

**UNIVERSIDADE ANHEMBI MORUMBI**

**ALINE OLIVEIRA DOS SANTOS**

**TÉCNICA DE OZONIZAÇÃO PARA TRATAMENTO ANTI-PARASITÁRIO EM  
CÃES**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**MESTRADO EM ENGENHARIA BIOMÉDICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU**

**São José dos Campos, fevereiro de 2024.**

**UNIVERSIDADE ANHEMBI MORUMBI**

**ALINE OLIVEIRA DOS SANTOS**

**TÉCNICA DE OZONIZAÇÃO PARA TRATAMENTO ANTI-PARASITÁRIO EM  
CÃES**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação  
Stricto Sensu em Engenharia Biomédica – Mestrado, da  
Universidade Anhembi Morumbi, como requisito parcial para  
obtenção do título de Mestre em Engenharia Biomédica.

Orientador: Prof. Dr. Carlos José de Lima

Co-Orientadora: Profa. Dra. Lívia Helena Moreira da Silva Melo

São José dos Campos, fevereiro de 2024.

**UNIVERSIDADE ANHEMBI MORUMBI**

**ALINE OLIVEIRA DOS SANTOS**

**TÉCNICA DE OZONIZAÇÃO PARA TRATAMENTO ANTI-PARASITÁRIO EM  
CÃES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação  
Stricto Sensu em Engenharia Biomédica – Mestrado, da  
Universidade Anhembi Morumbi, como requisito parcial para  
obtenção do título de Mestre em Engenharia Biomédica  
aprovada pela seguinte Banca Examinadora:

**Prof. Dr. Carlos José de Lima**

Orientador

Universidade Anhembi Morumbi

**Prof. Dra. Heloiza Helena de Oliveira Morelli Amaral**

Secretaria de Saúde do estado do Rio de Janeiro

**Prof. Dra. Lívia Helena Moreira da Silva Melo**

Co-Orientadora

Universidade Anhembi Morumbi

**Prof. Dr. Renato Amaro Zângaro**

Universidade Anhembi Morumbi

**Prof. Dr. Henrique Cunha Carvalho**

Universidade Federal do Paraná

**São José dos Campos, fevereiro de 2024.**

Todos os direitos reservados. É proibida a reprodução total ou parcial do trabalho sem autorização da Universidade, do autor e do orientador.

**ALINE OLIVEIRA DOS SANTOS**

Graduada em Medicina Veterinária pela Universidade Anhembi Morumbi (2018); Docente em Experiência Aplicada à Clínica de Pequenos Animais na Faculdade Serra Dourada; Mestranda em Engenharia Biomédica na Universidade Anhembi Morumbi.

Ficha Catalográfica

S233t Santos, Aline Oliveira dos  
Técnica de ozonização para tratamento anti-  
parasitário em cães  
/ Aline Oliveira dos Santos – 2024.  
41f.: 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Carlos José de Lima.  
Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) -  
Universidade  
Anhembi Morumbi, São José dos Campos, 2024.  
Bibliografia: f. 37-41.

1. Engenharia Biomédica. 2. Ozônio. 3. Óleo de  
Girassol.  
4. Verminose. 5. Cães. 6. Saúde Pública. I. Título.

CDD 610.28

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus e ao universo por me proporcionar competência e capacidade de finalizar esse Mestrado tão desafiador e enriquecedor.

À minha mãe que sempre me apoiou em todos os desejos e desafios em minha vida.

Ao meu professor e orientador Prof. Dr. Carlos José de Lima, pelo acolhimento, orientação, ensinamentos e paciência durante todo esse período de pesquisa; pelo incentivo nos momentos difíceis, pela dedicação no desenvolvimento do trabalho, e por sempre acreditar que eu seria capaz de finalizar essa pesquisa. Serei eternamente grata.

À minha co-orientadora Profa. Dra. Livia Helena Moreira de Melo, pelos ensinamentos, apoio, incentivo e conselhos durante todo o desenvolvimento desse trabalho; serei sempre grata pelas inúmeras vezes que me ouviu, me aconselhou, me incentivou e não me deixou desistir em nenhum momento.

Ao Departamento de Proteção Animal – DEPAN, da cidade de Guarulhos, à sua diretoria – dra. Juliana Kopczynski, e todos seus colaboradores, que foram incríveis em receber meu projeto com muita atenção, por terem me acolhido e colaborado com a operação dessa pesquisa. Sou eternamente grata e orgulhosa de pertencer a essa cidade.

Aos animais do DEPAN, por mesmo sem entenderem, contribuírem com esse trabalho, e serem referência para o foco e objetivo final de sucesso dessa pesquisa, esse trabalho só teria significado se eles existissem.

Ao meu amigo e antigo coordenador, Eduardo Tabarin, pela apresentação do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica, pelo incentivo que me deu e por sempre acreditar em meu potencial.

Ao meu professor Prof. Dr. Adjaci Ucha Fernandes, pelo apoio, ajuda, orientação e por dispor de seu precioso tempo para me auxiliar nos processos de análises químicas, e pelo ensinamento ofertado nesse período.

Às minhas antigas colegas de trabalho, e colaboradoras nessa pesquisa, Íris Lorandi e Geovanna Thomaz, que disponibilizaram seu tempo e trabalho para auxiliar-me no processo de análise do produto desenvolvido. Sou muito grata pelo apoio e ajuda que me deram.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação de Engenharia Biomédica da Universidade Anhembi Morumbi, agradeço por todo ensinamento fornecido durante o período em que estive no Programa.

Ao professor e o coordenador Prof. Dr. Renato Zângaro, pelo conhecimento dispensado, pela atenção e prestação a todas as questões e dificuldades que tive durante o processo.

À Nídia, secretária do Programa, pela atenção, dedicação e prontidão em resolver todos os problemas e questões levantadas durante o período de estudo.

Agradeço à instituição Anhembi Morumbi que fomentou, por um grande período de tempo, enquanto colaboradora da instituição, minha bolsa no Programa.

E agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela bolsa concedida e fomento na reta final do Programa.

## RESUMO

As verminoses são doenças comumente encontradas em cães, causadas por endoparasitas que alojam o interior do sistema digestório e causam diversas irregularidades funcionais no trato gastrointestinal, no sistema respiratório e possivelmente em demais regiões sistêmicas; seu tratamento é feito com anti-helmínticos convencionais que podem causar resistência parasitária e provocar efeitos colaterais. Novas alternativas estão sendo estudadas, com a proposta de não criar resistência parasitária como estratégia de eliminação desses parasitas. O óleo ozonizado tem se destacado pela sua propriedade microbicida, por não causar resistência, e já tratar de forma sustentável outras patologias. O objetivo desse estudo foi desenvolver um produto terapêutico protagonizado pelo óleo de girassol ozonizado, para testá-lo como tratamento antiparasitário por administração oral, avaliar sua possível toxicidade e seus efeitos adversos. Cães (n=20) provenientes do Departamento de Proteção Animal (DPAN)/ Centro de Controle de Zoonoses, da cidade de Guarulhos, foram submetidos aos protocolos. Os cães foram divididos em grupos, **Controle** (n=5) - submetidos ao tratamento convencional antiparasitário, **Óleo *in natura*** (n=5) - tratados com o óleo de girassol em sua apresentação natural, **Óleo ozonizado** (n=10) - tratados com óleo de girassol ozonizado. A aplicação dos tratamentos foi administrada por via oral na dosagem de 0,5 mL/kg, em dose única em cada grupo correspondente ao tratamento proposto, e exames de sangue e coproparasitológico foram realizados antes e após 15 dias de cada tratamento. Os resultados obtidos ao término dos protocolos estabelecidos, quando comparado de maneira isolada intragrupo, no início e no final do tratamento, mostraram que houve uma diferença significativa na população de Leucócitos e Neutrófilos no grupo Óleo Ozonizado, mas na comparação entre os grupos, não foi constatada diferenças significativas quanto à eficácia dos protocolos desenvolvidos. Sobretudo, observou-se que o grupo Óleo Ozonizado não apresentou nenhum efeito adverso ou colateral, quando comparado aos grupos Controles na dosagem administrada.

**Palavras-chave:** Ozônio; Óleo de girassol; verminose; cães; saúde pública.

## ABSTRACT

### OZONIZATION TECHNIQUE FOR ANTI-PARASITIC TREATMENT IN DOGS

Helminth infections are diseases, commonly found in dogs, caused by endoparasites lodged in the digestive system and cause many functional irregularities in the gastrointestinal tract, respiratory system and possibly other systemic regions. The treatment is carried out with conventional anthelmintic drugs that can cause parasite resistance and side effects. New alternatives are being studied, with the goal of avoiding parasite resistance as a strategy of control. Out of those, ozonated oil has stood out for its antimicrobial properties, for not causing resistance, and for treating, in a sustainable manner, other pathologies. The objective of this study was to develop a therapeutical product in which ozonated oil is the protagonist, to test it as an antiparasitic treatment by oral administration, to evaluate its possible toxicity and adverse effects. Dogs (n=20) taken from the Department of Animal Protection (DAP) / Centre of Control of Zoonoses of the city of Guarulhos, were subject to the protocols. The dogs were split into groups, **Control** (n=5) - subjected to conventional anti parasite treatment, **Oil *in natura*** (n=5) - treated with sunflower oil in its natural state, **Ozonated oil** (n=10) - treated with ozonated sunflower oil. The treatments were orally administered on the dosage of 0.5 ml/kg, with one single dose of the proposed treatment to each group and blood tests and coproparasitic tests were run before and after each treatment. The obtained results at the end of the established protocols, when analysed in an isolated manner, intragroup, at the beginning and at the end of the treatment show that there was significant difference in the population of Leucocytes and Neutrophils in the Ozonated oil group, but in the comparison between groups, no significant difference was found. Chiefly, it has been observed that the Ozonated oil grouped not display any adverse or side effect, when compared to the Control groups in the administered dosage.

**Keywords:** ozone; sunflower oil; helminth infections; dogs; public health.

# SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>14</b>
<b>OBJETIVO E JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>17</b>
Objetivo Geral .....	17
Objetivos Específicos.....	17
<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>18</b>
Dados e Seleção de Amostra.....	18
Critérios de Exclusão.....	20
Secção em Grupos de Amostras.....	20
Protocolo de Tratamento.....	20
Avaliação Prévia do Paciente.....	20
Coleta e Análise dos Exames Complementares.....	21
Métrica do Tratamento.....	21
Administração Medicamentosa.....	22
Mensurações Físico-Químicas do Produto.....	23
Monitoramento.....	23
Análise Estatística.....	24
<b>RESULTADOS</b> .....	<b>24</b>
Análise de Dados Físico-Químico do Produto terapêutico.....	24
Análise dos Animais.....	25
Hemograma.....	26
Análise entre os membros dos grupos.....	26
Análise entre os grupos.....	29
Coproparasitológico.....	31
<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>34</b>
<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>36</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>37</b>

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Foto retirada do site Jornal Guarulhos Hoje.....pág. 18
- Figura 2. Baias duplas e individuais dos cães abrigados.....pág. 19
- Figura 3. Diagrama do Gerador de Ozônio acoplado ao cilindro de oxigênio e à uma mangueira dentro da coluna refratária de vidro.....pág. 22

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Comparativo das propriedades físico-químicas dos óleos.....	pág. 24
Tabela 2 – Análise dos Animais.....	pág. 25
Tabela 3. Resultados dos exames de sangue referentes ao Hemograma dos grupos testados no dia 1.....	pág. 26
Tabela 4. Resultados dos exames de sangue referentes ao Hemograma dos grupos testados no dia 15.....	pág. 27
Tabela 5. Comparação da diferença significativa entre os grupos estudados....	pág. 29
Tabela 6. Análise dos resultados encontrados no Exame Coproparasitológico..	pág. 31

## LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

±	Mais ou menos
<	Menor
%	Porcentagem
°C	Graus Celsius
10 <sup>6</sup>	Um milhão
ANOVA	Análise de Variância
AOD	<i>Applied Ozone Dosage</i> (Dosagem Aplicada de Ozônio)
CHCM	Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média
dl	Decilitro
DPAN	Departamento de Proteção Animal
EDTA	<i>Ethylenediamine tetraacetic acid</i> (Ácido etilenodiaminotetraacético)
HCM	Hemoglobina Corpuscular Média
I <sub>2</sub>	Iodo
IN	Instrução Normativa
mEq	Miliequivalente
min.	Minuto
mg	Miligrama
mL	Mililitro
mPa.s	miliPascal vezes segundo
n	Amostragem
n°	Número
O <sub>2</sub>	Oxigênio

O <sub>3</sub>	Ozônio
p	Significância estatística
pg	Picograma
pH	Potencial Hidrogeniônico
SP.	Espécie
SRD	Sem Raça Definida
VCM	Volume Cospuscular Médio
u <sup>3</sup>	Fentolitro
(μL)	Microlitro
λ	Comprimento de Onda

## INTRODUÇÃO

As verminoses são doenças comumente encontradas em animais, causadas por endoparasitas que se alojam no interior do organismo do indivíduo e causam diversas irregularidades funcionais. De alta prevalência na clínica de pequenos animais na Medicina Veterinária, as verminoses são patogêneses resistentes à evolução do controle de doenças infecciosas em animais domésticos. Acomete principalmente o sistema gastrintestinal dos pequenos animais, mas pode também prejudicar o sistema respiratório, cardíaco, e outros, devido à uma possível infecção secundária. (FERREIRA, C. G. T., *et al*, 2010).

O cão é um dos principais animais domésticos acometidos por verminoses entre os animais domésticos; é suscetível à contaminação quando filhote tanto quanto à idade adulta, caso não seja seguido um protocolo profilático. Os principais sinais clínicos apresentados são: diarreia, perda de peso, apatia, e um possível quadro de imunossupressão. Essa patogênese oferece um relevante risco à saúde pública, pois diversos helmintos provocam uma zoonose, ou seja, uma patogenia transmissível ao homem (FERRAZ, A., *et al*, 2019). E com a crescente domesticação animal, que torna cada vez mais próxima a relação com o humano, o risco de disseminação na população é ainda maior (LUTINSKI, J. A., *et al*, 2021).

São várias as espécies de endoparasitas que causam irregularidades em cães, mas há uma incidência maior de algumas espécies, como: o *Ancylostoma sp*, o *Toxocara canis sp*, o *Giardia sp* (FERRAZ, A., *et al*, 2019). O *Ancylostoma* pertence à subfamília *Ancylostomatinae*, família *Ancylostomatidae*, Superfamília *Ancylostomatoidea*, são parasitos hematófagos, que se alojam no intestino delgado e podem causar anemia severa, levando o animal até mesmo ao óbito; o *Toxocara sp* pertence à subfamília *Toxocatinae*, família *Ascarididae*, Superfamília *Ascaridoidea*, Filo *Nematoda* que geralmente possui ovos com casca espessada e ornamentada, é um parasito que se aloca no intestino delgado dos cães, mas pode migrar para circulação habitando em outros órgãos, pode causar uma pneumonia, uma enterite, e até uma obstrução intestinal; o *Giardia* pertence à família *Hexamitidae*, Classe *Mastigophora*, que são protozoários que se alojam na mucosa intestinal de alguns mamíferos, e causam cólicas e diarreias (MARTINS, 2019).

O diagnóstico da doença parasitária é realizado através de exames microscópicos, o exame coproparasitológico – análise das fezes, e o exame de Sangue Total (GREENE, 2015).

O exame de Sangue Total é um dos métodos considerados básicos de triagem na clínica de Pequenos Animais; nele é realizada a mensuração qualitativa e quantitativa do nível de glóbulos vermelhos e glóbulos brancos no sangue; é através do exame de sangue que é possível parametrizar o estado de saúde básico do animal, ou seja, se há deficiência imunológica ou de oxigenação tecidual (SILVA, M.N., 2017). Nesse exame, alguns compostos são analisados e comparados com a referência literária para avaliar o quadro de saúde animal, são eles os pertencentes ao Hemograma – para verificação do nível de oxigenação tecidual: as Hemácias, a Hemoglobina, os Hematócritos, Volume Corpuscular Médio (VCM), Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM), Hemoglobina Corpuscular Média (HCM); os pertencentes ao Leucograma – para verificação do estado imunológico do animal: os Leucócitos, os Neutrófilos, os Linfócitos, os Eosinófilos, os Monócitos, os Basófilos, e os Mielócitos; e por último o desencadeamento da coagulação sanguínea do animal, representada pelas Plaquetas (SILVA, M.N., 2017).

O tratamento convencional para as Verminoses em cães geralmente é feito com anti-helmínticos, como Palmoato de Pirantel (5mg por kg), Praziquantel (5mg por kg), Febantel (10mg por kg), Febendazol (50mg por kg), via oral, por 3 dias consecutivos, uma vez ao dia; ou com associação de vários vermífugos para um protocolo de amplo espectro, com administração de uma dose única, e repetição da mesma dose após 15 dias, tendo uma dose média de 1 (um) comprimido a cada 10kg, a depender da dosagem total das associações (CRIVELLENTI, L. Z., CRIVELLENTI, S. B., 2015). E para a Giardíase em específico, geralmente é seguido um protocolo entre as escolhas de: Febendazol (50mg por kg), uma vez ao dia, por 3 dias consecutivos, com repetição após 21 dias; Metronidazol (25 a 30mg por kg), duas vezes ao dia, por 7 a 10 dias consecutivos; Albendazol (25mg por kg), duas vezes ao dia, por 2 dias consecutivos; Furazolidona (4mg por kg), duas vezes ao dia, por 5 a 10 dias consecutivos (CRIVELLENTI, L. Z., CRIVELLENTI, S. B., 2015). Alguns efeitos adversos conhecidos dessas medicações são: vômito, diarreia, sialorreia, anorexia, incoordenação, letargia, aborto e malformações fetais (ANDRADE, 2017).

O gás ozônio ( $O_3$ ) é uma substância natural presente na atmosfera terrestre, sua formação é protagonizada pela ação da luz ultravioleta ( $\lambda = 250 \text{ nm}$ ) do sol sobre as moléculas de oxigênio, a molécula de ozônio é estruturada por três átomos de oxigênio, um destes apresenta ligação química mais fraca, o que constata ser uma molécula instável, neste sentido a decomposição do  $O_3$  resulta normalmente na geração de uma molécula de oxigênio ( $O_2$ ), e uma partícula quimicamente reativa a uma outra substância mais próxima, esse efeito é denominado oxidação. O mecanismo de dissociação do ozônio pode acarretar, por exemplo, a inativação de microrganismos, isso ocorre devido ao efeito de oxidação, em que as partículas ionizadas de oxigênio atuam, principalmente, sobre a membrana que reveste o microrganismo, gerando lesões até o extravasamento das organelas internas da célula, até a sua inativação por completo (BORRELLI, et al, 2018).

A utilização do ozônio causa inativação de diversos microrganismos, como vírus, bactérias, fungos, protozoários e leveduras. A atividade do ozônio interfere na integridade da bactéria através da oxidação de lipoproteínas e fosfolipídios; inibe o crescimento celular em fungos; danifica o capsídeo viral e interfere no ciclo reprodutivo do vírus. E além disso, quando utilizado sob condição clínica, traz diversos benefícios, como estimulação do metabolismo na produção de oxigênio e estimulação na produção da molécula Adenosina Trifosfato (ATP) (ELVIS & EKTA, 2011).

A Ozonioterapia vem crescendo na última década, e teve seu início científico liderado por cientistas como Renate Viebahn, Olga Sonia León Fernández e Ziad Fahmy (Loeb, 2016). Um dos métodos aplicados na Ozonioterapia é a técnica com o óleo ozonizado, como terapia para úlceras tópicas e para fins fungicidas, bactericidas e parasiticidas. Para o experimento da técnica foi utilizado o óleo de Girassol para a ozonização (BOCCI, 2005).

É afirmado que o óleo ozonizado possui propriedades antibacterianas que são geradas através da associação do ozônio com o óleo vegetal. O ozônio reage com duplas ligações de carbono de gorduras insaturadas – os ácidos graxos - ácido oleico ou linoleico, que formam compostos com denominações como ozonídeos, aldeídos e peróxidos, que são compostos considerados germicidas e microbicidas. (MOUREU, et al, 2015).

O óleo de girassol é composto por moléculas, em sua maior porcentagem, que contém ligações duplas de carbono, sendo um ácido linoleico, e por esse motivo atinge seu pico de insaturação de forma mais rápida que um óleo vegetal de apenas uma ligação dupla de carbono, o que motiva a ser a escolha para esse tipo de terapia. A ozonização do óleo é feita através de um gerador de ozônio, que para seu desenvolvimento devem ser levados em consideração: as condições de ozonização, o tempo, a concentração do ozônio, o fluxo desse gás, a temperatura e a quantidade de óleo. E para a geração é priorizado o uso do oxigênio medicinal, que é elevadamente eficiente (UGAZIO, et al, 2020).

Alguns autores relatam métodos para a técnica de ozonização. DIAZ (2005) expõe a técnica de borbulhar o gás ozônio no óleo de girassol em banho-maria, por aproximadamente 2 horas, numa taxa de fluxo de oxigênio de 42L por hora, sugerindo que essa técnica resulta na concentração de 79,5mg/L. Já BOCCI (2005) sugere o borbulhamento do óleo por um período mínimo de 60 minutos, resultando na absorção de 160mg de ozônio por cada grama de óleo.

A ação da terapia com o óleo ozonizado é baseada na interrupção da integridade celular dos microrganismos e na estimulação do metabolismo de oxigênio tecidual (ELVIS & EKTA, 2011).

A expectativa é que as propriedades microbidas do óleo ozonizado apresentem também uma atividade antiparasitária para endoverminoses de cães.

## **OBJETIVO E JUSTIFICATIVA**

### **Objetivo Geral**

Avaliar o efeito da toxicidade do óleo de girassol ozonizado na administração por via oral em cães, e a verificação clínica preliminar do uso do óleo ozonizado na intervenção da saúde geral do animal.

### **Objetivos Específicos**

- Comparação e análise do exame de Hemograma e Leucograma em função da administração do óleo ozonizado;

- Análise do exame coproparasitológico dos animais para verificação da presença de ovos nas fezes;
- Comparação do efeito do óleo ozonizado em relação ao vermífugo convencional para verificação de efeitos colaterais.

## MATERIAS E MÉTODOS

### Dados e Seleção de Amostra

A amostra inicial foi composta por 30 cães provenientes do abrigo do Departamento de Proteção Animal – DPAN – adjunto ao Centro de Controle de Zoonoses da cidade de Guarulhos, Figura 1; porém, ao longo do processo esse número foi diminuído, devido a adoção de alguns cães. Os animais mantinham as mesmas condições de vida, alimentação e cuidados. Para a seleção da amostra, os cães foram recrutados de forma aleatória, independente de sexo ou idade, e como critério de participação, foram escolhidos os animais com comportamento não agressivo, e que esses pudessem ser mantidos no abrigo por um período mínimo de 15 dias após o início do projeto. Não havia prontuário ou ficha com o histórico de cada animal abrigado; portanto, foram coletados os dados possíveis, e relevantes para o trabalho.



Figura 1. Imagem proveniente do abrigo de cães administrado pelo departamento de proteção animal da cidade de Guarulhos.

(<https://www.guarulhoshoje.com.br/2018/12/19/departamento-de-protecao-animal-inaugura-nova-sede-e-lanca-portal-de-agendamento-de-castracoes/>).

Os cães viviam no abrigo alocados em baias duplas ou individuais, de aproximadamente 10m<sup>2</sup> as baias duplas, e 5m<sup>2</sup> as individuais, conforme Figura 2.

O ambiente era limpo e desinfetado todos os dias com água e Cloro pelos tratadores do local.

Os cães eram alimentados pela manhã, e por volta das 10h00 metade deles eram levados para um gramado aberto, onde podiam brincar e interagir com outros animais, e tomar um banho de sol. Às 14h00 havia a troca de turno dos tratadores, e nesse momento era realizada a troca de água, e por volta das 16h00 a outra metade dos cães eram levados para o espaço aberto. A segunda alimentação era fornecida às 18h00 para todos os animais.



Figura 2. Imagens das Baías duplas e individuais dos cães abrigados, pertencente ao departamento de abrigo animal da cidade de Guarulhos.

Após o recrutamento os animais foram separados e direcionados em grupos para o início do estudo.

Não houve nenhum tipo de despesa para a instituição concedente à pesquisa; e toda atividade foi realizada em comum acordo, em adaptação à rotina da instituição, de forma a não afetar o funcionamento da unidade.

A coleta de informações dos animais para a pesquisa iniciou-se após aprovação do Comitê de Ética de Pesquisa do Departamento de Proteção Animal do Centro de Controle de Zoonoses, e do Comitê de Ética de Pesquisa Animal da Universidade Barra Mansa sob o Protocolo nº 004/2022, aprovado em 30/03/2023, conforme anexo.

## **Crêterios de Exclusão**

Os animais que não estiveram em acordo com o grupo desejado exposto na Sele o de Amostra foram excluídos - Cães que não puderam permanecer no abrigo por mais de 15 dias e cães muito agressivos.

## **Sec o em Grupos de Amostras**

Os animais (N = 20) recrutados foram distribuídos aleatoriamente nos grupos estabelecidos a seguir:

Grupo Teste 1 – 5 animais receberam o tratamento medicamentoso endoparasit rio convencional - Albendazol, por via oral;

Grupo Grupo Controle – 5 animais receberam o tratamento com óleo de girassol *in natura*, por via oral;

Grupo Grupo Teste 2 – 10 animais receberam o tratamento com o óleo de girassol ozonizado, por via oral;

## **Protocolo de Tratamento**

### **Avalia o Prévia do paciente**

1. Foi realizada uma breve Anamnese e Histórico da vida do animal, coletando informa es relevantes que interferissem no tratamento, como histórico de vermifuga o, vacina o e doenças pré-existentes. Todos os animais foram vacinados contra Raiva e eram regularmente vermifugados a cada 90 dias até a ado o. Não havia histórico anterior de doenças pré-existentes.
2. Avalia o do Estado Físico do Animal – Os animais foram submetidos   uma avalia o física geral, onde foram observados o Score Corporal e o peso.
3. Coleta de Exames Complementares – Foram realizadas as seguintes coletas de amostras biológicas:
  - Coleta de Amostra de Sangue total – Hemograma Completo – para análise hemat crita e leucocit ria, a fim de averiguar possíveis quadros de anemia e avaliar o sistema imunológico;

-Coleta de Fezes – Coproparasitológico – para monitoramento da eficácia do protocolo terapêutico utilizado.

### **Coleta e Análise dos Exames Complementares**

. Hemograma Completo – Foram realizadas duas coletas (pré e pós 15 dias do tratamento) de amostra sanguínea de cada animal, por via intravenosa de localização jugular ou cefálica, com o auxílio de um garrote, uma seringa, uma agulha estéril, e um tubo coletor com EDTA. As amostras sanguíneas foram condicionadas em caixas com isolamento térmico e gelo reciclável e enviadas ao laboratório de Análises clínicas veterinárias, para serem analisadas conforme a rotina laboratorial.

. Coproparasitológico – Foram realizadas duas coletas de amostras fecais de cada animal (pré e pós 15 dias do tratamento), com auxílio de uma espátula de madeira e um coletor universal. As amostras foram condicionadas em caixas com isolamento térmico e gelo reciclável e enviadas ao laboratório de Análises clínicas veterinárias, para serem analisadas conforme a rotina laboratorial.

### **Métrica do Tratamento**

Todos os grupos receberam tratamento com métodos ou princípios diferentes. A intenção foi administrar por via oral o óleo vegetal ozonizado, e compará-lo ao método convencional (vermífugo convencional), e à administração do mesmo óleo vegetal *in natura*.

Para obter o produto terapêutico abordado nessa pesquisa, foi realizado no Laboratório do Centro de Inovação e Tecnologia (CITE), conveniado a Universidade Anhembi Morumbi, localizado em São José dos Campos, a ozonização de 1.800 mL de óleo de Girassol *in natura*, com a adição de 10% do volume de água destilada – 180ml. O protocolo de ozonização foi feito através do gerador de Ozônio, fornecedor Ozone & Life modelo 1.5M (3g/h), através de uma coluna de vidro do tipo refratária graduada, de 2 litros de capacidade, o processo foi realizado usando a técnica do

reator coluna de borbulhamento (KULKARNI, et al, 2011), com uma peça porosa sinterizada de aço inoxidável, conectada à uma mangueira de silicone, sendo que a outra extremidade ficou acoplada à saída do gerador de ozônio; na conexão de entrada desse mesmo equipamento, foi conectado via duto flexível de silicone, uma válvula reguladora de fluxo, sendo essa posteriormente conectada à um cilindro de oxigênio com capacidade de 1,5m<sup>3</sup>, conforme Figura 3 . A regulação da vazão do oxigênio através da válvula foi ajustada para o valor de 1/4L por minuto, o gerador de ozônio foi ajustado à produzir na saída um valor de concentração de 48mg/L, resultando conseqüentemente em uma taxa de alimentação de ozônio de 12mg/min. O protocolo de ozonização foi realizado durante um período de 4 horas, e resultou na dosagem de 1,6g (O<sub>3</sub>)/L (APPLIED OZONE DOSAGE – A.O.D.) (Leeuwen, 2015). Após o protocolo de ozonização, o óleo foi armazenado e distribuído em recipientes plásticos, límpidos e incolores, de capacidade de 50mL cada, e mantidos em refrigeração de 4°C a 8°C, até serem transportados para um Freezer, onde seriam mantidos em uma temperatura de -20°C até o momento de seu uso.

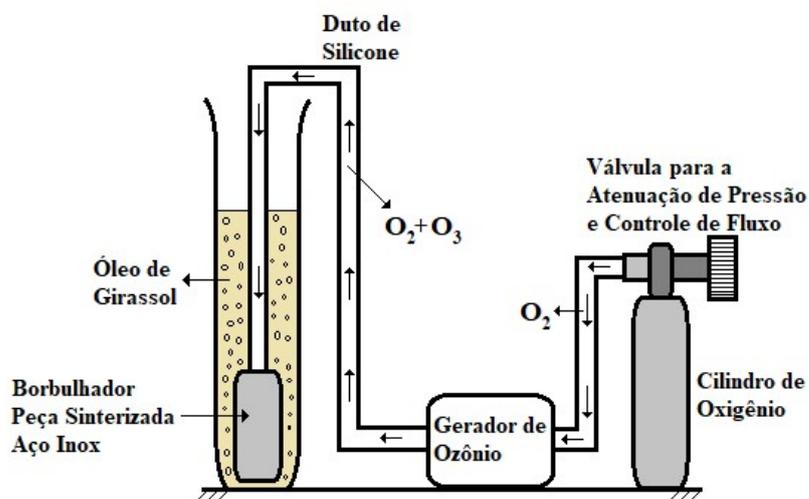


Figura 3. Esquema representativo do sistema reator coluna de borbulhamento para a ozonização do óleo de girassol. Na montagem há a presença do gerador de ozônio acoplado ao cilindro de oxigênio e a um duto flexível de elastômero (silicone) dentro da coluna refratária de vidro.

### Administração Medicamentosa

Após a coleta do material biológico dos animais, antes dos primeiros resultados, foram iniciados os protocolos terapêuticos estabelecidos para os grupos formados.

Grupo Teste 1 – os cães (n=5) foram submetidos à administração do medicamento endoparasitário Albendazol, na dose de 25mg/kg, Suspensão – 40mg/mL, por via oral, através do auxílio de uma seringa, em uma única dose, conforme recomendação da bula do fabricante;

Grupo Controle – os cães (n=5) foram submetidos à administração de óleo de Girassol *in natura*, na dose de 0,5mL/kg, por via oral, através do auxílio de uma seringa, em uma única dose (seguindo a dosagem recomendada para o fármaco Albendazol, conforme bula do fabricante);

Grupo Teste 2 – os cães (n=10) foram submetidos à administração do óleo de Girassol ozonizado, na dose de 0,5mL/kg, por via oral, através do auxílio de uma seringa, em uma única dose. O óleo foi transportado até o abrigo em sua forma congelada, e deixado em temperatura ambiente até seu descongelamento total antes da administração.

### **Mensurações Físico-Químicas do Produto**

Após o processo de ozonização do óleo de Girassol, foram mensurados alguns parâmetros de propriedades físico-químicas, para fins de comparação entre as amostras – óleo de Girassol ozonizado e *in natura*. Os parâmetros analisados foram: Índice de peróxido, Índice de Iodo, Viscosidade e Acidez do produto. Para a análise foi enviada à um laboratório químico o volume de 450mL do produto, transportado em sua forma congelada, armazenado em isopor, até o local onde ocorreu as análises.

### **Monitoramento**

Os animais foram monitorados através dos exames complementares de Hemograma Completo e Coproparasitológico, para avaliar a condição geral e parasitológica do

animal antes e depois da submissão ao tratamento. Assim como a avaliação da efetividade e comparação dos protocolos aplicados.

Nos casos de intercorrências durante o procedimento de contenção, coleta de exames, e reações adversas ao protocolo aplicado, fosse ele o método convencional de vermifugação ou o método em estudo, os animais seriam prontamente atendidos e assessorados em todas as suas necessidades, sem qualquer ônus à Instituição e Associação concedente ao estudo; porém, nenhum dos animais necessitou de qualquer socorro, ou atendimento para situações eventuais.

### **Análise Estatística**

Para analisar os resultados dos grupos relatados anteriormente, foi utilizado o Software BioEstat 5.3. Nesse sentido, os resultados foram analisados obedecendo ou não a curva de normalidade estatística, posteriormente seguindo um protocolo de cálculo do grau de significância (considerando  $p < 5\%$ ). Os dados foram analisados através do teste ANOVA.

## **RESULTADOS**

### **Análise de Dados Físico-Químico do Produto terapêutico**

Foram realizadas as mensurações Físico-Químicas do Índice de peróxido, Índice de Iodo, Viscosidade e Acidez do Óleo de Girassol ozonizado, e comparados às propriedades do Óleo de Girassol *in natura*, estabelecidas pela IN n°87, de 15 de março de 2021. Obtendo-se como resultados os seguintes dados na Tabela 1:

Tabela 1. Comparativo das propriedades físico-químicas dos óleos

<b>ÓLEO DE GIRASSOL OZONIZADO</b>		<b>ÓLEO DE GIRASSOL</b>
<b>DETERMINAÇÃO</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>REFERÊNCIAS</b>
ÍNDICE DE PERÓXIDO (mEqO <sub>2</sub> /Kg)	47,94 mEqO <sub>2</sub> /Kg	10 mEqO <sub>2</sub> /Kg

ÍNDICE DE IODO $gI_2/100g$	0,21 $gI_2/100g$	118 a 145 $gI_2/100g$
Viscosidade Brookfield a 25°C	58,53 mPa.s	44,62 mPa.s
pH a 25°C - solução a 10% em água	6,4	4,0 a 7,0

De acordo com a tabela acima, houve um aumento de 30% da viscosidade do óleo após o processo de ozonização, enquanto a alteração adicional do índice de peróxido resultou num valor de 380%.

### **Análise dos Animais**

A amostragem foi composta por 20 animais ( $n=20$ ), sendo 7 fêmeas – correspondendo a 35% da população total, e 13 machos – correspondendo a 65% da população. A idade média da população era de  $7 \pm 4$  anos, e seu peso médio  $14 \pm 3,7$ kg. O Score Corporal apresentou uma média de  $3 \pm 1$ , conforme Tabela 2 abaixo. Todos os cães foram categorizados como Sem Raça Definida – SRD.

Tabela 2 – Análise dos Animais

<b>Amostra (N)</b>	20
<b>Fêmeas</b>	7
<b>Machos</b>	13
<b>Idade média</b>	$7 \pm 4$ anos
<b>Peso médio</b>	$14 \pm 3.7$ kg
<b>Score corporal médio</b>	$3 \pm 1$

Os grupos foram analisados de duas formas: através do Hemograma - de forma comparativa entre os resultados obtidos entre os membros dos grupos nos dias 1 e 15, e comparar os resultados entre todos os grupos testados; e analisar os resultados encontrados no exame Coproparasitológico dos grupos.

## Hemograma

### Análise entre os membros dos grupos

Inicialmente, haviam números de amostra iguais entre os três grupos, porém, em virtude das adoções efetivadas no período, o número de animais por grupo sofreu alteração.

Iniciou-se então a análise do Hemograma primeiramente, comparando os resultados obtidos no dia 1 e no dia 15, conforme Tabelas 3 e 4 abaixo.

Tabela 3. Resultados dos exames de sangue referentes ao Hemograma dos grupos testados no dia 1

HEMOGRAMA – DIA 1				
Características	Grupo albendazol	Grupo óleo <i>in natura</i>	Grupo óleo ozonizado	Referência
Hemácias ( $10^6/\text{mm}^3$ )	$7,1 \pm 0,9$	$7,4 \pm 0,9$	$7,6 \pm 1,2$	5,7 a 7,4
Hemoglobina (g/dl)	$17,0 \pm 2,7$	$16,7 \pm 3,1$	$16,5 \pm 2,8$	14,0 a 18,0
Hematócrito (%)	$51,2 \pm 9,0$	$50,0 \pm 9,0$	$49,4 \pm 7,8$	38,0 a 47,0
V.C.M. ( $\mu^3$ )	$71,7 \pm 5,0$	$67,3 \pm 4,3$	$65,1 \pm 5,2$	63,0 a 77,0
H.C.M. (pg)	$23,8 \pm 1,3$	$22,5 \pm 1,3$	$21,7 \pm 2,1$	21,0 a 26,0
C.H.C.M. (g/dL)	$33,3 \pm 0,9$	$33,4 \pm 1,3$	$33,3 \pm 1,4$	31,0 a 35,0
Proteína plasmática total (g/dL)	$7,7 \pm 1,5$	$8,8 \pm 0,5$	$8 \pm 1$	5,0 a 8,0
Plaquetas ( $\text{mm}^3$ )	$176.000 \pm 103.200$	$188.000 \pm 37.200$	$240.000 \pm 109.700$	200.000 a 500.000
Leucócitos Totais ( $/\mu\text{L}$ )	$8.422 \pm 5.820$	$11.960 \pm 3.408$	$7.933 \pm 3.428$	6.000 a 17.000
Neutrófilos Segmentados ( $/\mu\text{L}$ )	$5.595 \pm 4.018$	$7.677 \pm 1.247$	$5.389 \pm 2.657$	3.000 a 11.000
Neutrófilos Bastonetes ( $/\mu\text{L}$ )	0	0	0	0 a 500
Linfócitos ( $/\mu\text{L}$ )	$2.437 \pm 1.710$	$3.527 \pm 1.987$	$2.002 \pm 824$	1.000 a 4.800

Monócitos (/μL)	176 ± 89	308 ± 114	184 ± 177	150 a 1.350
Eosinófilos (/μL)	269 ± 289	449 ± 480	359 ± 201	100 a 1.250
Basófilos (/μL)	0	0	0	Raros
Mielócitos (/μL)	0	0	0	0

Tabela 4. Resultados dos exames de sangue referentes ao Hemograma dos grupos testados no dia 15

HEMOGRAMA – DIA 15				
Características	Grupo Albendazol	Grupo óleo <i>in natura</i>	Grupo óleo ozonizado	Referência
Hemácias ( $10^6/\text{mm}^3$ )	$7,6 \pm 1,1$	$7,3 \pm 1,2$	$6,6 \pm 1,0$ *	5,7 a 7,4
Hemoglobina (g/dL)	$17,1 \pm 2,0$	$17,1 \pm 3,2$	$15,3 \pm 3,3$	14,0 a 18,0
Hematócrito (%)	$49,2 \pm 8,3$	$50,0 \pm 9,1$	$46,0 \pm 8,1$	38,0 a 47,0
V.C.M. ( $\mu^3$ )	$65,3 \pm 9,4$	$67,7 \pm 3,8$	$69,2 \pm 3,4$ *	63,0 a 77,0
H.C.M. (pg)	$22,6 \pm 1,5$	$23,1 \pm 1,1$	$22,9 \pm 2,6$ *	21,0 a 26,0
C.H.C.M. (g/dL)	$35,2 \pm 4,1$	$34,1 \pm 0,3$	$33,0 \pm 2,6$	31,0 a 35,0
Proteína plasmática total (g/dL)	$7,8 \pm 1,3$	$8,7 \pm 0,6$	$8 \pm 1$	5,0 a 8,0
Plaquetas ( $\text{mm}^3$ )	189.828 $\pm$ 154.900	180.400 $\pm$ 13.500	236.556 $\pm$ 66.500	200.000 a 500.000
Leucócitos Totais ( $/\mu\text{L}$ )	$8.642 \pm 6.584$	$11.620 \pm 2.802$	$10.011 \pm 4.247$ *	6.000 a 17.000
Neutrófilos Segmentados ( $/\mu\text{L}$ )	$5.676 \pm 5.001$	$7.085 \pm 1.618$	$7.073 \pm 3.430$ *	3.000 a 11.000
Neutrófilos Bastonetes ( $/\mu\text{L}$ )	0	0	0	0 a 500
Linfócitos ( $/\mu\text{L}$ )	$2.472 \pm 1.854$	$3.993 \pm 1.041$	$2.427 \pm 1.037$	1.000 a 4.800
Monócitos ( $/\mu\text{L}$ )	$141 \pm 65$ *	$170 \pm 99$ *	$219 \pm 195$	150 a 1.350
Eosinófilos ( $/\mu\text{L}$ )	$443 \pm 375$	$372 \pm 265$	$292 \pm 269$	100 a 1.250
Basófilos ( $/\mu\text{L}$ )	0	0	0	Raros
Mielócitos ( $/\mu\text{L}$ )	0	0	0	0

\*  $p < 0,05$  (diferença significativa após administração de protocolo)

Foi observado que, os cães do Grupo Teste 1 que receberam Albendazol, apresentavam os parâmetros analisados dentro da referência esperada para a espécie canina. Observou-se uma discreta desidratação e anemia nos dias 1 e 15, na análise do Hemograma; na observação ao Leucograma, de acordo com o resultado encontrado nos Monócitos, foi possível observar que após a administração do vermífugo, houve uma queda no nível das células de imunidade, responsáveis por combater infecções virais e bacterianas.

Nos cães do Grupo Controle que receberam Óleo *in natura*, observou-se que, os parâmetros analisados também se mantiveram dentro dos valores de referência esperados para a espécie canina, seguindo a mesma lógica do Grupo Controle – Albendazol. Na avaliação do Hemograma o grupo Óleo *in natura* manteve o mesmo padrão de alterações encontradas no grupo Albendazol, com exceção da Proteína Plasmática Total, que apresentou parâmetros fora da referência, demonstrando que os cães desse grupo poderiam possuir algum tipo de doença infecciosa ou algum distúrbio hepático.

Nos cães do Grupo Teste 2 - Óleo Ozonizado, observou-se uma melhora no padrão de Hemácias e Hematócrito em relação à desidratação. Os parâmetros a seguir estavam todos dentro da normalidade no início do projeto, porém, a partir da administração do produto em estudo, houve uma significativa melhora nas populações: os Leucócitos Totais tiveram um aumento de 27% após a administração, e os Neutrófilos Segmentados apresentaram uma elevação de 31%; esse resultado representa um aumento importante dos glóbulos brancos no sangue, ou seja, um fortalecimento do sistema imune do animal.

### **Análise Entre os Grupos**

Na segunda etapa foi realizada a análise entre os resultados obtidos de cada grupo, e comparado entre eles, conforme Tabela 5 abaixo. A mensuração foi sobre o resultado de  $p > 0,5$ ; que indica se o dado final representa uma diferença significativa entre os métodos aplicados.

Tabela 5. Comparação da diferença significativa entre os grupos estudados

<b>COMPARAÇÃO ENTRE OS GRUPOS</b>					
<b>HEMÁCIAS DIA 01</b>			<b>HEMÁCIAS DIA 15</b>		
(p) =	0.7003		(p) =	0.2529	
<b>HEMOGLOBINA DIA 01</b>			<b>HEMOGLOBINA DIA 15</b>		
(p) =	0.9577		(p) =	0.5222	
<b>HEMATÓCRITO DIA 01</b>			<b>HEMATÓCRITO DIA 15</b>		
(p) =	0.933		(p) =	0.6656	
<b>VCM DIA 01</b>			<b>VCM DIA 15</b>		
(p) =	0.0862		(p) =	0.5096	
<b>HCM DIA 01</b>			<b>HCM DIA 15</b>		
(p) =	0.1244		(p) =	0.9443	
<b>CHCM DIA 01</b>			<b>CHCM DIA 15</b>		
(p) =	0.9853		(p) =	0.599	
<b>PROTEÍNA PLASMÁTICA DIA 01</b>			<b>PROTEÍNA PLASMÁTICA DIA 15</b>		
(p) =	0.1376		(p) =	0.334	
<b>PLAQUETAS DIA 01</b>			<b>PLAQUETAS DIA 15</b>		
(p) =	0.5241		(p) =	0.5546	
<b>LEUCÓCITOS DIA 01</b>			<b>LEUCÓCITOS DIA 15</b>		
(p) =	0.1138		(p) =	0.8064	
<b>NEUTRÓFILOS SEGMENTADOS DIA 01</b>			<b>NEUTRÓFILOS SEGMENTADOS DIA 15</b>		
(p) =	0.2652		(p) =	0.9978	
<b>LINFÓCITOS DIA 01</b>			<b>LINFÓCITOS DIA 15</b>		
(p) =	0.6113		(p) =	0.5999	
<b>EOSINÓFILOS DIA 01</b>			<b>EOSINÓFILOS DIA 15</b>		
(p) =	0.5065		(p) =	0.7002	
<b>MONÓCITOS DIA 01</b>			<b>MONÓCITOS DIA 15</b>		
(p) =	0.2673		(p) =	0.6375	

A partir da análise realizada dos resultados obtidos entre os grupos, foi possível observar que não houve diferença significativa entre os mesmos, quando comparados na expectativa de evidenciar vantagem entre os protocolos aplicados. Porém, a partir desses resultados é possível determinar de forma igualitária, que nenhum dos grupos sofreu prejuízo, degradação celular ou desvantagem após a aplicação dos produtos terapêuticos.

## **Coproparasitológico**

No exame Coproparasitológico foram avaliados os seguintes parâmetros: Consistências das fezes, Coloração, Odor e Resultado, Tabela 6, com o objetivo de analisar a eficiência do protocolo convencional aplicado regularmente nos animais e investigar se algum deles apresentava positividade para a presença de vermes ou protozoários.

EXAME COPROPARASITOLÓGICO								
CÃES - GRUPO ALBENDAZOL	CONSISTÊNCIA		COLORAÇÃO		ODOR		RESULTADO	
	1	15	1	15	1	15	1	15
DIA	1	15	1	15	1	15	1	15
CÃO 1	NORMAL	NORMAL	NORMAL	NORMAL	CARACTERÍSTICO	NORMAL	NEGATIVO	NEGATIVO
CÃO 2	NORMAL	NORMAL	NORMAL	NORMAL	CARACTERÍSTICO	NORMAL	NEGATIVO	NEGATIVO
CÃO 3	NORMAL	NORMAL	NORMAL	NORMAL	CARACTERÍSTICO	NORMAL	NEGATIVO	NEGATIVO
CÃO 4	NORMAL	NORMAL	NORMAL	NORMAL	FÉTIDO	NORMAL	CYSTOISOSPORA SP.	NEGATIVO
CÃO 5	NORMAL	NORMAL	NORMAL	NORMAL	CARACTERÍSTICO	NORMAL	NEGATIVO	NEGATIVO
CÃES - ÓLEO <i>IN NATURA</i>	CONSISTÊNCIA		COLORAÇÃO		ODOR		RESULTADO	
	1	15	1	15	1	15	1	15
DIA	1	15	1	15	1	15	1	15
CÃO 6	ENDURECIDA	PASTOSA FORMADA	NORMAL	CASTANHO CLARO	CARACTERÍSTICO	FÉTIDO	NEGATIVO	GIARDIA SP.
CÃO 7	PASTOSA	NORMAL	CASTANHO CLARO	NORMAL	FÉTIDO	CARACTERÍSTICO	GIARDIA SP.	GIARDIA SP.
CÃO 8	NORMAL	NORMAL	NORMAL	NORMAL	CARACTERÍSTICO	CARACTERÍSTICO	NEGATIVO	NEGATIVO
CÃO 9	NORMAL	ENDURECIDA	NORMAL	NORMAL	CARACTERÍSTICO	CARACTERÍSTICO	NEGATIVO	NEGATIVO
CÃO 10	NORMAL	NORMAL	NORMAL	NORMAL	CARACTERÍSTICO	NORMAL	NEGATIVO	NEGATIVO
CÃES - GRUPO ÓLEO OZONIZADO	CONSISTÊNCIA		COLORAÇÃO		ODOR		RESULTADO	
	1	15	1	15	1	15	1	15
DIA	1	15	1	15	1	15	1	15
CÃO 11	NORMAL	NORMAL	NORMAL	NORMAL	CARACTERÍSTICO	NORMAL	NEGATIVO	NEGATIVO
CÃO 12	NORMAL	NORMAL	CASTANHO CLARO	NORMAL	CARACTERÍSTICO	CARACTERÍSTICO	NEGATIVO	ANCYLOSTOMA SP.
CÃO 13	NORMAL	NORMAL	NORMAL	NORMAL	CARACTERÍSTICO	CARACTERÍSTICO	NEGATIVO	NEGATIVO
CÃO 14	NORMAL	NORMAL	NORMAL	NORMAL	CARACTERÍSTICO	CARACTERÍSTICO	NEGATIVO	NEGATIVO
CÃO 15	NORMAL	NORMAL	NORMAL	NORMAL	CARACTERÍSTICO	CARACTERÍSTICO	NEGATIVO	NEGATIVO
CÃO 16	NORMAL	NORMAL	NORMAL	NORMAL	CARACTERÍSTICO	CARACTERÍSTICO	NEGATIVO	NEGATIVO
CÃO 17	NORMAL	NORMAL	NORMAL	NORMAL	CARACTERÍSTICO	CARACTERÍSTICO	NEGATIVO	NEGATIVO
CÃO 18	ENDURECIDA	NORMAL	NORMAL	NORMAL	CARACTERÍSTICO	CARACTERÍSTICO	NEGATIVO	NEGATIVO
CÃO 19	NORMAL	NORMAL	NORMAL	NORMAL	CARACTERÍSTICO	CARACTERÍSTICO	NEGATIVO	NEGATIVO
CÃO 20	NORMAL	NORMAL	NORMAL	NORMAL	CARACTERÍSTICO	CARACTERÍSTICO	NEGATIVO	NEGATIVO

Tabela 6. Análise dos resultados encontrados no Exame Coproparasitológico

Nos cães do grupo Teste 1 - Albendazol, o cão 4 apresentou o *Cystospor* SP. presente nas fezes, e 15 dias após a administração do produto, o exame se apresentou negativo para a presença do agente.

Nos cães do grupo Controle - óleo *in natura*, um dos cães – cão 7 apresentou o protozoário *Giardia* presente nas fezes no dia 1, que se manteve presente após 15 dias da administração do óleo. O cão 6 resultou negativo no primeiro exame de fezes, e 15 dias após, apresentou positividade para a *Giardia*.

Nos cães do grupo Teste 2 - Óleo ozonizado, o cão 12 apresentou *Ancylostoma* Sp. presente nas fezes após a administração do óleo.

De forma isolada, o cão 7, que apresentou positividade para a *Giardia* no início e no final do protocolo do grupo óleo *in natura*, foi recrutado para um teste com a administração do óleo ozonizado após a segunda constatação do exame de fezes. Após o resultado da segunda coleta, foi administrado 0,5ml/kg do óleo ozonizado, e coletado uma terceira amostra após 15 dias dessa administração. Ao final da terceira coleta de amostra de fezes após a administração do óleo ozonizado, o resultado do exame apresentou-se negativo para a *Giardia*.

## DISCUSSÃO

O tratamento adquirido para controle de verminoses e parasitoses em cães atualmente, é realizado através de fármacos químicos com potenciais efeito tóxicos sobre os microrganismos residentes no organismo animal.

Há na literatura, estudos que comprovam efeito vermífida de alguns compostos naturais, como a semente de abóbora, mencionada por Maldonado (2019), e casca de mamão e óleo da Erva-Santa, abordadas por OZAKI (2006). Ambos autores mencionam não haver efeitos adversos pós administração do composto, o que se assemelha ao produto terapêutico em estudo usado no projeto, que dentre os animais testados, nenhum apresentou reação adversa.

Um laxante natural conhecido por sua eficiência na Medicina Veterinária e na Medicina humana é o Óleo mineral. O Óleo Mineral não é digerido e possui baixa absorção no intestino, é um emoliente, o que provoca um amolecimento no conteúdo fecal (SANTOS, 2010). Nesse estudo, foi utilizado um Óleo vegetal. Alguns Óleos vegetais são relatados na literatura como óleos com efeito laxativo, como por exemplo, o Óleo de Rícino, que no contato com o intestino, estimula sua motilidade, aumenta o peristaltismo intestinal, expulsando assim o conteúdo fecal (PINHEIRO, 2018). O Óleo de Girassol, assim como o de Rícino, é rico em ácido linoleico, o famoso Ômega 6, que possui propriedades benéficas para a saúde do organismo, portanto, possuem características semelhantes.

O óleo ozonizado é bastante utilizado atualmente em pele, como cicatrizante de feridas. Alguns autores como CABRAL (2022) e GONÇALVES (2023), relatam o efeito que os ozonídeos provocam no contato tecidual, promovendo lise celular e agindo como um inativador sobre bactérias, fungos, protozoários e vírus, o que corrobora com o estudo abordado aqui, quando é referido o efeito vermífida formado após a ozonização do óleo.

A dissertação em questão visava estudar e pesquisar os efeitos que o óleo ozonizado causaria nos animais estudados, quando comparados aos demais protocolos aqui referenciados. É considerado que o óleo ozonizado possui, de fato, um efeito imunomodulador, evidenciado nos resultados obtidos dos parâmetros leucocitários após a administração do mesmo, o que não ocorreu na administração do óleo *in*

*natura*, e já na administração do vermífugo tradicional – Albendazol – houve um efeito, porém, sem benefícios para a amostra.

ELVIS & EKTA, 2011 refere que um dos benefícios encontrados na terapia com ozônio, é a estimulação do metabolismo na produção de oxigênio. O resultado encontrado no indicador de Hemácias e Hematócrito no grupo óleo ozonizado após a administração do produto, valida essa informação do autor, pois o padrão desses parâmetros retrata melhora da oxigenação do organismo animal, mensurada através da hidratação provocada.

O parâmetro leucocitário representa a principal população de glóbulos brancos no sangue, são as células do sistema imune. No grupo óleo ozonizado é observado um aumento significativo na população dessas células após a administração do protocolo terapêutico, principalmente na população dos Leucócitos e Neutrófilos, o que evidencia relevante fortalecimento na imunidade desse grupo, principalmente no combate a infecções bacterianas e inflamações adjacentes.

Por ser um estudo pioneiro, a dosagem utilizada foi referenciada com base no produto medicamentoso convencional utilizado no trabalho, o Albendazol. A preocupação inicial foi observar se o produto terapêutico em estudo causaria algum efeito colateral ou adverso ao animal, e verificar o possível efeito terapêutico resultante.

Quando os grupos foram comparados entre si para evidenciar efeitos vantajosos em relação ao outro, não foi obtido resultado significativo, porém, foi possível determinar que, em comparação aos produtos terapêuticos já existentes no mercado, utilizado aqui na pesquisa, o óleo ozonizado não provocou efeito adverso ou colateral algum, mantendo-se semelhante aos demais nesse critério.

Durante os resultados obtidos dos animais, foi encontrada uma cadela com diagnóstico de Giárdia, confirmado pelo exame Coproparasitológico. Esse animal em questão pertencia ao grupo do óleo *in natura*, e ao final do projeto manteve o protozoário presente no organismo. Em caráter de exceção, foi realizado de forma isolada nesse animal, a administração do óleo ozonizado ao final de todo o projeto, afim de investigar um possível efeito degradador de protozoários pelo produto terapêutico. Após 15 dias dessa administração, foi coletado uma amostra de fezes e enviado para o laboratório de Análises Clínicas. O resultado foi negativo para Giardia.

Como se trata de um caso isolado, é delicado afirmar que o produto possui efeito contra a *Giardia*, porém, é um resultado que chama bastante atenção para trabalhos futuros, para desenvolvimento de protocolos e avaliações de dosagens para tratamento de casos semelhantes.

O óleo ozonizado, quando comparado ao medicamento de efeito vermífuga convencional – Albendazol, possui algumas vantagens em relação à sua toxicidade ambiental. Por ser composto integralmente por componentes naturais – como o óleo vegetal e a molécula de ozônio, seu descarte não causa nenhuma degradação ao solo, ao contrário do vermífugo tradicional, que se trata de uma substância química, considerada tóxica ao solo e à água.

## **CONCLUSÃO**

Neste estudo clínico envolvendo o uso do óleo de girassol ozonizado, via administração oral por dose única em cada cão pertencente ao grupo, demonstrou através das análises de hemograma, avaliação clínica geral e exame coproparasitológico, a não constatação de qualquer anomalia dos animais mantendo íntegra sua saúde.

Todas as análises clínicas realizadas permitiram a constatação, de que o grupo de cães que recebeu a dose única de óleo ozonizado via administração oral, não apresentou nenhuma diferença significativa em termos estatísticos quando comparado aos outros grupos já relatados anteriormente, com exceção de uma sinalização dos resultados de alteração dos leucócitos, indicando eventualmente melhora no quadro clínico imunológico de cada animal.

Na análise coproparasitológica foi constatado que pouco menos de 10% da amostra apresentou ovos nas fezes, justificada pela recorrente vermifugação dos animais do abrigo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Almeida, A. C. M. de C., Costa, G. A. Estimativa da Viscosidade e Densidade de Óleos Vegetais. Rio de Janeiro: UFRJ/EQ, 2012 (Projeto Final de Conclusão de Curso).
2. ANVISA. Resolução RDC nº 482, de 23 de Setembro de 1999. Aprova o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Óleos e Gorduras Vegetais. D.O.U. – Diário Oficial da União: Poder Executivo, de 13 de outubro de 1999.
3. Barry L. Loeb. Ozone in Medicine, *Ozone: Science & Engineering*, 38:5, 319-321, 2016. DOI: 10.1080/01919512.2016.1212624.
4. Brito, B. D., et. al. Aplicação da Ozonioterapia na clínica de pequenos animais: vias de administração, indicações e efeitos adversos: Revisão. V 12 N 7, p. 208 – 2021.
5. Bocci, A. V. *Ozone - A New Medical Drug*. Published by Springer, P. O. Box 17, 3300 AA Dordrecht, The Netherlands, 2005.
6. Bocci, A. V., Review Article Scientific and Medical Aspects of Ozone Therapy. *Archives of Medical Research* 37 (2006) 425–435. Department of Physiology, University of Siena, Siena, Italy Received for publication May 26, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2005.08.006>.
7. Borges, T. L., et. al. Ozonioterapia no Tratamento de Cães com Dermatite Bacteriana: Relato de Dois Casos. *Revista Científica de Medicina Veterinária – ISSN 1279-7353*, Ano XVI, Número 32 – Janeiro de 2019.
8. Borrelli E, et al. The Use of Ozone in Medicine. *Ann Med Health Sci Res*. 2018;8:117-119.

9. Crivellenti, L. Z., Crivellenti, S. F. Casos de Rotina em Medicina Veterinária de Pequenos Animais, 2 ed. – São Paulo: Editora MedVet, 2015.
10. Díaz, M. F., Gavín Sazatornil, J. A., Ledea, O., Hernández, F., Alaiz, M., & Garcés, R. Spectroscopic Characterization of Ozonated Sunflower Oil. *Ozone: Science & Engineering*, 27(3), 247–253, 2005. doi:10.1080/01919510590945822.
11. Elvis, A.M., Ekta, J.S. Ozone Therapy: A Review. *Journal of Natural Science Biology and Medicine*, 2, 66-71, 2011. <https://doi.org/10.4103/0976-9668.82319>.
12. Ferraz, A., et. al. Frequência De Parasitos Gastrintestinais Presentes Em Fezes De Cães E Gatos, Analisadas No Laboratório De Doenças Parasitárias Da Ufpwl, Durante O Ano De 2017. **Issn: 2318-356x V.7 N.1 Jan/Abr 2019 P. 41-53.** <https://doi.org/10.15210/sah.v7i1.14786>.
13. Ferreira, C.G.T., et al. Endoparasitas em cães (*Canis familiaris* L.) em Apodi, Rio Grande do Norte, Brasil. *PUBVET, Londrina*, V. 4, N. 20, Ed. 125, Art. 846, 2010.
14. Gonçalves, B. M. C. N.; Souza, M. T. Cicatrização de ferida pós-cirúrgica com ozonioterapia em um cão: relato de caso. *Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMVSP, São Paulo*, v. 21, e38431, 2023. DOI: <https://doi.org/10.36440/recmvz.v21.38431>.
15. Greene, C. E., *Doenças Infecciosas em Cães e Gatos*, 4 ed. – Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015.
16. Hernández, F., et al. *Giardia duodenalis*: effects of an ozonized sunflower oil product (Oleozone) on in vitro trophozoites: *Experimental Parasitology* 121 (2009) 208–212, DOI:10.1016/j.exppara.2008.10.009.

17. Kogelschatz, U. M., et al. From ozone generators to at television screens: history and future potential of dielectric-barrier discharges. *Pure Appl. Chem.*, vol. 71, No. 10, pp. 1819-1828, 1999, Great Britain.  
<http://dx.doi.org/10.1351/pac199971101819>.
18. Kulkarni, A. V., Joshi, J. B. Design and selection of sparger for bubble column reactor. Part I: Performance of diferente spargers. *Chemical Engineering Research and Design* 89 (2011) 1972 – 1985, published by Elsevier B. V. DOI: 10.1016/j.cherd.2011.01.004.
19. Leeuwen, J. H. V. Proposed OS&E Requirement: Measuring Ozone Dosage, *Ozone: Science & Engineering: The Journal of the International Ozone Association*, 37:2, 191-192, 2015. DOI: 10.1080/01919512.2015.1006467.
20. Loeb, B. L. Ozônio na Medicina. *Ozônio: Ciência e Engenharia* , 38 (5), 319–321, 2016. <https://doi.org/10.1080/01919512.2016.1212624>.
21. Lutinski, J. A., et al. Parasitoses em Cães Domiciliados em um município do sul do Brasil. *Interfaces Científicas - Saúde E Ambiente*, 8(3), 151–162, 2021. <https://doi.org/10.17564/2316-3798.2021v8n3p151-162>.
22. Maldonade, I. R., et al. Propriedades funcionais e nutracêuticas de sementes de cucurbitáceas - Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2019. 22 p. : il. color. (Boletim de pesquisa e desenvolvimento / Embrapa Hortaliças, ISSN 1677-2229 ; 197).
23. Maritza F. D., et al. Spectroscopic Characterization of Ozonated Sunflower Oil, *Ozone: Science & Engineering: The Journal of the International Ozone Association*, 27:3, 247-253, 2005. DOI: 10.1080/01919510590945822.
24. Martins, I. V. F., *Parasitologia veterinária. Dados eletrônicos*. - 2. ed. - Vitória : EDUFES, 2019. 320 p. : il.M386p.

25. Mollica, P. Integration of Ozone Therapy for head and neck infective and chronic disease [abstract]. Proceedings of the 5Th WFOT Meeting; 2016 Nov 18-20; Mumbai, India. J Ozone Ther. 2018;2(2). doi: 10.7203/jo3t.2.2.2018.11133.
26. Moureu, S., et al. Influence of Storage Temperature on the Composition and the Antibacterial Activity of Ozonized Sunflower Oil, Ozone: Science & Engineering, 2015. DOI: 10.1080/01919512.2015.1128319
27. Nascente, E. D. P. N, et. al. Potencial Antimicrobiano do Ozônio: aplicações e perspectivas em Medicina Veterinária. PUBVET v.13, n.9, a412, p.1-14, Set., 2019. <https://doi.org/10.31533/pubvet.v13n9a412.1-14>.
28. Ozaki, A. T.; Duarte, P. C. Fitoterápicos utilizados na medicina veterinária, em cães e gatos. Infarma, v. 18, n. 11/12, p. 17-25, 2006, ISSN - 2318-9312 (Versão eletrônica).
29. Pinheiro, A. K., et al. Constipação intestinal: tratamento com fitoterápicos. Rev. Cient. Fac. Educ. e Meio Ambiente [Internet]. 2018;9(ed esp): 559-564. doi: <https://doi.org/10.31072/rcf.v9iedesp.598>.
30. Santos, D. R. D., Silva, L. R. Farmacologia clínica dos laxantes e antidiarreicos. In: SILVA, P., 1921. Farmacologia/Penildon Silva – 8 ed. [Reimpr.]. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.
31. Santos-Zago, L. F., et al. “Os efeitos do ácido linoléico conjugado no metabolismo animal: avanço das pesquisas e perspectivas para o futuro”, *Revista de Nutrição*, 21(2), 2008. <https://doi.org/10.1590/S1415-52732008000200008>.
32. Silva, M. N. Hematologia veterinária / Malena Noro Silva. – Belém: EditAEDIUFPA, 1978.

33. Souza, R. C., *et al.* Utilização do Oléo de Girassol Ozonizado no Tratamento Tópico de Ferida por Farmacodermia em Cão: Relato de Caso. **UNICIÊNCIAS**, [S. l.], v. 26, n. 1, p. 08–11, 2022. [https://DOI: 10.17921/1415-5141.2022v26n1p08-11](https://DOI:10.17921/1415-5141.2022v26n1p08-11).
34. Tellez, G. M., *et al.* Measurement of Peroxidic Species in Ozonized Sunflower Oil, Ozone: Science & Engineering: The Journal of the International Ozone Association, 28:3, 181-185, 2006. DOI: 10.1080/01919510600689356.
35. Travagli, V., *et al.* Review Article Ozone and Ozonated Oils in Skin Diseases: A Review. International Journal of Ozone Therapy, Vol. 9, No. 2, October 2019, Bologna.
36. Ugazio, E., *et al.* Ozonated Oils as Antimicrobial Systems in Topical Applications. Their Characterization, Current Applications, and Advances in Improved Delivery Techniques. *Molecules* **2020**, 25, 334. <https://doi.org/10.3390/molecules25020334> .
37. Viebahn-Haensler R., León Fernández O. S. Ozone in Medicine. The Low-Dose Ozone Concept and Its Basic Biochemical Mechanisms of Action in Chronic Inflammatory Diseases. *Int J Mol Sci.* 2021 Jul 23;22(15):7890. doi: 10.3390/ijms22157890. PMID: 34360655; PMCID: PMC8346137.