

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CAMPUS DE ENGENHARIA E CIÊNCIAS AGRÁRIAS
UNIDADE EDUCACIONAL VIÇOSA**

CLAUDIO CÉSAR DOS SANTOS FREIRE

**POTENCIAL DA OZONIOTERAPIA COMO ADJUVANTE
NO TRATAMENTO DE PÚRPURA HEMORRÁGICA EQUINA**

VIÇOSA-AL

2023

CLAUDIO CÉSAR DOS SANTOS FREIRE

**POTENCIAL DA OZONIOTERAPIA COMO ADJUVANTE
NO TRATAMENTO DE PÚRPURA HEMORRÁGICA EQUINA**

Trabalho de conclusão de curso –
TCC, apresentado a Universidade Federal
de Alagoas – UFAL, CECA – Campus
A.C. Simões, Unidade Educacional
Viçosa, como pré-requisito para obtenção
do grau de Bacharel em Medicina
Veterinária, sob a orientação do Professor
Dr. Pierre Barnabé Escodro.

VIÇOSA-AL

2023

Folha de aprovação

Autor: Claudio César dos Santos Freire

Potencial da ozonioterapia como adjuvante no tratamento de púrpura hemorrágica equina/Trabalho de Conclusão de Curso de Medicina Veterinária, da Universidade Federal de Alagoas, na forma normativa e de uso obrigatório.

Trabalho de conclusão de curso de Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Alagoas – UFAL, Campus de Engenharias e Ciências Agrárias – CECA, Unidade Educacional Viçosa, submetido ao corpo docente e aprovado em 20 de dezembro de 2023.

Doutor, Pierre Barnabé Escodro (Orientador)

Banca Examinadora:

Documento assinado digitalmente
 ALINE ROCHA SILVA
Data: 21/12/2023 12:38:25-0300
Verifique em <https://validar.itd.gov.br>

Médica Veterinária, Aline Rocha Silva, UFBA

Documento assinado digitalmente
 RAYANE CAROLINE MEDEIROS DO NASCIMENTO
Data: 20/12/2023 18:36:02-0300
Verifique em <https://validar.itd.gov.br>

Mestra, Rayane Caroline Medeiros do Nascimento, UFAL

Documento assinado digitalmente
 PIERRE BARNABE ESCODRO
Data: 22/12/2023 06:56:03-0300
Verifique em <https://validar.itd.gov.br>

Doutor, Pierre Barnabé Escodro, UFAL (Orientador)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter colocado esse sonho em meu coração e ter me dado forças para chegar até aqui, sem Ele nada seria possível.

Agradeço aos meus avós Francisco (Chico) e Josefa (Zefinha) por toda ajuda e suporte que sempre me doam e principalmente agora nos últimos cinco anos, não teria chegado até aqui sem vocês. Agradeço também a minha tia Nana por me ajudar e ajudar meus avós no que é necessário.

A minha mãe Claudete, aos meus irmãos Cláudia e José Carlos, ao meu padrasto José Márcio, agradeço por todo incentivo e por sempre acreditarem em mim. Não foi fácil sair de casa, mas saí com grande incentivo para ir em busca de um sonho, que hoje é realidade. Obrigado minha mãe por sempre colocar em meu coração que eu não devo desistir dos meus sonhos.

Aos meus amigos da Turminha da Vaquejada, em nome de Pablo, Lenildo, Venicíus, Rony, Matheus, Vanderson e Ademir meu muito obrigado por toda irmandade formada, sem dúvidas tudo seria mais difícil sem vocês. Agradeço a meu irmão Diogo por sempre se fazer presente e apoiar meus projetos e os de minha turma.

Agradeço a todos os professores e médicos veterinários que puderam contribuir com o meu crescimento, serei eternamente grato! Em especial ao meu orientador Prof. Dr. Pierre Escodro por sempre confiar em meu potencial e as doutoras, Dr^a Rayane Medeiros e Dr^a Aline Rocha que foram essências desde o começo da graduação para meu crescimento profissional e pessoal.

A todos os meus amigos e amigas formados durante a graduação e que contribuíram de alguma forma para meu crescimento, meu muito obrigado!

RESUMO

A púrpura hemorrágica em equinos é uma doença aguda e não contagiosa decorrente de uma reação de hipersensibilidade imunomediada caracterizada por uma vasculite generalizada, geralmente ocasionada por uma complicação da infecção pelo *Streptococcus equi* (*S. equi*) subespécie *equi* (*subsp. equi*). A enfermidade é caracterizada por edema generalizado no tecido subcutâneo, presença de hemorragias nas mucosas e fístulas nas extremidades. O diagnóstico é realizado com base nos sinais clínicos, anamnese e exames complementares, como hemograma, bioquímicos, biópsia cutânea e isolamento do agente. O objetivo deste trabalho é relatar o uso da ozonioterapia como terapia adjuvante no tratamento da púrpura hemorrágica em equino. Um equino, fêmea, 6 anos, da raça Quarto de Milha, com histórico de adenite equina tratada com subdose de antibiótico, há 15 dias apresentava apatia, dispneia, edema de membros, hemorragias petequiais em mucosa ocular e vaginal e fístulas nos quatro membros. Instituiu-se terapia alopática associada a ozonioterapia por insuflação retal e auto-hemoterapia menor nos pontos VG1 e pontos de imunidade. Após 30 dias do tratamento, o animal apresentou regressão dos sinais clínicos e completa recuperação. A associação das terapias foi eficaz no tratamento da púrpura hemorrágica em equino, porém mais estudos devem ser realizados com o intuito de padronizar protocolos de ozonioterapia e auto-hemoterapia menor no tratamento de afecções em equinos.

Palavras-chave: adenite equina, auto-hemoterapia menor, medicina integrativa, resposta imune.

ABSTRACT

Hemorrhagic purpura in horses is an acute and non-contagious disease resulting from an immune-mediated hypersensitivity reaction characterized by generalized vasculitis, generally caused by a complication of equine infection.*Streptococcus equi* (*S. equi*) subspecies *equi* (*subsp. equi*). The disease is characterized by generalized edema in the subcutaneous tissue, the presence of hemorrhages in the mucous membranes and fistulas in the extremities. The diagnosis is made based on clinical signs, anamnesis and complementary exams, such as blood count, biochemistry, skin biopsy and isolation of the agent. The objective of this work is to report the use of ozone therapy as an adjuvant therapy in the treatment of hemorrhagic purpura in horses. A 6-year-old female horse, Quarter Horse, with a history of equine adenitis treated with a underdose of antibiotics, had presented apathy, dyspnea, limb edema, petechial hemorrhages in the ocular and vaginal mucosa and fistulas in all four limbs for 15 days. Allopathic therapy associated with ozone therapy by rectal insufflation and minor autohemotherapy at VG1 points and immunity points was instituted. After 30 days of treatment, the animal showed regression of clinical signs and complete recovery. The combination of therapies was effective in the treatment of hemorrhagic purpura in horses, but more studies must be carried out in order to standardize ozone therapy protocols and minor autohemotherapy in the treatment of conditions in horses.

Keywords: equine adenitis, minor autohemotherapy, integrative medicine, immune response.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	06
2. REVISÃO DE LITERATURA	08
2.1. Adenite equina	08
2.2. Patofisiologia da doença	09
2.3. Consequências	10
2.4. Diagnóstico	10
2.5. Diagnósticos diferenciais	11
2.6. Tratamentos convencionais	11
2.7. Ozonioterapia	12
3. RELATO DE CASO	13
4. DISCUSSÃO	18
5. CONCLUSÃO	21
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22

1. INTRODUÇÃO

A púrpura hemorrágica equina é uma doença de etiologia ainda desconhecida, onde na maioria dos casos, os animais possuem histórico de infecções por bactérias estreptocócicas no trato respiratório superior. É caracterizada pela presença de edema generalizado no tecido subcutâneo e presença de hemorragias nas mucosas, sendo descrita como uma doença aguda e não contagiosa. Uma das características dessa patologia é a presença de uma vasculite cutânea devido ao depósito de imunocomplexos antígeno-anticorpo, que desencadeiam um processo inflamatório (JACOBSEN, 2019). Como efeito desse processo, ocorre aumento na permeabilidade endotelial dos capilares, sendo caracterizados macroscopicamente como hemorragias petequiais nas mucosas e edema devido ao extravasamento de proteínas, eritrócitos e fluidos. A deposição de imunocomplexos nos capilares sanguíneos causa a formação de fistulas, principalmente nas extremidades do animal (THOMASSIAN, 2005).

Dentre os fatores predisponentes para o desenvolvimento da púrpura hemorrágica, a sensibilização desencadeada pela proteína bacteriana leva a uma reação exacerbada, como ocorre nos casos de reinfecção pela bactéria *Streptococcus equi*, subsp. *equi*, agente etiológico da adenite equina. A grande carga de antígeno em contato com o animal sensibilizado, supera as células do sistema imunológico produzidas pelo equino, que utiliza de um mecanismo compensatório de defesa formando complexos antígeno-anticorpo, estes circulam pelos vasos podendo aderir ao mesmo causando a vasculite. Os sinais clínicos costumam ser evidenciados entre duas e quatro semanas, após o contato com o agente e a doença respiratória (THOMASSIAN, 2005).

Devido à fragilidade capilar e o extravasamento de líquidos para o meio intersticial, é possível notar o aumento de volume em algumas áreas do seu corpo, constantemente observa-se edema de face, focinhos e membros. Sendo assim, o diagnóstico para a Púrpura Hemorrágica é realizado com base nos sinais clínicos, anamnese, identificando que o mesmo apresentou infecção do trato respiratório superior, além da presença de hemorragia petequiais nas mucosas oculares e a presença do edema. A biópsia também pode ser realizada para confirmação da suspeita de púrpura hemorrágica, o material indicado para coleta de amostra é a pele de regiões onde observa-se edema no tecido subcutâneo. (CAMPOS et al., 2008).

Por se tratar de uma afecção que também pode envolver um agente biológico, o tratamento consiste em eliminar o agente causador e administrar fármacos que atuam diminuindo a resposta imune exacerbada e a vasculite, consequentemente reduzindo o edema e minimizando as possibilidades do animal apresentar outras complicações. As terapias utilizadas com frequência consistem na administração de antibióticos, mas a utilização anterior destes

fármacos de forma inapropriada em subdoses ou intervalos inadequados acarretam na resistência antimicrobiana. Desta forma a ozonioterapia surge como um potente adjuvante, tendo em vista a sua função imunomoduladora, controlando os processos autoimunes e facilitando a melhora do animal (COSTA et al., 2014; ESPADA, 2020).

O objetivo deste trabalho é relatar o caso de um equino fêmea com púrpura hemorrágica, tendo em seu tratamento a utilização da ozonioterapia como adjuvante.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Adenite equina

A adenite equina (AE), também conhecida como garrotilho, é uma doença infectocontagiosa caracterizada por causar intensa inflamação no trato respiratório superior dos equídeos. O agente etiológico dessa enfermidade é o *Streptococcus equi*, subsp. *equi* e acomete principalmente animais jovens, onde estão passando por adaptações e estresse como o desmame, e aqueles sujeitos a treinamentos prolongados, aglomerações e transporte. Os animais infectados apresentam corrimento nasal purulento, e ao tossir, espirrar ou relinchar, partículas da secreção entram em contato com os animais susceptíveis de forma direta ou indireta ocasionando assim o contágio e fonte de infecção da doença (THOMASSIAN, 2005).

A infecção típica de *Streptococcus equi*, subsp. *equi* possui um período de incubação que varia de 2 a 12 dias. Os animais infectados apresentam-se febris, com letargia, redução do apetite, secreção nasal que inicialmente apresenta-se serosa e com a evolução da doença apresenta-se mucopurulenta e mucosas ocular e nasal geralmente hiperêmicas. Além disso, a linfadenopatia também se caracteriza como o principal sinal clínico dessa infecção, com a progressão da doença se tem a formação de abcessos, em especial nos linfonodos mandibulares e retrofaríngeos, que fistulam entre 7 e 14 dias após o aparecimento dos sinais. A linfadenopatia pode causar dificuldade respiratória, dor a palpação local, disfagia e estridor. Além disso, o animal também pode manter o pescoço esticado e resistir a deglutição, e pode apresentar tosse suave e úmida (REED et al., 2018).

O garrotilho possui morbidade alta e letalidade baixa, o que tem grande relevância para os haras, onde possuem grandes agrupamentos de equinos. Em consequência dos sinais clínicos, os animais acometidos tendem a apresentar queda de performance e podem ter complicações e vir a óbito, o que traz grandes prejuízos para os proprietários (MORAES, 2005). A introdução de um animal sem plena recuperação da infecção em um agrupamento de cavalos sadios tem grande potencial de gerar um surto. Por mais que a manifestação clínica tenha resolução em cerca de 14 dias, os animais podem continuar eliminando a bactéria por volta de 4 a 6 semanas, tornando o animal portador crônico assintomático e ter possibilidade de gerar um surto dessa doença (REED et al., 2018).

O diagnóstico de AE é realizado por meio dos sinais clínicos e pode ser confirmado por isolamento do *S. equi*, subsp. *equi*, do conteúdo dos abcessos ou secreção nasal purulenta, a coleta é realizada com o auxílio de swab e acondicionada sob refrigeração até a análise do material. A técnica mais utilizada é a de cultura e isolamento bacteriano, onde geralmente constata-se cerca de 90% dos animais, mas também pode ser feito o teste de Reação em Cadeia

da Polimerase (PCR), onde identifica o agente pela amplificação do gene da proteína SeM (HARRINGTON et al., 2002).

O tratamento é realizado a base de antibioticoterapia, utilizando-se geralmente penicilina, compressas e curativos nas regiões dos linfonodos, em casos de abcessos. O uso de medicações expectorantes pode se fazer necessária. É importante realizar o isolamento do animal durante esse período de sinais clínicos, para prevenir a disseminação e um possível surto (MORAES, 2009).

Após a resolução clínica, o garrotilho pode deixar sequelas como sinusites, empiema das bolsas guturais, abcessos mesentéricos e paralisia do nervo laríngeo recorrente. Em cavalos adultos, a púrpura hemorrágica pode acometer o animal devido ao desenvolvimento de sensibilidade da proteína bacteriana (THOMASSIAN, 2005).

2.2. Fisiopatologia da doença

Na adenite equina, após a fixação do *Streptococcus equi*, subsp. *equi*, nas células do equino, tem-se uma série de fatores quimiotáticos decorrentes do sistema complemento, criados após o contato com peptidoglicano bacteriano, os mesmos atraem inúmeros neutrófilos polimorfonucleares, que falham em fagocitar e eliminar os estreptococos devido a associações da cápsula de ácido hialurônico, proteína SeM antifagocítica e outras causas indefinidas liberadas pelo organismo. Uma vez acometido pela adenite equina, o equino pode apresentar algumas complicações, como a purpura hemorrágica. Vários fatores irão determinar a resolução ou a evolução da doença, sendo o tratamento adequado e a resposta imune cruciais para um bom prognóstico (BOYLE, 2017).

A púrpura hemorrágica equina (PHE) é uma enfermidade incomum, caracterizada por hipersensibilidade aguda do tipo III (tardia) em equinos. Dentre os sinais clínicos, apresenta edema de membros e cabeça, hemorragias petequiais nas mucosas, musculatura e vísceras, vasculite e esporadicamente glomerulonefrite (REED et al., 2018).

A doença comumente é observada após infecção recente por *Streptococcus equi*, subsp. *equi*, onde em muitos relatos, cavalos na fase pós-aguda e convalescente de garrotilho apresentaram sinais da enfermidade (GALAN; TIMONEY, 1985). O aparecimento da doença também está relacionado com a vacinação contra *Streptococcus equi*, subsp. *equi*, sobretudo em cavalos mais velhos, onde a vacina contém a proteína M, descrita como antígeno estreptocócico (PUSTERLA et al., 2003). Alguns casos de PHE também se deram de forma secundária a infecção por *Corynebacterium pseudotuberculosis* (PUSTERLA et al., 2003) e *Staphylococcus aureus* (TRIMBLE et al., 2019).

A patologia é o resultado da formação de agregados de antígeno-anticorpo ou imunocomplexos, onde o antígeno encontra-se na circulação e possui solubilidade. Os imunocomplexos estão presentes em todas as reações dos anticorpos e comumente são inócuos. Os grandes complexos são fixados pelo sistema complemento e eliminados da circulação pelo sistema reticuloendotelial, porém os pequenos complexos podem se aglomerar no excedente de抗ígenos sendo capazes de se depositarem nas paredes e tecidos dos vasos sanguíneos, ligando-se aos receptores Fc nos leucócitos, onde ocasionam um aumento da permeabilidade vascular, resposta inflamatória acentuada e lesão tecidual (REED et al., 2018).

2.3. Consequências

A púrpura hemorrágica pode ocasionar hemorragias e edema da parede intestinal, o que pode provocar sérias crises de cólica, resultando em piora do prognóstico (THOMASSIAN, 2005). As miopatias imunomediadas podem estar associadas a infecção de *Streptococcus equi*, subsp. *equi* onde o aumento das atividades de CK e AST são características dessa enfermidade (KAESE et al., 2005), outras complicações relatadas incluem diarreia, miopatia degenerativa e laminitide (PUSTERLA et al., 2003).

2.4. Diagnóstico

O diagnóstico de púrpura hemorrágica é realizado a partir do histórico e anamnese do animal, onde os sinais clínicos, infecção recente no trato respiratório, evidência de hemorragias, edema e vasculite estão presentes (PUSTERLA et al., 2003). Para confirmação do diagnóstico é necessário a realização de exames complementares, como hemograma, bioquímicos, biopsia cutânea e isolamento do agente. As alterações hematológicas e bioquímicas normalmente encontradas são leucocitose caracterizada por neutrofilia com desvio à esquerda, hiperglobulinemia, hipoalbuminemia e hiperfibrinogênia (KAESE et al., 2005).

A biópsia cutânea evidencia sinais de vasculite leucocitoclástica aguda com vasos sanguíneos necrosados, imunocomplexos formados maiormente por IgM ou IgA e a proteína M, podem estar presentes nos pequenos vasos sanguíneos e capilares. Hemorragia dérmica e subcutânea também podem serem observadas nas lesões, além de um edema abundante e áreas de infarto dérmico (ALEMAN; CARLSON, 2006).

Para diagnóstico definitivo o isolamento do agente pode ser realizado por cultura ou PCR. O isolamento do *Streptococcus equi*, subsp. *equi* por cultura, pode ser feito a partir de secreção do conteúdo dos abscessos ou da secreção nasal purulenta, ambos realizados com o auxílio de um swab e mantidos em refrigeração até a análise do material em laboratório.

(KONEMAN et al., 2008). A PCR realiza o isolamento do *Streptococcus equi*, subsp. *equi* pela detecção da sequência de DNA do gene SeM, no qual codifica a proteína M (antígeno estreptocócico) (TAYLOR; WILSON, 2006).

2.5. Diagnósticos diferenciais

Os diagnósticos diferenciais de púrpura hemorrágica são marcados por doenças com cursos semelhantes de vasculite, hemorragias e edema, como a anemia infecciosa equina (AIE), que é uma enfermidade infectocontagiosa crônica de etiologia viral, restrita a equídeos, onde ocorre episódios constantes de febre, edema, depressão, anemia hemolítica, icterícia e perda de peso crônica (TAYLOR; WILSON, 2006). Na arterite viral equina (AVE), uma doença causada por um vírus de RNA, também se observa vasculite de leve a moderada e pode acometer equídeos de qualquer idade (REED et al., 2018). A *Ehrlichia equi*, doença sazonal que afeta os equinos, causa febre alta, depressão, edema, relutância a caminhar, petéquias, leucopenia, entre outros sinais que podem ser confundidos com púrpura hemorrágica. O diagnóstico é caracterizado pelos sinais clínicos e esfregaço sanguíneo onde observa-se o agente (MADIGAN, 1993).

2.6. Tratamentos convencionais

O tratamento da enfermidade visa diminuir a resposta imunológica e inflamatória da parede dos vasos sanguíneos, além de eliminar o antígeno dos animais com infecção ativa e promover uma terapia de suporte (PUSTERLA et al., 2003). A utilização da terapia imunossupressora com corticosteroides tem se destacado e obtido bons resultados em experiências clínicas, tendo sua dose reduzida de forma gradativa com a regressão dos sinais clínicos (PUSTERLA et al., 2003), dentre os princípios ativos mais utilizados, o que se destaca é a dexametasona. O uso de anti-inflamatórios não esteroidais (AINES), se faz necessário em alguns casos, dentre eles, animais com febre (MACLEAY, 2000).

A terapêutica antibiótica com penicilina deve ser estabelecida em casos que a infecção estreptocócica seja evidenciada (RADOSTITS et al., 2000), outras opções para a eliminação do *Streptococcus equi*, subsp. *equi*, são as sulfas e as cefalosporinas, como trimetoprima-sulfametoazol e ceftiofur respectivamente (FELIPPE, 2015).

A hidroterapia nos membros traz grandes resultados e deve ser realizada afim de reduzir o edema, melhorando a circulação sanguínea e linfática (CAMPOS, et al. 2008).

2.7. Ozonioterapia

A ozonioterapia é descrita como um tratamento complementar que faz o uso da combinação de oxigênio e ozônio medicinal (95%-99,95% de oxigênio e 0,05%-5% de ozônio), podendo ser utilizada como tratamento adjuvante de uma série de enfermidades (SCHWARTZ et al., 2020). O ozônio é uma espécie reativa de oxigênio (O_2), formado naturalmente por reações fotoquímicas na alta atmosfera, onde os raios ultravioletas agem como descarga elétrica partindo a ligação de O_2 , tornando-se oxigênio atômico (O), que irá se ligar com moléculas de oxigênio e transforma-se em ozônio (O_3) no meio ambiente (MARQUES, 2008).

O ozônio possui a capacidade de modular a biogênese e aumentar a perspectiva de vida das mitocôndrias, fazendo com que as mesmas possuam habilidade de se regularem através de baixas proporções de espécies reativas de oxigênio (EROs) mediadas pelo ozônio, retomando a funcionalidade correta e minimizando a morte celular (VALDENASSI et al., 2022).

A ozonioterapia possui enorme eficácia contra microrganismos, agindo diretamente no ácido nucleico ou o invólucro lipossômico dos mesmos. Após o dano causado na membrana, a permeabilidade aumenta e facilita a entrada das moléculas de ozônio nas células, produzindo reações de nível molecular, liberando radicais livres de O_2 e destruindo o microrganismo (ZENG, 2018).

A utilização do ozônio deve ser realizada de forma planejada, afim de se ter um resultado satisfatório e rápido. O mesmo pode ser utilizado tanto em ação sistêmica quanto local, respeitando-se as concentrações e tempo para cada enfermidade. As vias de aplicação local mais utilizadas são a subcutânea, intramuscular, intradérmica, intrarticular, intrauterina, periarticular, peritendínea, intramamária, intravesical, peridural, perilesional, óptica, intraóssea e tópica (cutânea). As vias sistêmicas comumente utilizadas são a via transretal, intravaginal, auto-hemoterapia maior ozonizada intravenosa, auto-hemoterapia menor ozonizada intramuscular e solução salina ozonizada intravenosa (BASILE, 2022).

3. RELATO DE CASO

Um equino fêmea, da raça Quarto de Milha, 6 anos de idade, pesando 487 quilos, foi atendida no ambulatório do Grupo de Pesquisa e Extensão em Equídeos e Saúde Integrativa – GRUPEQUI – UFAL e na anamnese, o tratador relatou que o animal havia chegado a pouco tempo na propriedade vindo de outro Estado e que há dias o animal apresentava apatia, cansaço, edema em membros e recentemente tinha observado fistulas nos membros. Também mencionou que o animal foi atendido por outro veterinário que suspeitou de garrotilho, onde foi tratado há 15 dias com antibioticoterapia sistêmica à base de Penicilina G Benzatina (12.000UI/Kg/IM/SID/5d). Com esse tratamento anterior, o animal apresentou melhora durante os cinco dias e logo após voltou a apresentar progressão dos sinais. O tratador relatou que não se tem histórico de vacinação recente contra garrotilho.

Ao exame clínico, o animal apresentou apatia, presença de fistulas (Figura 1) e edema nos quatro membros, mais evidenciado nos membros pélvicos; secreção nasal mucopurulenta; hemorragias petequiais na mucosa ocular e vaginal; indisposição ao exercício; demonstrava cansaço com facilidade; e aumento dos linfonodos submandibulares. Os parâmetros fisiológicos, frequência cardíaca, frequência respiratória, tempo de preenchimento capilar, temperatura retal e motilidade intestinal encontrava-se dentro da normalidade. Após o histórico, anamnese e sinais clínicos a suspeitou-se de púrpura hemorrágica, sendo a terapêutica instituída ainda na propriedade, onde posteriormente optou-se pelo internamento após piora no quadro clínico.



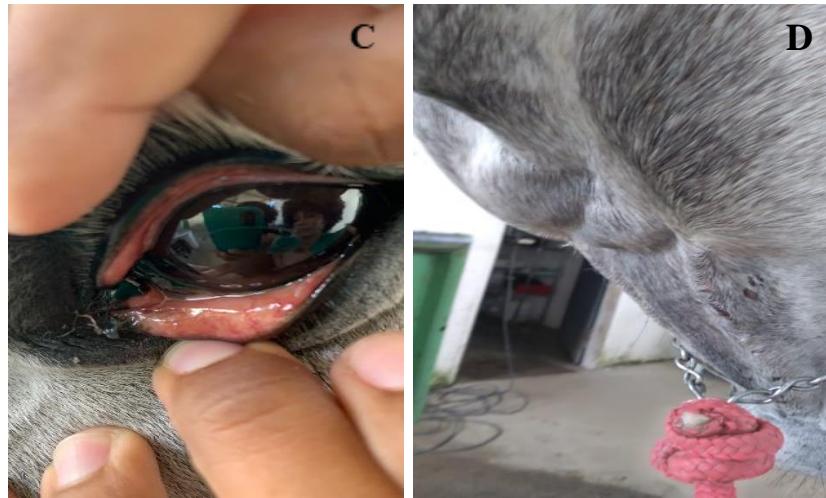


Figura 1. **A.** Membro torácico direito com presença de fístulas. **B.** Edema generalizado nos membros pélvicos. **C.** Hemorragias petequiais em mucosa ocular. **D.** Aumento de volume em linfonodo submandibular.

Foi instituído o tratamento na propriedade com antibioticoterapia sistêmica à base de Gentamicina (6,6mg/Kg/IV/SID) durante 5 dias e Penicilina G Benzatina (20.000UI/Kg/IM/24h/SID) durante 3 dias, além da utilização da ozonioterapia por insuflação retal (10ml/Kg) na concentração de 15 µg/ml, onde foi realizado 3 ciclos, cada ciclo contando com 5 dias on e 2 dias off, autohemoterapia menor ozonizada (10ml /IM) a cada 72 horas, totalizando 3 aplicações nos pontos de acupuntura VG1 e pontos de imunidade (Figura 2). Porém, após sete dias de tratamento instituído, devido o animal começar a apresentar picos de febre e desidratação, optou-se pelo internamento.

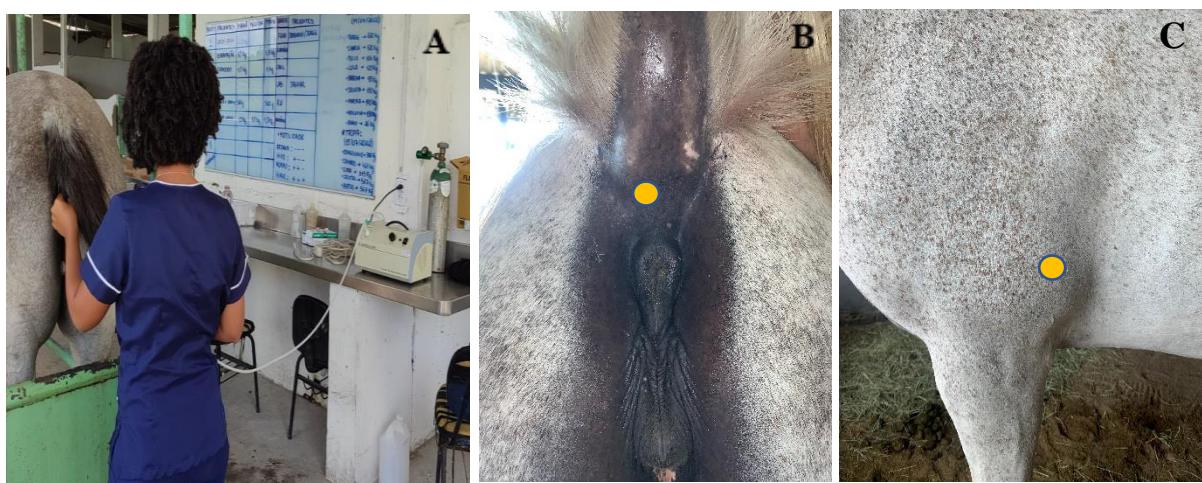


Figura 2. **A.** Animal sendo submetido a ozonioterapia por insuflação retal. **B.** Ponto de acupuntura VG1, localizado acima do ânus. **C.** Ponto de acupuntura de imunidade, localizado na tuberosidade do olecrano realizado bilateralmente.

Assim que o animal deu entrada no internamento no ambulatório do GRUPEQUI – UFAL, o mesmo passou por exames complementares (hemograma, bioquímica sérica, biópsia de pele para histopatológico, cultura, isolamento e antibiograma da secreção da fístula) para

confirmação da suspeita diagnostica de púrpura hemorrágica. No hemograma e bioquímico, foi observado anemia normocítica normocrômica (hematócrito 29% - Ref.: 32-52%; hemácias $6,12 \times 10^6/\mu\text{L}$ - Ref.: 6,5-12,5 $\times 10^6/\mu\text{L}$; proteína plasmática 8,5 g/dL - Ref.: 6,0-8,0 g/dL); leucocitose (leucócitos totais $20.700/\text{mm}^3$ - Ref.: 5.500-12.500 mil/ mm^3 ; segmentados $12.420/\text{mm}^3$ - Ref.: 2.700-6.700 mil/ mm^3) por linfocitose ($6.003/\text{mm}^3$ - Ref.: 1.500-5.500 mil/ mm^3) e hiperfibrinogenemia (fibrinogênio 700 mg/dL - Ref.: 100-400mg/dL); Creatina Kinase (CK) - (1.9 mg/dL - Ref.: 1.2-1.9 mg/dL).

Para a biópsia escolheu-se a pele e o tecido subcutâneo da região rádio-ulnar do membro torácico direito, na face medial, devido ao local apresentar edema pronunciado e fistulas mais recentes. No procedimento de colheita do material empregou-se um punch, removendo-se uma amostra em formato circular medindo $1,1 \times 0,8 \times 0,4$ cm, que foi mantida em formol tamponado a 10% e enviada para o exame histopatológico. A análise evidenciou o expandimento da derme e epiderme focalmente ulcerados, intenso infiltrado inflamatório focalmente extenso, composto por granulomas e áreas de hemorragia caracterizada por agregados densos de neutrófilos íntegros e degenerados, circundados por macrófagos espumosos com citoplasma repleto, macrófagos epitelioides formado por células gigantes multinucleadas, linfócitos e plasmócitos, indicando assim uma dermatite piogranulomatosa focal extensa, acentuada com úlcera e hemorragia.

Já para a cultura e antibiograma, com auxílio de um swab estéril foi colhida secreção advinda das fistulas, armazenado em um meio de cultura e encaminhado sob refrigeração ao Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal de Alagoas. No exame microbiológico, o material foi semeado em ágar base enriquecido com sangue de ovino e ágar MacConkey pela técnica de semeadura por esgotamento. As placas semeadas foram incubadas em estufa bacteriológica por até 48 horas a 37°C , para o isolamento dos agentes bacterianos. Realizou-se a identificação do agente através da técnica de coloração de gram e características morfológicas, tintoriais e fenotípicas seguindo a metodologia de Koneman et al. (2008). Na cultura bacteriana (Figura 3), com base nos achados fenotípicos, foi possível identificar que o agente envolvido se tratava do *Streptococcus sp.*

O espécime bacteriano isolado e identificado foi inoculado em caldo Brain Heart Infusion (BHI), incubado a 37°C por 24 horas e utilizado para realização dos testes de sensibilidade. A avaliação da atividade antimicrobiana foi realizada pelo método de difusão de discos em Ágar. As amostras foram semeadas em placas de Petri contendo meio Ágar Mueller Hinton sendo os discos de antibióticos distribuídos na superfície do ágar e as placas incubadas em estufa a 37°C por 24 horas. Após esse período realizou-se a medição dos halos de inibição.

Sendo observado resistência à bacitracina, tetraciclina; intermedialidade à penicilina; e possuía sensibilidade aos antibióticos amoxicilina, amicacina, gentamicina, sulfazotrim, rifampicina, amoxiciliana e meropenem.

Com base nos achados clínicos e exames complementares, obteve-se o diagnóstico de púrpura hemorrágica.

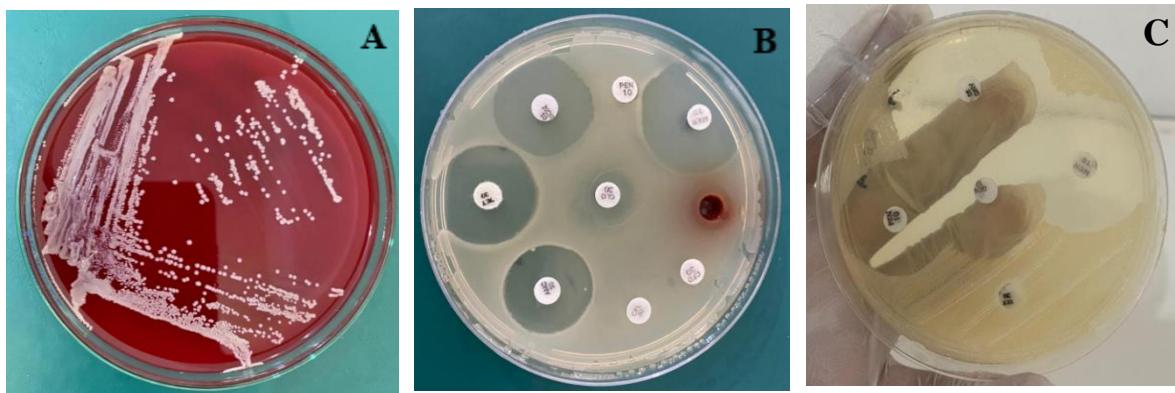


Figura 3. A. Cultura microbiológica de exsudato de equino acometido por Púrpura Hemorrágica em Ágar sangue demonstrando colônias de *Streptococcus equi*. B e C. Teste de antibiograma evidenciando a sensibilidade do agente em resposta aos antibióticos: amicacina, sulfazotrim, rifampicina, gentamicina, meropenem, amoxicilina, penicilina, bacitracina e tetraciclina.

Após os resultados laboratoriais, com picos elevados de febre chegando a 40.5 °C e níveis leucocitários elevados, foi estabelecida uma nova prescrição, com antibioticoterapia sistêmica à base Ceftiofur (4mg/Kg/IM/SID) durante 10 dias, an Dexametasona (0,05mg/Kg/IV/SID) durante 8 dias e dado continuidade a ozonioterapia por insuflação retal com o mesmo protocolo anteriormente mencionado. Também foi prescrito Dipirona (25mg/Kg/IV/SID) durante 8 dias, sendo administrada nos episódios de febre. Para redução do edema e estímulo da circulação linfática, foi realizada hidroterapia em forma de duchas, tanto nos membros torácicos como nos pélvicos, e caminhadas diárias por no máximo dez minutos.

Devido ao edema dos membros, observou-se que as veias safenas dos dois membros pélvicos estavam com um amento de volume visível à inspeção, por isso, foi realizada uma ultrassonografia das mesmas e constatou-se presença de espessamento de parede vascular e conteúdo anecoico, sendo o quadro compatível com tromboflebite (Figura 4). Então associou-se à terapia local com compressas mornas e frias em seguida e aplicação tópica da pomada a base de heparina sódica, onde observou-se uma melhora gradativa ao longo dos dias.

Com a observação de outros picos de febre, foi realizado outro exame de hemograma, onde evidenciou leucocitose (leucócitos totais 22.200/mm³ - Ref.: 5.500-12.500 mil/mm³;

segmentados 18.870/mm³ - Ref.: 2.700-6.700 mil/mm³). Desse modo, foi visto que o antibiótico já prescrito não estava sendo eficaz, o que se fez necessário a utilização de outro princípio ativo, dessa forma, foi instituído protocolo de antibioticoterapia sistêmica à base de Enrofloxacino (6,6mg/Kg/IV/SID) durante 7 dias, terapia anti-inflamatória com Dexametasona (0,05mg/Kg/IV/SID) durante 5 dias e realizado o último ciclo de ozonioterapia por insuflação transretal. A partir da melhora dos sinais clínicos do animal, foi feito o desmame da Dexametasona, utilizando a combinação de Dexametasona (fenilpropionato) com Dexametasona (fosfato-sódio) o que faz com que o fármaco possua uma ação prolongada, sendo administrado a cada 7 dias em doses decrescentes. O animal respondeu satisfatoriamente à terapia proposta e após 20 dias de internamento obteve alta médica, sendo acompanhado até um ano após e não apresentando recidiva.

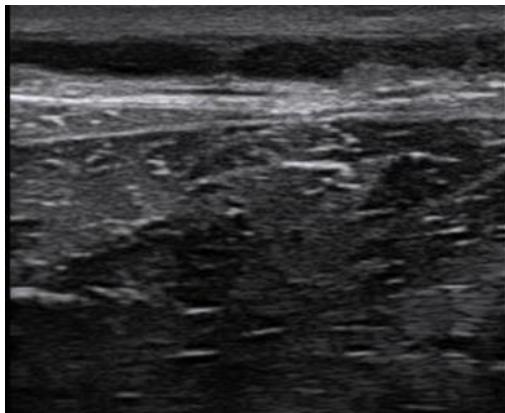


Figura 4. Presença de espessamento de parede vascular e conteúdo anecoico em veia safena.

4. DISCUSSÃO

A púrpura hemorrágica é uma patologia que acomete equídeos em várias localidades, mas os estudos para explicar a dinâmica de atuação da mesma ainda não estão bem elucidados. Pouco se sabe a respeito de fatores que levam ao desencadeamento da doença, mas a infecção por *Streptococcus equi*, subsp. *equi*, e a reação imunológica do animal são citadas nos poucos estudos.

Os sinais clínicos evidenciados, como edema dos membros, presença de fístulas, hemorragias petequiais na mucosa ocular e vagina, apatia, indisposição ao exercício juntamente com o histórico de infecção por *Streptococcus equi*, subsp. *equi*, corroboram com os achados retratados por Thomassian (2005). Os achados dos exames laboratoriais, apresentaram anemia normocítica normocrômica, leucocitose com predominância de neutrófilos segmentados, hiperfibrinogenemia e aumento da creatinoquiinase, corrobora com o estudo realizado por Pusterla et al. (2003).

Os achados microscópicos da biópsia realizada com um fragmento de pele indicaram uma dermatite piogranulomatosa focal extensa, acentuada com úlcera e hemorragia. O que corrobora com o citado em Reed & Bayly (2000) e Wiedner et al. (2006), onde infiltrados inflamatórios ricos em neutrófilos são características histológicas importantes na confirmação do diagnóstico da Púrpura Hemorrágica.

A ozonioterapia pode ser utilizada para promover oxidação controlada do paciente, fazendo com que se tenha um estímulo na produção de antioxidantes endógenos e promover a modulação epigenética, ativando assim os mecanismos citoprotetores. Além disso, a ozonioterapia possui grande capacidade antimicrobiana, o que faz com que a oxidação das paredes celulares bacteriana, em comunicação direta com o gás ozônio, causem um desequilíbrio hidroelectrolítico fatal para os microrganismos. O ozônio também possui a capacidade de modular a biogênese das mitocôndrias e sobre o tempo de vida celular, atuando diretamente na capacidade das mesmas, atingindo uma regulação em baixas quantidades de espécies reativas ao oxigênio induzidas pelo ozônio, obtendo assim um restabelecimento da função correta da mitocôndria, diminuindo a morte celular e processos necróticos. O que faz com que a ozonioterapia seja essencial para a modulação celular, quando se trata de processos autoimune como o caso da púrpura hemorrágica (BASILE, 2022; VALDENASSI et al., 2022).

A pirexia é relatada por alguns autores sendo um dos primeiros sinais, ocorrendo entre o 3 e 14 dias após a exposição. É visto que a mesma é persistente e pode ultrapassar os 42°C. O que concilia com os achados do animal relatado, onde o mesmo apresentou vários episódios de febre diários, chegando até 40.5°C (BOYLE, 2017).

Em relação à vacinação, existem uma disparidade de opiniões entre os autores, pois enquanto alguns se opõem a vacinação contra garrotinho devido aos efeitos colaterais como até mesmo o desenvolvimento de abcessos locais (HARRINGTON et al., 2002) e da púrpura (PUSTERLA et al., 2003), outros indicam a vacinação preventiva em áreas endêmicas para controle e prevenção da doença (BOYLE, 2017), reduzindo a severidade da doença nos animais vacinados e facilitando a erradicação. O animal do presente relato não teve contato prévio com a vacina, mas pode-se citar como fatores predisponentes específicos para o desencadeamento da imunossupressão, a mudança de ambiente e o estresse do transporte.

É visto que testes sorológicos podem se fazer necessários para indicar a necessidade de vacinação e identificar animais que podem ser propensos ao desenvolvimento de púrpura hemorrágica, neste caso, animais que possuam anticorpos específicos de SeM $> 1:1600$. A vacinação só é recomendada para animais com baixos títulos, para que se evite complicações como a púrpura hemorrágica (REED et al., 2018).

Embora alguns autores apontem como susceptibilidade, cavalos mais velhos com imunidade residual, potros com declínio de proteção de anticorpos maternos e animais vacinados possuem susceptibilidade limitada e podem desenvolver uma forma de adenite branda, denominada de “garrotinho catarral ou atípico”. Esses animais eliminam *Streptococcus equi*, subsp. *equi*, virulento, que em cavalos suscetíveis, geralmente jovens, pode causar doenças mais graves (BOYLE, 2017).

No caso relatado, foi visto aumento de volume visível à inspeção nas veias safenas, sendo realizado assim exame de ultrassonografia, que evidenciou espessamento de parede vascular e conteúdo anecoico, o que é compatível com o quadro de tromboflebite. Esta alteração ainda não tinha sido relatada em casos de púrpura hemorrágica, exceto a vasculite em vasos de menor calibre.

É visto que para o sucesso do tratamento, o diagnóstico precoce e o tratamento assertivo influenciam diretamente no prognóstico do animal. A ozonioterapia como adjuvante ao tratamento proporcionou uma melhora no prognóstico, o que difere do que já relatado na literatura com a realização apenas do tratamento convencional, como relatado por Kease et al. (2005), onde de 5 animais tratados, apenas 1 sobreviveu.

O uso indiscriminado dos antibióticos de forma errônea, traz grandes prejuízos aos animais, tendo em vista que se utilizados com dose e duração incorretos podem causar resistência dos microrganismos aos antibióticos. É visto que a prática de administração de antibióticos sem prescrição médica veterinária é rotineiramente utilizada por práticos, o que prejudica os tratamentos posteriores, tornando-os ineficazes (VALE, 2022). A subdosagem de

Penicilina G Benzatina utilizada anteriormente no animal, possivelmente causou a resistência intermediária à penicilina, o que tornou o tratamento ineficiente, piorando o quadro clínico do animal.

Após a resolução do caso, o animal foi mantido em observação periódica para notificação de qualquer alteração. Após um ano o animal não apresentou nenhuma alteração, retornando normalmente suas funções atlética e reprodutiva.

5. CONCLUSÃO

Com a melhora do animal, foi possível evidenciar o papel das terapias integrativas complementar ao tratamento alopático da Púrpura Hemorrágica em equinos, tendo em vista a ação imunomoduladora e antimicrobiana da ozonoterapia. É visto que mais estudos devem ser realizados sobre púrpura hemorrágica em equinos, afim de um melhor diagnóstico e tratamento da enfermidade, por muitas vezes ser subdiagnosticada e ter um diagnóstico tardio e comprometimento do prognóstico.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEMAN, M.; CARLSON, G.P. Enfermidades dos sistemas hematopoiético e hemolinfático. In: SMITH, B.P. **Medicina interna de grandes animais**. São Paulo: Manole Ltda, 2006. p. 1144-1188.

BASILE, R. C.; BACCARIN, R. Y. A. Ozônio terapia em animais domésticos: conceitos básicos e diretrizes. **Ars Veterinaria**, v. 38, n. 4, p. 199-207, 2022.

BOYLE, A.G. *Streptococcus equi ss equi. Interpretation of Equine Laboratory Diagnostics*, p. 165-169, 2017.

CAMPOS, S.B.S. et al. Púrpura Hemorrágica em Eqüino: Relato de Caso. Anais do 35º Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária – Sociedade de Veterinária do Rio Grande do Sul. Gramado – RS, 2008.

COSTA, R. A., et al. Surto de púrpura hemorrágica em equinos., ENISAP - II Encontro Internacional de Sanidade de Animais de Produção, ENDIVET - VIII Encontro Nacional de Diagnóstico Veterinário, Universidade Federal do Pampa, Uruguaiana - RS, 2014.

ESPADA, Matheus Araujo. OZONIOTERAPIA: UMA ANTIGA E REVOLUCIONÁRIA TERAPIA MEDICINAL. **Revista InterCiência-IMES Catanduva**, v. 1, n. 4, p. 57-57, 2020.

FELIPPE, M. Julia B. (Ed.). **Equine clinical immunology**. John Wiley & Sons, 2015.

GALAN, JORGE E.; TIMONEY, JOHN F. Immune complexes in purpura hemorrhagica of the horse contain IgA and M antigen of Streptococcus equi. **Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950)**, v. 135, n. 5, p. 3134-3137, 1985.

HARRINGTON, D.J. et al. The molecular basis of Streptococcus equi infection and disease. **Microbes and Infection**, v. 4, n. 4, p. 501-510, 2002.

JACOBSEN, T. K., Relatório de Estágio Curricular Supervisionado de Clínica, Cirurgia e Reprodução Equina. Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Federal de Santa Catarina, 65 p. 2019.

KAESE, Heather J. et al. Infarctive purpura hemorrhagica in five horses. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 226, n. 11, p. 1893-1898, 2005.

KONEMAN, E. W. et al. Diagnóstico Microbiológico. 6 a edição. **Local: Guanabara-Koogan**, 2008.

MACLEAY, J. M. Purpura hemorrhagica. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 2, n. 20, p. 101, 2000.

MADIGAN, John E. Equine ehrlichiosis. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 9, n. 2, p. 423-428, 1993.

MARQUES, Mariana Lage. **Estudo da ozonioterapia como contribuição para a odontologia veterinária**. 2008. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

MORAES, C.M. Caracterização fenotípica de *Streptococcus equi* e estimativa da reatividade cruzada de cepas isoladas de eqüinos da região sul do Rio Grande do Sul, 2005. 40f.

MORAES, Carina Martins de et al. Adenite equina: sua etiologia, diagnóstico e controle. **Ciência Rural**, v. 39, p. 1944-1952, 2009.

Dissertação (Mestrado em Veterinária) - Faculdade de Veterinária, UFPel.

PUSTERLA, N. et al. Purpura haemorrhagica in 53 horses. **Veterinary record**, v. 153, n. 4, p. 118-121, 2003.

RADOSTITS, O. M et al. **Clínica Veterinária - Um Tratado de Doenças dos Bovinos, Ovinos, Suínos, Caprinos e Eqüinos**. 9^a edição. Rio de Janeiro: Guanabana Koogan, 2000.
REED, S. M; BAYLY, W. M. **Medicina Interna Eqüina**. Rio de Janeiro: Guanabana Koogan, 2000.

REED, S. M. et al. Equine internal medicine. **Equine internal medicine**, n. Ed. 4, 2018.

SCHWARTZ-TAPIA, A. et al. Declaração de Madrid sobre Terapia com Ozônio. ISCO3. **Madrid: Comitê Científico Internacional de Ozonoterapia, 2020.**

TAYLOR, Sandra D.; WILSON, W. David. Streptococcus equi subsp. equi (Strangles) infection. **Clinical Techniques in Equine Practice**, v. 5, n. 3, p. 211-217, 2006.

THOMASSIAN, Armen. Enfermidades dos cavalos. **Editora Varela. São Paulo, 4a edição, 2005.**

TRIMBLE, A. C. et al. Staphylococcus aureus-associated infarctive purpura haemorrhagica, immune-mediated haemolytic anaemia and myocarditis in a Quarter Horse mare. **Equine Veterinary Education**, v. 31, n. 5, p. 230-235, 2019.

VALE, Viviane Rosa. **Resistência aos antimicrobianos na Medicina Veterinária**. 2022.

VALDENASSI, L. et al. Sjögren syndrome successfully treated with oxygen-ozone autohemotherapy (O₂-O₃-AHT): a case report. **European Review for Medical & Pharmacological Sciences**, v. 26, n. 16, 2022.

WIEDNER, E. B et al. Purpura Hemorrhagica. **Compendium: Equine Edition**. West Lafayette, Indiana, p. 82-93, 2006.

ZENG, Jinrong; LU, Jianyun. Mechanisms of action involved in ozone-therapy in skin diseases. **International immunopharmacology**, v. 56, p. 235-241, 2018.