

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

USO DE SOLUÇÃO TÓPICA EM *SPRAY* DE ÁCIDO HIPOCLOROSO
0,015% NO TRATAMENTO DE PIODERMITE ESTAFILOCÓCICA SUPERFICIAL
CANINA

DANIELA FLORES FERNANDES

PORTO ALEGRE

2020

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

USO DE SOLUÇÃO TÓPICA EM *SPRAY* DE ÁCIDO HIPOCLOROSO 0,015% NO
TRATAMENTO DE PIODERMITE ESTAFILOCÓCICA SUPERFICIAL CANINA

Autor: Daniela Flores Fernandes

Tese apresentada como requisito parcial
para a obtenção do grau de Doutora em
Ciências Veterinárias na área de
morfologia, clínica, cirurgia e reprodução
animal.

Orientador: Prof. Dr. Daniel Guimarães
Gerardi

PORTO ALEGRE

2020

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

CIP - Catalogação na Publicação

Fernandes, Daniela Flores
Uso de solução tópica em spray de ácido hipocloroso 0,015% no tratamento de piodermite estafilocócica superficial canina / Daniela Flores Fernandes. -- 2020.
86 f.
Orientador: Daniel Guimarães Gerardi.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, BR-RS, 2020.

1. Piodermite superficial. 2. Staphylococcus pseudintermedius resistente à meticilina (MRSP). 3. Dermatologia veterinária. I. Gerardi, Daniel Guimarães, orient. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Daniela Flores Fernandes

USO DE SOLUÇÃO TÓPICA EM *SPRAY* DE ÁCIDO HIPOCLOROSO 0,015% NO
TRATAMENTO DE Piodermite Estafilocócica Superficial Canina

APROVADO POR:

Prof. Dr. Daniel Guimarães Gerardi
Orientador e Presidente da Comissão

Prof^ª. Dr^ª. Ana Claudia Balda
Membro da Banca

Prof^ª. Dr^ª. Marisa Ribeiro de Itapema Cardoso
Membro da Banca

Prof^ª. Dr^ª. Anelise Bonilla Trindade-Gerardi
Membro da Banca

AGRADECIMENTOS

A meu orientador, Prof. Dr. Daniel Gerardi, por despertar a paixão pelo conhecimento acadêmico e me apoiar ao longo de 10 anos de crescimento profissional com seus ensinamentos, exemplo, apoio e incentivo.

À UFRGS pelas oportunidades de formação gratuita e de excelência.

Ao HCV pela oportunidade de realizar este projeto.

Ao Prof. Paulo Gonçalves do Instituto de Química da UFRGS, ao Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva da UFRGS, especialmente a Gustavo Sambrano e Prof. Marisa, ao Departamento de Microbiologia do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da UFRGS e ao Setor de Suínos da UFRGS por me ajudarem a tornar este projeto realidade.

Aos tutores que gentilmente cederam seus cães para a participação na pesquisa.

À equipe Dermatovet pelo companheirismo, ajuda e torcida ao longo destes seis anos de convivência. Obrigada por tornarem a rotina mais leve! Agradeço em especial à Mariana Franco, bolsista e amiga, que foi mais que um braço direito e me ajudou ao longo da realização deste trabalho.

Aos amigos e familiares que compreenderam as ausências, me incentivaram a continuar e torceram pelo meu sucesso.

À coordenação e colegas da UniRitter pela compreensão e apoio nos momentos de dificuldade. Aos meus alunos por serem inspiração e motivação.

A meu marido, Rafael, pelo amor, apoio, paciência, incentivo e base em todos os momentos. Obrigada por dividir comigo os teus dias.

Aos meus pais pela base, exemplo, apoio, incentivo e amor incondicionais em todos os momentos.

A vocês todo o meu amor, carinho e gratidão!

“Se há um livro que você quer ler, mas ainda não foi escrito, então você deve escrevê-lo.”

Toni Morrison

RESUMO

O aumento da prevalência de *Staphylococcus* spp. resistente à meticilina (MRS) tem proporcionado desafios no tratamento da piodermite canina. Com o intuito de reduzir o uso de antibióticos sistêmicos, a terapia tópica se tornou de primeira escolha e os principais agentes utilizados são clorexidina, mupirocina e ácido fusídico, porém sinais de resistência já foram observados. O ácido hipocloroso (HClO) é o ingrediente ativo do hipoclorito de sódio e apresenta ação antimicrobiana, antibiofilme, analgésica, anti-inflamatória e antiprurítica, sendo uma opção em potencial para o tratamento de piodermite. O objetivo deste estudo foi avaliar o uso de aplicação tópica diária de *spray* de solução de ácido hipocloroso 0,015% (AH) no tratamento de piodermite estafilocócica superficial canina, comparando seu resultado ao do clorexidina 2% (C). Foram selecionados 19 cães com piodermite estafilocócica superficial bilateral confirmada clinicamente associada a exames complementares. Todos os animais foram submetidos à avaliação clínica, exame parasitológico de pele, lâmpada de Wood, citologia cutânea, culturas fúngica e bacteriana, além de antibiograma, PCR para a presença do gene *mecA* e identificação do agente bacteriano pelo método MALDI-TOF. Dezesete cães receberam os dois protocolos (AH e C), um em cada antímero, de forma randomizada e em formato duplo-cego, uma vez ao dia por até 30 dias. Foi aplicado um escore total de piodermite superficial canina, baseado em avaliação clínica e citológica, nos dias zero, 15 e 30. Nos dias 15 e 30 também foi avaliado a ocorrência de efeitos adversos.

Palavras-chave: foliculite bacteriana superficial, hipoclorito de sódio ativo, antisséptico, MRSP.

ABSTRACT

Increasing prevalence of Staphylococcus spp. resistant to methicillin (MRS) has brought challenges to the treatment of canine pyoderma. In order to reduce the use of systemic antibiotics, topical therapy has become the first choice and the main agents used are chlorhexidine, mupirocin and fusidic acid, but signs of resistance have already been observed. Hypochlorous acid (HClO) is the active ingredient in sodium hypochlorite and has antimicrobial, antibiofilm, analgesic, anti-inflammatory and antipruritic action, being a potential option for the treatment of pyoderma. The aim of this paper was to evaluate the use of daily topical spray of 0.015% hypochlorous acid solution (HA) in the treatment of canine superficial staphylococcal pyoderma, comparing its results to 2% chlorhexidine (C). Nineteen dogs with bilateral superficial staphylococcal pyoderma confirmed clinically associated with complementary exams were selected. All animals were submitted to clinical evaluation, parasitological skin examination, Wood's lamp, cutaneous cytology, fungal and bacterial cultures, in addition to antibiogram, PCR for the presence of the mecA gene and identification of the bacterial agent by MALDI-TOF. Seventeen dogs received the two protocols (HA and C), one in each antimere, randomly and double-blinded, once a day for up to 30 days. A total canine superficial pyoderma score was applied, based on clinical and cytological evaluation, on days zero, 15 and 30. On days 15 and 30, the occurrence of side effects was also evaluated.

Key words: superficial bacterial folliculitis, active sodium hypochlorite, antiseptic, MRSP.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Ilustração representando a formação de HClO em neutrófilo.....	26
Figura 2	Porcentagem molar de Cl ₂ , HClO e hipoclorito (OCl ⁻) de acordo com o pH.....	27
Figura 3	Desenho esquemático dos efeitos do HClO na DA. Observa-se ação antibacteriana e redução da atividade de células apresentadoras de antígeno; da resposta Th1 e efeitos crônicos da DA; da formação de IgE; da degranulação de mastócitos; de citocinas pró-inflamatórias e pruritogênicas, e da transmissão neurosensorial de estímulos pruritogênicos.....	29
Figura 4	Frascos utilizados para o tratamento de cães com piodermite superficial contendo ácido hipocloroso 0,015% ou clorexidine 2% identificados com o respectivo antímero a ser aplicado.....	32
Figura 5	A: Manipulação de ácido hipocloroso 0,015% através da diluição de hipoclorito de sódio em água destilada. B: Ajuste de pH 6,0.....	33

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Classificação de piодermite baseada no aspecto clínico-patológico.....	17
Quadro 2	Escala aplicada aos tutores para avaliação da resposta aos tratamentos utilizados em cães portadores de piодermite superficial. O tutor era orientado a marcar um X na opção que mais se aproximava de sua percepção dos tratamentos realizados.....	35
Quadro 3	Técnicas de coleta de material para cultura bacteriana e antibiograma.....	38

LISTA DE ABREVIATURAS

ác.	ácido
C	Celsius
Ca ⁺⁺	cálcio
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
Cl ⁻	cloro
Cl ₂	gás cloro
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i> (Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais)
cm	centímetro
cm ²	centímetro quadrado
CMI	campo microscópico de imersão
EPP	exame parasitológico de pele
<i>et al.</i>	e outros
FAVET	Faculdade de Veterinária
H ₂ O ₂	peróxido de hidrogênio
HCl	ácido clorídrico
HClO	ácido hipocloroso
HCV	Hospital de Clínicas Veterinárias
ICBS	Instituto de Ciências Básicas da Saúde
IgE	imunoglobulina E
IL	interleucina
kg	quilograma
MALDI-TOF	<i>matrix assisted laser desorption ionization-time of flight</i> (espectrometria de massa com fonte de ionização e dessorção a laser assistida por matriz e analisador de tempo-de-voo)
MAPK	<i>Mitogen activated protein kinases</i> (proteínas quinases ativadas por mitógenos)
MDR	<i>multidrug resistant</i> (resistente a múltiplas drogas)

mL	mililitro
MPO	mieloperoxidase
MRS	<i>methicillin-resistant Staphylococcus</i> (<i>Staphylococcus</i> resistente à meticilina)
MRSA	<i>methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i> (<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina)
MRSP	<i>methicillin-resistant Staphylococcus pseudintermedius</i> (<i>Staphylococcus pseudintermedius</i> resistente à meticilina)
MSSP	<i>methicillin-sensitive Staphylococcus pseudintermedius</i> (<i>Staphylococcus pseudintermedius</i> suscetível à meticilina)
NaClO	hipoclorito de sódio
NADPH	dinucleótido de nicotinamida e adenina fosfato oxidase
NaOH	hidróxido de sódio
NFkB	fator nuclear <i>kappa B</i>
OCI ⁻	hipoclorito
PCR	<i>polymerase chain reaction</i> (reação em cadeia da polimerase)
pH	potencial hidrogeniônico
<i>S.</i>	<i>Staphylococcus</i>
SCoN	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa
spp.	espécies
Th	linfócito T <i>helper</i> (Linfócito T auxiliar)
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul
XDR	<i>extensively drug resistant</i> (extensivamente resistente a drogas)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS.....	16
2.1	Objetivo Geral	16
2.2	Objetivos Específicos.....	16
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
3.1	Piodermites superficiais	17
3.2	<i>Staphylococcus</i> spp. resistentes à meticilina (MRS)	21
3.3	Clorexidine e ácido hipocloroso como terapia tópica.....	23
4	MATERIAIS E METÓDOS	32
4.1	Animais.....	32
4.2	Delineamento experimental	32
4.3	Citologia cutânea	38
4.4	Exame parasitológico de pele	39
4.5	Cultura fúngica.....	39
4.6	Cultura bacteriana e perfil de resistência antimicrobiana	40
4.7	Escore total de piodermite superficial canina.....	41
4.8	Critérios de inclusão e exclusão	42
4.9	Análise Estatística.....	43
	REFERÊNCIAS	44
	APÊNDICE A	54
	APÊNDICE B	55
	APÊNDICE C	59
	APÊNDICE D	60

1 INTRODUÇÃO

As piodermites são infecções bacterianas piogênicas da pele e representam, se não a primeira, a segunda principal causa de dermatopatia em caninos (LARSSON JUNIOR; HENRIQUES, 2020). O principal agente etiológico é *Staphylococcus pseudintermedius* (GORTEL, 2013), bactéria comensal da microbiota cutânea dos cães (MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013) e presente em suas cavidades oral, nasal e genital (GORTEL, 2013; LARSEN *et al.*, 2018). A confirmação do diagnóstico e da causa de base, visto que em sua maioria são quadros secundários, se alicerça em achados de anamnese, exames físico e complementares (HNILICA; PATTERSON, 2017).

As dermatopatias correspondem a substancial motivo para uso de antibióticos na rotina de pequenos animais, representando cerca de 23% das terapias antimicrobianas prescritas em um hospital escola (ESCHER *et al.*, 2011). Em outro estudo, realizado em ambiente semelhante, as alterações cutâneas foram as principais responsáveis pelo uso de antibiótico prévio ao atendimento e quando avaliado somente pacientes do setor de dermatologia observou-se que mais de 70% dos animais atendidos já havia recebido pelo menos um tratamento antimicrobiano nos últimos 12 meses (BAKER *et al.*, 2012). Tal prática oferece maior risco de infecção subsequentes por agentes resistentes (BECK *et al.*, 2012; COUTO *et al.*, 2016; HENSEL; ZABEL; HENSEL, 2016; KURITA *et al.*, 2019).

Com isso, a tradicional abordagem de uso de antimicrobianos sistêmicos no tratamento de infecções cutâneas bacterianas, especialmente cefalosporinas de primeira geração, muitas vezes de forma empírica (HILLIER *et al.*, 2014), é desafiada mediante o aumento da prevalência de *Staphylococcus* spp. resistentes à meticilina (MRS) e resistentes a múltiplas drogas (MDR) (COUTO *et al.*, 2016; GAGETTI *et al.*, 2019; TEIXEIRA; FERREIRA; PENNA, 2019). Mediante tal cenário, as opções de tratamento tópico ganham papel de destaque, convertendo-se de agentes adjuvantes à opção terapêutica de primeira escolha no tratamento e controle de piodermites superficiais (MORRIS *et al.*, 2017).

O ácido hipocloroso (HClO) é o ingrediente ativo do hipoclorito de sódio, cujo emprego no tratamento de infecções cutâneas remete à Primeira Guerra Mundial (LEVINE, 2013), e apresenta vantagens sobre este. É mais estável, atóxico, apresenta pH neutro e não mancha quando em contato com roupas ou móveis (JEFFERS, 2013).

Trabalhos *in vitro* e em modelos animais demonstraram sua ação antimicrobiana (WANG *et al.*, 2007; RAMEY; KINDE, 2015), antibiofilme e cicatrizante (SAKARYA *et al.*, 2014). Tais propriedades, aliadas à ação antiprurítica (PELGRIFT; FRIEDMAN, 2013; FUKUYAMA *et al.*, 2018), fazem com que seja recomendado para assepsia cirúrgica (CHAPMAN *et al.*, 2018) e uso pós-operatório (BHATIA *et al.*, 2018) em procedimentos estéticos, bem como no manejo de feridas e de cicatrizes em medicina (GOLD *et al.*, 2020). Outros empregos do HClO incluem tratamento de úlceras cutâneas (SELKON *et al.*, 2006), irrigação intra-abdominal (MATTHEWS *et al.*, 2018) e uso odontológico em humanos (LAFURIE *et al.*, 2015).

De acordo com Koch, Torres e Plumb (2012), o ácido hipocloroso pode ser utilizado na desinfecção de feridas e como adjuvante no tratamento de infecções cutâneas em medicina veterinária. Com isso, parece ser opção viável e com potencial eficácia para o tratamento de piodermite superficial canina. No entanto, na literatura consultada, apenas estudos em animais de laboratório (ROBSON *et al.*, 2007; WANG *et al.*, 2007) foram encontrados, salientando a necessidade da avaliação do uso de ácido hipocloroso em pequenos animais.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o uso de aplicação tópica diária de *spray* de solução de ácido hipocloroso 0,015% no tratamento de piodermite estafilocócica superficial canina.

2.2 Objetivos Específicos

Avaliar o efeito da aplicação tópica diária de *spray* de ácido hipocloroso 0,015% sobre lesões de piodermite estafilocócica superficial canina em até 30 dias de uso.

Avaliar o efeito da aplicação tópica diária de *spray* de clorexidine 2% sobre lesões de piodermite estafilocócica superficial canina em até 30 dias de uso.

Comparar os resultados obtidos com o tratamento tópico com solução de ácido hipocloroso 0,015% aos do uso tópico de solução de clorexidine 2% sobre lesões de piodermite estafilocócica superficial canina em até 30 dias de uso.

Comparar os resultados obtidos com os tratamentos tópicos de ácido hipocloroso 0,015% e clorexidine 2% sobre lesões de piodermite superficial canina causada por *Staphylococcus* sp. sensível à metilina aos de *Staphylococcus* sp. resistente à metilina em até 30 dias de uso.

Avaliar a ocorrência de efeitos adversos decorrentes dos tratamentos tópicos com solução de ácido hipocloroso 0,015% e solução de clorexidine 2%.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Piodermites superficiais

As piodermites são infecções bacterianas piogênicas da pele e estão entre as condições dermatológicas mais comumente encontradas em cães, sendo quase sempre secundárias à doença subjacente (GORTEL, 2013; LARSSON JUNIOR; HENRIQUES, 2020). O agente etiológico mais comum é o *Staphylococcus pseudintermedius*, porém outras espécies, como *S. aureus* e *S. schleiferi*, também podem ser identificadas (BLOOM, 2014; HILLIER *et al.*, 2014; HNILICA; PATTERSON, 2017; MORRIS *et al.*, 2017; LARSSON JUNIOR; HENRIQUES, 2020). O *S. pseudintermedius* é um organismo comensal das cavidades oral, nasal, genital e anal dos cães, de forma que tais sítios anatômicos atuam como reservatórios para a colonização cutânea (GORTEL, 2013; MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013; LARSEN *et al.*, 2018).

Por se tratar de uma bactéria comensal, fatores primários do hospedeiro são responsáveis pela infecção. As causas primárias mais frequentes incluem dermatopatias alérgicas e doenças endócrinas (BLOOM, 2014; HNILICA; PATTERSON, 2017). A maior frequência de piodermite nos cães do que em outras espécies pode ser explicada pelo estrato córneo mais fino e compacto, bem como pela menor quantidade de lipídeos intercelulares e maior pH (GORTEL, 2013; MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013). Interessante observar que cepas de *Staphylococcus* resistentes à meticilina (MRS) apresentaram maior capacidade de adesão a corneócitos caninos *in vitro* do que cepas não resistentes (LATRONICO *et al.*, 2014).

Clinicamente, as piodermites podem ser classificadas como de superfície, superficiais e profundas (MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013; HNILICA; PATTERSON, 2017). As superficiais são as de maior ocorrência e dentre estas, a foliculite bacteriana superficial é a mais comum (LARSSON JUNIOR; HENRIQUES, 2020). O Quadro 1 sumariza as principais apresentações clínico-patológicas das piodermites.

Quadro 1 – Classificação de piodermites baseada no aspecto clínico-patológico

Profundidade	Lesões características	Apresentações
De superfície: limitada à superfície da camada córnea.	Eritema, exsudação, crostas, erosões, escoriações	Dermatite piotraumática Intertrigo
Superficial: afeta a porção infundibular dos folículos pilosos e epiderme.	Máculas eritematosas, pápulas, pústulas, escamas, crostas melicéricas, colaretes epidérmicos, erosões, escoriações, hiperpigmentação, lignificação, alopecia irregular (padrão “roedura de traça”), prurido variável	Foliculite bacteriana superficial Impetigo Piodermite mucocutânea Piodermite esfoliativa
Profunda: envolve tecidos mais profundos do que o folículo piloso. Invade a derme e muitas vezes o tecido subcutâneo.	Nódulos, placas, edema, úlceras, necrose, alopecia cicatricial, hiperpigmentação	Foliculite e furunculose Celulite e paniculite Piodermite nasal, mentoniana ou interdigital

FONTE: Adaptado de Miller; Griffin; Campbell (2013), Hnilica; Patterson (2017) e Larsson Junior; Henriques (2020).

Embora tais classificações sejam claras do ponto de vista teórico, na prática por vezes se sobrepõem e consistem em diagnósticos desafiadores para o Médico Veterinário (LARSSON JUNIOR; HENRIQUES, 2020). Segundo Miller; Griffin; Campbell (2013) e Hillier *et al.* (2014), a observação dos sinais acima mencionados (Quadro 1) é altamente sugestiva do diagnóstico de piodermite superficial, mas o descarte de outras causas de foliculite, como demodicose e dermatofitose, além de doenças autoimunes, deve ser realizado.

Com isso, exames complementares como parasitológico de pele, avaliação micológica (lâmpada de Wood, exame direto e cultura fúngica), citologia cutânea, cultura bacteriana e antibiograma, são necessários para descarte de diagnósticos diferenciais e confirmação da suspeita de piodermite (HNILICA; PATTERSON, 2017; LARSSON JUNIOR; HENRIQUES, 2020). Cabe ressaltar que devido à natureza secundária da vasta maioria das infecções bacterianas de pele, outras avaliações, como exames hematológicos e bioquímicos, podem ser solicitados para identificação da causa de base (BLOOM, 2014; LARSSON JUNIOR; HENRIQUES, 2020).

A abordagem terapêutica da piodermite canina deve ser individualizada, considerando-se, além da severidade e extensão das lesões, fatores do paciente e seu tutor (HILLIER *et al.*, 2014). Para que se obtenha sucesso com a terapia instituída, a qual pode ser sistêmica e/ou tópica, é necessário identificar, corrigir ou controlar a causa de base (MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013; LARSSON JUNIOR; HENRIQUES, 2020). Está além do escopo desta revisão esgotar as opções de tratamento para piodermite superficial canina, de modo que as principais opções terapêuticas são resumidas na sequência.

Visto que o agente etiológico mais comum é o *S. pseudintermedius*, antimicrobianos efetivos contra essa bactéria são os de primeira escolha para tratamento sistêmico (MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013; BLOOM, 2014). Cefalosporinas de primeira geração, como cefalexina e amoxicilina com clavulanato, podem ser utilizadas de forma empírica se evidências de resistência bacteriana não estiverem presentes (HILLIER *et al.*, 2014).

Os mesmos autores salientaram que fármacos de segunda e terceira escolha, como fluorquinolonas, doxiciclina, aminoglicosídeos e vancomicina, só devem ser utilizados baseados em resultados de cultura e antibiograma, e quando fármacos de primeira e segunda escolha, respectivamente, não forem apropriados. Cabe salientar que o uso de

quinolonas, amplamente empregado nas últimas décadas, tem se tornado restrito mediante o aumento de resistência a esta classe de antimicrobianos (LARSSON JUNIOR; HENRIQUES, 2020). Além disso, tem sido evitado em medicina humana em virtude de seus potenciais efeitos adversos (GALES; MINARINI, 2019). O período de administração de antibióticos sistêmicos deve ser de 21 dias ou sete dias após a resolução das lesões (BLOOM, 2014; HILLIER *et al.*, 2014; HNILICA; PATTERSON, 2017; MORRIS *et al.*, 2017; LARSSON JUNIOR; HENRIQUES, 2020) e reavaliação clínica deve ser realizada, sempre que possível, após 15 dias de tratamento (MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013; HILLIER *et al.*, 2014).

No entanto, essa tradicional abordagem de uso de antibiótico sistêmico, muitas vezes baseado em escolhas empíricas, tem sido cada vez mais desafiada pelo aumento da prevalência de MRS e MDR (CAIN, 2013; COUTO *et al.*, 2016; GAGETTI *et al.*, 2019; TEIXEIRA; FERREIRA; PENNA, 2019). Em um cenário em que as dermatopatias são as principais responsáveis pelo uso de antibióticos em pequenos animais (ESCHER *et al.*, 2011; BAKER *et al.*, 2012) associado ao maior risco de infecção por MRS em pacientes que receberam terapia sistêmica prévia (BECK *et al.*, 2012; COUTO *et al.*, 2016; HENSEL; ZABEL; HENSEL, 2016; KURITA *et al.*, 2019), o tratamento tópico ganha destaque, mudando seu papel de agente adjuvante no controle de piodermites superficiais para opção terapêutica individual e de primeira escolha (JEFFERS, 2013; MORRIS *et al.*, 2017).

Diferentes opções de princípios ativos - ácido fusídico, mupirocina, rifamicina, aminoglicosídeos, clorexidina e peróxido de benzoíla, por exemplo - (LARSSON JUNIOR; HENRIQUES, 2020), e apresentações podem ser utilizados na terapia tópica, e as seguintes variáveis irão determinar o sucesso terapêutico: eficácia do agente escolhido, veículo e tempo de contato apropriados, e ação residual (JEFFERS, 2013). Para as apresentações de piodermite generalizada, o uso de *shampoos*, loções, *sprays* e condicionadores é mais adequado; enquanto para quadros localizados, géis, cremes e lenços umedecidos podem ser utilizados de forma satisfatória (HILLIER *et al.*, 2014).

Os agentes mais empregados são clorexidina (2-4%) (SUMMERS; HENDRICKS; BRODBELT, 2014), mupirocina e ácido fusídico (MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013; LARSSON JUNIOR; HENRIQUES, 2020). Porém, é preciso fazer uso racional destes fármacos, visto que são opções para tratamento de humanos (BLOOM, 2014; HILLIER *et al.*, 2014; MORRIS *et al.*, 2017) e indícios de resistência

já foram observados por Frosini *et al.* (2019), Godbeer; Gold; Lawhon (2014) e Yu *et al.* (2015), respectivamente.

3.2 *Staphylococcus spp.* resistentes à meticilina (MRS)

O gene *mecA*, adquirido por cepas de *Staphylococcus* coagulase positiva pouco tempo após a implementação do uso de meticilina na medicina (JEVONS; COE; PARKER, 1963; MORRIS *et al.*, 2017), seleciona resistência a este antimicrobiano e é uma das principais formas de resistência bacteriana observada (MOREIRA, 2020). Presente no cassete genético *mec*, esse gene é responsável pela síntese de uma forma alterada da proteína de ligação PBP 2a (CAIN, 2013). Esta permite a ocorrência de contínuas ligações cruzadas essenciais no processo de biossíntese da parede celular bacteriana, apesar da inativação de outras proteínas de ligação pelos beta-lactâmicos (PINHO; LENCASTRE; TOMASZ, 2001). Desta forma, confere resistência à toda esta classe de antimicrobianos, com exceção apenas de cefalosporinas de quinta geração como ceftarolina (MORRIS *et al.*, 2017; MOREIRA, 2020).

Além disso, MRS frequentemente apresentam resistência a outras famílias de antibióticos como aminoglicosídeos, fluorquinolonas, tetraciclinas e sulfas, por exemplo (LOEFFLER *et al.*, 2007; BEEVER *et al.*, 2015; COUTO *et al.*, 2016; DOS SANTOS *et al.*, 2016). Cepas de MRS que expressam resistência a pelo menos duas classes adicionais de antimicrobianos são classificadas como MDR e quando presente sensibilidade a apenas duas ou menos classes, extensivamente resistente a drogas (XDR) (MAGIORAKOS *et al.*, 2012). Embora a nomenclatura baseada na resistência à meticilina seja mundialmente utilizada, o antimicrobiano testado laboratorialmente é oxacilina, outra penicilina semissintética resistente a penicilinases (CAIN, 2013).

Tendo se expandido no final da década de 1990, tornando-se globalmente distribuídos (GUARDABASSI *et al.*, 2013), a prevalência observada de MRS em cães varia conforme localização geográfica e metodologia do estudo. Beever *et al.* (2015) observaram frequência de 0,7% em amostras recebidas em um laboratório bacteriológico; Grönthal *et al.* (2015), 3% em cães guias hígidos; Siak *et al.* (2014), 7% em cães com piodermite; Couto *et al.* (2016), 11,6% em amostras de infecções clínicas, principalmente otite e piodermite; Wang *et al.* (2012), 12,7% em cães com piodermite. Vincze *et al.* (2014) e Youn *et al.* (2011) relataram alarmantes prevalências de 62,7% em amostras oriundas de feridas cutâneas e 65,4% em amostras de cães hospitalizados,

respectivamente. Segundo Guerra *et al.* (2013) a prevalência de MRSP em cães com piодermite em Porto Alegre/Brasil foi de cerca de 30%. Já em 2016, Bourguignon *et al.* relataram o expressivo valor de 94,3% de MRSP obtidos de amostras de cães com piодermite no estado de Minas Gerais/Brasil.

Outro estudo conduzido em território nacional, avaliou o padrão de resistência bacteriana de *Staphylococcus* coagulase negativos (SCoN) isolados de cães assintomáticos e de outros previamente diagnosticados com piодermite ou otite externa, confirmando resistência à meticilina em 10,2% das amostras, não havendo diferença de prevalência entre os grupos (TEIXEIRA; FERREIRA; PENNA, 2019). Já Kunder *et al.* (2015) observaram expressiva prevalência de cerca de 70% de *Staphylococcus schleiferi* resistente à meticilina. Considerados no passado como de pouca importância clínica, os SCoN passaram a ser reconhecidos como agentes causadores de piодermite canina (MORRIS *et al.*, 2017; MOREIRA, 2020). Salienta-se, assim, o potencial risco que estes agentes oferecem à saúde humana e animal, visto que podem atuar como reservatórios de genes de resistência e como agentes zoonóticos (WALTHER; TEDIN; LÜBKE-BECKER, 2017).

Embora a maior ocorrência de MRS imponha desafios ao tratamento dos animais acometidos, não implica necessariamente em pior prognóstico, desde que uma opção de antibiótico segura seja viável (LOEFFLER *et al.*, 2007; BRYAN *et al.*, 2012). Porém, quando diante de uma cepa MDR ou XDR as intervenções terapêuticas podem ficar muito limitadas e, por fim, resultar em pior desfecho, especialmente se a resistência não for prontamente identificada e terapia correta instituída (MORRIS *et al.*, 2017). Tais situações podem se tornar extenuantes, tanto para o paciente quanto para seu tutor, e eutanásia pode ser considerada devido à perda de qualidade de vida (VINCZE *et al.*, 2010; WALTHER; TEDIN; LÜBKE-BECKER, 2017; FREY, 2018)

O aumento de resistência bacteriana reflete na saúde única, visto que a transmissão de MRS de animais infectados para seus tutores e comunidade pode ocorrer (VINCZE *et al.*, 2010; GÓMEZ-SANZ *et al.*, 2013; VINCZE *et al.*, 2014; COUTO *et al.*, 2016; MORRIS *et al.*, 2017). Com isso, causa impacto na medicina humana (KAPLAN, 2005; GUSS; KAZAHAYA, 2007), bem como predispõe a surtos de infecção em instituições de saúde (GRÖNTHAL *et al.*, 2014; WALTHER; TEDIN; LÜBKE-BECKER, 2017).

O uso racional de terapia antimicrobiana figura como uma das medidas que podem limitar a ocorrência e propagação de MRS e MDR (KURITA *et al.*, 2019), devendo,

portanto, ser estimulado com medidas educacionais, por exemplo (REDDING; COLE, 2019; SMITH *et al.*, 2019). Tais ações são necessárias no combate a estes potenciais agentes zoonóticos, de forma que se aplique um conceito interdisciplinar de saúde única (FREY, 2018).

3.3 Clorexidine e ácido hipocloroso como terapia tópica

Como já mencionado, a terapia tópica é a modalidade de eleição para o tratamento de piодermite de superfície e superficiais (MORRIS *et al.*, 2017), e o clorexidine é um dos princípios ativos mais utilizados (MUELLER *et al.*, 2012a; MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013; SUMMERS; HENDRICKS; BRODBELT, 2014; LARSSON JUNIOR; HENRIQUES, 2020). O clorexidine é uma biguanida de ações antisséptica e desinfetante com espectro de ação abrangendo bactérias Gram positivas e negativas (exceto *Pseudomonas* spp. e *Serratia* spp.), leveduras e fungos, incluindo *Malassezia* spp. e dermatófitos (LARSSON JUNIOR; HENRIQUES, 2020).

O clorexidine atua ligando-se à membrana celular bacteriana, o que resulta em desorganização da mesma e perda de seus componentes intracelulares; baixas concentrações promovem perda mais lenta destes constituintes, enquanto concentrações maiores, mais rápida. Seu efeito antibacteriano é cumulativo e contínuo, tendo ação residual por mais de 24 horas (PAULINO, 2006). Além disso, não é inativado por matéria orgânica (LARSSON; LARSSON JÚNIOR, 2006).

Adicionalmente, o clorexidine pode ser utilizado em diferentes apresentações (lenços, *sprays*, *shampoos*, por exemplo), associado ou não a outros princípios ativos (como antifúngicos), em concentrações de dois a quatro por cento (JEFFERS, 2013; HILLIER *et al.*, 2014; LARSSON JUNIOR; HENRIQUES, 2020). Seu uso já se mostrou eficaz no tratamento de piодermite canina em concentrações de 2% (LOEFFLER *et al.*, 2007; MURAYAMA *et al.*, 2010a; MURAYAMA *et al.*, 2010b) e 4% (BORIO *et al.*, 2015) e é indicado tanto para quadros causados por *Staphylococcus pseudintermedius* suscetível à metilina (MSSP), quanto para MRSP (HILLIER *et al.*, 2014; CLARK; LOEFFLER; BOND, 2015; MORRIS *et al.*, 2017).

Segundo Guardabassi *et al.* (2013), o uso de antissépticos não parece influenciar na seleção de cepas de *Staphylococcus* spp. resistentes à metilina, pois teriam ação equivalente contra MSSP e MRSP. No entanto, é preciso considerar que o amplo emprego de clorexidine em medicina humana resultou em diminuição da sensibilidade ao

antisséptico (NOGUCHI *et al.*, 2006) e em medicina veterinária já há indícios de resistência (FROSINI *et al.*, 2019), bem como relatos de insucesso com seu uso como monoterapia para piодermite canina (VINCZE *et al.*, 2010; WAN, 2014).

Embora a terapia tópica seja preconizada, é preciso atentar para o uso de medicações utilizadas em humanos, como mupirocina e ácido fusídico, devido ao potencial risco de transmissão de *Staphylococcus* spp. entre animais e pessoas (VINCZE *et al.*, 2010; GÓMEZ-SANZ *et al.*, 2013; VINCZE *et al.*, 2014; COUTO *et al.*, 2016). Já há evidências de resistência a esses antimicrobianos (GODBEER; GOLD; LAWHON, 2014; CLARK; LOEFFLER; BOND, 2015; YU *et al.*, 2015; FROSINI *et al.*, 2019), bem como de elevação na prevalência de cepas resistentes a aminoglicosídeos (GOLD, COHEN, LAWHON, 2014; COUTO *et al.*, 2016), classe antibiótica também recomendada para tratamento tópico de piодermite (JEFFERS, 2013; LARSSON JUNIOR; HENRIQUES, 2020). Com isso, a avaliação de novas opções terapêuticas tópicas (BENSIGNOR; FABRIÈS; BAILLEUX, 2016; BÄUMER; JACOBS; TAMAMOTO-MOCHIZUKI, 2019; TRESCH *et al.*, 2019), em estudos adequadamente projetados, se faz necessária, observação corroborada por Mueller *et al.* (2012a) e Morris *et al.* (2017).

Frente à realidade das infecções cutâneas multirresistentes, o hipoclorito de sódio (NaClO), princípio ativo presente na maioria dos alvejantes domésticos e antisséptico pouco utilizado em medicina veterinária, passou a compor o manejo de tais casos (LARSSON JUNIOR; HENRIQUES, 2020). Seu mecanismo de ação causa alterações no metabolismo celular, levando à destruição de fosfolipídios e inativação enzimática irreversível (ESTRELA *et al.*, 2002). O uso de NaClO para tratamento de infecções cutâneas remete à Primeira Guerra Mundial, quando o líquido de Dakin foi desenvolvido e utilizado com sucesso em combatentes feridos (LEVINE, 2013). Desde então, seu uso tem sido avaliado em medicina veterinária e humana com estudos *in vitro* e *in vivo*.

Fisher *et al.* (2008) avaliaram a ação *in vitro* de NaClO sobre *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA) e concluíram que a solução de 2,5µL/mL foi eficaz em eliminar os isolados dentro de cinco minutos. No mesmo ano, Sassone *et al.* observaram ação satisfatória *in vitro* de solução de NaClO de 1 e 5% contra diferentes patógenos, incluindo *S. aureus*, independentemente do tempo de ação ou da presença de matéria orgânica. Em estudo *ex vivo*, Eriksson *et al.* (2017) observaram morte de mais de 90% de *S. aureus* após uma hora de incubação com solução de NaClO 0,02 ou 0,04%,

porém a erradicação dos microrganismos só foi observada com solução de 0,16%. O efeito da ação do hipoclorito de sódio sobre cepas de MRSP foi avaliado, também em *in vitro*, por Pariser *et al.* (2013). Em seu estudo, os autores observaram que a diluição máxima para descontaminação foi de 1:32.

Embora médicos dermatologistas já relatassem anedoticamente melhora na condição clínica de pacientes atópicos após nadarem em piscinas cloradas (EICHENFIELD; TOTRI, 2014), seu efeito *in vivo* foi inicialmente comprovado por Huang *et al.* (2009). Em seu estudo, os autores demonstraram redução da severidade dos sinais clínicos em pacientes atópicos com infecção secundária mediante uso de solução de NaClO 0,005%. No entanto, não parece haver consenso na medicina sobre o real benefício de banhos com hipoclorito de sódio, nem se tais benefícios seriam superiores aos riscos. De acordo com Maarouf e Shi (2018), ainda que tal prática possa não ser aderida por todos pacientes, a combinação de ações antimicrobiana, anti-inflamatória e antiprurítica faz com que seja recomendada como parte de protocolo de controle de dermatite atópica (DA). Além disso, há ausência de danos à barreira epidérmica com aplicação de soluções usualmente recomendadas (0,005%) (SHI *et al.*, 2016). Chopra *et al.* (2017) constataram que os benefícios obtidos com banhos de NaClO eram os mesmos obtidos com os de água, no entanto ressaltaram a ausência de estudos de larga escala e com metodologia adequada. Kusari *et al.* (2019) complementaram levantando a hipótese de que a hidratação realizada após os banhos com alvejante diluído possa ser a responsável pela melhora, e não o próprio hipoclorito.

Em veterinária, relatos anedóticos de uso de soluções de hipoclorito de sódio no tratamento de dermatopatias superam os trabalhos encontrados na literatura consultada. De acordo com Banovic *et al.* (2018) a aplicação de solução de 0,05% reduziu a contagem bacteriana local sem causar efeitos adversos, porém os próprios autores salientaram o pequeno número de cães avaliados. No mesmo estudo, análises *in vitro* demonstraram redução de mediadores inflamatórios e ausência de danos à camada lipídica do estrato córneo. O emprego de *shampoo* contendo hipoclorito de sódio e ácido salicílico (concentrações não disponibilizadas pelo fabricante) três vezes por semana, durante quatro semanas, resultou em significativa melhora clínica e bacteriológica de cães com piodermite causada por MRSP (FADOK; IRWIN, 2019).

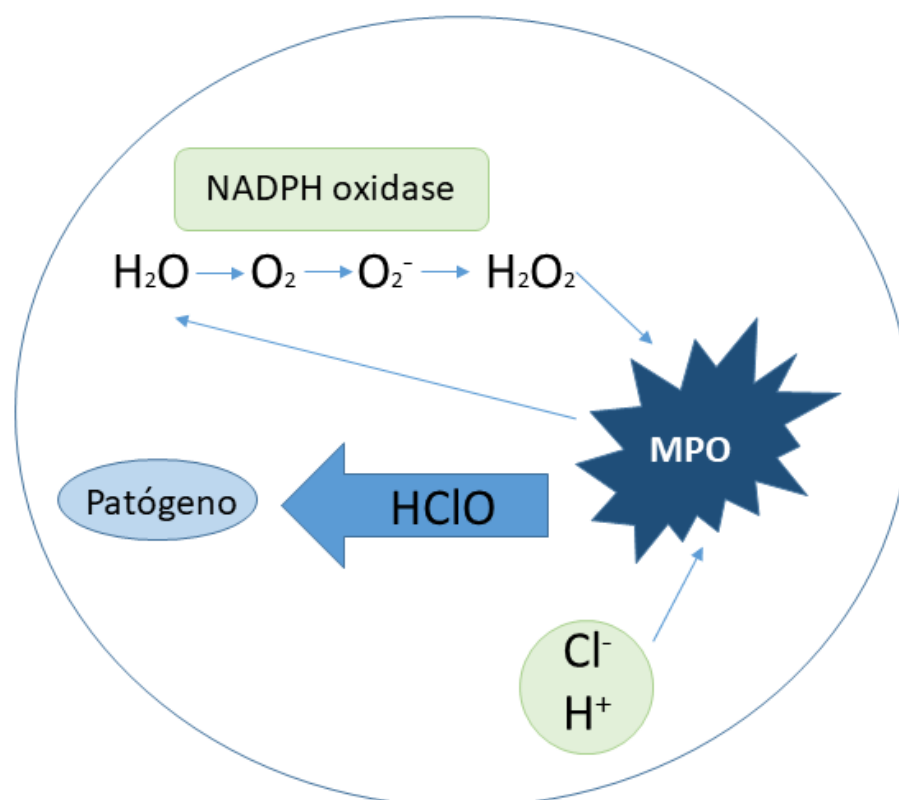
No entanto, o uso de soluções de NaClO em pequenos animais traz limitações em virtude de seu odor intenso, risco de dano a fômites e de possíveis efeitos colaterais como

ardor e intensificação do prurido (CHOPRA *et al.*, 2017). Além disso, acredita-se que possa exacerbar a asma em humanos em virtude dos vapores do banho (KUSARI *et al.*, 2019). Embora não tenham sido encontrados na literatura consultada relatos de tais sinais em cães submetidos à terapia tópica com hipoclorito de sódio, é pertinente supor que os mesmos sinais poderiam ser observados.

O ácido hipocloroso é o ingrediente ativo do hipoclorito de sódio (WINTER *et al.*, 2008) e, como este, apresenta ação antimicrobiana (SAKARYA *et al.*, 2014). No entanto, é atóxico e apresenta maior estabilidade, pH neutro e não descolore tecidos (JEFFERS, 2013). Disponível comercialmente no exterior em apresentações para uso em humanos e para animais (Dermacyn® e Vetericyn®, respectivamente) em concentração de 0,015%, tem indicação de uso diário para o tratamento de feridas e infecções de pele superficiais e profundas (KOCH; TORRES; PLUMB, 2012).

Seu mecanismo de ação mimetiza a de neutrófilos na fase inflamatória do reparo tecidual, visto que fisiologicamente uma característica importante do sistema imunológico no combate a patógenos é a formação de substâncias químicas altamente reativas, como peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (GOLD *et al.*, 2020). Este, por sua vez, é convertido em HClO pela mieloperoxidase na presença de cloro e hidrogênio (Figura 1) (SAKARYA *et al.*, 2014).

Figura 1 – Ilustração representando a formação de HClO em neutrófilo.



Legendas: MPO: mieloperoxidase; NADPH: Dinucleótido de nicotinamida e adenina fosfato oxidase; Cl⁻: cloro; H⁺: hidrogênio.

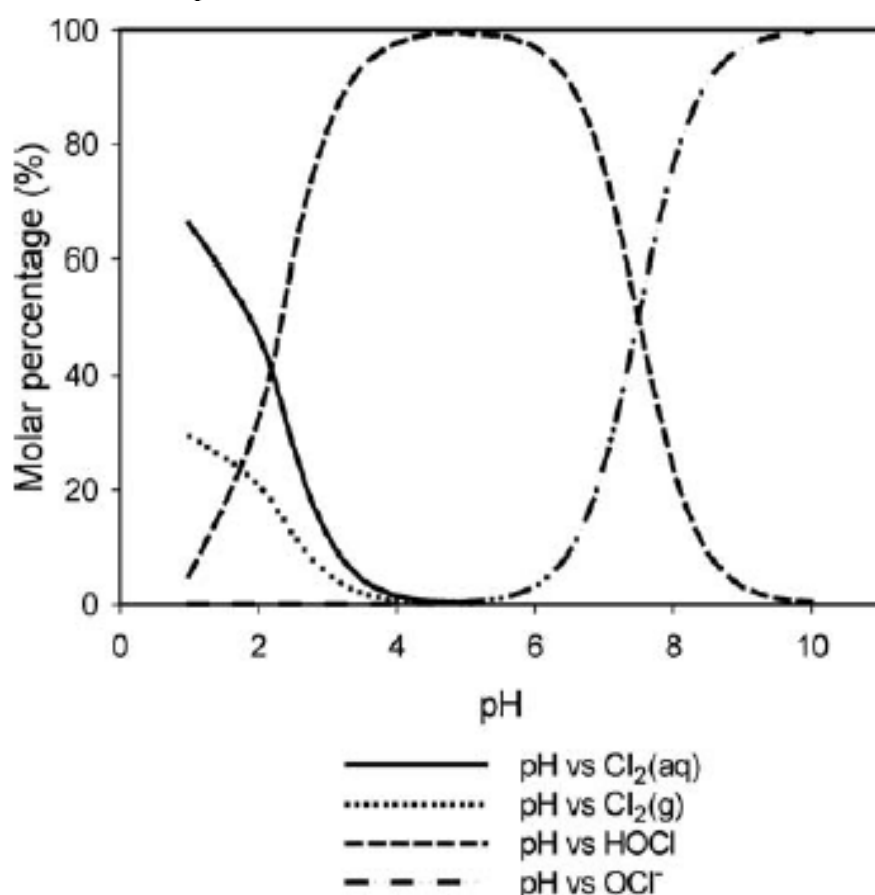
FONTE: Adaptado de Lafaurie *et al.* (2015).

O HClO leva à agregação de proteínas, oxidação irreversível de enzimas, redução do metabolismo celular e conseqüentes alterações no DNA microbiano (ESTRELA *et al.*, 2002; WINTER *et al.*, 2008; SAKARYA *et al.*, 2014). Visto que a bactéria é incapaz de reverter tais ações ou inativar o ácido hipocloroso, o desenvolvimento de resistência não é esperado (CHAPMAN *et al.*, 2018).

Soluções de ácido hipocloroso podem ser obtidas de três formas: hidrólise de cloro gasoso, eletrólise de solução salina e acidificação de hipoclorito (WANG *et al.*, 2007; LAFAURIE *et al.*, 2015), sendo a última a mais acessível (RAMEY; KINDE, 2015). A presença de cloro na solução de ácido hipocloroso pode resultar na formação de gás cloro (Cl₂) e este tem impacto significativo em sua estabilidade, pois uma vez formado, volatiliza e diminui a concentração ativa de Cl⁻ na solução (WANG *et al.*, 2007). A degaseificação de Cl₂ é uma limitação potencial na aplicação de produtos de HClO, de forma que é essencial procurar estabilizar o potencial hidrogeniônico (pH) do fluido a fim de

minimizar sua formação (PELGRIFT; FRIEDMAN, 2013; LAFAURIE *et al.*, 2015; DEL ROSSO; BATHIA, 2018). A presença de cada elemento na solução é determinada pelo pH e maior porcentagem molar de HClO é obtida em pH entre três e seis (Figura 2) (WANG *et al.*, 2007). Além disso, Ishihara *et al.* (2017) observaram que soluções de HClO em pH 6 tem sua estabilidade reduzida mediante exposição à luz solar ou ultravioleta, contato com o ar, temperaturas acima de 25°C e presença de íons inorgânicos, carboidratos e proteínas na água utilizada para diluição.

Figura 2 – Porcentagem molar de Cl₂, HClO e hipoclorito (OCl⁻) de acordo com o pH.



Legendas: aq: aquoso; g: gasoso.

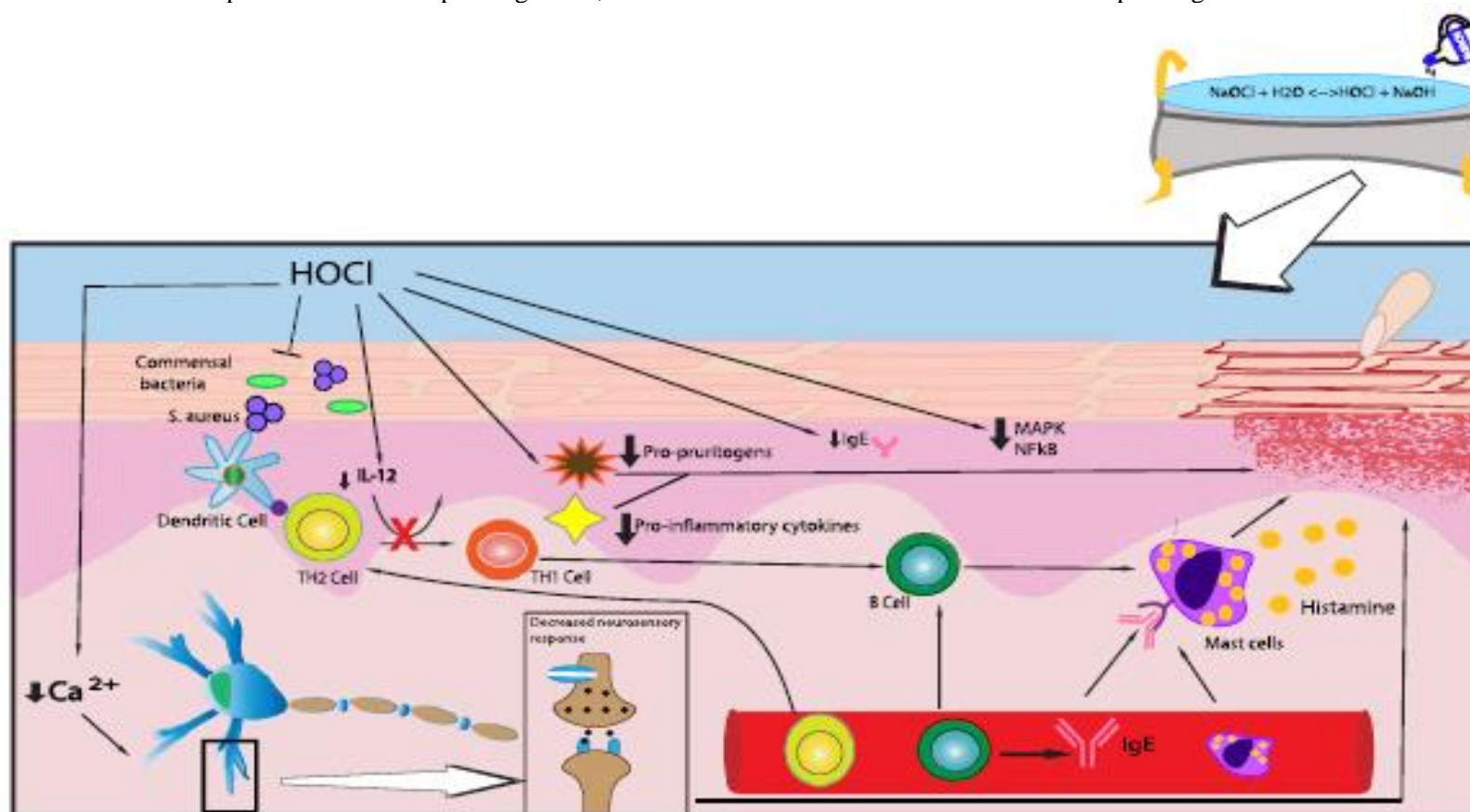
FONTE: WANG *et al.* (2007).

Wang e colaboradores (2007) desenvolveram soluções estáveis de ácido hipocloroso 0,01, 0,03 e 0,1% e observaram atividade antimicrobiana satisfatória *in vitro* em menos de dois minutos contra diferentes agentes, incluindo *S. aureus*. O mesmo estudo demonstrou segurança no uso em modelos animais, visto que nenhuma reação irritativa ou sensibilizante foi observada, bem como sinais de toxicidade sistêmica. A solução de HClO 0,01% obteve ação antibacteriana sem inibir o processo de cicatrização

em modelo animal de feridas crônicas (ROBSON *et al.*, 2007). Ramey e Kinde (2015) realizaram estudo *in vitro* com solução caseira de ácido hipocloroso 0,012% e obtiveram inibição de crescimento de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, salientando o potencial do produto em vista do baixo custo e fácil acessibilidade. Selkon *et al.* (2006) observaram significativa redução de úlceras venosas crônicas em humanos, bem como ação analgésica, com o emprego de lavagens com solução de ácido hipocloroso.

Sakarya *et al.* (2014) observaram ação antibiofilme e antibacteriana sem prejuízo ao processo de cicatrização *in vitro* e Fukuyama *et al.* (2018), redução da inflamação e do prurido em modelo animal de dermatite atópica. Maarouf e Shi (2018) concluíram que além da ação antibacteriana, o HClO apresenta propriedades anti-inflamatória e antiprurítica, sem causar danos à barreira epidérmica (Figura 3).

Figura 3 – Desenho esquemático dos efeitos do HClO na DA. Observa-se ação antibacteriana e redução da atividade de células apresentadoras de antígeno; da resposta Th1 e efeitos crônicos da DA; da formação de IgE; da degranulação de mastócitos; de citocinas pró-inflamatórias e pruritogênicas, e da transmissão neurosensorial de estímulos pruritogênicos.



Legendas: Ca^{++} : cálcio; IgE: Imunoglobulina E; IL: Interleucina; MAPK: *Mitogen activated protein kinases* (proteínas quinases ativadas por mitógenos); NFkB: Fator nuclear *kappa* B; Th: Linfócito T *helper* (Linfócito T auxiliar). FONTE: Maarouf e Shi (2018).

Com base em tais propriedades, o ácido hipocloroso ganha destaque na medicina com diferentes aplicações, como assepsia cirúrgica (CHAPMAN *et al.*, 2018) e uso pós-operatório (BHATIA *et al.*, 2018) em procedimentos estéticos; manejo de feridas e de cicatrizes; tratamento de úlceras cutâneas (SELKON *et al.*, 2006); irrigação intra-abdominal (MATTHEWS *et al.*, 2018) e uso odontológico como agente antiplaca e para redução de inflamação gengival (LAFURIE *et al.*, 2015).

Por todo o exposto, o uso de solução tópica de ácido hipocloroso 0,015% parece ser potencial opção para o tratamento de piodermite superficial canina, com qualidades superiores ao hipoclorito de sódio, e estudos *in vivo* são necessários para avaliar sua eficácia.

4 MATERIAIS E METÓDOS

O presente estudo foi realizado no Hospital de Clínicas Veterinárias (HCV) da Faculdade de Veterinária (FAVET) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFRGS (CEUA – UFRGS), sob o protocolo número 35484 (APÊNDICE A). Todos procedimentos realizados foram de grau de severidade leve, conforme documentação acessória fornecida pela CEUA – UFRGS ([2009?]).

4.1 Animais

Foram incluídos cães com diagnóstico de piodermite estafilocócica superficial primária ou secundária, disseminada à generalizada, bilateral, independentemente do tempo de acometimento, oriundos da rotina clínica do HCV – UFRGS no período de agosto de 2018 a dezembro de 2019. Foram incluídos animais de qualquer raça, sexo, idade ou porte. Os tutores destes cães foram informados e esclarecidos de que os mesmos estavam participando de uma pesquisa, assinando um termo de consentimento livre e esclarecido para a inclusão no presente estudo (APÊNDICE B).

O diagnóstico de piodermite superficial foi realizado mediante presença de lesões características como alopecia difusa (padrão “roedura de traça”), pápulas, pústulas, colaretes epidérmicos, crostas e/ou eritema, associado à observação de bactérias e fagocitose ou neutrófilos degenerados na citologia cutânea (MURAYAMA *et al.*, 2010b; BECK *et al.*, 2012; MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013; BLOOM, 2014; HILLIER *et al.*, 2014; BORIO *et al.*, 2015). A presença de cocos fagocitados ou células inflamatórias degeneradas era necessária para diferenciar de supercrescimento bacteriano (GORTEL, 2013). Para inclusão no estudo, os animais precisavam apresentar acometimento bilateral, ou seja, ambos antímeros deviam apresentar lesões. O descarte de outras causas de foliculite, como demodicidose e dermatofitose (MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013; HILLIER *et al.*, 2014), foi realizado através de raspado cutâneo profundo, lâmpada de Wood e cultura fúngica.

4.2 Delineamento experimental

Foram aplicados dois protocolos de tratamento tópico em forma de *spray* nos cães participantes da pesquisa: solução de ácido hipocloroso 0,015% e clorexidine 2%, sendo cada um aplicado em uma das laterais do corpo uma vez ao dia por até 30 dias. A

determinação de qual produto foi aplicado em cada área foi feita por meio de ferramenta de randomização do *software* Microsoft® Excel® 2016 MSO (16.0.4266.1001) 64 bits. Um colaborador foi responsável pelo sorteio da randomização, distribuição da medicação aos tutores e registro destes dados, de forma que o estudo foi conduzido em formato duplo-cego. Os frascos foram identificados com cores diferentes e com a orientação sobre qual antímero deveria receber a respectiva aplicação (Figura 4).

Figura 4 – Frascos utilizados para o tratamento de cães com piodermite superficial contendo ácido hipocloroso 0,015% ou clorexidine 2% identificados com o respectivo antímero a ser aplicado.



FONTE: A própria autora.

Os princípios ativos foram manipulados no HCV – UFRGS. A solução de clorexidine 2% foi fornecida pela farmácia do hospital e a de ácido hipocloroso 0,015% foi elaborada por um colaborador do projeto de acordo com as recomendações do Instituto de Química da UFRGS. Sua formulação foi realizada através da diluição de hipoclorito de sódio em água destilada (WANG *et al.*, 2007; PELGRIFT; FRIEDMAN, 2013; LAFAURIE *et al.*, 2015; RAMEY; KINDE, 2015) e o pH 6,0 ajustado com adição de ácido clorídrico (HCl) ou hidróxido de sódio (NaOH) conforme a necessidade (Figura 5).

Cuidados para manutenção da estabilidade do produto foram seguidos de acordo com o observado por Ishihara *et al.* (2017).

Figura 5 – A: Manipulação de ácido hipocloroso 0,015% através da diluição de hipoclorito de sódio em água destilada. B: Ajuste de pH 6,0.



FONTE: A própria autora.

As aplicações foram feitas pelos tutores, seguindo a orientação de distância de cerca de 15cm da pele e de um jato de *spray* por área de aproximadamente 10cm². Foi entregue material impresso (APÊNDICE D) aos tutores dos animais participantes com as orientações de como aplicar os produtos. Além disso, a equipe de pesquisa manteve contato telefônico ou via *WhatsApp* semanalmente para acompanhar o tratamento e esclarecer eventuais dúvidas. Além dessas diretrizes, era recomendado evitar que o animal lambesse os produtos, sendo sugerido distrair o paciente através de brincadeiras, passeios ou, se necessário, uso de colar elisabetano até que ocorresse secagem total dos produtos; e que mediante observação de efeitos adversos, como vermelhidão, prurido ou desconforto, a equipe de pesquisa fosse contatada.

Animais de pelo longo foram tosados, a fim de permitir maior contato dos produtos com a superfície cutânea (LARSSON; LARSSON JÚNIOR, 2006; MUELLER *et al.*, 2012a; HILLIER *et al.*, 2014; BANOVIC *et al.*, 2018), com antecedência mínima à participação no estudo de 48 horas de modo que possíveis efeitos traumáticos do

procedimento não interferissem na avaliação do escore total de piodermite superficial. Além do tratamento tópico com as soluções de ácido hipocloroso 0,015% e clorexidine 2%, os cães receberam banhos semanais com *shampoo* hipoalergênico sem ação antisséptica (ácido láctico 0,2g, glicerina 0,8g, germe de trigo 1,0g, queratina hidrolisada 0,5g, lipossomas – com 1% de vitamina A, 1% de vitamina E, 4% de vitamina C e 5% de ômega 3 e 6 – 0,5g, essência herbal 0,3g e veículo 100,0mL¹ ou aloe vera, aveia coloidal, lauril sulfato de amônio, lauril éter sulfato de amônio, lauril dietanolamida, poliglicosídeo de álcool de ácidos graxos, fragrância, clorometilisotiazolinona, metilisotiazolinona, edetato dissódico, crosspolímero poliácrlato, ácido cítrico, hidróxido de sódio, água - concentrações não disponibilizadas pelo fabricante²). O banho deveria ser realizado antes da aplicação dos *sprays* de tratamento, com água tépida, deixando o produto agir por 10 minutos antes de completo enxague (JEFFERS, 2013).

No momento da inclusão na pesquisa, foi realizada avaliação clínica e citológica, além de exame parasitológico de pele (EPP), lâmpada de Wood, culturas fúngica e bacteriana, como descritos posteriormente. Os animais foram reavaliados nos dias 15 e 30 para nova aplicação do escore total de piodermite superficial canina. Nestas ocasiões também foi avaliada a presença ou não de eventuais efeitos adversos, tais como eritema, xerose, descamação e/ou prurido. Este foi avaliado, em cada antímero do animal de forma isolada, pelos tutores através da escala de severidade de prurido validada por Rybníček *et al.* (2009) nos dias zero, 15 e 30. Nesta escala havia a descrição de diferentes intensidades de manifestação de prurido e ao lado uma linha vertical com 10cm de comprimento na qual o tutor assinalava o ponto que melhor representava o sinal manifestado pelo paciente. Na sequência, o valor foi mensurado com auxílio de uma régua.

Mediante total remissão das lesões na avaliação do dia 15, os pacientes receberam os tratamentos por mais sete dias, seguindo o preconizado na literatura (BLOOM, 2014; HILLIER *et al.*, 2014; HNILICA; PATTERSON, 2017; MORRIS *et al.*, 2017; LARSSON JUNIOR; HENRIQUES, 2020), não retornando no dia 30. Pacientes que após os 30 dias de participação no estudo persistiram com sinais de piodermite seguiram assistidos pela pesquisadora, porém de forma externa ao presente trabalho, e receberam

¹ Dermogen®, Agener, São Paulo, São Paulo – Brasil.

² Vetriderme Shampoo Hipoalergênico HidraSense®, Bayer, São Paulo, São Paulo – Brasil.

terapia de acordo com o caso e com as diretrizes disponíveis (HILLIER *et al.*, 2014; MORRIS *et al.*, 2017).

Na última avaliação dos pacientes, foi solicitado ao tutor sinalizar sua percepção sobre os tratamentos realizados (Quadro 2).

Quadro 2 – Escala aplicada aos tutores para avaliação da resposta aos tratamentos utilizados em cães portadores de piodermite superficial. O tutor era orientado a marcar um X na opção que mais se aproximava de sua percepção dos tratamentos realizados.

Avaliação do tutor	Tratamento realizado na lateral direita do animal	Tratamento realizado na lateral esquerda do animal
1. O tratamento foi muito difícil de administrar, muito mal tolerado pelo meu cão e não funcionou.		
2. O tratamento foi difícil de administrar, mal tolerado pelo meu cão e foi levemente efetivo.		
3. O tratamento foi razoavelmente simples de administrar, razoavelmente tolerado pelo meu cão e resolveu parcialmente seu problema de pele.		
4. O tratamento foi fácil de administrar, bem tolerado pelo meu cão e funcionou bem.		
5. O tratamento foi muito fácil de administrar, muito bem tolerado pelo meu cão e resolveu seu problema de pele.		

FONTE: Adaptado de Nuttall *et al.* (2009).

4.3 Citologia cutânea

A citologia cutânea foi realizada, nos dias zero, 15 e 30, por meio de diferentes técnicas de coleta de material, de acordo com a lesão a ser avaliada, conforme o proposto por Mendelsohn; Rosenkrantz; Griffin (2006) e Gortel (2013), e descrito abaixo.

- Alopecia irregular (padrão “roedura de traça”): impressão por fita adesiva;
- Pústulas: foram delicadamente rompidas com agulha hipodérmica estéril e o material coletado por impressão direta;
- Crostas: foram removidas e a área subjacente submetida à coleta por impressão direta;
- Colaretos epidérmicos: crostas periféricas foram removidas e a coleta realizada como no item supracitado;
- Eritema: impressão por fita adesiva.

Para coleta por impressão por fita adesiva foi utilizado o lado adesivo de um pedaço de aproximadamente 10cm de fita de acetato limpa, firmemente pressionado múltiplas vezes sobre a lesão a ser coletada, de modo a obter a adesão de corneócitos, células inflamatórias e microrganismos (MENDELSON; ROSENKRANTZ; GRIFFIN, 2006; MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013). Na sequência, a amostra foi corada com *kit* panótico rápido³ e depositada sobre lâmina de vidro limpa e seca (GORTTEL, 2013; MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013).

Para coleta por impressão direta, uma lâmina de vidro para microscopia foi firmemente pressionada sobre a lesão ou friccionada na superfície da lesão em um único movimento (MENDELSON; ROSENKRANTZ; GRIFFIN, 2006). Após a material ter secado ao ar, foi corado como anteriormente mencionado.

A leitura das lâminas foi padronizada para todas as amostras, independentemente da forma de coleta e foi realizada pela mesma avaliadora (DFF). Inicialmente, o material foi avaliado no microscópio em menor magnificação (100X) para identificar áreas com escamas ou outras células e a seguir foi adicionado óleo de imersão para avaliação em

³ Instant Prov Corante Rápido Hematologia Newprov®, NewProv Produtos para Laboratórios Ltda., Pinhais, Paraná - Brasil

magnificação de 1000X com aumento do condensador, de forma a obter maior iluminação e melhor visualização dos microrganismos (MENDELSON; ROSENKRANTZ; GRIFFIN, 2006; GORTEL, 2013; MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013). Foram avaliados 10 campos microscópicos aleatórios.

4.4 Exame parasitológico de pele

Para descarte ou confirmação do diagnóstico diferencial de demodicidose foi realizado EPP por meio de raspado cutâneo profundo, visto esta técnica ser considerada padrão ouro (MUELLER *et al.*, 2012b). Foi coletado material no dia zero em uma área de aproximadamente 1cm². A região foi posicionada entre os dedos polegar e indicador do examinador, o qual exerceu pressão (“pinçamento”) (BECO *et al.*, 2007), enquanto a região era raspada com lâmina de bisturi número 23 no sentido do crescimento do pelo até que sangramento capilar fosse observado. O material obtido foi então depositado sobre lâmina de vidro, de modo a evitar acúmulos de material em um mesmo ponto para facilitar a observação, contendo óleo mineral ou hidróxido de potássio (KOH) 10% e coberto com lâmina ou lamínula (MUELLER *et al.*, 2012b; MILLER; GRIFFIN; CAMPBELL, 2013; HNILICA; PATTERSON, 2017).

As lâminas foram avaliadas pela mesma avaliadora (DFF) de forma sistemática, observando-se todos os campos, em magnificação de 100 vezes com diminuição do condensador do microscópio, para maior contraste com os ácaros e consequente maior visibilidade dos mesmos (HNILICA; PATTERSON, 2017).

4.5 Cultura fúngica

Segundo Moriello *et al.* (2017) não há técnica padrão ouro para o diagnóstico de dermatofitose, porém a cultura fúngica permite, além da detecção do agente, sua identificação. Foram obtidas amostras da periferia das lesões no dia zero mediante raspado com lâmina de bisturi ou avulsão de pelos com pinça hemostática (MORIELLO *et al.*, 2017). A área a ser coletada foi previamente higienizada com álcool 70% para remover detritos e limitar o crescimento de contaminantes (FERREIRO *et al.*, 2020). O material coletado foi encaminhado ao laboratório de micologia veterinária da UFRGS para realização de exame direto e cultura fúngica.

4.6 Cultura bacteriana e perfil de resistência antimicrobiana

Foram realizados cultura bacteriana e antibiograma em todos pacientes incluídos na pesquisa. A coleta de material ocorreu no dia zero, sem desinfecção local prévia de acordo com as diretrizes apresentadas por Gortel (2013), Miller; Griffin; Campbell (2013) e Hillier *et al.* (2014), as quais são sumarizadas no Quadro 3. A escolha do local de coleta foi feita baseada na literatura supracitada e em Larsen *et al.* (2018), de forma que lesões pustulares foram as de primeira eleição para a coleta, seguidas por crostas, colaretes epidérmicos e pápulas. Foram coletadas amostras das laterais direita e esquerda do corpo dos cães participantes.

Quadro 3 – Técnicas de coleta de material para cultura bacteriana e antibiograma.

Lesão	Técnica de coleta
Pústulas	Ruptura com agulha hipodérmica estéril e coleta do material exposto com <i>swab</i> estéril.
Crostas	Remoção da crosta com auxílio de agulha hipodérmica estéril e coleta da área subjacente com <i>swab</i> estéril.
Colaretes epidérmicos	Fricção de <i>swab</i> estéril nas bordas da lesão.
Pápulas	Superficialmente perfuradas com agulha hipodérmica estéril e gotículas de material obtido coletadas com <i>swab</i> estéril.

FONTE: Adaptado de Gortel (2013), Miller; Griffin; Campbell (2013) e Hillier *et al.* (2014).

Após a coleta, as amostras foram imediatamente encaminhadas ao laboratório de rotina clínica bacteriológica do setor de medicina veterinária preventiva da UFRGS para cultivo e posterior identificação bioquímica do agente bacteriano. O perfil de resistência da bactéria identificada foi avaliado no laboratório supracitado através do método de disco-difusão em ágar gel, de acordo com as diretrizes do *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 2019*, no qual foram avaliados os seguintes antimicrobianos: doxiciclina, sulfa-trimetoprim, gentamicina, cefalexina, cefovecina, cefoxitina, oxacilina e enrofloxacina (HILLIER *et al.*, 2014). Além disso, foi realizado PCR para o gene *mecA* para confirmar presença de resistência à meticilina. A amplificação do fragmento de 532pb do gene *mecA* foi realizada utilizando-se os oligonucleotídeos iniciadores (5'-AAAATCGATGGTAAAGGTTGGC-3') e (5'-AGTTCTGCAGTACCGGATTTGC-

3'), descritos por Murakami *et al.* (1991). A reação final com volume de 25µL foi constituída de 17,8µL de água ultra pura, 2,5µL de tampão 10X contendo 100 mM Tris-HCl (pH 8.5), 500 mM KCl⁴, 0,5µL MgCl₂ (50mM), 2,0µL dNTP's mix (10mM), 0,5µL de cada primer (20pmol/µL), 0,2µL Taq Polimerase⁵ e 1µL de DNA.

A identificação fenotípica dos *Staphylococcus* spp. foi realizada no Instituto de Ciências Básicas da Saúde (ICBS), Departamento de Microbiologia da UFRGS, pelo método MALDI-TOF (*matrix assisted laser desorption ionization-time of flight* - espectrometria de massa com fonte de ionização e dessorção a laser assistida por matriz e analisador de tempo-de-vo) Biotyper Bruker 4.0, o qual avalia principalmente proteínas ribossomais (SINGHAL *et al.*, 2015). A técnica foi realizada como previamente descrita por Decristophoris *et al.* (2011).

4.7 Escore total de piodermite superficial canina

Para avaliação de gravidade e extensão das lesões de piodermite superficial canina, foi utilizado uma adaptação dos sistemas de pontuação empregados por Loeffler, Cobb & Bond (2011), Borio *et al.* (2015) e Bensignor, Fabri & Bailleux (2016), baseado em achados clínicos e citológicos, visando obter um escore de pontuação total de piodermite (APÊNDICE C). Tal escore foi aplicado pela mesma avaliadora (DFF) nos dias zero, 15 e 30, de forma independente em cada antímero do animal.

Os parâmetros clínicos avaliados foram presença de pápulas, pústulas, colaretos epidérmicos, crostas e alopecia classificada em uma escala de intensidade de zero a quatro, sendo: zero = nenhum; um = leve (uma ou duas lesões); dois = moderada (<5% da superfície avaliada acometida); três = grave (5 a 50% da superfície avaliada acometida); quatro = muito grave (>50% da superfície avaliada acometida).

Os parâmetros citológicos avaliados foram presença/ausência e número de bactérias em média de 10 campos microscópicos de imersão (CMI) aleatórios usando uma escala de zero a quatro, na qual: zero = nenhuma; um = <1/CMI – 1000X; dois = 1-5/CMI – 1000X; três = 6-10/CMI – 1000X; quatro = >10/CMI – 1000X. Sendo assim, baseado

⁴ Ludwig-Biotecnologia, Alvorada – Rio Grande do Sul

⁵ Ludwig-Biotecnologia, Alvorada – Rio Grande do Sul

nas possíveis combinações de resultados das avaliações clínica e citológica, o escore total de piodermite superficial canina poderia resultar em escore de zero a 24 pontos.

4.8 Critérios de inclusão e exclusão

Foram incluídos no estudo, cães com diagnóstico de piodermite superficial primária ou secundária confirmado como mencionado previamente e com resultado de cultura bacteriana positivo para presença de *Staphylococcus* spp. Além disso, o EPP, lâmpada de Wood, exame direto e cultura fúngica deveriam ser negativos. Foram incluídos animais com doenças alérgicas e endócrinas como causa de base da infecção bacteriana, além de pacientes sem confirmação de doença subjacente. Pacientes em uso de prednisona em dose máxima de 1mg.kg^{-1} , a cada 24 horas, por no máximo cinco dias; oclacitinib ou lokivetmab, independente de dose ou período, puderam ser incluídos.

Foram excluídos do estudo, cães com diagnóstico de demodicidose (confirmado por EPP), dermatofitose (confirmado por exame direto ou cultura fúngica) e malasseziose cutânea (confirmado por citologia mediante observação de mais de cinco *Malassezia* spp./CMI – 400X, conforme Ferreiro *et al.* [2020]). Além destes, também foram excluídos pacientes que receberam previamente à inclusão no estudo:

1. Antibióticos sistêmicos, medicações tópicas (exceto ectoparasiticidas e *spot-on* de ceramidas e ácidos graxos) ou soluções óticas (exceto limpadores auriculares);
2. Ciclosporina ou glicocorticoides injetáveis;
3. Glicocorticoides de depósito.

Os intervalos permitidos entre a aplicação dos produtos supracitados e a inclusão na pesquisa foram, respectivamente:

1. Quinze dias;
2. Trinta dias;
3. Noventa dias.

Os critérios de exclusão acima expostos foram baseados nos utilizados previamente por Murayama *et al.* (2010b), Borio *et al.* (2015) e Banovic *et al.* (2018).

4.9 Análise Estatística

O tamanho de amostra foi determinado por meio de simulação estatística pelo programa WINPEPI 11.65 (ABRAMSON, 2011) baseada nos dados obtidos por Borio *et al.* (2015), objetivando detectar uma diferença entre os antímeros do mesmo paciente de 0,6 pontos no escore total de piodermite, considerando um desvio padrão de 1 ponto, um alfa de 0,05, uma correlação entre as medidas de 0,70 e um poder de 90%. De acordo com tal análise, seriam necessários 20 cães (40 observações).

Os dados foram digitados no programa Microsoft® Excel® 2016 MSO (16.0.4266.1001) 64 bits e posteriormente exportados para o programa SPSS v. 20.0⁶ para análise estatística. As variáveis categóricas foram descritas por frequências e percentuais, e as quantitativas, pela mediana, o mínimo e o máximo. As reduções dos escores clínico, citológico e total foram calculadas seguindo a fórmula: % Redução = $[1 - (\text{Valor pós-tratamento}/\text{Valor pré-tratamento})] \times 100$. As variáveis foram comparadas entre os tratamentos pelo teste de Wilcoxon e ao longo do tempo dentro dos grupos pelo teste de Friedman. A correção de Bonferroni foi utilizada em caso de comparações múltiplas. Para comparar os resultados frente a MRS e MSS foi utilizado o teste de Mann Whitney. Foi considerado um nível de significância de 5% para as comparações estabelecidas.

⁶ IBM Corporation, New York - EUA

REFERÊNCIAS

ABRAMSON, J. H. WINPEPI updated: computer programs for epidemiologists, and their teaching potential. **Epidemiologic Perspectives & Innovations**, London, v. 8, n. 1, p. 1, Feb. 2011.

BAKER, S. A. *et al.* Antimicrobial drug use prior to admission to a veterinary teaching hospital. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 241, n. 2, p. 210-217, July 2012.

BANOVIC, F. *et al.* Diluted sodium hypochlorite (bleach) in dogs: antiseptic efficacy, local tolerability and *in vitro* effect on skin barrier function and inflammation. **Veterinary Dermatology**, Oxford, v. 239, n. 1, p. 6-e5, Feb. 2018.

BÄUMER, W.; JACOBS, M.; TAMAMOTO-MOCHIZUKI, C. Efficacy study of a topical treatment with plant extract with antibiofilm activities using an *in vivo* model of canine superficial pyoderma. **Veterinary Dermatology**, Oxford, [Epub ahead of print], Nov. 2019. [6 p.]. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/vde.12808>. Acesso em: 22 jan. 2020.

BECK, K. M. *et al.* Prevalence of meticillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) from skin and carriage sites of dogs after treatment of their meticillin-resistant or meticillin-sensitive staphylococcal pyoderma. **Veterinary Dermatology**, Oxford, v. 23, n. 4, p. 369-375, Feb. 2012.

BECO, L. *et al.* Comparison of skin scrapes and hair plucks for detecting *Demodex* mites in canine demodicosis, a multicenter, prospective study. Trabalho apresentado no 22nd Annual Congress of the ESVD-ECVD, 13–15 September 2007, Mainz, Germany. **Veterinary Dermatology**, Oxford, v. 18, n. 5, p. 380-383, Oct. 2007.

BEEVER, L. *et al.* Increasing antimicrobial resistance in clinical isolates of *Staphylococcus intermedius* group bacteria and emergence of MRSP in the UK. **The Veterinary Record**, London, v. 176, n. 7, p. 172, Feb. 2015. [7 p.].

BENSIGNOR, E; FABRI, L.; BAILLEUX, L. A split-body, randomized, blinded study to evaluate the efficacy of a topical spray composed of essential oils and essential fatty acids from plant extracts with antimicrobial properties. **Veterinary Dermatology**, Oxford, v. 27, n. 6, p. 464-e123, Dec. 2016.

BHATIA, A. *et al.* Optimizing wound healing for cosmetic and medical dermatologic procedures. **Practical Dermatology**, Wayne, p. 42-45, Mar. 2018.

BIZIKOVA P. *et al.* Review: role of genetics and the environment in the pathogenesis of canine atopic dermatitis. **Veterinary Dermatology**, Oxford, v. 26, n. 2, p. 95-e26, Apr. 2015.

BLOOM, P. Canine superficial bacterial folliculitis: current understanding of its etiology, diagnosis and treatment. **The Veterinary Journal**, London, v. 199, n. 2, p. 217-222, Feb. 2014.

BORIO, S. *et al.* Effectiveness of a combined (4% chlorhexidine digluconate shampoo and solution) protocol in MRS and non-MRS canine superficial pyoderma: a randomized, blinded, antibiotic-controlled study. **Veterinary Dermatology**, Oxford, v. 26, n. 5, p. 339-e72, Oct. 2015.

BOURGUIGNON, E. *et al.* Description of Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* from canine pyoderma in Minas Gerais state, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 68, n. 2, p. 299-306, Apr. 2016.

BRYAN, J. *et al.* Treatment outcome of dogs with methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus pseudintermedius* pyoderma. **Veterinary Dermatology**, Oxford, v. 23, n. 4, p. 361-368, Aug. 2012.

CAIN, L. C. Antimicrobial resistance in staphylococci in small animals. **The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice**, Philadelphia, v. 43, n. 1, p. 19-40, Jan. 2013.

CEUA-UFRGS. **Guia de severidade dos procedimentos científicos**. [Porto Alegre, 2009?]. 5 p. Tradução resumida do documento do relatório final de julho de 2009 da comissão europeia para revisão da Directive 86/609/EEC. Disponível em: http://www.ufrgs.br/ppgneuro/arquivos/CEUA_guia%20severidade.pdf. Acesso em: 30 jan. 2018.

CHAPMAN, I. *et al.* Use of hypochlorous acid as a pre-operative antiseptic before placement of dermal fillers: an alternative to standard options. **Dermatologic Surgery**, Hagerstown, v. 44, n. 4, p. 597-599, Apr. 2018.

CHOPRA, R. *et al.* Efficacy of bleach baths in reducing severity of atopic dermatitis: a systematic review and meta-analysis. **Annals of Allergy, Asthma & Immunology**, McLean, v. 119, n. 5, p. 435-440, Nov. 2017.

CLARK, S. M.; LOEFFLER, A.; BOND, R. Susceptibility *in vitro* of canine methicillin-resistant and -susceptible staphylococcal isolates to fusidic acid, chlorhexidine and miconazole: opportunities for topical therapy of canine superficial pyoderma. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, London, v. 70, n. 7, p. 2048-2052, July 2015.

COUTO, N. *et al.* Trends and molecular mechanisms of antimicrobial resistance in clinical staphylococci isolated from companion animals over a 16 year period. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, London, v. 71, n. 6, p. 1479-1487, June 2016.

DECRISTOPHORIS, P. *et al.* Identification of *Staphylococcus intermedius* group by MALDI-TOF MS. **Systematic and Applied Microbiology**, Munich, v. 34, n. 1, p. 45-51, Feb. 2011.

DEL ROSSO, J. Q.; BATHIA, N. Status report on topical hypochlorous acid: clinical relevance of specific formulations, potential modes of action, and study outcomes. **The Journal of Clinical and Aesthetic Dermatology**, West Chester, v. 11, n. 11, p. 36-39, Nov. 2018.

- DOS SANTOS, T. P. *et al.* Systematic review on global epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*: inference of population structure from multilocus sequence typing data. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 7, p. 1599, Oct. 2016. [12 p.].
- EICHENFIELD, L. F.; TOTRI, C. Optimizing outcomes for paediatric atopic dermatitis. **The British Journal of Dermatology**, Oxford, v. 170, p. 31-37, July 2014.
- ERIKSSON, S. *et al.* Antibacterial and antibiofilm effects of sodium hypochlorite against *Staphylococcus aureus* isolates derived from patients with atopic dermatitis. **The British Journal of Dermatology**, Oxford, v. 177, n. 2, p. 513-521, Feb. 2017.
- ESCHER, M. *et al.* Use of antimicrobials in companion animal practice: a retrospective study in a veterinary teaching hospital in Italy. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, London, v. 66, n. 4, p. 920-927, Feb. 2011.
- ESTRELA, C. *et al.* Mechanism of action of sodium hypochlorite. **Brazilian Dental Journal**, Ribeirão Preto, v. 13, n. 2, p. 113-117, 2002.
- FADOK, V. A.; IRWIN, K. Sodium hypochlorite/salicylic acid shampoo for treatment of canine staphylococcal pyoderma. **Journal of the American Animal Hospital Association**, Lakewood, v. 55, n. 3, p. 117-123, May/June 2019.
- FERREIRO, L. *et al.* Diagnóstico micológico. *In*: LARSSON, C. E.; LUCAS, R. **Tratado de medicina externa: dermatologia veterinária**. 2 ed. São Caetano do Sul: Interbook, 2020. cap. 2, p. 19-72.
- FISHER, R. G. *et al.* Hypochlorite killing of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, Baltimore, v. 27, n. 10, p. 934-935, Oct. 2008.
- FREY, E. The role of companion animal veterinarians in once-health efforts to combat antimicrobial resistance. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Ithaca, v. 253, n. 11, p. 1396-1404, Dec. 2018.
- FROSINI, S-M. *et al.* Genetic resistance determinants to fusidic acid and chlorhexidine in variably susceptible staphylococci from dogs. **BMC Microbiology**, London, v. 19, p. 81 [10 p.], Apr. 2019.
- FUKUYAMA, T. *et al.* Hypochlorous acid is antipruritic and anti-inflammatory in a mouse model of atopic dermatitis. **Clinical and Experimental Allergy**, Oxford, v. 48, n. 1, p. 78-88, Jan. 2018.
- GAGETTI, P. *et al.* Identification and molecular epidemiology of methicillin resistant *Staphylococcus pseudintermedius* strains isolated from canine clinical samples in Argentina. **BMC Veterinary Research**, London, v. 15, July 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12917-019-1990-x>. Acesso em: 22 jan. 2020.
- GALES, A. C.; MINARINI, L. A. R. Boletim SBI. **Sociedade Brasileira de Infectologia**, Paraíso, jan. 2019. [24 p.]. Disponível em: https://www.infectologia.org.br/admin/zcloud/principal/2019/02/Boletim_SBI_Jan_2019.pdf. Acesso em: 30 jan. 2020.

GODBEER, S. M.; GOLD, R. M.; LAWHON, S. D. Prevalence of mupirocin resistance in *Staphylococcus pseudintermedius*. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 52, n. 4, p. 1250-1252, Apr. 2014.

GOLD, M. H. *et al.* Topical stabilized hypochlorous acid: the future gold standard for wound care and scar management in dermatologic and plastic surgery procedures. **Journal of Cosmetic Dermatology**, Oxford, v. 19, n. 2, p. 270-277, Feb. 2020.

GOLD, R. M.; COHEN, N. D.; LAWHON, S. D. Amikacin resistance in *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from dogs. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 52, n. 10, p. 3641-3646, Oct. 2014.

GÓMEZ-SANZ, E. *et al.* High diversity of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* lineages and toxigenic traits in healthy pet-owning household members. Underestimating normal household contact? **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, Exeter, v. 36, n. 1, p. 83-94, Jan. 2013.

GORTEL, K. Recognizing pyoderma more difficult than it may seem. **The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice**, Philadelphia, v. 43, n. 1, p. 1-18, Jan. 2013.

GRÖNTHAL, T. *et al.* Epidemiology of methicillin resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in guide dogs in Finland. **Acta veterinaria Scandinavica**, Copenhagen, v. 57, p. 37, July 2015. [10 p.].

GRÖNTHAL, T. *et al.* Large outbreak caused by methicillin resistant *Staphylococcus pseudintermedius* ST71 in a Finnish Veterinary Teaching Hospital – from outbreak control to outbreak prevention. **PloS One**, San Francisco, v. 9, n. 10, p. e110084, Oct. 2014. [11 p.].

GUARDABASSI, L. *et al.* Public health impact and antimicrobial selection of methicillin-resistant staphylococci in animals. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, Amsterdam, v. 1, n. 2, p. 55-62, June 2013.

GUERRA, P. *et al.* Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from canine pyoderma in Porto Alegre. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON PATHOGENS AT THE HUMAN ANIMAL INTERFACE, 2., 2013, Porto de Galinhas. **ICOPHAI, 2013 program**. Columbus: Ohio State University, 2013. Resumo. [p. 175]. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Diego_Soler-Tovar/publication/259467684_Current_State_of_Knowledge_of_Pathogens_in_the_Human-Animal_Interface_from_Wild_Animals_in_Colombia/links/0046352be41f19a85500000/Current-State-of-Knowledge-of-Pathogens-in-the-Human-Animal-Interface-from-Wild-Animals-in-Colombia.pdf. Acesso em: 09 fev. 2018.

GUSS, J.; KAZAHAYA, K. Antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* in community-acquired pediatric neck abscesses. **International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology**, Limerick, v. 71, n. 6, p. 943-948, June 2007.

HENSEL, N.; ZABEL, S.; HENSEL, P. Prior antibacterial drug exposure in dogs with methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) pyoderma. **Veterinary Dermatology**, Oxford, v. 27, n. 2, p. 72-e20, Apr. 2016.

HENSEL, P. *et al.* Canine atopic dermatitis: detailed guidelines for diagnosis and allergen identification. **BMC Veterinary Research**, London, v. 11, p. 196 [13 p.], Aug. 2015.

HILLIER, A. *et al.* Guidelines for the diagnosis and antimicrobial therapy of canine superficial bacterial folliculitis (Antimicrobial guidelines working group of the international society for companion animal infectious diseases). **Veterinary Dermatology**, Oxford, v. 25, n. 3, p. 163-e43, June 2014.

HNILICA, K. A.; PATTERSON, A. P. **Small animal dermatology: a color atlas and therapeutic guide**. 4th ed. St. Louis: Elsevier, 2017, 633p.

HRYNIEWICZ, M. M.; GARBACZ, K. Borderline oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* (BORSA) – a more common problem than expected? **Journal of Medical Microbiology**, London, v. 66, n. 10, p. 1367-1373, Oct. 2017.

HUANG, J. T. *et al.* Treatment of *Staphylococcus aureus* colonization in atopic dermatitis decreases disease severity. **Pediatrics**, Elk Grove Village II, v. 123, n. 5, p. e808-e814, May 2009.

ISHIHARA, M. *et al.* Stability of weakly acidic hypochlorous acid solution with microbicidal activity. **Biocontrol Science**, Osaka, v. 22, n. 4, p. 223-227, Feb. 2017.

JEFFERS, J. G. Topical therapy for drug-resistant pyoderma in small animals. **The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice**, Philadelphia, v. 43, n. 1, p. 41-50, Jan. 2013.

JEVONS, M. P.; COE, A. W.; PARKER, M. T. Methicillin resistance in staphylococci. **Lancet**. London, v. 1, p. 904-907, April 1963.

KAPLAN, S. L. Implications of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a community-acquired pathogen in pediatric patients. **Infectious Disease Clinics of North America**, Philadelphia, v. 19, n. 3, p. 747-757, Sept. 2005.

KOCH, S. N.; TORRES, S.; PLUMB, D. C. **Canine and feline dermatology drug handbook**. Oxford: Wiley-Blackwell, 2012, 887p.

KUNDER, D. A. Genotypic relatedness and antimicrobial resistance of *Staphylococcus schleiferi* in clinical samples from dogs in different geographic regions of the United States. **Veterinary Dermatology**, Oxford, v. 26, n. 6, p. 406-410, Dec. 2015.

KURITA, G. *et al.* Reduced rates of antimicrobial resistance in *Staphylococcus intermedius* group and *Escherichia coli* isolated from diseased companion animals in an animal hospital after restriction of antimicrobial use. **Journal of Infection and Chemotherapy**, Amsterdam, v. 25, n. 7, p. 531-536, July 2019.

KUSARI, A. *et al.* Atopic dermatitis: new developments. **Dermatologic Clinics**, Philadelphia, v. 37, n. 1, p. 11-20, Jan. 2019.

LAFABURIE, G. I. *et al.* Ácido hipocloroso: una nueva alternativa como agente antimicrobiano y para la proliferación celular para uso en odontología. **International Journal of Odontostomatology**, Temmuco, v. 9, n. 3, p. 475-481, Dec. 2015.

LARSEN, R. F. *et al.* Diversity of *Staphylococcus pseudintermedius* in carriage sites and skin lesions of dogs with superficial bacterial folliculitis: potential implications for diagnostic testing and therapy. **Veterinary Dermatology**, Oxford, v. 29, n. 4, p. 291-e100, Aug. 2018.

LARSSON JÚNIOR, C. E.; HENRIQUES, D. A. Piodermites. *In*: LARSSON, C. E.; LUCAS, R. **Tratado de medicina externa: dermatologia veterinária**. 2. ed. São Caetano do Sul: Interbook, 2020. cap. 32, p. 501-540.

LARSSON, C. E.; LARSSON JÚNIOR, C. E. Farmacologia dermatológica. *In*: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. cap. 56, p. 701-728.

LATRONICO, F. *et al.* Enhanced adherence of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* sequence type 71 to canine and human corneocytes. **Veterinary Research**, London, v. 45, p. 70, June 2014. [7 p.].

LEVINE, J. M. Dakin's solution: past, present, and future. **Advances in Skin and Wound Care**, Philadelphia, v. 26, n. 9, p. 410-414, Sept. 2013.

LOEFFLER, A. *et al.* First report of multiresistant, *mecA*-positive *Staphylococcus intermedius* in Europe: 12 cases from a veterinary dermatology referral clinic in Germany. **Veterinary Dermatology**, Oxford, v. 18, n. 6, p. 412-421, Dec. 2007.

LOEFFLER, A.; COBB, M. A.; BOND, R. Comparison of a chlorhexidine and a benzoyl peroxide shampoo as sole treatment in canine superficial pyoderma. **The Veterinary Record**, London, v. 169, n. 10, p. 249, Sep. 2011. [6 p.].

MAAROUF, M.; SHI, V. Y. Bleach for atopic dermatitis: beyond antimicrobials. **Dermatitis: Contact, Atopic, Occupational, Drug**, Hagerstown, Apr. 2018. [7 p.]. [Epub ahead of print]. Disponível em: <https://insights.ovid.com/crossref?an=01206501-201805000-00004>. Acesso em: 28 jan. 2020.

MAGIORAKOS, A. P. *et al.* Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. **Clinical Microbiology and Infection: the Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, London, v. 18, n. 3, p. 268-287, Marc. 2012.

MATTHEWS, M. R. *et al.* Temporary abdominal closure combined with an irrigating system utilizing hypochlorous acid solution to decrease abdominal mucopurulence. **Eplasty**, Springfield, v. 18, p. e12, Feb. 2018. [9 p.].

MENDELSON, C.; ROSENKRANTZ, W.; GRIFFIN, C. E. Practical cytology for inflammatory skin diseases. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, Philadelphia, v. 21, n. 3, p. 117-127, Aug. 2006.

MESMAN, M. L. *et al.* Residual antibacterial activity of canine hair treated with topical antimicrobial sprays against *Staphylococcus pseudintermedius* in vitro. **Veterinary Dermatology**, Oxford, v. 27, n. 4, p. 261-e61, Aug. 2016.

MILLER, D. H.; GRIFFIN, C. E.; CAMPBELL, K. L. **Muller and Kirk's small animal dermatology**. 7th ed. Missouri: Elsevier, 2013, 938p.

MOREIRA, M. A. B. Diagnóstico bacteriológico. *In*: LARSSON, C. E.; LUCAS, R. **Tratado de medicina externa: dermatologia veterinária**. 2. ed. São Caetano do Sul: Interbook, 2020. cap. 3, p. 73-86.

MORIELLO, K. A. *et al.* Diagnosis and treatment of dermatophytosis in dogs and cats. Clinical consensus guidelines of the world association for veterinary dermatology. **Veterinary Dermatology**, Oxford, v. 28, n. 3, p. 266-e68, June 2017.

MORRIS, D. O. *et al.* Recommendations for approaches to methicillin-resistant staphylococcal infections of small animals: diagnosis, therapeutic considerations and preventative measures. Clinical consensus guidelines of the world association for veterinary dermatology. **Veterinary Dermatology**, Oxford, v. 28, n. 3, p. 304-e69, June 2017.

MUELLER, R. S. *et al.* A review of topical therapy for skin infections with bacteria and yeast. **Veterinary Dermatology**, Oxford, v. 23, n. 4, p. 330-341, Aug. 2012a.

MUELLER, R. S. *et al.* Treatment of demodicosis in dogs: 2011 clinical practice guidelines. **Veterinary Dermatology**, Oxford, v. 23, n. 2, p. 86-e21, Apr. 2012b.

MURAKAMI, K. *et al.* Identification of methicillin-resistant strains of staphylococci by polymerase chain reaction. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 29, n. 10, p. 2240-2244, Oct. 1991.

MURAYAMA, N. *et al.* Comparison of two formulations of chlorhexidine for treating canine superficial pyoderma. **The Veterinary Record**, London, v. 167, n. 14, p. 532-533, Oct. 2010a.

MURAYAMA, N. *et al.* Efficacy of a surgical scrub including 2% chlorhexidine acetate for canine superficial pyoderma. **Veterinary Dermatology**, Oxford, v. 21, n. 6, p. 586-592, Dec. 2010b.

NOGUCHI, N. *et al.* Antimicrobial agent of susceptibilities and antiseptic resistance gene distribution among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from patients with impetigo and staphylococcal scalded skin syndrome. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 44, n. 6, p. 2119-2125, June 2006.

NUTTALL, T. *et al.* Efficacy of a 0.0584% hydrocortisone aceponate spray in the management of canine atopic dermatitis: a randomised, double blind, placebo-controlled trial. **Veterinary Dermatology**, Oxford, v. 20, n. 3, p. 191-198, June 2009.

OLIVRY, T. *et al.* Treatment of canine atopic dermatitis: 2015 updated guidelines from the International Committee on Allergic Diseases of Animals (ICADA). **BMC Veterinary Research**, London, v. 11, p. 210 [15 p.], Aug. 2015.

- PARISER, M. *et al.* An *in vitro* study to determine the minimal bactericidal concentration of sodium hypochlorite (bleach) required to inhibit meticillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* strains isolated from canine skin. **Veterinary Dermatology**, Oxford, v. 24, n. 6, p. 632-634, Dec. 2013.
- PAULINO, C. A. Anti-sépticos e desinfetantes. *In*: SPINOSA, H. S.; GÓRNIAK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. cap. 35, p. 440-452.
- PELGRIFT, R. Y.; FRIEDMAN, A. J. Topical hypochlorous acid (HOCl) as a potential treatment of pruritus. **Current Dermatology Reports**, Secaucus, v. 2, n.3, p. 181-190, Sept. 2013.
- PINHO, M. G.; LENCASTRE, H.; TOMASZ, A. An acquired and a native penicillin-binding protein cooperate in building the cell wall of drug-resistant staphylococci. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 98, n. 19, p. 10886-10891, Sept. 2001.
- RAMEY, D. W.; KINDE, H. Commercial and homemade extremely dilute hypochlorous acid solutions are bactericidal against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli in vitro*. **Journal of Equine Veterinary Science**, New York, v. 35, n. 2, p. 161-164, Feb. 2015.
- REDDING, L. E.; COLE, S. D. Pet owners' knowledge of and attitudes toward the judicious use of antimicrobials for companion animals. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Ithaca, v. 254, n. 5, p. 626-635, Mar. 2019.
- ROBSON, M. C. *et al.* Hypochlorous acid as a potential wound care agent: part II. Stabilized Hypochlorous Acid: Its Role in Decreasing Tissue Bacterial Bioburden and Overcoming the Inhibition of Infection on Wound Healing. **Journal of Burns and Wounds**, Springfield, v. 11, p. 6-e6, Apr. 2007.
- RYBNÍČEK, J. *et al.* Further validation of a pruritus severity scale for use in dogs. **Veterinary Dermatology**, Oxford, v. 20, n. 2, p. 115-122, Apr. 2009.
- SAKARYA, S. *et al.* Hypochlorous acid: an ideal wound care agent with powerful microbicidal, antibiofilm, and wound healing potency. **Wounds**, King of Prussia, v. 26, n. 12, p. 342-350, Dec. 2014.
- SANTORO, D. *et al.* Review: Pathogenesis of canine atopic dermatitis: skin barrier and host-micro-organism interaction. **Veterinary Dermatology**, Oxford, v. 26, n. 2, p. 84-e25, Apr. 2015.
- SASSONE, L. M. *et al.* Antimicrobial activity of sodium hypochlorite and chlorhexidine by two different tests. **Australian Endodontic Journal: the Journal of the Australian Society of Endodontology Inc**, Richmond, v. 34, n. 1, p. 19-24, Apr. 2008.
- SELKON, J. B. *et al.* Evaluation of hypochlorous acid washes in the treatment of chronic venous leg ulcers. **Journal of Wound Care**, London, v. 15, n. 1, p. 33-37, Jan. 2006.

SHI, V. Y. *et al.* Comparing the effect of bleach and water baths on skin barrier function in atopic dermatitis: a split-body randomized controlled trial. **The British Journal of Dermatology**, Oxford, v. 175, n. 1, p. 212-214, July 2016.

SIAM, M. *et al.* Characterization of methicillin-resistant and methicillin-susceptible isolates of *Staphylococcus pseudintermedius* from cases of canine pyoderma in Australia. **Journal of Medical Microbiology**, London, v. 63, Pt. 9, p. 1228-1233, Sept. 2014.

SINGHAL, N. *et al.* MALDI-TOF mass spectrometry: an emerging technology for microbial identification and diagnosis. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 6, Aug. 2015. [16 p.]. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2015.00791/full>. Acesso em: 3 fev. 2020.

SMITH, P. W. *et al.* Implication of the knowledge and perceptions of veterinary students of antimicrobial resistance for future prescription of antimicrobials in animal health, South Africa. **Journal of the South African Veterinary Association**, Pretoria, v. 90, n. 0, p. e1-e8, Oct. 2019.

STROH, A. *et al.* Influence of a phytosphingosine-containing chlorhexidine shampoo on superficial bacterial counts and bacterial adherence to canine keratinocytes. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 141, n. 1-2, p. 190-193, Feb. 2010

SUMMERS, J. F.; HENDRICKS, A.; BRODBELT, D. C. Prescribing practices of primary-care veterinary practitioners in dogs diagnosed with bacterial pyoderma. **BMC Veterinary Research**, London, v. 10, Oct. 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4193143/>. Acesso em: 23 jan. 2020.

TEIXEIRA, I. M.; FERREIRA, E. O.; PENNA, B. A. Dog as reservoir of methicillin resistant coagulase negative staphylococci strains: a possible neglected risk. **Microbial Pathogenesis**, London, v. 135, July 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103616>. Acesso em: 22 jan. 2020.

TRESCH, M. *et al.* Medicinal plants as therapeutic options for topical treatment in canine dermatology? A systematic review. **BMC Veterinary Research**, London, v. 15, May 2019. [19 p.]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6537371/>. Acesso em: 22 jan. 2020.

VINCZE, S. *et al.* Multidrug-and methicillin resistant *Staphylococcus pseudintermedius* as a cause of canine pyoderma: a case report. **Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift und Wiener Tierärztliche Monatsschrift**, Hannover, v. 123, n. 9/10, p. 353-358, Sept./Oct. 2010.

VINCZE, S. *et al.*, 2014 Alarming proportions of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in wound samples from companion animals, Germany 2010-2012. **PloS One**, San Francisco, v. 9, n. 1, p. e85656, Jan. 2014. [6 p.].

WALTHER, B.; TEDIN, K.; LÜBKE-BECKER, A. Multidrug-resistant opportunistic pathogens challenging veterinary infection control. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 200, p. 71-78, Feb. 2017.

- WAN, J. A case of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) pyoderma in a Labrador retriever dog. **The Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v. 55, n. 11, p. 1100-1101, Nov. 2014.
- WANG, L. *et al.* Hypochlorous acid as a potential wound care agent: part I. Stabilized hypochlorous acid: a component of the inorganic armamentarium of innate immunity. **Journal of Burns and Wounds**, Springfield, v. 11, p. 6-e5, Apr. 2007.
- WANG, Y. *et al.* Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from canine pyoderma in North China. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 112, n. 4, p. 623-630, Apr. 2012.
- WINTER, J. *et al.* Bleach activates a redox-regulated chaperone by oxidative protein unfolding. **Cell**, Cambridge, v. 135, n. 4, p. 691-701, Nov. 2008.
- YOUN, J. *et al.* Prevalence and antimicrogram of *Staphylococcus intermedius* group isolates from veterinary staff, companion animals, and the environment in veterinary hospitals in Korea. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation: Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians**, Columbia, v. 23, n. 2, p. 268-274, Mar. 2011.
- YU F. *et al.* Dissemination of fusidic acid resistance among *Staphylococcus aureus* clinical isolates. **BMC Microbiology**, London, v. 15, p. 210 [6 p.], Oct. 2015.
- ZAJĄC, M. *et al.* Assessment of the relationship between transepidermal water loss (TEWL) and severity of clinical signs (CADESI-03) in atopic dogs. **Veterinary Dermatology**, Oxford, v. 25, n. 6, p. 503-e83, Dec. 2014.

APÊNDICE A



U F R G S
UNIVERSIDADE FEDERAL
DO RIO GRANDE DO SUL

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA
Comissão De Ética No Uso De Animais

**CARTA DE APROVAÇÃO**

Comissão De Ética No Uso De Animais analisou o projeto:

Número: 35484

Título: Uso de solução tópica em spray de ácido hipocloroso 0,015% no tratamento de pododermite estafilocócica superficial canina

Vigência: 01/08/2018 à 01/08/2020

Pesquisadores:

Equipe UFRGS:

DANIEL GUIMARÃES GERARDI - coordenador desde 01/08/2018
MARISA RIBEIRO DE ITAPEMA CARDOSO - pesquisador desde 01/08/2018
ANELISE BONILLA TRINDADE GERARDI - pesquisador desde 01/08/2018
Daniela Flores Fernandes - Médico Veterinário desde 01/08/2018
LETÍCIA TALITA BARETTA - Médico Veterinário desde 01/08/2018
Juliana de Oliveira Dhein - Médico Veterinário desde 01/08/2018
THAYSE MEYER - Outra Função desde 01/08/2018

Comissão De Ética No Uso De Animais aprovou o mesmo , em reunião realizada em 17/09/2018 - Sala 330 do Anexo I do Prédio da Reitoria - Campus Centro - Av. Paulo Gama,100/ Porto Alegre - RS, em seus aspectos éticos e metodológicos, para a utilização de 59 cães, de qualquer raça, idade, sexo e porte, provenientes da rotina do Hospital de Clínicas Veterinárias da UFRGS; de acordo com os preceitos das Diretrizes e Normas Nacionais e Internacionais, especialmente a Lei 11.794 de 08 de novembro de 2008, o Decreto 6899 de 15 de julho de 2009, e as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), que disciplinam a produção, manutenção e/ou utilização de animais do filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem) em atividade de ensino ou pesquisa.

Porto Alegre, Sexta-Feira, 28 de Setembro de 2018

ALEXANDRE TAVARES DUARTE DE OLIVEIRA
Vice Coordenador da comissão de ética

APÊNDICE B

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado(a) a participar, como voluntário, em uma pesquisa. Após ser esclarecido(a) sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é da pesquisadora responsável. Na sua cópia consta o telefone e endereço institucional do pesquisador principal, de modo que você poderá tirar suas dúvidas sobre o projeto e a participação do seu cão, agora ou a qualquer momento. Em caso de recusa ou desistência você não será penalizado(a) de forma alguma. Em caso de dúvida você pode procurar o Comitê de Ética em Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) pelo telefone (51) 3308 – 3738 ou pelo e-mail ceua@propesq.ufrgs.br.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

Título do projeto: Uso de solução tópica em spray de ácido hipocloroso 0,015% no tratamento de piodermite estafilocócica superficial canina.

Pesquisador responsável: Daniel Guimarães Gerardi, Professor Adjunto do Departamento de Medicina Animal da Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS); Diretor do Hospital de Clínicas Veterinárias (HCV) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e coordenador do projeto.

Endereço: Av. Bento Gonçalves, 9090 – Agronomia, Porto Alegre/RS

CEP: 91540-000

Telefone: 51 3308-6922

E-mail: daniel.gerardi@ufrgs.br

Aluna responsável: Daniela Flores Fernandes – Médica Veterinária, Mestre em Ciências Veterinárias, aluna de Doutorado no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias – Universidade Federal do Rio Grande do Sul (PPGCV-UFRGS).

Telefone para contato: (51) 982086225

E-mail: dani.sleo@gmail.com

Seu cão está sendo convidado para participar da pesquisa **“Uso de solução tópica de ácido hipocloroso 0,015% no tratamento de piodermite superficial estafilocócica canina”**.

Seu cão foi selecionado e a participação do mesmo não é obrigatória. A qualquer momento você pode desistir e retirar seu consentimento para o seu cão fazer parte da pesquisa. Sua recusa não trará nenhum prejuízo na relação do seu animal com o pesquisador ou com a instituição. O objetivo deste projeto é avaliar o uso de aplicação tópica diária de solução de ácido hipocloroso 0,015% no tratamento de piodermite superficial estafilocócica.

A piodermite superficial é a forma de piodermite canina mais frequente e a segunda dermatopatia mais comum em cães. A tradicional abordagem de uso de antibiótico sistêmico, muitas vezes baseado em escolhas empíricas, tem sido cada vez mais desafiada pelo aumento na prevalência de cepas de bactérias do gênero *Staphylococcus* resistente à meticilina (MRSP) e a múltiplas drogas (MDR). Além disso, o maior risco de infecção por MRS em pacientes que receberam terapia sistêmica prévia fizeram com que a terapia tópica passasse a ser a modalidade de eleição para o tratamento de piodermite.

O uso de solução tópica de ácido hipocloroso 0,015% parece ser uma potencial opção para o tratamento de piodermite superficial canina e estudos *in vivo* são necessários para avaliar sua eficácia. O presente trabalho tem como objetivo avaliar a eficácia de aplicação diária de solução de ácido hipocloroso 0,015% no tratamento de foliculite bacteriana canina generalizada, comparando seus resultados aos obtidos com uso de solução de clorexidine 2%.

A participação do seu cão nesta pesquisa consistirá em realização de exame físico, exame parasitológico de pele, cultura fúngica e bacteriana. Seu cão deverá receber aplicação diária de solução de ácido hipocloroso 0,015% em uma das laterais do corpo e de clorexidine 2% em outra. A determinação da lateral do corpo que receberá cada tratamento será randomizada e o estudo será duplo-cego, ou seja, você e a pesquisadora não saberão qual produto está sendo aplicado em cada lateral do corpo do cão. Um colaborador do projeto será responsável pela distribuição da medicação para você e pelo registro destes dados. Você receberá material impresso e audiovisual com orientações de como realizar as aplicações. Além disso, a equipe de pesquisa entrará em contato semanalmente para acompanhar o tratamento e esclarecer eventuais dúvidas. Você ainda

poderá contatar a equipe de pesquisa através dos canais de comunicação aqui disponibilizados. Caso seu cão tenha pelo longo, será necessário realizar tosa previamente à participação no estudo. Para avaliação da resposta clínica aos tratamentos, você deverá retornar ao hospital para que seu cão seja avaliado pela pesquisadora após 15 e 30 dias de tratamento. Nestas ocasiões, seu cão será examinado e você será convidado a avaliar a intensidade de coceira (se presente) do seu cão. Na última avaliação, você será convidado a fornecer sua percepção sobre os tratamentos realizados.

Os produtos utilizados no tratamento são seguros para uso em cães, no entanto, efeitos colaterais como ressecamento de pele, vermelhidão, descamação e coceira podem ocorrer. Caso isso aconteça, você deverá entrar em contato com a equipe de pesquisa. Pacientes que apresentarem reação adversa não prevista ao protocolo ou que venham a precisar de antibióticos e/ou glicocorticoides por razões externas à pesquisa, serão retirados do estudo. Todos os procedimentos realizados foram classificados de grau de severidade leve, conforme documentação acessória fornecida pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFRGS (CEUA-UFRGS, [2009?]).

Os benefícios relacionados com a participação do seu cão no presente projeto serão a realização sem custo das avaliações clínicas e citológicas, além dos exames parasitológico de pele, culturas fúngica e bacteriana. Você também receberá os tratamentos de ácido hipocloroso 0,015% e clorexidine 2% sem custo.

Todos os procedimentos serão realizados no Hospital de Clínicas Veterinárias da UFRGS por Médico Veterinário. Você terá a garantia de sigilo das informações obtidas bem como o direito de retirar o consentimento a qualquer tempo.

CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, _____
 _____, RG _____,
 CPF _____, abaixo assinado, proprietário do canino da raça
 _____, sexo _____, idade _____
 denominado de _____, ficha
 _____, concordo em ceder meu animal para participar do projeto “**Uso de
 solução tópica em spray de ácido hipocloroso 0,015% no tratamento de piodermite
 estafilocócica superficial canina**”, bem como o registro fotográfico do mesmo.

Declaro que entendi os objetivos, riscos e benefícios da participação do meu cão e que fui devidamente informado(a) e esclarecido(a) pela doutoranda pesquisadora DANIELA FLORES FERNANDES sobre a pesquisa e os procedimentos nela envolvidos. Foi-me garantido que posso retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade ou interrupção do acompanhamento do meu animal.

Porto Alegre, ____ de _____ de 20__.

 Assinatura do tutor

 Assinatura da aluna
 (Doutoranda)

 Assinatura do orientador (pesquisador responsável)

APÊNDICE C

ESCORE TOTAL DE PIODERMITE SUPERFICIAL E ESCORE DE PRURIDO

Projeto: Uso de solução tópica em spray de ácido hipocloroso 0,015% no tratamento de piodermite estafilocócica superficial canina.

Pesquisadora: Daniela F. Fernandes
982086225/dani.sleo@gmail.com

Contato:

Identificação do tutor	
Nome:	
Telefones:	
E-mail:	
Identificação do paciente	
Nome:	Ficha:
Raça:	Idade:
Sexo:	Peso:
Data:	Tempo de tratamento:
Antímero avaliado:	
Escore total de piodermite superficial:	
Escore clínico:	
Pápulas:	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4
Pústulas:	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4
Colaretes:	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4
Crostras:	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4
Alopecia:	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4
Escore citológico:	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4
Escore de prurido:	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5 <input type="checkbox"/> 6 <input type="checkbox"/> 7 <input type="checkbox"/> 8 <input type="checkbox"/> 9 <input type="checkbox"/> 10
Observações:	

Legenda escore clínico: 0 = nenhum; 1 = leve (uma ou duas lesões); 2 = moderada (<5% da superfície avaliada acometida); 3 = grave (5 a 50% da superfície avaliada acometida); 4 = muito grave (>50% da superfície avaliada acometida).

Legenda escore citológico: 0 = nenhuma; 1 = <1/CMI – 1000X; 2 = 1-5/CMI– 1000X; 3 = 6-10/CMI– 1000X; 4 = >10/CMI– 1000X.

APÊNDICE D



PROJETO DOUTORADO DRA. DANIELA

- 🐾 Usar os sprays 1x ao dia (cuidar exposição ao sol logo após o uso)
- 🐾 Banho 1x na semana com Dermogen Shampoo
- 🐾 Olhar seu cãozinho de trás para definir lado esquerdo e direito
- 🐾 Próximo à boca os produtos podem ser passados com um algodão
- 🐾 Definir qual das soluções usar no rabo
- 🐾 Borrifar 1x em uma área de um palmo (uma mão)
- 🐾 Aplicar a solução à distância de um palmo
- 🐾 Fazer uso de luvas

Retornar em 15 dias no horário agendado e trazer os frascos. Se os produtos estiverem terminando antes do seu retorno, por favor nos avise.

Ainda com dúvidas?

Dra. Daniela Fernandes
(51) 98208-6225
dani.sleo@gmail.com

Mariana Franco
(51) 98224-5468
marianaa-03@hotmail.com

