

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ

HAISSA MABEL OLIVEIRA VIEIRA

**AVALIAÇÃO DA OZONIOTERAPIA NO TRATAMENTO DA PAPILOMATOSE
BOVINA**

ILHÉUS-BAHIA

2020

HAISSA MABEL OLIVEIRA VIEIRA

**AVALIAÇÃO DA OZONIOTERAPIA NO TRATAMENTO DA PAPILOMATOSE
BOVINA**

Dissertação apresentada a Universidade Estadual de Santa Cruz, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Área de concentração: Clínica e Sanidade Animal.

Orientadora: Prof. DSc. Poliana De Castro Melo.

Co-Orientadora: Prof. DSc. Maria Amélia Fernandes Figueiredo.

ILHÉUS-BAHIA

2020

V657 Vieira, Haissa Mabel Oliveira.
Avaliação da ozonioterapia no tratamento da papilomatose bovina / Haissa Mabel Oliveira Vieira. – Ilhéus, BA: UESC, 2020.
x, 63 f. : il. ; anexo.

Orientadora: Poliana de Castro Melo.
Dissertação (mestrado) –Universidade Estadual de Santa Cruz. Programa de Pós-graduação em Ciência Animal.
Referências: f. 51-61.

1. Bovinos – Doenças. 2. Papilomatose bovina. 3. Epidemiologia. I. Título.

CDD 636.2089

HAISSA MABEL OLIVEIRA VIEIRA

AVALIAÇÃO DA OZONIOTERAPIA NO TRATAMENTO DA PAPILOMATOSE BOVINA

Ilhéus-Bahia, 28 / 02 / 2020

Poliana de Castro Melo – Dsc
UESC/DCAA
(Orientadora)

Maria Amélia Fernandes Figueiredo -- Dsc
UESC/DCAA
(Co- Orientadora)

Fernando Alzamora Filho –Dsc
UESC/DCAA

Sonia Carmen Lopo Costa – Dsc
Médica Veterinária

Ilhéus – Bahia

2020

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho a todos os animais que de forma involuntária, se dispõem para a realização de pesquisas e descobertas científicas. Sem eles, jamais teríamos chegado até aqui.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por todas as vitórias que me foram dadas, por toda proteção enquanto estive longe de casa, por ter trilhado todo meu caminho durante esses dois anos de mestrado, pelo conforto que Ele me deu em cada momento de dificuldade.

Agradeço imensamente a toda minha família pelo amparo, pela força, pela dedicação, pelo apoio em cada momento. Ao meu pai Euredes, a minha mãe Hiram e as minhas queridas irmãs Haryanne, Rebeca e Ester. Muito obrigado por terem lutado por mim e por cada objetivo meu, se estou aqui hoje foi por vocês.

Agradeço, com todo o meu coração, ao meu noivo, Kennedy. Você esteve comigo em cada etapa percorrida, em cada frustração e em cada vitória. Não sei se chegaria até aqui sem você ao lado. Muito obrigada por toda paciência, por todo o carinho e amor.

Agradeço as minhas queridas orientadoras, Poli e Mel, que tanto me auxiliaram e me acolheram, no momento que eu mais precisei. Cada etapa desse mestrado foi concluída com o apoio e instrução de vocês. Ambas são profissionais e pessoas que admiro muito.

Também não poderia deixar de agradecer aos meus colegas de mestrado, Valclei, Sophia, Carol, Rebeca, Jaque. Cada risada, mesmo que de desespero, foi primordial. Levarei todos comigo.

Agradeço imensamente a Universidade Estadual de Santa Cruz, pela oportunidade de estudar e me especializar. Por muito tempo, essa foi minha segunda casa. Também agradeço a FAPESB, pela parceria no primeiro ano de mestrado.

AVALIAÇÃO DA OZONIOTERAPIA NO TRATAMENTO DA PAPILOMATOSE BOVINA

RESUMO

A Papilomatose bovina é uma doença infectocontagiosa, crônica, causada por um vírus DNA, de natureza fibroepitelial, pertencente à família *Papillomaviridae*, gênero *Papillomavirus*, e tem como característica se manifestar principalmente em animais imunodeficientes e com idade inferior a dois anos. O presente estudo foi realizado em fazendas de gado leiteiro, localizadas no sul do estado da Bahia, utilizando-se bovinos com diagnóstico clínico confirmado para papilomatose, sem tratamentos prévios, a fim de ser avaliada a eficácia da ozonioterapia como tratamento da papilomatose bovina. Ao todo, foram utilizados 18 bovinos, divididos em três grupos de tratamento, sendo um o grupo controle. Foi utilizado como tratamento a autohemoterapia e a ozonioterapia através da insuflação retal e autohemoterapia menor. Todos os grupos foram tratados com intervalos de sete dias entre as aplicações, durante seis semanas. Procedeu-se a avaliação estatística referente à contagem de papilomas e os resultados obtidos nas análises hematológicas, pré e pós-tratamento. Os dois tratamentos demonstraram respostas positivas, havendo regressão dos papilomas ao longo do experimento. No entanto, a autohemoterapia se mostrou com maior percentual médio de regressão (76,03%) e resposta de tratamento mais rápida. Contudo, devido ao tipo de distribuição feita no presente estudo é possível observar que para o grupo ozonioterapia, houve um desafio maior, quando comparado com os demais grupos. Na avaliação dos resultados dos hemogramas observa-se que para o grupo ozonioterapia, houve uma regressão considerável em todos os parâmetros inflamatórios avaliados, reforçando a ideia de efeito anti-inflamatório da ozonioterapia. Conclui-se então que apesar dos efeitos positivos demonstrados pela ozonioterapia, a técnica não se torna a mais indicada por ser mais trabalhosa e envolver um custo maior durante o tratamento quando comparada com a autohemoterapia.

Palavras-chave: Autohemoterapia. Bovinocultura. Epidemiologia. Imunodeficiência. Ozônio.

EVALUATION OF OZONE THERAPY IN THE TREATMENT OF BOVINE PAPILLOMATOSIS

ABSTRACT

Bovine papillomatosis is a chronic, infectious and contagious disease caused by a DNA virus, of fibroepithelial nature, belonging to the Papillomaviridae family, genus Papillomavirus, and has the characteristic of manifesting itself mainly in immunodeficient animals and under the age of two years. The present study was carried out in dairy cattle farms, located in the south of the state of Bahia, using cattle with a confirmed clinical diagnosis for papillomatosis, without previous treatments, in order to evaluate the effectiveness of ozone therapy as a treatment for bovine papillomatosis. In all, 18 cattle were used, divided into three treatment groups, one being the control group. Autohemotherapy and ozone therapy were used as treatment through rectal insufflation and minor autohemotherapy. All groups were treated at seven-day intervals between applications for six weeks. Statistical evaluation was carried out regarding the papillomas count and the results obtained in hematological analyzes, pre and post-treatment. Both treatments showed positive responses, with regression of papillomas throughout the experiment. However, autohemotherapy was shown to have a higher mean percentage of regression (76.03%) and faster treatment response. However, due to the type of distribution made in the present study, it is possible to observe that for the ozone therapy group, there was a greater challenge, when compared with the other groups. In the evaluation of the results of the hemograms, it was observed that for the ozone therapy group, there was a considerable regression in all the inflammatory parameters evaluated, reinforcing the idea of the anti-inflammatory effect of ozone therapy. It is concluded then that despite the positive effects demonstrated by ozone therapy, the technique is not the most indicated because it is more laborious and involves a higher cost during treatment when compared to autohemotherapy.

Keywords: Autohemotherapy. Cattle farming. Epidemiology. Immunodeficiency.

Ozone.

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Distribuição dos animais em seus respectivos grupos, de acordo com o tipo de papiloma encontrado.	34
2. Bovinos mestiços Girolando, provenientes das cidades Ibicaraí, Coaraci e Santa Cruz da Vitória no Estado da Bahia, atendidos entre agosto e setembro de 2019.	35
3. Distribuição dos animais em relação ao tamanho dos papilomas encontrados em seus respectivos grupos de tratamento.	37
4. Distribuição dos animais em relação ao nível e infecção dos papilomas de acordo com seus respectivos grupos de tratamento.	38
5. Bovino mestiço de Girolando, com oito meses de idade, apresentando lesão ulcerativa por ferida mecânica em um dos seus papilomas localizados em região de dorso.	39
6. Principais localizações afetadas pelos papilomas e o número de animais acometidos.	40
7. Lista das atividades ligadas a fatores de estresse relatados pelos tratadores.	41
8. Gráfico de evolução dos animais do grupo controle durante todo o período de observação.	44
9. Gráfico de evolução dos animais do grupo autohemoterapia durante todo o período de tratamento.	44
10. Gráfico de evolução dos animais do grupo ozonioterapia durante todo o período de tratamento.	44

LISTA DE TABELAS

Tabela	Página
1. Identificação dos animais incluídos no estudo para tratamento de papilomatose em bovinos mestiços Girolando nas cidades de Ibicaraí, Coaraci e Santa Cruz da Vitória, Bahia, entre agosto e setembro de 2019.	33
2. Comparação entre o tipo de papiloma encontrado e a idade dos animais incluídos no estudo para tratamento de papilomatose em bovinos mestiços Girolando em Ibicaraí, Coaraci e Santa Cruz da Vitória, Bahia, entre agosto e setembro de 2019.	36
3. Comparação entre o grau e infecção da Papilomatose e o tamanhos dos papilomas encontrados nos animais incluídos no estudo para tratamento de papilomatose em bovinos mestiços Girolando, nas cidades de Ibicaraí, Coaraci e Santa Cruz da Vitória, Bahia, entre agosto e setembro de 2019.	37
4. Comparação entre o grau e infecção da Papilomatose e o tamanhos dos papilomas encontrados nos animais incluídos no estudo para tratamento de papilomatose em bovinos mestiços Girolando, nas cidades de Ibicaraí, Coaraci e Santa Cruz da Vitória, Bahia, entre agosto e setembro de 2019.	39
5. Análise de variância do número de papilomas, referente aos tratamentos Controle, Autohemoterapia e Ozonioterapia para tratamento de papilomatose em bovinos mestiços Girolando em Ibicaraí, Coaraci e Santa Cruz da Vitória, Bahia, entre agosto e setembro de 2019.	42
6. Comparação entre a resposta do tratamento autohemoterapia para os diferentes tipos de papilomas encontrados nos animais incluídos no estudo para tratamento de papilomatose em bovinos mestiços Girolando, nas cidades de Ibicaraí, Coaraci e Santa Cruz da Vitória, Bahia, entre agosto e setembro de 2019.	43
7. Comparação entre a resposta do tratamento ozonioterapia para os diferentes tipos de papilomas encontrados nos animais incluídos	43

no estudo para tratamento de papilomatose em bovinos mestiços Girolando, nas cidades de Ibicaraí, Coaraci e Santa Cruz da Vitória, Bahia, entre agosto e setembro de 2019.

8. Análise de variância de Hemácias, Hematócritos Hemoglobina, VGM, CHGN, PPTs, Paquetas e Leucometria Global referente aos tratamentos Controle, Autohemoterapia e Ozonioterapia para tratamento de papilomatose em bovinos mestiços Girolando em Ibicaraí, Coaraci e Santa Cruz da Vitória, Bahia, entre agosto e setembro de 2019. 46
9. Análise de variância de Bastonetes, Segmentados, Linfócitos, Monócitos, Eosinófilos, Basófilos referente aos tratamentos Controle, Autohemoterapia e Ozonioterapia para tratamento de papilomatose em bovinos mestiços Girolando em Ibicaraí, Coaraci e Santa Cruz da Vitória, Bahia, entre agosto e setembro de 2019. 47

SUMÁRIO

	Pag.
1. INTRODUÇÃO.....	12
2. OBJETIVOS.....	14
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	15
4. MATERIAL E MÉTODOS	29
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
6. CONCLUSÃO	50
REFERÊNCIAS.....	51
ANEXO.....	62

1. INTRODUÇÃO

A bovinocultura exerce grande influência no crescimento econômico do país e teve seu início desde o século XVI. Sendo assim, a maior parte da pecuária brasileira continua no sistema extensivo de criação e com o aumento da criação de bovinos, também houve um crescimento nas doenças bovinas e por procura de tratamentos, como é o caso da Papilomatose bovina (TEIXEIRA; HEPANHOL, 2014).

A Papilomatose bovina é uma doença infectocontagiosa, crônica, causada por um vírus DNA, de natureza fibroepitelial, pertencente à família *Papillomaviridae*, gênero *Papillomavirus* e tem como característica se manifestar principalmente em animais imunodeficientes e com idade inferior a dois anos (CORRÊA; CORRÊA, 1992). O vírus produz uma infiltração de célula basal do epitélio, causando lesões tumorais superficiais em pele e mucosas, produzindo projeções digitiformes. Já foram identificados seis tipos de papiloma vírus bovino e a classificação das cepas virais irá depender do seu tropismo tecidual e do caráter histopatológico da lesão produzida.

A doença merece atenção, pois após o aparecimento das lesões em pele e mucosas, pode haver uma queda na produção leiteira, desvalorização dos animais que posteriormente serão comercializados, desenvolvimento lento, além de depreciação do couro, resultando em um real prejuízo econômico ao produtor. Além disso, as lesões mais extensas estão sujeitas a ulceração e conseqüente infecção bacteriana secundária. Outro fator importante é o acometimento das lesões nos tetos, o que pode dificultar ou até mesmo impossibilitar a ordenha e amamentação (CAMPO, 2003; WELLENBERG et al., 2002).

Existem diversos tratamentos relatados na literatura, porém a maioria se mostrou diferenças nos resultados. Dentre os tratamentos, os principais encontrados são: Vacina autógena, Vacina espécie-específica (SILVA et al., 2001; VERÍSSIMO et al., 2002); Remoção cirúrgica (SMITH, 1990; CORRÊA; CORRÊA, 1992) e Autohemoterapia (CORRÊA; CORRÊA, 1992; SILVA et al., 1998). O tratamento

com autohemoterapia é um dos mais utilizados, principalmente devido à facilidade de aplicação e ao baixo custo (CORRÊA; CORRÊA 1992).

Tendo em vista a necessidade de se empregar terapias que estimulem a imunidade do animal acometido com Papilomatose, sugere-se a ozonioterapia como um tratamento alternativo e complementar, por possuir como uma de suas principais características a ação imunomoduladora.

A ozonioterapia é baseada no gás ozônio, obtido a partir do oxigênio medicinal, que por meio de um aparelho que emite pequenas descargas elétricas, une três moléculas de oxigênio (O_2) e forma o Ozônio (O_3), um gás altamente volátil e com alto poder oxidativo, que deve ser rapidamente utilizado, pois em um curto espaço de tempo, retorna para sua forma O_2 (OLIVEIRA, 2007; CUNHA, 2010; MARQUES, 2015).

Das principais vias de aplicação da ozonioterapia, pode-se citar a ozonioterapia maior e menor, que consiste na retirada de uma pequena fração do sangue do paciente, com posterior ozonização, seguido pela aplicação por via endovenosa e intramuscular, respectivamente (HENSLETER et al., 2009). Outra possível via de utilização é a insuflação retal, que possui baixo custo, fácil aplicação e bons resultados, sendo também considerada uma via sistêmica (RODEKOHR; KÜBLER, 2009).

Estudos mostraram que a resposta sistêmica à terapia com ozônio influencia diretamente na resposta imune, tanto suprimindo, quando estimulando. Essa diferença ocorre principalmente devido a variação da dosagem usada, sendo que baixas doses de O_3 são capazes de induzir a resposta imune, enquanto altas doses de O_3 podem inibir a resposta (ZAMORA et al., 2005; BOCCI, 2004; BOCCI et al. 2006).

Devido à escassez e a inconstância de alguns tratamentos relatados na literatura, o objetivo desse trabalho foi avaliar a eficácia da ozonioterapia em bovinos, provenientes de fazendas leiteiras, localizada no sul da Bahia, diagnosticados com Papilomatose.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a eficácia da ozônioterapia em bovinos acometidos com Papilomatose, proveniente de fazendas leiteiras, localizadas no sul do estado da Bahia.

2.2 Objetivos específicos

1. Realizar o atendimento e avaliação clínica de bovinos provenientes de fazendas localizadas no sul do estado da Bahia, acometidos por Papilomatose, coletar e realizar exames sanguíneos;
2. Tratar os animais por meio da ozônioterapia e autohemoterapia;
3. Avaliar evolução a cada sessão dos tratamentos através da observação da regressão dos papilomas;
4. Avaliar a resposta celular seguidos de hemogramas realizados ao início e após o término dos tratamentos.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Papilomatose Bovina

O papiloma vírus bovino (BPV) tem sido amplamente estudado nos rebanhos, devido as suas consequências ao animal (Papilomatose cutânea, lesões benignas e malignas em esôfago e bexiga) que podem acarretar em perdas expressivas nos rebanhos (LINDSEY, et al., 2009). A Papilomatose é uma doença infectocontagiosa, crônica, que afeta principalmente bovinos jovens e imunossuprimidos, causada por um DNA vírus, pertencente à família *Papillomaviridae*, gênero *Papillomavirus* e de natureza fibroepitelial. Ocasionalmente lesões tumorais superficiais benignas que atingem pele e mucosas, mas também malignas, tais como fibropapilomas em bexiga urinária e papilomas de esôfago (CORRÊA; CORRÊA, 1992; BORZACCHIELLO, 2008; CAMPOS, 2003a; ROPERTO, 2008). Foi descrita pela primeira vez em 1929, e desde então, tem sido descrita no mundo todo. O termo papiloma é derivado do latim *papila* e possui como significado pústulas, *oma* significa tumor benigno (WITTMANN, 1999).

Ao todo, já foram identificados seis principais tipos de cepas virais em bovinos classificadas de acordo com seu tropismo celular e pelo caráter histopatológico da lesão. O grupo I (BPV-3 e BPV-6) produz uma neoplasia cutânea, enquanto o grupo II (BPV-4) induz uma hiperplasia do epitélio escamoso estratificado, e o grupo III (BPV-1, BPV-2, BPV-5) induz um fibroadenoma cutâneo, sendo os papilomas pedunculados (BPV-2) e os papilomas planos (BPV-3) os mais facilmente encontrados (MURPHY et al., 1999; CORRÊA; CORRÊA, 1992; BORZACCHIELLO; ROPERTO, 2008; NASIR; CAMPO, 2008; LUNARDI, et al., 2013; MUNDAY, et al., 2015).

A replicação do vírus nas células basais do epitélio estimula a proliferação celular, hiperplasia e acantose (ROMANOS et al., 2002). Além disso, o processo de infecção viral está diretamente ligado ao genoma viral, que depende de fatores genéticos do hospedeiro. Durante a infecção os genes do hospedeiro podem ser ativados ou inativados pelas proteínas virais patogênicas (KLYMENKO, et al.,

2017). Alguns estudos apontam que o vírus da Papilomatose bovina regula esses genes, aumentando assim a replicação viral e por consequência, o processo de infecção. No entanto, ainda não se tem conhecimento sobre quais genes dos hospedeiros estão envolvidos na regulação por infecção viral (CULP et al., 2005; KLYMENKO et al., 2017).

Em cortes histológicos é possível observar não somente hiperplasia das células do estrato espinhoso, como também inclusões intranucleares contendo partículas virais. Observou-se também um aumento da eleidina, queratoialina e queratina, levando a formações nodulares e apoptose em algumas células acantóticas, caracterizada pela diminuição do citoplasma (CORRÊA e CORRÊA, 1992; EISA et al., 2000; JONES et al., 2000;).

3.2 Epidemiologia

As tumorações produzidas pelo vírus podem ser encontradas em diversas regiões do corpo do animal, sendo as principais: Rúmen, genitália (MURPHY et al., 1999), esófago (HAMADA et al. 1989), pele, regiões da cabeça, especialmente em torno dos olhos, pescoço (MARY; GUERREIRO, 1988; MURPHY et al., 1999), úbere, mas também podendo ser encontradas no corpo todo (SAVEIRA et al., 1981; MURPHY et al., 1999; VAHIDA; JAYAKUMAR, 1999). As lesões são caracterizadas por saliências sólidas da epiderme, pedunculadas ou planas, únicas ou múltiplas, afetando um ou mais animais. Casos de papilomas generalizados indicam uma baixa resposta imunológica do animal (FOZ-FILHO et al., 2002).

A doença possui distribuição mundial, sem predileção de sexo ou raça, sendo mais comum em animais com idade inferior a dois anos. Possui morbidade variável, havendo propriedades em que até 20% ou mais dos bovinos apresentam a doença (CORRÊA; CORRÊA, 1992). Segundo Wittmann (1999), 2,5% dos 1000 bovinos avaliados por ele apresentaram papilomas e 23% desses possuíam entre 10 a 21 meses de idade. A letalidade da doença é baixa, e quando esta ocorre está relacionada por lesões secundárias como miíases, traumatismos ou ao

enfraquecimento do animal em casos de elevado nível de infecção por papilomas (CORRÊA; CORRÊA, 1992).

Costuma atingir preferencialmente animais imunosuprimidos, e suas lesões costumam persistir por cinco a seis meses, e em alguns casos, até 18 meses. Em casos de recuperação espontânea, os animais adquirem uma imunidade que dura até três meses. O período de incubação até o aparecimento das lesões varia de três semanas a quatro meses, e o curso da doença pode durar até 18 meses. O reservatório da doença são os próprios doentes (CORRÊA; CORRÊA, 1992; FOZ-FILHO et. al., 2002).

A regressão espontânea dos papilomas, segundo algumas pesquisas, acontece em cerca de 85% dos casos, pois o papiloma desperta a imunidade humoral e citomediada, podendo promover a cura espontânea da doença, com o desaparecimento das lesões, sem instituição de qualquer tratamento (MURPHY et al., 1999)

Em bezerros, a Papilomatose costuma regredir em um prazo de até um ano. No entanto, em bovinos adultos, a tendência não é de regressão, principalmente em casos de papilomas planos (CORRÊA; CORRÊA, 1992). A duração e extensão do crescimento dos papilomas estão relacionadas com a idade, receptividade genética e principalmente, a imunodeficiência (ROSENBERGER, 1989).

3.3 Características macroscópicas dos Papilomas

O papiloma vírus bovino induz a lesões benignas e hiperplásicas, que afetam epitélio e mucosas, podendo ou não haver regressão sem a necessidade de tratamento. A Dependendo de fatores ambientais, essas lesões podem desenvolver carácter neoplásico, ou até mesmo maligno (SCHMITT et al., 2010; CARVALHO et al., 2012).

A quantidade e tamanhos dos papilomas apresenta grande variação, podendo atingir desde milímetros a vários centímetros. Em alguns casos, é possível contar mais de 220 papilomas em cada animal. No entanto, em média aparecem de 10 a 100 papilomas por indivíduo. Observa-se também que, quanto maior é a quantidade de papilomas, menor é o tamanho dos papilomas (WITTMANN, 1999).

O papiloma pedunculado pode ser mais encontrado em animais jovens, mas também ocorrem em animais adultos. É caracterizado por possuir sua base ampla, superfície irregular, cornificada, não possui pelo e com tamanho que geralmente mede de um a 10 centímetros de diâmetro. Possuem característica de serem arborescentes, com aspecto de “couve-flor”, friáveis, coloração cinza escura e consistência firme. É facilmente visto, e ocorre com maior frequência em barbela, pescoço ou cabeça, mas pode ser encontrado também em outros locais (SANTIN, 2001; DASSIE, 2002; SANTIN e BRITO, 2003; MOHAMMED et al. 2018).

A forma do papiloma plano é mais comumente encontrada em animais velhos. É uma formação circular, de coloração que varia desde rosa clara a cinza escura, aspecto filiforme, achatado, podendo apresentar pelos, com tamanho que varia desde 0,5 até alguns centímetros. Ocorre com mais frequência na região do pescoço, dorso e abdômen. Sua visualização é mais difícil, se tornando perceptível apenas quando o animal está em grau mais avançado da doença, o que torna mais difícil o tratamento (SANTIN, 2001).

Devido à possibilidade de se detectar mais de uma cepa viral em um mesmo animal, as lesões podem assumir variadas formas, sendo encontrados tanto papilomas pedunculados quanto planos em um mesmo animal, sendo essa a forma de apresentação mista (SANTIN; BRITO, 2003). Sendo assim, a presença simultânea de mais de um tipo viral pode estar relacionada a diferentes tecidos infectados, em diferentes momentos, visto que o vírus pode se espalhar por uma grande área do corpo do hospedeiro (BODAGHI et al., 2005).

Segundo o estudos feitos por Savini et al. (2016), somente 20% das amostras coletadas pelos autores demonstraram infecção por apenas um único agente viral, o que reforça ainda mais a característica de múltipla infecções nas lesões da Papilomatose. Além disso, os autores ainda apontaram a existência de infecção pelo Pseudocowpox vírus através da amplificação genética de amostras recolhidas e estudadas, causando lesões semelhantes à Papilomatose bovina.

3.4 Transmissão

Os animais debilitados são os mais susceptíveis. A transmissão natural do vírus acontece por meio do contato direto entre um animal infectado e um saudável, e indireto, por meio de cercas, troncos, agulhas hipodérmicas contaminadas, equipamentos de ordenhadeira mecânicos inadequadamente esterilizados (CORREA; CORRÊA, 1992). Alguns animais acometidos com papilomatose, eventualmente apresentam complicações por feridas mecânicas, hemorragias, miíase e infecções secundárias, fato esse que costuma ocorrer em papilomas grandes ou em aglomerações de animais doentes (RICHTZEHAIN; RIBEIRO, 1982).

A transmissão por monta natural também é possível em casos em que o animal possua lesões em seus órgãos reprodutivos (CORREA; CORRÊA, 1992). Sequências de DNA do papiloma vírus bovino foram encontradas em amostras uterina, ovarianas, fluidos e oócitos animais abatidos que não apresentavam papilomatose cutânea, mostrando que a infecção não é específica de tecidos epiteliais (CARVALHO et al., 2003). Esses achados também revelam que há uma possibilidade de transmissão do papiloma vírus bovino através de transferências de embriões e inseminações artificiais (CARVALHO et al., 2003).

A transmissão por via mamária ocorre pelos equipamentos de ordenha higienizados de forma incorreta ou pelas mãos dos ordenadores que carregam o vírus e infectam a pele dos animais nas áreas de abrasões (REBHUN, 2000). Em propriedades onde existam muitos carrapatos e situações de estresse, como transporte, desmama e descorna, a doença pode se agravar, piorando o estado clínico dos animais (CORREA; CORRÊA, 1992; MOHAMMED et al. 2018).

3.5 Sinais clínicos

Em bovinos, a forma cutânea da doença se apresenta formando projeções verrucosas que podem variar de milímetros até alguns centímetros de tamanho,

podendo se apresentar aderidos a pele ou pendurados. A sua coloração quase sempre se mantém rosada, cinza claro ou escuro (CARVALHO et al., 2000).

Nos casos onde há formações de papilomas na região peniana, observa-se uma dificuldade do touro na monta natural, principalmente, quando ocorre na glândula do animal. O fibropapiloma no pênis também já foi associado ao BPV-1, podendo levar a necrose e diminuição gradativa da função reprodutiva (CORRÊA e CORRÊA, 1992; GARDINER, et al., 2008). Em fêmeas, pode ocorrer a forma vaginal, devendo-se sempre examinar os órgãos reprodutores através da palpação retal ou inspeção visual. Papilomas em tetas e úberes também já foram associados ao BPV-1 (HAMATA et al., 2008). Amostras de sangue e de tecido reprodutivo também já demonstraram a presença do vírus (CARVALHO et al., 2003; DINIZ et al., 2009). Papilomas em bexiga também podem ser diagnosticados pelo método de palpação retal (CORRÊA; CORRÊA, 1992). Em casos de fibropapilomas interdigitais, há uma claudicação grave, de tal forma, que o animal se mantém em decúbito (BLOOD; RADOSTITS, 1991).

Na forma oral, pode-se observar papilomas na base da língua, provocando emagrecimento, devido à dificuldade de se alimentar e, em alguns casos, ronco. No esôfago, pode causar meteorismo recidivante e até timpanismo. Na traqueia e laringe, causam estertores e dispnéia, sendo esses só diagnosticados em casos mais graves (CORRÊA; CORRÊA, 1992).

3.6 Diagnóstico

O diagnóstico da papilomatose é feito principalmente através da avaliação clínica do animal, com avaliação morfológica e aspectos das lesões, anamnese e avaliação das condições de criação. No entanto, se os sinais clínicos não foram característicos da doença, recomenda-se a realização da biópsia excisional para confirmação (REBHUN, 2000). O diagnóstico histopatológico da lesão é também

um método muito importante, tanto quanto a identificação do vírus envolvido na lesão por meios moleculares (OLIVEIRA et al., 2003).

Dentre os testes sugestivos e confirmatórios da Papilomatose, destacam-se a citologia, histopatologia, a microscopia eletrônica, imunohistoquímica e PCR (MURPHY et al., 1999; ROMANOS et al., 2002).

O exame citopatológico identifica as lesões benignas e diferencia das mais graves. A histopatologia identifica as lesões características causadas pelo papiloma vírus bovino, mas não consegue diferenciar a cepa envolvida. A microscopia eletrônica de transmissão identifica as partículas virais intranucleares, mas é pouco utilizada no diagnóstico das lesões (ROMANOS et al., 2002).

O prognóstico da papilomatose cutânea bovina é favorável, exceto em animais tratados tardiamente e extremamente imunodeprimidos. Em casos de papilomatose na mucosa do trato alimentar e ocasionalmente em bexiga, o prognóstico é reservado, já que, nesses casos existe uma pequena chance das lesões evoluírem para carcinoma das células escamosas (CORRÊA ; CORRÊA, 1992).

3.7 Tratamento

Apesar do caráter auto limitante e de resolução espontânea da doença, o tratamento se faz necessário principalmente quando ocorre uma infecção intensa ou uma elevada quantidade de animais em uma mesma propriedade, pois em grande parte dos casos, a resolução espontânea leva tempo para acontecer (CORREA; CORRÊA, 1992).

Alguns tratamentos já foram abordados na literatura, mas muitos se mostraram inconstantes e insatisfatórios nos seus resultados, o que leva o produtor a descartar precocemente animais de alto valor zootécnico (CORREA; CORRÊA, 1992).

Dentre os tratamentos, as principais alternativas são: vacina autógena espécie-específica (SILVA et al., 2001; VERÍSSIMO et al., 2002); remoção cirúrgica (SMITH, 1990; CORRÊA; CORRÊA, 1992), autohemoterapia (CORRÊA; CORRÊA, 1992; SILVA et al., 1998).

De acordo com Corrêa e Corrêa (1992), o tratamento com a autohemoterapia tem como resultado a promoção de um estímulo proteico inespecífico e em casos de

doenças inflamatórias crônicas, pode levar a uma reativação orgânica. Na Papilomatose bovina, o organismo absorve o sangue venoso injetado e o sistema imune é ativado, passando a produzir anticorpos contra o vírus, o que acaba por eliminar a enfermidade (LOBATO; BIRGEL JR, 2000), sendo esse um dos principais tratamentos utilizados, devido à facilidade de aplicação e baixo custo.

3.8 Ozonioterapia

O gás ozônio foi descoberto em 1840 pelo pesquisador alemão Dr^o Christian Friedrich Schoenbein, que observou um odor característico ao submeter à água a descargas elétricas (NOGALES et al., 2008). O ozônio (O_3) é a forma tri-atômica do oxigênio, uma molécula natural, bastante reativa e instável, sendo assim, logo se recompõe espontaneamente a oxigênio. Também possui solubilidade em água superior à do oxigênio e poder oxidativo mais rápido. Em temperatura ambiente possui coloração azulada e odor característico (GARCIA et al., 2008).

O sistema de produção para a utilização do ozônio como terapia complementar é a partir de um gerador de ozônio seguro, com materiais resistentes e atóxicos, que emite descargas elétricas (de 5 a 13 mV) (BOCCI, 2006). É necessário utilizar o oxigênio medicinal (oxigênio puro) para a fabricação do gás ozônio, sua concentração é medida em mcg/mL e o volume administrado é medido em mL. Ao gerar o ozônio medicinal é formado uma proporção entre oxigênio e ozônio que pode variar entre 95% de oxigênio e 5% de ozônio, a partir da utilização necessária (BOCCI, 2005; OLIVEIRA, 2008).

O ozônio também pode ser usado na esterilização de materiais cirúrgicos, pois inativa os microrganismos de forma rápida e sem gastar energia, enquanto os outros métodos (autoclave e estufa) demoram cerca de 20 minutos para finalizar todo o processo de esterilização. Possui grande utilidade principalmente por não deixar resíduos nocivos, sendo todo O_3 residual convertido em O_2 em um curto espaço de tempo (KOWALSKI et al., 1998; PENIDO et al., 2010).

Em sua ação sobre tecidos vivos, o ozônio tem o poder de reduzir a agregação plaquetária e de atuar com ação antialérgica e anti-inflamatória (PENIDO et al., 2010). Também possui outras qualidades como estimular a produção de citocinas,

a síntese de anticorpos, ativar linfócitos T, promover vasodilatação que, por consequência, melhora a oxigenação e o metabolismo celular induzindo o aumento da resposta antioxidativa e fazendo importante oxidação de compostos orgânicos, além de precipitar metais pesados (VELANO, 2001).

Por ser um gás altamente instável, o ozônio se degrada rapidamente, voltando ao sua forma estável, o Oxigênio (O₂), com a formação e liberação de moléculas livres de O₂ e radicais livres, que são altamente reativos. Por esse motivo, o oxigênio e os radicais livres liberados irão oxidar quaisquer vírus, bactérias, fungos, parasitas, compostos orgânicos e inorgânicos que entrarem em contato com a solução ozonizada, e por isso têm sido considerado um composto microbicida eficaz de amplo espectro (VELANO, 2001; BARROS, 2001; GARCIA et al., 2008; HADDAD, 2009; PENIDO et al., 2010).

Quando comparado com o oxigênio, o Ozônio é dez vezes mais solúvel, tendo uma maior capacidade de se difundir e penetrar em tecidos, além de possuir maior facilidade de se dissolver no plasma e nos fluidos extracelulares. No entanto, por ser uma substância oxidante, o ozônio não consegue se manter estável nos meios líquidos, e por sua vez, reage imediatamente com moléculas presentes nesses meios, tais como proteínas, carboidratos, ácidos polinsaturados, que podem ser chamadas de antioxidantes (BOCCI, 2005). Sendo assim, o ozônio medicinal age gerando um estresse oxidativo que resulta na produção do efeito antioxidante pelo organismo do paciente (OLIVEIRA, 2007).

3.9 Bioquímica

A reação do ozônio com as moléculas no meio plasmático é separada em dois processos: O primeiro é a reação inicial, onde a molécula de ozônio será oxidada pelo ácido ascórbico, por um grupo de proteína sulfidrilas e por glicoproteínas. Essas reações são importantes por que geram as “espécies reativas de oxigênio” ou ROS. As ROS são neutralizadas rapidamente pelas moléculas que compõem o sistema antioxidante (SANCHEZ, 2008). A segunda reação se dá pela peroxidação lipídica. Em meio plasmático, uma molécula de olefin (partícula do ácido araquidônico) reagindo com uma molécula de ozônio, gera duas moléculas de aldeídos e uma de peróxido de hidrogênio. Essas duas reações são finalizadas em segundos e possuem como produto peróxidos de hidrogênio e uma série de

aldeídos - produtos lipídicos oxidantes (LOPs) ou lipoperóxidos (SANCHEZ, 2008). Sabe-se então que não é o ozônio em si que irá gerar as sucessivas reações bioquímicas que acontecem em diversas células por todo o organismo após a administração da ozonioterapia por via sistêmica, e sim os subprodutos gerados, os ROS e os LOPs (BOCCI, 2005).

3.10 Ações da ozonioterapia

Apesar de ainda existir algumas oposições quanto ao uso do gás ozônio, principalmente na medicina humana, cada vez mais vem sendo instituído terapias e protocolos devido as suas características microbicida, ativadora do metabolismo celular, modulador imunológico, modulador de estresse oxidativo, melhora do reparo tecidual, neovascularização, dentre outras (BOCCI, 2005; OLIVEIRA 2003, OLIVEIRA, 2007).

Concentrações molares mínimas de LOPs são capazes de estimular a proliferação celular e atividade bioquímica, sendo a toxicidade concentração-dependente, mas se mostrando quase que irrelevante (BOCCI, 2005).

Outra ação importante da ozonioterapia é a diminuição da viscosidade sanguínea que é exercida pelo efeito anti-adesivo e profilático contra trombos. Outro importante mecanismo é a ação imunomoduladora, que de acordo com as doses utilizadas, melhora o estado de condição geral (OGATA, 2000; BARROS, 2001; BOCCI, 2005; HADDAD, 2009). Através da reação com os ácidos graxos insaturados da membrana fosfolipídica, o O₃ leva a uma série de produção de peróxidos hidrofílicos que estimulam a formação de substâncias desoxigenantes, que atuam sobre a oxihemoglobina, aumentando a liberação de oxigênio e melhorando a oxigenação dos tecidos (OGATA, 2000; BARROS, 2001; HADDAD, 2009).

A ação microbicida direta (contra bactérias, vírus e fungos) é devido à ausência de um sistema de tamponamento antioxidante na parede celular desses microorganismos, portanto o estresse oxidativo causado pelo ozônio os torna frágeis, e após penetrar no interior da célula, irá promover oxidação de aminoácidos e ácidos nucléicos. Já a ação microbicida indireta é resultado das alterações metabólicas que são causadas pelos ROS e pelos LOPs (PEREIRA et al., 2005; BOCCI, 2005). Nas bactérias ocorrem mudanças na permeabilidade

celular seguida de lise celular, que acarreta na morte bacteriana. Essa lise é consequência das altas concentrações de oxidante (OLIVEIRA, 2008).

Segundo Sanchez (2008) os lipoperóxidos favorecem a circulação geral, a oxigenação celular e fortalecem o sistema imunológico. As concentrações terapêuticas de O₃ estimulam maiores produções de citocinas, interleucinas e interferons que irão alertar outras células de defesa do sistema imunológico e definir toda a resposta do sistema imune.

Alguns estudos sugerem a ocorrência de leucocitose em pacientes submetidos à ozonioterapia, levando assim a um aumento do efeito bactericida dos leucócitos e favorecendo ao aumento na produção de imunoglobulinas pelo sistema imune. Esse fator parece ser devido à estimulação de citocinas por estas células e pela maior disponibilidade de oxigênio gerado pelo ozônio, que possibilita a estas células de defesa um aumento em seu metabolismo. Essa característica de leucocitose contraindica o uso sistêmico da ozonioterapia em pacientes que já se encontram em estágio inflamatório generalizado e sepse, sob pena de agravar o quadro. (PEREIRA; GARCIA, 2006).

Também é sugerido que o O₃ inibe aderências, atuando sobre a atividade plaquetária, o que irá reduzir o processo inflamatório local e melhorar a atividade cicatricial. O ozônio age sobre mediadores químicos da inflamação inibindo a formação do ácido araquidônico e a síntese de prostaglandinas, atuando sobre citocinas e por consequência, bloqueando a inflamação. Todos esses fatores irão gerar uma rápida analgesia e uma redução da inflamação, tanto aguda quanto crônica (TRAVAGLI et al., 2007).

3.11 Formas de administração da ozonioterapia

As formas de utilização da ozonioterapia são diversas, tais como: via endovenosa, via oral, intramuscular, subcutânea, insuflação retal e vaginal, autohemoterapia maior, autohemoterapia menor, intrarticular, intraperitoneal, intrapleural, intramamária, intralesional, perilesional, insuflação em “bags” e através de uso tópico de água ou óleo ozonizado. A via inalatória é proibida devido à toxicidade em traqueia e brônquios. A via endovenosa com aplicação direta do gás também é proibida desde 1984, devido à utilização inadequada em humanos e a

grande chance de provocar êmbolos gasosos e por consequência, morte do paciente (BOCCI, 2005).

A aplicação tópica pode ser feita através de NaCl 0,9%, água, óleo e creme ozonizados. Tem como grande vantagem o baixo custo e sua importante ação antibacteriana. A utilização tópica do ozônio tem papel antisséptico e de cicatrização, pois promove a proliferação e remodelação das células epiteliais. Não possui contraindicação e o tempo de cicatrização reduz significativamente quando comparado com os tratamentos convencionais (BOCCI, 2005). Também pode ser feita através da insuflação de bolsas plásticas resistentes ao O₃ e através de óleos, que são utilizados como agente estabilizante para o ozônio, aumentando o seu poder germicida (BOCCI, 2005; PENIDO et al., 2010). O óleo ozonizado também pode ser utilizado por via oral em forma de cápsulas, supositórios, colírios e aplicado diretamente no reto ou na vagina (BOCCI, 2005).

O uso injetável de O₃ é feito utilizando seringas de silicone ou seringas plásticas descartáveis e resistentes ao O₃ e são aplicadas por via intradérmica, intramuscular, intrarticular, intralesional e perilesional. Essa via é indicada para enfermidades cutâneas, lesões em pele (infectadas ou não) e para dores localizadas (BOCCI, 2005).

A insuflação retal é amplamente utilizada por ser de baixo custo, fácil aplicação e baixo risco de toxicidade. É aplicado via sonda de silicone introduzida no reto, onde o gás flui lentamente. Um fator importante é a indicação do enema para assim esvaziar a ampola retal antes da insuflação, pois reduz as chances de interação do gás com as fezes. É indicado para tratamento de desordens circulatórias e imunoestimulação. Essa via de aplicação tem efeito no aumento das enzimas antioxidantes hepáticas e renais, ação imunoestimulante, aumento da ativação linfocitária e não interfere na flora intestinal (BOCCI, 2005).

A autohemoterapia maior consiste na coleta de um volume sanguíneo adequado do paciente, em bolsa de transfusão de sangue de silicone, contendo anticoagulante (Citrato de sódio). O ozônio é aplicado dentro da bolsa de transfusão e homogeneizado por pelo menos cinco minutos e o sangue é então retransfundido por via endovenosa. Essa terapia tem indicação para desordens circulatórias, imunoestimulação e algumas neoplasias, como os carcinomas (BOCCI, 2007).

A autohemoterapia menor é também de fácil aplicação e baixo custo, atóxico e se

aplicada corretamente, sem efeitos colaterais. É indicada para o tratamento de alergias, furunculoses e adjuvante no tratamento de câncer (NOGALES et al., 2008). Essa aplicação consiste na retirada em uma seringa de sangue do paciente, que é misturado a um volume igual de ozônio, em concentrações adequadas ao paciente e à enfermidade a que se pretende tratar. A administração é feita por via intramuscular ou subcutânea, sendo considerada uma espécie de autovacina (BOCCI, 2005).

3.12 Ozonioterapia na Medicina Veterinária

Em paciente caninos, Zullyt et al. (2008) obtiveram resultados positivos em tratamentos com o ozônio para parvovirose canina usando autohemoterapia maior e na administração oral de óleo de girassol ozonizado para o tratamento de giardíase. Garcia et al. (2008) descreveram resultados eficazes no tratamento de Erliquiose canina usando autohemoterapia maior ozonizada.

Garcia et al. (2008) também obtiveram resultados positivos no tratamento de habronemose rostral em égua, utilizando tratamento tópico de água ozonizada e óleo de girassol ozonizado, além de terapia sistêmica por autohemoterapia maior.

Prado e Cortes (2017) relataram o uso da ozonioterapia em ferida por mordedura em um paciente canino, usando aplicação do ozônio perilesional, por “bagging” e por insuflação retal.

Segundo Travagli et al. (2007) o uso da ozonioterapia tem se mostrado eficaz nas principais enfermidades equinas, como por exemplo: abscessos, sinusites, sinovites inflamações, lesões teciduais, enfermidades isquêmicas vasculares como laminites agudas, linfangites, feridas cutâneas infeccionadas, dermatomicoses e osteomielites. O uso do ozônio também se mostrou eficiente através da aplicação intramamária para tratamentos de mastite clínica em vacas leiteiras de alta produção (OGATA, 2000).

3.13 Efeitos colaterais da ozonioterapia

A terapia com ozônio sempre deve ser realizada por um profissional capacitado e experiente, para que não ocorram erros que coloquem em risco a vida do paciente. A toxicidade da Ozonioterapia está sempre associada à via de aplicação escolhida

erroneamente, volume, concentração, rápida velocidade na hora da administração e materiais escolhidos de forma incorreta (BOCCI, 2005).

Travagli et al. (2007) relatou que o O₃ em excesso é nocivo para os mamíferos e essa administração em altas concentrações geram danos aos ácidos nucléicos.

Segundo Nogales et al. (2008) houveram casos de irritação das vias aéreas, com efeitos colaterais em humanos como rinite, enxaqueca, náuseas e vômitos. Entretanto, é importante salientar que esses efeitos não são frequentes e ocorreram em menos de 0,0007% dos pacientes tratados. Os olhos são muito sensíveis ao gás ozônio, pois possuem quantidades baixas de antioxidantes e neutralizadores. Por esses motivos, os olhos do paciente nunca devem entrar em contato direto com o gás e a terapia por inalação é contraindicada (BOCCI, 2006).

A ozonioterapia tem relatos extremamente baixos de efeitos colaterais. No entanto, já foram identificadas quatro mortes na medicina humana por embolismo pulmonar devido à administração direta do gás por via endovenosa. Contudo, a Ozonioterapia é considerada uma terapia eficaz que pode e deve ser usada com cautela após a definição correta de sua terapêutica (BOCCI, 2005). Em casos de possíveis intoxicações com ozônio, deverá ser feita inalação de oxigênio, podendo ser administrado vitamina E, ácido ascórbico e n-acetilcisteína (NOGALES et al., 2008).

4. MATERIAL E MÉTODOS

Comissão de Ética no Uso de animais (CEUA)

As técnicas e os procedimentos utilizados na presente pesquisa estão dentro das normas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual de Santa Cruz (protocolo nº 013/2019).

Animais

O Presente estudo foi desenvolvido em fazendas de gado leiteiro localizadas em três municípios do Sul do estado da Bahia, sendo os mesmos: Ibicaraí, Coaraci e Santa Cruz da Vitória. O período de realização do estudo compreendeu os meses de agosto e setembro de 2019.

Foram utilizados 18 bovinos mestiços Girolando, com idade variando entre oito meses e nove anos e que apresentavam diferentes tipos de papilomas cutâneos: Pedunculado, plano e misto. Aos proprietários de cada fazenda foi solicitada a leitura e assinatura do Termo de Livre e Esclarecido no qual relatava sobre os tratamentos que foram estipulados aos animais das propriedades.

Avaliação clínica dos animais e papilomas

Os animais utilizados no estudo foram avaliados considerando parâmetros clínicos e de manejo. Também foram avaliados os aspectos macroscópicos dos papilomas, quanto ao tipo de: cor, localização, tamanho, aspecto e quantidade, sendo considerada uma infecção leve um animal que possuísse até 20 papilomas, infecção moderada de 21 a 80 papilomas e uma infecção intensa o animal que possuísse igual ou superior a 81 papilomas baseado no descrito por Santin e Brito (2004). Os papilomas foram medidos com o auxílio de uma régua simples. Em animais que apresentavam infecção intensa, foram escolhidos e medidos os principais papilomas. Todos os dados coletados foram usados para preencher a ficha de avaliação de cada animal, que posteriormente, foi utilizado para a análise dos resultados (Anexo 1).

Colheita de sangue e análise hematológica pré-tratamento

Cada animal foi submetido à colheita de cinco mL de sangue venoso por meio da

punção jugular. O sangue coletado foi armazenado em tubos de plástico contendo EDTA e foi destinado ao Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Veterinário da UESC. A análise hematológica foi feita utilizando-se o Contador Automático de células sanguíneas ABC VET, Horiba TM.

No hemograma, foi avaliado a quantidade de hemácias, plaquetas, leucócitos e o valor em porcentagem referente ao hematócrito. Todos os dados coletados foram preenchidos e arquivados para posterior análise dos resultados obtidos.

Grupos experimentais e tratamentos

Os bovinos selecionados após avaliação clínica foram divididos em grupos diferentes, contendo seis animais cada. Os tratamentos foram realizados em intervalos de sete dias, durante seis semanas consecutivas. Durante todo o período experimental, os proprietários e tratadores não interferiram na evolução do quadro clínico dos animais e não foram alteradas as rotinas dos mesmos. Os indivíduos foram divididos de forma randomizada em três grupos:

- **Grupo 1 – Controle** – Os animais eram levados ao brete para durante todo o período do experimento apenas para a observação da evolução clínica dos animais e contagem dos papilomas, sendo avaliado se haveria regressão espontânea ou não dos papilomas. Durante toda a avaliação, não foi administrado nenhum protocolo de tratamento.
- **Grupo 2 – Autohemoterapia** - Os animais eram levados ao brete durante todo o período do experimento para observação da evolução clínica e contagem dos papilomas. Em seguida, foram colhidos 10 mL de sangue venoso, mediante punção da veia jugular, com garroteamento manual da veia, utilizando-se seringas plásticas e descartáveis de 10 mL, sem quaisquer anticoagulantes e agulhas descartáveis. Após a colheita, o sangue foi aplicado imediatamente por via intramuscular, na região glútea do bovino (CORRÊA; CORRÊA, 1992).
- **Grupo 3 – Insuflação retal de Ozônio associado à autohemoterapia menor** – Os animais eram levados ao brete durante todo o período do experimento para observação da evolução clínica e contagem dos papilomas.

Em seguida, foi feita a limpeza retal dos animais e posterior introdução da mangueira de silicone ligada a máquina de ozônioterapia, previamente configurada na concentração de 30 ug/mL de ozônio. A insuflação retal foi feita durante um período de 10 minutos, em cada sessão (AEPROMO, 2010). Em seguida, foi feita a autohemoterapia menor, sendo coletado 10 mL de sangue venoso, mediante punção da veia jugular com garroteamento manual, utilizando-se seringa plástica descartável de 20 mL. A seringa utilizada era previamente ozonizada, a uma concentração de 45 mg/mL de ozônio. Quando então coletado o sangue, fazia-se a homogeneização do sangue e do gás na seringa, e em seguida, a mistura era aplicada por via intramuscular, na região glútea do bovino (AEPROMO, 2010).

Todos os animais foram acompanhados durante todo o experimento quanto à evolução ou regressão dos papilomas, e após finalizar os tratamentos, foram utilizados os seguintes critérios para mensurar a eficácia e cada tratamento, ou a possível regressão espontânea: Resposta excelente, com regressão de 80% dos papilomas; Resposta boa, com 70% a 79% de regressão; Resposta regular, com 69% a 60% de regressão; e resposta ruim, com regressão inferior a 60% dos papilomas. O tratamento foi considerado eficaz se a resposta ao tratamento foi excelente ou boa, e ineficaz, se a resposta ao tratamento foi regular ou ruim. Essa classificação foi elaborada e adaptada com base no trabalho realizado por SANTIN e BRITO (2004).

Colheita de sangue e análise hematológica pós-tratamento

Após finalizar todo o tratamento, cada animal foi submetido à colheita de cinco mL de sangue venoso por meio da punção jugular. O sangue coletado foi armazenado em tubos de plástico contendo EDTA e foi destinado ao Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Veterinário da UESC. A análise hematológica foi feita utilizando-se o Contador Automático de células sanguíneas ABC VET, Horiba TM.

No hemograma, foi avaliado a quantidade de hemácias, plaquetas, leucócitos e o valor em porcentagem referente ao hematócrito. Todos os dados coletados foram preenchidos e arquivados para posterior análise dos resultados obtidos.

Delineamento e análise estatística

O Delineamento estatístico utilizado foi o Inteiramente Casualizado (DIC), com três tratamentos (grupos) e 6 repetições (animais), dado pelo modelo: $y_{ij} = \mu + t_i + e_{ij}$; em que: Y_{ij} = é a observação feita na parcela para o tratamento i na repetição j ; μ = representa uma constante inerente a toda parcela; t_i = representa o efeito do tratamento i ; e_{ij} = é o erro experimental na parcela i, j .

Avaliação da eficácia dos tratamentos (controle, Autohemoterapia e Insuflação retal associado a autohemoterapia menor) foi realizada através da observação clínica do número de papilomas. Tais resultados e os resultados obtidos nas análises hematológicas, pré-tratamento e pós-tratamento, foram verificados pela análise de variância (ANOVA) referente aos tratamentos, no nível de 1% de probabilidade, seguido pelo teste de comparação entre médias dos tratamentos (Teste Tukey), no nível de 5% de probabilidade, utilizando-se do programa estatístico SISVAR 5.0 (FERREIRA, 2011).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao todo, foram avaliados 18 bovinos mestiços Girolando, dispostos em três grupos experimentais, possuindo seis animais por grupo: Grupo 1- controle; Grupo 2- Autohemoterapia; Grupo 3- Autohemoterapia com sangue ozonizado associado à insuflação retal de ozônio. Os animais eram provenientes de três fazendas, localizadas em cidades no sul da Bahia, sendo elas: Ibicaraí (Fazenda 1), Santa Cruz da Vitória (Fazenda 2) e Coaraci (Fazenda 3). Na tabela a seguir, estão dispostos os dados de identificação dos bovinos que participaram do experimento, com o grupo experimental, idade, sexo e o local que eram criados:

Tabela 1. Identificação dos animais incluídos no estudo para tratamento de papilomatose em bovinos mestiços Girolando nas cidades de Ibicaraí, Coaraci e Santa Cruz da Vitória, no Estado da Bahia entre agosto e setembro de 2019.

Animais	Tratamento	Idade (Em meses)	Sexo	Fazenda
1	Controle	8	M	1
2	Controle	8	F	1
3	Controle	10	M	1
4	Controle	8	F	1
5	Controle	60	F	2
6	Controle	18	M	2
7	Autohemoterapia	8	M	1
8	Autohemoterapia	8	F	1
9	Autohemoterapia	8	M	1
10	Autohemoterapia	108	F	2
11	Autohemoterapia	18	M	2
12	Autohemoterapia	60	F	3
13	Ozônioterapia	8	M	1
14	Ozônioterapia	8	F	1
15	Ozônioterapia	48	F	1
16	Ozônioterapia	24	F	2
17	Ozônioterapia	18	M	2
18	Ozônioterapia	60	F	3

*M para identificação de machos e F para identificação de fêmeas.

Somando os três grupos, oito animais eram machos (44,44%) e dez animais eram fêmeas (55,56%). Salib e Fernghali (2011) encontraram dados que corroboram com o presente estudo, sugerindo uma maior incidência de papilomas em vacas e novilhas, sendo sugerido que esta característica ligada ao sexo pode

estar diretamente relacionada ao estresse fisiológico da lactação e da reprodução nas fêmeas.

Dos 18 bovinos avaliados, 13 possuíam menos de dois anos de idade (72,2%) e cinco com mais de dois anos de idade (27,8%). A variável idade do estudo corrobora com o apresentado por Corrêa e Corrêa (1992), que afirmam que a doença é mais comum em animais abaixo de 24 meses de idade. Segundo Wittmann (1992), 23% dos animais afetados com papilomatose possuíam entre 10 e 21 meses de idade, sendo observado que essa característica da Papilomatose esteja diretamente ligada a uma imunidade ainda não completa, o que justifica o acometimento majoritariamente em animais jovens.

Em relação ao aspecto macroscópico dos papilomas, três animais apresentaram somente papilomas pedunculados (16,67%), seis animais apresentaram somente papilomas planos (33,34%) e nove animais apresentam papilomas mistos (50%). No gráfico a seguir (Figura 1) é possível observar a distribuição quanto ao tipo de papilomas em cada grupo distinto e na figura 2 é possível visualizar os tipos de papilomas encontrados no presente estudo.

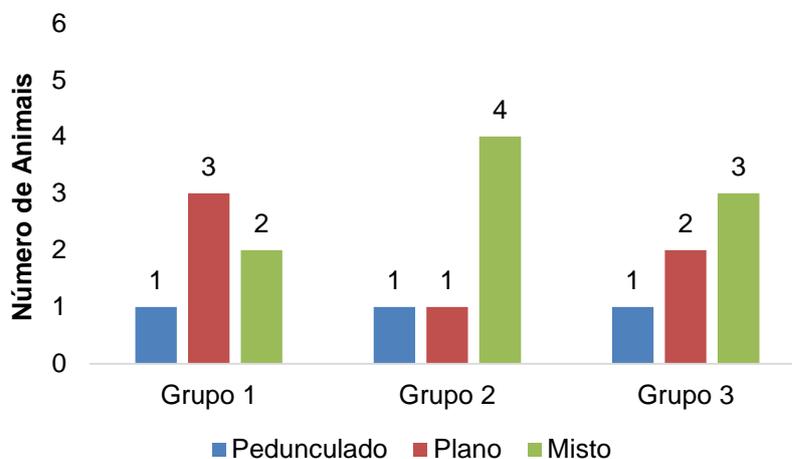


Figura 1: Distribuição dos animais em seus respectivos grupos, de acordo com o tipo de papiloma encontrado.

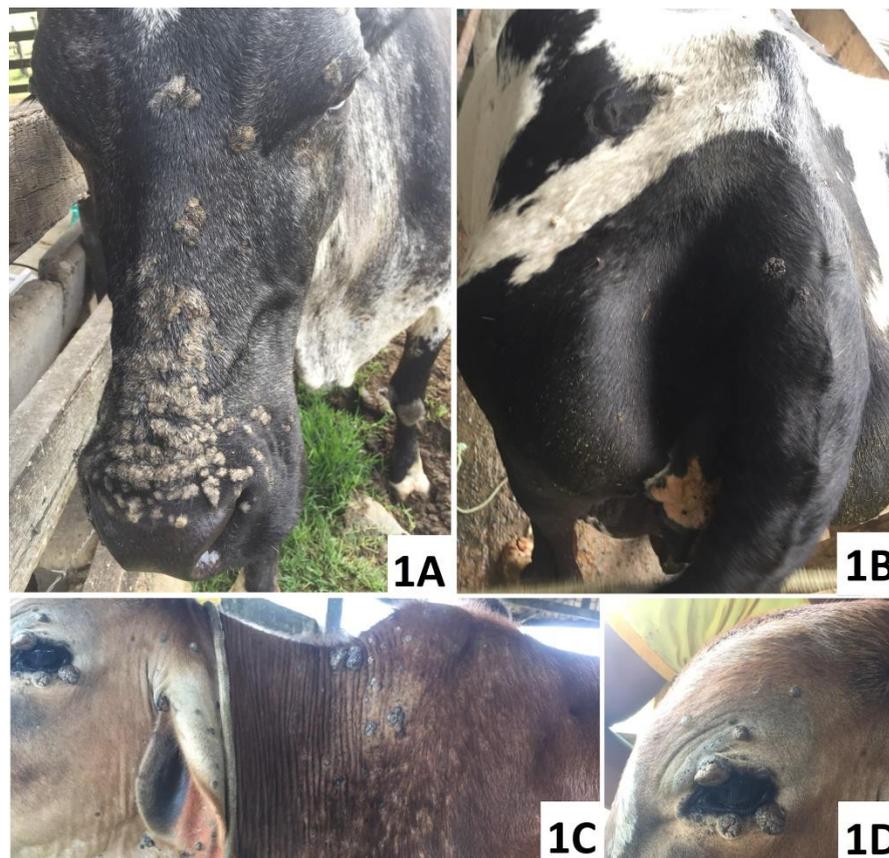


Figura 2: Bovinos mestiços Girolando, provenientes das cidades Ibicaraí, Coaraci e Santa Cruz da Vitória no Estado da Bahia, atendidos entre agosto e setembro de 2019. (1A) Múltiplos papilomas planos, aderidos à pele, medindo poucos centímetros, de coloração cinza claro, localizados na face do bovino. (1B) Papiloma plano, único, aderido à pele, de coloração cinza escura, localizado em região de cauda. (1C) Múltiplos papilomas pedunculados, aderidos a pele, com tamanho variando desde poucos milímetros a alguns centímetros, localizados em dorso, tábua do pescoço, orelha e ao redor os olhos. (1D) Múltiplos papilomas pedunculados, aderidos a pele, medindo alguns centímetros, localizados ao redor os olhos.

Santini e Brito (2003) sugerem a ocorrência de mais de uma cepa viral no mesmo indivíduo, característica essa que torna possível encontrar diferentes tipos de papilomas em um único animal, caracterizando uma apresentação mista. Estudos feitos por Savini et al. (2016) mostraram que somente 20% dos animais estudados apresentaram infecção acometida por uma única cepa viral. Essas características apontadas pelos autores citados corroboram com o encontrado no presente trabalho, havendo um percentual de 50% de animais com papilomas mistos,

sugestivo de uma possível infecção com mais de uma cepa viral.

No presente estudo os animais jovens apresentaram em maior quantidade os papilomas mistos, seguido por papilomas planos, discordando com o relatado por Santin (2001), que observou uma maior ocorrência de papilomas pedunculados em animais jovens e adultos, respectivamente. Já nos animais adultos, não houve diferença quanto à distribuição dos tipos de papilomas. Na tabela a seguir, o tipo de papiloma encontrado foi comparado com a idade dos animais.

Tabela 2. Comparação entre o tipo de papiloma encontrado e a idade dos animais incluídos no estudo para tratamento de papilomatose em bovinos mestiços Girolando em Ibicaraí, Coaraci e Santa Cruz da Vitória no Estado da Bahia entre agosto e setembro de 2019.

Faixa etária	Tipos de papilomas			Total
	Pedunculado	Plano	Misto	
≤ 24 meses	1	5	7	13
> 24 meses	2	1	2	5
Total	3	6	9	18

Os papilomas foram classificados em três tamanhos, sendo eles: pequeno (0,1 a 1 cm), médio (1,1 a 3 cm) e grande (maior que 3 cm). No presente estudo os papilomas de tamanho médio foram a maioria. Destes, cinco animais apresentaram papilomas de tamanho pequeno (27,78%), dez animais apresentaram papilomas de tamanho médio (55,56%) e três animais apresentaram papilomas de tamanho grande (16,67%). Segundo Wittmann (1999), o tamanho dos papilomas apresenta grande variabilidade, podendo medir desde poucos a vários centímetros, não sendo possível definir um padrão para tal variável. No gráfico a seguir, observa-se a distribuição dos papilomas de acordo com o tamanho em cada grupo (Figura 3):

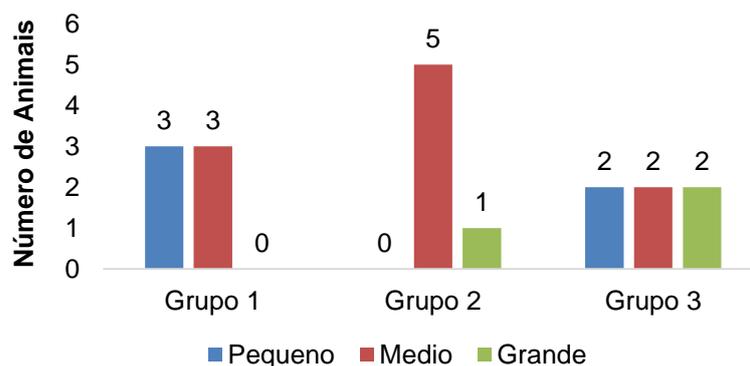


Figura 3: Distribuição dos animais em relação ao tamanho dos papilomas encontrados em seus respectivos grupos de tratamento.

Segundo Wittmann (1999), em casos de altas infecções, os papilomas pequenos são mais predominantes. Na tabela abaixo, o grau de infecção foi comparado com o tamanho dos papilomas encontrados para verificar esses achados.

Tabela 3. Comparação entre o grau e infecção da Papilomatose e o tamanhos dos papilomas encontrados nos animais incluídos no estudo para tratamento de papilomatose em bovinos mestiços Girolando, nas cidades de Ibicaraí, Coaraci e Santa Cruz da Vitória, no Estado da Bahia, entre agosto e setembro de 2019.

Tamanho dos papilomas	Grau de Infecção			Total
	Leve	Moderado	Intenso	
Pequeno	2	1	2	5
Médio	0	8	2	10
Grande	0	0	3	3
Total	2	9	7	18

Os animais com papilomas de tamanho médio apresentaram um percentual de 55,5% e também foram os mais presentes em infecções moderadas. Já os animais com papilomas grandes só foram encontrados em animais com infecções mais severas, enquanto os animais com papilomas pequenos estiveram presentes em todos os graus de infecção. Dessa forma, a distribuição descrita por Wittmann (1999) não foi observada no presente trabalho, visto que houve uma grande variabilidade de tamanhos nos casos de infecção intensa, não sendo possível determinar um padrão a cerca de tal característica.

O grau de infecção da doença foi definido de acordo com a quantidade de

papilomas contado em cada animal, sendo considerada infecção leve um a 20 papilomas, infecção moderada 21 a 80 papilomas e infecção intensa acima de 80 papilomas. Sendo assim, 11,11% dos animais apresentaram infecção leve, 50% dos animais apresentaram infecção moderada e 39,39% dos animais apresentaram infecção intensa. Na figura a seguir, é possível visualizar melhor a distribuição quanto ao grau de infecção dos animais avaliados distribuídos em cada grupo:

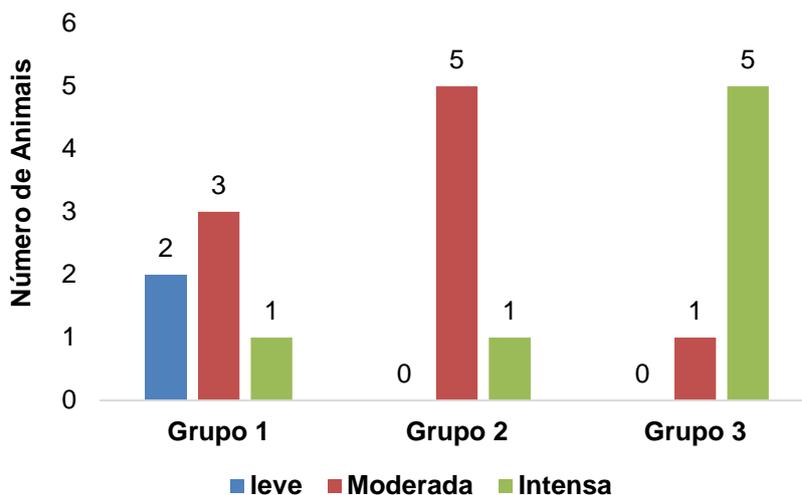


Figura 4: Distribuição dos animais em relação à severidade de infecção dos papilomas de acordo com seus respectivos grupos de tratamento.

Corrêa e Corrêa (1992), Foz-Filho et al. (2002) afirmam ser até a idade de 24 meses o período de maior probabilidade a aparecer lesões características, associado a fatores ambientais. Na tabela 4, observa-se que os animais jovens foram predominantes em todos os níveis de infecção, desde leve a intenso. Esses dados estão de acordo com o descrito pelos autores citados, sendo 72,2% dos animais com menos de 24 meses de idade. Na tabela 4 é possível melhor visualizar os dados acima descritos.

Tabela 4. Comparação entre o grau e infecção da Papilomatose e o tamanhos dos papilomas encontrados nos animais incluídos no estudo para tratamento de papilomatose em bovinos mestiços Girolando, nas cidades de Ibicaraí, Coaraci e Santa Cruz da Vitória, no Estado da Bahia, entre agosto e setembro de 2019.

Idade dos animais	Grau de Infecção			Total
	Leve	Moderado	Intenso	
≤ 24 meses	2	7	4	13
> 24 meses	0	2	3	5
Total	2	9	7	18

Dos 18 animais avaliados, dois (11,11%) apresentaram leões em pelo menos um de seus papilomas (Figura 5). Em um dos animais, foi encontrado miíase no papiloma lesionado, fato esse que foi cuidado pelos seus tratadores. Segundo Corrêa e Corrêa (1992), lesões aos papilomas são relativamente comuns devido a feridas mecânicas, miíase e infecções secundárias. Isso ocorre com maior frequência em papilomas com tamanhos grandes ou em animais contaminados que estão aglomerados.



Figura 5. Bovino mestiço de Girolando, com oito meses de idade, apresentando lesão ulcerativa por ferida mecânica em um dos seus papilomas localizados em região de dorso.

No presente estudo, foram encontrados papilomas em 14 localizações distintas dos animais. Hamad et al. (2018) bem como De Villiers et al. (2004) relatam que os locais mais afetados foram no úbere e pescoço. McMurray et al. (2001) sugere que o local afetado irá depender do genótipo viral envolvido e se ocorre ou não mais de um tipo viral no hospedeiro. Segundo Mayr e Guerreiro (1988), pele, cabeça, ao redor dos olhos e pescoço foram às regiões mais afetadas. Murphy et al. (1999) também relataram o aparecimento de papilomas nas regiões genitais e úbere de bovinos estudados. A disposição das principais localizações dos papilomas está descrito no gráfico a seguir (Figura 6).

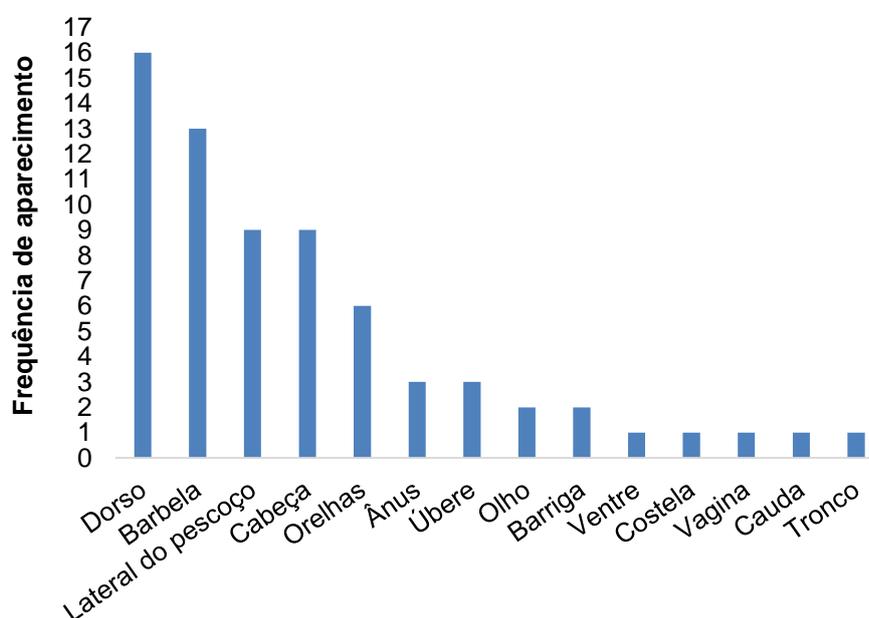


Figura 6: Principais localizações afetadas pelos papilomas e o número de animais acometidos.

Durante a anamnese, era aplicado um questionário referente ao cotidiano do animal e também abordando possíveis atividades que poderiam elevar o nível de estresse do animal. Sendo assim, foi possível observar diversos fatores como a intensa infestação por carrapatos, transporte, desmame, vasectomização de machos (rufiões) e descornas recentes. Segundo Mohammed et al. 2018 o estresse recente pode agravar ou tornar o animal mais susceptível a infecção pelo papiloma vírus, sendo relatada a infestação por carrapatos, transportes, desmama e descorna. Todas as situações citadas pelo autor corroboram com o encontrado no presente trabalho. Além destas, foi possível observar três animais que haviam

passado por uma recente cirurgia de rufião. Entretanto, em seis animais, não foi relatado nenhuma situação de recente estresse. A distribuição dessas atividades foi descrita na figura 7, informando a quantidade de animais por estresse recente.

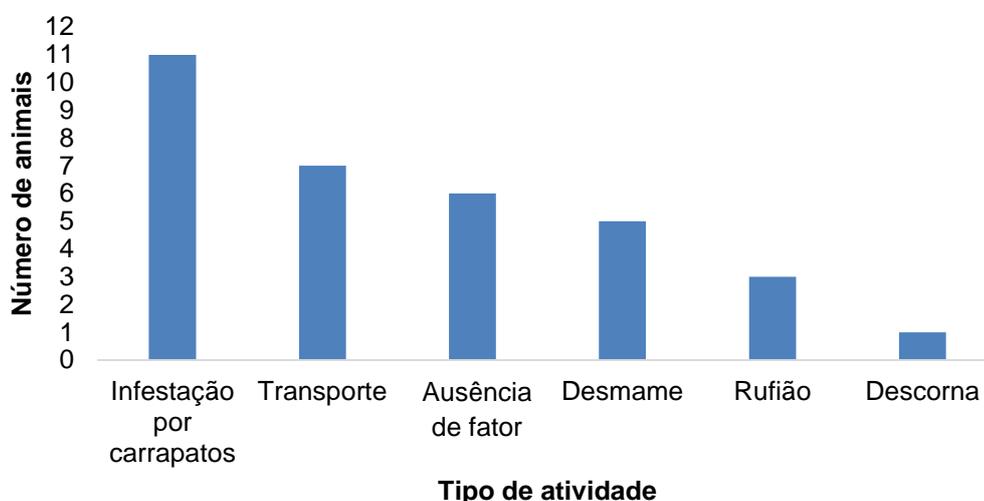


Figura 7: Lista das atividades ligadas a fatores de estresse relatados pelos tratadores.

Nos bovinos avaliados, 33,3% não apresentam nenhum fator de estresse relatado, 5,5% dos animais só apresentaram um fator de estresse, 36,8% dos animais apresentaram dois fatores de estresse associado e 22,2% dos animais apresentaram três fatores de estresse associados. Nos animais que apresentaram dois ou mais fator de estresse foi observado que todos possuíam infecções moderadas ou intensas. Com isso, é possível observar que o presente estudo está de acordo com o descrito por Radostits et al. (2007), que sugere que situações de estresse recente podem agravar ou tornar o animal susceptível a infecção pelo papiloma vírus bovino.

O período experimental de instituição do tratamento e coleta de dados teve duração de seis semanas, e ao findar de cada sessão, os papilomas eram contabilizados em cada animal. As médias de papilomas por grupo foi contabilizado a partir de cada sessão, sendo essas médias comparadas por grupos. Ao comparar os tratamentos propostos, foi observado que na última sessão de tratamento não houve diferenças estatísticas significativas entre os grupos de tratamentos. Contudo, foram encontradas diferenças significativas na contagem de papilomas nos grupos tratados (Grupo 2 e Grupo 3) no início e o final do tratamento, mas não no grupo controle (Grupo 1). Esses dados podem ser visualizados na tabela 5.

Tabela 5. Análise de variância do número de papilomas, referente aos tratamentos Controle, Autohemoterapia e Ozonioterapia para tratamento de papilomatose em bovinos mestiços Girolando em Ibicaraí, Coaraci e Santa Cruz da Vitória, Bahia, entre agosto e setembro de 2019.

Tratamentos / Sessões	1º Sessão	2º Sessão	3º Sessão	4º Sessão	5º Sessão	6º Sessão
Controle (Grupo 1)	45bA	45aA	51aA	52aA	53aA	54aA
Autohemoterapia (Grupo 2)	64abA	47aB	34aB	27aB	18aC	15aC
Ozonioterapia (Grupo 3)	115aA	98aA	83aA	69aB	57aB	45aB
CV%	59,20	77,82	96,28	108,33	129,02	148,37

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, maiúscula na linha e minúscula na coluna, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Na tabela 5, é possível observar que, na primeira sessão de tratamento, houve uma diferença significativa entre os grupos 1 e 2; 2 e 3, enquanto na última sessão, essa diferença não foi mais observada. Dentre os fatores correlacionados com tal característica, é importante ressaltar que, devido ao tipo de distribuição casualizada feita com os animais (DIC), o grupo três comportou em maior quantidade os animais com infecções intensas, característica essa observada pelas médias apontadas na primeira sessão. Sendo assim, é possível afirmar que, mesmo com um percentual de regressão da ozonioterapia menor do que a autohemoterapia, ao findar do estudo, o tratamento conseguiu reduzir a média de papilomas do grupo três, a ponto de não haver diferenças estatísticas significativas entre os grupos dois e três.

Segundo Silva et al. (2001), os bovinos tratados com autohemoterapia, somente 38% responderam de forma positiva ao tratamento e também relataram que um tratamento com autohemoterapia foi mais efetiva nos papilomas pedunculados. No presente estudo, foi possível observar uma melhor evolução quanto ao tratamento autohemoterapia nos papilomas do tipo misto, como demonstrado na tabela abaixo (tabela 6).

Tabela 6. Comparação entre a resposta do tratamento autohemoterapia para os diferentes tipos de papilomas encontrados nos animais incluídos no estudo para tratamento de papilomatose em bovinos mestiços Girolando, nas cidades de Ibicaraí, Coaraci e Santa Cruz da Vitória, Bahia, entre agosto e setembro de 2019.

Tipos de papilomas	Autohemoterapia		Total
	Excelente/Boa	Regula/Ruim	
Pedunculado	0	1	1
Plano	0	1	1
Misto	3	1	4
Total	3	3	6

No tratamento ozonioterapia, não foi observado diferenças significativas no tratamento dos papilomas planos e pedunculados, também sendo possível observar uma melhor resposta nos papilomas mistos. Tal característica provavelmente é decorrente do maior número de animais incluídos no estudo estarem acometidos com papilomas mistos (50%), como pode ser melhor observado na tabela abaixo (tabela 7).

Tabela 7. Comparação entre a resposta do tratamento ozonioterapia para os diferentes tipos de papilomas encontrados nos animais incluídos no estudo para tratamento de papilomatose em bovinos mestiços Girolando, nas cidades de Ibicaraí, Coaraci e Santa Cruz da Vitória, Bahia, entre agosto e setembro de 2019.

Tipos de papilomas	Ozonioterapia		Total
	Excelente/Boa	Regula/Ruim	
Pedunculado	0	2	2
Plano	0	1	1
Misto	2	1	3
Total	2	4	6

Em seguida, foi feito a análise de regressão dos papilomas através de gráficos comparativos entre os grupos. De forma geral, é possível observar um aumento dos papilomas no grupo controle, e regressão nos grupos autohemoterapia e ozonioterapia.

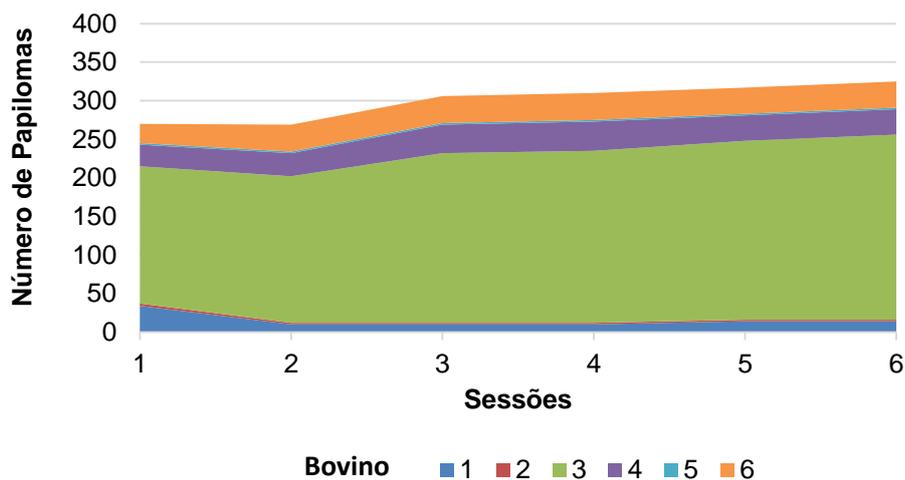


Figura 8: Gráfico de evolução dos animais do grupo controle (Grupo 1) durante todo o período de observação.

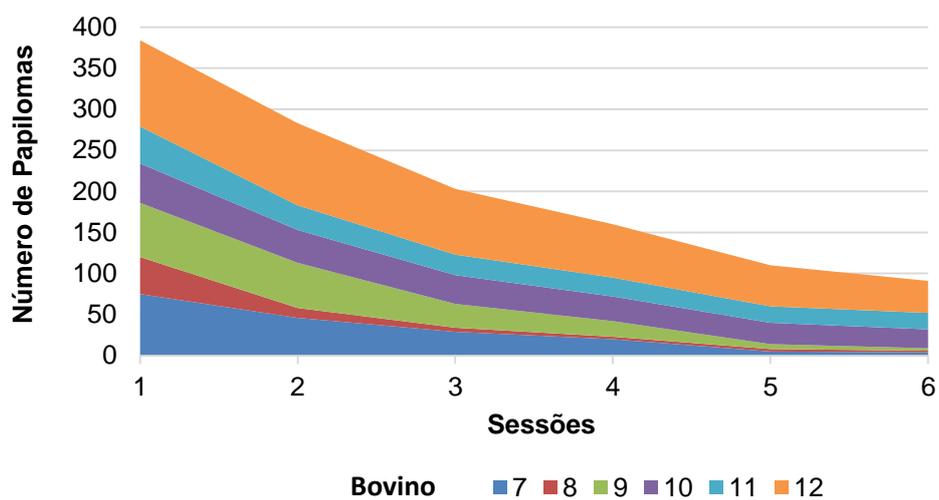


Figura 9: Gráfico de evolução dos animais do grupo autohemoterapia (Grupo 2) durante todo o período de tratamento.

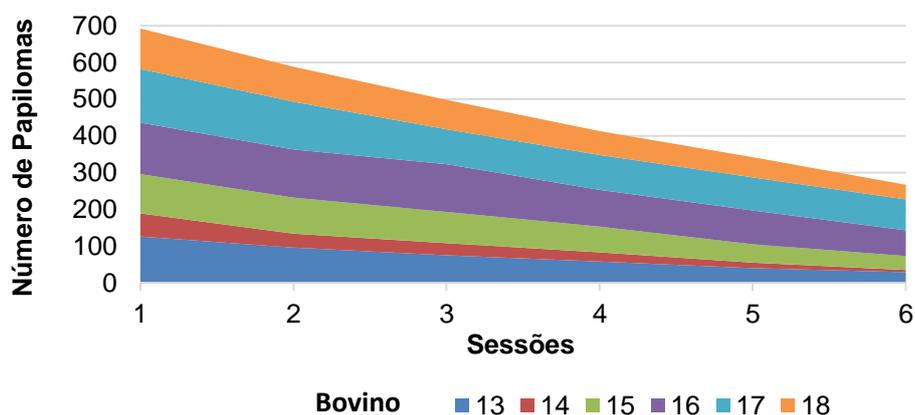


Figura 10: Gráfico de evolução dos animais do grupo ozonioterapia (Grupo 3) durante todo o período de tratamento.

No grupo de tratamento por autohemoterapia, observa-se regressão do número de papilomas em todos os seis bovinos submetidos ao tratamento, com percentual médio de regressão de 76,03%. Sendo assim, conforme o proposto pela metodologia, o tratamento teve uma resposta considerada boa.

No grupo de tratamento por ozonioterapia, também observa-se regressão em todos os seis bovinos incluídos no estudo, com percentual médio de regressão de 64,67% dos papilomas. Sendo assim, de acordo com a metodologia proposta, a resposta ao tratamento foi considerada regular.

Após a análise das médias de papilomas contabilizados em cada sessão, também foi feita uma análise estatística dos resultados dos hemogramas realizados no pré e no pós-tratamento dos animais. Alterações no hemograma podem refletir precocemente a alterações sistêmicas ou respostas locais. No entanto, esses achados isolados não são patognomônicos e devem ser associados à clínica do animal e a outros exames complementares (KAWASUMI et al., 2014). Os resultados obtidos dos hemogramas realizados no pré e no pós-tratamento encontra-se na tabela 8.

Dois animais pertencentes ao grupo três apresentaram anemia no hemograma pré-tratamento, havendo uma melhora considerável observada no hemograma do pós-tratamento. Esse fator corrobora com o citado por BARROS (2001); BOCCI (2005); HADDAD (2009); OGATA (2000), que sugerem um efeito positivo na perfusão sanguínea e na vida útil da hemácia, melhorando o estado anêmico e a oxigenação dos tecidos.

No entanto, na variável leucometria global, houve diferença significativa entre o pré e o pós-hemograma de todos os grupos. Também é possível observar que no hemograma pré-tratamento, não houve diferenças entre o grupo dois e o grupo três, mas ambos diferiram do grupo controle. Enquanto no hemograma pós-tratamento, o grupo três diferiu estatisticamente do grupo controle, e no grupo dois não houve diferenças entre o controle. Segundo Sagai e Bocci (2011), o ozônio age modulando a resposta imune, e a depender da dose utilizada, podem estimular ou suprimir, não pelo aumento de células, mas sim pelo estímulo de citocinas.

Tabela 8. Análise de variância de Hemácias, Hematócritos Hemoglobina, VGM, CHGN, PPTs, Paquetas e Leucometria Global referente aos tratamentos Controle, Autohemoterapia e Insuflação e autohemoterapia para tratamento de papilomatose em bovinos mestiços girolando em Ibicaraí, Coaraci e Santa Cruz da Vitória, Bahia entre agosto e setembro de 2019.

Tratamentos	Hemácias Pré ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	Hemácias Pós	Hematócrito Pré (%)	Hematócrito pós
Controle	6,13aA	6,82aA	25,17aA	28,33aA
Autohemoterapia	6,45aA	7,40aA	26,95aA	26,83aA
Ozonioterapia	6,45aA	6,93aA	27,83aA	29,50aA
Referência	5,0 - 10,0		24% - 46	
CV%	19,04	20,80	16,05	19,40
Tratamentos	Hemoglobina Pré (g/dL)	Hemoglobina Pós	VGM Pré (μM^3)	VGM Pós
Controle	8,22aA	9,72aA	40,83aA	42,32aA
Autohemoterapia	8,85aA	9,00aA	38,00aA	37,12aA
Ozonioterapia	9,50aA	10,10aA	42,83aA	42,43aA
Referência	8,0 - 15,0		40 - 60	
CV%	19,82	14,59	12,76	18,10
Tratamentos	CHGM Pré (g/dL)	CHGM Pós	PPTs Pré (g/dL)	PPTs Pós
Controle	34,82aA	34,50aA	10,77aA	7,67aA
Autohemoterapia	36,02aA	34,67aA	7,70aA	7,27aA
Ozonioterapia	34,97aA	34,50aA	7,23aA	8,12aA
Referência	30 - 36		6,6 - 7,5	
CV%	8,70	17,20	64,39	9,57
Tratamentos	Plaquetas Pré (μM^3)	Plaquetas Pós	Leucometria Global Pré ($\text{mm}^3/\mu\text{L}$)	Leucometria Global Pós
Controle	466,67aA	450,83aA	16,65bB	20,60aA
Autohemoterapia	468,83aA	411,33aA	17,23aA	14,64abB
Ozonioterapia	442,50aA	425,67aA	17,63aA	10,92bB
Referência	175 - 620		4,1 - 12,0	
CV%	32,24	19,80	24,43	34,31

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, maiúscula na linha e minúscula na coluna, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Pré = Pré-tratamento, Pós = Pós-tratamento.

A seguir, na tabela 9, os dados da leucometria foram descritos e analisados separadamente através do teste de tukey.

Tabela 9. Análise de variância de Bastonetes, Segmentados, Linfócitos, Monócitos, Eosinófilos, Basófilos referente aos tratamentos Controle, Autohemoterapia e Insuflação e autohemoterapia para tratamento de papilomatose em bovinos mestiços girolando em Ibicaraí, Coaraci e Santa Cruz da Vitória no Estado da Bahia entre agosto e setembro de 2019.

Tratamentos	Bastões Pré	Bastões Pós	Segmentados Pré	Segmentados Pós
	(uL - %)		(uL - %)	
Controle	131,37aB	270,91aA	5352,90bB	6905,00aA
Autohemoterapia	153,73aA	86,48aB	6273,92aA	4483,10abB
Ozonioterapia	84,72aA	17,34bB	5966,35abA	3196,55bB
Referência	0-120 / 0-3%		600-4000 / 15-45%	
CV%	114,17	97,42	32,01	43,39
Tratamentos	Linfócitos Pré	Linfócitos Pós	Monócitos Pré	Monócitos Pós
	(uL - %)		(uL - %)	
Controle	8139,12aA	9369,55aA	591,31aA	723,75aA
Autohemoterapia	8105,23aA	7540,15abA	730,98aA	812,46aA
Ozonioterapia	8863,62aA	6533,88bB	690,97aA	543,97aA
Referência	2500-7500 / 45-75%		25-840 / 2-7%	
CV%	24,51	22,59	36,77	43,53
Tratamentos	Eosinófilos Pré	Eosinófilos Pós	Basófilos Pré	Basófilos Pós
	(uL - %)		(uL - %)	
Controle	2314,07aB	3104,62aA	38,13aB	126,25aA
Autohemoterapia	1799,80aA	1568,13bA	69,65aA	51,40aA
Ozonioterapia	1890,83aA	1135,20bB	39,64aA	19,68aB
Referência	0-2400 / 0-20%		0-200 / 0-2%	
CV%	43,04	36,91	109,32	170,51

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, maiúscula na linha e minúscula na coluna, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Pré = Pré-tratamento, Pós = Pós-tratamento.

Foi observada linfocitose em todos os grupos no leucograma pré-tratamento, não havendo diferenças estatísticas entre os grupos. Após o tratamento, o grupo 3 (Ozonioterapia) mostrou significativa redução na linfocitose, comparada com os números pré-tratamento. Essa redução, não foi observada nos demais grupos, sugerindo assim, a ação do ozônio sobre os linfócitos. Segundo Travagli et al. (2007), a linfocitose pode ser encontrada em casos de inflamação crônica, podendo estar seguida ou não de infecções, desordens linfoproliferativas, alterações fisiológicas causadas pela ação de hormônios adrenérgicos ou infecções virais, o

que parece ter sido um achado condizente com o presente estudo.

Pereira e Garcia (2006) sugerem que a ozônioterapia estimulam a leucocitose, aumentando o efeito bactericida e favorecendo o aumento da produção de imunoglobulinas pelo sistema imune. Essa característica não foi encontrada no presente estudo, visto que houve uma redução significativa no número de leucócitos dos animais após a finalização dos tratamentos instituídos. É sugerido que, essa característica encontrada no trabalho pode ser decorrente da Papilomatose ter origem viral e não bacteriana, como citado pelos autores.

No grupo 2 é possível observar um discreto aumento no número de monócitos, mesmo não havendo diferenças significativas no valor do pré e pós-hemograma. Os resultados encontrados corroboram com o descrito por Teixeira (1940) e mais recentemente por Trevisanil et al. (2015), que também relataram um aumento no número de monócitos e imunoglobulinas, demonstrando um estímulo a liberação das células de defesa pelo organismo.

Já no grupo três, foi possível observar uma redução do número de monócitos entre o pré e pós-tratamento. Os resultados encontrados no presente trabalho também estão de acordo com o descrito por Caó (2013), que utilizou o ozônio em autohemoterapia, tendo como resultado a redução de monócitos e outros tipos celulares, sugerindo assim, uma modulação da resposta inflamatória de forma inespecífica. No entanto, apesar da redução no total do componente inflamatório, não foi possível observar diferenças significativas no início e ao final do tratamento do grupo três. Também não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos propostos.

A redução dos componentes inflamatórios acima pode ser mais bem observada nos animais do grupo ozônioterapia, onde nota-se uma diferença significativa nos valores totais do pré e pós-hemograma, havendo uma redução dos parâmetros, até se encontrarem em sua normalidade para a espécie animal estudada. Essa característica corrobora com o descrito por Zamora et al. (2005), que relata que a ozônioterapia atua na redução da inflamação aguda e crônica através da sua ação sobre mediadores químicos da inflamação que inibem a formação do ácido araquidônico e síntese de prostaglandinas.

O protocolo realizado abrangeu dois tratamentos, a autohemoterapia e a ozônioterapia. A partir dos resultados obtidos, é possível concluir que ambos os tratamentos obtiveram respostas positivas, havendo regressão dos papilomas,

porém, não houve diferenças significativas entre os dois tratamentos. Nos grupos estudados, a autohemoterapia mostrou maior percentual de regressão e resposta de tratamento mais rápida. Contudo, devido à diferença no grau de severidade nos dois grupos do experimento no início do tratamento, houve heterogeneidade na distribuição dos animais com infecções intensas, predominantemente no grupo de tratamento ozonioterapia (grupo 3). Sendo assim, observa-se que para o grupo ozonioterapia, houve um desafio de tratamento maior quando comparado com o grupo autohemoterapia.

6. CONCLUSÃO

O presente estudo foi motivado pela importância de realização de estudos em animais afetados com Papilomatose bovina, pois apesar de ser uma doença com característica auto limitante, causa prejuízos econômicos aos produtores e influencia no bem estar animal.

Em ambos os grupos houve a redução da quantidade de papilomas nos animais estudados, porém, sem diferenças significativas entre os tratamentos, mesmo com as divergências em relação ao grau de infecção entre os grupos.

Referente aos resultados do hemograma foi possível observar a evolução dos animais através da realização da coleta sanguínea antes e após o tratamento proposto. Foi possível observar que, para o grupo ozonioterapia, houve uma regressão considerável em todos os parâmetros inflamatórios avaliados, refletindo a ação de agente antiinflamatório da ozonioterapia que é sugerido pela literatura.

Contudo, sugere-se a necessidade de realização de maiores estudos, com protocolos de tratamento, tempo e dosagem diferentes do estabelecido no presente estudo, bem como um maior tempo de tratamento, para assim estabelecer o melhor protocolo para a doença estudada.

Conclui-se então que, apesar de não haver diferenças significativas entre os tratamentos, sugere-se o uso da ozonioterapia como adjuvante ao tratamento da papilomatose bovina devido a sua ação ao estimular o organismo, com consequente melhora sistêmica, principalmente anti-inflamatória, como observada no presente estudo.

REFERÊNCIAS

AEPRIMO. **Declaração de madrid sobre ozonioterapia**. Madrid, 2010. Disponível em: http://www.spozonoterapia.com/pdf/portuguese_declaration.pdf .

Acesso em: 15 de janeiro de 2020.

ARAUJO, M. Ozonioterapia: Efectividad y riesgos. **Ministerio de Salud**. Chile, 2006.

BARROS, L. M. Avaliação in vitro da atividade antibacteriana da água ozonizada frente ao *Staphylococcus aureus*. **Pesquisa Odontológica Brasileira**, v. 15, n.1, p. 18-22, 2001.

BLOOD, D.C.; RADOSTITS, O.M. Clínica Veterinária. In: Doenças virais caracterizadas por lesões cutâneas. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 7.ed. p. 790 – 805, 1991.

BOCCI, V. Ozone as Janus: this controversial gas can be either toxic or medically useful. **Mediators of Inflammation**, n. 13, v.1, p.3-11, 2004.

BOCCI, V. Ozone: a new medical drug. 1ª ed., ed. Springer, 2005.

BOCCI, V. Scientific and Medical Aspects of Ozone Therapy. **Archives of Medical Research**, v. 37, p. 425-435, 2006.

BOCCI, V.; LARINI, A.; MICHELI, V. Restoration of normoxia by ozone therapy may control neoplastic growth: a review and a working hypothesis. **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v. 11, p. 257-265, 2005.

BOCCI V. A. Can Ozonotherapy be Performed if the Biochemistry of the Process Cannot be Controlled?. **Archives of Medical Research**, Siena, v.38, p.584-585, 2007.

BODAGHI, S.; WOOD, L. V.; ROBY, G.; RYDER, C. Could human papillomaviruses be spread through blood?. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, p. 5428-5434, 2005

BORZACCHIELLO G, ROPERTO F. Bovine papillomaviruses, papillomas and câncer in cattle. **Veterinary Research**, v. 39, n.5, 2008.

CAMPO M. S. Papillomavirus and disease in humans and animals. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 1, p. 3–14, 2003. (a)

CAMPO, M. S. Animal model of papillomavirus pathogenesis. **Virus Research**, v. 6, n.1, p. 1-12, 2003. (b)

CAÓ, M. A. Autohemoterapia em ratos (*Rattus norvegicus*): Efeito sobre o nível do fator de necrose tumoral (TNF- α) e leucócitos. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Centro de Ciências Agrárias, **Universidade Federal do Espírito Santo**, Alegre. 2013.

CARVALHO, C.C.R.; BATISTA, M.V.A.; SILVA, M.A.R.; BALBINO, V.Q.; FREITAS, A.C.; Detection of bovine papillomavirus types, co-infection and a putative new BPV11 subtype in cattle. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 59, p. 441-447, 2012.

CARVALHO, C. D.; FREITAS, A. C.; BRUNNER O.; GÓES, L. G.; CAVALCANTE, A. Y.; BEÇAK, W.; SANTOS, R. D. Bovine papillomavirus type 2 in reproductive tract and gametes of slaughtered bovine females. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 34, p. 82–84, 2003.

CARVALHO, C.; STOCCO DOS SANTOS, R.C. Estudos integrados sobre a transmissão horizontal e vertical da papilomatose entre bovinos e entre bovino e suínos, em propriedades de diversas regiões do Brasil. Tese (Medicina Veterinária) **Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, 70 p., 2000.

CORREA. W. M.; CORRÊA, C. C.M. *Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos*. 2ª ed. Rio de Janeiro: Medsi, 843 p, 1992.

CULP, T.D.; BUDGEON, L.R.; CHRISTENSEN, N. D. Human papillomaviruses bind

a basal extracellular matrix component secreted by keratinocytes which is distinct from a membrane-associated receptor. **Virology Journal**, v. 347, p.47-59, 2005.

CUNHA, M.G.R..Ozonioterapia:Tratamento coadjuvante da dor na fibromialgia. Monografia (Especialização), **Universidade Veiga de Almeida**, Salvador, 2010.

DASSIE, C. Papilomatose: prejuízos não está só na aparência, Disponível em:<http://www.bichoonline.com.br> , acessado em 15 de janeiro de 2020.

DE VILLIERS, E. M.; FAUQUET, C.; BROKER, T. R.; BERNARD, H. U.; ZUR HAUSEN, H. Classification of papillomaviruses. **Virology Journal**, v. 324, p.17–27, 2004

DINIZ, N.; MELO, T.C.; SANTOS, J.F.; MORI, E. Simultaneous presence of bovine papillomavirus in blood and in shortterm lymphocyte cultures from dairy cattle in Pernambuco, Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v. 8, p. 1474–1480, 2009.

EISA, M.I.; KANDEEL, A.; EL-SAWALHY, A.A.; ABOUEL-FETOUH, M.S; Some studies on bovine papilloma vírus infection in cattle with trials of its treatment. **Veterinary Medicine Journal**, v. 48, n. 1, p. 47-55, 2000.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.

FOZ-FILHO, R. P. P., LUCAS, R., MAIORKA, P. C., YOSHINO, M. L. Retirada cirúrgica de fibropapiloma equino por meio de criocirurgia. In: V CONGRESSO BRASILEIRO DE CIRURGIA E ANESTESIOLOGIA VETERINÁRIA. **Anais da Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**. Rio de Janeiro, v.9, n.1, p. 282-283, 2002.

FRASER, C. M. Manual Merck de Veterinária: um manual de diagnóstico, tratamento, prevenção e controle de doenças para o veterinário. 7ª ed. São Paulo: Roca, 2169 p., 1997.

GARCIA, C.A.; STANZIOLA, L.; ANDRADE, I. C. V.; NEVES, S. M. N.; GARCIA, L. A. D. Autohemoterapia maior ozonizada no tratamento de habronemose em eqüino- Relato de Caso. 2006. Disponível em: <http://www.ozonimal.famev.ufu.br/> , Acesso em 20 de Novembro de 2020.

GARCIA, C. A.; STANZIOLA, L.; ANDRADE, I. C. V.; NAVES, J. H. F. ; NEVES, S. M. N.; GARCIA, L. A. D. Autohemoterapia maior ozonizada no tratamento de erliquiose canina – relato de caso. In: Anais do 35º CONBRAVET, **Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária**, 2008, Gramado. Disponível em: <http://www.sovergs.com.br/conbravet2008/anais/cd/resumos/R0608-3.pdf>. Acesso em 20 de janeiro de 2020.

Gardiner, D. W.; Teifke, J. P.; Podell, B. K.; Kamstock, D. A. Fibropapilloma of the glans penis in a horse. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 20, p. 816–819, 2008.

HADDAD, M. A. Comportamento de componentes bioquímicos do sangue em eqüinos submetidos à ozonioterapia. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.3, p.539-546, 2009.

HAMADA, M.; OYAMADA, T.; YOSHIKAWA, H.; YOSHUKAWA, T. Morphological studies of esophageal papilloma naturally occurring in cattle. **Japanese Journal of Veterinary Science**, v. 51, n. 2, p. 345-351, 1989.

HENSLER, S.; GUENDLING, P. W.; SCHMIDT, M.; JORK, K. Autologus blood therapy for common cold – A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **Complementary Therapies in Medicine**, v. 17, p. 257-261, 2009.

HATAMA, S.; NOBUMOTO, K.; KANNO, T. Genomic and phylogenetic analysis of two novel bovine papillomaviruses, BPV-9 and BPV-10. **Journal of General**

Virology, v. 89, p. 158-163, 2008.

JONES, T.C.; HUNT, R.D.; KING, N.W. Patologia Veterinária, 6.ed, São Paulo: Manole, 1415 p., 2000.

KAWASUMI, K.; KASHIWADO, N.; OKADA, Y. Age effects on plasma cholesterol and triglyceride profiles and metabolite concentrations in dogs. **BMC Veterinary Research**, v.10, n.57, 2014.

KLYMENKO, T.; GU, Q.; HERBERT, I.; STEVENSON, A.; ILIEV, V.; WATKINS, G.; POLLOCK, C.; BHATIA, R.; CUSCHIERI, K.; HERZYK, P.; COLECTOR, D.; GRAHAM, S. V. RNA-Seq analysis of differentiated keratinocytes reveals a massive response to late events during human papillomavirus 16 infection, including loss of epithelial barrier function. **Journal of Virology**, v. 91, n. 24, p.10-17, 2017.

KOWALSKI, W. J.; BAHNFLETH, W. P.; WITTAN, T. S. Bactericidal effects of High Airbone Ozone Concentrations on Escherichia coli and Staphylococcus aureus. **Ozone Science & Engineering**, U.S.A., v. 20, p. 205 – 22, 1998.

LINDSEY, C. L.; ALMEIDA, M. E.; VICARI, C. F.; CARVALHO, C. Bovine papillomavirus DNA in milk, blood, urine, semen, and spermatozoa of bovine papillomavirus-infected animals. **Genetics and Molecular Research**, v. 8, p. 310-318, 2009.

LOBATO, Z.; BIRGEL JR, E. Verrugas atrapalham a produção. **Produtor Parmalat**, n. 37, p. 36-39, 2000.

LUNARDI, M.; ALFIERI, A. A.; OTONEL, R. A.; DE ALCANTARA, B. K. Genetic characterization of a novel bovine papillomavirus member of the Deltapapillomavirus genus. **Veterinary Microbiology**, v. 162, p. 162-207, 2013.

MARQUES, K. C. S..Terapia com ozônio e laser de baixa potência na cicatrização por segunda intenção de ferida cutânea em equinos. TCC (Graduação) -Curso de Medicina Veterinária, **Universidade de Brasília**, Brasília, 2015.

MAYR, A.; GUERREIRO, M. G; **Virologia Veterinária**. 3.ed. Porto Alegre: editora sulina, 476p, 1988.

MCMURRAY, H. R.; NGUYEN, D.; WESTBROOK, T. F.; MCANCE, D.J. Biology of human papillomaviruses. *International Journal Experimental Pathology*, v. 82, p.15–33, 2001.

MOHAMMED, A.; HAMAD, A. M. A.; SHONI M. O.; NAHI Y. Y. Molecular Epidemiology of Bovine Papillomatosis and Identification of Three Genotypes in Central Iraq. **Intervirolgy**, v. 60, n.4, p.156-164, 2018.

MUNDAY, J. S.; THOMSON, N.; DUNOWSKA, M.; KNIGHT, C. G.; LAURIE, R. E.; HILLS S. Genomic characterisation of the feline sarcoid-associated papillomavirus and proposed classification as *Bos taurus* papillomavirus type 14. **Veterinary Microbiology**, v. 177, p. 289–295, 2015.

MURPHY, F. A.; GIBSS, P. J.; HORZINEK, M. C.; STUDDERT, M. **Journal of Veterinary Virology** 3^ªed., 629 p, 1999.

NASIR, L.; CAMPO, M. S. Bovine papillomaviruses: their role in the aetiology of cutaneous tumours of bovids and equids. *Veterinary Dermatologym*, v. 19, p. 243–254, 2008.

NOGALES, C.G.; FERRARI, P. H.; KANTOROVICK, E. O.; MARQUES, J. L. L. Ozone Therapy in Medicine and Dentistry, **The Journal of Contemporary Dental Practice**, v.9, n.4, 2008.

OGATA, A. Aplicación intramamária de ozono en la mastitis clinica aguda en vacas lecheras. **Jornal de Medicina Veterinária Sci**. V. 7, n. 62, p. 681-686, 2000.

OLIVEIRA, J.T.C. Revisão sistemática de literatura sobre o uso terapêutico do ozônio em feridas. Dissertação de mestrado. **Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo**. São Paulo, 256p., 2007.

OLIVEIRA, M.C.; ANDRADE, M.C.; SOARES, R.C.; COSTA, A.L.L. Aspectos morfológicos que sugerem a presença do papilomavírus humano (HPV) em lesões do epitélio de revestimento da mucosa oral. **Revista Brasileira de Patologia Oral**, v. 2, n. 2, p. 34-43, 2003.

PENIDO, B.R., LIMA, C.A. e FERREIRA, L.F.L. Aplicações da ozonioterapia na clínica veterinária. **PUBVET**, Londrina, V. 4, N. 40, Ed. 145, Art. 978, 2010.

PEREIRA, M.M.S; NAVARINI, A.; MIMICA, L.M.J.; PACHECO, Jr. A.M.; SILVA, R.A. Efeito de diferentes gases sobre o crescimento bacteriano: estudo experimental “in vitro”. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, V. 32, p.12-14, 2005.

PEREIRA, M. T. C.; GARCIA, C. A. Eficácia da ozonioterapia no tratamento de mastite subclínica de vacas em lactação. **Veterinária Notícias**, Uberlândia, v. 12, n. 2, p. 109-115, 2006.

PRADO, C.; CORTES, M. Uso da Ozonioterapia no tratamento de feridas: Relato de caso. **Instituto Brasileiro de Ozônio e suas Aplicações**. Janeiro, 2017.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; HINCHCLIFF, K.W.; CONSTABLE, P. D. *Veterinary Medicine: Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs and Goats*, ed 10. Philadelphia, **Saunders Elsevier**, 2007.

REBHUN, W.C. Doenças das tetas e do úbere. In: Rebhun, E.C (ed.) **Doenças do Gado Leiteiro**. São Paulo: Roca, p. 309-378, 2000.

RICHTZENHAIN, L.J.; CONRADO RIBEIRO, L.O. Papilomatose bovina (verruca-figueira). *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v. 5, n. 3, p. 7-11, 1982.

RODEKOHR, S.; KÜBLER, H. Grundlagenseminar Ozontherapie bei Tieren. **Internationaler Kongress für Ganzheitliche Tiermedizin**, p. 1–75, 2009.

ROMANOS, M. T. V.; SANTOS, N. S. O.; MIRANDA, M. M. F. Viroses Oncogênicas. In: **Introdução à virologia humana**. Santos, N.S.O, Romanos, M.T.V., Wigg, M.D (eds.) Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.199-219, 2002.

ROSENBERGER, G. Enfermidades de los bovinos. **Buenos Aires: Hemisfério Sur**, v.1, 1989.

SAGAI, M., BOCCI, V. Mechanisms of Action Involved in Ozone Therapy: Is healing induced via a mild oxidative stress? **Medical Gas Research**, v. 1, n. 29, 2011.

SALIB, F. A.; FARGHALI, H. A. Clinical, epidemiological and therapeutic studies on bovine papillomatosis in Northern Oases, Egypt in 2008. **Veterinary World**, v.4, p. 53–59, 2011.

SANCHEZ, C. M. S. A utilização do óleo ozonizado para o tratamento tópico de lesões em porquinho da índia (*cavia porcellus*) - relato de caso. **Trabalho monográfico de conclusão do curso**. Itatiba, 2008.

SANTIN, A. P. I.; BRITO, L. A. B. Caracterização anatomopatológica da papilomatose cutânea em bovinos leiteiros. In: **XI Encontro Nacional de patologia veterinária**, São Paulo, p.220, 2003.

SANTIN , A. P. I.; BRITO, L. A. B. – Estudo da papilomatose cutânea em bovinos . **Ciência Animal Brasileira**, v. 5, n. 1, p. 39-45, 2004.

SANTIN, A. P. I. Estudo da papilomatose cutânea em bovinos leiteiros: comparação de diferentes tratamentos e caracterização anatomopatológica. Tese (Mestrado em Medicina Veterinária) **Escola de Veterinária – GO, Universidade Federal de Goiás**, 147p., 2001.

SAVEIRA C. M.; MARTIN, H. M.; HELEN, M. L.; JARRET, N. F. H. Molecular heterogeneity and lesion site specificity of cutaneous bovine papillomaviruses. **Journal of virology**, V. 113, p. 323-335, 1981.

SAVINI F.; MANCINI S.; GALLINA L.; DONATI G.; CASÀ G.; PELI A.; SCAGLIARINI A. Bovine papillomatosis: First detection of bovine papillomavirus types 6, 7, 8, 10 and 12 in Italian cattle herds. **The Veterinary Journal**, v. 210, p. 82-84, 2016.

SCAGLIARINI, A.; CASÀ, G.; TRENTIN, B.; GALLINA, L.; SAVINI, F.; MORENT, M.; LAVAZZA, A.; PULEIO, R.; BUTTACI, C.; CANNELLA, V. Evidence of zoonotic poxviridae co-infection in clinically diagnosed papillomas using a new developed mini-array test. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 28, p. 59-64, 2016.

SCHIMITT, M.; FIEDLY, V.; MULLER, M. Prevalence of BPV genotypes in german cowshed determined by a novel multiplex BPV genotyping assay. **Journal of Virological Methods**. V. 170, p. 67-72, 2010.

SILVA, L. A. F.; JAYME, V. S.; OLIVEIRA, M. A. B. Implante pediculado de papilomas cutâneos e autohemoterapia no tratamento da Papilomatose bovina. **Veterinay News**, v.4, n.1, p. 83-88, 1998.

SILVA. L. A. F.; SANTINI, A.P.I.; FIORAVANTI, M. C. S. Papilomatose bovina: comparação e avaliação de diferentes tratamentos. **A Hora Veterinária**. v.21, n.121, p. 55-60, 2001.

SMITH, B.P. Moléstia virais. In: **Tratado de medicina interna de grandes animais**. São Paulo: Manole., v. 2, p.1260-1262, 1990.

TEIXEIRA, J. C.; HEPANHOL A. N. A trajetória da pecuária bovina brasileira. **Caderno Prudentino de Geografia**, Presidente Prudente, n.36, v.1, p.26-38, 2014.

TEIXEIRA, J. Complicações pulmonares pós-operatórias autohemotransfusão.

Revista Brasileira de Cirurgias Cardiovasculares. v. 2, n. 3, p. 213-230, 1940.

TRAINA, A.A.; NOGUEIRA, R.; URRUCHI, W.; CORRÊA, L.; DEBONI, M. C. Z. Estudo morfométrico da reparação tecidual em ratos após irrigação com água ozonizada. **Apostila do curso de ozonioterapia**, março de 2008.

TRAVAGLI, V.; ZANARDI, I.; BOCCI, V. A realistic evaluation of the action of ozone on whole human blood. **International Journal of Macromolecules**, v.39, p.317-320, 2006.

TRAVAGLI, V.; ZANARDI, I.; SILVIETTI, A. et al A physiochemical investigation on the effects of ozone on blood. **International Journal of Macromolecule**, v.41, p.504-511, 2007.

TREVISANIL, A. C.; HERMES-ULIANA, C.; OBIKAWA, C. Y.; NISHITANI, E. T.; BOLONHEZ, A. L.; ARISTIDES, S. M. A. Análise dos níveis de imunoglobulinas séricas e monócitos de pacientes em tratamento com autohemoterapia. **Arquivos de Ciência de Saúde da UNIPAR**, Umuarama, v. 19, n. 2, p, 101-107, 2015.

VAHIDA, A. M.; JAYAKUMAR, C. Autologous vaccine for bovine cutaneous papilloma. **Indian Veterinary Journal**, v. 76, p. 757-758, 1999.

VELANO, H. E. Avaliação in vitro da atividade antibacteriana da água ozonizada frente ao *Staphylococcus aureus*. **Pesquisa odontológica Brasileira**, v.15, n.1, p. 18-22, 2001.

VERÍSSIMO, A.C.C; SILVA, L.A.F.; FILHO, P.R.L.V. Avaliação da eficácia da cirurgia associada a diferentes protocolos medicamentosos no tratamento da Papilomatose peniana bovina. In: V CONGRESSO BRASILEIRO DE CIRURGIA E ANESTESIOLOGIA VETERINÁRIA. **Anais da Revista Brasileira de Ciências Veterinária** Rio de Janeiro, v.9, n.1, p. 266-268, 2002.

WELLENBERG, G.J.; VAN DER POEL, W.H.M.; VANOIRSHOT, J.T. Viral infection and bovine mastitis: a review. **Veterinary Microbiology**, v. 88, p. 27-45, 2002.

WITTMANN, W. Infecções por papovavírus. In: Beer, J (ed.) **Doenças Infecciosas em Animais Domésticos**. São Paulo: Roca, p. 256-261, 1999.

ZAMORA, Z. B.; BORREGO, A.; LÓPEZ, O. Y. et al. Effects of ozone oxidative preconditioning on TNF- α release and antioxidant-prooxidant intracellular balance in mice during endotoxic shock. **Mediators Inflammation**, v. 1, p. 16-22, 2005.

ZULLYT, Z.R., IDAVOY, D.T., SUÁREZ, M.B., YANSE, D.H., ROSALES, F.H. OLEOZO oral, tratamiento efectivo en la giardiasis experimental. **Apostila do curso de ozonioterapia**, março de 2008.

ANEXO**ANEXO I****IDENTIFICAÇÃO DO ANIMAL**

Nome/Número: _____ Tratamento: _____

Idade: _____ Raça: _____

Pelagem: _____ Sexo: _____

PARÂMETROS CLÍNICOS

Cardíaco: _____ Respiratório: _____ Hidratação: _____

Mucosas: _____ TPC: _____

MANEJO

Estágio reprodutivo: _____ Alimentação: _____

Estresse

recente: _____

(Desmame, Doenças, Tratamento, Manejo inadequado, Aglomerações, Viagens)

ASPECTOS MACROSCÓPICOS DOS PAPILOMAS

Tipo: _____ Cor: _____

Principais localizações: _____

Tamanhos: _____ Aspectos: _____

 Leve - 1 a 20 papilomas; Moderado - 21 a 80 papilomas; Intenso - Igual ou superior a 80 papilomas;

ACOMPANHAMENTO

1ª Semana: _____

2ª Semana: _____

3ª Semana: _____

4ª Semana: _____

5ª Semana: _____

6ª Semana: _____

7ª Semana: _____

8ª Semana: _____

RESPOSTA AO TRATAMENTO

- () Excelente: Regressão de 80% dos papilomas;
- () Boa: Regressão de 70% a 79% dos papilomas;
- () Regular: Regressão de 60% a 69% dos papilomas;
- () Ruim: Regressão inferior a 60% dos papilomas.

EFICÁCIA DO TRATAMENTO

- () Tratamento eficaz: Resposta Excelente ou Boa;
- () Tratamento ineficaz: Resposta Regular ou Ruim.

