

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA DE BOTUCATU
CAMPUS DE BOTUCATU

USO DA OZONIOTERAPIA COMO TERAPIA COMPLEMENTAR
EM CÃES DIAGNOSTICADOS COM PARVOVIROSE

RAFAEL FRANCHI TRALDI

Botucatu – SP
Setembro de 2019

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA DE BOTUCATU
CAMPUS DE BOTUCATU

USO DA OZONIOTERAPIA COMO TERAPIA COMPLEMENTAR
EM CÃES DIAGNOSTICADOS COM PARVOVIROSE

RAFAEL FRANCHI TRALDI

Dissertação apresentada junto ao
Programa de Pós-graduação em
Biotecnologia Animal como parte dos
requisitos para obtenção do título de
Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Stélio Pacca
Loureiro Luna

Co-orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos
Paes

Botucatu, SP

Setembro de 2019

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Traldi, Rafael Franchi.

Uso da ozonioterapia como terapia complementar em cães diagnosticados com parvovirose / Rafael Franchi Traldi. - Botucatu, 2019

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Stélio Pacca Loureiro Luna

Coorientador: Antonio Carlos Paes

Capes: 50501003

1. Cães - Doenças. 2. Parvovirose - Diagnóstico.
3. Medicina alternativa. 4. Ozônio.

Palavras-chave: Cães; Ozônio; Parvovírus canino.

RAFAEL FRANCHI TRALDI

**USO DA OZONIOTERAPIA COMO TERAPIA COMPLEMENTAR
EM CÃES DIAGNOSTICADOS COM PARVOVIROSE**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista — Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia animal.

Orientador: Prof. Dr. Stélio Pacca Loureiro Luna

Co-orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Paes

Comissão examinadora (Titulares)

Prof. Dr. Stélio Pacca Loureiro Luna
Departamento de Cirurgia e Anestesiologia
Veterinária
FMVZ – UNESP – Botucatu

Prof. Dra. Fernanda da Cruz Landim
Departamento de Reprodução Animal e
Radiologia Veterinária
FMVZ – UNESP – Botucatu

Dr. César Prado
Médico Veterinário Doutor
Doutorado pela USP – SP

Botucatu, Setembro de 2019

Comissão examinadora (Suplentes)

Prof. Assistente Doutor André Luis Filadelpho
Dep. de anatomia, Instituto de Biociência
FMVZ – UNESP – Botucatu

Dra. Carla Martins de Queiroz
Professora do Curso de Medicina Veterinária
da Faculdade de Ciências Sociais e Agrárias
de Itapeva
Doutorado pela UNESP - Botucatu

Botucatu, setembro de 2019

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais e a todos os animais, seres únicos que tanto necessitam dos nossos cuidados e que merecem respeito.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Nelson e Tânia, que sempre me deram de tudo, abstendo de parte de suas vidas para que eu e meu irmão entendêssemos o valor do estudo. Tudo que tenho hoje veio do sacrifício de vocês nessa longa jornada que é educar um filho. Gratidão eterna.

A Cibele pela paciência e por ter me acompanhado desde o início nesta jornada.

Ao meu Mestre e amigo, Professor Jean, que tanto ajudou em minha trajetória profissional, acreditando no meu potencial e me dando exemplo na forma como lida com a Medicina Veterinária.

Ao meu co-orientador, Professor Paes, que me fez ter ainda mais respeito pela sabedoria que a idade traz, fascinando todos ao seu entorno pelas marcantes características de sua forma ímpar em lecionar uma aula.

Ao meu orientador, Professor Stélio, por ter aceito essa empreitada em me orientar. Obrigado pela oportunidade e pela flexibilidade para a conclusão deste mestrado.

A Gabriela, minha amiga do Uruguai, pelo imenso apoio durante o trabalho e pelo compromisso.

Ao Ambulatório de Acupuntura da UNESP e ao Instituto Bioethicus, lugares onde cheguei pelos acasos da vida, encontrando exatamente o que procurava: a amizade.

Aos meus amigos de Botucatu que me socorreram quando mais precisei, me ajudando de alguma forma no desenrolar deste trabalho. Sem vocês realmente não teria chego até aqui. Gratidão.

Ao meu cachorro Petróleo, que ficou acordado nas madrugadas enquanto escrevia este trabalho.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

SUMÁRIO

RESUMO.....	1
ABSTRACT.....	2
CAPÍTULO 1: CONSIDERAÇÕES GERAIS	
1. INTRODUÇÃO.....	3
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	5
2.1 Parvovirose Canina	5
2.1.1 Agente etiológico - Parvovírus canino	5
2.1.2 Patogenia da Parvovirose Canina	7
2.1.3 Sinais clínicos e prognóstico	9
2.1.4 Diagnóstico e métodos de detecção do Parvovírus Canino.....	10
2.1.5 Tratamento	11
2.1.6 Estratégias profiláticas contra o vírus	12
2.2 Ozonioterapia.....	13
2.2.1 Breve histórico da Ozonioterapia.....	13
2.2.2 Conceitos básicos na produção do Ozônio.....	14
2.2.3 Efeitos biológicos da ozonioterapia	15
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	19
CAPÍTULO 2: TRABALHO CIENTÍFICO	
Resumo.....	27
Abstract.....	27
Introdução.....	28
Objetivos.....	30
Material e Métodos.....	30
Resultados.....	33
Discussão.....	36
Conclusão.....	38
Referências Bibliográficas.....	39

TRALDI, R. F. **USO DA OZONIOTERAPIA COMO TERAPIA COMPLEMENTAR EM CÃES DIAGNOSTICADOS COM PARVOVIROSE**. Botucatu – SP, 2019. 39 p. Exame geral de defesa (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu.

RESUMO

A parvovirose canina destaca-se como um dos principais agentes etiológicos nas gastroenterites infecciosas em cães jovens, apresentando alta virulência e mortalidade em decorrência da gravidade do estado clínico geral dos pacientes. Seu tratamento clínico é sintomático, principalmente através da reposição eletrolítica e do controle do vômito e diarreia. Este fato aliado ao aumento crescente do índice de óbitos, estimulou o estudo de novas abordagens terapêuticas para o desenvolvimento de novos protocolos. A Ozonioterapia se destaca neste cenário em decorrência de suas múltiplas propriedades farmacológicas, atuando como antiviral, imunoestimulatório, anti-inflamatório, analgésico, dentre outros. Neste estudo, objetivou-se avaliar a Ozonioterapia como tratamento complementar em cães que apresentaram PCR positivo de fezes para parvovirose. Para isso, 25 animais aleatoriamente divididos em 2 grupos por meio de sorteio foram avaliados, sendo 7 animais do grupo controle (GC=7) e 18 animais do grupo ozônio (GO=18). Os animais tinham até dois anos de idade, vacinados e não vacinados contra parvovirose, machos ou fêmeas, sem distinção de raça ou porte. Durante o período de tratamento, os animais tiveram o hemograma, consistência das fezes, presença ou ausência de sangue nas fezes, presença ou ausência de êmese e o desfecho, com a alta ou óbito, como parâmetros. O desfecho pode ser considerado a variável de maior relevância clínica, demonstrando diferença significativa entre os grupos, onde os animais do grupo controle tinham 20 vezes (IC 95% 2,2 – 180,9) mais chance de irem a óbito quando comparados com os animais do grupo ozônio.

Palavras-chave: ozônio, cães, parvovírus canino.

TRALDI, R. F. **USE OF OZONE AS COMPLEMENTARY THERAPY IN DOGS DIAGNOSED WITH PARVOVÍRUS**. Botucatu – SP, 2019. 39 p. Exame geral de defesa (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu.

ABSTRACT

Canine parvovirus stands out as one of the main etiological agents in infectious gastroenteritis in young dogs, presenting high virulence and mortality due to the severity of the patient's general clinical condition. Its clinical treatment is symptomatic, mainly through electrolyte replacement and control of vomiting and diarrhea. This fact, combined with the increasing death rate, has stimulated the study of new therapeutic approaches for the development of new protocols. Ozone therapy stands out in this scenario due to its multiple pharmacological properties, acting as an antiviral, immunostimulatory, anti-inflammatory, analgesic agent, among others. The aim of this study was to evaluate ozone therapy as a complementary treatment in dogs with positive stool PCR for parvovirus. For this, 25 animals randomly divided into 2 groups by lot were evaluated, being 7 animals from the control group (CG = 7) and 18 animals from the ozone group (GO = 18). The animals were up to two years old, vaccinated and unvaccinated against parvovirus, male or female, regardless of breed or size. During the treatment period, the animals had blood count, stool consistency, presence or absence of blood in the stool, presence or absence of emesis and the outcome, with discharge or death, as parameters. The outcome can be considered the most clinically relevant variable, demonstrating a significant difference between the groups, where the animals in the control group were 20 times (95% CI 2.2 - 180.9) more likely to die when compared to the animals of the ozone group.

Keywords: ozone, dogs, canine parvovirus.

Capítulo 1:
Considerações Gerais

1. INTRODUÇÃO

A parvovirose canina surge no final da década de setenta como uma variável do vírus da Panleucopenia felina, destacando-se no início da década de oitenta como um dos principais agentes etiológicos de gastroenterites infecciosas presentes em cães jovens (MORAES & COSTA, 2012). Acomete grande parte da população de cães errantes, estando relacionada com elevadas taxas de mortalidade pela alta virulência associada a déficits imunológicos dos animais infectados (BURROWS *et al.*, 1997). A enfermidade tem alta patogenicidade e apresenta sinais clínicos bem característicos, como o vômito, diarreia sanguinolenta, associados à prostração e apatia em animais jovens (APPEAL *et al.*, 1979; MORAES & COSTA, 2012). É um vírus pequeno, cerca de 20 nanômetros, formado por uma única cadeia de DNA, de simetria icosaédrica, não envelopado, resistente no ambiente e a agentes químicos (JONES *et al.*, 2000), com afinidade as células que possuem altas taxas de replicação, como as do intestino, medula óssea e miocárdio (OTTO *et al.*, 2001).

Nos primeiros anos após o surgimento da doença, atribuiu-se as altas taxas de morbidade e mortalidade à falta de imunidade de massa contra o parvovírus canino. O desenvolvimento da imunidade natural concomitante ao surgimento de vacinas, conferiram maior proteção aos cães frente esta enfermidade (MORAES & COSTA, 2012). Filhotes são mais propensos ao desenvolvimento de gastroenterites hemorrágicas pelo parvovírus, mas cães de qualquer raça ou idade podem ser acometidos (PARRISH, 1999; MCCANDLISH, 2001; MORAES & COSTA, 2012).

A busca por técnicas terapêuticas que proporcionem novas perspectivas de tratamento aos pacientes orientam o Médico Veterinário ao aprofundamento das questões relacionadas à Medicina Complementar (COLIN, 2016). Nas últimas décadas, a Ozonioterapia vem sendo estudada de forma mais profunda e científica, a fim de propor novos protocolos de tratamentos complementares nas mais diversas patologias (BOCCI, 2011). Pode-se dizer que as propriedades terapêuticas e biológicas do Ozônio permitem sua aplicação num amplo campo de especialidades, não sendo considerado um tratamento livre de contraindicações e efeitos adversos, mas quando utilizado de forma a respeitar suas concentrações adequadas e vias de aplicação, é seguro e não tóxico

(BOCCI, 2005). Na medicina humana adquire grande relevância devido à sua eficácia contra doenças infecciosas de origem bacteriana ou viral, patologias do sistema imunológico, além daquelas onde há pobre oferta de oxigênio nos tecidos, bem como patologias associadas ao déficit de defesas antioxidantes e doenças degenerativas (ZAMORA, 2012).

A molécula de ozônio reage com uma grande quantidade de compostos orgânicos e inorgânicos, o que gera uma cadeia de respostas bioquímicas, farmacológicas e neuro-imunológicas responsáveis por toda terapêutica da técnica (KOWALTOWSKI *et al.*, 2009). Seu grande poder oxidante é superado na natureza apenas pelo fluoreto e persulfato. Esse efeito oxidante pode ter grande valia frente a diversas patologias, haja visto que o ozônio é produzido naturalmente no organismo, como nos processos de ativação de anticorpos, o que faz dele uma molécula biológica (BULIES, 1997). Este estímulo oxidante do ozônio é leve e transitório, quando administrado em concentrações adequadas, acabando por incrementar a resposta antioxidante no organismo num efeito descrito como efeito hormético (GOLDMAN, 1996). Então, o ozônio além de ser descrito como uma molécula biológica que auxilia a resposta antioxidante do paciente, melhora a circulação sanguínea, atua frente a agentes infecciosos, em processos inflamatórios, melhora a síntese de ATP e otimiza o metabolismo celular (BOCCI, 2008). O estresse oxidativo tem sido implicado na patogênese de diversas doenças e é definido quando se perde o equilíbrio entre as defesas antioxidantes do organismo frente aos radicais livres circulantes (SEMBA & TANG, 1999).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Parvovirose canina

2.1.1 Agente etiológico - Parvovírus canino

A Parvovirose canina surge no final da década de setenta como uma variável do vírus da Panleucopenia felina, destacando-se no início da década de oitenta como um dos principais agentes etiológicos nas gastroenterites infecciosas presentes em cães jovens (MORAES & COSTA, 2012). Acomete grande parte da população de cães errantes, estando relacionada com elevadas taxas de mortalidade pela alta virulência associada a déficits imunológicos dos animais infectados (BURROWS *et al.*, 1997). A parvovirose canina apresenta alta patogenicidade com um quadro clínico bem característico, desenvolvendo no animal sinais como vômito, diarreia sanguinolenta, prostração e apatia (APPEAL *et al.*, 1979; MORAES & COSTA, 2012).

É um vírus considerado pequeno, com aproximadamente 20 nm (nanômetros) de diâmetro, formado por uma única cadeia de DNA, de simetria icosaédrica e não envelopado, formado por uma cápsula proteica, resistente no ambiente e também a agentes químicos (JONES *et al.*, 2000), com tropismo por células que possuem altas taxas de replicação, como as do intestino, medula óssea e miocárdio (OTTO *et al.*, 2001).

A taxonomia do Parvovírus canino segundo *International Commite on taxonomy of vírus* (ICTV) o classifica como subtipo de uma espécie viral chamada Parvovírus felino (FPV), inserido dentro do gênero *Parvovírus*, pertencentes a subfamília *parvovirinae*, família *Parvoviridae*. A família *Parvoviridae*, na qual o CPV (*Canine Parvovirus*) está inserido, contém duas subfamílias: *Parvovirinae*, que é responsável pela afecção nos animais vertebrados; e *Densovirinae*, responsável pela afecção nos invertebrados. (VIHINEN-RANTA *et al.*, 2004).

Tabela 1 - Taxonomia do subtipo parvovirus canino. Fonte: adaptado VIHINEN-RANTA *et al.*, 2004.

Família	Subfamília	Gênero	Espécie	Subtipo/Subespécie
<i>Parvoviridae</i>	<i>parvovirinae</i>	<i>parvovírus</i>	Parvovírus felino (FPV)	Subtipo Parvovírus Canino (CPV)

Pequenas alterações em determinados aminoácidos da cadeia genética e da cápside viral fizeram com que o vírus apresentasse variações antigênicas, acarretando no surgimento de novos subtipos virais, sendo mais comumente encontrados o CPV-2a, CPV-2b e CPV-2c (OTTO, 2001). Dentro destas alterações do Parvovírus Canino, vale ressaltar que a primeira variante do CPV-2 foi identificada no final da década de setenta e classificada como CPV-2a, tendo rápida distribuição mundial substituindo o CPV-2 (PARRISH *et al.*, 1991). Já em 1984 foi reconhecida outra variante chamada de CPV-2b (PARRISH *et al.*, 1991) e nos anos 2000, na Itália, fora identificada outra mutação classificada como CPV-2c (MARTELLA *et al.*, 2004). Pesquisas sobre modelo atual de evolução e patogênese do CPV indicam um papel decisivo do receptor chamado de transferrina (TfR) nas partículas virais, mecanismo fundamental descrito na patogenia do CPV (HUEFFER *et al.*, 2003).

As variantes CPV-2a, CPV-2b e CPV-2c infectam também felinos, causando neles sinais clínicos (TRUYEN & PARRISH, 1992). Dentro da evolução genotípica do vírus, o CPV evoluiu do Parvovírus felino (FPV) onde originalmente causavam a doença apenas nos felinos por afinidade ao receptor TfR (MARTELLA *et al.*, 2004). Descobriu-se na origem do aparecimento da doença que tanto o CPV como o FPV não se replicavam nas culturas de células caninas, somente felinas. As alterações de cadeia genética e das proteínas da cápside viral originaram o CPV-2, que não tinha capacidade de infectar células felinas, e sua primeira variação, o CPV-2a, um vírus mais evoluído que possibilitava uma melhor ligação ao receptor TfR canino, desencadeando toda patogênese viral em cães. Após o aparecimento das variações antigênicas PVC-2b e PVC-2c, houve uma reconquista da capacidade de virulência aos felinos, causando sinais clínicos tanto em cães como em gatos (HUEFFER & PARRISH, 2003).

No Brasil o subtipo com maior predominância é o CPV-2b (COSTA *et al.*, 2005), diferente do Uruguai onde o subtipo PVC-2c é mais comumente isolado (PÉREZ *et al.*, 2007). Casos de co-infecção em animais com várias estirpes do parvovirus já foram relatadas tanto em cães como em gatos, o que mostra a rápida dinâmica evolutiva no que se diz respeito a melhora de sua capacidade de disseminação, infecção e resistência ambiental decorrente dos polimorfismos genéticos (SHACKELTON *et al.*, 2004).

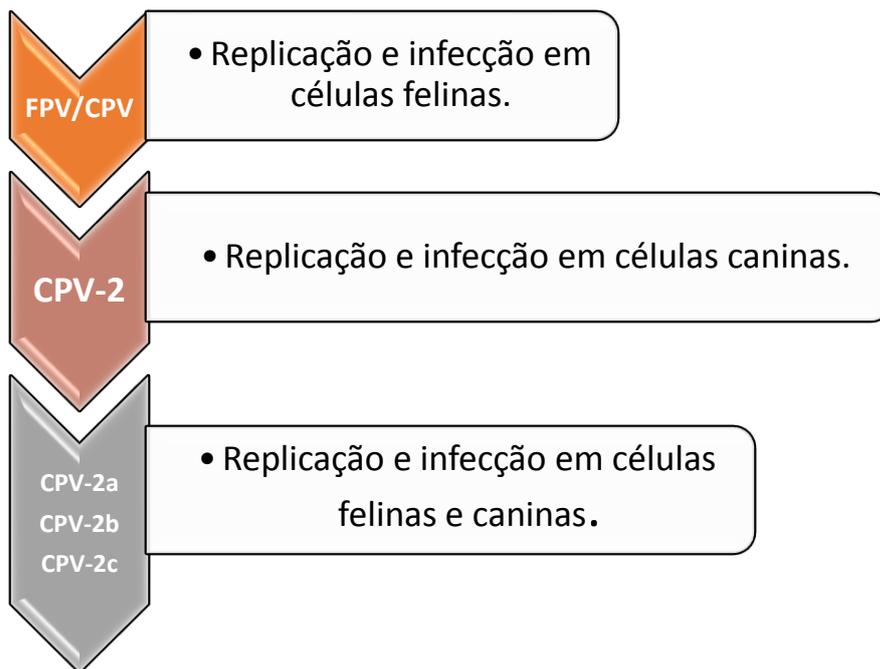


Figura 1 - Modelo de evolução genotípica do CPV. Fonte: adaptado TRUYEN & PARRISH, 1992

2.1.2 Patogenia da Parvovirose Canina

A patogenia da Parvovirose Canina é condicionada a 3 fatores: sorotipo viral infectante, volume de partículas víricas que penetraram nas células e estado vacinal do paciente (HALL & GERMAN, 2005; SELLON, 2005). O vírus necessita realizar uma série de interações até conseguir se replicar e infectar seu hospedeiro. Estas interações vão desde a adesão na superfície celular até a interação com o núcleo (COTMORE & TATTERSALL, 2007). Todos os vírus do gênero *Parvovirus* necessitam sofrer endocitose mediada por um receptor chamado de transferrina (TfR), expressos de forma acentuada em células com alto poder mitótico (VIHINEN-RANTA *et al.*, 2004). Portanto, após este complexo CPV – TfR se estabelecer, a endocitose é desencadeada rapidamente, iniciando todos os mecanismos de infecção (TATTERSALL, 2007). Após isso ele é transportado ao núcleo pelos microtúbulos (processo dependente de uma proteína específica chamada Dineína) e inicia o processo de replicação intranuclear com posterior destruição desta célula alvo (MCCARTNEY, 1984; MCCANDLISH, 2001).

A exposição oro-nasal ao vírus presente em ambientes contaminados determina o principal meio de contaminação desta doença (CARMICHAEL, 2005; LAMM, 2008; PATEL, 2009, MORAES & COSTA, 2012). Após a entrada do vírus no organismo, o sítio de replicação inicial acontece nos tecidos linfóides presentes na orofaringe, linfonodos mesentéricos e timo (MEUNIER *et al.*, 1985a). A viremia primária que se sucede perdura por até 5 dias, o que facilita a disseminação do vírus para outros tecidos que possuem altas taxas de replicação celular (MCCARTNEY, 1984; MCCANDLISH, 2001). Essa disseminação se dá por via hematogena, e os tecidos afetados neste momento incluem a medula óssea, tecido linfopoiético e epitélio intestinal, principalmente do jejuno e íleo (GUILFORD, 1996; MCCAWE & HOSKINS, 2006). Após a replicação nestes tecidos, uma carga viral de alta intensidade resulta em uma viremia secundária, disseminando o vírus no tecido do miocárdio, mucosa oral e intestino (MCCAWE & HOSKINS, 2006). Vale ressaltar que a viremia pode persistir por vários meses, mesmo após o vírus desaparecer do intestino (DECARO *et al.*, 2007b).

O CPV se replica nas zonas de alta atividade mitótica do intestino, degenerando rapidamente as glândulas da cripta intestinal, que por sua vez não são substituídas levando a déficits nas capacidades absorptivas da mucosa e aumento de sua permeabilidade, favorecendo a translocação de bactérias piogênicas (MCCAWE & HOSKINS, 2006). Mesmo antes do aparecimento dos sinais clínicos, a excreção viral nas fezes pode iniciar-se a partir do 3^a dia, alcançando seu pico na fase aguda da doença, atingida entre o 5^a e 6^a dia pós-infecção (CARMICHAEL *et al.*, 1981; MEUNIER *et al.*, 1985a). A partir do 7^a dia pós-infecção, a quantidade de vírus excretado diminui drasticamente por conta do aparecimento de anticorpos neutralizantes séricos, atuando como anticorpos intestinais locais (GUILFORD, 1996).

O óbito dos animais infectados pelo Parvovírus pode vir decorrente da desidratação, choque hipovolêmico, choque endotóxico, além de acentuado desequilíbrio eletrolítico. Agentes bacterianos como *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Clostridium spp.* e *Campylobacter spp.* estão relacionados na translocação bacteriana em casos graves de infecção por CPV, além da liberação de endotoxinas que levam a respostas inflamatórias sistêmicas (PRITTIE, 2004). Vale ressaltar que a maioria dos casos de infecção pelo Parvovírus se

manifestam de forma inaparente ou subclínica, podendo em determinados casos constituir infecções agudas e letais (TENNANT, 2001; SELLON, 2005; MCCAWE, 2006).

2.1.3 Sinais clínicos e prognóstico

As manifestações clínicas se correlacionam com o estado imunológico do hospedeiro, idade, estado vacinal, carga viral infectante e taxa de renovação do epitélio intestinal. Estas correlações clínicas são utilizadas como fatores que acabam por determinar o prognóstico do paciente (MACINTYRE *et al.*, 1997).

Filhotes possuem maior propensão ao aparecimento das gastroenterites hemorrágicas pelo Parvovírus, mas cães de qualquer raça ou idade podem desenvolver a doença (PARRISH, 1999; MCCANDLISH, 2001; MORAES & COSTA, 2012). Nas populações de cães adultos, errantes e não vacinados, estes podem soroconverter a doença sem manifestação da sintomatologia clínica, sugerindo uma infecção branda e muita das vezes inaparente. A grande questão envolvida nesta condição de infecção sem sintomatologia é a mais rápida disseminação do vírus em animais jovens, que contraem a doença através do contato com o vírus presente nas fezes em ambientes contaminados (HOSKINS, 2004).

Três síndromes são descritas após a infecção pelo Parvovírus: imunossupressão, gastroenterite hemorrágica e sepse. A gastroenterite hemorrágica é a principal manifestação clínica da doença, apresentando diarreia amarelada, com estrias de sangue, de consistência que pode variar de pastosa à fluida, com odor desagradável e característico. O vômito pode estar ausente ou ocorrer em simultâneo com a diarreia (APPEL *et al.*, 1979; MCCANDLISH, 2001).

Os animais apresentam anorexia, letargia, prostração e febre. A barreira natural de proteção no intestino é completamente lesada, fazendo com que bactérias piogênicas entrem na circulação sanguínea agravando a imunossupressão, podendo acarretar em choque por sepse (PARRISH, 1999; MCCANDLISH, 2001; MORAES & COSTA, 2012). Alterações na contagem leucocitária são encontradas entre o 3^a e 5^a dia pós-infecção, e já no 1^a dia as alterações juntamente com a lise precoce dos linfócitos resultam em linfopenia

e, em casos graves, neutropenia com presença de neutrófilos tóxicos (MACARTNEY *et al.*, 1984a).

A miocardite que alguns animais apresentam como sinal clínico-patológico é resultado da infecção intrauterina ou exposição viral em filhotes com até oito semanas de vida (ROBINSON *et al.* 1980, LENGHAUS & STUDDERT 1984, DECARO & GREENE 2012, OCARINO *et al.*, 2014, STROM *et al.*, 2015). Os cães acometidos podem vir a óbito de forma repentina após apresentarem curto episódio de vocalização, incomodo seguido dispneia e êmese (CARPENTER *et al.*, 1980, DECARO & GREENE, 2012). O tropismo do Parvovírus canino pelas células do coração está ligado a alta capacidade mitótica do miocárdio, observada em cães com até 45 dias de vida (LENGHAUS & STUDDERT, 1982, LENGHAUS & STUDDERT, 1984).

Os achados *post-mortem* destes filhotes mostram somente lesões generalizadas no coração e não no intestino, o que sugere que estes animais vieram a óbito por insuficiência cardíaca congestiva aguda, diferente do que se observa naqueles animais que apresentam a forma clássica da doença (MILLER *et al.*, 2013, SIME *et al.*, 2015). Indivíduos que, porventura sobrevivem, tornam-se cardiopatas por desenvolverem insuficiência cardíaca congestiva crônica (DECARO & GREENE, 2012, SIME *et al.*, 2015).

2.1.4 Diagnóstico e métodos de detecção do Parvovírus Canino

O diagnóstico, bem como o tratamento, muitas das vezes é clínico, resultado da avaliação do estado geral do paciente, associado à idade e progressão dos sinais clínicos. O diagnóstico diferencial para coronavírus, isosporose, enterites bacterianas e verminoses também podem ser feitos (MORAES & COSTA, 2012). No *post-mortem*, os cães acometidos com a doença possuem achados macro e microscópicos não-específicos da patologia (HOSKINS, 1997). Na patogenia da Parvovirose vê-se a alta afinidade a tecidos com altas taxas mitóticas, o que representa preferencialmente lesões em tecidos linfóides e no intestino delgado (PLETCHER *et al.*, 1979, ZEE & MACLACHLAN 2004). Portanto, a presença do Parvovírus nestes tecidos ocasiona rarefação linfóide e atrofia das vilosidades intestinais, consequências da necrose presente nestas regiões (MACARTNEY, 1984).

Muitas das vezes as lesões macroscópicas não fecham diagnóstico de Parvovirose. Estes achados se tornam inespecíficos pelas rápidas alterações dos tecidos no *post-mortem*, principalmente no intestino delgado, prejudicados pela autólise (RAMOS-VARA, 1999; SVARA, 2003). Por conta disso, métodos auxiliares de diagnóstico são necessários para detecção do vírus, utilizando-se preferencialmente de testes imuno-histoquímicos para confirmação da patologia (MACARTNEY *et al.*, 1984B, CARMAN & POVEY 1985, AGUNGPRIYONO *et al.*, 1999).

Lesões microscópicas observadas naqueles animais que vieram a óbito por apresentarem características da forma miocárdica da doença, demonstram necrose multifocal dos cardiomiócitos e infiltrado inflamatório associado, além de áreas de fibrose a medida de que o processo patológico se cronifica (LENGHAUS & STUDDERT, 1984). Nos pulmões, áreas avermelhadas sugerem lesões multifocais que podem estar ou não associadas a áreas de aumento de tamanho no fígado juntamente com presença de líquido sanguinolento livre na cavidade abdominal (ROBINSON & ROBINSON, 2016).

2.1.5 Tratamento

É recomendado tratamento suporte nos quadros de gastroenterites pelo Parvovírus canino, que tem como principais objetivos o reestabelecimento e manutenção do equilíbrio eletrolítico através da administração de fluidoterapia intravenosa, minimizando as perdas de líquidos nas primeiras 48 horas, suspensão completa da ingesta oral de líquidos e alimentação sólida até 24 h após último quadro emético, bem como administração de protetores gástricos, antieméticos, antibióticos, antioxidantes e, em alguns casos, transfusão sanguínea (NETO, 2004).

Animais em tratamento apresentam mortalidade entre 4 a 40%, mesmo com terapia suporte. Em animais não tratados, esse número pode chegar a 90% (YILMAZ, 2007). Os casos mais graves atingem os cães com menos de 12 semanas de vida, por apresentarem baixa proteção imunológica e elevado índice mitótico, pela fase de crescimento na qual se encontram (MCCAW, 1999). Animais como o Rottweiler, o Doberman, o Labrador Retriever, Pastor Alemão, possuem maior predisposição ao aparecimento da doença por apresentarem

maiores expressões gênicas de transferrinas, receptor expresso de alta densidade nas células com alto potencial mitótico (MARKS, 2005; MCCAWE & HOSKINS, 2006; CASTRO *et al.*, 2007). Já sua recuperação pode levar de 7 a 10 dias, com tratamento intensivo de suporte e alívio da sintomatologia clínica (MACCANDLISH, 2001).

2.1.6 Estratégias profiláticas contra o vírus

No primeiros anos após o surgimento da doença, atribuíram-se as altas taxas de morbidade e mortalidade à falta de imunidade de massa contra o Parvovírus canino. Ao longo dos anos, o desenvolvimento da imunidade natural juntamente com o surgimento das vacinas acabaram por conferir maior proteção aos cães contra esta enfermidade (MORAES & COSTA, 2012).

A desinfecção ambiental é um método preventivo eficaz, uma vez que o vírus pode persistir no ambiente durante meses e até anos, principalmente no abrigo da luz solar. Uma questão importante é que os detergentes e desinfetantes não possuem ação viricida sobre o CPV-2, somente o hipoclorito de sódio, usado em concentrações e tempo adequados, atua como agente de eliminação do vírus no ambiente. A exposição ao vapor d'água pode ser uma alternativa para aquelas superfícies onde não se permita a ação direta do hipoclorito de sódio (MCCAWE & HOSKINS, 2006).

As partículas infecciosas são muito resistentes e estáveis, mesmo quando expostas a tratamentos com solventes orgânicos ou em meios com pH entre 3,0 à 9,0 (RODOSTITS, 2000). Objetos contaminados com fezes contendo o vírus assumem grande importância na disseminação da doença, além do transporte feito através das mãos e vestimentas (GUILFORD, 1996).

Já a vacinação é o método mais eficaz de prevenção da parvovirose canina, onde se utilizam vacinas vivas atenuadas ou vacinas mortas contra o CPV-2 (SELLON, 2005). A frequência de revacinação atualmente é alvo de controvérsias, onde até a bem pouco tempo atrás se recomendava um esquema vacinal anual. Hoje, dados evidenciam que a imunização efetiva se prolonga por períodos superiores a um ano, criando recomendações de revacinação a cada dois anos, chegando a 3 anos (SELLON, 2005). O protocolo é de escolha do

Médico Veterinário clínico, que se utiliza de sua prática e experiência para propor o melhor esquema vacinal (MCCAW & HOSKINS, 2006).

2.2 Ozonioterapia

2.2.1 Breve histórico da Ozonioterapia

A primeira menção sobre o ozônio na literatura científica foi feita pelo físico holandês Mak Van Marumom, em 1785, durante experimentos em uma instalação de eletrificação. Descobriu-se que quando um arco elétrico passava pelo ar, uma substância que aparentava ser gasosa, incolor e com odor característico aparecia (REV. CUBANA FARM, 2013). Esta substância foi nomeada de Ozônio (da palavra grega *ozein*, cheiros) e sua primeira mensuração foi feita na data de 1853 em montanhas Australianas (VALACCHI; FORTINO; BOCCI 2005).

O primeiro registro bibliográfico da utilização da ozonioterapia em Medicina datam da primeira guerra mundial, quando o Dr. Albert Wolf realizou na Alemanha a limpeza e desinfecção de feridas sépticas na grande guerra. No entanto, o precursor do uso de ozônio foi Werner von Siemens, que em 1857 construiu o primeiro tubo de indução para produzir ozônio a partir de oxigênio (GROOTVELT *et al.*, 2004a; VERANES *et al.*, 1999). Este primeiro gerador foi utilizado para investigação das propriedades físico-químicas do Ozônio, dentre elas seu enorme potencial de destruição de microrganismos patogênicos. Com ele também fez-se as primeiras insuflações e experiências de uso do ozônio em contato com as mucosas, tanto em animais como em humanos (PELÁEZ, 2015). Há indícios de que os estudos de purificação do sangue e da Auto-hemoterapia começaram na mesma época, estudos estes dirigidos por Wolf. Sua ideia era expor o sangue a esta mistura gasosa por certa quantidade de tempo, e depois retransfundi-lo ao mesmo paciente (TRAVAGLI; ZANARDI; BOCCI, 2006).

A partir da segunda metade do século XX, o desenvolvimento médico-científico da ozonioterapia começou a ser um fenômeno cada vez mais crescente (PELÁEZ, 2015) o que acabou por culminar no aprofundamento da forma em que o ozônio vinha sendo estudado, o que levou na elaboração de novos protocolos de tratamento em diversas patologias (BOCCI, 2008).

2.2.2 Conceitos básicos na produção do Ozônio

O ozônio, ou oxigênio tri-atômico, é conhecido como um gás produzido de forma natural na estratosfera, ligeiramente azulado em altas concentrações e responsável por bloquear a entrada excessiva da radiação dos raios ultravioletas sobre a superfície do Planeta Terra (LUKES, 2006). É instável a temperatura ambiente, apresenta meia vida de aproximadamente 40 minutos quando a 20°C, e se decompõe de forma espontânea em oxigênio, dificultando seu transporte e armazenamento (BOCCI, 2006). Por essa razão, a obtenção e a administração do ozônio devem ser feitas no mesmo lugar (HORVART, 1985).

O ozônio terapêutico é produzido quando um alto gradiente de voltagem entra em contato com oxigênio puro. Por este ser puro, evita-se a produção de compostos tóxicos como o dióxido de nitrogênio, formado quando utiliza-se o ar atmosférico (BOCCI, 2004a). Nesta mistura gasosa produzida pelo aparelho, em torno de 95% é oxigênio e 5% é ozônio que, mesmo neste percentual, desencadeia suas respostas no organismo (HALLIWELL, 1994). Portanto, definindo a concentração, o volume e a via de administração, gera-se um coeficiente terapêutico que distingue um tratamento eficaz de uma dose tóxica (KOWALTOWSKI *et al.*, 2009).

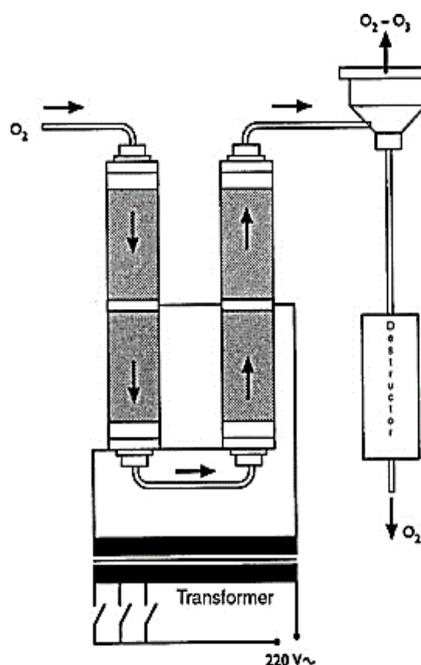


Figura 2 - Esquema da geração de Ozônio medicinal: Oxigênio puro entra no gerador, passando pelo transformador, produzindo a mistura gasosa oxigênio-ozônio que flui para a coleta. O excedente vai para o destruidor, que degrada o ozônio e elimina o resultante de oxigênio. Fonte: Bocci, 2004.

É indispensável garantir uma precisão na dose do Ozônio através de manutenções periódicas do gerador, que fornecem uma concentração de 2 a 100 mcg/ml (BOCCI, 2004).

2.2.3 Efeitos biológicos da ozonioterapia

A molécula de ozônio reage com uma grande quantidade de compostos orgânicos e inorgânicos, gerando uma cadeia de respostas bioquímicas, farmacológicas e neuro-imunológicas responsáveis por toda terapêutica da técnica (KOWALTOWSKI *et al.*, 2009). Destaca-se também pelo seu grande poder oxidante superado apenas pelo fluoreto e persulfato (BULIES, 1997). Esse efeito oxidante pode ter grande valia frente a diversas patologias, haja visto que o ozônio é produzido naturalmente no organismo, como no processo de ativação dos anticorpos, fazendo dele uma molécula biológica (BULIES, 1997).

Quando em contato com compostos orgânicos como a linfa, urina, saliva ou o plasma, reage imediatamente e deixa de existir. Preferencialmente o ozônio reage com ácidos graxos poli-insaturados, depois com antioxidantes (Vitamina C) e por último com compostos Tiol (albumina e a cisteína). Reage com carboidratos, DNA e RNA dependendo de sua concentração e tempo de exposição. Essas reações todas se dão pela doação dos elétrons na superfície dos reagentes, definida como processo de oxidação. O resultado dessa reação é a formação de espécies reativas do oxigênio (EROS) e os produtos de oxidação lipídica (LOPS), responsáveis pelas interações bioquímicas do ozônio no organismo (BOCCI, 2004a, 2006c, 2007).

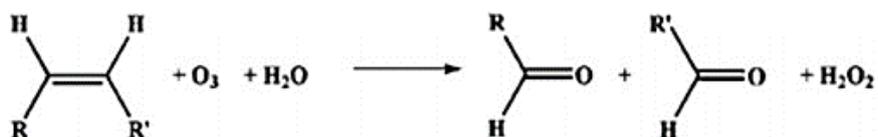


Figura 3 - Reação do Ozônio para formação de compostos, como o peróxido de hidrogênio. Fonte: Bocci, 2004.

O aumento da peroxidação lipídica, desencadeada quando as espécies reativas do oxigênio causam danos as estruturas das cadeias lipídicas nas membranas celulares, resulta numa menor seletividade ao transporte iônico

celular pela diminuição da integridade da membrana (SILVA, 2011). Assim como a membrana celular, as proteínas também podem ser afetadas diretamente pelo excesso de EROs (GUIMARÃES, 2013). O nível da peroxidação lipídica pode ser mensurada no sangue diretamente pela dosagem do malondialdeído ou indiretamente por meio da dosagem de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (DEVASAGAYAM *et al.*, 2003). Entretanto, assim como na própria formação das espécies reativas do oxigênio, os processos de peroxidação lipídica em níveis fisiológicos são importantes contra a resposta inflamatória, fazendo parte da reação em cascata do ácido araquidônico, levando à formação de prostaglandinas e leucotrienos (FERREIRA, 1997). Então, pode-se dizer que as espécies reativas do oxigênio em quantidades adequadas são benéficas para as células por estarem envolvidas em diversos processos de regulação, se mantendo em equilíbrio com as defesas antioxidantes do organismo (SAND, 2005; ENGERS, 2010).

Estas defesas são atuantes no controle das agressões produzidas pelo excesso de radicais livres, acabando por combater o denominado estresse oxidativo, processo presente quando há um desequilíbrio entre as defesas antioxidantes e os agentes radicalares no organismo (ALMEIDA, 2013). O estresse oxidativo acarreta na oxidação de uma série de biomoléculas que perdem suas funções biológicas, podendo se fazer presente em todos os tecidos ou células do organismo (ALMEIDA, 2013; FRANÇA *et al.*, 2013). Os mecanismos de defesa antioxidantes têm como objetivo limitar os níveis de radicais livres no organismo, controlando a incidência dos danos excessivos as células, sendo divididos em 2 grupos: defesas antioxidantes enzimáticas, formadas pelas enzimas antioxidantes como superóxido dismutase, glutathione peroxidase, glutathione reductase, e catalase; e as defesas antioxidantes não enzimáticas, formadas pelos antioxidantes adquiridos na dieta como o alfatocoferol (vitamina E), betacaroteno (vitamina A) e ácido ascórbico (vitamina C) (FRANÇA *et al.*, 2013).

O termo Hormese explica como um agente oxidante traz efeitos benéficos quando utilizado em baixas doses (BOCCI, 2004). Exemplo disso é a resposta adaptativa em linfócitos humanos quando expostos a baixos níveis de radiação (OLIVIERI *et al.*, 1984; WOLFF, 1996). Um pré-condicionamento oxidativo pode

ser alcançado quando tratamentos como a autohemoterapia ou ozonioterapia forem administrados de maneira regular nos pacientes (BORREGO *et al.*, 2004), o que acaba por gerar respostas adaptativas contra os danos causados pelos agentes radicalares no organismo (LEÓN *et al.*, 1998).

Na medicina humana, a ozonioterapia adquire grande relevância devido à sua eficácia contra doenças de origem bacteriana ou viral, patologias do sistema imunológico, além daquelas onde há a pobre oferta de oxigênio nos tecidos, bem como patologias associadas ao déficit das defesas antioxidantes do organismo e nas doenças degenerativas (ZAMORA, 2012). No Departamento de Cirurgia do Hospital Chiba-Tokushkai no Japão, Matsumoto e colaboradores (2001) testaram a eficácia do gás e do óleo ozonizado em fístulas intratáveis, feridas após operações cirúrgicas, apendicite aguda com peritonite, abscessos abdominais, pacientes com reações cutâneas de radioterapia, onde percebiam benefício na cicatrização, ação antimicrobiana em termos de alívio da dor. Há uma série de liberações de fatores de crescimento nas plaquetas e em células endoteliais, além da vasodilatação por conta de uma maior oferta de Óxido Nítrico, podendo melhorar a oxigenação de tecidos que sofrem com isquemia. Esta maior oferta de oxigênio e nutrientes é crucial para a recuperação de tecidos em hipóxia, evitando-se lesões permanentes e até a morte (JOYNER & DIETZ, 1997; KASHIBA *et al.*, 1999).

O ozônio pode ser usado em muitas especialidades Médicas Veterinárias com eficácia e segurança, trazendo inúmeros benefícios na área da cardiologia, oncologia, dermatologia, odontologia, infectologia, neonatologia, ortopedia, cirurgia, clínica geral, neurologia e intensivismo (BOCCI, 2008). A exemplo, a ozonioterapia tem excelentes resultados para tratamento de câncer, potencializando a ação da radioterapia e quimioterapia, bem como tem indicação para hérnias de disco, possuindo nível de evidência “A” para estas patologias (BOCCI, 2008). Inúmeros ensaios clínicos demonstraram os efeitos da ozonioterapia sobre o sistema imunológico, avaliado através da administração de diferentes doses do ozônio por diferentes vias. Observou-se a regularização progressiva das citocinas inflamatórias e não-inflamatórias, como o interferon, fatores de necrose tumoral, interleucinas 1,2,4,6,8,10, fatores estimuladores de colônia granulócito-macrófago (BOCCI, 1994). Essa regularização das citocinas está diretamente ligada a concentração de ozônio utilizada no tratamento. O

incremento gradual das células CD8+ e CD4+ se relacionam com a frequência do uso da terapia com ozônio, também dependente da ação estimuladora das interleucinas-2 (BOCCI, 1990).

A concentração do ozônio pode variar de 1 a 100 mcg por ml de gás, e é determinada de acordo com a doença a ser tratada (MORETTE, 2011). Este coeficiente terapêutico é definindo através da concentração, o volume e a via de administração, distinguindo um tratamento eficaz de uma dose tóxica (KOWALTOWSKI *et al.*, 2009).

Como vias de administração, tem-se utilizado a via intramuscular, intravenosa, subcutânea, intracavitária (espaços peritoneais e pleurais), intrarectal, intravaginal, intrauretral, intramamária, periarticular, intraarticular ou intradiscal guiada (HADDAD, 2009; MORETTE, 2011). A via intrarectal é a mais utilizada por sua facilidade aliada ao excelente efeito sistêmico, quando o volume, concentração e frequência de uso são respeitados (BOCCI, 1994). As concentrações podem ser crescentes ao longo do tratamento, mas nunca devem superar a concentração de 40mcg/ml. Concentrações iniciais baixas (10-20mcg/ml) produzem efeitos de tolerância já relatados, trazendo efeitos benéficos ao paciente (BOCCI, 2010).

Tabela 2 – Possível cronograma da administração do ozônio pela via intrarectal.
Fonte: adaptado BOCCI, 1994.

SEMANA	DIA	CONCENTRAÇÃO	VOLUME GÁS	DOSE FINAL
1	1	10-15 mcg	3-5 ml/kg	baixa/média
	3	10-15 mcg	3-5 ml/kg	baixa/média
	5	10-15 mcg	3-5 ml/kg	baixa/média

Efeitos adversos secundários a prática que foram reportados geralmente estão ligados com *mala praxis*, técnica de administração, via de administração, concentração da mistura oxigênio-ozônio, tempo de exposição, dentre outros (BOCCI, 1994).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVARENGA, M. A., FERREIRA, J. C. P., MEIRA, C., LUNA, S. P. L., BURNS, P. J. Induction of luteolysis in mares utilizing a micro-dose of prostaglandin F2 alfa in the sacral lumbar space. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.18, n.3, p.167-168, 1998.

APPEL, M. J. G.; COOPER, B. J.; GREISEN, H.; SCOTT, F. W.; CARMICHAEL, L. E. Canine viral enteritis. I. Status report on corona and parvo-like viral enteritides. **Cornell Veterinary**, v.69, p.123-133, 1979.

APPEL, M.J.G., COOPER, B.J., GREISEN, H. & CARMICHAEL, L.E. Status report: canine viral enteritis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 173(11), 1516-1518, 1978.

ARTIS *et al.* The effects of colorectally insufflated oxygen-ozone on red blood cell rheology in rabbits. **ClinHemorheol Microcirc** 2010; 45: 329–336.

BULIES, 1997. “Response of pups with maternal derived antibody to modified-live canine parvovirus vaccine”. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 15(4):281- 283.

BOCCI V, BORRELLI E, VALLACHI E. Total body exposure to an oxygen-ozone mixture in a sauna cabin. **European Journal Physiol**. 1999;80:549-54.

BOCCI V. How ozone acts and how it exerts therapeutic effects: the revolution in dentistry, **United Kingdom**; 2004a, cap1.1, pag15-22.

BOCCI V. Non-specific immunomodulation in chronic heart failure. **Lancet** 2008, 371:2083.

BOCCI V. *Ozone A new medical drug* Dordrecht, The Netherlands: **Springer**; 2011.

BOCCI, V. Is it true that ozone is Always toxic? **The end of dogma**. 2006b.

BOCCI, V.; VALACCHI, G.; CORRADESCHI, F.; ALDINUCCI, C.; SILVESTRI, S.; PACCAGNINI, E. Studies on the biological effects of ozone: **J Biol Regul Homeost Agents**, v. 12, p.67-75, 1998.

BOCCI, V.; ZANARDI, I.; TRAVAGLI, V. Oxygen/ozone as a medical gas mixture. A critical evaluation of the various methods clarifies positive and negative aspects. **Medical Gas Research**, v.1, p. 6-15, 2011.

BULIES, 1997. "Response of pups with maternal derived antibody to modified-live canine parvovirus vaccine". **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases** 15(4):281- 283.

BUONAVOGLIA, C. Infección por parvovirus canino. In: de Mari, K. Cap.1 **Manual del Interferón Veterinario**. Barcelona: Virbac Salud Animal, 2005:20-31.

BURROWS, C.F.; BATT, R.M.; SHERDING, R.G. Afecções do intestine Delgado. In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, **E.C. tratado de medicina interna veterinária Molésticas do cão e do gato**. 4. Ed. São Paulo: Manole, v. 2, cap. 104, p. 1618-1705, 1997.

CARMICHAEL L., JOUBERT J, POLLOCK R, 1981. "A modified live canine parvovirus strain with novel plaque characteristics. 1- Viral attenuation and dog response". **The Cornell Veterinarian**.

CARMICHAEL, LE. An Annotated Historical Account of Canine Parvovirus. **J. Vet. Med.** (2005). B 52: 303-311.

CARPENTER J.L., ROBERTS R.M., HARPSTER N.K. & KING N.W. 1980. Intestinal and cardiopulmonary forms of parvovirus infection in a litter of pups. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 176(11):1269-73.

CHEN H, XING B, LIU X, ZHAN B, ZHOU J, ZHU H. Ozone oxidative preconditioning protects the rat kidney from reperfusion injury: the role of nitric oxide. **J surg** 2008b.

COSTA A, LEITE J, LABARTHE N, GARCIA R, 2005. "Genomic typing of canine parvovirus circulating in the state of Rio de Janeiro, Brazil from 1995 to 2001 using polymerase chain reaction assay". **Veterinary Research Communications**.

COTMORE S, TATTERSALL P, 2007. "Parvoviral host range and cell entry mechanisms". **Advances in Virus Research**.

DECARO N. & GREENE C.E. 2012. Canine viral enteritis, p.67-75. In: Greene C.E. (Ed.), Infectious Diseases of the Dog and Cat. **4th ed. Saunders**, Elsevier, St Louis, MO

DECARO, N.; ELIA, G.; MARTELLA, V.; DESARIO, C.; CAMPOLO, M.; Di TRANI, L.; TARSITANO, E.; TEMPESTA, M.; BUONAVOGLIA, C. A real-time PCR assay for rapid detection and quantitation of canine parvovirus type 2 in the feces of dogs. **Veterinary Microbiology**, v. 105, p. 19-28, 2005.

DUNDEE, J. W., GHALY R. G., BILL K. M., CHESTNUTT W. N., FITZPATRICK K. T., LYNAS A. G. Effect of stimulation of the P6 antiemetic point on postoperative nausea and vomiting. **Br J Anaesth 1989a**; 63:612-8.

GUILFORD W, 1996. "Gastrointestinal Tract Infections, Parasites and Toxicoses" in: Guilford W, Strombeck D, Williams D e Meyer D (ed). Strombeck's Small Animal Gastroenterology, **WB Saunders 3ª edição**, Philadelphia, USA.

HERNÁNDEZ F, MONTERO T, ROJAS E. Protection by ozone preconditioning is mediated by the antioxidant system in cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. 2004;13(1):13-19.

HOSKINS, J.D. Doenças Virais Caninas. In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. Tratado de Medicina Interna Veterinária – Doenças do Cão e do Gato. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan S.A.** 5.ed, v.1, p.442-444, 2004.

HUEFFER K, PARKER J, WEICHERT W, GEISEL R, SGRO J , PARRISH C, 2003. "The natural host range shift and subsequent evolution of canine parvovirus resulted from virusspecific binding to the canine transferring receptor". **Journal of Virology**.

KOWALTOWSKI, A. J., DE SOUZA-PINTO, N. C., CASTILHO, R. F. *et al.*, 2009, Mitochondria and reactive oxygen species, *Free Radic. Biol. Med. in press*, May 7.

LENGHAUS C, STUDEMPT M, 1984. "Acute and chronic viral myocarditis". **American Journal of Pathology** 115:316-319.

MACARTNEY, L.; MCCANDLISH, I.A.; THOMPSON, H.P.; CORNWELL, H.J.C. Canine parvovirus enteritis 1: Clinica, haematological and pathological features of experimental infection. **Veterinary Record**, v. 115, p. 201-210, 1984a.

MACINTIRE D, SMITH-CARR S, 1997. "Canine parvovirus, Part II Clinical signs, diagnosis and treatment". **Compendium of Continued Education for the Practicing Veterinary** 19(3):291-299

MARTELLA V, CAVALLI A, PRATELLI A, BOZZO G, CAMERO M, BUONAVOGLIA D, NARCISI D, TEMPESTA M, BUONAVOGLIA C, 2004. "A canine parvovirus mutant is spreading in Italy". **Journal of Clinical Microbiology** 42(3):1333-1336.

MCCAWE, D .L. & HOSKINS J. D. Canine viral enteritis, p.63-73. In: **Greene C.E.** (Ed.), **Infectious Diseases of the Dog and Cat. 2nd. ed.**W.B. Saunders Elsevier, Philadelphia. 1387p, 2006.

MENÉNDEZ S, FALCON L, SIMOR DR. Efficacy of ozonated sunflower oil in the treatment of mycoses. 2002;45

MEUNIER P, COOPER B, APEL M, LANIEU M, SLAUSON D, 1985A. "Pathogenesis of canine parvovirus enteritis: sequential virus distribution and passive immunization studies". **Veterinary Pathology** 22:617-624.

MILLER L.M., VAN VLEET J.F. & GAL A. 2013. Sistema cardiovascular e vasos linfáticos, p.542-591. In: McGavin M.D. & Zachary J.F. (Eds), **Bases da Patologia Veterinária.** 5th ed. Elsevier, Rio do Janeiro.

MORAES, M.P.; COSTA, P.R. Parvoviridae. In FLORES, EF. **Virologia Veterinária**, Santa Maria, 2.ed. da UFSM, 2012, 1008p.

NETO, 2014. "Tropic determinant for canine parvovirus and feline panleukopenia virus functions through the capsid protein VP2". **Journal of General Virology** 70:925-928.

OCARINO N.M., PAIXÃO T.A., CARVALHO E.C.Q. & GIMENO E.J. 2014. Sistema cardiovascular, p.51-88. In: Santos R.L. & Alessi A.C. (Eds), **Patologia Veterinária**. Roca, São Paulo.

OTTO, C.M.; JACKSON, C.B.; ROGELL, E.J.; PRIOR, R.B.; AMMONS, W.S. Recombinant Bactericidal/Permeability-Increasing Protein (rBPI21) for Treatment of Parvovirus Enteritis: A Randomized, Double-Blinded, Placebo-Controlled Trial. **Journal Veterinary Internal Medicine**, v. 15, n.4, p. 355-360, 2001.

PARRISH C, AQUANDRO C, STRASSHEIM M, EVERMANN J, SGRO J, MOHAMMED H, 1991. "Rapid antigenic-type replacement and DNA sequences evolution of canine Parvovirus". **Journal of Virology** 65(12):6544-6552.

PARRISH, C.R. Host range relationships and the evolution of canine parvovirus. **Veterinary Microbiology**, v. 69, p. 29-40, 1999.

PÉREZ R, FRANCA L, ROMERO V, MAYA L, LÓPEZ I, HERNÁNDEZ M, 2007. "First detection of canine parvovirus type 2c in South America". **Veterinary Microbiology** 124:147-152.

ROBINSON W, WILCOX G, FLOWER R, 1980. "Canine parvoviral disease: experimental reproduction of the enteric form with a parvovirus isolated from a case of myocarditis". **Veterinary Pathology** 17:589-599.

RODOSTITS, O M et al. Exame clínico e diagnóstico em veterinária. **Editora Koogan**. Rio de Janeiro – RJ. 2000.

RODRIGUEZ MM, GARCIA J, MENÉNDEZ S, DEVESA E, GONZALES R., Ozone medical application in treatment of senile dementia. **Revista CENIC Ciências Biológicas**, 1998;29 (3): 141-144.

SCHULZ, S. et al. Significant increase on survival in lethal peritonitis with ozone and antibiotics in rats in proceedings. **Intern Ozone Symposium Basel**, 1999.

SELLON, R. K. Chapter 169- Canine viral diseases. In: Ettinger, J. S.; Feldman, E. C. **Veterinary Internal Medicine**. Sixth edition. Volume I. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2005:646-652.

SEMBA, R.D., TANG, A.M., 1999. Micronutrients and the pathogenesis of human immunodeficiency virus infection. **British Journal of Nutrition** 81, 181–18.

SHACKELTON L, PARRISH C, TRUYEN U, HOLMES E, 2004. “High rate of viral evolution associated with the emergence of canine parvovirus”. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 102(2):379-384.

TENNANT B. Chapter 8 - The Alimentary Tract. In: Ramsey, I. K.; Tennant, B. J. **BSAVA Manual of Canine and Feline Infectious Diseases**. Gloucester: **British Small Animal Veterinary Association**, 2001:138-140.

TRUYEN U, MUELLER T, HEIDRICH R, TACKMANN K, CARMICHAEL L, 2003. “Survey in viral pathogens in wild red foxes (*Vulpes vulpes*) in Germany with emphasis on parvoviruses and analysis of a DNA sequence from a red fox parvovirus”. **Epidemiology and Infection** 121:433-440.

TRUYEN U, PARRISH C, 1992. “Canine and feline host ranges of canine parvovirus and feline panleukopenia virus: distinct host cell tropisms of each virus in vitro and in vivo”. **Journal of Virology** 66(9):5399-5408.

VALACCHI G, BOCCI V. Studies of the biological effects of ozone. 1999;8.

VIHINEN-RANTA M, SUIKKANEN S, PARRISH C, 2004. ”Pathways of cell infection by parvoviruses and adeno-associated virus”. **Journal of Virology** 78:6709-6714.

ZAMORA Z.B., BORREGO A., LOPEZ O.Y., DELGADO R., GONZALEZ R., MENENDEZ S., HERNANDEZ F. AND SCHULZ S. Effects of Ozone Oxidative Preconditioning on TNF- alpha Release and Antioxidant-Prooxidant Intracellular Balance in Mice During Endotoxic Shock. **Mediators Inflamm**, 2005; 16-22.

Capítulo 2:
Trabalho científico

Uso da ozonioterapia como terapia complementar em cães diagnosticados com parvovirose

Use of ozone as complementary therapy in dogs diagnosed with parvovirus

Trabalho a ser enviado para Arquivo brasileiro de Medicina Veterinária e zootecnia

Título: Uso da ozonioterapia como terapia complementar em cães diagnosticados com parvovirose.

Palavras-chave: ozônio, cães, parvovírus canino.

Instruções aos autores

<http://www.scielo.br/revistas/abmvz/pinstruc.htm>

RESUMO

A parvovirose canina destaca-se como um dos principais agentes etiológicos nas gastroenterites infecciosas em cães jovens, apresentando alta virulência e mortalidade em decorrência da gravidade do estado clínico geral dos pacientes. Seu tratamento clínico é sintomático, principalmente através da reposição eletrolítica e do controle do vômito e diarreia. Este fato aliado ao aumento crescente do índice de óbitos, estimulou o estudo de novas abordagens terapêuticas para o desenvolvimento de novos protocolos. A Ozonioterapia se destaca neste cenário em decorrência de suas múltiplas propriedades farmacológicas, atuando como agente antiviral, imunoestimulatório, anti-inflamatório, analgésico, dentre outros. Neste estudo, objetivou-se avaliar a Ozonioterapia como tratamento complementar em cães que apresentaram PCR positivo de fezes para parvovirose. Para isso, 25 animais aleatoriamente divididos em 2 grupos por meio de sorteio foram avaliados, sendo 7 animais do grupo controle (GC=7) e 18 animais do grupo ozônio (GO=18). Os animais tinham até dois anos de idade, vacinados e não vacinados contra parvovirose, machos ou fêmeas, sem distinção de raça ou porte. Durante o período de tratamento, os animais tiveram o hemograma, consistência das fezes, presença ou ausência de sangue nas fezes, presença ou ausência de êmese e o desfecho, com a alta ou óbito, como parâmetros. O desfecho pode ser considerado a variável de maior relevância clínica, demonstrando diferença significativa entre os grupos, onde os animais do grupo controle tinham 20 vezes (IC 95% 2,2 – 180,9) mais chance de irem a óbito quando comparados com os animais do grupo ozônio.

ABSTRACT

Canine parvovirus stands out as one of the main etiological agents in infectious gastroenteritis in young dogs, presenting high virulence and mortality due to the severity of the patient's general clinical condition. Its clinical treatment is symptomatic, mainly through electrolyte replacement and control of vomiting and diarrhea. This fact, combined with the increasing death rate, has stimulated the study of new therapeutic approaches for the development of new protocols.

Ozone therapy stands out in this scenario due to its multiple pharmacological properties, acting as an antiviral, immunostimulatory, anti-inflammatory, analgesic agent, among others. The aim of this study was to evaluate ozone therapy as a complementary treatment in dogs with positive stool PCR for parvovirus. For this, 25 animals randomly divided into 2 groups by lot were evaluated, being 7 animals from the control group (CG = 7) and 18 animals from the ozone group (GO = 18). The animals were up to two years old, vaccinated and unvaccinated against parvovirus, male or female, regardless of race or size. During the treatment period, the animals had blood count, stool consistency, presence or absence of blood in the stool, presence or absence of emesis and the outcome, with discharge or death, as parameters. The outcome can be considered the most clinically relevant variable, demonstrating a significant difference between the groups, where the animals in the control group were 20 times (95% CI 2.2 - 180.9) more likely to die when compared to the animals of the ozone group.

INTRODUÇÃO

A parvovirose canina surge no final da década de setenta como uma variável do vírus da Panleucopenia felina, destacando-se no início da década de oitenta como um dos principais agentes etiológicos de gastroenterites infecciosas presentes em cães jovens (MORAES & COSTA, 2012). Acomete grande parte da população de cães errantes, estando relacionada com elevadas taxas de mortalidade pela alta virulência associada a déficits imunológicos dos animais infectados (BURROWS *et al.*, 1997). A enfermidade tem alta patogenicidade e apresenta sinais clínicos bem característicos, como o vômito, diarreia sanguinolenta, associados a prostração e apatia em animais jovens (APPEAL *et al.*, 1979; MORAES & COSTA, 2012).

Nos primeiros anos após o surgimento da doença, atribuiu-se as altas taxas de morbidade e mortalidade à falta de imunidade de massa contra o parvovírus canino. O desenvolvimento da imunidade natural concomitante ao surgimento de vacinas, conferiram maior proteção aos cães frente esta enfermidade (MORAES & COSTA, 2012). Filhotes são mais propensos ao

desenvolvimento de gastroenterites hemorrágicas pelo parvovírus, mas cães de qualquer raça ou idade podem ser acometidos (PARRISH, 1999; MCCANDLISH, 2001; MORAES & COSTA, 2012).

Nas últimas décadas, a Ozonioterapia vem sendo estudada de forma mais profunda e científica, a fim de propor novos protocolos de tratamentos complementares nas mais diversas patologias (BOCCI, 2011). Pode-se dizer que as propriedades terapêuticas e biológicas do Ozônio permitem sua aplicação num amplo campo de especialidades, não sendo considerado um tratamento livre de contraindicações e efeitos adversos, mas que quando utilizado de forma a respeitar suas concentrações adequadas e vias de aplicação, é seguro e não tóxico (BOCCI, 2004). Na medicina humana adquire grande relevância devido à sua eficácia contra doenças infecciosas de origem bacteriana ou viral, patologias do sistema imunológico, além daquelas onde há pobre oferta de oxigênio nos tecidos, bem como patologias associadas ao déficit de defesas antioxidantes e doenças degenerativas (ZAMORA *et al.*, 2005).

A molécula de ozônio reage com uma grande quantidade de compostos orgânicos e inorgânicos, o que gera uma cadeia de respostas bioquímicas, farmacológicas e neuro-imunológicas responsáveis por toda terapêutica da técnica (KOWALTOWSKI *et al.*, 2009). Seu grande poder oxidante é superado apenas pelo fluoreto e persulfato. Esse efeito oxidante pode ter grande valia frente a diversas patologias, haja visto que o ozônio é produzido naturalmente no organismo, como nos processos de ativação de anticorpos, o que faz dele uma molécula biológica (BULIES, 1997). Este estímulo oxidante do ozônio é leve e transitório, quando administrado em concentrações adequadas, acabando por incrementar a resposta antioxidante no organismo num efeito descrito como efeito hormético (BOCCI, 2004). Então, o ozônio também é descrito como uma molécula biológica, que auxilia a resposta antioxidante do paciente, melhorando a circulação sanguínea, atuando frente a agentes infecciosos, em processos inflamatórios, melhorando a síntese de ATP, combatendo o estresse oxidativo e otimizando o metabolismo celular (BOCCI, 2004). O estresse oxidativo tem sido implicado na patogênese de diversas doenças, e é definido quando se perde o equilíbrio entre as defesas antioxidantes do organismo frente aos radicais livres circulantes (SEMBA & TANG, 1999).

OBJETIVOS

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da ozonioterapia como terapia complementar ao tratamento convencional em cães diagnosticados com parvovirose, levando em consideração análises clínicas, laboratoriais, como também a observação de alguns parâmetros durante o período de tratamento e o desfecho (alta hospitalar ou óbito). A hipótese da inclusão de ozônio em associação ao tratamento convencional de parvovirose foi de produzir uma melhora clínica e das variáveis laboratoriais, reduzindo o tempo de recuperação e a taxa de óbito.

MATERIAL E MÉTODOS

Seleção dos animais

Esta pesquisa foi aprovada pela comissão de ética no uso de animais (CEUA) pelo protocolo CEUA 01/01/2017, FMVZ Unesp, campus de Botucatu.

Os animais que apresentavam sinais clínicos compatíveis de parvovirose foram aleatoriamente distribuídos por meio de sorteio em dois grupos. Foram utilizados 25 cães com até dois anos de idade, 7 vacinados e 18 não vacinados contra parvovirose, 14 machos e 11 fêmeas, todos sem raça definida, sendo 7 animais do grupo controle (GC=7) e 18 animais do grupo ozonioterapia (GO=18). Os animais foram atendidos no Setor de Moléstias Infecciosas do Hospital Veterinário da UNESP, Campus de Botucatu, todos diagnosticados com Parvovirose Canina através do exame de PCR de fezes, para detecção do DNA viral do parvovírus canino. Os animais admitidos no setor davam entrada apresentando diarreia líquida sanguinolenta, êmese, apatia, prostração e hemograma característico de Parvovirose.

Todos os animais dos dois grupos receberam o tratamento convencional oferecido pelo Hospital Veterinário, consistindo em jejum absoluto até 18 horas após o último quadro de vômito, restauração do equilíbrio eletrolítico por meio da fluidoterapia com Ringer Lactato, dose única penicilina cristalina (Bepeben[®]) 40.000 UI/kg/IV e dose única de penicilina benzatina (Benzapen[®]) 40.000 UI/kg/SC. Foi feito o uso de antimicrobianos como o ceftiofur (Cef-50[®]) 7,5

mg/kg/SID/SC ou, em casos mais graves, a ceftriaxona (Ceftriona ®) 25mg/kg/SID/IV, definidos pela avaliação do estado físico do animal e pela leucopenia, neutropenia e linfopenia acentuadas, buscando prevenir a translocação bacteriana. Foi administrado butilbrometo de escopolamina (Buscopan ®) 0,2mg/kg/SC associado à dipirona (Novalgina ®) 25 mg/kg/BID ou TID/SC. Em animais hipoglicêmicos, foi realizado bolus de 250 mg/kg de glicose a 50% IV. Administrou-se a dose de 1 g de vitaminas C no soro fisiológico com intuito antioxidante. Também aplicou-se ondansetrona (Nause-dron ®) 0,5 mg/kg/SC BID ou metoclopramida (Plasil ®) 0,5 mg/kg BID, como antieméticos e ranitidina (Ranivet ®) 2 mg/kg BID como protetor gástrico. Após encerrado o quadro de êmese, foi oferecido aos animais substratos energéticos.

O animais do GO receberam o tratamento convencional com a associação da Ozonioterapia na forma de gás pela via intrarectal, nos dias 0, 2 e 4, no volume de 3 – 5 ml/Kg, na concentração de 15 mcg/ml. Para tal, a aplicação do gás era realizada por meio de uma seringa de 20 ml, acoplada a uma sonda uretral tamanho 4, com sua extremidade lubrificada com gel a base de água (K-Y ®), inserindo-a de 5 a 10 cm no reto do animal.

Para a realização da ozonioterapia, foi utilizado equipamento específico de geração de ozônio medicinal da empresa Ozone Life, modelo O&L1.5RM, acoplado a um cilindro de oxigênio medicinal, garantindo níveis precisos de ozônio na mistura gasosa. O aparelho possui certificação ANVISA, estando de acordo com as normas adequadas de produção.

Composição da base de dados

Para que estas repostas fossem classificadas, o grupo de pesquisa desenvolveu e organizou as variáveis que se correlacionam com unidades específicas, uma análise qualitativa e quantitativa inédita até a presente data, como mostra o quadro 1:

Variável	Unidade	Tipo
Grupo	GC – tratamento convencional GO – ozônio	Qualitativa
Desfecho	A – alta clínica B – óbito	Qualitativa
Tempo para desfecho	Número de dias	Quantitativa
CF (consistência das fezes)	0 = aquezia 1 = sólidas 2 = pastosas 3 = líquidas	Qualitativa
P/ASF (presença / ausência de sangue nas fezes)	0 = aquezia 1 = ausência 2 = presença	Qualitativa
P/AE (presença / ausência de êmese)	0 = ausência de vômitos 1 = até 3 episódios eméticos por dia 2 = 4 ou 5 episódios eméticos por dia 3 = 6 ou mais episódios eméticos por dia	Qualitativa
Hematócrito	%	Quantitativa
Mielócitos	(absoluto)	Quantitativa
Metamielócitos	(absoluto)	Quantitativa
Eosinófilos	(absoluto)	Quantitativa
Basófilos	(absoluto)	Quantitativa

Quadro 1. Classificação das variáveis clínicas e laboratoriais avaliadas nos cães diagnosticados com Parvovirose, submetidos (GO) ou não (GC) à ozonioterapia;

Durante o período de tratamento, os animais foram analisados segundo a consistência das fezes (CF), presença ou ausência de sangue nas fezes (PSF/ASF), presença ou ausência de êmese (PE/AE). O desfecho analisou a alta, o óbito e o número de dias de tratamento. Também foi coletado hemograma completo dos animais no dia 0, 2 e 4 com a finalidade de analisar a resposta medular dos animais frente aos tratamentos propostos.

Análise da estatística

Inicialmente, procedeu-se a análise descritiva dos dados com estimativa de frequência das variáveis qualitativas e média, mediana, desvio padrão das variáveis quantitativas. Para avaliar a diferença entre os grupos quanto ao desfecho, CF, PSF/ASF/ e PE/AE, utilizou-se o teste de qui-quadrado com um nível de significância de 5%. Para o desfecho, foi avaliada a intensidade das diferenças com estimativa de *odds ratio* e intervalo de confiança de 95% (IC

95%). Para avaliar o tempo para desfecho e as variáveis dos exames (hematócrito, mielócitos, metamielócitos, eosinófilos e basófilos), as mesmas foram testadas quanto à distribuição normal com o teste Shapiro-wilk. Todas não tiveram distribuição normal ao teste ($p < 0,05$) e optou-se pela abordagem não paramétrica. Portanto, as diferenças entre os grupos foram avaliadas com o teste U de Mann-Whitney. Todas as análises foram consideradas significativas quando $p < 0,05$ e foram realizadas no SPSS 20.0.

RESULTADOS

A tabela 1 ilustra a diferença significativa entre a proporção de óbito no grupo controle (71,4%) e no grupo ozônio (11,1%). Os animais no grupo controle tiveram 20 (IC 95% 2,2 – 180,9) vezes mais chance de ir a óbito do que o grupo ozônio ($p = 0,007$).

Tabela 1 – Diferença entre os grupos no desfecho segundo o teste t-student ($p = 0,007$).

	Óbito		Alta		Total		OR (IC 95%)	p-valor
	N	%	N	%	N	%		
Grupo controle	5	71,4%	2	28,6%	7	100,0%	20 (2,2 – 180,9)	0,007
Grupo ozônio	2	11,1%	16	88,9%	18	100,0%		

A tabela 2 ilustra a média, desvio padrão, mediana e o p-valor na análise do tempo até o desfecho. O tempo do desfecho foi maior no GO do que no GC.

Tabela 2 – Análise do tempo até o desfecho entre o grupo controle e o grupo ozônio;

	Grupo Controle			Grupo Ozônio			Total			p-valor
	Média	DP	Mediana	Média	DP	Mediana	Média	DP	Mediana	
Tempo desfecho	5	3	4	6	1	6	5	2	6	0,013

DP=desvio padrão

A tabela 3 ilustra a média, desvio padrão, mediana e o p-valor na análise do hematócrito, mielócitos, metamielócitos, eosinófilos e basófilos.

O hematócrito no D0 foi maior no GC que no GO. A contagem dos eosinófilos foi maior em D0 e D2 no GC e menor em D4 em relação ao GO.

Tabela 3 – Médias, medianas, desvio padrão e p-valor dos valores de hematócrito, mielócito, metamielócito, eosinófilo e basófilo nos dias 0, 2 e 4 no GC e GO;

	Dia 0							Dia 2							Dia 4						
	GC			GO			p-valor	GC			GO			p-valor	GC			GO			p-valor
	M	MD	DP	M	MD	DP		M	MD	DP	M	MD	DP		M	MD	DP	M	MD	DP	
	entre grupos							entre grupos													
Hematócrito	39,1	37,0	9,1	33,2	36,5	19,9	0,002	37,3	33,5	10,1	38,0	37,0	6,6	0,241	39,0	39,0	-	36,9	35,5	6,4	0,425
Mielócitos	0	0	0	0	0	0	1,000	0	0	0	0	0	0	1,000	0	0	0	0	0	0	1,000
Metamielócitos	0	0	0	0	0	0	1,000	0	0	0	0	0	0	1,000	0	0	0	0	0	0	1,000
Eosinófilos	0,3	0	0,5	0,1	0	0,1	0,001	0,3	0,1	0,7	0,1	0	0,2	0,001	0	0	-	0,3	0	0,4	0,006
Basófilos	0	0	0,0	0	0	0	1,000	0	0	0	0	0	0	1,000	0	0	0	0	0	0	1,000

A tabela 4 ilustra a avaliação da consistência das fezes. Não houve diferença significativa nos momentos.

Tabela 4 - Consistência das fezes em cães com diagnóstico clínico e laboratorial (PCR) de parvovirose no GC e GO;

CF	Grupo controle		Grupo Ozônio		Total		p-valor	
	N	%	N	%	N	%		
Dia 0	2	2	8,0%	4	16,0%	6	100,0%	0,739
	3	5	20,0%	14	56,0%	19	100,0%	
	0	0	0,0%	1	4,0%	1	100,0%	
Dia 1	2	1	4,0%	11	44,0%	12	100,0%	0,734
	3	6	24,0%	6	24,0%	12	100,0%	
	1	0	0,0%	2	8,7%	2	100,0%	
Dia 2	2	2	8,7%	6	26,1%	8	100,0%	0,307
	3	3	13,0%	10	43,5%	13	100,0%	
	1	0	0,0%	4	17,4%	4	100,0%	
Dia 3	2	2	8,7%	9	39,1%	11	100,0%	0,164
	3	3	13,0%	5	21,7%	8	100,0%	
	1	1	5,0%	8	40,0%	9	100,0%	
Dia 4	2	0	0,0%	6	30,0%	6	100,0%	0,223
	3	2	10,0%	3	15,0%	5	100,0%	
	1	1	5,3%	14	73,7%	15	100,0%	
	2	0	0,0%	1	5,3%	1	100,0%	
	3	1	5,3%	2	10,5%	3	100,0%	
	1	0	0,0%	1	33,3%	1	100,0%	
Dia 6	2	0	0,0%	1	33,3%	1	100,0%	0,223
	3	1	33,3%	0	0,0%	1	100,0%	

Referência: 0=aquezia; 1=fezes sólidas; 2=fezes pastosas; 3=fezes líquidas;

A tabela 5 ilustra a avaliação da presença ou ausência de sangue nas fezes. No D5 a aquezia foi maior em GO do que em GC.

Tabela 5 - Presença ou ausência de sangue nas fezes em cães com diagnóstico clínico e laboratorial (PCR) de parvovirose no GC e GO;

PSF/ASF	Grupo controle		Grupo Ozônio		Total*		p-valor	
	N	%	N	%	N	%		
Dia 0	0	1	100,0%	0	0,0%	1	100,0%	0,125
	1	0	0,0%	4	100,0%	4	100,0%	
	2	6	30,0%	14	70,0%	20	100,0%	
Dia 1	1	1	6,7%	14	93,3%	15	100,0%	0,059
	2	5	55,6%	4	44,4%	9	100,0%	
Dia 2	1	3	30,0%	7	70,0%	10	100,0%	0,097
	2	2	16,7%	10	83,3%	12	100,0%	
Dia 3	0	0	0,0%	1	100,0%	1	100,0%	0,057
	1	3	25,0%	9	75,0%	12	100,0%	
	2	2	18,2%	9	81,8%	11	100,0%	
Dia 4	0	0	0,0%	1	100,0%	1	100,0%	0,051
	1	1	7,1%	13	92,9%	14	100,0%	
	2	2	40,0%	3	60,0%	5	100,0%	
Dia 5	0	0	0,0%	1	100,0%	1	100,0%	0,005
	1	1	6,7%	14	93,3%	15	100,0%	
	2	1	33,3%	2	66,7%	3	100,0%	
Dia 6	1	1	50,0%	1	50%	2	100,0%	0,470

Referência: 0=aquezia; 1=ausência de sangue; 2=presença de sangue;

A tabela 6 ilustra a avaliação da presença ou ausência de episódios eméticos. Em D5, a porcentagem de episódios eméticos foi superior em GO em relação ao GC.

Tabela 6 - Presença ou ausência de episódio emético em cães com diagnóstico clínico e laboratorial (PCR) de parvovirose no GC e GO;

PE/AE	Grupo Controle		Grupo Ozônio		Total		p-valor	
	N	%	N	%	N	%		
Dia 0	0	0	0,0%	1	100,0%	1	100,0%	0,410
	1	0	0,0%	1	100,0%	1	100,0%	
	1	3	42,9%	4	57,1%	7	100,0%	
	2	3	23,1%	10	76,9%	13	100,0%	
	3	0	0,0%	2	100,0%	2	100,0%	
Dia 1	0	1	14,3%	6	85,7%	7	100,0%	0,251
	1	2	20,0%	8	80,0%	10	100,0%	
	2	0	0,0%	1	100,0%	1	100,0%	
	2	3	50,0%	3	50,0%	6	100,0%	
Dia 2	0	1	16,7%	5	83,3%	6	100,0%	0,105
	1	2	18,2%	9	81,8%	11	100,0%	
	2	2	33,3%	4	66,7%	6	100,0%	
Dia 3	0	1	20,0%	4	80,0%	5	100,0%	0,198
	1	2	20,0%	8	80,0%	10	100,0%	
	2	2	28,6%	5	71,4%	7	100,0%	
	3	0	0,0%	1	100,0%	1	100,0%	
Dia 4	0	1	17,5%	7	82,5%	8	100,0%	0,137
	1	1	14,3%	6	85,7%	7	100,0%	
	2	1	20,0%	4	80,0%	5	100,0%	
Dia 5	0	2	15,4%	11	84,6%	13	100,0%	0,006
	1	0	0,0%	5	100,0%	5	100,0%	
Dia 6	2	0	0,0%	1	100,0%	1	100,0%	0,826
	0	1	33,3%	2	66,7%	3	100,0%	

Referências: 0=ausência de episódio emético; 1=presença de até 3 episódios;

DISCUSSÃO

As gastroenterites virais em cães, em especial a parvovirose, tem grande importância dentre os diagnósticos realizados em enfermidades infecciosas. A base do tratamento convencional é sintomático e guiado pela administração de antibióticos, fluidoterapia, antieméticos e protetores gástricos. Dado o crescente número de cães atendidos com quadros severos de gastroenterites hemorrágicas e pelo aumento da mortalidade em decorrência da gravidade dos sinais clínicos, há uma tendência na busca por terapias complementares que proporcionassem uma melhora do estado geral desses pacientes. Este aumento

da casuística atrelada com a maior gravidade dos quadros clínicos, podem estar relacionados com a constante mutação genômica dos vírus, o que acaba por deixar o parvovírus canino mais patogênico. Estas mutações são definidas por pequenas alterações em alguns aminoácidos presente nos vírus (OTTO, 2001). A proposta desta nova abordagem terapêutica é parte da Medicina Veterinária Integrativa.

Este trabalho trouxe uma redução estatística do número de óbitos nos animais diagnosticados com parvovirose e tratados com ozônio, o que poderia beneficia-los com a alta clínica, mesmo embora não tenha apresentado diferenças clínicas e laboratoriais significativas com a inclusão do tratamento deste mesmo grupo. Alguns trabalhos já demonstraram o uso do ozônio em gastroenterites hemorrágicas, utilizando-se da autohemoterapia maior como técnica, aplicada a cada 24 horas, durante 4 dias consecutivos. Os resultados demonstraram que o tratamento com ozonioterapia versus terapia convencional foi mais efetivo, com animais recuperados mais rapidamente e subsequente diminuição da mortalidade (ORTEGA *et al.*, 1989). Estes resultados podem ser atribuídos ao fato do ozônio possuir propriedades terapêuticas que melhoram a oxigenação sanguínea, aumento da resposta do metabolismo celular pelo incremento do ciclo de Krebs, e também pela capacidade imunoestimulatória que a técnica proporciona (BOCCI, 2008).

A vantagem do nosso estudo se dá pela técnica ser minimamente invasiva, indolor, prática, mais simples e de baixo custo. A autohemoterapia maior requer maior prática na coleta de sangue de filhotes, que muitas vezes estão em condições críticas, possui um custo mais elevado devido a utilização da bolsa de coleta de sangue, e requer mais de uma sessão para alcançar sua efetividade clínica.

A redução do número de óbitos deste estudo pode estar associada a ação anti-inflamatória, analgésica, antioxidante, antiviral e imunoestimulatória da Ozonioterapia (BOCCI, 2011). A ativação do sistema antioxidante proporcionado pela terapia, estimula o organismo a desenvolver uma proteção frente aos agentes radiculares causadores do estresse oxidativo (MANDHARE *et al.*, 2012; MANOTO *et al.*, 2016). Vale ressaltar que durante as múltiplas

reações descritas com a ozonioterapia, uma quantidade significativa da dose do ozônio é neutralizada pelos antioxidantes presentes no plasma (BOCCI, 2011). Os eritrócitos que sofrem pelo estresse oxidativo podem não apresentar a mesma resposta antioxidante quando comparados a uma célula normal (MANDHARE *et al.*, 2012). Este fato pode explicar os resultados do hemograma do GO terem sido diferentes dos do GC.

A terapia se mostra eficiente no tratamento de doenças infecciosas pelo aumento na produção de interferon gama, potente agente antiviral (BOCCI, 2011). Aliado a isso, o incremento da atividade fagocítica dos neutrófilos, efeitos positivos sobre os níveis de IgG e IgM, que podem ser iniciados logo na primeira sessão, conclui a sua ação imunoestimulatória (RAMOS *et al.*, 1989). Esta potencialização da atividade antiviral, bem como aumento da imunidade, fizeram com que o número de animais que entravam em choque por sépsise decorrente de translocação bacteriana diminuísse, o que vai de encontro com as análises que mostram a diminuição dos índices de óbito nos animais do GO. Tanto bactérias aeróbicas quanto anaeróbicas são suscetíveis ao ozônio. Bactérias como *Campylobacter*, *Clostridium*, *E. Coli*, *Klebsiella*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas*, *Salmonelas*, *Estafilococos* e *Estreptococos* podem ser degradadas. Alguns vírus como o *Herpesvirus* são suscetíveis, bem como micoses causadas por *Aspergillus* e *Cândida* (González, 2011).

CONCLUSÃO

Embora este estudo experimental não traga uma diferença estatística significativa dos aspectos clínicos e laboratoriais nos cães com parvovirose, a inclusão do ozônio reduziu o número de óbitos, o que pode acabar por beneficiar os animais acometidos por esta moléstia infecciosa. O maior limitante deste estudo foi a distribuição desigual dos animais tratados frente aos não tratados com ozônio, o que dificultou uma conclusão robusta do real benefício da técnica nestes animais. Isto se deveu pelo fato do estudo ser clínico e pela experiência prévia do autor na melhoria do quadro geral dos pacientes anteriormente tratados com ozônio. Desta maneira, do ponto de vista ético, optou-se em utilizar o maior número de animais tratados com ozônio, buscando prover uma melhoria do estado clínico geral com subsequente redução da mortalidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

APPEL, M. J. G.; COOPER, B. J.; GREISEN, H.; SCOTT, F. W; CARMICHAEL, L. E. Canine viral enteritis. I. Status report on corona and parvo-like viral enteritides. **Cornell Veterinary**, v.69, p.123-133, 1979.

BOCCI V. How ozone acts and how its exerts therapeutics effects: the revolution in dentistry, **United Kingdom**; 2004a, cap1.1, pag15-22.

BOCCI V. Non-specific immunomodulation in chronic heart failure. **Lancet** 2008, 371:2083

BOCCI V. Ozone A new medical drug Dordrecht, The Netherlands: **Springer**; 2011.

BULIES, 1997. "Response of pups with maternal derived antibody to modified-live canine parvovirus vaccine". *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 15(4):281- 283.

BURROWS, C.F.; BATT, R.M.; SHERDING, R.G. Afecções do intestine Delgado. In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, **E.C. tratado de medicina interna veterinária Molésticas do cão e do gato**. 4. Ed. São Paulo: Manole, v. 2, cap. 104, p. 1618-1705, 1997.

GONZÁLEZ E., 2011: Ozonoterapia en flebotomía. **International Journal of Ozone Therapy**. 12:43-60.

KOWALTOWSKI, A. J., DE SOUZA-PINTO, N. C., CASTILHO, R. F. *et al.*, 2009, Mitochondria and reactive oxygen species, *Free Radic. Biol. Med. in press*, May 7.

MANDHARE, M.N.; JAGDALE, D.M.; GAIKWAD, P.L.; GANDHI, P.S.; KADAM, V.J. Miracle of ozone therapy as an alternative medicine. **International Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences**, v.2, p.63-71, 2012.

MANOTO, S. L.; MAEPA, M. J.; MOTAUNG, S. K. Medical ozone therapy as a potential treatment modality for regeneration of damaged articular cartilage in

osteoarthritis. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 25, n. 4, p. 672–679, 2016.

MORAES, M.P.; COSTA, P.R. Parvoviridae. In FLORES, EF. **Virologia Veterinária**, Santa Maria, 2.ed. da UFSM, 2012, 1008p.

PARRISH, C.R. Host range relationships and the evolution of canine parvovirus. **Veterinary Microbiology**, v. 69, p. 29-40, 1999.

PARRISH C, AQUANDRO C, STRASSHEIM M, EVERMANN J, SGRO J, MOHAMMED H, 1991. "Rapid antigenic-type replacement and DNA sequences evolution of canine Parvovirus". **Journal of Virology** 65(12):6544-6552.

RAMOS et al., 1989. Estudio inmunológico de 25 pacientes quemados tratados com ozono. **REV Cenic Ciencias biológicas**, 116-20.

SEMBA, R.D., TANG, A.M., 1999. Micronutrients and the pathogenesis of human immunodeficiency virus infection. **British Journal of Nutrition** 81, 181–18.

ZAMORA Z.B., BORREGO A., LOPEZ O.Y., DELGADO R., GONZALEZ R., MENENDEZ S., HERNANDEZ F. AND SCHULZ S. Effects of Ozone Oxidative Preconditioning on TNF- alpha Release and Antioxidant-Prooxidant Intracellular Balance in Mice During Endotoxic Shock. **Mediators Inflamm**, 2005; 16-22.