo com a tutora, o cão foi resgatado da rua em outubro de 2023 e testou positivo para LVC nos exames de ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) e reação de imunofluorescência indireta (RIFI). Para o tratamento, o médico veterinário prescreveu um antiparasitário, mas não forneceu uma receita oficial com a posologia, concentração e o princípio ativo, recomendando a administração de 1 ml via oral uma vez ao dia e 1 ml via intramuscular a cada 10 dias da solução que ele havia preparado de forma artesanal. Nos dias 16 e 26 de janeiro de 2024, o animal recebeu injeções intramusculares, e nos demais dias

recebeu as doses via oral diárias. Após a morte do animal, a tutora questionou sobre a medicação e esta foi identificada como diminazeno.

A tutora relatou que no dia 30 de janeiro de 2024 o cão apresentou vômito, sialorreia e rigidez muscular, e foi levado ao veterinário. O líquido cefalorraquidiano foi colhido para análise citológica e molecular em laboratório particular. Na citologia observou-se predomínio de neutrófilos, sugerindo um processo inflamatório supurado no SNC. Foram realizados testes moleculares de reação de cadeia de polimerase (PCR) para *Neospora caninum*, *Ehrlichia* spp., *Blastomyces dermatitidis*, *Histoplasma capsulatum*, *Babesia* spp., *Cryptococcus* spp., *Coccidioides* spp., *Toxoplasma gondii*, e teste de reação de transcriptase reversa seguida de reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) para o vírus da Cinomose, sendo todos negativos. Por fim, foi recomendada tomografia computadorizada (TC) do SNC, que foi realizada no mesmo dia e não mostrou alterações. Contudo, o animal morreu no final do procedimento de TC, ainda sob anestesia e foi encaminhado resfriado para necropsia.

Macroscopicamente observou-se cianose severa e quadro congestivo acentuado e generalizado. No SNC, havia hemorragias milimétricas multifocais a coalescentes associadas a malácia no tronco encefálico, principalmente em região de ponte e bulbo (Figura 1). Também foram observados focos de hemorragias milimétricas superficiais no endocárdio ventricular esquerdo e na serosa da bexiga. Nos pulmões havia hemorragia difusa intensa e edema difuso discreto e foram observadas discretas úlceras multifocais no duodeno associadas a melena no cólon.

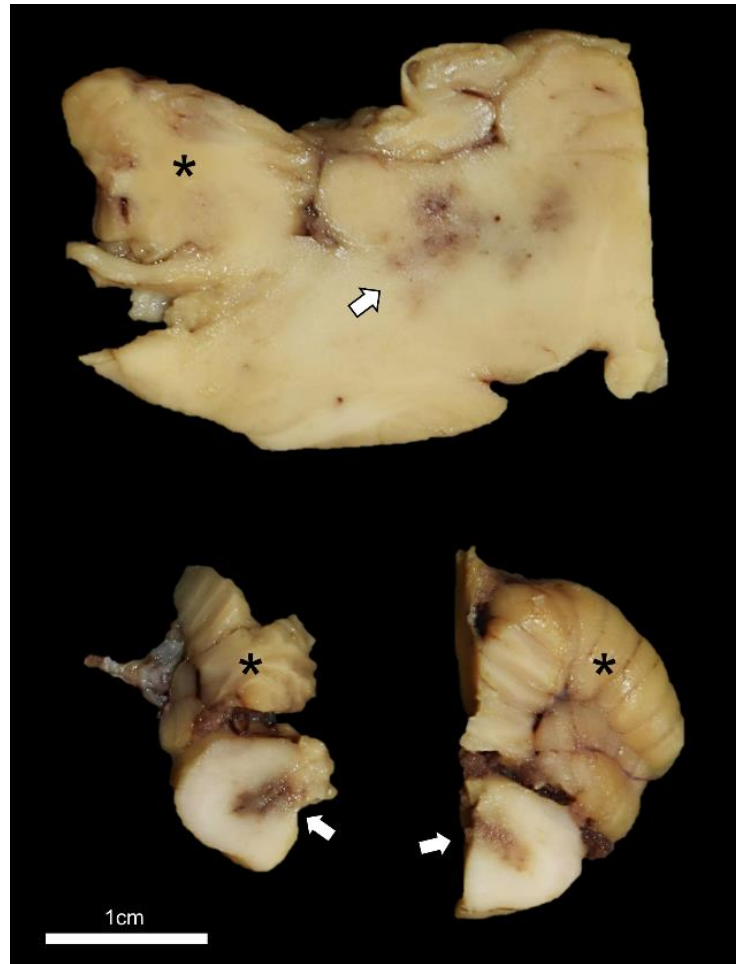


Figura 1. Intoxicação por aceturato de diminazeno em um cão: achados macroscópicos. Tronco encefálico com áreas milimétricas multifocais a coalescentes de hemorragia e malacia (seta); (* = cerebello). Barra de escala = 1 cm.

Durante a necropsia foram colhidas amostras de encéfalo, medula óssea, coração, traqueia, pulmão, fígado, baço, rins, intestino, linfonodo mesentérico, bexiga e pâncreas. As amostras foram fixadas em formalina tamponada a 10%, incluídas em parafina, cortadas em seções de 3 μ m de espessura e coradas com hematoxilina e eosina (H&E) para avaliação em microscopia óptica. Fragmentos de baço e medula óssea foram submetidos à imuno-histoquímica para detecção de antígenos de *Leishmania* spp..

Para imuno-histoquímica os tecidos foram reidratados em soluções crescentes de xilol e álcool, e a peroxidase endógena foi bloqueada com solução de peróxido de hidrogênio a 3% por 40 minutos. As reações inespecíficas foram bloqueadas com solução de leite em pó a 6%

por uma hora. Os tecidos foram incubados com um anticorpo primário policlonal anti-*Leishmania* spp. (1:500), produzido em cão, por uma hora em câmara úmida e escura à temperatura ambiente. O anticorpo secundário, conjugado com peroxidase (Envisioflex HRP, Dako), foi utilizado por 30 minutos à temperatura ambiente em câmara escura. O cromógeno utilizado foi Envision Flex HRP Magenta (Dako) por 5 minutos, seguido de contracoloração com hematoxilina e desidratação em soluções crescentes de álcool e xilol. Um caso conhecido positivo foi utilizado como controle positivo.

Histologicamente, no tronco encefálico havia hemorragias multifocais a coalescentes acentuadas associadas ao infiltrado inflamatório neutrofílico intenso (Figura 2A). As arteríolas e vênulas estavam com espaço de Virchow-Robin expandido, com ocasional infiltrado inflamatório neutrofílico transmural, deposição de material eosinofílico brilhante fibrilar e amorfo na túnica média e hipertrofia do endotélio (necrose fibrinoide) (Figura 2B). No neuroparênquima adjacente havia moderada quantidade de neurônios hipereosinofílicos retraídos com cariólise e aumento das células gliais (necrose e gliose). Nas leptomeninges, por sua vez, havia hemorragia multifocal discreta a moderada. Além disso, foi observada broncopneumonia multifocal a coalescente severa associada a hemorragia pulmonar difusa intensa e nefrite intersticial linfoplasmocitária multifocal discreta. Na medula óssea, foi identificada mielite histiocítica multifocal moderada, com formas amastigotas intra-histiocíticas compatíveis com *Leishmania infantum* e com marcação positiva na imunohistoquímica. No baço observou-se congestão e hemorragia, além de macrófagos subcapsulares com marcação positiva na imunohistoquímica para *Leishmania infantum* (Figura 3).

No fígado observou-se hepatite portal linfoplasmocitária e neutrofílica multifocal discreta e congestão difusa intensa. Nos rins, identificou-se nefrite intersticial linfoplasmocitária multifocal discreta, congestão difusa intensa e áreas de hemorragia multifocal discreta a moderada. No pulmão, observou-se broncopneumonia histiocitária e neutrofílica multifocal a coalescente intensa aguda, congestão e hemorragia difusas intensas.

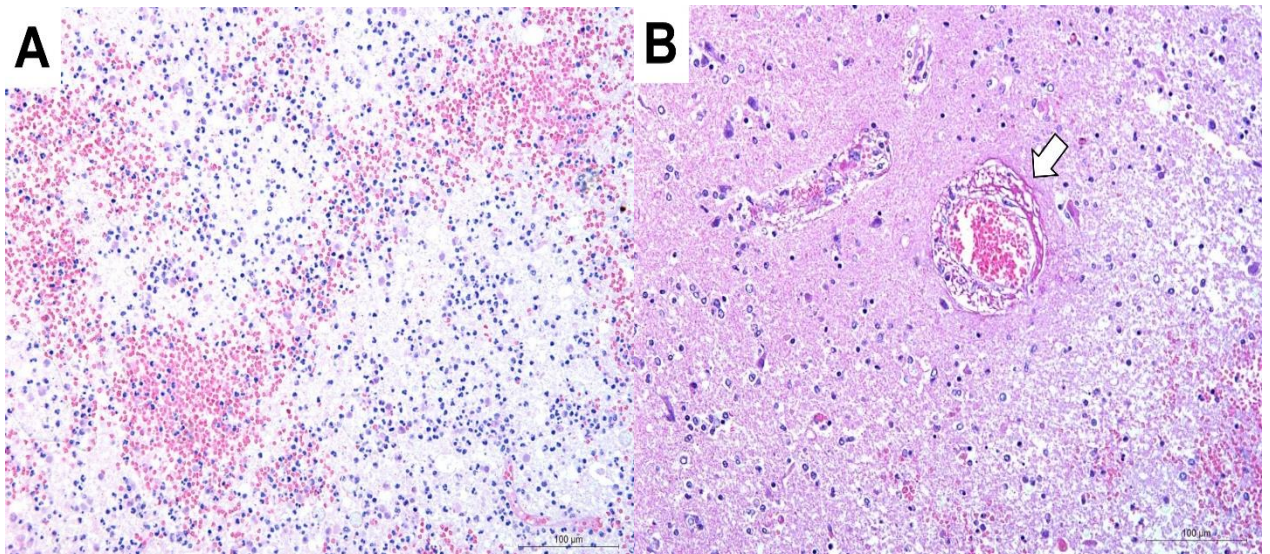


Figura 2. Intoxicação por aceturato de diminazeno em um cão: histopatologia. A) Hemorragia focalmente extensa intensa associada a infiltrado inflamatório neutrofílico acentuado, tronco encefálico, H&E, 200X. B) Arteriolas e vênulas com espaços de Virchow-Robin expandidos, infiltrado inflamatório neutrofílico transmural ocasional, deposição de material eosinofílico fibrilar e amorfo abaixo do endotélio (necrose fibrinoide), tronco encefálico, H&E, 200X.

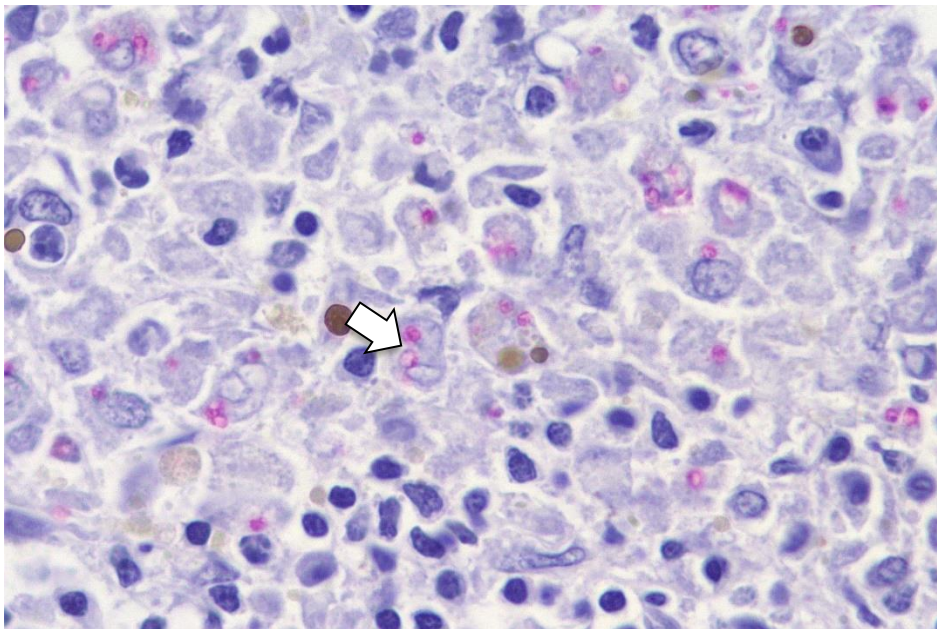


Figura 3. Intoxicação por aceturato de diminazeno em um cão: imunohistoquímica anti-*Leishmania*. Macrófagos subcapsulares com amastigotas intracitoplasmáticas imunomarcadas em magenta, baço (cromógeno magenta) (seta) 1000X.

Devido o diagnóstico sugestivo de intoxicação por diminazeno, amostras de rim e fígado também foram colhidas durante a necropsia, congeladas e posteriormente enviadas para o Laboratório de Toxicologia da Escola de Veterinária-UFMG. O processo de extração e purificação das amostras foi realizado de acordo com o procedimento previamente descrito (Mutua et al., 2018). Em um tubo Falcon de 10 ml, 2 g da amostra (fígado e rim) foram homogeneizadas com 4 ml de água deionizada, vortexadas por um minuto e colocadas em um banho ultrassônico por 10 minutos. O tubo foi então centrifugado e 1 ml do sobrenadante foi transferido para um cartucho C8 (Chromabond 6ml/500 mg, Macherey-Nagel, Düren, Alemanha) que havia sido pré-condicionado com 5 ml de água, 5 ml de metanol e 5 ml de água. Após a lavagem do cartucho com 2 ml de água, o diminazeno foi eluído com 2x 0,5 ml de uma mistura de 30% de acetonitrila e 70% de 5 mM de 1-octanosulfonato de sódio em uma solução aquosa de ácido acético a 2%. O eluato foi coletado em um frasco para análise por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

As análises cromatográficas foram realizadas segundo metodologia previamente descrita (Naidoo et al., 2009). Foi utilizado sistema HPLC (Shimadzu Prominence LC-20A) equipado com detector de arranjo de diodos (SPD-M20A) e coluna C18 (Welch Welchrom, 4,6 x 100 mm, 5 µm) com pré-coluna de mesmo material. A fase móvel foi constituída por acetonitrila e 1-octanosulfonato de sódio 5 mM em solução aquosa de 1% de ácido acético (30:70), fluxo de 1,0 ml/minuto. A detecção foi feita com 370 nm, com registro dos espectros de absorbância UV na faixa de 190 a 600 nm. O limite de detecção foi 0,5 µg/g, e o limite de quantificação foi 2,0 µg/g. As concentrações de diminazeno encontradas nas amostras de fígado e rins foram 123,7 µg/g e 36,1 µg/g, respectivamente, indicando uma concentração alta de diminazeno nesses tecidos (Figura 4 A e B).

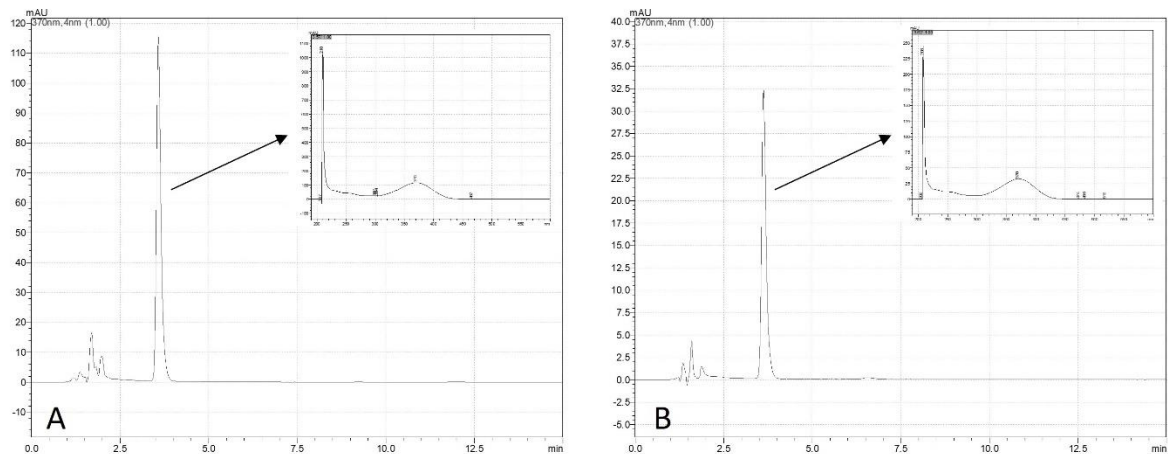


Figura 4. Intoxicação por aceturato de diminazeno em um cão: análise cromatográfica. A) Fígado: cromatograma mostrando o pico principal correspondente ao aceturato de diminazeno com tempo de retenção de 2,65 minutos e concentração de 123,7 $\mu\text{g/g}$. B) Rim: cromatograma mostrando o pico de diminazeno com tempo de retenção de 2,65 minutos e concentração de 36,1 $\mu\text{g/g}$. O canto superior direito de cada gráfico exibe um espectro de absorção UV-Vis (190-600 nm) com máxima absorção próxima a 370 nm, característico do diminazeno, confirmando a identidade do composto.

3.1 Discussão

Este estudo relata um caso de intoxicação por aceturato de diminazeno em um cão, fornecendo contribuições com caracterização clínica, patológica e toxicológica, e aprimorando a compreensão dessa intoxicação relativamente desconhecida na medicina veterinária.

O aceturato de diminazeno é conhecido por causar danos encefálicos em cães, embora a fisiopatogenia desse processo ainda não esteja completamente elucidada. Os diagnósticos diferenciais para as lesões observadas no sistema nervoso central (SNC) incluem-se infecções bacterianas, virais, fúngicas e parasitárias, além de outras condições tóxicas e inflamatórias. No presente caso, foi realizada a coleta de líquido cefalorraquidiano (LCR) para análise citológica e molecular em um laboratório particular. Os testes moleculares de reação em cadeia da polimerase (PCR) foram negativos para *Neospora caninum*, *Ehrlichia spp.*, *Blastomyces dermatitidis*, *Histoplasma capsulatum*, *Babesia spp.*, *Cryptococcus spp.*, *Coccidioides spp.* e

Toxoplasma gondii. Além disso, o teste de reação de transcriptase reversa seguido de PCR (RT-PCR) para o vírus da cinomose também foi negativo. Esses resultados foram cruciais para descartar uma etiologia infecciosa e reforçar a toxicidade direta pelo diminazeno, o que foi corroborado pelo exame toxicológico dos tecidos, que revelou concentrações anormalmente elevadas do fármaco.

Além de seu uso como antiparasitário, o aceturato de diminazeno também tem sido estudado por sua capacidade de modular a atividade da enzima conversora de angiotensina 2 (ECA2). Ele é uma molécula pequena com uma estrutura química semelhante ao ativador da ECA2 conhecido como xantona (XNT 18, 19) e promove a produção de um peptídeo vasodilatador (Qaradakhi et al., 2020).

A ECA2 é uma enzima crucial no sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), que regula a pressão arterial, o equilíbrio de fluidos e a função cardiovascular. A ECA2 contrabalança os efeitos vasoconstritores e pró-inflamatórios da enzima conversora de angiotensina (ECA) e da angiotensina II. A ECA2 converte a angiotensina II, um potente vasoconstritor, em angiotensina (1-7), que possui efeitos vasodilatadores e anti-inflamatórios. Esse processo é essencial para manter o equilíbrio hemodinâmico e proteger os vasos sanguíneos de danos (Kuriakose & Uzonna, 2014; Phillips & De Oliveira, 2008; Qaradakhi et al., 2020; Xu et al., 2011).

Quando a atividade da ECA2 é modulada pelo aceturato de diminazeno, há um aumento potencial na produção de angiotensina 1-7 (Qaradakhi et al., 2020), o que pode levar a uma redução na pressão arterial e desestabilizar o equilíbrio hemodinâmico. A vasodilatação excessiva pode resultar em hipotensão significativa, causando lesão endotelial e hipoperfusão tecidual. Além disso, a angiotensina 1-7 exerce seus efeitos biológicos por meio da ativação do receptor Mas. A ativação do receptor Mas é conhecida por induzir a produção de óxido nítrico (NO) nas células endoteliais (Phillips & De Oliveira, 2008). O NO, por sua vez, é um importante modulador da cascata inflamatória (Laroux et al., 2001). Portanto, a ativação excessiva da ECA2, angiotensina 1-7 e do receptor Mas pode levar a lesões endoteliais e inflamação.

Alguns estudos correlacionam a toxicidade do aceturato de diminazeno no sistema nervoso central (SNC) com a dosagem, indicando que doses repetidas podem levar à toxicidade

no SNC devido a efeitos cumulativos. Pesquisas mostram que o aceturato de diminazeno se liga as proteínas plasmáticas e é amplamente distribuído pelo corpo, mas ainda não está claro como isso afeta as concentrações teciduais no cérebro ou influencia os mecanismos de transporte na barreira hematoencefálica (Miller et al., 2005). É importante notar que o animal deste caso recebeu doses orais diárias do medicamento, além de duas doses intramusculares, favorecendo a intoxicação.

Após a administração intramuscular, o composto é rapidamente distribuído e armazenado no fígado, seguido por uma fase terminal mais lenta, durante a qual o fármaco é redistribuído para tecidos periféricos e/ou excretado pelos rins (Miller et al., 2005). Os valores de aceturato de diminazeno observados no fígado e rins do cão deste estudo indicam uma concentração anormalmente alta do fármaco, o que é consistente com casos relatados de intoxicação. Estudos anteriores mostraram que concentrações significativamente mais baixas são observadas no fígado ($12,91 \pm 2,71 \mu\text{g/g}$) e rins ($12,91 \pm 2,71 \mu\text{g/g}$) 240 horas após o tratamento com a dose terapêutica recomendada de 3,5 mg/kg (Okpara et al., 2021).

A intoxicação por aceturato de diminazeno já foi documentada em diferentes espécies, incluindo camelídeos, camundongos e cães. Consistente com as observações de outros estudos, o animal deste relato apresentou sinais clínicos neurológicos, hemorragia e necrose fibrinoide nos vasos do tronco encefálico, edema e hemorragia pulmonar, linfadenomegalia congestiva e hemorragias em outros órgãos (Brolo et al., 2015; Flores et al., 2014; Han et al., 2014; Seixas et al., 2017; Kuriakose et al., 2012).

No Brasil, o aceturato de diminazeno é vendido livremente e amplamente utilizado na medicina veterinária, sendo frequentemente encontrado em estabelecimentos agropecuários e veterinários. Em contraste, nos Estados Unidos, o uso do aceturato de diminazeno é proibido pela FDA (Food and Drug Administration) (Flores et al., 2014). Até o momento, não há relatos de um antídoto específico para a intoxicação por diminazeno. Assim, o tratamento deve concentrar-se no manejo sintomático, priorizando a estabilização do paciente e o alívio dos sinais clínicos.

No presente caso, a correlação entre o quadro clínico de sinais neurológicos, os achados anatomopatológicos e os resultados dos exames toxicológicos confirmam o diagnóstico de intoxicação por aceturato de diminazeno.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo teve como objetivo descrever os aspectos patológicos e toxicológicos da intoxicação por aceturato de diminazeno em um cão tratado para leishmaniose visceral canina, ampliando o conhecimento sobre os efeitos adversos e as alterações anatomopatológicas induzidas por esse fármaco na medicina veterinária.

Os achados anatomopatológicos incluíram um quadro de congestão generalizada e hemorragias associadas à malácia no tronco encefálico. Histologicamente, o tronco encefálico apresentou hemorragias, necrose fibrinoide em arteríolas e vênulas, e infiltrado inflamatório neutrofílico intenso. Esses achados são consistentes com descrições previamente relatadas na literatura e reforçam a importância do exame anatomopatológico para identificação de lesões em casos de intoxicação. Adicionalmente, a análise toxicológica evidenciou concentrações elevadas de diminazeno nos tecidos, corroborando o diagnóstico de intoxicação e destacando a relevância de exames laboratoriais complementares na confirmação diagnóstica.

Este trabalho enfatiza a necessidade de incluir a intoxicação por diminazeno no diagnóstico diferencial de lesões encefálicas em cães tratados com este antiparasitário. A correlação entre histórico clínico, achados anatomopatológicos e exame toxicológico mostrou-se essencial para a elucidação de casos dessa natureza. Portanto, o presente estudo contribui para a literatura científica ao detalhar as manifestações clínicas, anatomopatológicas e laboratoriais da intoxicação por diminazeno.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, D. S.; SANTOS, A. da S.; TOSTES, R. A.; MIGUEL, M. P.; MENEZES, L. B. Application of legal veterinary medicine: Main toxic agents versus real cases of intentional intoxication in domestic animals analyzed in criminal expertise in central Brazil. *Forensic Science International: Animals and Environments*, v. 5, 2024.

<https://doi.org/10.1016/j.fsiae.2024.100087> .

BAJEMA, I. M.; BRUIJN, J. A. What stuff is this! A historical perspective on fibrinoid necrosis. *Journal of Pathology*, v. 191, p. 235-238, 2000. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9896\(0000\)9999:9999<N/A::AID-PATH610>3.0.CO;2-I](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9896(0000)9999:9999<N/A::AID-PATH610>3.0.CO;2-I).

BROLO, D.; BISSO, A.; KRAUSPENHA, C.; ALVES DA, A. Intoxicação por aceturato de diminazeno em cães: o que é preciso saber? Toxicity of diminazene aceturate to dogs: what do you need to know? *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 34, n. 7, p. 667–674, 2014.

<https://doi.org/10.1590/S0100-736X2014000700011>

CALONI, F.; CORTINOVIS, C.; PIZZO, F.; RIVOLTA, M.; DAVANZO, F. Epidemiological study (2006-2012) on the poisoning of small animals by human and veterinary drugs. *Veterinary Record*, v. 174, n. 9, p. 222, 2014.

<https://doi.org/10.1136/vr.102107>.

CALONI, F.; CORTINOVIS, C.; RIVOLTA, M.; DAVANZO, F. Animal poisoning in Italy: 10 years of epidemiological data from the Poison Control Centre of Milan. *Veterinary Record*, v. 170, n. 16, p. 415, 2012a. <https://doi.org/10.1136/vr.100210>.

DE SIQUEIRA, A., SALVAGNI, F. A., YOSHIDA, A. S., GONÇALVES-JUNIOR, V., CALEFI, A. S., FUKUSHIMA, A. R., SPINOSA, H. DE S., & MAIORKA, P. C. (2015). Poisoning of cats and dogs by the carbamate pesticides aldicarb and carbofuran. *Research in Veterinary Science*, v. 102, p. 142-149, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2015.08.006>.

FILIGENZI, M. Analytical toxicology and sample submission requirements. In: *Veterinary Toxicology: Basic and Clinical Principles*, 3rd ed. Elsevier, p. 1119-1137, 2018.

<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811410-0.00081-7>.

FLORES, M. M.; PEREIRA, P. R.; MAZZANTI, A.; KOMMERS, G. D.; FIGHERA, R. A. Aspectos epidemiológicos, clínicos e anatomopatológicos da intoxicação por aceturato de diminazeno em cães. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 34, n. 7, 2014.

<https://doi.org/10.1590/S0100-736X2014000700011>.

GONÇALVES, G.; CAMPOS, M. P. de; GONÇALVES, A. S.; FIGUEIREDO, F. B. Therapeutic success and failure in using miltefosine to treat dogs naturally infected with *Leishmania infantum*. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria*, v. 33, n. 1, 2024.

<https://doi.org/10.1590/S1984-29612024012>.

GULATI, S.; GULATI, A. Anticoagulant rodenticide poisoning. *Indian Journal of Medical Specialities*, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.injms.2018.04.010>.

GWALTNEY-BRANT, S. M. Veterinary forensic toxicology. *Veterinary Pathology*, v. 53, n. 5, p. 1067-1077, 2016. <https://doi.org/10.1177/0300985816641994>.

HAN, D.; YOON, W. K.; HYUN, C. Cerebellar encephalopathy from diminazene aceturate (beneril) toxicity in a dog. *Korean Journal of Veterinary Research*, v. 54, n. 3, p. 193-196, 2014. <https://doi.org/10.14405/kjvr.2014.54.3.193>.

HUMM, K.; GREENSMITH, T. Intoxication in dogs and cats: A basic approach to decontamination. *In Practice*, v. 41, n. 7, p. 301-308, 2019. <https://doi.org/10.1136/inp.15062>.

JEAN-MORENO, V.; ROJAS, R.; GOYENECHE, D.; COOMBS, G. H.; WALKER, J. *Leishmania donovani*: Differential activities of classical topoisomerase inhibitors and antileishmanials against parasite and host cells at the level of DNA topoisomerase I and in cytotoxicity assays. *Experimental Parasitology*, v. 112, n. 1, p. 21-30, 2006.

<https://doi.org/10.1016/j.exppara.2005.08.014>.

KHRISTIANOVSKY, P.; BELIMENKO, V. Technology for the use of reduced doses of diminazene aceturate for the treatment of pet babesiosis. *KnE Life Sciences*. 2021.

<https://doi.org/10.18502/cls.v0i0.8953>

KURIAKOSE, S.; MULEME, H. M.; ONYILAGHA, C.; SINGH, R.; JIA, P.; UZONNA, J. E. Diminazene aceturate (Berenil) modulates the host cellular and inflammatory responses to

Trypanosoma congolense infection. PLoS ONE, v. 7, n. 11, 2012.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0048696>

KURIAKOSE, S.; MULEME, H.; ONYILAGHA, C.; OKEKE, E.; UZONNA, J. E. Diminazene aceturate (Berenil) modulates LPS induced pro-inflammatory cytokine production by inhibiting phosphorylation of MAPKs and STAT proteins. *Innate Immunity*, v. 20, n. 7, p. 760–773, 2014. <https://doi.org/10.1177/1753425913507488>

KURIAKOSE, S.; UZONNA, J. E. Diminazene aceturate (Berenil), a new use for an old compound? *International Immunopharmacology*, v. 21, n. 2, p. 342–345, 2014.

<https://doi.org/10.1016/j.intimp.2014.05.027>

LAROUX, F. S.; PAVLICK, K. P.; HINES, I. N.; KAWACHI, S.; HARADA, H.; BHARWANI, S.; HOFFMAN, J. M.; GRISHAM, M. B. Role of nitric oxide in inflammation. *Acta Physiologica Scandinavica*, v. 173, n. 1, p. 113–118, 2001.

<https://doi.org/10.1046/j.1365-201X.2001.00891.x>

MEANS, C.; WISMER, T. An overview of trends in animal poisoning cases in the United States: 2011 to 2017. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, v. 48, n. 6, p. 899–907, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2018.07.010>

MEDEIROS, R. J.; MONTEIRO, F. O.; SILVA, G. C.; NASCIMENTO JÚNIOR, A. Casos de intoxicações exógenas em cães e gatos atendidos na Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense durante o período de 2002 a 2008. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 39, n. 7, p. 2105–2110, 2009. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782009005000151>

MILLER, D. M.; SWAN, G. E.; LOBETTI, R. G.; JACOBSON, L. S. The pharmacokinetics of diminazene aceturate after intramuscular administration in healthy dogs. *Journal of the South African Veterinary Association*, v. 76, n. 3, p. 146–150, 2005.

<https://doi.org/10.4102/jsava.v76i3.416>

NEAGU, A. M.; DIAC, E.; CODEA, A. R.; NAGY, A.; OROS, A.; DREANCĂ, A. Incidence of pet intoxications in the emergency clinic, Faculty of Veterinary Medicine Cluj-Napoca. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-*

Napoca. Veterinary Medicine, v. 78, n. 1, p. 101–108, 2021.

<https://doi.org/10.15835/buasvmcn-vm:2020.0036>

OKPARA, M.; ONYEACHONAM, F. O.; ONYEYILI, P. A.; SAGANUWAN, A. S.; AGBO, O. J. Diminazene aceturate-concentrations in tissues of dogs co-treated with oxtetracycline long acting. JoSVAS, v. 1, p. 41–46, 2021.

<https://doi.org/10.54328/covm.josvas.2021.010a>

OLIVEIRA, G. L. da S.; FREITAS, R. M. de. Diminazene aceturate - An antiparasitic drug of antiquity: Advances in pharmacology & therapeutics. In: Pharmacological Research, v. 102, p. 138-157, 2015a. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2015.10.005>.

OLIVEIRA, G. L. da S.; SILVA, A. P. dos S. C. L. da. Evaluation of the non-clinical toxicity of an antiparasitic agent: diminazene aceturate. Drug and Chemical Toxicology, v. 45, n. 5, p. 2003-2013, 2022. <https://doi.org/10.1080/01480545.2021.1894741>.

PHILLIPS, M. I.; DE OLIVEIRA, E. M. Brain renin angiotensin in disease. Journal of Molecular Medicine, v. 86, n. 6, p. 715–722, 2008. <https://doi.org/10.1007/s00109-008-0331-5>

QARADAKHI, T.; GADANEC, L. K.; MCSWEENEY, K. R.; TACEY, A.; APOSTOLOPOULOS, V.; LEVINGER, I.; RIMAROVA, K.; EGOM, E. E.; RODRIGO, L.; KRUZLIAK, P.; KUBATKA, P.; ZULLI, A. The potential actions of angiotensin-converting enzyme II (ACE2) activator diminazene aceturate (DIZE) in various diseases. Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology, v. 47, n. 5, p. 751–758, 2020.

<https://doi.org/10.1111/1440-1681.13251>

RISSI, D. R.; BROWN, C. A. Diagnostic features in 10 naturally occurring cases of acute fatal canine leptospirosis. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, v. 26, n. 6, p. 799–804, 2014. <https://doi.org/10.1177/1040638714553293>

RODRIGUES GOMES, A.; MASINI SAMPAIO, F.; ASSUNÇÃO MUSSEL, P.; CRISTINA ZIMMERMANN FRANCO, D. Importância clínica da intoxicação por drogas de abuso na Medicina Veterinária. Clinical Importance of Drug Intoxication of Abuse in Veterinary Medicine, v. 2, p. 112–118, 2022. ISSN 2675-4711

ROMANO, M. C.; DORMAN, D. C.; GASKILL, C. L. Postmortem veterinary toxicology: Animal death investigation and the veterinary diagnostic laboratory. *WIREs Forensic Science*, v. 2, n. 5, 2020. <https://doi.org/10.1002/wfs2.1375>

ROSENBLUM, W. I. Fibrinoid necrosis of small brain arteries and arterioles and miliary aneurysms as causes of hypertensive hemorrhage: A critical reappraisal. *Acta Neuropathologica*, v. 116, n. 4, p. 361–369, 2008. <https://doi.org/10.1007/s00401-008-0416-9>

SEIXAS, J. N.; ORLANDO, D. R.; WOUTERS, F.; WOUTERS, A. T. B.; VARASCHIN, M. S.; RAYMUNDO, D. L. Aspectos patológicos da intoxicação por aceturato de diminazeno em camelídeos sul-americanos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 37, n. 12, p. 1509–1513, 2017. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2017001200024>

SIROKA, Z.; SVOBODOVA, Z. The toxicity and adverse effects of selected drugs in animals - Overview. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, v. 16, n. 1, p. 181–191, 2013. <https://doi.org/10.2478/pjvs-2013-0027>

STROOPE, S.; WALTON, R.; MOCHEL, J. P.; YUAN, L.; ENDERS, B. Retrospective evaluation of clinical bleeding in dogs with anticoagulant rodenticide toxicity—A multi-center evaluation of 62 cases (2010–2020). *Frontiers in Veterinary Science*, v. 9, 2022. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.879179>.

TREMORI, T. M.; REIS, S. T. J.; MASSAD, M. R. R.; RIBAS, L. M.; FLÓREZ, L. M. M.; ROCHA, N. S. Achados necroscópicos em cães e gatos vítimas de intoxicação exógena. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v. 25, n. 1, p. 17–21, 2018. <https://doi.org/10.4322/rbcv.2018.004>

XAVIER, F. G.; RIGHI, D. A.; SPINOSA, H. de S. Fatal poisoning in dogs and cats - A 6-year report in a veterinary pathology service. *Braz. J. vet. Res. anim. Sci.*, São Paulo, v. 44, n. 4, p. 304-309, 2007. <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2007.26632>

XU, P.; SRIRAMULA, S.; LAZARTIGUES, E. ACE2/ANG-(1–7)/Mas pathway in the brain: the axis of good. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, v. 300, n. 4, p. R804–R817, 2011. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00222.2010>