



NICOLE ANZANELLO MEIRA NERCOLINI

**TRATAMENTO CONVENCIONAL ASSOCIADO AO TRANSPLANTE  
DE MICROBIOMA FECAL E OZONIOTERAPIA EM COLITE  
HISTIOCÍTICA ULCERATIVA EM UM CÃO - RELATO DE CASO**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação em  
Medicina Veterinária do Centro de Ciências Rurais,  
do Campus de Curitibanos da Universidade Federal  
de Santa Catarina como requisito para a obtenção do  
título de Bacharel em Medicina Veterinária.  
Orientador: Prof. Dra. Marcy Lancia Pereira.

Curitibanos

2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Nercolini, Nicole Anzanello Meira  
TRATAMENTO CONVENCIONAL ASSOCIADO AO TRANSPLANTE DE  
MICROBIOMA FECAL E OZONIOTERAPIA EM COLITE HISTIOCÍTICA  
ULCERATIVA EM UM CÃO - RELATO DE CASO / Nicole Anzanello  
Meira Nercolini ; orientador, Marcy Lancia Pereira, 2019.  
63 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -  
Universidade Federal de Santa Catarina, Campus  
Curitibanos, Graduação em Medicina Veterinária,  
Curitibanos, 2019.

Inclui referências.

1. Medicina Veterinária. 2. Colite ulcerativa  
histiocítica. 3. Buldogue francês. 4. Transplante de  
microbiana fecal. 5. Ozonioterapia. I. Pereira, Marcy  
Lancia. II. Universidade Federal de Santa Catarina.  
Graduação em Medicina Veterinária. III. Título.

NICOLE ANZANELLO MEIRA NERCOLINI

**TRATAMENTO CONVENCIONAL ASSOCIADO AO TRANSPLANTE  
DE MICROBIOMA FECAL E OZONIOTERAPIA EM COLITE  
HISTIOCÍTICA ULCERATIVA EM UM CÃO - RELATO DE CASO.**

Este trabalho foi julgado adequada para obtenção do título de “Médica Veterinária” e aprovada em sua forma final.

Curitiba, 5 de julho de 2019.

---

Prof. Alexandre Oliveira Tavela, Dr.  
Coordenador do Curso

**Banca Examinadora:**

---

Prof.<sup>a</sup> Marcy Lancia Pereira, Dra.  
Orientadora  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Prof. Álvaro Menin, Dr.  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Prof. Rogério L. Guedes, Dr.  
Universidade Federal de Santa Catarina

Algumas pessoas marcam a nossa vida para sempre, umas porque nos ensinam os valores que devemos carregar em nossos corações, outras por nos apresentarem projetos de sonho e nos desafiarem a construí-los. Dedico este trabalho a minha família e aos meus cães.

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, por me ensinarem que tudo é possível, desde que sejamos honestos e íntegros de caráter. Por me incentivarem a correr atrás dos meus sonhos, driblar obstáculos e a nunca desistir. Sem o apoio de vocês, nada disso teria sido possível. Obrigada por acreditarem e enxergarem o melhor em mim. Eternamente grata por todo esforço para que eu possa estar continuamente estudando e aprimorando meus conhecimentos. Amo incondicionalmente.

Aos meus irmãos e família, por estarem sempre ao meu lado me fazendo sorrir mesmo em momentos de angústia, por todo carinho, amor e pela compreensão nos momentos de ausência.

À minha orientadora Dr<sup>a</sup> Marcy Lancia Pereira pelos inúmeros aprendizados, tanto profissionais como pessoais, pela amizade, confiança e pelas palavras que me acalmavam na hora de grande nervosismo. Por sempre estar disposta a ajudar nos tratamentos dos meus cães e, é claro, pela excelente nefrologista que é. Te admiro muito.

A todos professores do corpo docente do programa de graduação de Medicina Veterinária por todos os ensinamentos em sala de aula e fora dela, pelo carinho e pela paciência. Agradeço em especial ao Professor Álvaro, pela oportunidade e confiança em mim depositada ao abrir a porta de seu laboratório, pela amizade e pelas horas cedidas aos meus questionamentos sempre com o sorriso no rosto; a Professora Marina, a todos os atendimentos de diagnóstico por imagens feitos em meus cães; aos Professores Éric, Sandra, Daniel, Allana, Luiz Caian pelo apoio, incentivo, amizade e carinho.

Às minhas orientadoras da primeira graduação, Dra. Ana Angélica Steil e Dra. Darcy Sato que foram como mães para mim e me apresentarem o mundo da pesquisa, pelo qual eu me apaixonei; a minha orientadora do mestrado, Dra. Nara Quintão e aos meus orientadores do doutorado, Dr. Alexandre Barbudo e Dra. Ana Carolina por estimularem a prática reflexiva capaz de estruturar os saberes que dela resultaram, permitindo o desenvolvimento de uma construção técnica do conhecimento, uma consciência crítica e a capacidade de fazer propostas próprias.

A família Pellizzaro que me acolheu em Curitiba e cuidou de mim como parte da família. Sou e serei eternamente grata por tudo o que fizeram por mim. Amo vocês Louise, Tia Lena e Tio Zico. Louise, te admiro demais e te considero uma das minhas grandes professoras da medicina veterinária. Me ensinasse a ter agilidade, a pensar e a não ter medo de colocar meus conhecimentos na prática, e ainda me deu um afilhado, Benjamin, meu amor maior.

A minha vizinha de Curitiba, Neca, que se tornou uma mãe para mim. Sinto sua falta todos os dias e agradeço a Deus por ter te colocado em minha vida.

Ao meu amigo Eduardo Furtado Couto, por estar sempre ao meu lado disposto a me ajudar em qualquer situação, seja cuidando dos meus cães e de mim. Horas de estudos a fio e muitas discussões. Me ensinasse um bocado. Meus mais sinceros agradecimentos.

Aos meus cães, Onna, Coralina (*in memorium*) e Zé. Os meus melhores professores. Sem vocês, acredito que não teria realizado esse meu grande sonho. Vocês são o motivo de eu estar me formando em Medicina Veterinária e por estar sempre buscando a minha melhor versão.

As minhas amigas e amigos de Blumenau, pelo carinho, por todos os favores cedidos, por estarem ao meu lado sempre que eu precisei e pela compreensão da minha ausência em inúmeros momentos importantes de suas vidas. Amo vocês.

E por fim, agradeço a Deus, por hoje e por todos os dias, nos quais eu acordei, aprendi e superei obstáculos nessa trajetória da minha vida e a todas as pessoas presentes na teia da vida, co-responsáveis em minha construção científica, profissional e pessoal.

## RESUMO

A doença inflamatória intestinal (DII) é considerada atualmente uma das causas mais comuns de vômitos e diarreia em cães. A colite ulcerativa histiocítica (HUC) é uma das formas de DII, que ocorre mais frequentemente em cães da raça Boxer, sendo caracterizada pelo predomínio de infiltrados inflamatório histiocíticos na lâmina própria. Os sinais clínicos ocorrem predominantemente em cães jovens, e incluem diarreia, hematoquezia, aumento da frequência de defecação, tenesmo, muco excessivo e ocasionalmente, perda de peso ou inapetência. É confirmada por biópsia colônica e a terapêutica baseia-se na administração de fármacos imunossupressores, anti-inflamatórios, antibióticos e modificações da dieta falham, e o prognóstico geralmente é reservado. Frente a esta enorme complexidade, atualmente o diagnóstico e o tratamento da HUC é um desafio, principalmente na clínica de pequenos animais. Levando-se em consideração o crescente aumento na incidência de casos de cães acometidos pela HUC e a falta de efetividade dos tratamentos existentes, a longo prazo, nestes animais, esse trabalho teve como objetivo relatar um caso de tratamento empregando técnicas de uma medicina integrativa, realizando a técnica de transplante fecal (TMF) associada a aplicação de ozonioterapia intrarretal (OZT), através de um manejo dietético e de nutracêuticos em um cão diagnosticado com colite histiocítica ulcerativa.

**Palavras-chave:** Colite ulcerativa histiocítica. Medicina integrativa. Buldogue Francês. TMF-OZT

## **ABSTRACT**

Inflammatory bowel disease (IBD) is currently considered one of the most common causes of vomiting and diarrhea in dogs. Histiocytic ulcerative colitis (HUC) is one of the forms of IBD, which occurs most frequently in dogs of the Boxer breed, being characterized by the predominance of histiocytic inflammatory infiltrates in the lamina propria. Clinical signs occur predominantly in young dogs, and include diarrhea, hematochezia, increased defecation frequency, tenesmus, excessive mucus and occasionally, weight loss or inappetence. It is confirmed by colonic biopsy and the therapy is based on the administration of immunosuppressive drugs, anti-inflammatories, antibiotics and diet modifications fail, and the prognosis is usually reserved. Faced with this enormous complexity, the diagnosis and treatment of HUC is currently a challenge, especially in the small animal clinic. Taking into account the increasing incidence of HUC-affected dogs and the lack of effectiveness of existing treatments in the long-term in these animals, this study aimed to report a case of treatment using techniques of an integrative medicine, performing the technique of fecal transplantation (TMF) associated with the application of intrarectal ozonotherapy (OZT), through dietary management and nutraceuticals in a dog diagnosed with ulcerative histiocytic colitis.

**Keywords:** Histiocytic ulcerative colitis. Integrative medicine. French bulldog. TMF-OZT.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Desenho esquemático mostrando as uniões intercelulares de proteínas integrais de membrana, que se estabelecem entre as células epiteliais intestinais, mantendo a integridade da barreira da mucosa intestinal. Fonte: RODRIGUES et al. (2019). ..... 16
- Figura 2.** Diagrama simplificado mostrando exemplos de algumas das interações imunológicas mais bem descritas entre a microbiota e a mucosa do hospedeiro. Fonte: BARKO et al., 2018. .... 19
- Figura 3.** Representação esquemática da regulação da barreira funcional intestinal e os diversos componentes atuam na manutenção da homeostase desta barreira. Fonte: RODRIGUES et al., (2019). ..... 21
- Figura 4.** Fatores que influenciam o desenvolvimento microbiano do intestino e a dinâmica dos diferentes estados ao longo do tempo. Fonte: BARKO et al., 2018. .... 24
- Figura 5.** Testes utilizados para o diagnóstico diferencial de outras causas de inflamação com as respectivas referências bibliográficas. Fonte: GUÍMARO (2010). .... 29
- Figura 6.** Fotografia do exame de endoscopia alta. **Foto 1. Esôfago:** presença de hiperemia leve na mucosa de esôfago distal. Esfíncter esofágico distal sem alteração. **Foto 2, 3 e 4. Estômago:** Mucosa de corpo e fundo gástrico sem alteração. Mucosa de antro com edema leve e áreas de enantema linear leve. Píloro preservado. **Foto 5. Duodeno:** Mucosa duodenal com aspecto levemente granuloso, áreas de hiperemia linear leve. .... 46
- Figura 7.** Fotografias do exame de endoscopia baixa. **Foto 1, 2 e 3. Reto:** Edema e hiperemia moderada da mucosa de reto e presença de erosões rasas hemorrágicas. **Foto 4 e 5. Cólon:** cólon descendente com edema e hiperemia leve. Presença de erosões puntiformes hemorrágicas. **Foto 6. Colon:** cólon transversal e ascendente com presença de conteúdo fecal, edema e hiperemia leve da mucosa. **Foto 7. Ceco:** sem alteração. **Foto 8. Válvula íleo-cólica e mucosa de íleo:** sem alterações. .... 47
- Figura 8.** Fotografias das fezes do paciente acometido por HUC em diferentes tempos de tratamento. (A) Dia zero (antes do início do tratamento), (B) Dia 14, (C) Dia 21, (D) Dia 65, (E) Dia 100, (F) Dia 130, (G) Dia 215 e (H) Dia 246. Fonte: Acervo próprio (2015, 2016). .... 50

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIE – Anti-inflamatório esteroidal	NK – Natural killer cells
ALT – Alanina aminotransferase	NOD – Nucleoide-binding-oligomerization domain receptors
APP – Células apresentadoras de antígenos	OZT – Ozonioterapia
AST – Transaminase glutâmico-oxalacética	PAMP – Pathogen associated molecular patterns
BID – Administração duas vezes ao dia	PAS – Ácido periódico de Schiff
CCS – Ceratoconjuntivite Seca	PRR – Pattern recognition receptors
CHGM – Concentração de hemoglobina corpuscular média	QID – Administração quatro vezes ao dia
DC – Células dendríticas	RDW – Amplitude de distribuição dos glóbulos vermelhos
DII – Doença inflamatória intestinal	SID – Administração uma vez ao dia
EV – Administrado por via endovenosa	TGI – Trato Gastrointestinal
FA – Fosfatase alcalina	TID – Administração três vezes ao dia
FOS – Frutooligossacarídeos	TJ – Tight junctions
GALT – Gult associated lymphoid tissue	TLR – Toll like receptors
GI – Gastrointestinal	TLS – Teste Lacrimal de Schirmer
HCM – Hemoglobina corpuscular média	TMF – Transplante de microbioma intestinal
HIV – Vírus da imunodeficiência Humana	TNF-alfa – Fator de necrose tumoral alfa
HUC – Colite ulcetiva histiocítica	Treg – Células T reguladoras/regulatórias
IFN-gama – Interferon gama	TRMI – Terapia Restauradora de Microbioma Intestinal
IG – Imunoglobulinas IL – interleucinas	US – Ultrassom
IM – Administrado por via intramuscular	USG – Ultrassonografia
IPE – Insuficiência pancreática exócrina	VGM – Volume corpuscular médio
IV – Administrado por via venosa JAM – Molécula de adesão funcional	VO – Administrado por via oral
MCA – Medicina Complementar Alternativa	ZO – Zonula Occludence
mg/kg – miligrama por quilograma	
mg/mL – miligrama por mililitros	
MV – Médico Veterinário	

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>12</b>
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>13</b>
<b>2.1 ANATOMOFISIOLOGIA DO APARELHO DIGESTÓRIO.....</b>	<b>13</b>
<b>2.2 PAPEL DA BARREIRA INTESTINAL.....</b>	<b>15</b>
<b>2.3 PAPEL DO SISTEMA IMUNE ASSOCIADO A MUCOSA INTESTINAL.....</b>	<b>17</b>
<b>2.4 PAPEL DA MICROBIOTA INTESTINAL.....</b>	<b>22</b>
<b>2.5 TOLERÂNCIA IMUNOLÓGICA .....</b>	<b>25</b>
<b>2.6 DOENÇA INFLAMATÓRIA INTESTINAL .....</b>	<b>26</b>
2.6.1 ETIOPATOGENIA.....	26
2.6.2 APRESENTAÇÃO CLÍNICA.....	27
2.6.3 DIAGNÓSTICO .....	28
2.6.4 TRATAMENTO CONVENCIONAL .....	32
2.6.4.1 MODIFICAÇÕES DIETÉTICAS E ADIÇÃO DE NUTRACÊUTICOS .....	32
2.6.4.2 ANTIPARASITÁRIOS .....	34
2.6.4.3 ANTIBIOTICOTERAPIA .....	34
2.6.4.4 FÁRMACOS IMUNOSUPRESSORES .....	34
2.6.4.5 FÁRMACOS ANTI-INFLAMATÓRIOS .....	36
2.6.5 MEDICINA INTEGRATIVA.....	38
2.6.5.1 OZONIOTERAPIA .....	39
<b>3. DESCRIÇÃO DO CASO.....</b>	<b>43</b>
<b>4. DISCUSSÃO.....</b>	<b>51</b>
<b>5. CONCLUSÃO .....</b>	<b>54</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>55</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A doença inflamatória intestinal (DII) é um tipo de enteropatia crônica caracterizada por distúrbios do trato gastrointestinal (TGI), com sinais clínicos persistentes ou recorrentes, em que há a evidência histopatológica de inflamação da mucosa, esta atinge a lâmina própria, podendo estender-se à submucosa (HALL, GERMAN, 2010). Estes sinais incluem quadros de diarreia, vômitos, perda de peso, inapetência, borboríngos e/ou flatulência (DANDRIEUX, 2016; KALENYAK et al., 2017).

Acredita-se que a etiopatogenia da doença, apesar de ainda não estar bem esclarecida, relaciona-se à resposta imunológica anormal à microbiota bacteriana da luz intestinal, devido a alterações na função de barreira da mucosa. Entretanto, para o desenvolvimento da doença concorrem outros fatores predisponentes, que podem ser genéticos, socioambientais, microbiológicos e imunológicos (KALENYAK et al., 2017)

Diversos estudos estão sendo publicados na literatura, demonstrando a importância de um ecossistema microbiano balanceado na manutenção da saúde de humanos e de animais. Muitos grupos de pesquisas ao redor do mundo estão estudando as interações existentes entre as bactérias residentes da microbiota intestinal, e observaram um ecossistema altamente complexo devido à presença de inúmeros fatores que influenciam este sistema nas mais diferentes populações. Fatores como: hábitos alimentares, hábitos de higiene, profissões, tratamentos medicamentosos, prática de exercícios físicos, e presença de patologias que estão além do sistema trato gastrointestinal, localidade onde vivem, dentre outros fatores. Estes pesquisadores além de identificar e mapear os genes das cepas intestinais, sejam elas comensais ou patogênicas, correlacionaram os grupos de bactérias residentes nos grupos de estudo com os fatores predisponentes (SUCHODOLSKI et al., 2010; SUDHODOLSKI, SIMPSON, 2013; ROUND, MAZMANIAN, 2009; HONNEFFER, MINAMOTO, SUCHODOLSKI, 2014; SCHMITZ, SUCHODOLSKI, 2016; BELKAID, HARRISON, 2017; OMORI et al., 2017; ZENG et al., 2019).

Frente a esta enorme complexidade, atualmente o diagnóstico de grande parte das doenças gastrointestinais é um desafio, principalmente na clínica de pequenos animais, que é realizado, na maioria dos casos por exclusão, ao se descartar causas extraintestinais de doença ou por resultado inconclusivo do histopatológico de amostras proveniente de biópsias intestinais (GUIMARO, 2010; ALLENSPACH, 2013; SLOVAK et al., 2015). O exame histopatológico constitui o *gold standard*

no diagnóstico de DII, pois permite classificar os achados histológicos em relação à natureza e a gravidade da inflamação da mucosa, assim como demonstrar as alterações morfológicas associadas (HALL, 1992; JERGENS, 2004; DAY et al., 2008). Além do diagnóstico, o desafio também é observado quando há respostas terapêuticas inadequadas dos animais afetados, aos tratamentos realizados pela medicina convencional, amplamente descritas na literatura, visto que, na maioria dos animais a doença recidiva e/ou progride. Levando-se em consideração o crescente aumento na incidência de casos de cães acometidos pela DII e a falta de efetividade dos tratamentos existentes, a longo prazo, nestes animais, esse trabalho teve como objetivo relatar um caso de tratamento empregando técnicas de uma medicina integrativa (alternativa), realizando a técnica de transplante fecal associada a aplicação de ozonioterapia intrarretal, através de um manejo dietético e de nutracêuticos em um cão diagnosticado com colite histiocítica ulcerativa.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 ANATOMOFISIOLOGIA DO APARELHO DIGESTÓRIO**

O sistema digestório dos cães é composto por sete segmentos, sendo estes divididos em: cavidade oral, esôfago, estômago, intestino delgado e grosso, reto e ânus, e a estes segmentos se associam glândulas anexas (salivares, fígado, pâncreas e vesícula biliar) (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004). Este sistema tem como função principal a obtenção de energia através da digestão e absorção de moléculas, obtidas a partir dos alimentos ingeridos pela dieta para o crescimento e manutenção energética do organismo. Possui também papel importante na produção e liberação de substâncias enzimáticas, que irão auxiliar nestes dois últimos processos e, ainda, desempenha uma importante função imunológica, uma vez que constitui barreira protetora crucial entre o meio externo (lúmen intestinal) e o meio interno (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

O intestino delgado se estende do piloro até o orifício íleo-cólico, englobando duodeno, jejuno e íleo (OLIVEIRA, 1995), e o intestino grosso apresenta diâmetro superior ao delgado em toda a sua extensão e por sua vez é subdividido em ceco, cólon e reto, tendo o seu início na porção ileocecal e se estendendo até o ânus. O ceco é um segmento intestinal curto de fundo cego e possui conexão apenas com o cólon, logo após a junção íleo-cólica, e o cólon pode ser dividido em três porções, de acordo com seu posicionamento anatômico, o cólon ascendente, transversal e descendente (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

O intestino trata-se de um tubo oco composto por luz ou lúmen circundado por parede composta por quatro camadas distintas: mucosa, submucosa, muscular e serosa, sendo que, cada um destes segmentos anatômicos apresentam diâmetro variável e características diferentes (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004; OLIVEIRA-BARROS, 2008).

A camada mais interna é a mucosa, que pode ser subdividida em revestimento epitelial, vilosidades (presentes no intestino delgado apenas), uma lâmina própria de tecido conjuntivo frouxo, rica em vasos sanguíneos, vasos linfáticos e células musculares lisas, e também a camada muscular da mucosa. Esta tem como função promover a movimentação da mucosa independentemente de outros movimentos do trato digestivo, aumentando assim o contato do órgão com o alimento (COOLMAN; EHRHART; MARRETTA, 2000; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004; OLIVEIRA-BARROS, 2008).

As vilosidades são projeções citoplasmáticas da mucosa que se estendem até ao lúmen, com a forma característica de dedo (longas e finas em carnívoros), estando presentes na superfície apical das células epiteliais aumentando a superfície de absorção. Consistem em tecido conjuntivo coberto por um epitélio simples colunar, sendo o seu centro composto por uma extensão da lâmina própria, que contém numerosas células, agregados de células linfoides, uma rede de capilares sanguíneos e um capilar linfático cego que é acompanhado por células musculares lisas. (ROSS, PAWLINA, 2011).

As células epiteliais que revestem o lúmen intestinal são: os enterócitos, as células epiteliais indiferenciadas ou da cripta, as células caliciformes, as células de Paneth, as células neuroendócrinas e as células M (microfold cells), células estas encontradas tanto na superfície das vilosidades como nas glândulas intestinais (JUNQUEIRA, CARNEIRO, 2013; OLIVEIRA-BARROS, 2008).

Os enterócitos são células colunares altas com microvilosidades que contêm enzimas digestivas e de absorção, sendo as principais células de absorção. Na parte mais profunda das criptas, estão presentes as células epiteliais indiferenciadas (*stem cell*), responsáveis pela substituição de todos os tipos celulares epiteliais, migrando para a superfície das criptas onde ocorre a proliferação e o amadurecimento. As células caliciformes, presentes tanto nas vilosidades como nas criptas, são produtoras de muco e estão presentes em maior número no trato gastrintestinal; as células de Paneth estão localizadas próximo a base das criptas e possuem o papel de secretar enzimas que tem capacidade de digerir as lisozimas (secretora e fagocítica); as células neuroendócrinas, localizadas nas criptas, produzem hormônios que regulam a motilidade e a

secreção gastrointestinal; e as células M, que são células epiteliais achatadas, localizadas em regiões do epitélio da cúpula (também chamado de epitélio associado ao folículo) que recobrem a parte superior das placas de Peyer e folículos isolados, e são capazes de realizar transporte transcelular de proteínas solúveis, partículas inertes e vários microrganismos na interface luminal, permitindo que células dendríticas e macrófagos teciduais capturem esses antígenos para serem transportados até ao GALT (do inglês, gut-associated lymphoid tissue) (GELBER, 2009; Junqueira, Carneiro, 2013; OLIVEIRA-BARROS, 2008).

Na camada submucosa, encontra-se o plexo nervoso submucoso (conhecido também como plexo de Meissner), além de vasos sanguíneos, vasos linfáticos, glândulas secretoras, agregados linfocitários e folículos linfóides que constituem o GALT (do inglês, gut-associated lymphoid tissue) (COOLMAN; EHRHART; MARRETTA, 2000; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

Já a camada muscular é composta por células musculares lisas orientadas em espiral, divididas em duas subcamadas com morfologias diferentes: a mais interna, que é circular e a mais externa, longitudinal. A camada circular propicia a segmentação e mistura da ingesta, enquanto a longitudinal, promove a propulsão do conteúdo luminal (COOLMAN; EHRHART; MARRETTA, 2000). Entre as camadas musculares encontra-se o plexo nervoso mioentérico (ou plexo de Auerbach), juntamente com tecido conjuntivo, vasos sanguíneos e linfáticos. Este plexo é formado por agregados de células nervosas formadoras de gânglios e de extensa rede de fibras neuronais, que possibilitam a comunicação interganglionar, esta rede é responsável pela geração e coordenação de impulsos elétricos, que controlam a contração muscular e, conseqüentemente, a motilidade intestinal (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

A última camada e a mais externa é a serosa, constituída por tecido conjuntivo frouxo, tecido adiposo, vasos sanguíneos e grande quantidade de vasos linfáticos, sendo revestida por epitélio pavimentoso simples, denominado de mesotélio (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

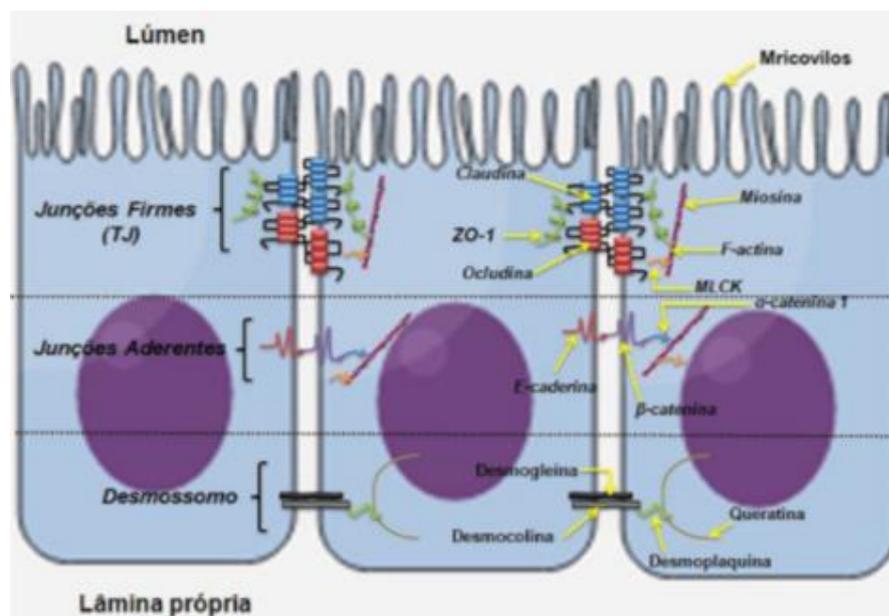
## 2.2 PAPEL DA BARREIRA INTESTINAL

O epitélio gastrointestinal é formado por uma camada de células epiteliais intestinais, que permitem uma absorção eficiente de nutrientes pelo organismo e, ao mesmo tempo, constituem uma barreira física que impede o transporte de substâncias e microrganismos nocivos da região luminal do intestino para a circulação sanguínea e tecidos adjacentes (SUZUKI, 2013).

Logo, a barreira intestinal se dá pelas células epiteliais intestinais, pela camada mucóide produzidas pelas células caliciformes e pela lâmina própria, que juntas promovem uma

permeabilidade seletiva, que é mantida principalmente pelas uniões intercelulares estreitas que se estabelecem entre as células epiteliais, denominadas de tight-junctions (TJ). As TJ são estruturas complexas e dinâmicas, que são capazes de cruzar a bicamada lipídica celular se ligarem à porção extracelular na célula adjacente e são constituídas por três grupos de proteínas integrais de membrana: a claudina, ocludina e as moléculas de adesão juncional (JAM), além de um número considerável de outras proteínas citoplasmáticas acessórias, como as proteínas Zonula Occludens (ZO) e desmossomos associados à membrana.

As junções aderentes e desmossomos compõem o restante dos componentes do complexo paracelular. As junções aderentes são compostas de caderinas, formando as junções firmes e desempenham papel importante na polarização epitelial, diferenciação e apoptose precoce das células intestinais, e os desmossomos formam estruturas que se conectam aos filamentos intermediários do citoesqueleto, proporcionando fortes ligações adesivas que mantêm a proximidade celular e também são locais de comunicações intercelulares. Portanto, esta interação de diferentes proteínas funcionais é essencial para a manutenção da integridade estrutural da função de barreira do epitélio intestinal (RODRIGUES et al., 2019), como pode ser observada na figura 1.



**Figura 1.** Desenho esquemático mostrando as uniões intercelulares de proteínas integrais de membrana, que se estabelecem entre as células epiteliais intestinais, mantendo a integridade da barreira da mucosa intestinal. Fonte: RODRIGUES et al. (2019).

Além destas proteínas, a integridade da mucosa epitelial intestinal também depende da regulação de peptídeos antimicrobianos, como a mucina e defensinas, visto que estes peptídeos, produzido pelas células caliciformes, ajudam a compor a primeira linha de defesa do intestino e auxiliam na resposta imune inata contra perturbações patogênicas no lúmen e na barreira epitelial do intestino (KIM, HO, 2010; RODRIGUES et al., 2019).

Logo, defeitos na barreira epitelial como um aumento na permeabilidade, podem permitir que o GALT tenha uma maior exposição a antígenos luminiais inofensivos, resultando na produção de citocinas pró-inflamatórias com consequente inflamação da mucosa, podendo dar início ao desenvolvimento de uma DII (CAVE, 2003; SHIH, TARGAN, 2008; RODRIGUES et al., 2019).

### 2.3 PAPEL DO SISTEMA IMUNE ASSOCIADO À MUCOSA INTESTINAL

O papel do sistema imune no controle homeostático da barreira intestinal é crucial para que o organismo adquira tolerância a antígenos inofensivos (como por exemplo, a antígenos da dieta ou a microbiota comensal intestinal), e seja capaz de desenvolver respostas imunológicas adequadas contra reais patógenos (GERMAN et al., 2003; RODRIGUES et al., 2019).

A primeira resposta imune associada à mucosa intestinal a ser ativada é a imunidade inata, representada por células epiteliais e células do sistema imune localizadas na lâmina própria (células dendríticas, macrófagos e células NK, do inglês, *natural killer cells*). Estas células reconhecem padrões moleculares associados a patógenos (PAMP, *pathogen-associated molecular patterns*) a partir de receptores de reconhecimento de padrões (PRRs, *pattern recognition receptors*), como receptores Toll-like (TLRs, *toll-like receptors*) e receptores de domínio de oligomerização de ligação de nucleotídeos (NODs, *nucleotide-binding oligomerization domain receptors*). (GERMAN et al., 2003; HALL, GERMAN, 2005; SHIH, TARGAN, 2008; RODRIGUES et al., 2019)

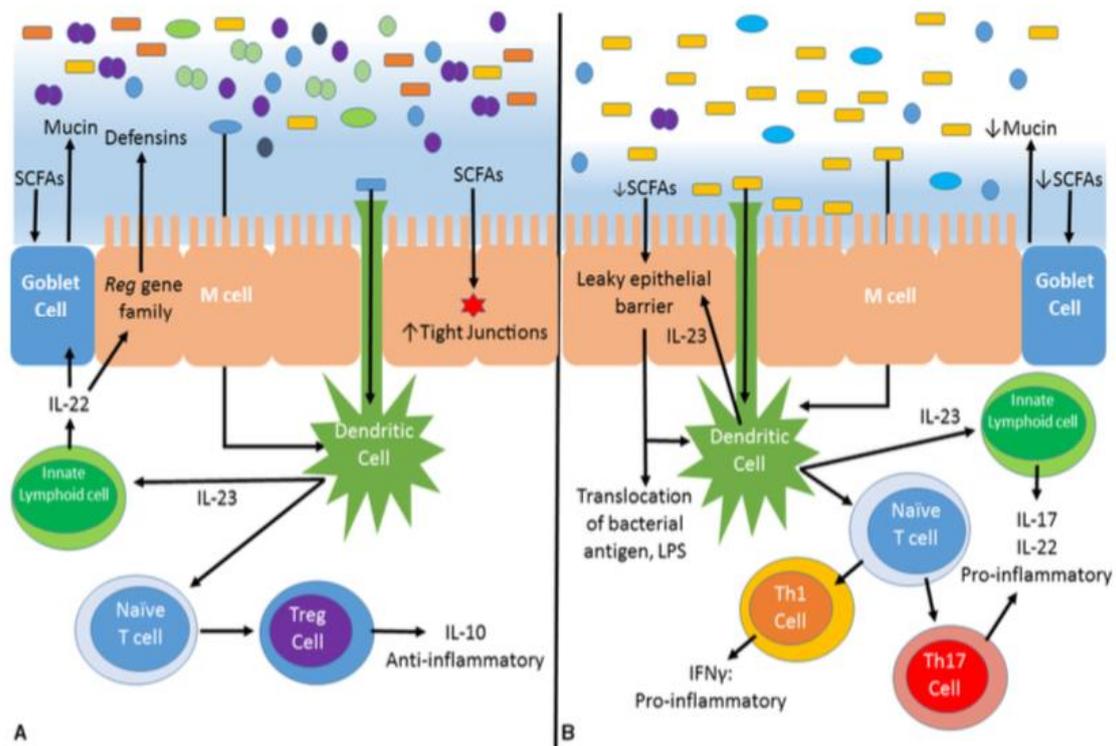
Em condições de homeostase no epitélio intestinal, os PRRs são ativados na porção apical por bactérias da microbiota residente, auxiliando a secreção de substâncias antimicrobianas e a manutenção da tolerância imunológica. Já quando ocorre uma alteração na barreira do epitélio e, consequente, a entrada de bactérias, uma resposta pró-inflamatória inicia-se pela ativação basolateral dos PRRs, bem como de PRRs de outras células do sistema imune inato, como as células dendríticas, que determinam e coordenam respostas do tipo celular e/ou humoral pelo sistema imune adaptativo (RODRIGUES et al., 2019; PÉREZ, 2018).

Já o sistema imunológico adaptativo é orquestrado por linfócitos T e B, sendo estas células

responsáveis por produzir respostas específicas e de memória para antígenos com as quais interagem. As células T CD4<sup>+</sup> localizam-se na lâmina própria, gerando células Th1 e Th17 que possuem uma resposta de perfil pró-inflamatório. Já as células T regulatórias (Treg), caracterizadas pela expressão da molécula CD25<sup>+</sup> e do fator nuclear FOXP3, atuam contrabalanceando este efeito, pois induzem a supressão das células T efetoras, bloqueando a ativação e a função destes linfócitos, sendo assim importantes no controle da resposta imunológica a antígenos próprios e não-próprios (CAMPBELL, ZIEGLER, 2007; SOJKA, HUAND, FOWELL, 2008).

Os receptores TLR reconhecem os peptidoglicanos das bactérias Gram-positivas (TLR-2), o LPS das bactérias Gram-negativas (TLR-4), a flagelina bacteriana (TRL-5) e o CpG-DNA (TLR-9) (CAVE, 2003; WERLING JUNGI, 2003; BURGNER et al., 2008; ARTIS, 2008). A ligação destes receptores ativa o fator de transcrição NFκB (*nuclear factor kappa-light-chain- enhancer of activated B cells*) induzindo a transcrição de uma variedade de genes, incluindo as interleucinas IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, e moléculas co-estimuladoras CD80, CD86 e CD40 (TAKEDA et al., 2003, CAVE, 2003, PRESCOTT et al., 2005). Num estudo realizado por Burgener e colaboradores (2008), foi observado que os receptores TLR-2, TLR-4, TLR-5 e TLR-9 que reagem contra bactérias, estavam sobrerregulados na mucosa duodenal e do colón na DIII. Quando a expressão do TLR está sobrerregulada por estes receptores, a resposta de células inatas vai ativar mecanismos que levam à inflamação (BURGENER et al., 2008; GUIMARO, 2010).

A interação inicial de bactérias comensais, probióticas ou patogênicas ocorre na superfície de células do epitélio intestinal, estas possuem a capacidade de endocitar e transportar antígenos para a lâmina própria através da células M para que ocorra o reconhecimento por células dendríticas (DCs), que são células apresentadoras de antígenos altamente especializada (APCs) para processamento e indução de células T, que se polarizam em subpopulações de linfócitos T helper (LTh ou LT0) como Treg (células T reguladoras, promovendo tolerância imunológica) ou como Th1, Th2 e Th17 (gerando respostas pró-inflamatórias) (CHO, 2008; GERMAN et al., 2003; RODRIGUES et al., 2019). Essa interação pode ser observada na **figura 2**, que mostra em uma figura representativa o equilíbrio entre estados anti e pró-inflamatórios na mucosa intestinal e as interações entre os diversos componentes presentes neste sistema altamente especializado e dinâmico.



**Figura 2.** Diagrama simplificado mostrando exemplos de algumas das interações imunológicas mais bem descritas entre a microbiota e a mucosa do hospedeiro. Esta imagem representa um corte transversal esquemático do epitélio intestinal, camada de muco e lúmen. As hastes coloridas, as ovas e os círculos no topo da imagem representam a microbiota luminal e a neblina azul na qual alguns residem é a camada de muco. **(A)** Em indivíduos saudáveis, sinais pró e antiinflamatórios são balanceados de modo que os organismos comensais sejam reconhecidos e tolerados, enquanto os patógenos são impedidos de penetrar na camada de muco e no epitélio subjacente. Os ácidos graxos de cadeia curta (SCFAs) fortalecem as junções estreitas epiteliais e estimulam a produção da camada de muco. Organismos comensais são reconhecidos por células dendríticas e células M epiteliais especializadas, promovendo a maturação de linfócitos T em células Treg que secretam citocinas antiinflamatórias e imunomoduladoras. Linfócitos inatos estimulam as células epiteliais subjacentes a secretar defensinas antimicrobianas. **(B)** Os estados de disbiose são caracterizados pela diversidade reduzida na microbiota residente descrita aqui como uma abundância relativa aumentada de bastões amarelos. O reconhecimento de um meio antigênico de deslocamento por células dendríticas e células M resulta na maturação de células T ingênuas em células Th1 e Th17, que secretam citocinas pró-inflamatórias. Adicionalmente, o metabolismo microbiano alterado (por exemplo, a produção reduzida de SCFA) promove a degradação dos fatores de proteção do hospedeiro, tais como a camada de muco, que estabiliza as comunidades microbianas do intestino e previne a colonização por patógenos. Fonte: BARKO et al., 2018.

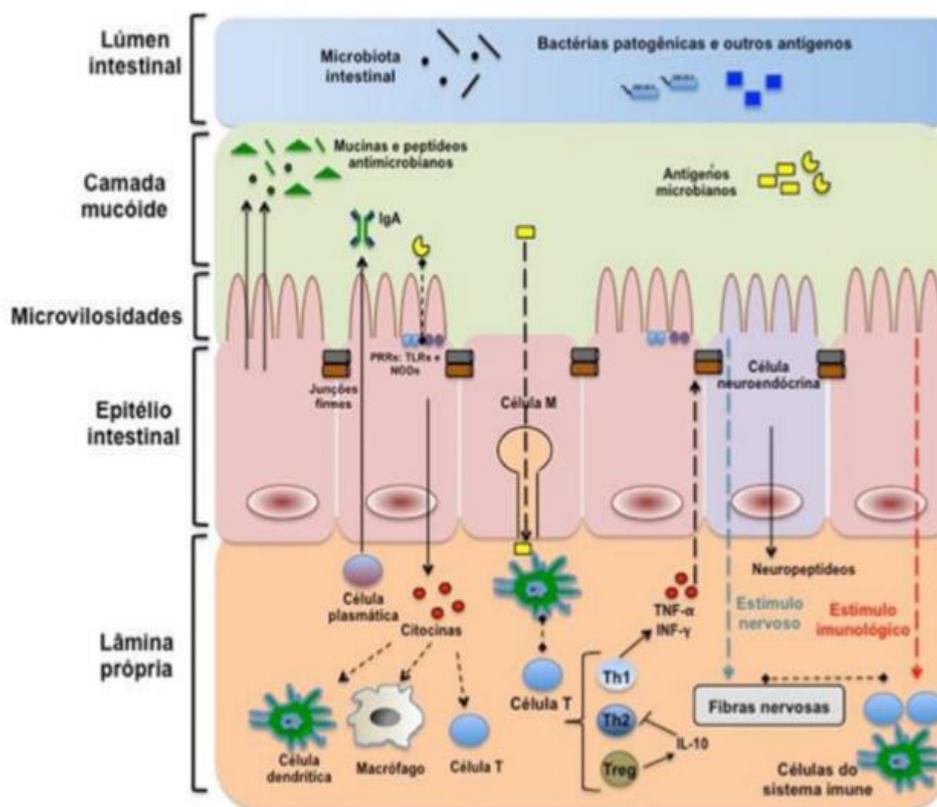
Os mediadores inflamatórios liberados no processo (citocinas  $TNF-\alpha$  e  $IFN-\gamma$ ) podem modificar as funções das junções firmes, levando a distúrbios de permeabilidade intestinal. A complexa interação sistema nervoso-sistema imune também ocorre na barreira intestinal, com

atuação importante de células especializadas do epitélio, células neuroendócrinas, que podem secretar neuropeptídios reguladores da resposta imune (CAVE, 2003; HALL, GERMAN, 2005; RODRIGUES et al., 2019).

Além das células dendríticas, os macrófagos representam a população de fagócitos mononucleares mais abundantes na lâmina própria, e auxiliam as DCs na geração de uma resposta imunológica quando um antígeno é identificado (Lee, Starkey et al. 1985). Estas células se caracterizam pela expressão de marcadores como CD11b, CD11c, F4/80 e uma alta expressão do receptor de quimiocina CX3CR1 (FARACHE, ZIGMOND et al. 2013; RODRIGUES et al., 2019), capaz de reconhecer as bactérias comensais que ultrapassam a barreira epitelial e produzir citocinas anti-inflamatórias (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  - fator de necrose tumoral e quimiocinas -IL- 8) (BAIN, MOWAT, 2011).

Portanto, as células do sistema imune presentes na lâmina própria precisam manter uma relação de simbiose com a microbiota intestinal, onde a microbiota regula o número e a função de determinadas populações de células do sistema imune, assim como, estas células mantêm o controle da microbiota intestinal ao induzir a produção de peptídeos antimicrobianos e imunoglobulinas como a IgA (FARACHE, ZIGMOND et al. 2013; RODRIGUES et al., 2019).

Para uma melhor compreensão de todos os mecanismos envolvidos na regulação funcional da barreira intestinal elucidados acima, a **figura 1** mostra, de forma esquemática, os diversos componentes que atuam na manutenção da homeostase desta barreira (RODRIGUES et al., 2019; PÉREZ, 2018).



**Figura 3.** Representação esquemática da regulação da barreira funcional intestinal e os diversos componentes atuam na manutenção da homeostase desta barreira. De forma resumida, pode observar: No lúmen intestinal, a microbiota residente tem papel protetor contra bactérias patogênicas, evitando a colonização e invasão no epitélio. A camada mucóide, com peptídeos antimicrobianos e mucinas, funciona como barreira para a penetração de antígenos microbianos. Tais substâncias são produzidas por células especializadas do epitélio intestinal, células caliciformes (mucina) e células de Paneth (peptídeos antimicrobianos). A IgA, presente também na camada mucóide é secretada por células plasmáticas na lâmina própria. A regulação imunológica da barreira se inicia com a ativação por antígenos de receptores de reconhecimento de padrões (PRRs), receptores toll-like (TLRs) e receptores de domínio de oligomerização de ligação de nucleotídeos (NODs), que induzem a liberação de citocinas que podem ativar células do sistema imune localizadas na lâmina própria. Alternativamente, células do epitélio intestinal especializadas em endocitar e transportar antígenos para a lâmina própria (células M) podem atuar, havendo reconhecimento por células apresentadoras de antígenos (células dendríticas) para processamento e indução de células T, podendo gerar distintos perfis Th1, Th2 e Treg. Os mediadores inflamatórios liberados no processo (citocinas TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ ) podem modificar as funções das junções firmes, levando à distúrbios de permeabilidade intestinal. A complexa interação sistema nervoso-sistema imune também ocorre na barreira intestinal, com atuação importante de células especializadas do epitélio, células neuroendócrinas, que podem secretar neuropeptídeos reguladores da resposta imune. Fonte: RODRIGUES et al., (2019).

## 2.4 PAPEL DA MICROBIOTA INTESTINAL

Cada compartimento intestinal possui um ecossistema microbiano único e que desempenha papel importante para o hospedeiro, promovendo uma barreira de defesa e auxiliando na digestão e obtenção de energia a partir da dieta, dando suporte nutricional aos enterócitos e estimulando o sistema imunitário (SAAD, 2006; SUCHODOLSKI, 2011).

O termo microbiota intestinal refere-se a uma variedade de espécies de microrganismos vivos, principalmente bactérias anaeróbicas, que colonizam o intestino logo após o nascimento. É constituído por uma microbiota residente e de transição temporária, sendo considerada como um dos ecossistemas mais complexos já estudados (SUCHODOLSKI et al., 2010).

Diversos estudos têm mostrado que o intestino de mamíferos abriga aproximadamente um total de  $10^{10}$  a  $10^{14}$  bactérias, sendo este número 10 vezes superior ao número total de células do hospedeiro, mas em ambiente de estabilidade. Esta estabilidade ocorre pela tolerância do sistema imunológico, uma vez que esta é a sua resposta normal (HALL, GERMAN, 2005).

Este complexo ecossistema microbiano e a relação equilibrada deste com as células eucariontes do hospedeiro, possui um grande impacto na saúde e na doença de cães e gatos (FERREIRA et al., 2014), visto que a estimulação do sistema imunológico do hospedeiro pelos metabólitos microbianos permite ao sistema imune atuar de forma específica contra bactérias patogênicas e á outros antígenos que causem perturbações a este ecossistema (HONNEFFER et al., 2014). Esta interação é a chave mestre da coevolução da microbiota intestinal com seus hospedeiros e também alvo de muitos grupos de pesquisa que estudam novas abordagens terapêuticas para patologias que têm como causa-base à presença de alterações entre microbiota e sistema imune.

A importância dos microrganismos residentes no intestino pode ser observada em vários níveis, passando desde a influência nas propriedades de proliferação, diferenciação e renovação celular do epitélio intestinal, até a modulação da permeabilidade intestinal, através da expressão de peptídeos antimicrobianos e da formação de camada de muco para a barreira físico-química (RODRIGUES et al., 2019).

O desenvolvimento e estabelecimento da microbiota intestinal são influenciados por diversos fatores externos como o tipo de parto, aleitamento materno ou artificial, contaminação ambiental, hábitos alimentares e sociais, uso de antimicrobianos, ocorrência de processos inflamatórios, status do sistema imune, características genéticas, entre outros. Estes fatores podem facilitar ou dificultar a instalação e maturação de um ecossistema balanceado e, conseqüentemente, podem interferir no

histórico de saúde do hospedeiro (PENNA; NICOLI, 2001; HALL, GERMAN, 2005; YATSUNENKO et al., 2012; HONNEFFER et al., 2014; SHREINER, KAO, YOUNG, 2015).

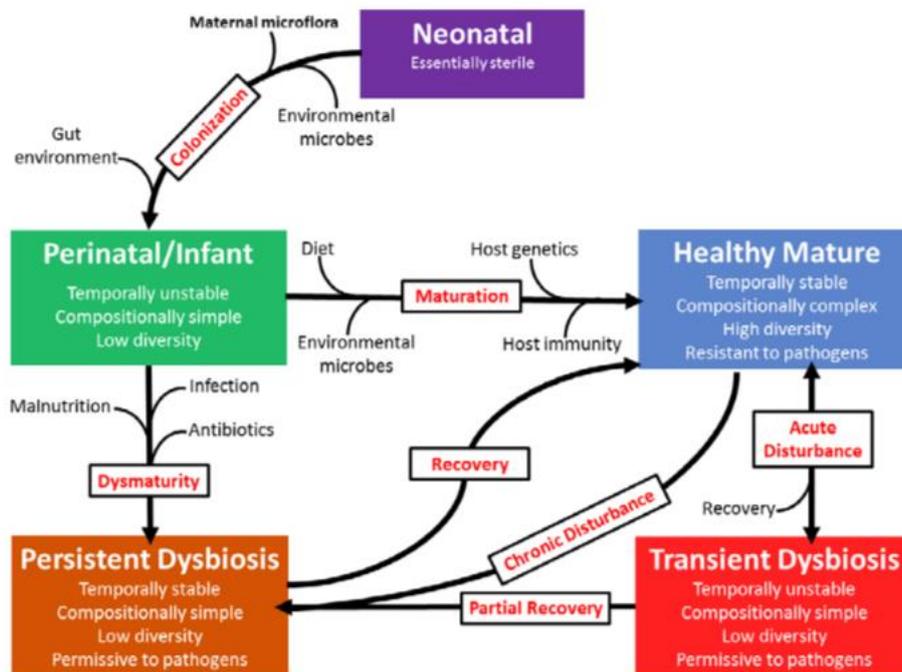
O início da colonização da microbiota de um novo indivíduo ocorre exatamente no momento do parto, no qual o neonato estéril é exposto ao contato direto com bactérias presentes no canal do parto e na vulva de sua genitora (BIASUCCI et al., 2010; DOMINGUEZ-BELLO et al., 2016). Este processo é de extrema importância, tanto para o desenvolvimento do sistema imunológico como de uma microbiota adequada, o qual fornece ao neonato resistência à exposição e colonização de bactérias enteropatogênicas, imunomodulação e, ainda, dão suporte nutricional aos enterócitos, resultante das interações locais e dos metabólitos produzidos pela microbiota doada pela mãe, oferecendo fontes energéticas e de vitaminas (PENNA; NICOLI, 2001; HONNEFFER et al., 2014; BIASUCCI et al., 2010).

Ainda dentro deste contexto, pesquisas vêm sugerindo que a colonização da microbiota de neonatos é influenciada pelo contato de organismos provenientes da mãe e do ambiente nas primeiras horas e nos primeiros dias de vida, tem a predominância de *Lactobacillus spp.* e *Bifidobacterium spp.* em crianças que nasceram por parto normal, sendo a microbiota similar a microbiota do canal vaginal da mãe e, em contrapartida, a microbiota de crianças que nasceram por cesárea são colonizadas por comunidades mais semelhantes a microbiota da pele, com predominância do gênero *Staphylococcus* (DOMINGUEZ-BELLO et al., 2010; BIASUCCI et al., 2010).

Outro dado interessante na composição da microbiota intestinal é a alteração que ocorre na fase juvenil do desenvolvimento de uma criança. Nesta fase há uma transição de filos bacterianos predominantes no TGI, de uma comunidade com dominância de *Actinobacteria* e *Proteobacteria*, para outra comunidade, onde predominam os filos *Firmicutes* e *Bacteroidetes*. Isso ocorre devido ao metagenoma do intestino nas fases iniciais de vida de um indivíduo ser caracterizado pelo enriquecimento de genes que requerem a quebra de açúcares simples, como lactose e galactose, enquanto que na fase juvenil a microbiota é enriquecida pela quebra de polissacarídeos e produção de vitaminas (FERREIRA et al., 2014).

Estes dois trabalhos mostram que a colonização em estágios iniciais é caracterizada pela profunda inter-individualidade e pela variação temporal, e limitada pela diversidade taxonômica intra-individual na composição do microbioma intestinal (PALMER et al., 2007; KUROKAWA et al., 2007; GARRET et al., 2010; EGGESBO et al., 2011; KOENIG et al., 2011; BARKO et al., 2018).

A colonização do microbioma intestinal também depende da ligação à sítios de adesão específicos, que são determinados geneticamente e podem sofrer interferências ou causar alterações nos receptores de células da mucosa do hospedeiro. As espécies que se encaixam nesse contexto, colonizam o intestino e se tornam a microbiota residente do TGI. Porém, a permanência destas bactérias no intestino depende da manutenção dessa ligação, o que exige especificidade e um ambiente adequado que varia no decorrer dos anos de vida de um indivíduo (BRANDT; SAMPAIO; MIUKI, 2006; ANDRADE, 2010). Na **figura 3** pode-se observar um diagrama que mostra os fatores que influenciam o desenvolvimento da uma microbiota intestinal estável durante a vida de um indivíduo.



**Figura 4.** Fatores que influenciam o desenvolvimento microbiano do intestino e a dinâmica dos diferentes estados ao longo do tempo. O microbioma gastrointestinal adulto é notavelmente estável, embora vários fatores influenciem os estados estacionários microbianos intestinais a partir do momento do nascimento. O microbioma infantil é derivado de organismos maternos e ambientais e se desenvolve sob pressão seletiva no intestino. Dieta, administração de medicamentos e estados de doença afetam o microbioma intestinal, levando a disbiose transitória ou persistente, dependendo da natureza do insulto e de sua duração. Fonte: BARKO et al., 2018.

Foram identificados no intestino de cães e gatos adultos cerca de 10 diferentes filos de bactérias, e em maior predominância estão presentes os filos *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria* e *Actinobacteria*, e em menor quantidade os filos *Tenericutes*,

*Verrucomicrobia*, *Cyanobacteria* e *Chloroflexi*. *Helicobacter* é um grupo de bactérias presente em maior quantidade no estômago, enquanto que no duodeno há predominância de *Enterobacteriaceae*, *Clostridiales*, *Bacteroidales* e *Lactobacillales*. Esta identificação dos filos presentes nos diferentes segmentos do TGI realizada pela análise metagenômica de amostras fecais de cães e gatos, permite avaliar a capacidade funcional da microbiota e determinar um padrão de filos presentes em animais saudáveis (HONNEFFER et al., 2014; MIDDELBOSS, et al., 2010; RITCHIE et al., 2008; SUCHODOLSKI et al., 2008; TUN et al., 2012; BARRY et al., 2012).

Portanto, a microbiota intestinal é um ecossistema que age de forma dinâmica e em equilíbrio simbiótico com as células do hospedeiro, contribuindo para a homeostasia energética, com o metabolismo, e para a saúde do sistema intestinal, regulando a atividade imunológica e ajudando no neurodesenvolvimento (SAAD, 2006).

## 2.5 TOLERÂNCIA IMUNOLÓGICA

A tolerância imunológica depende de fatores importantes de barreira, como a atividade proteolítica das enzimas gástricas, intestinais e pancreáticas; associada a motilidade do intestino delgado funcionando em conjunto, favorecem a quebra de macromoléculas, em especial das proteínas alimentares, e contribuem para a redução de seu potencial antigênico, resultando em uma estimulação tolerogênica (MACPHERSON, SMITH, 2006; MOENS, VOLDHDEN, 2012).

A ocorrência de diferentes padrões de resposta imunológica é determinada, especialmente, pela natureza do antígeno, pelo local de penetração deste no organismo, pelo período da vida em que esse contato acontece e pela existência, ou não, de reação inflamatória local e sistêmica. Assim, os antígenos que conseguem penetrar com frequência pela mucosa gastrointestinal, tendem a induzir respostas com perfil de tolerância, sendo também acompanhadas de uma memória imunológica (MOWAT, 1987).

A tolerância imunológica é caracterizada por uma hiperatividade local com proliferação de células *Treg*, pela produção de citocinas anti-inflamatórias (IL-10 e TGF- $\beta$ ) e de IgA secretória (protetora de mucosa), concomitante à hiporresponsividade sistêmica com baixa produção de IgG e IgE específicas (CAMPOS; OLIVEIRA; LESSA, 2014). Esse fenômeno é o oposto ao observado em distúrbios inflamatórios presentes nas hipersensibilidades alimentares e em doenças autoimunes, cujo predomínio é de células T efetoras e citocinas inflamatórias (BARKO et., 2018).

Esta indução de tolerância imunológica e, em especial, a tolerância oral têm atraído considerável atenção de grupos de estudos como uma possibilidade terapêutica, visto que através da ingestão de certos alimentos (ou de nutracêuticos) podemos modular a resposta imunológica associada a mucosa intestinal, desencadeando uma resposta de tolerância, ao invés de uma resposta alarmante do organismo (TANG, MARTINO, 2013).

Portanto, a organização morfofisiológica da mucosa intestinal e a presença de uma microbiota estável, permitem ao sistema imunológico associado à mucosa intestinal, à manutenção da homeostasia do organismo por meio da interação com outros sistemas, que assim, vão prevenir o desenvolvimento de imunopatologias na mucosa.

## 2.6 DOENÇA INFLAMATÓRIA INTESTINAL

A doença inflamatória intestinal (DII ou do inglês, IBD - *Inflammatory Bowel Disease*, IBD) é considerada atualmente uma das causas mais comuns de vômitos e diarreia em cães. Embora, o termo DII se refira a um processo inflamatório do intestino, que é o órgão comumente mais afetado, em alguns casos existe também o envolvimento de outros segmentos do TGI. A DII geralmente acomete um dos segmentos do TGI, porém, em casos mais graves, pode vir a afetar todo o sistema, ocasionando um quadro de inflamação sistêmica (TAMS, 2003; CAVE, 2003; GERMAN et al., 2003; GUIMARO, 2010).

### 2.6.1 ETIOPATOGENIA

A DII ocorre com maior frequência em animais entre quatro a sete anos, mas pode ocorrer também em animais jovens não havendo uma predisposição de gênero. Em relação a predisposição racial, algumas raças caninas são mais susceptíveis ao desenvolvimento de alguns tipos de DII, como: a enteropatia imunoproliferativa do Basenji, a enteropatia com perda de proteína e nefropatia com perda de proteína do Wheaten Terrier, e a colite ulcerativa histiocítica do Boxer, sendo esta última descrita em outras raças (Buldogue Francês, Doberman Pincher, Mastiff e Alaskan Malamute) (CERQUETELLA *et al.*, 2010; HALL, GERMAN, 2010; GAMEIRO, 2016).

Quanto à localização, esta doença pode ocorrer isoladamente em um dos segmentos do ID ou IG, ou de forma menos frequente, acometer outro órgão do sistema gastrointestinal, como o

estômago ou esôfago, ou ainda pode estender-se a todo o TGI de forma difusa (GASCHEN, 2011; GAMEIRO, 2016).

Os mecanismos relacionados ao desenvolvimento da doença ainda não estão completamente elucidados, mas estudos estão identificando alguns mecanismos envolvidos na patogenia da DII, como a perda da tolerância imunitária a nível entérico a antígenos luminais (bactérias endógenas e componentes dietéticos); a excessiva estimulação do sistema imunitário devido a defeitos na integridade da mucosa; infecções recorrentes e não responsivas ao tratamento; ao uso indiscriminado de antibióticos; ao estresse emocional e ao excesso de carboidratos das dietas comerciais, e ainda à fatores genéticos, dada a predominância em certas raças (FOGLE, BISSET, 2007; GUIMARO, 2010). Contudo, a causa específica da DII segue desconhecida.

## 2.6.2 APRESENTAÇÃO CLÍNICA

Os sinais clínicos apresentados podem variar de acordo com o grau de severidade e a localização afetada, sendo os mais comumente observados são: vômito bilioso (pode ter plantas), hematêmese, diarreia do intestino delgado (fezes abundantes, aquosas, melena e ansas intestinais espessadas), diarreia do intestino grosso (fezes moles, hematoquezia, muco, aumento da frequência e tenesmo), desconforto e sensibilidade dolorosa abdominal, borborigmos e flatulência, perda de peso, diminuição do apetite, polifagia, picacismo, hipoproteinemia e ascite (GUÍMARO, 2010).

A DII ocorre com maior frequência em animais entre quatro a sete anos, mas pode ocorrer também em animais jovens, não havendo predisposição de gênero. Em relação à predisposição racial, algumas raças caninas são mais susceptíveis ao desenvolvimento de alguns tipos de DII, como: a enteropatia imunoproliferativa do Basenji, a enteropatia com perda de proteína e nefropatia com perda de proteína do Wheaten Terrier, e a colite ulcerativa histiocítica (HUC) do Boxer, sendo esta última descrita em outras raças (Buldogue Francês, Doberman Pincher, Mastiff e Alaskan Malamute) (CERQUETELLA *et al.*, 2010; HALL, GERMAN, 2010; GAMEIRO, 2016).

Quanto à localização, esta doença pode ocorrer isoladamente em um dos segmentos do ID ou IG, ou de forma menos frequente, acometer outro órgão do sistema gastrointestinal, como o estômago ou esôfago, ou ainda pode estender-se a todo o TGI de forma difusa (GASCHEN, 2011; GAMEIRO, 2016).

A HUC é uma forma de DII que ocorre mais frequentemente em cães da raça Boxer, sendo caracterizada por predomínio de infiltrados inflamatório histiocíticos na lâmina própria. Os sinais

clínicos ocorrem predominantemente em cães jovens, antes dos 2 anos de idade, e incluem diarreia, hematoquezia, aumento da frequência de defecação, tenesmo, muco excessivo e ocasionalmente, perda de peso ou inapetência. É confirmada por biópsia colônica, a qual revela infiltração de macrófagos através da coloração especial de PAS (ácido periódico de Schiff). A terapêutica convencional da HUC com fármacos imunossupressores, anti-inflamatórios, antibióticos e modificações da dieta falham, e o prognóstico geralmente é reservado. Algumas remissões são observadas em casos em que o diagnóstico é feito precocemente (TANAKA, NAKAYAMA, TAKASE, 2002).

### 2.6.3 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico presuntivo da DII é por exclusão, sendo proposto 3 pilares de investigação: a identificação dos sinais clínicos gastrointestinais, descartar outras etiologias que se expressem os mesmos sintomas e, por último, a demonstração histológica da inflamação (ZENTEK et al., 2007; GUIMARO, 2010).

Dentre os principais diagnósticos diferenciais estão: a giardíase crônica, o SIBO (Sobrecrescimento bacteriano intestinal), as infecções intestinais por *Campylobacter* ou por *Salmonella*, a alergia alimentar, a linfagiectasia, infecção por *Escherichia coli* (*E.coli*), o *Clostridium perfringens* e a insuficiência pancreática exócrina (IPE) e o linfoma, sendo que em todas estas afecções pode se observada um quadro de gastroenterite com infiltrado inflamatório (Jergens et al., 199; TAMS, 2003; HALL, GERMAN, 2005). Para facilitar a visualização dos diagnósticos diferenciais e auxiliar o MV a diagnosticar a DII, GUÍMARO (2010) construiu uma tabela com os testes disponíveis para a exclusão de outras causas de inflamação intestinal com os respectivos trabalhos publicados na literatura, demonstrado na figura abaixo (**figura 3**).

Teste	Exclusão de	Referência Bibliográfica
Esfregaço directo	<i>Giardia, Campylobacter jejuni</i>	Matz & Guilford, 2003
Flutuação fecal em sulfato de zinco ELISA	<i>Giardia</i>	Decock, Cadiergues, Larcher, Vermot & Franc, 2003; Willard, 2009
Flutuação fecal	<i>Trichuris</i>	Tams, 2003a; Hall & German, 2005
Tratamento empírico – Fenbendazol	<i>Giardia e Trichuris</i>	Hall, 1999; Tams, 2003a
Culturas fecais	<i>Salmonella spp, Campylobacter jejuni e Yersinia enterocolitica</i>	Chandler 2002c; Washabau & Holt, 2005; Cave, Marks, Kass, Melli & Brophy, 2002
Cultura fecal	<i>E.coli e Histoplasma capsulatum</i>	Chandler 2002c; Washabau & Holt, 2005; Sturgess, 2005
Citologia fecal e rectal	Células inflamatórias, <i>Histoplasma capsulatum</i> , bactérias (esporos de <i>C.perfringens</i> e <i>C.jejuni</i> )	Elwood, 1999; Hall & German, 2005
Avaliação da enterotoxina fecal	<i>Clostridium perfringens</i>	Tams, 2003b; Washabau & Holt, 2005
Pesquisa de sangue oculto	Úlcera ou tumor	Hall & German, 2005
Cultura quantitativa		German <i>et al.</i> , 2003b
Medição do folato e cobalamina	SIBO	Matz & Guilford, 2003; Suchodolski & Steiner, 2003 German, Martin, Papasouliotis & Hall, 1998a; Chandler 2002c; Matz & Guilford, 2003
Medição do hidrogénio expirado		Suchodolski & Steiner, 2003; Hall & German, 2005; Melgarejo, Williams, O'Connell, Setchell, 2000; German <i>et al.</i> , 2003b)
Ácidos biliares não conjugados séricos		Steiner, Williams & Moeller, 2000; Matz & Guilford, 2003; Steiner, Williams & Moeller, 2003; Frias, Sankari & Westermarck, 2004; Allenspach <i>et al.</i> , 2006a; Kobayashi <i>et al.</i> , 2007)
Teste de permeabilidade a os açúcares	Permeabilidade intestinal	Suchodolski & Steiner, 2003; Tams, 2003a; Hall & German, 2005; Matz & Guilford 2003
ELISA do Fα1-PI	Perda de proteína intestinal	Suchodolski & Steiner, 2003; Tams, 2003a; Hall & German, 2005; Matz & Guilford 2003
TLI		Suchodolski & Steiner, 2003; Matz & Guilford, 2003
cPLI	IPE	Kathrani <i>et al.</i> , 2009
Elastase pancreática fecal canina		Spillman <i>et al.</i> , 2000
Biopsia e análise histopatológica	Neoplasia	Hall & German, 2005
Teste de estimulação com ACTH	Hipoadrenocorticismo	Steiner, 2005b; Sturgess; 2005
Dieta hipoalérgica	Reacções adversas aos alimentos	Jergens, <i>et al.</i> , 1992; Elwood, 1999; Chandler, 2002a; Sherding, 2003; Hall & German, 2005

**Figura 5.** Testes utilizados para o diagnóstico diferencial de outras causas de inflamação com as respectivas referências bibliográficas. Fonte: GUÍMARO (2010).

O plano de diagnóstico começa por um histórico completo e por um exame físico minucioso, seguido da realização de hemograma, análise dos parâmetros bioquímicos séricos, urinálise, exames fecais (esfregaço e flutuação), ultrassom e/ou radiografia da cavidade abdominal (JERGENS *et al.*, 2003).

No hemograma geralmente se observa uma anemia leve, normocítica, normocrômica e não regenerativa e alguns animais podem apresentar anemia por deficiência em ferro devido a uma perda de sangue intestinal crônica. Além disto, pode haver monocitose, linfopenia e um hematócrito ligeiramente aumentado devido à desidratação. Na análise do bioquímico sérico, são descritas algumas alterações como um aumento das enzimas hepáticas (ALT e FA) e hipoalbuminemia, que nestes casos também devendo ser descartadas a presença de tumores, doença renal e hepática pela realização da urinálise e à medição dos ácidos biliares séricos. A amilase e lipase podem estar aumentadas, hipocolesterolemia e o níveis de magnésio e potássio reduzidos (HALL, 1999;

JERGENS et al., 1992; WASHABAU, HOLT, 2005; KIMMEL, WADDEL, MICHEL, 2000; STEINER, 2005; ZENTEL et al., 2007; GAMEIRO, 2016).

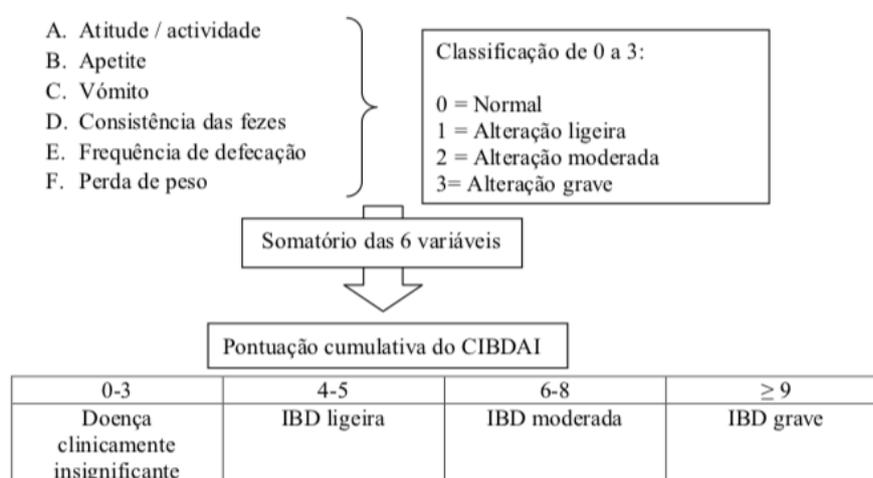
Pela urinálise pode-se descartar doença renal, doença hepática, hipoadrenocorticismo e hepercalcemia (ZENTEK et al., 2007; GAMEIRO, 2016).

Através da radiografia simples, poucas alterações podem ser observadas. Portanto, os exames de ultrassonografia (que mede a espessura e a ecogenicidade da parede das diferentes partes do TGI) e outros exames complementares como a radiografia contrastada (apenas realizada se os sinais clínicos e a palpação justificarem) e a endoscopia têm maior relevância no diagnóstico da DII (JERGENS et al., 1992; TAMS, 2003; RIEDESEL, 2007; GAMEIRO, 2016). Sendo a endoscopia a ferramenta mais valiosa e menos invasiva para o diagnóstico de doença gástrica e intestinal, pois permite a visualização da mucosa e a colheita de biópsias de diferentes segmentos do TGI (SUCHODOLSKI, STEINER, 2003; GAMEIRO, 2016). As biópsias devem ser colhidas de mais do que um local e também de zonas que não apresentem grandes alterações. Segundo ZORAN (2001), o número de amostras ideal deve ser entre 8 a 10 do estômago, 6 a 8 do duodeno e 4 amostras do colón ascendente, transverso e descendente.

Na avaliação histológica pode ser observada, além de células inflamatórias, defeitos na arquitetura da mucosa intestinal, sendo considerado o *gold standard* no diagnóstico de DII e, de forma ainda superior, no exame citológico (JERGENS et al. 1998; ZORAN, 2001; GAMEIRO, 2016) Em relação ao tipo de células inflamatórias, o infiltrado mais comum nos cães é o linfoplasmocítico, sendo constituído por linfócitos e plasmócitos; o segundo mais frequente é o eosinofílico, constituído de eosinófilos; o histiocítico ou granulomatoso, que afeta principalmente cães da raça Boxer e Buldogues; e o neutrofílico ou supurativo (HALL, 1999; GUÍMARO, 2010), sendo estes dois últimos ainda raramente descrito em cães segundo GERMAN e colaboradores (2003). Além do infiltrado inflamatório, outra classificação foi proposta por Jergens e colaboradores (1992) de acordo com a gravidade da DII, divididas em 3 graus: 1. leve, em que não há alterações estruturais ou imaturidade epitelial; 2. moderado, quando os infiltrados celulares são acompanhados de imaturidade epitelial e/ou necrose epitelial solitária; 3. grave, quando as lesões apresentam necrose epitelial multifocal ou distorção estrutural com imaturidade epitelial.

Jergens e colaboradores (2003) quantificaram o nível de doença, a partir de seis sintomas clínicos de cães com IBD num sistema de classificação (*Canine IBD activity index*, **figura 6**), relacionando a gravidade destes com os níveis de proteína C-reativa e com o quadro histológico.

O CIBDAI designa níveis de gravidade de cada sinal clínico relacionado com o sistema gastrointestinal (apetite, vomito, perda de peso, diarreia) e também a atitude que o animal apresenta. Estes sinais foram selecionados por serem considerados importantes indicadores de atividade da doença. Este sistema incorpora os principais sinais gastrointestinais, as observações clínicas, as alterações verificadas em cada consulta, é facilmente calculado, correlaciona índices objetivos e fornece informação prognóstica quanto à atividade da doença antes e após a terapêutica (JERGENS et al., 2003).



**Figura 6.** Critérios para avaliação do índice de classificação da IBD (CIBDAI) (adaptado de Jergens et al., 2003)

Alguns autores propuseram recentemente alterar o CIBDAI, adicionando três novas variáveis: dor abdominal, flatulência e diminuição/aumento do apetite. Verificou-se que o índice médio de atividade também decrescia com o tratamento, assim como a gravidade das lesões endoscópicas (García-Sancho et al., 2007). Allenspach e colegas (2007) propuseram outro sistema de classificação: o sistema de classificação CCECAI, com o objetivo de classificar as principais enteropatias crônicas que incluem reações adversas à dieta, IBD e PLE. Este novo sistema tem como base o CIBDAI, mas inclui mais três parâmetros: albumina, ascite/edemas periféricos e prurido. Todos estes sistemas têm como objetivo auxiliar o MV no diagnóstico, possibilitando um tratamento direcionando e mais efetivo, além de determinar um prognóstico mais acurado do paciente.

## 2.6.4 TRATAMENTO CONVENCIONAL

O tratamento basicamente envolve a modificação da dieta, o emprego de antibioticoterapia e de fármacos imunossupressores, independentemente do tipo de DII. Uma conduta muito importante que o MV responsável deve instruir sempre é a conscientização dos tutores de que se trata de uma doença crônica, e por este motivo, o objetivo do tratamento é o controle dos sintomas e prevenir as recorrências (GAMEIRO, 2016).

### 2.6.4.1 MODIFICAÇÕES DIETÉTICAS E ADIÇÃO DE NUTRACÊUTICOS

Na modificação da dieta, alguns autores preconizam a terapêutica dietética antes da introdução dos fármacos, pois, em alguns casos mais brandos de DII, os animais afetados acabam respondendo ao tratamento com apenas esta modificação (HALL, GERMAN, 2005). Esta dieta, também conhecida como dieta de eliminação, consiste em alterar a fonte protéica por 3 a 4 semanas e restringir petiscos e outros alimentos oferecidos pelos tutores durante todo o período de tratamento. A nova dieta pode ser proveniente de alimentação natural (ou seja, de alimentos frescos cozidos) ou ração comercial de fonte protéica hidrolisada de modo a que os péptidos resultantes possuam menos de 10.000 daltons, tornando-se pequenos demais para serem reconhecidos pelo sistema imune da mucosa intestinal como antígenos (CHANDLER, 2002; TAMS, 2003; MARKS, 2003; ZORAN, 2003; MARKS, 2009; GAMEIRO, 2016). Quaisquer alterações nos sinais clínicos devem ser anotadas pelo tutor. Os benefícios da terapêutica dietética são melhorias clínicas, redução da hipersensibilidade a antígenos dietéticos, alteração da motilidade intestinal e composição da microbiota intestinal, e da morfologia e função da mucosa intestinal (GAMEIRO, 2016).

No mercado, há uma variedade de rações de fonte proteica hidrolisadas, como por exemplo: a Royal Canin Veterinary Diet: Sensitivity Control®, a Hill's Prescription Diet Canine: d/d® ou a Purina Veterinary Diet Canine Formula: DRM®; fontes de proteínas hidrolisadas, como a Royal Canin Veterinary Diet: Hypoallergenic® ou Low Fat®, Hill's Prescription Diet: z/d low allergen® e z/d ultra® ou a Purina Veterinary Diet Canine Formula: HA® (GAMEIRO, 2016).

De forma resumida, as diretrizes dietéticas para os casos de DII de intestino delgado são: dietas altamente digeríveis, hipoalergênicas, sem glúten, com baixo teor de lactose, baixo teor em gordura e equilibrada em termos de eletrólitos e vitaminas hidro e lipossolúveis. Em casos de

envolvimento do colón, a dieta segue as mesmas diretrizes da dieta para o intestino delgado associando apenas a suplementação da dieta com fibras moderadamente fermentáveis, como por exemplo a fibra psyllium ou citrulina (CHANDLER, 2002; GUILFORD MATZ, 2003; MARKS, 2003; ZORAN, 2003).

Associadas a estas diretrizes, alguns autores sugerem o emprego de algumas vitaminas e nutracêuticos associados à dieta, pelos seus inúmeros benefícios que otimizam o tratamento da DII (CHANDLER, 2002; DAVENPORT et al., 2000; ZORAN, 2003). Estes nutracêuticos são:

- ✓ **L-glutamina** (20-40 mg/kg): aminoácido não essencial, mas utilizado como fonte de energia pelos enterócitos e pela sua ação de recuperação estrutural e funcional da mucosa do intestino delgado (CHANDLER, 2002; DAVENPORT et al., 2000; ZORAN, 2003).
- ✓ **FOS** (fructooligossacáridos, 20-50 mg/kg): fibras solúveis que quando chegam ao cólon são fermentadas especialmente por bactérias benéficas (por exemplo, *Lactobacillus* sp. e *Bifidobacterium* sp.), promovendo a proliferação destas espécies bacterianas e inibindo o desenvolvimento de bactérias patogénicas;
- ✓ **Ômega 3** (EPA/DHA, 500mg a 1g/dia): encontrado nos óleos de peixe que possui uma potente atividade anti-inflamatória (Davenport et al., 2000; Jergens, 2002; Marks, 2003; Wild et al., 2007);
- ✓ Suplementação com níveis otimizados de **vitaminas do complexo B, A, C, D, E, K<sub>2</sub>** e de minerais, como o **magnésio e potássio**: para repor a perda entérica dessas vitaminas nos pacientes com DII;
- ✓ Suplementação de **vitamina B12** (cobalamina, 250 µg, IM, semanalmente): animais acometidos pela DII apresentam uma alta deficiência dessa vitamina, sendo a suplementação recomendada (STEINER, 2019).
- ✓ **Próbióticos**: cepas de bactérias benéficas que produzem substâncias antibacterianas, competem por substrato com bactérias patogénicas, modulam as respostas imunes intestinais e melhoram a função do intestino como barreira física (Jergens, 2007; Zentek, 2007).
- ✓ **Enzimas digestivas** (bromelina, papaína e pancreatina): ajudam a digerir mais o alimento, ajudando a evitar a retenção de partículas proteicas não-digeridas, que podem iniciar alergias alimentares e facilitar a inflamação (FERMINO, 2019; MORAES, 2019).

#### 2.6.4.2 ANTIPARASITÁRIOS

A terapia farmacológica da DII consiste no emprego inicial de antiparasitários para exclusão de parasitas no TGI, sendo o Fenbendazol o fármaco de eleição (na dose de 50 mg/kg/VO/SID durante 3 a 5 dias e com reforço após 15 dias) (ALLEN et al., 2005; TENNANT, 2005; GAMEIRO, 2016).

#### 2.6.4.3 ANTIBIOTICOTERAPIA

O uso de antibióticos se justifica pelo fato de antígenos bacterianos estarem envolvidos na etiologia da DII, e também, porque frequentemente ocorre o desenvolvimento bacteriano secundário a DII (GERMAN, 2009; ZENTEK et al., 2007; GAMEIRO, 2016). O metronidazol é o antibiótico mais empregado na clínica de pequenos animais com DII pela sua ação antiprotozoária e por possuir características imunomoduladoras através da inibição da imunidade celular, e por terem um bom espectro contra bactérias anaeróbicas e efeitos benéficos na enzimas das vilosidades melhorando a absorção de nutrientes como a glicose e aminoácidos, sendo a dose utilizada de 10 a 20 mg/kg a cada 8 a 12 horas (GUILDORD, 1996; TAMS, 2003; MARKS, 2009; GAMEIRO, 2016).

Outros autores também recomendam como antibiótico para o tratamento de DII, alternativo ao metronidazol, a tilosina na dose de 20 a 40 mg/kg a cada 12 horas (ALLEN et al., 2005; TENNANT, 2005, WESTERMARCK et al., 2005, MARKS, 2009, GAMEIRO, 2016). A tilosina possui espectro de atividade contra bactérias anaeróbicas obrigatórias e facultativas gram-positivas, e algumas gram-negativas (PARNELL, 2009). Em um estudo conduzido por WESTERMACK, FRIAS e SKRYPCZAK, a associação de dieta hipoalergêncica com tilosina mostrou ser efetiva para o controle de diarreia em pacientes com DII.

#### 2.6.4.4 FÁRMACOS IMUNOSUPRESSORES

A terapia imunossupressora só é adicionada ao protocolo de tratamento de DII quando não se observa melhora no quadro clínico dos pacientes tratados com antibiótico e pela modificação dietética associada a vitaminas e nutracêuticos. Os corticóides são a primeira linha terapêutica na

DII, sendo a prednisolona a mais empregada pelos clínicos, mas a prednisona também pode ser utilizada.

A prednisolona possui excelente atividade anti-inflamatória e imunossupressora e ainda estimula o apetite, aumenta a absorção intestinal de água, sódio e glutamina e regula o transporte basal de eletrólitos do colón. (MARKS, 2009; GAMEIRO, 2016). A prednisona e a prednisolona tem as propriedades de reduzir a ativação de células inflamatórias como neutrófilos, diminuir a proliferação de linfócitos B e a produção de citocinas e quimiocinas, induzir apoptose de linfócitos T e ainda diminuem o tempo de semi-vida dos eosinófilos (AMMERSBACH et al., 2006; GAMEIRO, 2016). A dose da prednisolona inicial é de 1-2 mg/kg/VO a cada 12 horas durante 2 a 4 semanas e, em seguida, uma redução gradual que pode prolongar-se por semanas a meses (JERSENS, 2002; HALL, GERMAN, 2005), e a prednisona também é empregada na mesma dose, porém com uma redução gradual mais prolongada de 6 a 10 semanas quando a remissão clínica for atingida, e principalmente, sabendo-se que a combinação desta terapia com a modificação dietética, azatioprina ou metronidazol pode diminuir a dose de prednisona utilizada (MARKS, 2009).

Outro anti-inflamatório esteroide (AIE) empregado no tratamento de DII, é a Budesonida, que é um glucocorticóide e uma boa alternativa em casos refratários à terapêutica conjunta com prednisolona, metronidazol, azatioprina e o manejo dietético (GERMAN, 2006; MARKS, 2009; GAMEIRO, 2016). Este glucocorticóide têm menores efeitos colaterais sistêmicos quando comparado aos outros os AIEs recomendados no tratamento de DII (TUMULTY et al., 2004; STROUP et al., 2006). Esses resultados foram obtidos em trabalhos realizados em humanos, visto que não há estudos de biodisponibilidade em cães descritos na literatura até o momento, mostrando que cerca de 90% da budesonida é metabolizado na primeira passagem hepática e convertida a metabólitos de baixa atividade corticosteroide, além de possuir uma alta afinidade a com mucosa. Em cães de pequeno porte tem sido recomendado a dose de 1 mg uma vez ao dia, podendo atingir até 3 mg, já em cães de grande porte, a dose é de 3 mg duas vezes ao dia, passando posteriormente a 3 mg uma vez ao dia e finalmente administrada em dias alternados em terapia a longo prazo, e igualmente aos outros AIE deve ser retirado de forma gradual para não provocar supressão no eixo hipotalâmico-hipofisário (STROUP et al., 2006; FOGLE, BISSET, 2007; MARKS, 2009; GAMEIRO, 2016).

A dexametasona deve ser evitada no tratamento de pacientes com DII, devido ao seu efeito deletério aos enterócitos e ao seu tempo de ação prolongado, tornando difícil o seu controle por

não possibilitar a terapia em dias alternados (GUILFORD, 1996; GAMEIRO, 2016). Porém, em alguns cães por razões individuais, a sua administração foi bem tolerada e os seus efeitos deletérios inexistentes ou mínimos (TAMS, 2003; GAMEIRO, 2016).

Nos casos graves e refratários, quando ocorre marcada hipoproteinemia decorrente da DII ou em pacientes que não se adaptem ao uso de glucocorticoides, o segundo fármaco mais empregado é a Azatioprina. Esta é utilizada na dose inicial de 2 mg/kg/VO (50 mg/m<sup>2</sup>) a cada 24 horas (HALL, GERMAN, 2005; WILLARD, 2005; GAMEIRO, 2016), e quando utilizada em conjunto com a prednisolona deve-se reduzir a dose em 50% a 70% da dose (TAMS, 2003). Os efeitos da azatioprina podem demorar até três semanas para serem observados, e dado o seu potencial imunossupressivo é importante a monitoração por meio de hemogramas a cada 10 a 14 dias nos 2 a 3 meses iniciais, e após pode ser o período e realizar hemograma mensalmente. A azatioprina suprime a imunidade celular, altera a produção de anticorpos e inibe o crescimento celular, portanto, o tratamento deve ser interrompido quando houver marcada neutropenia e trombocitopenia, geralmente utilizada por até 3 a 9 meses sendo a dose diária reduzida gradualmente em 50% quando observar a remissão dos sinais clínicos e subsequentemente dar em dias alternados (HALL, GERMAN, 2005).

A ciclofosfamida e a ciclosporina também podem ser empregadas como fármacos imunossupressores, mostraram poucas vantagens em comparação a azatioprina (HALL, GERMAN, 2005). As doses empregadas são 50 mg/m<sup>2</sup>, quatro vezes durante a semana e, na dose de 3 a 5 mg/kg/VO a cada 12 horas, respectivamente (TENNANT, 2005; WILLARD, 2009).

#### *2.6.4.5 FÁRMACOS ANTI-INFLAMATÓRIOS*

Na terapia dirigida ao cólon, a sulfassalazina é o fármaco de eleição na colite crônica em cães e funciona como inibidor de prostaglandina sintetase, agindo sobre os leucotrienos e também tem ação sobre o NFkB (fator nuclear kappa B) (GUILLARD, 1996; JERGENS, 1999; SHERDING, 2003; ALLEN et al, 2005; WASHABAU, HOLT, 2005; MCQUAID, 2004). Após administrada, cerca de 75% do fármaco alcança o cólon, até atingir as bactérias cecais e colônicas que metabolizam o fármaco na forma de sufapiridina. A dose recomendada para a DII que envolva o intestino grosso é de 50 a 60 mg/kg/VO dividida em 3 vezes por dia, sem exceder os 3 gramas diários, durante pelo menos 2 semanas. Se o animal responder bem à esta

terapêutica, a dose pode ser reduzida gradualmente, 25% a 30% a cada duas a três semanas, e se não puder ser totalmente retirada deve ser mantida na dose mínima efetiva para cada paciente (WILLARD, 2009; GAMEIRO, 2016).

Um importante efeito colateral do uso contínuo da sulfassalazina em cães é o desenvolvimento de ceratoconjuntividade seca (CCS). Portanto, a avaliação oftalmológica também deve ser realizada de forma periódica para monitorar qualquer alteração na produção lacrimal dos cães. Dentro deste contexto, outros dois anti-inflamatórios derivados do 5-aminosalicilatos foram desenvolvidos de modo a reduzir a toxicidade da sulfapiridina, sendo eles a mesalamina e a dimesalamina (olsalazina). A Olsalazina já está sendo empregada no tratamento de DII envolvendo o intestino grosso, na dose de 5 a 10 mg/kg/VO três vezes ao dia (WASHABAU, HOLT, 2005; WILLARD, 2009; GAMEIRO, 2016).

#### 2.6.4.6 TERAPIAS ADJUVANTES

A fluidoterapia é necessária nos casos de animais desidratados decorrente de quadros contínuos de vômito e diarreia, mas também pode ser devido a diminuição da ingestão de água. A administração de cristaloides é a mais recomendada (solução de Lactato Ringer ou a de NaCl a 0,9%) e pode ser adicionado a suplementação de potássio (15-40 mEq/L) naqueles animais com quadros de vômito (WILLARD, 2009; GAMEIRO, 2016).

A metoclopramida também é empregada no controle do vômito, pela sua ação central nos quimiorreceptores da zona de disparo e atua como pró-cinético, acelerando o esvaziamento gástrico e a motilidade intestinal. A dose empregada pelas vias oral e endovenosa é de 0,2 a 0,5 mg/kg/QID ou na dose de 1 a 2 mg/kg/dia por infusão contínua. Nos pacientes que não respondem a metoclopramida, pode ser empregado o uso do citrato de maropitant (Cerenia©) na dose de 1 mg/kg/SC ou 2 a 8 mg/kg/VO, que é um antagonista seletivo da substância P nos receptores de neuroquinina-1, tendo sua efetividade superior quando comparada a metoclopramida (TENNANT, 2005; WILLARD, 2009, MARKS, 2009; BENCHAOUI et al. 2007; GAMEIRO, 2016).

Como protetores gástrico, podem ser empregados a cimetidina (dose de 5-10 mg/kg/VO/BID ou por via subcutânea, TID ou QID), a ranitidina (dose de 25 mg/kg/VO/BID, omeprazol (dose de 0,5-1 mg/kg/VO/SID), e em casos de úlceras e/ou erosões gástricas

recomenda-se associar o sucralfato para proteger estas o ácido clorídrico (dose de 0,5-1g por animal, BID ou TID) (ALLEN et al., 2005; WILLARD, 2009).

O uso de próbióticos também é recomendado por alguns autores, pois além dos efeitos antagonistas diretos nas bactérias patogênicas, modulam a resposta imunitária por estimulação do sistema imune inato e adaptativo (WEESE, ANDERSON, 2002; RINKINEN et al., 2003; CZARNECKI-MAULDEN, 2008).

### 2.6.5 MEDICINA INTEGRATIVA

A medicina integrativa é o conceito mais recente no debate das medicinas alternativas e complementares. Paralelamente à medicina oficialmente reconhecida, coexistem em nosso meio outras práticas de diagnóstico e de cuidados relacionados à saúde, e a tendência na literatura é abrigá-las sob o termo medicina complementar e alternativa (MCA) (OTANI, BARROS, 2011).

O termo MCA é atualmente caracterizado como “conjunto de diversos sistemas, práticas e produtos médicos e de atenção à saúde que não se consideram atualmente parte da medicina convencional”, segundo o Centro Nacional de Medicina Complementar e Alternativa dos Estados Unidos (NCCAM) (NOGALES-GAETE, 2004; NETO, FARIA, FIGUEIREDO, 2011).

Na história da medicina humana, registros mostram que o cuidado em saúde teve diferentes modelos, desenvolvidos de acordo com o contexto e as bases culturais e materiais de cada época, sendo o modelo ocidental atual é o convencional ou biomédico, o qual apresenta inovadoras soluções para problemas da saúde e doença. No entanto, há algumas décadas tem sido fonte crescente de insatisfação da população, devido a sua dicotomia do cuidado e à superespecialização nas diversas áreas da medicina (NETO, FARIA, FIGUEIREDO, 2011).

Em 2006, uma iniciativa fundamental do SUS foi a criação da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC), buscando ampliar a oferta e o acesso à prática da acupuntura, da homeopatia, da fitoterapia e do termalismo (BRASIL, 2006; OTANI, BARROS, 2011). Esta iniciativa foi uma grande conquista para os profissionais que já empregavam o uso deste tipo de terapia em seus pacientes.

As terapias complementares foram muito difundidas na Europa no início de 1920, sendo utilizadas de várias formas, seja no tratamento único ou conjugado a outras terapias tradicionais e complementares, na profilaxia, nas recidivas crônicas, nos tratamentos conservativos de lesões e doenças inoperáveis, intratáveis e também como forma de evitar a eutanásia em curto prazo (OTANI, BARROS, 2011).

Outros fatores também contribuíram para a disseminação das idéias alternativas, relacionando à lógica da alternância, assumindo ora um, ora outro aspecto, ou até associando mais de uma terapia no tratamento de uma doença. Esta associação de terapias é o que tem levado ao desenvolvimento de um novo conceito de MCA, sendo então proposto o conceito de “Medicina Integrativa” (MI) e aos poucos tem sido mais aceito por profissionais da área médica humana e veterinária (OTANI, BARROS, 2011).

Segundo pesquisas realizadas na literatura, várias descrições do conceito da MI foram encontradas, como por exemplo, segundo Maíz e Capsi (1999) “A MI valoriza a capacidade inata do corpo para a cura. Requer mudança de paradigma da doença à saúde. Um de seus princípios é o relacionamento terapêutico que facilita o processo de cura e focaliza as necessidades individuais do paciente. Enfatiza a participação do paciente no tratamento e a prevenção de doenças. Mantém o paciente no foco do tratamento e multiplica as estratégias disponíveis.” (FOLEY, 1999; REES, WEIL, 2001; EASTHOPE, 2003; MYERS, JACOBSEN, 2005).

Dentro deste contexto, na medicina veterinária também se observa este panorama, o que tem levado muitos tutores a procurarem formas alternativas de tratamento para seus animais de estimação, principalmente após o descontentamento de ter submetido o seu pet aos mais variados tipos de tratamentos que não amenizam os sinais clínicos, controlam ou proporcionam a cura da patologia que este apresenta, principalmente, naqueles pacientes que apresentam afecções concomitantes ou multissistêmicas.

As terapias da medicina integrativa disponíveis atualmente na medicina veterinária são: dietas nutricionais associadas, ou não, a nutracêuticos, massagens, fisioterapia, microfisioterapia, quiropraxia, uso de florais, acupuntura, reiki, homeopatia, ayurveda, cromoterapia, ozonioterapia, laserterapia, terapia restauradora do microbioma intestinal, entre outras, sendo estas empregadas de forma isolada ou associadas (LOPES, 2010).

#### *2.6.5.1 OZONIOTERAPIA*

A ozonioterapia é a técnica que utiliza o ozônio como agente terapêutico para diversas doenças, sendo empregada desde o século XIX, e, atualmente, é uma prática aprovada em alguns países (BOCCI, 1993; MORRETE, 2011).

Na literatura médica humana, há mais de 6.000 artigos sobre o uso medicinal do ozônio, sendo uma terapia altamente efetiva e de baixo custo. Na maioria das enfermidades em que o

aumento da oxigenação tecidual é vantajoso, o uso de aplicações de ozônio tivera uma resposta positiva ao tratamento (THOMAS, 1994; MORRETE, 2011). Porém, na medicina veterinária a literatura é escassa, mas a pesquisa dos benefícios da ozonioterapia em pequenos animais estão sendo incentivadas e realizadas por vários grupos de pesquisas (MORRETE, 2011).

O ozônio de aplicação médica é uma mistura de no máximo 5% de ozônio e 95% de oxigênio, e a dose utilizada no campo da medicina varia entre 1-100 mg de ozônio para cada litro de oxigênio de acordo com a via de administração e a patologia apresentada, sendo a sua meia-vida de aproximadamente 40 min em uma temperatura de 20° C (HERNÁNDEZ; GONZÁLEZ, 200; MORRETE, 2011).

Além de possuir um potencial oxidante, o ozônio é considerado um desinfetante importante, devido ao seu potente efeito bactericida pela oxidação do material biológico. Em estudos conduzidos por Mehlman e Borek (1987), observaram que o poder bactericida do gás ozônio pode atuar 3.500 vezes mais rápido que do cloro sobre os microorganismos. Outros trabalhos demonstram o efeito bactericida no tratamento de doenças ocasionadas por bactérias (*Escherichia coli* e *Clostridium spp.*), nos quais o resultado obtido foi de diminuição de 99% para ambas as espécies após ozonização (LAM, 2008; TRAVAGLI, 2010).

Foram citados inúmeros trabalhos na literatura, nos quais mostraram diversas doenças que afetam os seres humanos e que podem ser tratadas com a ozonioterapia isolada ou associada a outros métodos terapêuticos, como: doenças infecciosas agudas e crônicas causadas por vírus, bactérias, fungos e parasitas; infecções resistentes a antimicrobianos, como nos casos de ostiomielite, peritonite, abscesso fistuloso, úlceras diabetogênicas, picadas de inseto, queimadura, escaras de decúbito; infecções hepáticas, herpes zoster, papiloma vírus, candidíase e coadjuvante no tratamento de infecções pelo HIV e pelo vírus de hepatite; doenças autoimunes, como esclerose, artrite reumatóide, e doença de Crohn; doenças com isquemias crônicas, como cerebral e cardíaca; doenças degenerativas; doenças pulmonares (enfisema, asma, doença pulmonar obstrutiva crônica e síndrome da doença respiratória aguda; neuropatias, como a perda auditiva e a labirintite; doenças de pele, como psoríase e dermatite; câncer metastático quimio-resistente, objetivando reduzir a quimiotoxicidade e visando uma melhor qualidade de vida ao paciente; doenças ortopédicas; fibromialgia; periodontites e infecções bucais; e em situações emergenciais, como as que ocorrem após traumas extensos, queimaduras e sepses; e em pré-operatório de transplantes e cirurgias eletivas (TRAINA, 2008; MORRETE, 2011).

Os métodos de administração de ozônio podem ser por via subcutânea, intramuscular, intradiscal, intracavitária (espaços peritonal e pleural), intravaginal, intrauretral e vesical, e ainda pela administração de auto-hemoterapia ozonizada. Esta última pode ser subdividida em: maior (M-O3 AHT), e menor (m-O3 AHT). Na M-O3 AHT, utiliza-se aproximadamente metade do volume de uma transfusão sanguínea, ou seja, o sangue é coletado do próprio paciente e homogeneizado suavemente com a mesma quantidade da mistura oxigênio:ozônio, e posteriormente injetado novamente no paciente por via intravenosa. Na m-O3 AHT, uma quantidade menor de sangue é retirada do paciente, homogeneizada com a mesma quantidade da mistura oxigênio:ozônio, e a aplicação é feita intramuscular ou subcutânea (BOCCI et al., 2011; CHAITMAN et al., 2016).

#### 2.6.5.2 TERAPIA RESTAURADORA DE MICROBIOMA INTESTINAL

Por muitos anos, os veterinários utilizaram a transferência de comunidades microbianas de animais saudáveis para animais doentes, em um esforço para melhorar a saúde, especialmente em ruminantes (BRAG, HANSEN, 1994).

A terapia restauradora de microbioma intestinal (TRMI), ou também chamada de transplante de microbiota fecal (FMT), é um procedimento que envolve a administração de uma infusão fecal de um indivíduo saudável (doador) para um paciente com doença (KELLY et al., 2015).

Na medicina humana, o FMT tem sido usado com sucesso para tratar a infecção recorrente por *Clostridium difficile* e pode ser indicado para outros transtornos gastrointestinais (GI) e não-gastrointestinais (ANDERSON et al., 2012; SHA et al, 2014). O FMT em humanos para tratamento de doenças, particularmente os distúrbios intestinais crônicos foram exaustivamente revisados (KELLY et al., 2015).

Em contraste, não há estudos publicados com relação ao uso de FMT em cães e gatos, sendo que durante a reunião anual da Associação de Gastroenterologia no município de Placencia em Belize, realizado em março de 2015, um grupo de veterinários com diversos interesses em gastroenterologia levantaram essa preocupação e decidiram montar uma equipe de especialistas para fornecer informações e experiências sobre o FMT em pequenos animais e divulgar para a comunidade veterinária em todo o mundo (CHAITMAN et al., 2016).

Os suplementos dietéticos, como probióticos, prebióticos e sua combinação (isto é, simbióticos) têm o potencial de melhorar a saúde em pequenos animais por meio de uma modificação da microbiota intestinal. A razão de usar esses produtos é semelhante à lógica de usar FMT na medicina humana e veterinária, a de ajudar a melhorar a saúde em pacientes doentes. No

entanto, o potencial benefício dos produtos probióticos em alguns distúrbios gastrointestinais, incluindo na DII, é indiscutivelmente modesto na melhor das hipóteses para um subgrupo de pacientes (SCHMITZ, SUCHODOLSKI, 2015; CHAITMAN et al., 2016).

Os mecanismos pelos quais o TMF confere benefícios à saúde aos pacientes ainda não são bem compreendidos, mas parecem estar relacionados a uma restauração ou reestruturação da microbiota intestinal. Essa hipótese é apoiada por evidências sobre os efeitos benéficos que os microrganismos intestinais exercem sobre a saúde e também pela observação, em humanos, de que um receptor de TMF pode adotar e manter a microbiota transplantada (HONNEFFER, MINAMOTO, SUCHODOLSKI, 2014). Também é possível que a FMT atue como uma forma de imunoterapia com mecanismos múltiplos de microbiota hospedeira, provavelmente contribuindo para melhorar a homeostase intestinal e a saúde do hospedeiro (CHAITMAN et al., 2016).

Na prática, os MV podem considerar o uso de FMT quando não há outras opções para tratar um distúrbio gastrointestinal não responsivo a terapêutica convencional. Na medicina humana, nas infecções por *Clostridium difficile* recorrentes o TMF já é considerado o tratamento de eleição (KELLY et al., 2015), porém essa afecção tem menor relevância na clínica de cães e gatos (CHAITMAN et al., 2016). Entretanto, a técnica de TMF também pode ser empregada para melhorar a saúde de cães e gatos que apresentem qualquer doença associada a uma alteração no TGI, como por exemplo, quadros de diarreia idiopática, no tratamento de DII aguda ou crônica, quadros de disbiose intestinal, entre outras afecções (MARKS et al., 2002; SUCHODOLSKI et al., 2012; HONNEFFER, MINAMOTO, SUCHODOLSKI, 2014; MINAMOTO et al., 2014; SUCHODOLSKI et al., 2015; GUARD et al., 2015; CHAITMAN et al., 2016).

Segundo experimentos realizados pelas MVs Dra. Margo Roman e Dra. Karen Becker, apontam a TMF como fundamental para o tratamento de problemas gastrointestinais e autoimunes em cães e gatos. No hospital Main Street Animal Services de Hopkinton (MASH), localizado na região de Boston, Massachusetts, nos Estados Unidos, mais de 350 TMF foram realizados em cães e gatos e proporcionaram enormes melhorias na saúde e até curas (BECKER, 2015; FERMINO, 2017). Para elas, o TMF teve sucesso no tratamento das doenças ou sintomas, que incluem: diarreia crônica, DII crônica, ataxia severa com elevações de enzimas hepáticas, agressividade severa, ansiedade, dermatopatias, neoplasias, doença de Lyme, complicações renais, náusea, cistites recorrentes, otites de repetição, giardíase crônica, vômito e anorexia, sarna demodécia hipotireoidismo (FERMINO, 2017).

Para a realização da técnica de transplante de microbiota fecal (TMF) há a necessidade de, basicamente: selecionar um doador de fezes saudável, uma sessão de ozonioterapia intrarectal previamente a aplicação do TMF, que é preparado conforme os protocolos descritos na literatura, e aplicado através de uma sonda nasogástrica ou por via intrarectal, sendo esta última a mais comumente realizado por se tratar de um procedimento mais simples e menos invasivo (FERMINO, 2017; CHAITMAN et al., 2016). Ainda em relação a escolha do doador, para um melhor resultado na implantação de uma nova microbiota, este animal deve ser alimentado apenas com alimentos naturais (frescos ou congelados), sem histórico de alergias alimentares, dermatopatias e outras afecções e, se possível, um animal que não tenha sido submetido a um tratamento com antibioticoterapia e outros fármacos, sem excesso de vacinação (a cada 3-4 anos, monitorado com sorologia).

### 3. DESCRIÇÃO DO CASO

No dia 12 de maio de 2015, um cão da raça buldogue francês, macho, com três anos de idade, pesando 10 kg, foi adotado por uma nova tutora e o animal foi transportado do município de Curitiba/SC para Curitiba/SC. Durante o transporte o animal apresentou quadros de diarreia líquida com sangue (**figura 6A**). Ao chegar ao seu novo lar, o animal apresentava escore corporal bom, pelagem em mau estado, piodermite superficial, frequência de defecação aumentada e urgência ao defecar, hematoquezia, melena, tenesmo, apetite voraz, desconforto abdominal à palpação, borborigmos, flatulência, assaduras na região perianal, ao defecar apresentava prolapso retal que posteriormente reduzia fisiologicamente após término da defecação, além de quadros de disúria e hematúria.

Ao observar todas essas alterações clínicas, foi requisitado o histórico clínico aos antigos proprietários, sendo que anteriormente à adoção foi mencionado que se tratava de um animal hígido. Estes relataram que as fezes do animal nunca apresentaram uma consistência normal, sempre mais pastosas e frequência de defecação aumentada e, esporadicamente apresentava coloração marrom amarelada. Relacionado aos quadros de diarreia, esta ocorria, na maioria das vezes quando os proprietários viajavam de férias. Não foi encaminhado nenhum documento do animal.

A nova tutora após ter conhecimento do histórico do animal, o encaminhou a uma clínica veterinária (Clínica Amigo Fiel) no município de Curitiba para a realização de uma consulta. No exame clínico foram observados: sensibilidade e distensão abdominal, presença de gases nas alças

intestinais, assaduras na região perianal devido ao quadro de diarreia, sensibilidade ao introduzir o termômetro para aferição retal e linfonodos inguinais reativos. Os exames solicitados foram: hemograma, bioquímica sérica (ALT, AST, creatinina, uréia, FA, lipase, amilase, triglicerídeos, colesterol total, glicose, albumina, globulinas, proteínas totais), exame coproparasitológico, avaliação da atividade de proteases pela digestão de filme radiográfico e a realização de um ultrassom abdominal.

Parte dos exames foram realizados junto ao centro de atendimento clínico da UFSC (CEDUP) e alguns realizados pelo Laboratório de Análises Clínicas Vertà, ambos localizados no município Curitibanos/SC. Os resultados dos exames mostraram apenas um aumento da lipase e amilase, e resultado negativo na digestão de filme radiográfico, e na USG foi observado espessamento difuso da parede intestinal na região de duodeno e colón. O restante dos resultados obtidos estava dentro dos valores normais de referência para cães. A partir dos resultados dos exames o tratamento instituído foi a administração de: fembendazol na dose de 50 mg/kg/VO por 3 dias consecutivos e repetindo em dose única em 15 dias, cloridrato de ranitidina na dose de 25 mg/kg/VO/BID até novas recomendações, buscopan composto na dose de 1 gota/kg/BID/VO até novas recomendações, simeticona na dose de 60 mg/animal/TID até novas recomendações, probióticos uma vez ao dia administrado à noite (Simbiofort©, de uso humano, 1 sachê diluído em água e administrado com seringa na boca do animal) até novas recomendações, associado a uma modificação da dieta para uma ração hipoalergênica (marca Royal Canin Hypoallergenic©).

Retorno foi agendado após 14 dias, sendo o paciente reavaliado e constatado que o tratamento instituído não promoveu melhora no quadro clínico, persistia com hematoquezia e tenesmo na mesma frequência (**figura 6B**), fraqueza, apetite voraz e quadros de vômitos que iniciaram após 5 dias do início do tratamento, e o peso do animal se manteve (10 kg). Assim, ao tratamento foi adicionado a administração de enrofloxacina na dose de 5 mg/kg/VO/BID associado ao metronidazol na dose de 20 mg/kg/VO/TID até novas recomendações, metoclopramida na dose de 0,5 mg/kg/VO/TID e novo retorno agendado em 10 dias.

No retorno após 21 dias do início do tratamento, na avaliação clínica, o paciente apresentava ausência de vômito, hematoquezia (**figura 6C**), tenesmo, apetite voraz borborigmos e flatulência. O peso do animal se mantinha. Decidido então adicionar ao tratamento a prednisolona na dose de 1 mg/kg/VO/SID até novas recomendações e o probiótico foi substituído por pasta probiótica da Vetnil© (4g/dia/animal administrada à noite) e a metoclopramida mantida por mais 7 dias, com retorno agendado em 10 dias.

Após este período (31 dias) o animal foi reavaliado e ao exame clínico o paciente continuava com o mesmo quadro clínico observado na última avaliação. Foi coletada uma amostra de sangue para realização de hemograma e bioquímica sérica (amilase, lipase, triglicerídeos, ALT, FA, creatinina) e sugerida a modificação da dieta para uma ração “*Low Fat*” (marca Royal Canin Gastro Intestinal Low Fat©) até novas recomendações, e o restante do tratamento mantido (enrofloxacina, metronidazol, prednisolona, ranitidina, buscopan composto, probiótico, simeticona). Agendado novamente retorno em 14 dias.

No retorno após 45 dias, o paciente continuava refratário ao tratamento com metronidazol e prednisolona. No hemograma foi evidenciado uma anemia regenerativa (hematócrito de 21,3%, eritrócitos de  $4 \times 10^6$ /microlitros, HGM de 15,8 pg, VGM de 53,3 fL, CHGM de 29,6%, RDW de 24,5%) com presença de anisocitose, policromasia, dacriócitos e hemácias em alvo, sendo empregado o uso de suplementação com Hemolitan Gold líquido (1 gota/kg/BID até novas recomendações) e na bioquímica sérica, apenas a amilase (1585 UI/L) e lipase (279 UI/L) permaneciam ligeiramente aumentadas. Foi recomendada a realização de uma endoscopia alta e baixa (gastroduodenoscopia e colonoscopia), sendo agendado o exame de endoscopia na cidade de Blumenau/SC em 5 dias. Com o resultado do exame teria retorno em 10 dias.

Totalizando 65 dias de tratamento e na nova reavaliação, ao exame clínico o animal ainda apresentava quadros de hematoquezia, porém, com menor frequência de defecação e continuava com tenesmo, apetite voraz e sem alteração no peso. Alterações de comportamento foram observadas pela tutora como a polifagia e o picacismo. O exame de endoscopia com biópsias do estômago, duodeno (**figura 6**) e colón (**figura 7**). No estômago, revelou uma gastrite leve, no cólon uma enterocolite leve a moderada com ulceração do epitélio com predominância de infiltrados inflamatórios histiocíticos e no duodeno uma enterite crônica leve. Com estes achados foi adicionado ao protocolo de tratamento a sulfassalazina na dose de 20 mg/kg/VO/TID por 30 dias, associada ao metronidazol e prednisolona na dose de 2 mg/kg/VO/SID, e concomitante foi prescrita a administração de enzimas digestivas (Creon 25.000, 2 cápsulas por dia, 20 minutos antes das refeições) até novas recomendações, e a enrofloxacina foi removida do protocolo de tratamento. Agendado novo retorno em 10 dias.

foto 1



foto 2

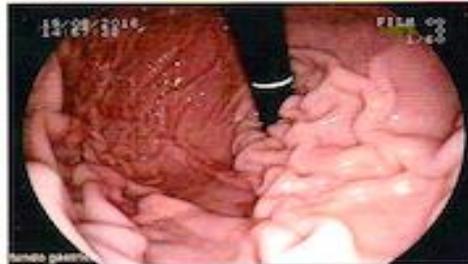


foto 3



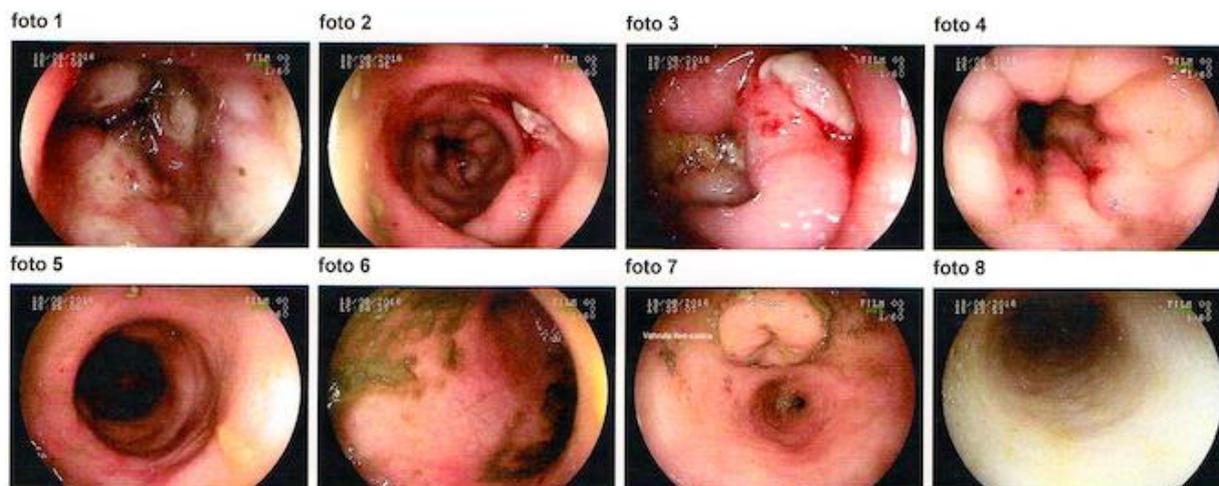
foto 4



foto 5



**Figura 7.** Fotografia do exame de endoscopia alta. **Foto 1. Esôfago:** presença de hiperemia leve na mucosa de esôfago distal. Esfincter esofágico distal sem alteração. **Foto 2, 3 e 4. Estômago:** Mucosa de corpo e fundo gástrico sem alteração. Mucosa de antro com edema leve e áreas de enantema linear leve. Píloro preservado. **Foto 5. Duodeno:** Mucosa duodenal com aspecto levemente granuloso, áreas de hiperemia linear leve.



**Figura 8.** Fotografias do exame de endoscopia baixa. **Foto 1, 2 e 3. Reto:** Edema e hiperemia moderada da mucosa de reto e presença de erosões raras hemorrágicas. **Foto 4 e 5. Cólon:** cólon descendente com edema e hiperemia leve. Presença de erosões puntiformes hemorrágicas. **Foto 6. Colon:** cólon transverso e ascendente com presença de conteúdo fecal, edema e hiperemia leve da mucosa. **Foto 7. Ceco:** sem alteração. **Foto 8. Válvula íleo-cólica e mucosa de íleo:** sem alterações.

Na avaliação dos 70 dias do início de todo o tratamento, foi solicitada a coleta de uma amostra de sangue para comparação e monitoração da clínica do paciente. Ao exame físico o paciente apresentou uma melhora no quadro clínico, diminuindo a frequência da defecação e as fezes estavam mais pastosas, porém, ainda com hematoquezia (**figura 8D**). Foi adicionado ao protocolo de tratamento a administração de L-glutamina na dose 20 mg/kg/SID junto com probiótico de uso contínuo (Probiótico Vetnil, 4g/dia). Agendado novo retorno em 10 dias.

No retorno de 80 dias, o paciente manteve o quadro clínico observado na consulta anterior, entretanto, foi observada a presença de secreção mucopurulenta em ambos os olhos. Observada esta alteração, foi realizado o teste lacrimal de Schirmer (TLS) e constatada uma insuficiência lacrimal em ambos os olhos com produção inferior a 10mm/min, sendo acrescido ao tratamento o uso tópico de dois colírio: Tobrex© (solução oftalmológica com tobramicina a 0,3%, 1 gota/AO/QID por 14 dias) e Systane© (1 gota/em ambos os olhos – AO/QID de uso contínuo), sendo dado um intervalo de 5 minutos entre a aplicação dos colírios. Os resultados do hemograma indicaram melhora da anemia com valores dentro da referência, porém o uso do hemolitan foi mantido por mais 30 dias. E também foi prolongado o uso da sulfassalazina por mais 30 dias associado ao metronidazol. Agendado novo retorno em 10 dias.

Totalizando 100 dias de tratamento, o paciente apresentava melhora significativa dos sinais clínicos ao tratamento com fezes mais pastosas e sem a presença de sangue, porém com presença de muco (**figura 8E**). A tutora relatou apenas alguns episódios de defecação contendo estrias de sangue. Houve também diminuição de borborigmos e flatulência, ausência de tenesmo e sensibilidade abdominal. Mesmo o paciente não apresentar mais secreção ocular, foi prescrito o uso tópico de colírio a base de tacrolimus a 0,03% pela sua ação imunomoduladora na produção de lágrimas (1 gota/AO/BID/ de uso contínuo) e o Systane (lubrificante ocular, BID). Foram retirados do protocolo de tratamento apenas o buscopan composto e a simeticona, mantendo-se o restante do protocolo. Retorno agendado para 15 dias.

Após 130 dias de tratamento, o paciente teve uma piora do quadro, apresentando novamente quadros de diarreia hemorrágica com a presença de bastante muco (**figura 8F**), tenesmo, polifagia, picacismo e sensibilidade abdominal à palpação. Foi adicionado ao protocolo a administração de ômega 3 (uma cápsula de 2g por dia), aumentada a dose de L-glutamina para 40 mg/kg/VO/SID, e reintroduzido o probiótico, o buscopan composto na dose de 1 gota/kg/BID/VO e simeticona na dose de 60 mg/animal/TID até novas recomendações. Ao avaliar o tratamento da alteração ocular, não foi observado retorno na secreção mucopurulenta e havia a produção suficiente de lágrimas pelo uso adequado do colírio tacrolimus, sendo esta avaliada com o TLS. Agendado novo retorno em 10 dias.

No retorno em 140 dias após o início do tratamento, o paciente apresentou novamente melhora no quadro clínico com fezes pastosas, com presença de estrias esporádicas de sangue e muco, com menor frequência de defecação. Houve estabilização deste quadro clínico por mais 60 dias, sendo o protocolo de tratamento: ração “Low Fat”, sulfassalazina, metronidazol, prednisolona, simeticona, buscopan, probióticos, L-glutamina, ômega 3, Creon 25.000 UI, Hemolitan, colírios Tacrolimus e Systane).

Após 200 dias, aproximadamente 6 meses e meio do início do tratamento, a tutora decidiu por consultar uma veterinária especialista em nutrologia ao perceber a reincidência dos sinais clínicos (diarreia, hematoquezia, aumento do apetite e coprofagia), sendo indicada mudança dietética com o intuito de excluir uma possível hipersensibilidade alimentar através de uma dieta natural com alimentos cozidos. A suplementação com L-glutamina, ômega 3, probióticos e as enzimas digestivas foram mantidas e recomendadas de uso contínuo. Após 15 dias da alteração da dieta, o animal apresentou significativa melhora no quadro clínico com fezes firmes, na pelagem e na disposição.

Ao retorno ao MV clínico com 215 dias, observou-se a melhora clínica do animal apresentando fezes com consistência firme e com formato definido (**figura 8G**), assim foram suspensos o uso de metronidazol, da sulfassalazina e dos medicamentos adjuvantes (ranitidina, simeticona e buscopan composto), e a dose da prednisolona retirada gradualmente para prevenir a supressão do eixo hipotalâmico-hipofisário. Os suplementos foram mantidos continuamente.

Aos 230 dias do início do tratamento convencional e após 30 dias da introdução da alimentação natural, não foi observada nenhuma sensibilidade às proteínas da dieta, sendo montado um cardápio dietético específico e balanceado. O quadro clínico do animal se manteve com fezes semi-sólidas sem a presença de sangue e/ou muco, porém apresentava esporadicamente borborismos, flatulência e episódios de coprofagia. O colírio de tacrolimus a 0,03% foi retirado pela tutora. Foi realizado o TLS e a produção lacrimal de ambos os olhos foi suficiente para lubrificação ocular, com resultado superior a 30mm/minuto. No retorno em consulta com MV nutróloga, foi sugerido a aplicação de duas técnicas da medicina integrativa: a ozonioterapia (OZT) e o transplante de microbioma fecal (TMF), visando diminuir os sintomas de borborismos, flatulência e episódios de coprofagia.

A realização da ozonioterapia associada ao TMF foi planejada e realizada por via intrarectal no mesmo dia, aproximadamente após 245 dias do início da apresentação dos sinais clínicos pelo paciente e o início do tratamento convencional. No dia seguinte a realização do procedimento, o paciente apresentou uma melhora significativa em relação ao aspecto das fezes (consistência firme e coloração normal, **figura 8H**). Na consulta de rotina com o MV clínico, se podia observar a nítida remissão dos sinais clínicos e o status geral do paciente. Sendo assim, o MV deu a alta médica, sugerindo retornos a cada 3 meses para reavaliar e monitorar a evolução do quadro clínico.



**Figura 9.** Fotografias das fezes do paciente acometido por HUC em diferentes tempos de tratamento. (A) Dia zero (antes do início do tratamento), (B) Dia 14, (C) Dia 21, (D) Dia 65, (E) Dia 100, (F) Dia 130, (G) Dia 215 e (H) Dia 246. Fonte: Acervo próprio (2015, 2016).

#### 4. DISCUSSÃO

Os sinais clínicos e resultados obtidos no exame clínico, nos exames laboratoriais e complementares são compatíveis com alterações orgânicas decorrente de uma doença inflamatória intestinal crônica (DII). Frente ao resultado obtido da análise histopatológica dos fragmentos de colón e de duodeno biopsiados no exame de endoscopia, permitiu-se traçar um diagnóstico de uma colite ulcerativa histiocítica (HUC) (VAN DER GAAG et al., 1987; TANAKA, NAKAYAMA, TAKASE, 2002).

A HUC é uma forma severa de DII auto-imune, que foi descrita inicialmente afetando cães da raça Boxer, porém já foi descrita em outras raças como Mastiff, Malamute da Alaska, Buldogue Francês, Buldogue Inglês e Pinscher Doberman (STOKES et al., 2001; VAN DER GAAG et al., 1987; TANAKA, NAKAYAMA, TAKASE, 2002). Segundo trabalhos descritos na literatura, estas raças geralmente respondem melhor ao tratamento da DII quando comparado aos cães da raça Boxer (CHURCHER, WATSON, 1997; HALL et al., 1994; HILL, SULLIVAN, 1978; STROMBERCK, GUILFORD, 1990), mas esta resposta só foi observada quando houve o diagnóstico nos estágios iniciais da doença, e mesmo assim, alguns cães não respondem bem ao tratamento mesmo nos estágios iniciais (TANAKA, NAKAYAMA, TAKASE, 2002). Estes dados corroboram com a evolução do caso relatado, visto que o tratamento empregando apenas antibioterapia e fármacos imunossupressores não ocasionaram uma resposta adequada pelo animal.

Um fato interessante na incidência da HUC acometendo a raça Buldogue Francês é que, estes compartilham ancestralidade com cães da raça Boxer, sugerindo uma predisposição genética ao desenvolvimento da HUC, embora na literatura inclua apenas dois relatos de casos da doença nesta raça (VAN DER GAAG et al., 1987; TANAKA, NAKAYAMA, TAKASE, 2002).

Estudos conduzidos por Simpson e colaboradores (2006) identificaram a bactéria gram-negativa *Escherichia coli* como agente etiológico predominante na mucosa colônica de cães da raça Boxer afetados com HUC, e alguns autores correlacionaram a remissão clínica da HUC com a erradicação desta bactéria em cães da raça Boxer (CRAVEN et al., 2010; MANCHESTER et al., 2012).

Parker e colaboradores (2004), a partir destes dois trabalhos sugeriram então que, essas raças compartilham um defeito hereditário conferindo suscetibilidade à *E. coli* de invadir a mucosa intestinal, permitindo o desenvolvimento de inflamação crônica e a instalação da HUC nestes animais. Enfatizam, ainda que, estudos na identificação de uma base genética poderiam permitir a

erradicação dessa característica gênica por meio de reprodução seletiva para essa forma grave de DII (PARKER et al., 2004; TANAKA, NAKAYAMA, TAKASE, 2002).

Logo, pode-se sugerir que uma possível infecção por *E. coli* estivesse envolvida no desenvolvimento da HUC no animal relatado neste caso, porém a amostra fecal enviada para o laboratório foi somente testada para parasitos gastrointestinais, não sendo avaliada a presença de bactérias. Esta observação foi corroborada pela refratariedade à administração de enrofloxacina no tratamento da HUC descrita neste relato. Pois, os autores indicam que a resistência antibacteriana associada a HUC é comum, sendo a enrofloxacina associada a tratamentos não responsivos e/ou ao emprego de antibioticoterapia empírica sem diagnóstico prévio (CRAVE et al., 2010; MANCHESTER et al., 2013).

Em amostras fecais de uma fêmea da raça Buldogue Francês com HUC foram isoladas as bactérias *Escherichia coli*, *Kluyvera ascorbata* e *Proteus mirabilis* (TANAKA, NAKAYAMA, TAKASE, 2002), portanto, também não pode ser descartada a possibilidade de um infecção e desenvolvimento de HUC envolvendo estas outras duas bactérias no caso clínico relatado.

Os sinais clínicos apresentados pelo paciente relatado neste trabalho foram os mesmos descritos nos outros dois relatos envolvendo a HUC na raça Buldogue Francês, os quais foram aumento da frequência de defecação, tenesmo, hematoquezia com a presença de muco (TANAKA, NAKAYAMA, TAKASE, 2002; VAN DER GAAG et al., 1987). E em um estudo comparativo entre a imagem endoscópica e o resultado histopatológico de 73 canídeos afetados por DII, mostrou que os principais sintomas observados nestes animais foram a diarreia seguido de quadros de vômito, e outros sintomas como dor à palpação, perda de peso e presença de borborigmos também foram observados, porém em menor número de animais avaliados durante o estudo conduzido por GUÍMARO e colaboradores (2010). Casos de anorexia estão mais relacionados com a presença de infiltrações celulares correspondentes a um grau de inflamação moderada a severa de uma porção ou de vários segmentos acometidos pela DII (CRAVEN et al., 2004).

Em relação a análise de hemograma e bioquímica sérica, a maioria dos animais com DII não apresentam alterações no hemograma, mas quando presente a alteração, se identificam como eritrocitose ou anemia. Na bioquímica sérica, o aumento da glicemia foi o parâmetro mais observado nos animais, seguido em ordem decrescente por: hipoproteinemia, hipocalcemia, hipocaliemia, hipoalbuminemia, hiperlipidemia, aumento de ALT, aumento de FA, aumento de uréia, aumento de creatinina, hiperproteinemia, aumento de lipase e o aumento em amilase (GUIMARO et al., 2010). No caso relatado neste trabalho houve apenas um ligeiro aumento de

amilase e lipase, possivelmente devido à inflamação intestinal, mas também devido ao envolvimento pancreático, dada a proximidade do colón transverso com o pâncreas (JERGENS et al, 1992, CHANDLER, 2002).

Esta observação se comprova pelo resultado positivo obtido no exame de digestão pelo filme radiográfico realizado após a remoção das enzimas digestivas, depois de meses de tratamento com as mesmas, indicando apenas um processo inflamatório pancreático crônico ao invés de uma insuficiência pancreática exócrina como suspeitado inicialmente (GUÍMARO, 2010; GUIMARÃES-FILHO et al., 2009).

Aos métodos de diagnóstico, a avaliação endoscópica é um método de grande valia no diagnóstico da DII, pois permite a visualização da mucosa e que se realize a biopsia do segmento acometido para posterior avaliação histopatológica (SUCHODOLSKI, STEINER, 2003; GUÍMRO et al., 2010). Sem a realização deste exame no caso clínico relatado, provavelmente não teria sido diagnosticado a DII e realizada a sua classificação de acordo com os infiltrados inflamatório predominantes e o animal teria sido eutanasiado pela pobre qualidade de vida proporcionado por um tratamento ineficaz.

Em relação aos tratamentos empregados no caso clínico relatado, a medicina integrativa promoveu uma otimização da reposta ao tratamento convencional, já amplamente descrito na literatura para a DII, visto que alguns animais não respondem de forma efetiva por apresentarem alterações genéticas ou fenotípicas citadas no início da discussão deste trabalho, os tornando mais susceptíveis a infecções e/ou quadros de inflamação, dificultando ao organismo reestabelecer a homeostasia e, conseqüente, recuperação da função do órgão acometido.

A aplicação de ozonioterapia permitiu a ampliação do poder bactericida (LAM, 2008; TRAVAGLI, 2010) quando associada a antibioticoterapia empregada pelo tratamento convencional e, provavelmente, atuando sobre as bactérias resistentes presentes no lúmen e/ou aderidas na mucosa intestinal. Esta técnica quando associada ao TMF provavelmente auxiliou o reestabelecimento de um quadro de homeostasia ao introduzir de forma facilitada uma microbiota equilibrada e, conseqüente, permitiu o desempenho adequado da função pelo órgão acometido e do sistema orgânico como um todo.

Ressaltando ainda que, a medicina integrativa é a combinação da medicina convencional com a medicina alternativa e complementar, com base em evidências e com a finalidade de oferecer maior variedade de opções de tratamento efetivo para pacientes.

## 5. CONCLUSÃO

Este trabalho permitiu relatar um caso clínico, em que houve a remissão de sinais clínicos, em um cão portador de colite ulcerativa histiocítica (HUC), empregando técnicas de uma medicina integrativa, no qual foi empregado o transplante de microbioma intestinal, aplicação de ozonioterapia intra-retal, manejo dietético, uso de nutracêuticos associadas a terapêutica convencional.

O objetivo deste tipo de terapêutica permite ampliar o leque de opções de tratamento para pacientes portadores de HUC não responsivos ao tratamento convencional. Visto que, ao empregar terapias de uma medicina integrativa associada ao tratamento convencional, foi possível observar uma otimização na resposta do paciente ao tratamento e um controle da evolução da doença. Ao identificar a fonte de desequilíbrio no desenvolvimento da doença, também possibilita ao médico veterinário empregar um tratamento mais específico e individualizado, tratando a causa-base da doença e permitindo criar um ambiente em que a capacidade inata do próprio organismo seja restaurada e atue na perpetuação de um processo de cura a longo prazo.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLEN, D.G., DOWLING, P.M., SMITH, D.A., PASLOSKE, K., WOODS, J.P. (Eds.). **Handbook of Veterinary Drugs**, 2005.

ANDERSON JL, EDNEY RJ, Whelan K. Systematic review: faecal micro- biota transplantation in the management of inflammatory bowel disease. **Aliment. Pharmacol. Ther.**, v. 36, n. 6, p. 503–516, 2012.

BECKER, K. **Fecal Transplant: An Amazing Cure You've Probably Never Heard Of**. 2015. Disponível em: <<https://healthypets.mercola.com/sites/healthypets/archive/2015/12/13/fecal-transplants.aspx>>. Acessado em: 28 jun. 2019.

BOCCI, A. V.; ZANARDI, I., TRAVAGLI, V. Ozone acting on human blood yields a hormetic dose-response relationship. *J. Transl. Med.* v. 9, p. 66, 2011.

BOCCI, V. Autohaemotherapy After Treatment of Blood With Ozone. A Repraissal. *J. Int. Med. Res.*, v.22, p.131-144, 1994.

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

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

BRAG S, HANSEN HJ. Treatment of ruminal indigestion according to popular belief in Sweden. *Rev. Sci. Tech.*, v. 13, n. 2, p.529–535, 1994.

BRAG, S., HANSEN, H.J. Treatment of ruminal indigestion according to popular belief in Sweden. *Rev. Sci. Tech.* v. 13, n. 2, p. 529-535, 1994.

CAMPBELL, D.J., ZIEGLER SF. FOXP3 modifies the phenotypic and functional properties of regulatory T cells. **Nat. Rev. Immunol.**, v.7, n. 4, p. 305-310, 2007.

Churcher RK, Watson AD. Canine histiocytic ulcerative colitis. **Aust. Vet. J.**, v. 75, p. 710–713. 1997.

CLINICAL, I.L. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; eighteenth**

**informational supplement.** Wayne, PA: CLSI; 2008.

Craven M, Dogan B, Schukken A, et al. Antimicrobial resistance impacts clinical outcome of granulomatous colitis in Boxer dogs. **J. Vet. Intern. Med.**, v. 24, p. 819–824, 2010.

Craven M, Egan CE, Dowd SE, et al. Inflammation drives dysbiosis and bacterial invasion in murine models of ileal crohn's disease. **PLoS ONE**, v. 7, 2012.

CRAVEN M, MANSFIELD CS, SIMPSON KW. Granulomatous colitis of Boxer dogs. **Vet. Clin. North. Am. Small. Anim. Pract.**, v, 41, p. 433-445, 2011.

DAVIES, D.R., O'HARA, A.J., IRWIN, P.J., GUILFORD, W.G. Successful management of histiocytic ulcerative colitis with enrofloxacin in two Boxer dogs. **Aust. Vet. J.**, v. 82, p. 58–61, 2004.

DAY MJ, BILZER T, MANSELL J, et al: Histopathological Standards for the Diagnosis of Gastrointestinal Inflammation in Endoscopic Biopsy Samples from the Dog and Cat: A Report from the World Small Animal Veterinary Association Gastrointestinal Standardization Group. **Journal of Comparative Pathology**, v. 138, p.1–43, 2008.

DAY MJ, HALL EJ: **Gastrointestinal Immunology, in Clinical Immunology of the Dog and Cat**, Publishing M, Langford, Bristol, UK, 2 ed., p. 201-204, 2011.

DAY, M. **Intestine**, in Canine and Feline Gastroenterology, Elsevier Health Sciences, 1sted, pp p. 341-349, 2012.

FERMINO, S. A. **Transplante fecal: uma terapia incrível de que você provavelmente nunca ouviu falar.** 2017. Disponível em: <<https://www.cachorroverde.com.br/transplante-fecal/>>. Acessado em: 28 jun. 2019.

GERMAN AJ, HALL EJ, DAY MJ: Immune Cell Populations within the Duodenal Mucosa of Dogs with Enteropathies. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 15, p. 14–25, 2001.

GERMAN, A.J., HALL, E.J., DAY, M.J. Immune Cell Populations within the Duodenal Mucosa of Dogs with Enteropathies. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 15, p. 14-25, 2001.

GOUTAL-LANDRY CM, MANSELL J, RYAN KA, et al: Effect of Endoscopic Forceps on Quality of Duodenal Mucosal Biopsy in Healthy Dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 27, p. 456–461, 2013.

GUÍMARO, J, NIZA, M., BILEK, A. **Doença Inflamatória Crônica do Intestino: estudo**

**comparativo entre a imagem endoscópica e o resultado histopatológico em 73 canídeos**  
Universidade Técnica De Lisboa -Faculdade de Medicina Veterinária, 2010.

HALL, E.J. Small Intestine, in: **Canine and Feline Gastroenterology**, Elsevier Health Sciences, 1 ed, p. 651-728, 2012.

HALL, E.J., GERMAN, A.J. **Inflammatory Bowel Disease**. In: Textbook of Veterinary Internal Medicine, Elsevier Health Sciences, 7 ed, 2009.

HAMILTON, M.J., WEINGARDEN, A.R., UNNO, T., KHORUTS, A., SADOWSKY, M.J. High-throughput DNA sequence analysis reveals stable engraftment of gut microbiota following transplantation of previously frozen fecal bacteria. **Gut Microbes**. v. 4, n. 2, p. 125–135, 2013.

HERNÁNDEZ O.; GONZÁLEZ, R. Ozonoterapia En Úlceras flebotáticasin: **Rev Cubana Cir.**, v.40, n. 2, p.123-129, 2001.

HONNEFFER JB, MINAMOTO Y, SUCHODOLSKI JS. Microbiota alterations in acute and chronic gastrointestinal inflammation of cats and dogs. *World J Gastroenterol.*, v. 20, n. 4, p. 1689-1647, 2014.

HOSTUTLER, R.A., LURIA B.J., JOHNSON, S.E., et al. Antibiotic- responsive histiocytic ulcerative colitis in 9 dogs. **J. Vet. Intern. Med.**, v. 18, p. 499-504, 2004.

JERGENS, A.E. Clinical Assessment of Disease Activity for Canine Inflammatory Bowel Disease. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 40, p. 437-445, 2004.

JERGENS, A.E., EVANS, R.B., ACKERMANN, M et al. Design of a Simplified Histopathologic Model for Gastrointestinal Inflammation in Dogs. **Veterinary Pathology**, v. 20, v. 1, p.1-5, 2013.

JERGENS, A.E., WILLARD, M.D., DAY, M.J. **Endoscopic Biopsy Specimen Collection and Histopathologic Considerations**, in MOSBY, E. Small Animal Endoscopy, St. Louis, Missouri, 3 ed., p 293 -309, 2011.

JOHNSON, C.D.; KUDSK, K.A. Nutrition and intestinal mucosal immunity. **Clinical Nutrition**; v. 18, n. 6, p. 337-344, 1999.

KELLY CR, KAHN S, KASHYAP P, et al. Update on fecal microbiota trans- plantation 2015: indications, methodologies, mechanisms, and outlook. **Gastroenterology**, v. 149, n. 1, p. 223–237, 2015.

KELLY CR, KAHN S, KASHYAP P, et al. Update on fecal microbiota trans- plantation 2015:

indications, methodologies, mechanisms, and outlook. **Gastroenterology**. V, 149, n. 1, p. 223-237, 2015.

KIM, Y.S.; HO, S.B. Intestinal goblet cells and mucins in health and disease: recent insights and progress. **Current Gastroenterology Reports**; 12 (5): 319-330, 2010.

LOPES, D.F. Terapias complementares usadas na Medicina Veterinária. PUBVET, Londrina, V. 4, N. 16, Ed. 121, Art. 818, 2010.

MACPHERSON, A.J.; SMITH, K. Mesenteric lymph node at the center of immune anatomy. **Journal of Experimental Medicine**; 203 (3): 497-500, 2006.

MAIZES, V., CASPI, O. The principles and challenges of integrative medicine: more than a combination of traditional and alternative therapies. **West. J. Med.**, v. 171, n.3, p. 148-149, 1999.

MANCHESTER, A.C., HILL, S., SABATINO, B., ARMENTANO, R. CARROLL, M., KESSLER, B. MILLER, M. DOGAN, B., MCDONOUGH, S.P., SIMPSON K.W.. Association between Granulomatous Colitis in French Bulldogs and Invasive Escherichia coli and Response to Fluoroquinolone Antimicrobials. **J. Vet. Intern. Med.**, v. 27, p. 56-61, 2013.

MANSFIELD, C.S., JAMES, F.E., CRAVEN, M., et al. Remission of histiocytic ulcerative colitis in Boxer dogs correlates with eradication of invasive intramucosal escherichia coli. **J. Vet. Intern. Med.**, v. 23, p. 964-969, 2009.

MARKS SL, RANKIN SC, BYRNE BA, WEESE JS. Enteropathogenic bacteria in dogs and cats: diagnosis, epidemiology, treatment, and control. *J Vet Intern Med*. v. 25, n. 6, p. 1195-1208, 2011.

MARKS, S.L. 2003. **Advances in dietary management of gastrointestinal disease**. Proceedings of the 28th World Congress of the World Small Animal Veterinary Association Bangkok, Thailand, 24-27 October, p. 12-16. Disponível em: <[http://www.eukanubascienceonline.com/download/symposia/5/Advances\\_in\\_Dietary\\_Management\\_of\\_Gastrointestinal\\_Disease.pdf](http://www.eukanubascienceonline.com/download/symposia/5/Advances_in_Dietary_Management_of_Gastrointestinal_Disease.pdf)> Acessado em jun. 2019.

MCQUAID, K.R. **Drugs used in the treatment of gastrointestinal diseases: drugs used to treat inflammatory bowel disease (IBD)**. In: KATZUNG, B.G., 4 ed., p. 1053-1057, 2004.

MOENS, E.; VELDHOEN, M. Epithelial barrier biology: good fences make good neighbours. **Immunology**; 135 (1): 1-8, 2012.

MOOG, F. The lining of the small intestine. **Scientific American**. v. 245, n. 5, p. 154-158, 1981.

MORRETE, D.A. **PRINCIPAIS APLICAÇÕES TERAPÊUTICAS DA OZONIOTERAPIA.**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, São Paulo, para obtenção do grau de médico veterinário, Botucatu/SP, p. 1-19, 2011.

PARKER, H.G., KIM, L.V., SUTTER, N.B., et al. Genetic structure of the Purebred domestic dog. **Science**, v. 304, p. 1160–1164, 2004.

PETERSON, P.B., WILLARD, M.D. Protein-losing enteropathies. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 33, p. 1061–1082, 2003.

PETERSON, P.B., WILLARD, M.D. Protein-losing enteropathies. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 33, n. 5, p. 1061-1082, 2003.

Rolhion N, Darfeuille-Michaud A. Adherent-invasive escherichia coli in inflammatory bowel disease. **Inflamm. Bowel. Dis.** v. 13, p. 1277–1283, 2007.

ROSS, M.H., PAWLINA, W. **Small Intestine** In **HISTOLOGY: A Text and Atlas with correlated cell and molecular biology**, L. W. Wilkins, Baltimore, 6 ed., p. 586-597, 2011.

SAUTER, S.N., ALLENSPACH, K., GASCHEN, F., GRÖNE, A., ONTSOUKA, E., BLUM, J.W. Cytokine expression in an ex vivo culture system of duodenal samples from dogs with chronic enteropathies: modulation by probiotic bacteria. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 29, n. 4, p. 605-622, 2005.

SAUTER, S.N., BENYACOU, J., ALLENSPACH, K., GASCHEN, F., ONTSOUKA, E., REUTELER, G., CAVADINI, C., KNORR, R., BLUM, J.W. Effects of probiotic bacteria in dogs with food responsive diarrhoea treated with an elimination diet. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 90, n.7-8, p. 269-277, 2006.

SCHMITZ S, SUCHODOLSKI JS. Understanding the canine intestinal micro- biota and its modification by pro-, pre- and synbiotics – what is the evidence? *Vet. Med. Sci.* In press., 2016.

SHA S, LIANG J, CHEN M, et al. Systematic review: faecal microbiota transplantation therapy for digestive and non-digestive disorders in adults and children. **Aliment. Pharmacol. Ther.** v, 39, n. 10, p. 1003–1032, 2014.

SHERDING, R.G. **Diseases of the large intestine.** In: TAMS, T.R. **Handbook of Small Animal Gastroenterology USA:** Saunders. p.251-281, 2003

SHIH, D.Q., TARGAN, S.R. Immunopathogenesis of inflammatory bowel disease. **World Journal of Gastroenterology**, v. 14, n. 3, p. 390-400, 2008.

SIMPSON, K.W., DOGAN, B., RISHNIW, M, et al. Adherent and invasive escherichia coli is associated with granulomatous colitis in Boxer dogs. **Infect. Immun.**, v. 74, p. 4778–4792, 2006.

SIMPSON, K.W. **Gastrointestinal disease: diseases of the stomach**. In S.J. ETTINGER, E.C. FELDMAN (Eds.), Textbook of Veterinary Internal Medicine. 1310- 1331). USA: Elsevier Saunders. 2005.

SIMPSON, K.W. **Gastrointestinal diseases: canine ulcerative colitis**. In J.D. BONAGURA, D.C. TWEDT (eds.), Kirk's current veterinary therapy. USA: Saunders Elsevier. 2009.

SIMPSON, K.W., DOGAN, B., RISHNIW, M., GOLDSTEIN, R.E., KLAESSIG, S., MCDONOUGH, P.L., GERMAN, A.J., YATES, R.M., RUSSELL, D.G., JOHNSON, S.E., BERG, D.E., HAREL, J., BRUANT, G., MCDONOUGH, S.P., SCHUKKEN, Y.H. Adherent and invasive Escherichia coli is associated with granulomatous colitis in boxer dogs. **Infection and Immunity**, v. 74, n. 8, p. 4778-4792, 2006.

SOJKA DK, HUANG YH, FOWELL DJ. Mechanisms of regulatory T- cell suppression - a diverse arsenal for a moving target. **Immunology**, v. 124, n. 1, p.13-22, 2008.

STEINER, J.M. **Clinical manifestations of disease: diarrhea**. In S.J. ETTINGER, E.C. FELDMAN. (Eds.), Textbook of Veterinary Internal Medicine. 2005.

STEINER, J.M. **Laboratory evaluation of gastrointestinal disease**. In: HALL, E.J. SIMPSON, J.W. WILLIAMS D.A. (Eds.), BSAVA Manual of canine and feline. UK: BSAVA. (2005b).

STEINER, J.M., WILLIAMS, D.A., MOELLER, E.M. Development and validation of a method for simultaneous separation and quantification of 5 different sugars in canine urine. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 64, n. 3, p. 164–170, 2000.

STEINER, J.M., WILLIAMS, D.A., MOELLER, E.M. Kinetics of urinary recovery of five sugars after orogastric administration in healthy dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 63. n. 6, p. 845-848, 2003.

STOKES, C., WALY, N. Mucosal defence along the gastrointestinal tract of cats and dogs. **Veterinary Research**, v. 37, n. 3, p. 281-293, 2006.

STOKES, J.E., KRUGER, J.M., MULLANEY, T, et al. Histiocytic ulcerative colitis in three non-

boxer dogs. **J. Am. Anim. Hosp. Assoc.**, v. 37, p. 461-465, 2001.

STOKES, J.E., KRUGER, J.M., MULLANEY, T., HOLAN, K., SCHALL, W. Histiocytic ulcerative colitis in three non-boxer dogs. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 37, n. 5, p. 461-465, 2001.

SUCHODOLSKI JS, FOSTER ML, SOHAIL MU, et al. The fecal microbiome in cats with diarrhea. **PLoS One.**, v. 10, n. 5, 2015.

SUCHODOLSKI JS, MARKEL ME, GARCIA-MAZCORRO JF, et al. The fecal microbiome in dogs with acute diarrhea and idiopathic inflammatory bowel disease. **PLoS One.**, v. 7, n. 12, 2012.

SUCHODOLSKI, J.S. & STEINER, J.M. Laboratory assessment of gastrointestinal function. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 18, n. 4, p. 203-210, 2003.

SUCHODOLSKI, J.S., MORRIS, E.K., ALLENSPACH, K., JERGENS, A.E., HARMOINEN, J.A., WESTERMARCK, E. & STEINER, J.M. Prevalence and identification of fungal DNA in the small intestine of healthy dogs and dogs with chronic enteropathies. **Veterinary Microbiology**, v. 132, n. 3-4, p. 379-388, 2008.

SUCHODOLSKI, J.S., RUAUX, C.G., STEINER, J.M., FETZ, K., BERGHOFF, N. & WILLIAMS, D.A. Development of activity of the small intestine in canines. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 69, n. 4, p. 313-317, 2005.

SUCHODOLSKI, J.S., RUAUX, C.G., STEINER, J.M., FETZ, K., WILLIAMS, D.A. Assessment of the qualitative variation in bacterial microflora among compartments of the intestinal tract of dogs by use of a molecular fingerprinting technique. **American Journal of Veterinary Research**, v. 66, n. 9, p. 1556-1562, 2005.

TAMS, T.R. **Chronic diseases of the small intestine**, in Handbook of Small Animal Gastroenterology, Elsevier Health Sciences, 2 ed., p. 211-250, 2003.

TANAKA, H., NAKAYAMA, M., TAKASE, K. Histiocytic ulcerative colitis in a French Bulldog. **J. Vet. Med. Sci.**, v. 65, p. 431-433, 2003.

TENNANT, B. (Ed.) BSAVA Small animal formulary: BSAVA. 2005 TRAINA, A. Efeitos biológicos da água ozonizada na reparação tecidual de feridas dérmicas em

ratos. [Tese De Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP, 2008. TRAVAGLI, V., ZANARDI, I., BERNINI, P., NEPI, S., TENORI, L., BOCCI, V. Effects of ozone

blood treatment on the metabolite profile of human blood. **Int. J. Toxicol.** v. 29, p.165-174, 2010.

TRAVAGLI,V.; ZANARDI, I., VALACCHI, G.; BOCCI, V. Ozone and ozonated oils in skin diseases: a review. **Mediators Inflamm.**, 2010.

VAN DER GAAG, I., VAN TOORENBURG, J.V., VOORHOUT, G, et al. Histiocytic ulcerative colitis in a French Bulldog. **J. Small Anim. Pract.**, v.19, p. 283–290, 1978.

VAN DER GAAG, I., HAPPÉ, R.P. The histological appearance of peroral small intestinal biopsies in clinically healthy dogs and dogs with chronic diarrhea. **Zentralblatt für Veterinärmedizin - Reihe A**, v. 37, n. 6, p.401-16, 1990.

VAN DER GAAG, I., HAPPE, R.P., WOLVEKAMP W.TH.C. Eosinophilic gastroenteritis complicated by partial ruptures and a perforation of the small intestine in a dog. **Journal of Small Animal Practice**, v. 24, n. 9, p. 575-581, 1983.

WEESE, J.S., ANDERSON, M.E. Preliminary evaluation of Lactobacillus rhamnosus strain GG, a potential probiotic in dogs. **Canadian Veterinary Journal**, v. 43, n.10, p. 771-774, 2002.

WILLARD, M.D., JERGENS, A.E., DUNCAN, R.B., et al: Interobserver variation among histopathologic evaluations of intestinal tissues from dogs and cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association** 220, 2002.

WILLARD, M., MANSELL, J. **Biopsy Guidelines, in Canine and Feline Gastroenterology**, Elsevier Health Sciences, 2012, 1sted, pp 290-297.

WILLARD, M.D., MOORE, G.E., DENTON, B.D. et al: Effect of Tissue Processing on Assessment of Endoscopic Intestinal Biopsies in Dogs and Cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 24, p. 84–89, 2010.

WILLARD, M.D., ZENGER, E., MANSELL, J.L. Protein-Losing Enteropathy Associated With Cystic Mucoïd Changes in the Intestinal Crypts of Two Dogs. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 39, p. 187–191, 2003.

WILLARD MD, MANSELL J, FOSGATE GT, et al: Effect of Sample Quality on the Sensitivity of Endoscopic Biopsy for Detecting Gastric and Duodenal Lesions in Dogs and Cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 22, p. 1084–1089, 2008.

WILLARD, M.D., HELMAN, G., FRADKINJM, et al: Intestinal Crypt Lesions Associated with Protein-Losing Enteropathy in the Dog. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 14, p. 298-

307, 2000.

ZENTEK, J. Probiotic therapy for GI disease in companion European College of Veterinary. **Internal Medicine for Companion Animals Congress**, Budapest, Hungary, 15-17 September, p. 171-172. Budapest: ECVIM-CA. 2007.

ZENTEK, J., FRICKE, S., HEWICKER-TRAUTWEIN, M., EHINGER, B., AMTSBERG, G., BAUMS, C. Dietary protein source and manufacturing processes affect macronutrient digestibility, fecal consistency, and presence of fecal *Clostridium perfringens* in adult dogs. **Journal of Nutrition**, v. 134, p. 2158-2161, 2004.

ZENTEK, J., HELLWEG, P., KHOL-PARISINI, A., WEINGART, C., KOHN, B. MÜNSTER, M. Chronisch entzündliche gastrointestinale Erkrankungen bei Hund und Katze. **Kleintierpraxis**, v. 52, v. 6, p. 356-367, 2007.