



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
ESCOLA DE MEDICINA E CIÊNCIAS DA VIDA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

VANESSA CUNNINGHAM GMYTERCO

Estudo comparativo da eficácia de um tratamento tópico natural e terapias convencionais de cefalexina oral e clorexidina-miconazol tópico em cães com piodermite superficial

Comparative study of the effectiveness of a natural topical treatment and conventional therapies of oral cephalexin and topical chlorhexidine-miconazole in dogs with superficial pyoderma

CURITIBA

2023

VANESSA CUNNINGHAM GMYTERCO

**ESTUDO COMPARATIVO DA EFICÁCIA DE UM TRATAMENTO TÓPICO
NATURAL E TERAPIAS CONVENCIONAIS DE CEFALEXINA ORAL E
CLOREXIDINA-MICONAZOL TÓPICO EM CÃES COM PIODERMITE
SUPERFICIAL**

Comparative study of the effectiveness of a natural topical treatment and
conventional therapies of oral cephalexin and topical chlorhexidine-miconazole in
dogs with superficial pyoderma

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciência Animal, área
de concentração Saúde, Tecnologia e
Produção Animal, da Escola de Medicina
e Ciências da Vida da Pontifícia
Universidade Católica do Paraná, para
obtenção do título de Mestre em Ciência
Animal.

Orientador: Prof. Dr. Marconi Rodrigues
de Farias

Coorientador: Prof. Dr. Fernando
Bittencourt Luciano

**CURITIBA
2023**

FICHA CATALOGRÁFICA

Gmyterco, Vanessa Cunningham

Avaliação de terapia tópica composta por antimicrobianos naturais no tratamento da piodermite em cães. Curitiba, 2023. 62p.

Dissertação – Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal.

1. Foliculite bacteriana 2. Extratos vegetais 3. Óleos essenciais 4. Peptídeos antimicrobianos 5. *Staphylococcus*. I. Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Escola de Ciências da Vida. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal

TERMO DE APROVAÇÃO
(Responsabilidade da Secretaria do PPGCA)

(Entregue pela secretaria)

AGRADECIMENTOS

Trabalhar com pesquisa é abandonar um pouco de si mesmo para ser um pouco do outro, do bem comum, dos animais e da sociedade. Um trabalho de mestrado reúne contributos de várias pessoas.

Especialmente ao meu orientador Professor Doutor Marconi Rodrigues de Farias, que sempre acreditou em mim, agradeço a orientação exemplar pautada por um elevado nível científico, uma visão crítica e oportuna, uma empatia e humildade inigualáveis, as quais contribuíram para enriquecer, com grande dedicação, todas as etapas subjacentes ao trabalho realizado.

Aos meus amigos e companheiros de pesquisa, Tassia Sell Ferreira, Fernanda Borek, Lucas Deolindo, Wendy Roldan, Lucas Ludwig e Maicon Paulo, agradeço o apoio e motivação incondicional que ajudaram a tornar este trabalho uma válida e agradável experiência de aprendizagem. Sou grata pela nossa amizade.

Ao Professor Doutor Fernando Bittencourt Luciano, pela orientação extremamente competente, pela motivação contínua na pesquisa e pela confiança que em mim depositou.

Agradeço também ao apoio e ensinamentos de toda a equipe do Laboratório de Pesquisa e Inovação Agroalimentar da PUCPR, durante a etapa de processamento das cepas bacterianas.

Agradeço também à equipe da Clínica Veterinária Escola da PUCPR, em especial às aprimorandas de Clínica Médica, pelo auxílio com responsáveis e pacientes selecionados e, também, à Equipe do Laboratório da Microbiologia da CVE - PUCPR pelo auxílio no processamento das amostras.

Aos meus pais Francisco e Rute, e aos irmãos, Alexandre, Vinicius e Gustavo, pela constante presença e encorajamento naqueles momentos cruciais desta jornada. Ao meu noivo Pedro Henrique, pelo amor, partilha, companheirismo e apoio incondicional.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), apoio financeiro nesses dois anos.

E claro, aos animais. Foram eles o meu grande estímulo nesta caminhada.

Por fim, o meu profundo agradecimento a todas as pessoas que contribuíram para a concretização desta dissertação, estimulando-me intelectual e emocionalmente.

SUMÁRIO

Agradecimentos	v
Sumário	vi
Lista de Figuras	viii
Lista de Tabelas	ix
Lista de Gráficos	x
Lista de Abreviaturas	xi
Formato da dissertação	xii
Resumo geral	xiii
Abstract	xiv
CAPÍTULO 1	1
1 INTRODUÇÃO E CONTEXTUALIZAÇÃO	1
1.1 Infecções bacterianas tegumentares	1
1.2 Resistência antimicrobiana e impactos na saúde pública	3
1.3 Terapia tópica antimicrobiana	5
1.3.1 Clorexidina.....	6
1.3.2 Peróxido de Benzoíla	8
1.3.3 Triclosan	8
1.3.4 Lactato de etila	9
1.3.5 Hipoclorito de sódio	9
1.3.6 Mupirocina	10
1.3.7 Ácido fusídico	11
1.3.8 Prebióticos, probióticos e posbióticos	12
1.3.9 Antimicrobianos naturais	13
1.3.9.1 Óleos essenciais e extratos vegetais	13
1.3.10 Peptídeos antimicrobianos	14
2 HIPÓTESES E OBJETIVOS	15
2.1 Hipóteses	15
2.2 Objetivos	15
2.2.1 Objetivo geral	15
2.2.2 Objetivos específicos	15
REFERÊNCIAS	16
CAPÍTULO 2	25

1 INTRODUÇÃO	26
2 MATERIAL E MÉTODOS	27
2.1 Comitê de ética	27
2.2 Tipo de estudo	28
2.3 Grupos de estudo	28
2.3.1 Critérios de exclusão.....	28
2.4 Protocolo experimental	29
2.4.1 Avaliação clínica e dermatológica	29
2.4.2 Diagnóstico citopatológico	29
2.4.3 Cultura bacteriana e antibiograma	29
2.4.4 Identificação microbiana por MALDI-TOF MS	31
2.5 Tratamento experimental	32
2.6 Avaliações de eficácia e segurança	33
2.6.1 Análises de Eficácia	33
2.6.2 Melhora clínica	34
2.6.3 Análises de Segurança	34
2.6.3 Efeitos cosméticos e facilidade de aplicação.....	34
2.7 Análise estatística.....	34
3 RESULTADOS	35
3.1 Dados demográficos	35
3.2 Apresentação clínica	36
3.3 Causa de base das piodermites	37
3.4 Cultura bacteriana e antibiograma	37
3.5 Identificação microbiana por MALDI-TOF-MS	38
3.6 Resistência estafilocócica a antibióticos	38
3.7 Avaliação de eficácia	39
3.8 Avaliação de segurança	43
3.9 Facilidade de aplicação, efeitos cosméticos e impressões dos responsáveis	43
4 DISCUSSÃO	44
REFERÊNCIAS	54
CAPÍTULO 3	60
CONCLUSÃO/IMPACTO E PERSPECTIVAS FUTURAS	60
ANEXOS	61

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 Classificação das piodermites quanto à profundidade	2
Figura 1.2 Lesões sugestivas de foliculite bacteriana	3
Figura 2.1 Topografia lesional dos 45 pacientes incluídos no estudo	37
Figura 2.2 Involução lesional de paciente canino do Grupo 1 submetido a terapia com antimicrobianos naturais no decorrer do tempo de estudo	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1 Resumo dos principais ativos para tratamento tópico das infecções bacterianas tegumentares em cães	6
Tabela 2.1 Escore lesional modificado de Solomon et al 2016	33
Tabela 2.2 Dados demográficos dos animais incluídos no estudo	35
Tabela 2.3 Perfil de sensibilidade dos 45 isolados de obtidos dos pacientes incluídos no estudo	37
Tabela 2.4 Valores médios e desvio padrão dos Índices de resistência múltipla às drogas antimicrobianas dos isolados dos diferentes grupos inclusos no estudo	39
Tabela 2.5 Médias e desvio padrão dos valores de pVAS dos grupos 1, 2 e 3	39
Tabela 2.6 Médias e desvio padrão dos valores de escore lesional dos grupos 1, 2 e 3	40
Tabela 2.7 Percentuais de melhora clínica dos pacientes quanto ao pVAS	43
Tabela 2.8 Percentuais de melhora clínica dos pacientes quanto aos escores lesionais	43

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 2.1 Frequência de isolados de espécies de <i>Staphylococcus sp.</i> identificados pela técnica do MALDI-TOF MS	38
Gráfico 2.2 Comparação da distribuição linear das médias dos valores de <i>pVAS</i> perante o tempo de tratamento dos três grupos estudados	40
Gráfico 2.3 Comparação da distribuição linear das médias dos valores de escore lesional perante o tempo dos três grupos estudados	42
Gráfico 2.4 Impressões dos responsáveis em relação aos produtos testados	44

LISTA DE ABREVIATURAS

BID	<i>Bis in die</i> – Duas vezes ao dia
PBP's	<i>Penicillin-binding proteins</i> - Proteínas de ligação à penicilina
SPRM	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i> resistente à meticilina
SARM	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina
MICs	<i>Minimal inhibitory concentration</i> – Concentração inibitória mínima
PAMs	Peptídeos antimicrobianos
IRMA	Índice de resistência múltipla aos antimicrobianos
MALDI-TOF-	Espectrometria de Massas por Ionização e Dessorção a Laser
MS	Assistida por Matriz
pVAS	Pruritus Visual Analog Scale – Escala analógica visual do prurido
SIG	<i>Staphylococcus intermedius group</i>
OEs	Óleos essenciais

1 **FORMATAÇÃO DA DISSERTAÇÃO**

2

3 A presente dissertação é composta por capítulos. O capítulo 1 apresenta uma
4 introdução geral, a contextualização do tema e os objetivos de estudo. O capítulo 2
5 trata-se de artigo científico completo, contendo referências, e formatado nas normas
6 da revista para o qual será submetido. O capítulo 3 finaliza esta dissertação com
7 conclusões gerais, considerações finais, impacto e perspectivas do trabalho. As
8 referências encontram-se ao final de cada capítulo.

9

RESUMO GERAL

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34

Há mais de uma década, cepas resistentes à metilina surgiram como um problema significativo no tratamento de infecções em cães, tornando crescente o interesse por produtos naturais com propriedades antimicrobianas na medicina veterinária. O presente trabalho visou avaliar a eficácia, segurança, efeitos cosméticos indesejáveis, facilidade de aplicação e as impressões dos responsáveis a terapia tópica contendo antimicrobianos naturais no tratamento de cães com piodermites superficiais. 45 cães foram divididos em três grupos de estudo. O Grupo 1 foi tratado com nova formulação a base de xampu e loção contendo antimicrobianos naturais (Wesen Green®). O Grupo 2 foi tratado com xampu de clorexidina a 2% com miconazol a 2,5%, e, o Grupo 3 foi tratado com cefalexina oral 30 mg/kg BID, conforme proposto pelos fabricantes. Foi realizado exame citopatológico, cultura microbiológica, antibiograma e identificação microbiana por meio da técnica de MALDI-TOF-MS dos isolados. Os escores pVAS e lesional foram avaliados nos dias 0, 7, 14, 21 e 28. A eficácia foi avaliada por meio da análise de variância simples (one-way ANOVA), seguido do teste de Tuckey, considerando $p < 0,05$. Foi observada diferença estatística ($p < 0,05$) entre D0 e D28 nos valores de pVAS e escore lesional dos pacientes dos três grupos. No D7 e D14 os escores de pVAS e escore lesional do Grupo 1 foram estatisticamente aos demais grupos. No D28 não houve diferença estatística entre os escores lesionais e de prurido entre Grupo 1 e Grupo 3. O Grupo 2 apresentou resultado estatisticamente inferior aos demais grupos na avaliação de eficácia. No Grupo 1 não foram registrados efeitos adversos à terapia testada e 93,33% dos responsáveis classificaram a aplicação como fácil, sendo a impressão geral do produto classificada como excelente ou muito boa por 73,3% e 13,3%, respectivamente. No Grupo 3, 26% dos pacientes apresentaram efeitos adversos gastrointestinais durante a terapia. Conclui-se que a linha com antimicrobianos naturais foi eficaz e segura, com resultados estatisticamente semelhantes ao uso de terapia sistêmica com cefalexina ao final do tratamento e capaz de reduzir escores de forma mais rápida que as terapias convencionais, sendo promissora para controle de piodermites superficiais em cães e potencial substituta a terapias antimicrobianas orais e antissépticas convencionais.

Palavras-chave: Foliculite bacteriana; Extratos vegetais; Óleos essenciais; Peptídeos antimicrobianos; *Staphylococcus*.

ABSTRACT

More than a decade ago, methicillin-resistant strains emerged as a significant problem in the treatment of infections in dogs, increasing the interest in natural products with antimicrobial properties in veterinary medicine. The present work aimed to evaluate the effectiveness, safety, undesirable cosmetic effects, ease of application and the owner's impression of topical therapy containing natural antimicrobials in the treatment of dogs with superficial pyoderma. 45 dogs were divided into three study groups. Group 1 was treated with a new formulation based on shampoo and lotion containing natural antimicrobials (Wesen Green[®]). Group 2 was treated with 2% chlorhexidine shampoo with 2.5% miconazole, and Group 3 was treated with oral cephalixin 30 mg/kg, as proposed by the manufacturers. Cytopathological examination, microbiological culture, antibiogram and microbial identification were performed using the MALDI-TOF-MS technique. The *pVAS* and lesional scores were evaluated on days 0, 7, 14, 21 and 28. Efficacy was assessed using simple analysis of variance (one-way ANOVA), followed by Tuckey's test, considering $p < 0.05$. A statistical difference ($p < 0.05$) was observed between D0 and D28 in the *pVAS* values and lesion score of patients in the three groups. On D7 and D14 the *pVAS* and pruritus scores of Group 1 were statistically higher than the other groups. On D28, there was no statistical difference between lesional and pruritus scores between Group 1 and Group 3. Group 2 presented statistically lower results than the other groups in the evaluation of efficacy. In Group 1, no adverse effects were registered with the tested therapy and 93.33% of those responsible classified the application as easy, with the overall impression of the product classified as excellent or very good by 73.3% and 13.3%, respectively. In Group 3, 26% of patients experienced gastrointestinal adverse effects during therapy. It is concluded that the line with natural antimicrobials was effective and safe, with results statistically equal to the use of systemic therapy with cephalixin at the end of the treatment and capable of reducing scores faster than conventional therapies, being promising for the control of superficial pyoderma in dogs and a potential substitute for conventional oral antimicrobial and antiseptic therapies.

Keywords: Bacterial folliculitis; Plant extracts; Essential oils; Antimicrobial peptides; *Staphylococcus*.

CAPÍTULO 1

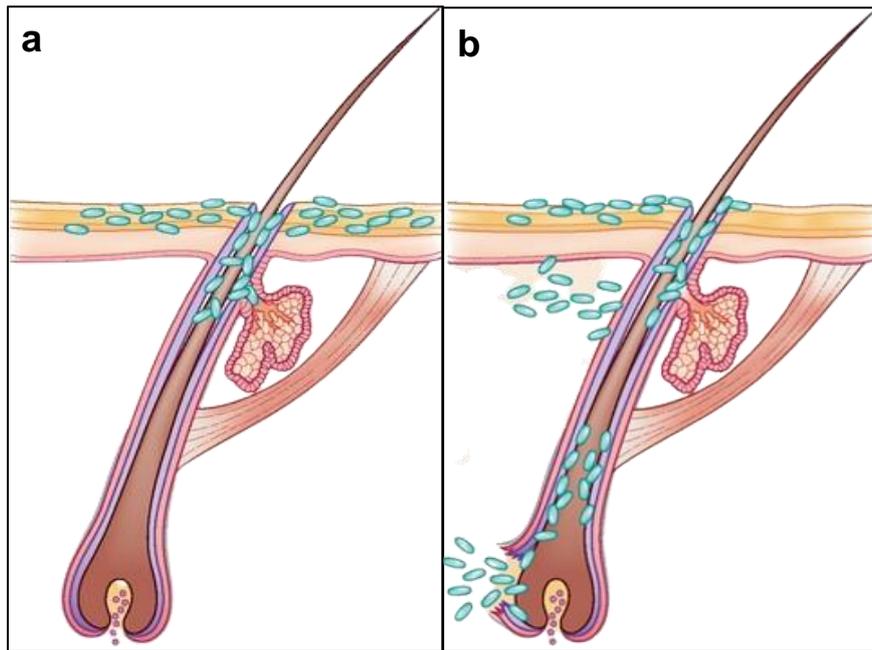
1 INTRODUÇÃO E CONTEXTUALIZAÇÃO

1.1 INFECÇÕES BACTERIANAS TEGUMENTARES

A microbiota cutânea em cães, presente na pele e na unidade pilo-sebácea, desenvolve relação de simbiose com o hospedeiro, impede a colonização e infecção por agentes patogênicos e estimula seu sistema imunológico (Bannoehr e Guardabassi, 2012; Botoni et al., 2014). O *Staphylococcus pseudintermedius*, embora componente dessa microbiota, tem potencial patogênico e é o principal agente envolvido nas piodermites em cães (Bannoehr e Guardabassi, 2012; Botoni et al., 2014). Embora os cães possam ser portadores, colonizados e infectados por *Staphylococcus aureus* e outras espécies coagulase variáveis (ex. *Staphylococcus schleiferi*), estes são patógenos muito menos frequentes nas piodermites em cães (Frank et al., 2003; Cain et al., 2011; Botoni et al., 2014).

Dentre os fatores de virulência do *S. pseudintermedius*, podemos citar 1) a produção de enzimas, como coagulase e proteases, 2) de proteínas de superfície, como a proteína A, 3) a capacidade de formar biofilmes, e 4) a produção de toxinas, como as citotoxinas, toxina esfoliativa e enterotoxinas (Bannoehr e Guardabassi, 2012; Latronico et al., 2014).

As piodermites em cães são classificadas em superficiais ou profundas (Figura 1.1). As infecções bacterianas tegumentares superficiais caracterizam-se pela infecção da epiderme, folículos pilosos e anexos (Botoni et al., 2014; Farias e Solomon, 2016). Os quadros profundos são estabelecidos quando infecções bacterianas aprofundam-se no folículo piloso e há o rompimento do epitélio folicular, afetando a derme e o tecido subcutâneo (Botoni et al., 2014; Farias e Solomon, 2016).



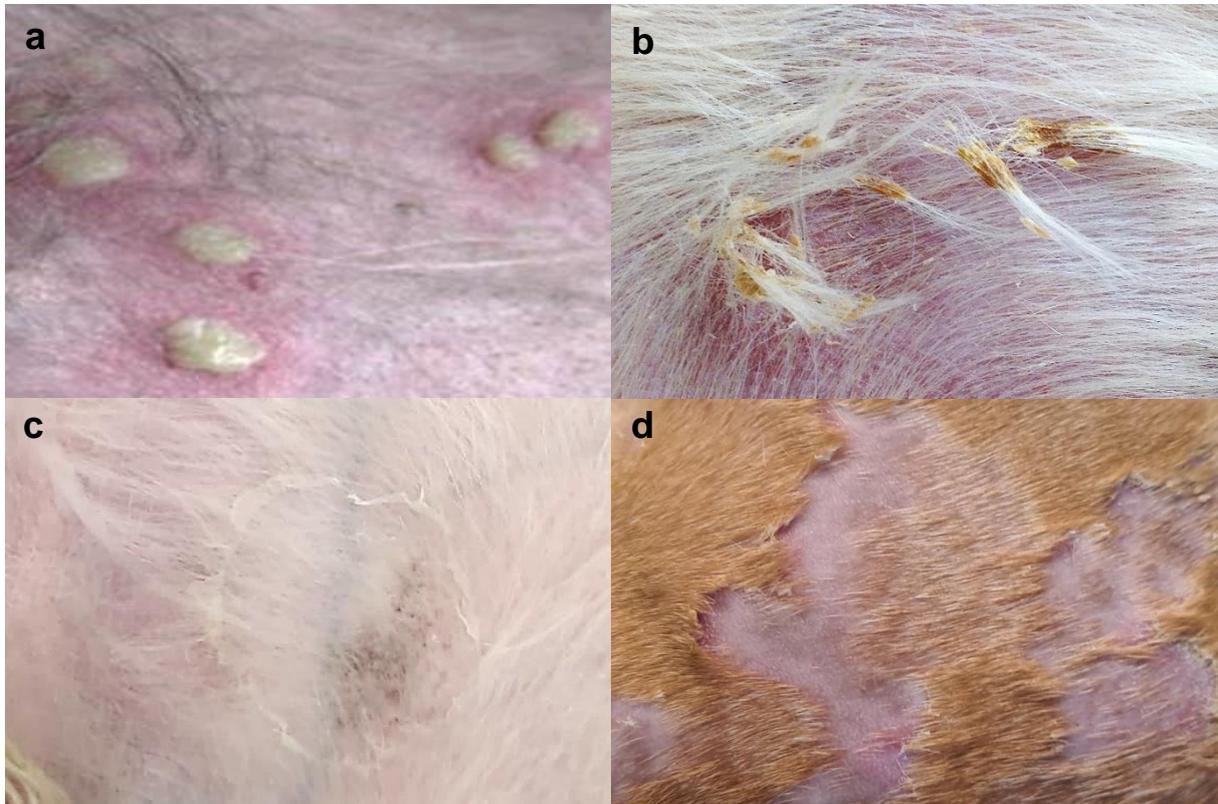
1
2 **Figura 1.1** Classificação das piодermites quanto à profundidade, sendo a=
3 piодermite superficial e b=piодermite profunda. Na figura a é possível observar
4 acometimento da epiderme e unidade folicular por bactérias. Na figura b as bactérias
5 rompem a estrutura folicular e adentram na derme, caracterizando uma infecção
6 profunda cutânea. Fonte: Veterinarian Key, 2016.

7
8 As infecções bacterianas tegumentares superficiais são algumas das
9 dermatopatias mais frequentes em cães e apresentam majoritariamente caráter
10 secundário às dermatopatias alérgico-inflamatórias, como a dermatite atópica,
11 parasitárias, disqueratóticas, displásicas e de origem endócrina, que promovem
12 alterações na barreira epidérmica e na resposta imunológica, o que favorece a
13 adesão, infecção e proliferação estafilocócica (Solomon et al., 2010; Botoni et al.,
14 2014).

15 As lesões tegumentares mais comumente associadas à foliculite bacteriana
16 superficial são as pápulas e pústulas foliculares. No entanto, o envolvimento folicular
17 pode ser difícil de avaliar macroscopicamente. Eriçamento piloso, hipotricose,
18 alopecia, eritema e hipo ou hiperpigmentação estão frequentemente presentes.
19 Manchas de alopecia multifocais e coalescentes que dão uma aparência de “roído de
20 traça” podem ser as únicas lesões visíveis em algumas raças de pelagem curta. Os
21 colarinhos epidérmicos, crostas melicéricas e as lesões em “alvo” (áreas anulares de
22 alopecia, descamação, eritema e hiperpigmentação central) podem ser as lesões mais
23 evidentes em alguns casos, mormente em cães de pelagem longa e densa (Hillier et

1 al., 2014). As lesões sugestivas de foliculite bacteriana estão demonstradas na Figura
2 1.2.

3



4 **Figura 1.2** Lesões sugestivas de foliculite bacteriana, sendo a= pústulas íntegras, b=
5 crostas melicéricas aderidas ao pelo, c= colarinhos epidérmicos, d= manchas de
6 alopecia multifocais e coalescentes. Fonte: autor, 2022.

7

8 1.2 RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA E IMPACTOS NA SAÚDE PÚBLICA

9

10 O uso de antimicrobianos na prática da medicina moderna levou ao
11 desenvolvimento e aquisição de mecanismos de resistência, à amplificação e
12 proliferação de cepas resistentes e multirresistentes na população humana e animal.
13 Atualmente, algum grau de resistência foi documentado em todas as espécies de
14 *Staphylococcus* spp. que infectam humanos e animais domésticos (Morris et al.,
15 2017).

16 No passado, cepas isoladas de *Staphylococcus pseudintermedius* eram
17 geralmente suscetíveis a antibióticos β -lactâmicos. No entanto, há mais de uma
18 década surgiram cepas resistentes à meticilina ou oxacilina, o que lhes confere, por
19 meio da modificação das proteínas ligantes de penicilina (PBP's) sintetizadas pelo

1 gene *mecA*, afinidade reduzida para todos os antimicrobianos β -lactâmicos (Loeffler
2 et al., 2007; Weese e Van Duijkeren, 2010).

3 Além da resistência aos antibióticos β -lactâmicos, a maioria dos isolados
4 resistentes a meticilina ou oxacilina co-expressa resistência a várias outras classes
5 de antimicrobianos, como as fluoroquinolonas, macrolídeos, tetraciclina e
6 aminoglicosídeos. Atualmente, é comum isolar *Staphylococcus pseudintermedius*
7 resistentes à meticilina (SPRM) suscetíveis a poucos antimicrobianos, o que pode
8 representar um risco de saúde pública (Jones et al., 2007; Morris et al., 2017).

9 Em um hospital geriátrico foram descritos quatro casos de infecção humana por
10 *Staphylococcus pseudintermedius* resistentes à meticilina (Starlander et al., 2014).
11 Também foi demonstrado que animais de estimação podem ser reservatórios
12 importantes de bactérias resistentes a meticilina/oxacilina, incluindo patógenos com
13 potencial zoonótico, para seus responsáveis, já que eles são frequentemente
14 medicados com as mesmas classes de antibióticos que os humanos, o que pode
15 proporcionar o desenvolvimento de seleção de cepas resistentes e multirresistentes
16 (McCarthy et al., 2014).

17 No entanto, apesar do *S. pseudintermedius* raramente infectar humanos, sua
18 transmissão por cães pode representar um risco sério para a saúde humana. Um
19 potencial risco indireto é a transferência de genes de resistência de *S.*
20 *pseudintermedius* resistente a antimicrobianos para cepas estafilocócicas
21 patogênicas humanas (Guardabassi et al., 2004). Foi documentado que a
22 transferência horizontal de genes de resistência entre diferentes grupos de
23 estafilococos ocorre na pele de humanos, camundongos e cães tão eficientemente
24 quanto em meios de laboratório (Naidoo e Lloyd, 1984).

25 O número crescente de cães portadores de SPRM, por conviverem no mesmo
26 nicho que seres humanos, constitui um risco para os donos de animais serem
27 colonizados com SPRM, e as infecções por este microrganismo em humanos também
28 podem aumentar em um futuro próximo. Portanto, é importante reconhecer o
29 *Staphylococcus pseudintermedius* como um patógeno zoonótico e ter antibióticos
30 disponíveis para o tratamento dessas infecções em humanos (Stegmann et al.,
31 2010).

32 Assim, precauções devem ser tomadas para limitar a possibilidade de
33 transferência de estafilococos de animais infectados para proprietários e equipe
34 veterinária, e medidas para minimizar o risco de transferência são necessárias,

1 principalmente a indivíduos mais suscetíveis (idosos, pessoas imunodeprimidas ou
2 que utilizam medicações imunossupressoras) (Hillier et al., 2014).

3 4 1.3 TERAPIA TÓPICA ANTIMICROBIANA

5
6 Em cães, a foliculite bacteriana é uma das principais razões para o uso de
7 antimicrobianos na prática clínica em pequenos animais (Baker et al., 2012;
8 Guardabassi et al., 2008). Para determinar o melhor modo de terapia sempre deve-se
9 considerar a causa da doença e tratar de forma concomitante a enfermidade de base
10 (Hillier et al., 2014).

11 A terapia tópica das foliculites bacterianas provavelmente é subutilizada
12 devido à percepção de que os clientes terão mais dificuldade de aplicá-la e que a
13 adesão pode ser baixa. No entanto, existem vantagens potenciais significativas para
14 o uso precoce e frequente da abordagem tópica nesta doença. Em comparação com
15 a terapia sistêmica, a aplicação tópica tem várias vantagens que incluem altas
16 concentrações do princípio ativo diretamente no local infectado, necessidade de
17 menor quantidade de antimicrobiano, melhor adesão do princípio ativo à pele, menos
18 efeitos colaterais sistêmicos e potencialmente menor chance de resistência
19 antimicrobiana (Ray et al., 2019). Além disso, a resistência às altas concentrações de
20 antissépticos e antimicrobianos usados em produtos tópicos é muito incomum
21 (Loeffler et al., 2008).

22 Em geral, a terapia tópica é útil em todos os pacientes com impetigo e foliculite
23 bacteriana superficial. A terapia tópica isolada (sem coadministração de antibióticos
24 sistêmicos) é encorajada como uma abordagem desejável e recomendada para o
25 tratamento, a menos que seja impedida por particularidades do proprietário e/ou do
26 paciente (Hillier et al., 2014).

27 Quanto as fórmulas farmacêuticas disponíveis da terapia tópica, é
28 recomendado que, para lesões extensas ou generalizadas, preconize-se o uso de
29 formulações em xampu, loções, sprays, mousses ou condicionador e, para lesões
30 focais e localizadas, é preconizado o uso de formulações em geis, pomadas, cremes
31 e lenços umedecidos (Hillier et al., 2014).

32 Os principais ativos que podem ser utilizados para tratamento tópico das
33 infecções bacterianas tegumentares, sua ação, concentrações recomendadas,
34 vantagens e desvantagens estão apresentados em resumo na Tabela 1.1.

1 **Tabela 1.1** Resumo dos principais ativos atualmente disponíveis e mais
 2 frequentemente utilizados, sua ação, concentração recomendada, suas vantagens e
 3 desvantagens, para tratamento tópico das infecções bacterianas tegumentares em
 4 cães.

Princípio	Ação	Concentração	Vantagens	Desvantagens
Clorexidina	Antisséptico, Bactericida e bacteriostática	2 a 4%	Mais eficaz e menos irritante em cães do que outros antissépticos tópicos	Pode induzir eritema, prurido e descamação, principalmente em atópicos
Peróxido de Benzoíla	Antioxidante, bactericida, queratolítica e antisseborréica	2,5%	Ação de limpeza folicular, boa opção para tratamento de infecções profundas	Pode causar ressecamento, contato irritante, eritema e prurido. Inferior a clorexidina em estudos
Triclosan	Antisséptico bactericida e bacteriostática	0,5 a 1%	Boa ação principalmente contra bactérias Gram-positivas.	Ausência de estudos comparativos de na medicina veterinária
Lactato de etila	Bacteriostática e bactericida	10%	Penetra em todas as camadas da pele, incluindo folículos pilosos e glândulas sebáceas	Pode induzir eritema e prurido. Inferior à clorexidina em estudos. Dados conflitantes sobre sua eficácia
Hipoclorito de sódio	Alvejante, desinfetante, bactericida	0,005% a 0,05%	Barato, bem tolerado, pode exibir propriedades anti-inflamatórias	Alvejante, pode causar alterações na coloração da pelagem
Ácido hipocloroso				
Mupirocina	Antibiótico, bactericida e bacteriostática	0,2 a 1%	Uso destinado para tratamento de infecções estafilocócicas resistentes e multirresistentes	Pode induzir resistência antimicrobiana
Ácido fusídico	Antibiótico, bactericida e bacteriostático	0,2 a 2%	Uso destinado para tratamento de infecções estafilocócicas resistentes e multirresistentes	Pode induzir resistência antimicrobiana

5 Fonte: elaborada pelo autor, 2023.

6

7 1.3.1 Clorexidina

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34

A Clorexidina é um composto sintético derivado de uma bis-biguanida com propriedades bacteriostáticas, bactericidas, fungicidas, fungistáticas e algumas antivirais. Em concentrações bacteriostáticas, promove o extravasamento de constituintes citoplasmáticos e, em concentrações mais altas, exerce ação bactericida promovendo coagulação de proteínas citoplasmáticas e deterioração das membranas celulares bacterianas (Lim e Kam, 2008; Jeffers, 2013).

As concentrações inibitórias mínimas da clorexidina são mais baixas para bactérias Gram-positivas do que para bactérias Gram-negativas pois apresenta afinidade aumentada para a parede celular de microrganismos Gram-positivos. Portanto, esse composto apresenta boa ação contra bactérias do gênero *Staphylococcus* spp. as quais são Gram-positivas (Lim e Kam, 2008; Borio et al., 2015).

A clorexidina possui um efeito antisséptico residual seguro e de longa duração nos corneócitos (Ohta, 1990). Assim, a clorexidina é considerada mais eficaz e menos irritante no tratamento da piodermite superficial em cães do que outros antissépticos tópicos (Murayama et al., 2010; Loeffler et al., 2011).

A concentração recomendada da clorexidina para controle das piodermites superficiais varia de 2 a 4% e pode ser utilizada em forma de xampus, sprays, mousses e lenços umedecidos (Jeffers, 2013). Um estudo comparativo demonstrou que a terapia tópica com digluconato de clorexidina pode ser tão eficaz quanto a terapia sistêmica com amoxicilina com ácido clavulânico, mesmo em casos de infecções por SPRM, corroborando com a atual recomendação consensual que reforça o uso de antissépticos como agentes únicos no tratamento de quadros superficiais (Hillier et al., 2014; Borio et al., 2015)

Apesar de pouco documentado, em humanos foi demonstrado que a clorexidina, principalmente em concentrações mais altas, pode induzir eritema, ressecamento cutâneo e contato irritante, principalmente em mucosas, e com maior intensidade em indivíduos com dermatite atópica (Barns et al., 2019).

Além disso, o uso repetido de biocidas como a clorexidina pode estar associado a irritação, ressecamento cutâneo e suscetibilidade reduzida com o tempo devido à resistência à bomba de efluxo ligada a mutações do gene *qacA* (Horner et al., 2012).

Em estudo realizado por Borio *et al.*, 2015, foi documentado o aparecimento de eritema, prurido e descamação em 6,4% dos cães com piodermite, secundária a

1 dermatite atópica, submetidos a terapia com clorexidina a 4% a base de banhos
2 associados a uso diário de loção com mesma composição. Nestes cães a terapia com
3 clorexidina foi suspensa e houve resolução dos efeitos adversos observados.

4 5 1.3.2 Peróxido de Benzoíla

6
7 O peróxido de benzoíla é um agente oxidante que rompe a membrana da
8 parede celular bacteriana, aumentando sua permeabilidade ou causando sua ruptura
9 (Jeffers, 2013). Este composto é disponível em fórmulas comerciais na forma de
10 xampus, cremes e géis. As concentrações terapêuticas variam de 2,5 a 10% (Mueller
11 et al., 2012).

12 O peróxido de benzoíla reduz a atividade das glândulas sebáceas e induz uma
13 ação de limpeza folicular, promove a remoção de escamas, secreções glandulares e
14 reduz a contagem bacteriana nos folículos pilosos (Loeffler et al., 2011).

15 Usando-se com frequência, o peróxido de benzoíla pode causar ressecamento
16 e contato irritante em alguns animais (Jeffers, 2013). Efeitos colaterais indesejáveis,
17 como eritema e prurido, podem ser observados após o tratamento com peróxido de
18 benzoíla, principalmente quando utilizado em concentrações superiores a 5% (Mueller
19 et al., 2012; Jeffers, 2013).

20 Apesar de seu efeito bactericida, um estudo comparativo demonstrou que o
21 peróxido de benzoíla em xampu a 2,5% foi inferior a clorexidina a 3% na redução
22 sintomato-lesional de 22 cães com foliculite bacteriana (Loeffler et al., 2011). Assim,
23 devido aos efeitos colaterais, sua ação queratolítica e comedolítica predominante, e
24 seu resultado inferior a clorexidina, atualmente o peróxido de benzoíla é mais
25 recomendado para uso em piodermites profundas (Hillier et al., 2014).

26 27 28 1.3.3 Triclosan

29
30 O triclosan (5-cloro-2-[2,4-diclorofenoxi]fenol) pertence a classe dos bisfenóis e
31 possui propriedades antibacterianas, principalmente contra bactérias Gram-positivas.
32 Bactérias Gram-negativas, especialmente *P. aeruginosa*, são mais refratárias ao
33 composto. O mecanismo de ação é desconhecido e provavelmente ocorre devido a

1 efeitos cumulativos em múltiplos alvos (McDonnell e Russell, 1999; Mueller et al.,
2 2012).

3 Apesar de descrito como opção para tratamento da piодermite superficial em
4 cães (Bloom, 2013; Jeffers 2013; Hillier et al.,2014), estudos comparativos de xampus
5 antimicrobianos com e sem triclosan de forma randomizada não foram realizados na
6 medicina veterinária (Mueller et al., 2012).

7

8 1.3.4 Lactato de etila

9

10 O lactato de etila é um composto orgânico lipossolúvel que penetra em todas
11 as camadas da pele, incluindo folículos pilosos e glândulas sebáceas (Jeffers, 2013).
12 Em humanos, o lactato de etila é usado com sucesso para o tratamento da acne vulgar
13 (Prottey et al., 1984). Na pele, é metabolizado em etanol e ácido láctico, que exercem
14 ação bacteriostática e bactericida e sua capacidade de se difundir por todas as
15 camadas da pele contribui para sua eficácia (Guaguere et al., 1996; Jeffers, 2013).

16 Efeitos colaterais indesejáveis são irritação, eritema e prurido. Contudo, esses
17 efeitos parecem menos frequentes com lactato de etila do que com peróxido de
18 benzoíla. O lactato de etila pode ser utilizado em formulações de xampus na
19 concentração de 10% para uso em piодermites superficiais (Guaguere et al., 1996).

20 Um estudo avaliou a contagem bacteriana cutânea antes e após terapia com
21 diferentes xampus e as contagens de *Staphylococcus spp* foram superiores após dez
22 tratamentos com lactato de etila quando comparadas a terapia com xampu de
23 clorexidina (Campbell et al., 1995).

24 Como existem poucos estudos realizados até o momento, os quais, inclusive,
25 contêm dados conflitantes sobre sua eficácia, são necessários evidências científicas
26 mais claras de seus efeitos benéficos antes que o uso de lactato de etila possa ser
27 amplamente recomendado (Mueller et al., 2012).

28

29 1.3.5 Hipoclorito de sódio

30

31 Tanto o hipoclorito de sódio quanto seu ingrediente ativo, o ácido hipocloroso,
32 são agentes antibacterianos eficazes, baratos e amplamente disponíveis. São
33 frequentemente recomendados para pacientes humanos com infecções causadas por
34 *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (SARM), incluindo aqueles afetados

1 com dermatite atópica, com concentrações terapêuticas variando entre 0,005 e
2 0,016% de hipoclorito (Liu et al., 2011; Jeffers, 2013).

3 O ácido hipocloroso, o ingrediente ativo encontrado no hipoclorito de sódio, está
4 disponível comercialmente em alguns países como um produto de agente único e
5 oferece várias vantagens sobre a água sanitária (hipoclorito de sódio). O ácido
6 hipocloroso é mais estável, não tóxico, tem pH neutro e não é alvejante. Ele pode ser
7 usado pelo menos uma vez ao dia para tratar infecções bacterianas superficiais e
8 profundas da pele como adjuvante do xampu antibacteriano e pode ser usado como
9 monoterapia em locais passíveis de tratamento com spray (Jeffers, 2013).

10 Resultados de um estudo utilizando hipoclorito de sódio diluído em quatro
11 beagles atópicos indicaram que uma solução tópica, em concentrações de 0,05 ou
12 0,005% de hipoclorito, é um antisséptico bem tolerado que também exhibe
13 propriedades anti-inflamatórias (Banovic et al., 2017).

14 Um estudo recente demonstrou que um xampu formulado com hipoclorito de
15 sódio e ácido salicílico foi eficaz como terapia única para cães com piodermite
16 superficial associada a *S. pseudintermedius*, incluindo cepas resistentes à metilina
17 (Fadok e Irwin, 2019).

18 Efeitos adversos limitados a prurido leve e ressecamento da pele foram
19 relatados, apesar de raros, após repetidos banhos com hipoclorito de sódio em
20 humanos. Em cães, poucos efeitos adversos foram documentados, porém seu uso já
21 foi associado a ressecamento cutâneo e alterações na coloração da pelagem,
22 principalmente os de pelagem preta (Banovic et al., 2017; Fadok e Irwin et al., 2019).

23

24 1.3.6 Mupirocina

25

26 A mupirocina (ácido pseudomônico) está disponível em pomada a 2% à base
27 de polietilenoglicol, e é produzida a partir da bactéria *Pseudomonas fluorescens*. É um
28 agente bacteriostático em baixas concentrações e bactericida em altas concentrações
29 (Werner e Russell, 1999).

30 A atividade antimicrobiana da mupirocina consiste em inibir reversivelmente a
31 isoleucina-tRNA ligase, inibindo assim a proteína bacteriana e a síntese de RNA. A
32 mupirocina tem excelente atividade *in vitro* contra estafilococos e a maioria dos
33 estreptococos, mas menos atividade contra outras bactérias gram-positivas e gram-

1 negativas. Devido seu rápido e extenso metabolismo sistêmico, seu único uso
2 recomendado é de forma tópica (Parenti et al., 1987).

3 Caso a área de tratamento da pele exceder os limites para aplicação de
4 pomada, esta pode ser dissolvida em água e pulverizada na pele infectada, na diluição
5 de 30 g de mupirocina em 60 ml de água para fazer uma solução a 1% (Jeffers, 2013).

6 A mupirocina é aprovada para o tratamento de cães com piodermite em alguns
7 países, incluindo o Brasil (Mueller et al., 2012). Seu uso em humanos é destinado para
8 tratamento tópico infecções estafilocócicas resistentes e multirresistentes. Devido aos
9 crescentes relatos de bactérias multirresistentes na medicina, autores sugerem que
10 esse antibiótico não seja utilizado rotineiramente na medicina veterinária a fim de
11 reduzir a chance de desenvolvimento futuro de resistência (Mueller et al., 2012; Hillier
12 et al., 2014), embora evidências da eficácia da mupirocina no tratamento de piodermite
13 em cães tenham sido relatadas (Meucci et al., 2010).

14 Um estudo recente realizado na Polônia revelou a ocorrência de altos níveis de
15 resistência a mupirocina em três isolados de *Staphylococcus pseudintermedius*. Os
16 resultados deste estudo indicam que o monitoramento da resistência à mupirocina em
17 estafilococos, especialmente em isolados resistentes à meticilina, é fortemente
18 recomendado (Kizerwetter-Świda et al., 2019).

19

20 1.3.7 Ácido fusídico

21

22 O ácido fusídico é um antibiótico produzido a partir do fungo *Fusidium*
23 *coccineum* e está disponível em pomada, creme ou gel. O ácido fusídico atua inibindo
24 a síntese proteica bacteriana e é bactericida em todas as concentrações (Jeffers,
25 2013).

26 Em suma, o ácido fusídico pode ser considerado simplesmente como um
27 inibidor da síntese de proteínas, atuando especificamente na etapa de translocase na
28 sequência. Dito de outra forma, é um inibidor de translocase que pode atuar de forma
29 direta ou indireta nesta enzima (Verbist, 1990).

30 Foi demonstrado que o ácido fusídico aplicado topicamente excede muito as
31 concentrações inibitórias mínimas (MICs) para estafilococos patogênicos a partir da
32 piodermite em cães, podendo ser uma alternativa à terapia sistêmica para foliculite
33 bacteriana canina (Frosini et al., 2017).

1 Um estudo documentou uma resistência significativamente maior ao ácido
2 fusídico em cepas de *S. pseudintermedius* resistentes à meticilina em comparação
3 com cepas suscetíveis à meticilina (Meucci et al., 2020). Outro estudo recente
4 observou que 14 de 52 (27%) isolados de *S. pseudintermedius* foram resistentes ao
5 ácido fusídico, reforçando a recomendação de monitoramento contínuo da resistência
6 ao ácido fusídico (Lim et al., 2020).

7 Portanto, assim como a mupirocina, recomenda-se que seu uso seja reservado
8 a cães com infecções resistentes ou multirresistentes, e onde a cultura e o
9 antibiograma não indicam suscetibilidade a outros antimicrobianos, e onde os
10 antissépticos tópicos falharam em resolver a infecção (Hillier et al., 2014).

11 12 1.3.8 Prebióticos, probióticos e pós-bióticos

13
14 Os probióticos, incluindo bactérias e leveduras, são microrganismos vivos que
15 demonstram efeitos benéficos na saúde humana. Recentemente, bactérias comensais
16 estão sendo constantemente estudadas e suas aplicações como probióticas estão
17 sendo consideradas em tratamentos adjuvantes promissores para várias doenças
18 intestinais e cutâneas (Kim et al., 2019).

19 Um prebiótico é definido como componente alimentar não absorvível que
20 estimula benéficamente um ou mais grupos de micróbios benéficos para o intestino e,
21 portanto, tem um efeito positivo na saúde humana. Os prebióticos mais comumente
22 usados são substratos de carboidratos (por exemplo, fibra dietética) com a capacidade
23 de promover os componentes da microflora intestinal normal que podem fornecer
24 benefícios à saúde do hospedeiro (Sarao e Arora, 2017).

25 Já os pós-bióticos incluem todas as substâncias de origem bacteriana ou
26 fúngica que se referem a microrganismos inanimados e/ou seus componentes que
27 conferem efeitos benéficos ao hospedeiro o que não atendem à definição de probiótico
28 (Zólkiewicz et al., 2020; Vinderola et al., 2022). Embora os pós-bióticos não
29 conttenham microrganismos vivos, eles apresentam um efeito benéfico à saúde por
30 meio de mecanismos semelhantes aos probióticos, minimizando os riscos associados
31 à sua ingestão (Zólkiewicz et al., 2020).

32 Um estudo recente utilizando uma versão em spray de um produto pós-biótico
33 veterinário contendo lactobacilos tratados pelo calor em cães com dermatite atópica
34 demonstrou redução significativa e relativamente rápida dos escores clínicos e

1 lesionais de cães com dermatite atópica leve a moderada, sem o uso de qualquer
2 outra intervenção terapêutica (Santoro et al., 2020).

3 Apesar dos dados de melhora clínica, não foram detectadas alterações
4 significativas na microbiota, supondo que pós-bióticos com lactobacilos tratados
5 termicamente não interferem diretamente na microbiota cutânea em cães com
6 dermatite atópica. Outros estudos semelhantes não foram realizados na medicina
7 veterinária e estudos utilizando prebióticos, probióticos ou pós-bióticos para
8 tratamento de foliculite bacteriana em cães não foram realizados até o momento
9 (Santoro et al., 2020).

10

11 1.3.9 Antimicrobianos naturais

12

13 1.3.9.1 Óleos essenciais e extratos vegetais

14

15 O estabelecimento de novas abordagens às terapias convencionais para o
16 tratamento de distúrbios infecciosos cutâneos em cães tem sido documentado em
17 diversos estudos (Nocera et al., 2020). Uma vez que cepas de *Staphylococcus* spp
18 multirresistentes se tornaram uma ameaça relevante, tratamentos alternativos com
19 óleos essenciais e extratos vegetais com propriedades antimicrobianas são princípios
20 naturais que estão sendo investigados para utilização na medicina e medicina
21 veterinária.

22 O dano irreversível da parede e membrana celular bacteriana tem sido proposto
23 como o principal mecanismo de ação dos óleos essenciais com propriedades
24 antimicrobianas, o que leva a um vazamento não apenas de proteínas, mas também
25 de moléculas de DNA e RNA (Sakkas e Papadopoulou et al., 2017; Valdivieso-Ugarte
26 et al., 2020).

27 A eficácia *in vitro* de óleos essenciais de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) e
28 alecrim (*Rosmarinus officinalis*), gel à base de manuka e própolis foi demonstrada
29 serem eficazes contra 23 cepas de *Staphylococcus pseudintermedius* isoladas de
30 cães com foliculite bacteriana, mesmo em isolados resistentes à metilina e
31 multirresistentes (Meroni et al., 2020).

32 Outro estudo *in vitro* revelou as propriedades antimicrobianas de diversos óleos
33 essenciais selecionados contra cepas metilina resistentes e metilina sensíveis
34 isoladas de cães com piodermite (Nocera et al., 2020). Em particular, os óleos de folha

1 de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) e de melissa (*Melissa officinalis*) mostraram a
2 atividade antimicrobiana mais forte (Nocera et al.,2020). Estes resultados reforçam
3 que os óleos essenciais podem ser considerados agentes terapêuticos promissores
4 para tratar infecções causadas por cepas de *S. pseudintermedius* multirresistentes,
5 que estão se tornando cada vez mais difíceis de manejar (Nocera et al., 2020).

6 Um estudo com 28 cães com histórico de piodermites recorrentes, que
7 apresentaram pelo menos quatro episódios em um ano, foi realizado utilizando um
8 produto comercial PyoSpot (Dermoscent, LDCA) aplicado semanalmente (Fadok et
9 al.,2020). O produto apresenta em sua composição óleos vegetais de semente de
10 cânhamo e tamanu, ricos em ácidos graxos essenciais (Ômega 3 e 6) e óleos
11 essenciais de palmarosa, segurelha, sálvia, lavandin, eucalipto-cidró e ajowan, e
12 demonstrou que os animais tratados com o produto apresentaram índice 60% menor
13 de recidiva após um ano, quando comparados ao grupo placebo (Fadok et al., 2020).

14 As propriedades antimicrobianas de óleos essenciais e extratos vegetais foram
15 demonstradas contra o *S. pseudintermedius*, entretanto, estudos *in vivo* realizados de
16 forma crítica são necessários para caracterizar completamente suas propriedades,
17 sua eficácia, segurança e formas de utilização (Meroni et al., 2020; Fadok et al. 2020).

18 Além disso, na indústria de medicamentos para aplicação tópica é necessário
19 realizar avaliação do potencial irritativo de quaisquer formulações/produtos para a pele,
20 mesmo que esses princípios já tenham sido utilizados de forma eficaz *in vitro*
21 (Mekonnen et al., 2019).

22 23 1.3.10 Peptídeos antimicrobianos

24
25 Nos últimos anos, os peptídeos antimicrobianos (PAMs) têm atraído um
26 interesse considerável como antimicrobianos alternativos (Mercer e O'Neil, 2013). Os
27 PAMs estão presentes em todos os organismos multicelulares como parte de seus
28 sistemas imunológicos inatos, que exibem atividade antimicrobiana ao romper a
29 membrana celular bacteriana, além de alvos intracelulares (Greco et al., 2019).

30 O mecanismo de ação dessas moléculas consiste na sua inserção na bicamada
31 lipídica e conseqüente formação de poros e extravasamento celular. Além disso, são
32 capazes de inibir a parede celular, os ácidos nucléicos e os processos de síntese de
33 proteínas, além de inibir várias outras funções enzimáticas das células-alvo (Ciurac
34 et al., 2019; Corrêa et al., 2019).

1 Foi demonstrado em um estudo que dois peptídeos sintéticos apresentaram
2 propriedades adequadas para o tratamento tópico de infecções por *S.*
3 *pseudintermedius* (Greco et al.,2019). Verificou-se que as moléculas sintetizadas não
4 penetram na pele, tornando-as adequadas para aplicação tópica quando nenhuma
5 absorção sistêmica é desejada (por exemplo, para tratar piodermite superficial).
6 Embora os resultados *in vitro* precisem ser confirmados por dados *in vivo* (Greco et
7 al., 2019).

8 Outro estudo avaliou a atividade antimicrobiana *in vitro* de sete peptídeos
9 antimicrobianos sintetizados (aureína 1.2, CAMEL, citropina 1.1, protegrina-1,
10 pexiganan, temporina A e uperina 3.6) contra cepas estafilocócicas patogênicas. Os
11 PAMs testados foram igualmente eficientes contra cepas de estafilococos resistentes
12 e suscetíveis e foram mais eficientes contra *Staphylococcus pseudintermedius* do que
13 contra cepas de *Staphylococcus aureus* (Jarosiewicz et al.,2020). Achados
14 particularmente interessantes do ponto de vista clínico, pois apontaram os PAMs
15 como potenciais agentes terapêuticos tópicos em casos de piodermite em cães
16 associados à resistência antimicrobiana de estafilococos (Jarosiewicz et al., 2020).

17 18 **2 HIPÓTESES E OBJETIVOS**

19 20 **2.1 HIPÓTESES**

21
22 Formulações tópicas a base de antimicrobianos naturais contendo óleos
23 essenciais, peptídeos antimicrobianos e extratos vegetais são eficazes e seguras para
24 o tratamento das piodermites superficiais em cães;

25 Formulações tópicas a base de antimicrobianos naturais contendo óleos
26 essenciais, peptídeos antimicrobianos e extratos vegetais são substitutas a terapias
27 antibióticas e antissépticas convencionais no controle das piodermites superficiais em
28 cães;

29 30 **2.2 OBJETIVOS**

31 32 33 **2.2.1 Objetivo geral**

34
35
36 Avaliar a eficácia e segurança de fórmulas dermatológicas tópicas

1 contendo antimicrobianos naturais no tratamento de piodermites superficiais em
2 cães em comparação as terapias antimicrobianas convencionais.

3

4

5 **2.2.2 Objetivos específicos**

6

7 a- Avaliar as principais dermatopatias de base associadas à infecção
8 estafilocócica tegumentar em cães.

9 b- Avaliar o perfil epidemiológico e de suscetibilidade de bactérias causadoras
10 de piodermites superficiais em cães com piodermite em Curitiba (PR),
11 Brasil.

12 c- Avaliar a suscetibilidade de cepas estafilocócicas resistentes e
13 multirresistentes aos antimicrobianos naturais testados;

14 d- Avaliar a facilidade de aplicação e impressão geral dos responsáveis à
15 terapia tópica com antimicrobianos naturais prescrita.

16

17

1 REFERÊNCIAS

2
3 Baker SA, Van-Balen J, Lu B, Hillier A, Hoet AE. Antimicrobial drug use in dogs prior
4 to admission to a veterinary teaching hospital. J Am Vet Med. 2012;241(2):210-217.

5
6 Bannoehr J, Guardabassi L. *Staphylococcus pseudintermedius* in the dog: Taxonomy,
7 diagnostics, ecology, epidemiology and pathogenicity. Vet Dermatol. 2012;23(4):1-16.

8
9 Banovic F, Olivry T, Bäumer W, Paps J, Stahl J, Rogers A, Jacob M. Diluted sodium
10 hypochlorite (bleach) in dogs: antiseptic efficacy, local tolerability and in vitro effect on
11 skin barrier function and inflammation. Vet Dermatol. 2018;29(1):6-e5.

12
13 Barnes S, Stuart R, Redley B. Health care worker sensitivity to chlorhexidine-based
14 hand hygiene solutions: A cross-sectional survey. Am J Infect Control. 2019;47(8):933-
15 937.

16
17 Beck KM, Waisglass SE, Dick HLN, Weese JS. Prevalence of meticillin-resistant
18 *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) from skin and carriage sites of dogs after
19 treatment of their meticillin-resistant or meticillin-sensitive staphylococcal pyoderma.
20 Vet Dermatol. 2012;23(4):18-21.

21
22 Bloom P. Canine superficial bacterial folliculitis: current understanding of its etiology,
23 diagnosis and treatment. Vet J. 2014;199(2):217-222.

24
25 Borio S, Colombo S, Rosa GL, Lucia MD, Damborg P, Guardabassi L. Effectiveness
26 of a combined (4% chlorhexidine digluconate shampoo and solution) protocol in MRS
27 and non-MRS canine superficial pyoderma: a randomized, blinded, antibiotic-
28 controlled study. Vet dermatol. 2015;26(5):339-344.

29
30 Botoni LS, Filho NPR, Scherer CB, Braga L, Leme, FOP, Bicalho APCV. Piodermite
31 superficial canina por *Staphylococcus pseudintermedius* resistentes à meticilina.
32 MedVepDermato. 2014;3(10): 270–277.

1 Cain CL, Morris DO, O'Shea K, Rankin SC. Subspecies in Clinical Samples From
2 Dogs. Am J Vet Res. 2011;72(1):96-102.
3

4 Campbell KJ, Weisger R, Cross T. Effects of four antibacterial soaps/shampoos on
5 surface bacteria of the skin of dogs. in Proceedings, 11th Annual Meeting of the
6 American Association of Veterinary Dermatology. 1995; 43–44.
7

8 De Jaham C. Effects of an ethyl lactate shampoo in conjunction with a systemic
9 antibiotic in the treatment of canine superficial bacterial pyoderma in an open-label,
10 nonplacebo-controlled study. Vet Ther. 2003;4(1):1-8.
11

12 Fadok VA, Irwin K. Sodium Hypochlorite/Salicylic Acid Shampoo for Treatment of
13 Canine Staphylococcal Pyoderma. J Am Anim Hosp Assoc. 2019;55(3):117-123.
14

15 Fadok, VA. Seckerdieck F, Bensignor E, Noli C, Oliveira A, Mueller R. Topical
16 application of a proprietary blend of essential oils plant extracts (PYOspot) is
17 associated with fewer relapses of pyoderma. Abstracts from the 9th World Congress
18 of Veterinary Dermatology. Vet Dermatol. 2020;31(S1):75.
19

20 Farias MR, Solomon SEB. Piodermatite Canina. In: Megid J, Ribeiro MG Paes AC.
21 Doenças Infecciosas em animais de produção e de companhia. 1 ed. São Paulo: Roca.
22 2016:445-450.
23

24 Frank LA, Kania SA, Hnilica KA, Wilkers RP, Bemis DA. Isolation of *Staphylococcus*
25 *schleiferi* from dogs with pyoderma. J Am Vet Med Assoc. 2003;222(4)451-454.
26

27 Frosini SM, Bond R, Loeffler A, Lerner J. Opportunities for topical antimicrobial therapy:
28 permeation of canine skin by fusidic acid. BMC Vet Res. 2017;13(1):345.
29

30 Greco I, Emborg AP, Jana B, Molchanova N, Oddo A, Dambord P, Guardabassi L,
31 Hansen PR. Characterization, mechanism of action and optimization of activity of a
32 novel peptide-peptoid hybrid against bacterial pathogens involved in canine skin
33 infections. Sci Rep. 2019;9(1):3679.
34

1 Guaguere E. Topical treatment of canine and feline pyoderma. *Vet Dermatol.*
2 1996;7(3):145-151.
3

4 Guardabassi L, Loeber ME, Jacobson A. Transmission of multiple antimicrobial-
5 resistant *Staphylococcus intermedius* between dogs affected by deep pyoderma and
6 their owners. *Vet Microbiol.* 2004;98(1):23-7.
7

8 Guardabassi L, Houser GA, Frank LA, Papich MG. Guidelines for antimicrobial use in
9 dogs and cats. In: Guardabassi L, Jensen LB, Kruse H. *Guide to Antimicrobial use in*
10 *Animals.* Oxford: Blackwell Publishing. 2008:183-206.
11

12 Hillier A, Lloyd DH, Weese JS, Blondeau JM, Boothe D, Breitschwerdt E, Guardabassi
13 L, Papich MG, Rankin S, Turnidge JD, Sykes JE. Guidelines for the diagnosis and
14 antimicrobial therapy of canine superficial bacterial folliculitis (Antimicrobial Guidelines
15 Working Group of the International Society for Companion Animal Infectious
16 Diseases). *Vet Dermatol.* 2014;25(3):163-e43.
17

18 Horner C, Mawer D, Wilcox M. Reduced susceptibility to chlorhexidine in
19 staphylococci: is it increasing and does it matter? *J Antimicrob Chemother.*
20 2012;67(11):2547-2559.
21

22 Jarosiewicz M, Garbacz K, Neubauer D, Kamysz W. In Vitro Efficiency of Antimicrobial
23 Peptides against Staphylococcal Pathogens Associated with Canine Pyoderma.
24 *Animals.* 2020;10(3):470.
25

26 Jeffers JG. Topical therapy for drug-resistant pyoderma in small animals. *Vet Clin*
27 *North Am Small Anim Pract.* 2013;43(1):41-50.
28

29 Jones RD, Kania SA, Rohrback BW, Frank LA, Bemis DA. Prevalence of oxacillin- and
30 multidrug-resistant staphylococci in clinical samples from dogs: 1,772 Samples (2001-
31 2005). *J Am Vet Med Assoc.* 2007;230(2):221-227.
32

1 Kasai T, Saegusa S, Shirai M, Murakami M, Kato Y. New categories designated as
2 healthcare-associated and community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus*
3 *pseudintermedius* in dogs. Microbiol Immunol. 2016;60(8):540-551.
4
5 Khosravi AR, Shokri H, Fahmirad S. Efficacy of medicinal essential oils against
6 pathogenic *Malassezia sp.* isolates. J Mycol Med. 2016;26(1):28-34.
7
8 Kim SK, Guevarra RB, Kim YT, Kwon J, Kim H, Cho JH, Kim HB, Lee JH. Role of
9 Probiotics in Human Gut Microbiome-Associated Diseases. J Microbiol Biotechnol.
10 2019;29(9):1335-1340.
11
12 Kizerwetter-Świda M, Chrobak-Chmiel D, Rzewuska M. High-level mupirocin
13 resistance in methicillin-resistant staphylococci isolated from dogs and cats. BMC Vet
14 Res. 2019;15(1):238.
15
16 Latronico F, Moodley A, Nielsen SS, Guardabassi L. Enhanced adherence of
17 methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* sequence type 71 to canine
18 and human corneocytes. Vet Res. 2014;45(1):1-7.
19
20 Lim KS, Kam PCA. Chlorhexidine--pharmacology and clinical applications. Anaesth
21 Intensive Care. 2008;36(4):502-512.
22
23 Lim YJ, Hyun JE, Hwang CY. Identification of fusidic acid resistance in clinical isolates
24 of *Staphylococcus pseudintermedius* from dogs in Korea. Vet Dermatol.
25 2020;31(4):267-e62.
26
27 Liu C, Bayer A, Cosgrove SE et al. Clinical practice guidelines by the Infectious
28 Diseases Society of America for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus*
29 *aureus* infections in adults and children: executive summary. Clin Infect Dis 2011; 52:
30 285– 292.
31
32 Loeffler A, Baines SJ, Toleman MS, Felmingham D, Milsom SK, Edwards EA, Lloyd
33 DH. In vitro activity of fusidic acid and mupirocin against coagulase-positive
34 staphylococci from pets. J Antimicrob Chemother. 2008;62(6):1301-1304.

1
2 Loeffler A, Cobb MA, Bond R. Comparison of a chlorhexidine and a benzoyl peroxide
3 shampoo as sole treatment in canine superficial pyoderma. Vet Rec.
4 2011;169(10):249.
5
6 Loeffler A, Linek M, Guardabassi L, Sung JML, Winkler M, Weiss R, Lloyd DH. First
7 report of multiresistant, *mecA*-positive *Staphylococcus intermedius* in Europe: 12
8 Cases from a veterinary dermatology referral clinic in Germany. Vet Dermatol.
9 2007;18(6):412–421.
10
11 McCarthy JA, Harrison EM, Stanczak-Mrozek K, Leggett B, Waller A, Holmes MA,
12 Lloyd DH, Lindsay JA, Loeffler A. Genomic insights into the rapid emergence and
13 evolution of MDR in *Staphylococcus pseudintermedius*. J Antimicrob Chemother.
14 2014;70(4):997-1007.
15
16 McDonnell G, Russell D. Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action, and
17 Resistance. Clin Microbiol Ver. 1999;12(1):147-179.
18
19 Mekonnen A, Tesfaye S, Christos SG, Dires K, Zenebe T, Zegeye N, Shiferaw Y,
20 Lulekal E. Evaluation of Skin Irritation and Acute and Subacute Oral Toxicity of
21 *Lavandula angustifolia* Essential Oils in Rabbit and Mice. J Toxicol. 2019;2019:
22 5979546.
23
24 Mercer DK, O’Neil DA. Peptides as the next generation of anti-infectives. Future Med
25 Chem. 2013;5(3):315-17.
26
27 Meroni G, Cardin E, Rendina C, Millar VRHM, Filipe JFSF, Martino PA. In vitro efficacy
28 of essential oils from *melaleuca alternifolia* and *rosmarinus officinalis*, manuka honey-
29 based gel, and propolis as antibacterial agents against canine *Staphylococcus*
30 *pseudintermedius* strains. Antibiotics. 2020;9(6):1-14.
31
32 Meucci V, Vanni M, Guardabassi L, Moodley A, Soldani G, Intorre L. Evaluation of
33 methicillin resistance in *Staphylococcus intermedius* isolated from dogs. Vet Res
34 Commun. 2010;34(1):S79-82.

1
2 Morris DO, Loeffler A, Davis MF, Guardabassi L, Weese JS. Recommendations for
3 approaches to methicillin-resistant staphylococcal infections of small animals:
4 diagnosis, therapeutic considerations and preventative measures. *Vet Dermatol.* 2017;
5 28 (3), 304-69.
6
7 Mueller RS, Bergvall K, Bensignor E, Bond R. A review of topical therapy for skin
8 infections with bacteria and yeast. *Vet Dermatol.* 2012;23(4):330-41.
9
10 Murayama N, Nagata M, Terada Y, Shibata S, Fukata T. Efficacy of a surgical scrub
11 including 2% chlorhexidine acetate for canine superficial pyoderma. *Vet Dermatol.*
12 2010;21(6):586-92.
13
14 Naidoo J, Lloyd DH. Transmission of genes between staphylococci. *Antimicrobials &*
15 *Agriculture* 3th ed. Londres:Woodline;1984:285-292.
16
17 Nocera FP, Mancini S, Najjar B, Bertelloni F, Pistelli L, Filippis A, De Fiorito F, De
18 Martino L, Fratini F. Antimicrobial activity of some essential oils against methicilin-
19 susceptible and methicilin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* associated
20 pyoderma in dogs. *Animals.* 2020;10(10): 1-12.
21
22 Ohta S. Studies on resistant mechanism in the resistant bacteria to chlorhexidine. II.
23 Chemical components of the cell membrane and the electron microscopical
24 observation of cell surface structure of chlorhexidine resistant bacteria. *J Pharm*
25 *Soc Jpn.* 1990; 110: 414–25.
26
27 Parenti MA, Hatfield SM, Leyden JJ. Mupirocin: a topical antibiotic with a unique
28 structure and mechanism of action. *Cin Pharm.* 1987; 6(10):761-70.
29
30 Prottey C, D George D, Leech RW, Black JG, Howes D, Vickers CF. *Br J Dermatol.*
31 1984;110(4):475-85.
32
33 Ray P, Singh S, Gupta S. Topical Antimicrobial Therapy: Current Status and
34 Challenges. *Indian J. Med. Microbiol.* 2019;37(3):299-308.

1
2 Sakkas H, Papadopoulou C. Antimicrobial Activity of Basil, Oregano, and Thyme
3 Essential Oils. J Microbiol Biotechnol. 2017;27(3):429-438.
4
5 Santoro D, Fagman L, Zhang Y, Fahong Y. Clinical efficacy of spray-based heat-
6 treated lactobacilli in canine atopic dermatitis: a preliminary, open-label, uncontrolled
7 study. Vet Dermatol. 2021;32(2):114-e23.
8
9 Sarao LK, Arora S. Probiotics, prebiotics, and microencapsulation: A review. Crit Rev
10 Food Sci Nutr. 2017;57(2):344-371.
11
12 Shin B, Park W. Zoonotic diseases and phytochemical medicines for microbial
13 infections in veterinary science: current state and future perspective. Frontiers in Vet
14 Sci. 2018;5(7):1-9.
15
16 Soedarmanto J, Kanbar T, Ülbegi-Mohyla H, Hijazin M, Alber J, Lämmler C, Akineden
17 Ö, Weiss R, Moritz A, Zschöck M. Genetic relatedness of methicillin-resistant
18 *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) isolated from a dog and the dog owner.
19 Res Vet Sci. 2011;91(3):e25–e27.
20
21 Solomon SEB, Farias MR, Pimão CT, Myasava S, Oliveira TV. Piodermite bacteriana
22 em cães com dermatite atópica - Revisão de literatura. MedVepDermato.
23 2010;1(1):57-62.
24
25 Stegmann R, Burnens A, Maranta CA, Perreten V. Human infection associated with
26 methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* ST71. J Antimicrob Chemother.
27 2010;65(9):2047-8.
28
29 Valdivieso-Ugarte M, Gomez-Llorente C, Plaza-Díaz J, Gil A. Antimicrobial,
30 Antioxidant, and Immunomodulatory Properties of Essential Oils: A Systematic
31 Review. Nutrients. 2019;11(11):2786.
32
33 Verbist L. The antimicrobial activity of fusidic acid. J Antimicrob Chemother. 1990; 25
34 Suppl B:1-5.

1

2 Vinderola G, Sanders ME, Salminen S. The Concept of Postbiotics. *Foods*.
3 2022;11(8):1077.

4

5 Werner AH, Russell AD. Mupirocin, fusidic acid and bacitracin: activity, action and
6 clinical uses of three topical antibiotics. *Vet Dermatol* 1999;10:225–40.

7

8 Wesse JS, Van Duijkeren E. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and
9 *Staphylococcus pseudintermedius* in veterinary medicine. *Vet. Microbiol.* 2010;140(3-
10 4): 418-429.

11

12 Żółkiewicz J, Marzec A, Ruszczyński M, Feleszko W. Postbiotics-A Step Beyond Pre-
13 and Probiotics. *Nutrients*. 2020;12(8):2189.

CAPÍTULO 2

Artigo científico a ser submetido para a revista científica de publicação periódica *Veterinary Dermatology*

Estudo comparativo da eficácia de um tratamento tópico natural e terapias
convencionais de cefalexina oral e clorexidina-miconazol tópico em cães com
piodermite superficial

Vanessa Cunningham Gmyterco¹, Fernando Bittencourt Luciano¹, Tássia Sell
Ferreira¹, Lucas Ludwig¹, Alberto Gonçalves Evangelista¹, Marconi Rodrigues de
Farias¹

¹Department of Veterinary Medicine, School of Medicine and Life Sciences, Pontifícia
Universidade Católica do Paraná, 1155 Imaculada Conceição Street, Curitiba-PR,
80215901, Brazil.

O presente trabalho foi realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional
de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - Brasil (CNPq) e da empresa *Wesen
Green Solutions Ltda*[®]. *This study was financed in by the Conselho Nacional de
Desenvolvimento Científico e Tecnológico - Brasil (CNPq) and the company Wesen
Green Solutions Ltda*[®].

Conflito de interesses: Não declarado

Introdução – Cepas resistentes à meticilina surgiram como um problema significativo
no tratamento de infecções em cães, tornando crescente o interesse por produtos
naturais com propriedades antimicrobianas na medicina veterinária.

Objetivos – Avaliar a eficácia, segurança, efeitos cosméticos indesejáveis, facilidade
de aplicação e as impressões dos responsáveis a terapia tópica contendo
antimicrobianos naturais no tratamento de cães com piodermite superficiais.

Materiais e métodos – 45 cães com piodermite superficial foram divididos em três
grupos de 15 cães. Foi realizado citopatológico, cultura microbiológica, perfil de
sensibilidade à antimicrobianos e identificação microbiana utilizando MALDI-TOF-MS
dos isolados. O Grupo 1 (G1) foi tratado com produtos antimicrobianos naturais

1 (Wesen Green®) em forma de xampu e loção; Grupo 2 (G2) foi tratado com xampu de
2 clorexidina com miconazol e o Grupo 3 (G3) foi tratado com cefalexina oral 30 mg/kg.
3 Escores pVAS e lesional foram avaliados nos dias 0, 7, 14, 21 e 28. Os dados foram
4 avaliados por meio de ANOVA seguido do teste de Tuckey, considerando $p < 0,05$.
5 **Resultados** – Foi observada diferença estatística ($p < 0,05$) entre D0 e D28 nos valores
6 de pVAS e escore lesional dos pacientes dos três grupos. No D7 e D14 os escores de
7 pVAS do Grupo 1 foram estatisticamente superiores aos demais grupos. No D28 não
8 houve diferença estatística entre os escores lesionais e de prurido entre Grupo 1 e
9 Grupo 3. O Grupo 2 apresentou resultado estatisticamente inferior aos demais grupos
10 na avaliação de eficácia. No Grupo 1 não foram registrados efeitos adversos à terapia
11 testada e 93,33% dos responsáveis classificaram a aplicação como fácil, sendo a
12 impressão geral do produto classificada como excelente ou muito boa por 73,3% e
13 13,3%, respectivamente. No Grupo 3, 26% dos pacientes apresentaram efeitos
14 adversos gastrointestinais durante a terapia.

15 **Conclusões e relevância clínica** – A linha contendo antimicrobianos naturais (G1) é
16 eficaz e segura e, portanto, uma promissora terapia tópica antimicrobiana natural para
17 controle de piodermites superficiais em cães e potencial substituta a terapias
18 antimicrobianas orais e antissépticas convencionais.

19 **Palavras-chave:** Foliculite bacteriana; Extratos vegetais; Óleos essenciais; Peptídeos
20 antimicrobianos; *Staphylococcus*.

21

22 1 INTRODUÇÃO

23

24 As infecções bacterianas tegumentares superficiais são as dermatopatias mais
25 frequentes dos cães, geralmente causadas pelo *Staphylococcus pseudintermedius*, e
26 se caracterizam pela infecção da epiderme ou da unidade pilo-sebácea, tendo
27 geralmente caráter secundário às doenças alérgico-inflamatórias tegumentares,
28 parasitárias, disqueratóticas, displásicas e de origem endócrina (Solomon et al., 2010;
29 Botoni et al., 2014).

30 No passado, a maior parte das cepas isoladas de *Staphylococcus*
31 *pseudintermedius* eram suscetíveis aos antibióticos β -lactâmicos (Loeffler et al., 2007).
32 No entanto, há mais de uma década, cepas resistentes à meticilina/oxacilina surgiram
33 como um problema significativo no tratamento de infecções em animais de estimação

1 (Weese e Van Duijkern, 2010). A resistência estafilocócica à meticilina ou oxacilina
2 confere afinidade reduzida para todos os antimicrobianos β -lactâmicos (Loeffler et al.,
3 2007; Weese e Van Duijkern, 2010) e podem co-expressar resistência a várias outras
4 classes de antimicrobianos, o que diminui significativamente as opções terapêuticas
5 (Beck et al., 2012). Também é importante ressaltar que tratamentos repetidos com
6 antibióticos aumentam o risco de seleção de bactérias multirresistentes e podem
7 representar um risco de saúde pública (Soedarmanto et al., 2011; Kasai et al., 2016).

8 Essas preocupações tornaram crescente o interesse por produtos naturais com
9 propriedades antimicrobianas na medicina e na medicina veterinária (Shin e Park,
10 2018). Nos últimos anos, o uso de óleos essenciais se tornou uma ferramenta
11 terapêutica alternativa promissora em doenças de pele como a piodermite e
12 malasseziose em cães (Khosravi et al., 2016; Nocera et al., 2020). As propriedades
13 antibacterianas dos óleos essenciais foram demonstradas contra o *S.*
14 *pseudintermedius* em *in vivo*, e o uso de óleos essenciais (melaleuca, alecrim,
15 lavandim, eucalipto-cidró, palmarosa) e ácidos graxos (ômega 3 e ômega 6) reduziu
16 significativamente episódios de recorrências de infecções tegumentares (Fadok et al.,
17 2020; Meroni et al.,2020).

18 Em adição, também tem sido demonstrado que dois peptídeos antimicrobianos
19 sintéticos foram eficazes como tratamento tópico de infecções por *S.*
20 *pseudintermedius* (Mercer e O'Neil, 2013; Greco et al.,2019).

21 Entretanto, estudos *in vivo* realizados de forma crítica são necessários para
22 caracterizar a eficácia, segurança e formas de utilização de produtos contendo
23 antimicrobianos naturais (Fadok et al., 2020; Meroni et al., 2020).

24 O objetivo do presente estudo foi avaliar, de forma comparada, a eficácia, a
25 segurança e o tempo de tratamento de fórmulas dermatológicas contendo
26 antimicrobianos naturais, com a clorexidina associada ao miconazol e a terapia
27 antibiótica sistêmica, no tratamento de cães com piodermite superficiais.

28

29 **2 MATERIAL E MÉTODOS**

30

31 **2.1 Comitê de ética**

32

1 O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética para Uso Animal (CEUA)
2 da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), sob protocolo de número
3 02081-versão I (Anexo 1). Foram incluídos no estudo animais cujos proprietários
4 anuíram com os procedimentos e assinaram o termo de consentimento de uso animal.
5

6 **2.2 Tipo de estudo**

7
8 Foi realizado um estudo longitudinal e aleatorizado por sorteio em cães com
9 diagnóstico definitivo de piodermite, atendidos na Clínica Veterinária Escola–PUCPR.
10

11 **2.3 Grupos de estudo**

12
13 Foram selecionados para o estudo 45 cães com diagnóstico de piodermite
14 superficial bacteriana a partir da rotina do Serviço de Dermatologia e Alergia
15 Veterinária da Clínica Veterinária Escola (CVE) da PUCPR. O diagnóstico inicial foi
16 estabelecido por meio do quadro sintômato-lesional, associado a exame
17 citopatológico tegumentar e cultura bacteriana.

18 Para realização do presente estudo foram estabelecidos três grupos
19 experimentais.

20 Grupo 1: Composto por 15 cães com infecção tegumentar da epiderme
21 (impetigo) e foliculares (foliculite) tratados com os produtos testes;

22 Grupo 2: Composto por 15 cães com infecção tegumentar da epiderme
23 (impetigo) e foliculares (foliculite) tratados com terapia tópica antisséptica
24 convencional a base de clorexidina a 2% e miconazol a 2,5%;

25 Grupo 3: Composto por 15 cães com infecção tegumentar da epiderme
26 (impetigo) e foliculares (foliculite) tratados com terapia antibiótica sistêmica com
27 cefalexina na dose de 30 mg/kg, BID, por via oral.
28

29 **2.3.1 Critérios de exclusão**

30
31 Foram excluídos do estudo animais que apresentaram apenas diagnóstico
32 presuntivo de piodermite, animais com doenças sistêmicas graves, animais que
33 apresentaram efeitos adversos graves com a terapia experimental ou que

1 apresentaram comorbidades dermatológicas e sistêmicas que impossibilitaram a
2 prescrição da terapia proposta.

3

4 **2.4 Protocolo experimental**

5

6 **2.4.1 Avaliação clínica e dermatológica**

7

8 Os animais selecionados para participar do estudo apresentaram piodermite
9 superficial de ocorrência natural e foram provenientes do atendimento da Clínica
10 Veterinária Escola da PUCPR.

11 A avaliação desses animais incluiu a inspeção direta do tegumento, nos quais
12 foram avaliados e registrados os aspectos clínicos lesionais caracterizados por
13 pústulas, crostas melicéricas e colarinhos epidérmicos nos casos de impetigo; e
14 eriçamento piloso, hipotricose/alopecia, pústulas ou pápulo-crostas foliculocêntricas,
15 em casos de foliculite. A distribuição topográfica lesional foi registrada em mapa
16 dermatográfico específico e todos os dados do exame clínico documentados em
17 prontuário.

18

19 **2.4.2 Diagnóstico citológico**

20

21 Todos os cães eram submetidos ao exame citológico, coletado por ruptura e
22 impressão pustular, ou com fita adesiva transparente a partir de lesões secundárias,
23 como as crostas melicéricas e os colarinhos epidérmicos. Após a colheita, as lâminas
24 com as respectivas amostras colhidas foram fixadas e com corante hematológico
25 (Panótico rápido®, NewProw, Pinhais, Brasil). A presença de bactérias de aspectos
26 cocoides extracelulares subsidiou o diagnóstico presuntivo de infecção tegumentar e,
27 quando associado a presença de células inflamatórias e cocos intracelulares, a
28 infecção foi confirmada. A ausência ou escassez de bactérias, células inflamatórias
29 ou cocos intracelulares não excluía o diagnóstico de piodermite.

30

31 **2.4.3 Cultura bacteriana e antibiograma**

32

33 Após avaliação clínica, se realizava o rompimento de pústulas íntegras com
34 auxílio de uma agulha estéril (25x5,5mm) e o conteúdo purulento era imediatamente

1 colhido por swab estéril e acondicionado em meio Stuart (Oxoid®), substrato não-
2 nutricional utilizado para conservação bacteriana. Na ausência de pústulas intactas,
3 foi coletado material de colarinhos epidérmicos, ou crostas melicéricas, por fricção de
4 swab umedecido em solução salina estéreis. O processamento das amostras foi
5 realizado no laboratório de Microbiologia da Clínica Veterinária Escola na Pontifícia
6 Universidade Católica do Paraná.

7 As culturas foram feitas em Ágar Sangue, meio enriquecido com sangue de
8 cordeiro a 5% e adequado para o crescimento da maior parte das espécies
9 bacterianas e em Agar MacConkey para bactérias gram negativas.

10 A cultura nos meios foi realizada em uma capela de fluxo laminar e as placas
11 inoculadas foram mantidas em estufa a 37°C, por 24 h. Foram consideradas negativas
12 as culturas nas quais não houve crescimento em um período de 48 horas.

13 Após o crescimento das colônias, procedeu-se sua identificação baseado na
14 morfologia, densidade, consistência, odor, cor das colônias e presença ou não de
15 hemólise (alpha, beta ou gamma). Também se considerou para a identificação as
16 características tintoriais pela coloração de Gram e a micromorfologia como coco,
17 bacilo ou bastonete, e arranjos. Ainda no processo de identificação, as colônias foram
18 submetidas a provas enzimáticas (catalase, oxidase e coagulase).

19 As culturas que resultaram positivas para *Staphylococcus* spp. foram cultivadas
20 em Agar com Manitol para a diferenciação em *Staphylococcus aureus* e
21 *Staphylococcus pseudintermedius*. Neste meio de cultivo, as colônias de *S. aureus* e
22 o meio ao redor ficam de cor amarelo.

23 Para realização do teste de sensibilidade aos antimicrobianos foi utilizada a
24 técnica de difusão de discos por meio da avaliação dos diâmetros dos halos de
25 inibição ao redor do disco, medido em milímetros com auxílio de uma régua. A
26 sensibilidade foi determinada a partir da comparação dos diâmetros do halo, dividida
27 em três categorias: sensível dose padrão (S), parcialmente sensível (PS) e resistente
28 (R) (CSLI, 2018; Mímica et al., 2005).

29 Para o teste de sensibilidade, foram utilizados antimicrobianos dos seguintes
30 grupos: 1) penicilinas (amoxicilina com ácido clavulânico 30 µg e oxacilina 5 µg), 2)
31 cefalosporinas (cefalexina 30 µg e cefovecina 30 µg), 3) fluoroquinolonas
32 (enrofloxacina 5 µg, marbofloxacina 5 µg norfloxacina 10 µg), 4) lincosaminas
33 (clindamicina 2 µg), 5) macrolídeos (eritromicina 15 µg) e 6) tetraciclinas (doxiciclina
34 30 µg) (Trabulsi et al., 2005). Os isolados foram considerados multirresistentes

1 quando apresentaram resistência a pelo menos um antimicrobiano de três ou mais
2 diferentes classes (Magiorakos et al., 2012).

3 Também foi calculado o índice de resistência múltipla aos antimicrobianos
4 (IRMA) conforme metodologia descrita por Kruperman (1983), sendo este índice
5 determinado pela relação entre o número de antimicrobianos que a amostra é
6 resistente e o número total de antimicrobianos testados, considerando-se valores
7 iguais ou superiores a 0,2 como indicativos de resistência múltipla.

8 A fim da realização em um único momento das provas genômicas, os agentes
9 isolados em placas ágar sangue foram submetidos a procedimento para conservação
10 do microrganismo isolado (estoque de cepas). Todos os agentes isolados foram
11 armazenados em eppendorf, mantidos congelados (-1 a -4°C) até completado o
12 número amostral.

13

14 **2.4.4 Identificação microbiana por MALDI-TOF MS**

15

16 Para identificação de gênero e espécie dos isolados foi utilizada a técnica
17 MALDI-TOF MS. As bactérias estocadas foram reisoladas em placas de ágar sangue
18 e mantidas em temperatura de 37°C durante 24h, as quais foram encaminhadas para
19 o Laboratório de Análises Clínicas – LANAC para realização de exame de
20 espectrometria de massa MALDI-TOF para identificação de gênero e espécie dos
21 isolados.

22 Para identificação dos isolados foi utilizado o equipamento MALDI-TOF Bruker
23 MALDI Biotyper®. A técnica de “na extração de ácido fórmico do tubo” foi realizada
24 adicionando uma ou duas colônias a um tubo de microcentrífuga contendo 300 µl de
25 água desionizada de grau HPLC. A suspensão foi misturada completamente por
26 pipetagem e 900 µl de etanol absoluto foram adicionados e misturados completamente
27 novamente. Após uma centrifugação de 2 minutos a 13.000 rpm, o sobrenadante foi
28 descartado e 50 µl de ácido fórmico a 70% foram adicionados ao sedimento e vórtice,
29 seguido da adição de 50 µl de 100% de acetonitrila, seguidos por uma centrifugação
30 de 2 minutos a 13 000 rpm. Um volume de 1 µl de sobrenadante foi adicionado ao
31 slide alvo e seco à temperatura ambiente, seguido na mais 1 µl da matriz HCCA
32 aplicado no ponto da amostra e seco à temperatura ambiente (Lévesque et al., 2015).

33 Cada microrganismo testado foi manchado duas vezes na mesma lâmina alvo.
34 A medição foi realizada em um MALDI Biotyper usando as configurações sugeridas

1 pelo fabricante usando espectros de coleta automatizados. Os espectros capturados
2 foram analisados usando o controle de automação MALDI Biotyper e o software
3 Bruker Biotyper 3.1 contendo o número da biblioteca 3995. Para cada execução, um
4 padrão (padrão de teste bacteriano, Bruker Daltonics) foi incluído para calibrar o
5 instrumento e validar a execução. Os critérios de identificação foram usados conforme
6 recomendado pelo fabricante: uma pontuação ≥ 2.000 indicava identificação em nível
7 de espécie, uma pontuação entre 1.700 e 1.999 indicava identificação em nível de
8 gênero e uma pontuação < 1.700 era interpretada como nenhuma identificação. Para
9 as bactérias, se uma boa identificação não foi obtida com a técnica de colônia direta,
10 o depósito posterior foi feito com a técnica de extração de ácido fórmico em lâmina,
11 seguida da técnica de extração de ácido fórmico em tubo (Lévesque et al., 2015).

12

13 **2.5 Tratamento experimental**

14

15 Os tratamentos nos distintos grupos foram realizados das seguintes formas:

16 Grupo 1: submetidos a tratamento exclusivo com o produto teste a base de
17 loção, a cada 12 horas, durante 28 dias. Concomitantemente, banhos e xampu teste
18 foram realizados a cada três ou quatro dias, durante 14 dias e, posteriormente, a cada
19 sete dias, durante os 14 dias restantes.

20 Grupo 2: submetidos exclusivamente a terapia tópica antisséptica com xampu
21 a base de clorexidina a 2% e miconazol a 2,5% (Cloresten®) a cada quatro dias,
22 durante 14 dias e, posteriormente, a cada sete dias, durante os 14 dias restantes.

23 Grupo 3: foram tratados exclusivamente com cefalexina oral, na dose de
24 30mg/kg/BID/VO, durante 28 dias.

25 Para o tratamento do Grupo 1 foram utilizadas formulações dermatológicas em
26 xampu contendo antimicrobianos naturais (óleo essencial de limão siciliano, peptídeos
27 antimicrobianos e extrato vegetal de lúpulo) e loção (óleo essencial de limão siciliano,
28 peptídeos antimicrobianos e extrato vegetal de lúpulo), fabricados pela empresa
29 Wesen Green Solutions®. A composição exata não foi fornecida, devido termo de
30 confidencialidade.

31 A aplicação dos produtos tópicos a base de xampu nos animais foi realizada
32 manualmente em quantidade suficiente para espalhar por toda a superfície corpórea,
33 massageando suavemente, tomando os devidos cuidados com a região ocular e oral.
34 Os responsáveis foram sempre orientados a tosar o animal ou manter o pelo mais

1 curto. Para os banhos foi recomendado umedecer completamente toda a pelagem e
2 pele do paciente com os produtos tópicos, sendo aplicado e distribuído a favor e
3 contrariamente ao sentido de crescimento dos pelos, para facilitar a dispersão na pele,
4 deixando agir o produto durante 10 minutos, antes do enxágue com água morna.

5 O tratamento dos animais do Grupo 2 seguiu o mesmo padrão de execução.

6 A aplicação dos produtos tópicos a base loção foi realizada manualmente em
7 quantidade suficiente para espalhar por todos os locais onde havia lesões,
8 massageando suavemente até total dispersão, e tomando os devidos cuidados com a
9 região ocular e oral. Os responsáveis foram sempre orientados a não realizar enxágue
10 após a utilização da loção.

13 **2.6 Avaliações de Eficácia e Segurança**

15 Todos os cães com piodermite foram avaliados a cada sete dias, perfazendo
16 cinco momentos: dia 0, dia 7, dia 14, dia 21, e dia 28.

18 **2.6.1 Análises de Eficácia**

20 Desde o primeiro momento os animais dos três grupos foram avaliados por
21 meio de exame clínico e dermatológico completo e seus proprietários foram
22 questionados com relação ao prurido e a saúde geral do paciente. Em seguida foram
23 instruídos a marcar um valor na escala visual analógica do prurido (*pVAS - Pruritus*
24 *Visual Analogue Scale*), padronizada por Rybniceck et al. (2009), onde 0 significa
25 prurido inexistente e 10 significa prurido intenso que impede animal de realizar
26 atividades fisiológicas (Anexo 2).

27 A partir da primeira avaliação e depois, semanalmente, foram avaliadas a
28 presença de pápulas, pápulo-crostas, pústulas, eritema, hipotricose, alopecia,
29 colarinhos epidérmicos, crostas melicéricas e escoriações. As lesões dermatológicas
30 foram registradas e um escore lesional numérico, com variação de 0 a 4, modificado
31 de Solomon et al. (2016), foi estabelecido em cada momento. O escore total de cada
32 semana era obtido através da somatória de escores em quatro locais específicos
33 (região crânio-cervical, tronco, região ventral e membros) (Tabela 2.1).

1 **Tabela 2.1** Escores lesionais a partir das regiões cervical, tronco, superfícies
2 axilares e abdomino- inguinal e membros (modificado de Solomon et al., 2016).

Escore	Total de lesões
0	Sem lesões
1	1 a 5 lesões
2	5 a 10 lesões
3	10 a 15 lesões
4	Acima de 15 lesões

3

4 **2.6.2 Melhora clínica**

5

6 A melhora clínica, ao final do tratamento, foi avaliada de acordo com os escores
7 lesionais em cada momento, associado a avaliação da escala *pVAS*, a qual foi
8 escoriada como: (a)- sem melhora; (b)- minimização até 50%: regular; (c)-
9 minimização de 50,1 a 80%: boa (d)- minimização de 80,1- 90%: muito boa e (e)-
10 minimização do prurido acima de 90%: excelente (Pucheu-Haston et al.,2015).

11

12 **2.6.3 Análises de Segurança**

13

14 Na avaliação de segurança, após a utilização dos produtos, em cada grupo,
15 foram avaliados o aparecimento de eritema, eritrodermia, prurido, escoriações,
16 crostas, inquietude, dor, intensificação de sinais clínicos, relutância do animal ao uso,
17 indução de lambedura excessiva, sialorreia, lesão de mucosas e vômitos após
18 ingestão por lambedura.

19

20 **2.6.4 Efeitos cosméticos e facilidade de aplicação**

21

22 Efeitos cosméticos indesejáveis foram avaliados pelo responsável ao final do
23 tratamento a partir da presença resíduos após o uso, untuosidade da pelagem e
24 indução de odor. Também, foi avaliada a impressão do responsável em relação ao
25 produto (excelente/muito bom/bom/regular/insatisfatório).

26 Quanto a facilidade de aplicação, os responsáveis responderam se a aplicação
27 dos produtos tópicos foi fácil, moderadamente fácil, moderadamente difícil ou difícil.

28

29 **2.7 Análise estatística**

30

1 Os dados demográficos dos animais incluídos no estudo, bem como os
2 resultados dos cultivos microbiológicos, seus respectivos perfis antimicrobianos e
3 identificação da espécie por meio de MALDI-TOF-MS foram apresentados de forma
4 descritiva em percentual e média. As variáveis incluídas foram raça, idade, gênero,
5 doenças concomitantes, bactérias isoladas em cultivo microbiológico, perfil de
6 suscetibilidade aos antimicrobianos testados e espécies identificadas.

7 O teste de Shapiro-Wilk foi realizado para testar a normalidade dos dados da
8 escala pVAS e escore lesional. Para avaliação de eficácia foi realizada análise de
9 variância simples (one-way ANOVA), seguido do teste de Tuckey, tendo como variável
10 explanatória o protocolo terapêutico realizado e como variáveis de resposta os dados
11 ordinais das escalas pVAS e de escore lesional.

12 Os dados relacionados a perspectiva do responsável em relação a terapia
13 tópica, facilidade de aplicação e avaliação de segurança foram apresentados
14 descritivamente por meio de percentuais.

15 O software utilizado foi o Graphpad Prism versão 9, Dotmatics, San Diego,
16 California, USA, considerando intervalo de confiança de 95% e nível de significância
17 de 5% ($p < 0,05$).

18 19 **3 RESULTADOS**

20 21 **3.1 Dados demográficos**

22
23 Dos 45 animais incluídos no estudo, 26 (57,8%) eram fêmeas e 19 (42,2%)
24 eram machos, sendo que a idade dos cães variou de cinco meses a 14 anos. A idade
25 média dos pacientes incluídos foi de 6,4 anos.

26 Com relação à raça, dos 45 cães, 31 (68,88%) eram de raça definida e 14
27 (31,11%) eram mestiços. Shih tzu foi a raça mais frequente, totalizando 10 animais
28 (22,22%), seguido da raça Yorkshire Terrier, totalizando 7 cães (15,5%), Lhasa Apso
29 e American Bully com 3 (6,66%) e 2 (4,44%) cães, respectivamente. Os dados
30 demográficos dos animais incluídos em cada grupo de estudo estão apresentados na
31 Tabela 2.2

32
33 **Tabela 2.2** Dados demográficos dos animais incluídos no estudo, sendo Grupo
34 1:animais submetidos a terapia com antimicrobianos naturais; Grupo 2: animais

1 submetidos a terapia com clorexidina e miconazol e Grupo 3: animais submetidos a
 2 terapia com cefalexina oral.

Variável	Grupo 1 (n=15)	Grupo 2 (n=15)	Grupo 3 (n=15)
Idade (Anos)			
Média	4,53	7	7,33
Desvio padrão	3,52	4,22	3,67
Raça			
Mestiços	2 (13,33%)	8 (53,33%)	4 (26,6%)
Shih-tzu	3 (20%)	5 (33,33%)	2 (13,33%)
Yorkshire Terrier	1 (6,66%)	2 (13,33%)	4 (26,6%)
Lhasa apso	2 (13,33%)	0	1 (6,66%)
American bully	2 (13,33%)	0	0
Bulldogue francês	1 (6,66%)	0	0
Bull terrier	0	0	1 (6,66%)
Maltês	1 (6,66%)	0	0
Labrador	0	0	1 (6,66%)
Pinscher	1 (6,66%)	0	0
Pitbull	1 (6,66%)	0	0
Poodle	0	0	1 (6,66%)
Pug	0	0	1 (6,66%)
Schnauzer	1 (6,66%)	0	0
Sexo			
Macho	7 (53,33%)	4 (26,66%)	8 (46,66%)
Fêmea	8 (46,66%)	11 (73,33%)	7 (53,33%)
Estado reprodutivo			
Castrado	12 (80%)	11 (73,33%)	13 (86,66%)
Não castrado	3 (20%)	4 (26,66%)	2 (13,33%)

3
 4 Dos 45 animais incluídos no estudo, 38 (84,44%) já haviam sido submetidos a
 5 terapia pregressa com antibióticos sistêmicos de diferentes classes para tratamento
 6 de infecções tegumentares, sendo que, destes, 11 (28,9%) foram tratados com
 7 antibióticos sistêmicos mais de três vezes nos últimos doze meses e apenas sete cães
 8 (15,55%) não haviam sido submetidos a terapia antibiótica sistêmica para infecções
 9 tegumentares em nenhum outro momento da vida.

11 3.2 Apresentação clínica

12
 13 Quanto à apresentação clínica das lesões observadas, nos 45 pacientes
 14 incluídos, 32 (71,11%) apresentaram crostas melicéricas, 31 (68,88%) colarinhos
 15 epidérmicos, 16 (35,55%) pápulas e 14 (31,11%) hipotricose/alopecia. Pústulas
 16 íntegras foram observadas em 12 (26,66%) pacientes. A topografia lesional dos 45
 17 pacientes está apresentada na Figura 2.1.

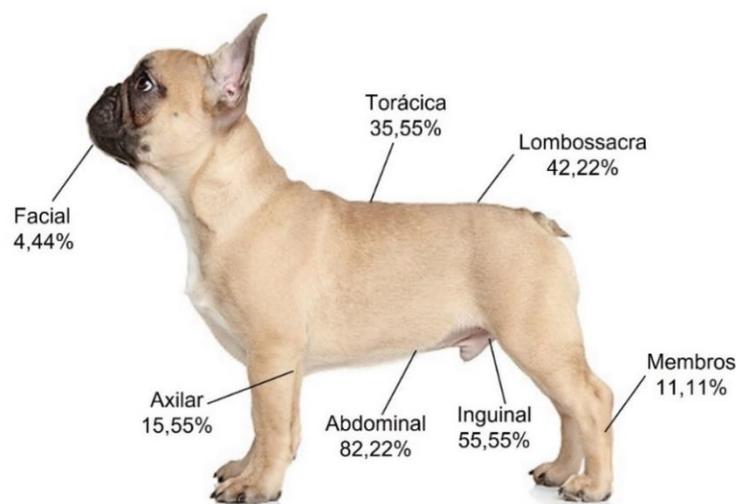


Figura 2.1. Regiões de mais frequente acometimento nos 45 pacientes incluídos no estudo. Fonte: elaborada pelo autor, 2023.

3.3 Causa de base das piodermites

Doenças alérgico-inflamatórias como a dermatite atópica e a hipersensibilidade alimentar foram as principais causas de base, diagnosticadas em 41 (91,11%) dos 45 cães do estudo. As demais causas de base estabelecidas foram hipercortisolismo primário (Síndrome de Cushing) em 3 cães (6,66%) e distúrbios primários de queratinização em 1 cão (2,22%). Ademais, responsáveis por sete cães (15,5%) relataram uso frequente e/ou intermitente de glicocorticoides para controle dos quadros alérgicos.

3.4 Cultura bacteriana e antibiograma

Em todos os cães incluídos no estudo foi isolada a bactéria *Staphylococcus* spp como agente etiológico associado à piodermite. A sensibilidade estafilocócica aos antibióticos testados está apresentada na Tabela 2.3.

Tabela 2.3 Perfil de sensibilidade a antibióticos dos 45 isolados de *Staphylococcus* spp obtidos dos pacientes incluídos no estudo.

Antimicrobiano	S (%)	PS (%)	R (%)
Oxacilina	41 (91,1%)	0	4 (8,9%)
Cefalexina	39 (86,7%)	1 (2,2%)	5 (11,1%)
Cefovecina	39 (86,7%)	0	6 (13,3%)
Amoxicilina com clavulanato	39 (86,7%)	0	6 (13,3%)
Doxiciclina	30 (66,7%)	4 (8,9%)	11 (24,4%)

Marbofloxacina	28 (62,2%)	3 (6,7%)	14 (31,1%)
Norfloxacina	28 (62,2%)	3 (6,7%)	14 (31,1%)
Enrofloxacina	25 (55,5%)	6 (13,3%)	14 (31,1%)
Eritromicina	23 (51,1%)	9 (20%)	13 (28,9%)
Clindamicina	19 (42,2%)	11 (24,4%)	15 (33,3%)

S: sensível, PS: parcialmente sensível, R: resistente.

3.5 Identificação microbiana por MALDI-TOF-MS

Dos 45 isolados submetidos a MALDI-TOF MS, 36 (80%) isolados foram identificados como *Staphylococcus pseudintermedius*, 8 (17,77%) como *Staphylococcus schleiferi* e 1 (2,22%) como *Staphylococcus caprae*. O Gráfico 2.1 sumariza a frequência de isolados de cada espécie.

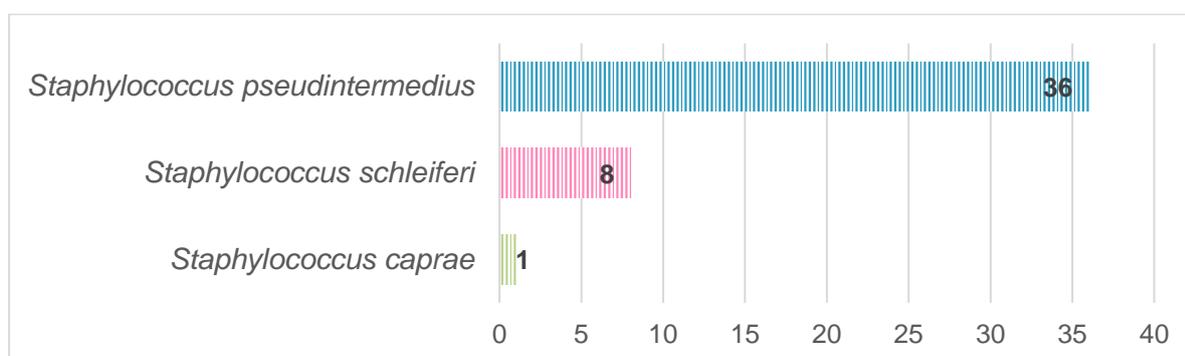


Gráfico 2.1 Frequência de isolados de espécies de *Staphylococcus spp.* identificados pela técnica do MALDI-TOF MS em 45 amostras de cães com piodermite atendidos na Clínica Veterinária Escola – PUCPR (Curitiba, PR).

3.6 Resistência estafilocócica a antibióticos

Das 45 cepas estafilocócicas isoladas dos cães do presente estudo, quatro (8,88%) eram resistentes à oxacilina, sendo três no Grupo 1 (75%) e uma no Grupo 3 (25%), e nove (20%) foram classificadas como multirresistentes, sendo três (33,33%) do Grupo 1, duas do Grupo 2 (22,22%) e quatro (44,44%) do Grupo 3.

Das quatro cepas resistentes à oxacilina, três (75%) foram identificadas como *Staphylococcus pseudintermedius* e uma (25%) como *Staphylococcus schleiferi*. Das nove cepas classificadas como multirresistentes seis (66,66%) foram identificadas como *S. pseudintermedius* e três (33,33%) como *S. schleiferi*.

O índice de resistência múltipla às drogas antimicrobianas (IRMA) variou de 0 até 0,9 sendo que 28 (62,22%) dos 45 isolados incluídos apresentaram índice de

1 resistência múltipla superior a 0,2. Os valores médios e de desvio padrão do IRMA
 2 dos diferentes grupos está apresentado na Tabela 2.4.

3

4 **Tabela 2.4** Valores médios e desvio padrão dos índices de resistência múltipla (IRMA)
 5 às drogas antimicrobianas dos isolados dos diferentes grupos inclusos no estudo.

	Grupo 1 (n=15)	Grupo 2 (n=15)	Grupo 3 (n=15)
IRMA			
Média	0,3 ^a	0,18 ^a	0,21 ^a
Desvio padrão	0,23	0,18	0,22

6 Letras minúsculas representam diferença significativa no perfil de resistência entre os grupos
 7 p<0,05

8

9

10 3.7 Avaliação de eficácia

11

12 As médias e desvio padrão dos valores de *pVAS* para cada tempo do estudo
 13 (T0, T7, T14, T21, T28) estão representados na Tabela 2.5.

14

15 **Tabela 2.5** Médias e desvio padrão dos valores de *pVAS* (escala visual analógica de
 16 prurido de 0 a 10), dos grupos 1, 2 e 3 dos cães com piodermite no decorrer dos 28
 17 dias de tratamento, sendo Grupo 1: cães submetidos a terapia com antimicrobianos
 18 naturais, Grupo 2: cães submetidos a terapia com clorexidina e miconazol e Grupo 3:
 19 cães submetidos a terapia com cefalexina oral.

Tempo	Grupo 1		Grupo 2		Grupo 3	
	Média	Dp	Média	Dp	Média	Dp
D0	8,13 ^{aA}	1,3	7,87 ^{aA}	1,6	8,8 ^{aA}	1,32
D7	5,27 ^{bB}	1,75	6,67 ^{aAB}	1,68	6,73 ^{aB}	1,22
D14	3,8 ^{bBC}	1,47	6,13 ^{aB}	1,73	5,73 ^{aBC}	1,22
D21	3,47 ^{bC}	1,51	5,8 ^{aB}	1,82	4,6 ^{abCD}	1,12
D28	3,13 ^{bC}	1,51	5,4 ^{aB}	1,45	3,87 ^{bD}	1,19

20 Dp: desvio padrão

21 Letras minúsculas representam diferença significativa na mesma linha e letras maiúsculas representam
 22 diferença significativa na mesma coluna.

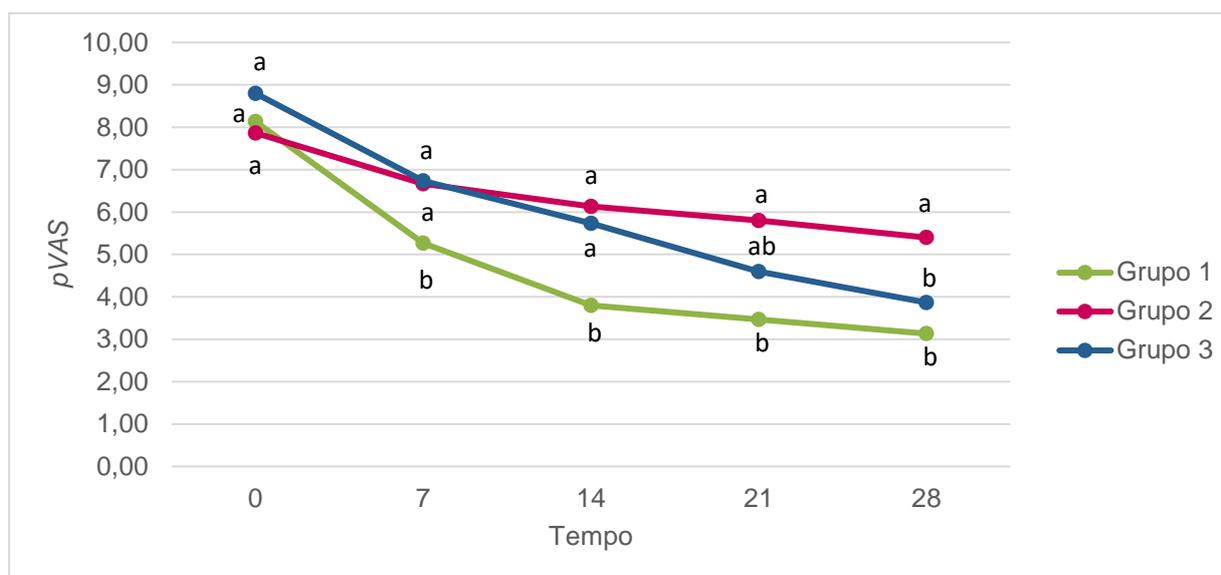
23 p<0,05

24 Não houve diferença estatística significativa entre as médias de prurido no D0
 25 entre os três grupos. No D7 e D14 de tratamento a média de *pVAS* foi
 26 significativamente inferior (p<0,05) no Grupo 1 quando comparado aos Grupos 2 e 3,
 27 que foram estatisticamente iguais entre si. No D28 não houve diferença estatística na

1 média de *pVAS* no Grupo 1 e Grupo 3, porém, as médias de *pVAS* de ambos os
 2 grupos foram estatisticamente inferiores ao Grupo 2. Os dados de comparação das
 3 médias de *pVAS* entre grupos estão apresentados no Gráfico 2.2

4 Nos três grupos avaliados houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre D0 e D28
 5 de tratamento, ou seja, entre começo e fim de tratamento. No Grupo 1 houve redução
 6 significativa do prurido do D0 ao D7 e do D7 ao D14, porém não houve redução
 7 significativa do prurido entre D14, D21 e D28.

8



9

10 **Gráfico 2.2** Comparação da distribuição linear das médias dos valores de *pVAS* perante o tempo de
 11 tratamento dos três grupos estudados considerando intervalo de confiança (95%). Letras minúsculas
 12 representam diferença significativa ($p < 0,05$).

13

14 As médias, desvio padrão e dos valores dos escores lesionais para cada
 15 tempo do estudo (T0, T7, T14, T21, T28) estão representados na Tabela 2.6.

16

17 **Tabela 2.6** Médias e desvio padrão dos valores de escore lesional (somatória do total
 18 de lesões conforme escala adaptada de Solomon et al., 2016 de 0 a 4) dos grupos 1,2
 19 e 3 dos cães com piodermite superficial no decorrer dos 28 dias de tratamento, sendo
 20 Grupo 1: cães submetidos a terapia com antimicrobianos naturais, Grupo 2: cães
 21 submetidos a terapia com clorexidina e miconazol e Grupo 3: cães submetidos a
 22 terapia com cefalexina oral.

Tempo	Grupo 1		Grupo 2		Grupo 3	
	Média	Dp	Média	Dp	Média	Dp

D0	3,93 ^{aA}	0,26	3,93 ^{aA}	0,26	4 ^{aA}	0
D7	2,93 ^{bB}	0,8	3,2 ^{abAB}	0,68	3,6 ^{aA}	0,51
D14	1,8 ^{bC}	1,01	2,6 ^{aBC}	0,83	2,2 ^{abB}	0,56
D21	0,87 ^{bCD}	1,13	2 ^{aCD}	0,93	1,13 ^{bC}	0,52
D28	0,53 ^{bD}	1,25	1,40 ^{aD}	0,99	0,4 ^{bD}	0,51

1 Dp: desvio padrão

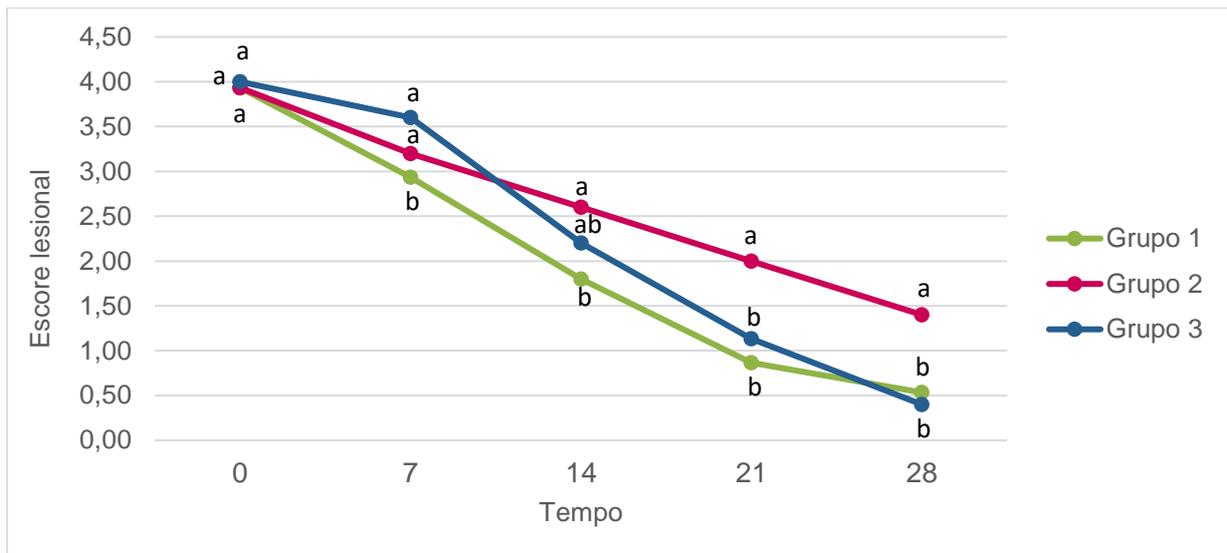
2 Letras minúsculas representam diferença significativa na mesma linha e letras maiúsculas representam
3 diferença significativa na mesma coluna. $p < 0,05$

4

5 Não houve diferença estatística significativa entre as médias dos escores
6 lesionais no D0 entre os três grupos. No D7 de tratamento houve diferença significativa
7 entre Grupo 1 e Grupo 3 ($p < 0,05$), porém não houve diferença estatística significativa
8 entre Grupo 2 e Grupo 3. No D14 houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre o Grupo
9 1 e o Grupo 2, porém, não houve diferença significativa entre as médias dos escores
10 entre Grupo 1 e 3 e entre Grupo 2 e 3. No D21 e D28 houve diferença significativa
11 entre Grupo 2 e os demais grupos, porém, não foi observada diferença significativa
12 entre as médias dos escores do Grupo 1 e Grupo 3, sendo que esses apresentaram
13 os melhores resultados de redução do escore lesional. Os dados de comparação das
14 médias dos escores lesionais entre grupos estão apresentados no Gráfico 2.3.

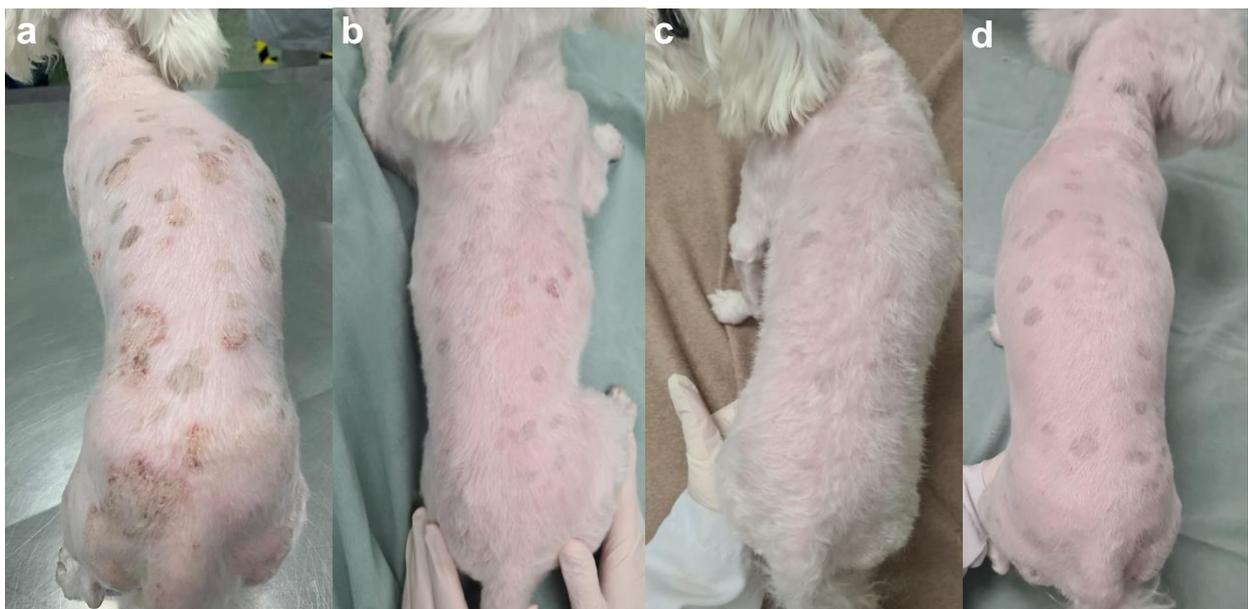
15 Nos três grupos avaliados houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre D0 e D28
16 de tratamento, ou seja, entre começo e fim de tratamento. No Grupo 1 houve redução
17 significativa dos escores do D0 ao D7 e do D7 ao D14, porém não houve redução
18 significativa do D14 ao D21 e do D21 ao D28. A involução lesional de um dos
19 pacientes do Grupo 1 no decorrer do tempo está apresentada na Figura 2.2.

20



1
2 **Gráfico 2.3** Comparação da distribuição linear das médias dos valores de escore lesional perante o
3 tempo dos três grupos estudados considerando intervalo de confiança (95%). Letras minúsculas
4 representam diferença significativa ($p < 0,05$).

5
6



7
8 **Figura 2.2** Involução lesional de paciente canino com do Grupo 1 submetido a terapia
9 com antimicrobianos naturais a base de dois banhos semanais durante 14 dias,
10 posteriormente um banho semanal durante 14 dias e uso de loção a cada 12 horas no
11 decorrer do tempo de estudo, sendo a: dia zero, b: dia sete, c: dia 14, d: dia 21. A partir
12 do 14º dia de tratamento é possível observar completa resolução lesional. Fonte:
13 autor, 2023.

14 15 **3.7.1 Melhora clínica**

16
17 O percentual de melhora clínica, quanto ao parâmetro de pVAS dos pacientes
18 dos três grupos estão apresentados na Tabela 2.7.

19
20

1 **Tabela 2.7** Percentual de melhora clínica, baseado em escala adaptada de Pucheu-
 2 Haston et al., 2015, quanto ao escore pVAS dos pacientes dos três grupos estudados,
 3 sendo, Grupo 1: cães submetidos a terapia com antimicrobianos naturais, Grupo 2:
 4 cães submetidos a terapia com clorexidina e miconazol e Grupo 3: cães submetidos
 5 a terapia com cefalexina oral. 2 e 3.

	Sem melhora	Regular	Boa	Muito boa	Excelente
Grupo 1	1 (6,6%)	4 (26,6%)	8 (53,3%)	1 (6,6%)	1 (6,6%)
Grupo 2	3 (20%)	10 (66,6%)	2 (13,3%)	0	0
Grupo 3	0	6 (40%)	9 (60%)	0	0

6
7

8 O percentual de melhora clínica, quanto ao parâmetro de escore lesional dos
 9 pacientes dos três grupos estão apresentados na Tabela 2.8.

10
11

12 **Tabela 2.8** Percentual de melhora clínica, baseado em escala adaptada de Pucheu-
 13 Haston et al., 2015, quanto ao escore lesional dos pacientes dos três grupos
 14 estudados, sendo, Grupo 1: cães submetidos a terapia com antimicrobianos naturais,
 15 Grupo 2: cães submetidos a terapia com clorexidina e miconazol e Grupo 3: cães
 16 submetidos a terapia com cefalexina oral. 2 e 3.

	Sem melhora	Regular	Boa	Muito boa	Excelente
Grupo 1	1 (6,6%)	1 (6,6%)	1 (6,6%)	0	12 (80%)
Grupo 2	0	8 (53,3%)	5 (33,3%)	0	2 (13,3%)
Grupo 3			6 (40%)		9 (60%)

17
18

19 **3.8 Avaliação de segurança**

20
21

22 Não foram registrados o aparecimento de eritema, eritrodermia, prurido,
 23 escoriações, crostas, inquietude, dor, intensificação de sinais clínicos, relutância do
 24 animal ao uso, indução de lambadura excessiva, sialorreia, lesão de mucosas e
 25 vômitos após ingestão por lambadura em nenhum dos pacientes do Grupo 1 e 2.

26
27

28 Dos 15 pacientes do Grupo 3 foram registrados efeitos gastrintestinais em
 29 quatro (26,66%) deles durante o período avaliado, três (75%) apresentaram êmese e
 30 um (25%) êmese e diarreia durante o tratamento com cefalexina. As manifestações
 31 foram controladas com medicação anti-secretória e/ou antiemético, não sendo
 necessário suspender a terapia antimicrobiana.

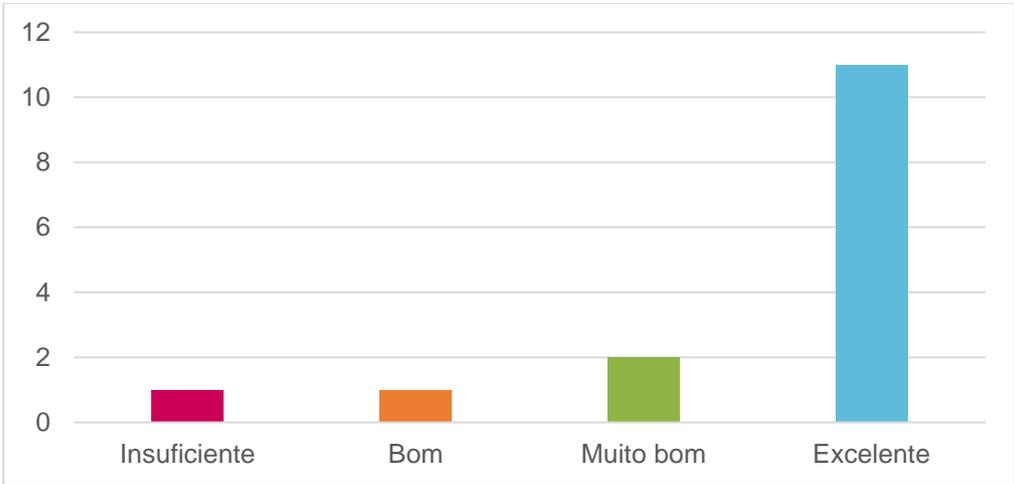
30
31

3.9 Facilidade de aplicação, efeitos cosméticos e impressões dos responsáveis.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10

Quanto à facilidade de aplicação dos produtos testados nos 15 cães do Grupo 1, 14 (93,33%), os responsáveis pelos animais classificaram a aplicação como fácil e um (6,66%) como moderadamente fácil.

Dos 15 pacientes incluídos no Grupo 1, dois (13,33%) responsáveis relataram oleosidade da pelagem e indução de odor durante o uso do produto. Não foram relatados resíduos após o uso dos produtos. Os dados das impressões dos responsáveis em relação aos produtos testados no Grupo 1 estão registrados no Gráfico 2.4.



11 **Gráfico 2.4** Impressões dos 15 responsáveis dos cães com piodermite quando
12 questionados em relação aos produtos antimicrobianos naturais testados (Grupo 1);
13 73,33% (n=11) dos responsáveis classificaram o produto como excelente; 13,33%
14 (n=2) como muito bom; 6,66% (n=1) como bom e 6,66% (n=1) como insuficiente.
15

16
17
18 **4 DISCUSSÃO**

19
20 As piodermites de origens estafilocócicas de caráter crônico e recorrentes são
21 uma das principais razões para a prescrição de antimicrobianos em cães (van
22 Duijkeren et al., 2011; Baker et al., 2012). Tratamentos regulares com antibióticos
23 sistêmicos aumentam o risco de seleção de bactérias resistentes e multirresistentes e
24 representam um risco de saúde pública (Starlander et al.,2014) e, como os cães
25 ocupam os mesmos nichos domiciliares dos seus proprietários, a transmissão
26 bacteriana interespecíes de cepas metilina-resistentes tem sido uma preocupação

1 constante na vigilância e promoção da saúde coletiva (Soedarmanto et al, 2011;
2 Starlander et al., 2014).

3 Na atualidade, a diferenciação bioquímica clássica entre os membros do SIG é
4 complexa e pode resultar na identificação não confiável e insuficiente da espécie
5 envolvida (Bannoehr et al., 2012; Bond e Loeffler et al., 2012). Outros métodos, como
6 a Espectrometria de Massas por Ionização e Dessorção a Laser Assistida por Matriz
7 (MALDI-TOF MS), tem se demonstrado uma ferramenta poderosa para identificação
8 microbiana inequívoca e rápida, não apenas para a rotina laboratorial, mas também
9 para investigar o impacto e o comportamento zoonótico do *S. pseudintermedius* no
10 futuro (Murugaiyan et al., 2014; Nisa et al., 2019).

11 Onuma et al. 2012 e Viegas et al., 2022 descreveram uma prevalência de 76%
12 no Japão, e 77% no Brasil, respectivamente, de isolados identificados como
13 *Staphylococcus pseudintermedius* em cães com piodermite. De forma semelhante,
14 80% dos isolados do presente estudo foram identificados como *S. pseudintermedius*
15 por MALDI-TOF-MS. O *S. pseudintermedius*, componente do grupo SIG
16 (*Staphylococcus intermedius group*), é considerado o principal agente causador das
17 piodermites superficiais em cães, provavelmente pela sua alta especificidade ao
18 corneócito canino e por compor o microbioma da superfície tegumentar e junções
19 mucocutâneas destes animais (Fitzgerald et al., 2009; Bannoehr et al., 2012).

20 O *Staphylococcus schleiferi* foi a segunda espécie mais frequentemente
21 observada nos cães com piodermite neste estudo, semelhante ao observado por
22 Viegas et al., 2022, em um estudo realizado também no Brasil, e superior ao
23 observado por Kawakami et al., 2010, que identificou 10,5% de isolados da espécie
24 em cães com piodermite no Japão. O *S. schleiferi* raramente é encontrado em
25 portadores saudáveis (Iverson et al., 2015) e é comumente isolado em cães com otite
26 ou piodermite crônicas recorrentes e com histórico de exposição antimicrobiana
27 anterior (Kawakami et al., 2010; Cain et al., 2011; Morris et al., 2017).

28 No presente estudo, dos oito cães onde foi isolado *S. schleiferi*, 100% eram
29 pacientes com dermatite atópica concomitante, destes, seis (75%) possuíam histórico
30 de exposição à antibióticos sistêmicos para tratamento tegumentar por três vezes ou
31 mais nos últimos doze meses, corroborando com o documentado por Cain et al., 2011
32 de que a exposição antimicrobiana prévia está relacionada com o isolamento deste
33 microrganismo.

1 Em adição, a principal dermatopatia que favoreceu o desenvolvimento das
2 infecções estafilocócicas tegumentares no presente estudo foi a dermatite atópica. A
3 dermatite atópica é uma dermatopatia crônica, inflamatória e pruriginosa, associada à
4 diminuição da barreira física epidérmica primária, e secundária a estímulos constantes
5 e hiper-reatividade da resposta Th2 (Fazakerley et al., 2009).

6 A hiper-reatividade da resposta Th2 favorece à adesão e proliferação
7 estafilocócica na superfície tegumentar, diminuição da biodiversidade bacteriana do
8 microbioma cutâneo e ao desenvolvimento de disbioses (Fazakerley et al., 2009;
9 Nograles et al., 2010), que podem evoluir para infecções epidermais e foliculares,
10 geralmente por agentes oportunistas como o *Staphylococcus pseudintermedius* e o *S.*
11 *schleiferi*, como observado no presente estudo.

12 Ainda, um dos isolados do presente estudo foi identificado como
13 *Staphylococcus caprae*. Isolado pela primeira vez do leite de cabra, mais tarde se
14 descobriu que este coloniza a pele, unhas e mucosa nasal humana (Seng et al., 2014).
15 O *S. caprae* é um microrganismo catalase-positivo, coagulase-negativo que raramente
16 pode se tornar patogênico em humanos, todavia já foi documentado em infecções
17 ósseas e articulares (Gowda et al., 2018). Em cães, não se tem conhecimento de
18 relatos de isolados deste microrganismo, tanto como componente da microbiota
19 quanto como agente causador de outras infecções, incluindo as tegumentares.

20 Por se tratar de um microrganismo primordialmente comensal em humanos,
21 deve-se considerar esta possibilidade como fonte de transmissão do *S. caprae* neste
22 cão, uma vez que a transmissão de microrganismos entre cão e responsável e a
23 transferência de genes de resistência possui alguns relatos documentados
24 (Soedarmanto et al., 2011; Lai et al., 2017; Robb et al., 2017). Estudos de *S. aureus*
25 isolados de caçadores e seus cães de caça que vivem na mesma casa mostraram
26 isolados de *S. aureus* idênticos, bem como resistência e padrões de virulência
27 semelhantes, o que pode apontar para uma transmissão unidirecional de humanos
28 para cães (Silva et al., 2022). Dessa forma, pode-se sugerir que o mesmo poderia
29 ocorrer na transmissão de outras espécies estafilocócicas, como o *S. caprae* de
30 humanos para seus cães.

31 Quanto ao perfil de sensibilidade dos isolados, a clindamicina, da classe das
32 lincosamidas, foi o antimicrobiano com maior índice de resistência, observado em 33%
33 dos isolados. Apesar do último consenso de diagnóstico e tratamento das foliculites
34 bacterianas incluir a clindamicina como um antibiótico de primeira escolha (Hillier et

1 al., 2014), estudos mais recentes demonstraram que a resistência à clindamicina é
2 maior em cães com histórico prévio de antibioticoterapia (vanDamme et al., 2020), o
3 que é corroborado no presente estudo. Assim, sugere-se que este antibiótico não seja
4 utilizado de forma empírica e somente prescrito quando a suscetibilidade a este for
5 confirmada.

6 Os antimicrobianos marbofloxacina, norfloxacina e enrofloxacina também
7 demonstraram uma resistência de 31% para cada um deles no presente estudo.
8 Fluoroquinolonas são atualmente classificadas como segunda linha de escolha para
9 tratamento das piодermites, de modo que devem ser prescritas apenas quando as
10 opções de primeira escolha não estiverem disponíveis ou não foram eficazes, quando
11 a terapia tópica não for apropriada e quando a cultura indicar suscetibilidade (Hillier et
12 al, 2014; Morris et al., 2017).

13 No presente estudo o percentual identificado de resistência à oxacilina foi de
14 8,9%. Viegas et al., 2022 em estudo realizado em Minas Gerais no Brasil, identificou
15 uma prevalência de 24,5% de SPRM. Diferentes prevalências de SPRM podem variar
16 entre estudos por influência não só da região geográfica, mas também do tipo de
17 amostra, da população incluída e da metodologia do estudo (Viegas et al., 2022).

18 Ainda, na grande maioria dos casos de piодermite, a escolha do antibiótico a
19 ser prescrito é empírica (Botoni et al.,2014). Todavia, devido à natureza secundária
20 da infecção, recorrências são comuns principalmente se não houver controle da causa
21 primária (Botoni et al.,2014). Tratamentos contínuos ou intermitentes com antibióticos,
22 longos períodos de tratamento, posologia inadequada, terapia por tempo insuficiente,
23 interrupção precoce e ausência de controle da causa primária têm sido apontados
24 como fatores de risco para o desenvolvimento da resistência à metilicina, já que os
25 betalactâmicos são os fármacos de escolha (Kawakami et al., 2010; Botoni et al.,
26 2014).

27 Vale ainda ressaltar que a forma mais precisa de determinação de resistência
28 à metilicina é através de identificação molecular e evidênciação do gene *mecA* por
29 PCR, mas poucos laboratórios têm este método disponível na rotina. O perfil genético
30 de resistência dos isolados não foi avaliado no presente estudo, portanto, apesar dos
31 testes de sensibilidade terem demonstrado resistência à oxacilina, recomenda-se a
32 realização destes como procedimento final diagnóstico de resistência bacteriana
33 (Coelho et al., 2007; Botoni et al., 2014).

1 Das espécies envolvidas nos isolados resistentes à oxacilina, três eram de
2 isolados de *S. pseudintermedius* e um de *S. schleiferi*. Estes microrganismos, além
3 do *S. aureus*, são os principais identificados na prática dermatológica em cães.
4 Isolados clínicos das três espécies comumente expressam resistência à oxacilina e a
5 múltiplos fármacos antimicrobianos (Morris et al., 2017).

6 O uso de produtos naturais para tratar doenças infecciosas comuns é uma das
7 práticas mais antigas da história (Wińska et al., 2019). Meroni et al., 2020 demonstrou
8 a eficácia *in vitro* dos óleos essenciais de *Melaleuca Alternifolia* (arvore do chá) e
9 *Rosaminus Officinalis* (alecrim), do gel à base de manuka e do própolis contra 23
10 cepas de *Staphylococcus pseudintermedius* isoladas de cães com piodermite.

11 Nocera et al., 2020 testaram a atividade antimicrobiana *in vitro* de 11 óleos
12 essenciais contra cepas de *Staphylococcus pseudintermedius* com diferentes perfis
13 de resistência, demonstrando que óleos essenciais de *Cinnamomum zeylanicum*
14 (Caneleira-verdadeira), *Melissa ocinalis* (erva cidreira), *Cymbopogon citratus* (capim
15 limão), e *Satureja montana* (segurelha-das-montanhas) podem ser promissores
16 candidatos para uso *in vivo* contra cepas de *Staphylococcus pseudintermedius*,
17 inclusive multirresistentes.

18 Um dos únicos estudos realizados *in vivo* com antimicrobianos naturais foi
19 realizado por Bäumer et al., 2019, que utilizou um tratamento tópico com o extrato
20 vegetal W16P576 (extrato aquoso de mistura complexa de plantas comestíveis) que
21 foi capaz de reduzir escores lesionais em nove beagles de laboratório, com piodermite
22 desenvolvida por meio da inoculação de cepas *S. pseudintermedius*.

23 Não obstante alguns estudos demonstrarem a eficácia *in vitro* de óleos
24 essenciais, extratos vegetais e peptídeos antimicrobianos, estudos *in vivo* em cães
25 naturalmente infectados por *Staphylococcus* spp não foram ainda documentados,
26 sendo o presente estudo o primeiro, pelo conhecimento dos autores, a avaliar de
27 forma crítica e *in vivo*, uma linha antimicrobiana natural contendo óleos essenciais,
28 extratos vegetais e peptídeos antimicrobianos de forma comparativa com terapias
29 convencionais.

30 As dosagens baixas necessárias no uso dessa combinação de ativos naturais
31 permitem minimizar quaisquer efeitos adversos, dando alternativas eficazes ao
32 tratamento com antibióticos e antissépticos. Vale a pena notar que essas estratégias
33 de tratamento sem antibióticos podem ajudar a reduzir a gravidade das infecções em
34 cães por *S. pseudintermedius* e limitar a colonização posterior, preservando assim

1 também a saúde dos donos dos animais (Nocera et al., 2020). Além disso, a
2 resistência a antimicrobianos naturais não é conhecida (Fadok et al. 2020; Meroni et
3 al., 2020), o que permite o uso regular destes produtos e os torna recomendáveis para
4 uso em piodermites de repetição, mormente em casos de dermatite atópica.

5 O dano irreversível da parede e membrana celular bacteriana tem sido proposto
6 como o principal mecanismo de ação dos óleos essenciais com propriedades
7 antimicrobianas, o que leva a uma extrusão citoplasmática das bactérias, de proteínas
8 e material nuclear (Sakkas e Papadopoulou et al., 2017; Valdivieso-Ugarte et al.,
9 2020).

10 Outro importante componente das formulações testadas são os peptídeos
11 antimicrobianos. O mecanismo de ação dessas moléculas consiste na sua inserção
12 na bicamada lipídica e consequente formação de poros na parede celular bacteriana,
13 o que permite o extravasamento celular. Além disso, são capazes de inibir a síntese
14 da parede celular, dos ácidos nucleicos, dos processos de síntese de proteínas e
15 outras funções enzimáticas das células-alvo (Ciumac et al., 2019; Corrêa et al., 2019).

16 O extrato de lúpulo, outro componente importante das formulações testadas,
17 tem sido demonstrado como um agente antimicrobiano e antibiofilme, eficaz contra
18 cepas de estafilococos multirresistentes em alguns estudos e apontado como um bom
19 candidato na prevenção de infecções, particularmente por patógenos Gram-positivos
20 multirresistentes (Lodovico et al., 2020).

21 É importante salientar que a linha antimicrobiana testada foi capaz de reduzir
22 os escores lesionais e de prurido de forma mais rápida que as terapias convencionais
23 com clorexidina associada ao miconazol ou com cefalexina oral.

24 Possivelmente, a atividade antimicrobiana dos princípios ativos contidos nas
25 formulações agiram em simbiose, e seu uso direto no sítio da infecção permitiu uma
26 resposta mais rápida que as terapias convencionais contra as cepas estafilocócicas.
27 Ressalta-se que resposta mais rápida aumentou a adesão dos responsáveis à terapia
28 proposta, favorecendo a conclusão dos tratamentos (Hillier et al., 2014).

29 Trabalhos recentes têm questionado o tempo de tratamento antimicrobiano
30 anteriormente preconizado, principalmente devido ao aumento da prevalência de
31 *Staphylococcus* spp resistente a antimicrobianos (Sousa et al., 2022). O tempo de
32 tratamento atualmente recomendado para impetigo e foliculites em cães é de três
33 semanas, com sete dias adicionais após resolução lesional (Hillier et al.,2014). A

1 terapia tópica, em conjunto com a terapia sistêmica, é capaz de reduzir o quadro
2 sintômato-lesional de forma precoce (Loeffler e Lloyd.,2018).

3 Neste estudo os pacientes do Grupo 3, tratados com cefalexina oral, só
4 apresentaram resolução lesional após quatro semanas de tratamento. Desse modo,
5 quando realizada terapia sistêmica exclusivamente, o tempo de tratamento requerido
6 é prolongado como preconizado em consenso (Hillier et al.,2014). É possível que ao
7 combinar terapia tópica à terapia sistêmica, o tempo de tratamento seja reduzido como
8 recomendado por Sousa et al., 2022. Entretanto, o presente estudo não combinou as
9 duas terapias para avaliar o tempo necessário de terapia.

10 Ao final do tratamento não houve diferença estatística entre o grupo 1 e grupo
11 3, sendo que a linha antimicrobiana natural demonstrou eficácia equivalente ao uso
12 da cefalexina oral, o que sugere, como outros estudos demonstraram, que a terapia
13 tópica, isolada, é capaz de resolver infecções estafilocócicas tegumentares
14 superficiais (Hillier et al., 2014; Borio et al., 2015). Portanto, o presente estudo, reitera
15 o questionado em consenso por Morris et al., 2017 sobre a real necessidade da terapia
16 sistêmica para quadros superficiais.

17 Ainda, a terapia tópica tem várias vantagens potenciais que incluem altas
18 concentrações do princípio ativo diretamente no local infectado, menor quantidade de
19 antimicrobiano necessária, melhor adesão do princípio ativo à pele, menos efeitos
20 colaterais sistêmicos e potencialmente menor chance de resistência antimicrobiana
21 (Ray et al., 2019).

22 O uso da clorexidina para tratamento das infecções estafilocócicas
23 tegumentares é bastante difundido e comprovado, figurando atualmente como uma
24 das primeiras opções de terapia tópica para controle das foliculites bacterianas em
25 cães (Mueller et al., 2012; Hillier et al., 2014).

26 O mecanismo de ação da clorexidina consiste em precipitação e coagulação
27 das proteínas citoplasmáticas e morte bacteriana em concentrações elevadas e, em
28 concentrações mais baixas, promove alterações na integridade da membrana celular,
29 resultando num extravasamento dos componentes bacterianos de baixo peso
30 molecular (Kuyyakanond e Quesnel., 1992). Ainda, a frequente atividade sinérgica da
31 combinação de clorexidina e miconazol indica potenciais valores clínicos como
32 tratamento combinado em cães com piodermite (Clark et al., 2015).

33 No presente estudo, o tratamento com xampu antisséptico a base de
34 clorexidina e miconazol, apesar de reduzir os escores no decorrer do tratamento, foi

1 estatisticamente inferior aos demais em todos os tempos avaliados, e apresentou
2 redução de escores lesionais e de prurido inferior aos outros protocolos ao longo do
3 tratamento. Além disso, muitos pacientes deste grupo necessitaram de prolongamento
4 do tempo de uso da clorexidina ou de outras terapias para resolução do quadro ao
5 final do estudo.

6 Lloyd e Lamport, 1999, demonstraram que um xampu de clorexidina a 2%
7 apresentou atividade bactericida mais rápida do que um xampu de 2,5%, de outro
8 fabricante, sinalizando que concentrações mais altas nem sempre estão associadas
9 a uma melhor atividade antibacteriana e eficácia clínica, e que a formulação também
10 pode influenciar a eficácia (Lloyd e Lamport, 1999; Mueller et al., 2012), o mesmo, foi
11 observado por Kloos et al., 2015, onde, a clorexidina a 2 e 3% inibiram
12 significativamente o crescimento bacteriano de forma superior a clorexidina a 4%.
13 Discuta que a matéria prima também pode influenciar a eficácia.

14 É bem conhecido que altas concentrações de surfactantes, que estão contidos
15 em muitas formulações disponíveis comercialmente, podem reduzir a atividade da
16 clorexidina devido à formação de ligação micelar, o que prejudica a eficácia da
17 biguanida contra microorganismos (Auslander et al., 1986; Odore et al., 2000). Da
18 mesma forma que o observado por Lloyd e Lamport, 1999 e Kloos et al., 2015, uma
19 redução na atividade da clorexidina testada pode ter ocorrido no presente estudo.

20 Ainda, Murayama et al., 2010, em estudo comparativo de dois xampus de
21 clorexidina, a 2 e 4%, evidenciou que a maioria necessitou de antibióticos sistêmicos
22 para resolver a infecção por completo, demonstrando que, banhos com clorexidina,
23 apesar de eficazes em resolver a infecção podem requerer terapias adicionais para
24 resolução do quadro.

25 Diferentemente do observado por Murayama et al., 2010, Borio et al., 2015
26 demonstrou equivalência na eficácia da clorexidina a 4% com terapia sistêmica com
27 amoxicilina com clavulanato em cães com piodermite, porém, neste estudo, o autor
28 comparou clorexidina aplicada em forma de banho associado ao uso de loção. No
29 presente estudo isto não foi realizado e talvez para melhorar a atividade
30 antimicrobiana e eficácia clínica da clorexidina seja interessante associar seu uso em
31 xampus com outras terapias tópicas nos intervalos entre os banhos, como realizado
32 por Borio et al., 2015 em seu estudo.

33 Ainda, estudos recentes têm levantado questionamentos sobre a possibilidade
34 de resistência a clorexidina, e, apesar das incongruências nas definições de

1 resistência, valores de concentração inibitória mínima aumentados de cepas
2 estafilocócicas, contra a clorexidina têm sido documentados (Horner et al., 2012; Van
3 den Poel et al., 2022). Porém, a relevância clínica de espécies com suscetibilidade
4 reduzida a clorexidina ainda é discutível e mais estudos são necessários (Horner et
5 al., 2012; Van den Poel et al., 2022).

6 Apesar da eficácia, 26% dos cães submetidos a terapia com cefalexina oral
7 apresentaram efeitos adversos gastrintestinais. A tolerabilidade da cefalexina foi
8 avaliada por Toma et al., 2008, oportunidade na qual 15% dos cães avaliados
9 apresentaram vômitos ou diarreia durante o tratamento. Manifestações
10 gastrintestinais, como vômito, diarreia ou anorexia são comumente associados a
11 administração de cefalexina e se devem, normalmente, à suscetibilidade individual ou
12 à administração sem fornecer alimentação prévia (Mason and Keitzmann 1999; Toma
13 et al., 2008).

14 Além disso, outra desvantagem importante do uso da cefalexina oral é que além
15 de atuar no tecido alvo, o efeito antimicrobiano pode se propagar em outros sistemas
16 e órgãos, o que pode facilitar a disbiose intestinal e a promoção de resistência
17 bacteriana (Vangay et al 2015). Ainda, a cefalexina demora a atingir concentrações
18 terapêuticas na pele, exigindo altas doses e tempo longo de terapia sistêmica para
19 infecções cutânea (Toma et al., 2008), como demonstrado no presente estudo.

20 Ademais, acredita-se que a resistência aos OEs raramente aconteça. Melo et
21 al., 2015, demonstraram a capacidade de diferentes cepas bacterianas, incluindo
22 *Staphylococcus aureus* de desenvolver adaptação, e não resistência, após
23 exposição repetitiva a concentrações subletais desses óleos essenciais.

24 Ainda, os três pacientes do Grupo 1 onde foram isoladas duas cepas de
25 *Staphylococcus pseudintermedius* e uma de *Staphylococcus schleiferi* resistentes à
26 metilicina apresentaram resolução lesional completa no decorrer do tratamento,
27 enquanto o paciente do Grupo 3, submetido a terapia com cefalexina oral, no qual foi
28 isolado *Staphylococcus pseudintermedius* resistente à metilicina, apresentou baixa
29 resposta à terapia e, após 28 dias de tratamento, necessitou de terapia tópica
30 complementar para controle do quadro. O presente estudo pode sugerir, portanto, que
31 a linha com antimicrobianos naturais testada, tem potencial de utilização para
32 infecções metilicina resistentes, da mesma forma que o observado *in vitro* por Nocera
33 et al., 2020, onde os achados obtidos demonstraram uma clara eficácia *in vitro* de

1 alguns OEs testados contra cepas meticilina resistentes, porém estudos com
2 amostras maiores são necessários.

3 Pelo exposto, torna-se possível concluir que a terapia tópica antimicrobiana
4 testada com a formulação contendo óleos essenciais, peptídeos antimicrobianos e
5 extratos vegetais é eficaz e segura para tratamento das piodermites superficiais em
6 cães, incluindo as infecções por *Staphylococcus spp* meticilina resistentes, revelando-
7 se como promissores agentes antimicrobianos para controle de piodermites
8 superficiais em cães e potencial substituto às terapias antibióticas sistêmicas ou
9 antissépticas convencionais.

1 REFERÊNCIAS

- 2
- 3 Auslander D, Nash R, Riebe K, Allwood C, Emerson J. Chlorhexidine. In: Rowe CR,
4 Sheskey PJ, Owen SC. Handbook of Pharmaceutical Excipients. American
5 Pharmaceutical Association. Washington:1986: 69-71
- 6
- 7 Baker SA, Van-Balen J, Lu B, Hillier A, Hoet AE. Antimicrobial drug use in dogs prior
8 to admission to a veterinary teaching hospital. J Am Vet Med Assoc. 2012;241:210–7.
9
- 10 Bannoehr J, Guardabassi L. *Staphylococcus pseudintermedius* in the dog: Taxonomy,
11 diagnostics, ecology, epidemiology and pathogenicity. Vet. Dermatol. 2012;23(4):253–
12 266.
- 13
- 14 Bäumer W, Jacobs M, Tamamoto-Mochizuki C. Efficacy study of a topical treatment
15 with a plant extract with antibiofilm activities using an in vivo model of canine superficial
16 pyoderma. Vet Dermatol. 202;31(2):86-89.
- 17
- 18 Beck KM, Waisglass SE, Dick HLN, Weese JS. Prevalence of meticillin-resistant
19 *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) from skin and carriage sites of dogs after
20 treatment of their meticillin-resistant or meticillin-sensitive staphylococcal pyoderma.
21 Vet Dermatol. 2012;23(4):18-21.
- 22
- 23 Bond R, Loeffler A. What's happened to *Staphylococcus intermedius*? Taxonomic
24 revision and emergence of multi-drug resistance. J Small Anim Pract 2012; 53: 147–
25 154.
- 26
- 27 Botoni LS, Filho NPR, Scherer CB, Braga L, Leme FOP, Bicalho APCV. Piodermite
28 superficial canina por *Staphylococcus pseudintermedius* resistentes à metilina.
29 MedVepDermato. 2014;3(10): 270–277.
- 30
- 31 Chain CL, Morris DO, Rankin SC. Clinical characterization of *Staphylococcus schleiferi*
32 infections and identification of risk factors for acquisition of oxacillin-resistant strains in
33 dogs: 225 cases (2003-2009). J Am Vet Med Assoc. 2011;239(12):1566-73.
- 34
- 35 Ciumac D, Gong H, Hu X, Lu JR. Membrane targeting cationic antimicrobial peptides,
36 J. Colloid Interface Sci. 2019;537:163-185.
- 37
- 38 Clark SM, Loeffler A, Bond R. Susceptibility in vitro of canine methicillin-resistant and
39 -susceptible staphylococcal isolates to fusidic acid, chlorhexidine and miconazole:
40 opportunities for topical therapy of canine superficial pyoderma. J Antimicrob
41 Chemother. 2015;70(7):2048-52.
- 42
- 43 CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE, 2018. Performance
44 Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from
45 Animals. Sampling techniques. 4th ed. New York: John Wiley, 2018.
- 46
- 47 Coelho SMO, Moraes RAM, Soares LC, Pereira IA, Gomes L, Souza MMS.
48 Mapeamento do perfil de resistência e detecção do gene *mecA* em *Staphylococcus*
49 *aureus* e *Staphylococcus intermedius* oxacilina-resistentes isolados de espécies
50 humanas e animais. Cienc Rural. 2007;37(1):195-200.

1
2 Côrrea JAF, Evangelista AG, Nazareth TM, Luciano FB. Fundamentals on the
3 molecular mechanism of action of antimicrobial peptides. 2019;8: 100494.
4
5 Fadok, VA. Seckerdieck F, Bensignor E, Noli C, Oliveira A, Mueller R. Topical
6 application of a proprietary blend of essential oils plant extracts (PYOspot) is
7 associated with fewer relapses of pyoderma. Abstracts from the 9th World Congress
8 of Veterinary Dermatology. Vet Dermatol. 2020;31(S1):75.
9
10 Fazakerley J, Nuttal T, Sales D, Schmidt V, Carter SD, Hart CA, et al. Staphylococcal
11 colonization of mucosal and lesional skin sites in atopic and healthy dogs. Vet
12 Dermatol. 2009. 20(3):179-184.
13
14 Fitzgerald JR. The *Staphylococcus intermedius* group of Bacterial pathogens: species
15 re-classification, pathogenesis and the emergence of methicillin resistance. Vet
16 Dermatol. 20(5-6)490-495.
17
18 Gowda A, Pensiero AL, Packer CD. *Staphylococcus caprae*: A Skin Commensal with
19 Pathogenic Potential. Cureus. 2018;10(10):e3485.
20
21 Haag AF, Fitzgerald JR, Penadés JR. *Staphylococcus aureus* in Animals. Microbiol
22 Spectr. 2019;7(3):1-19.
23
24 Hillier A, Lloyd DH, Weese JS, Blondeau JM, Boothe D, Breitschwerdt E, Guardabassi
25 L, Papich MG, Rankin S, Turnidge JD, Sykes JE. Guidelines for the diagnosis and
26 antimicrobial therapy of canine superficial bacterial folliculitis (Antimicrobial Guidelines
27 Working Group of the International Society for Companion Animal Infectious
28 Diseases). Vet Dermatol. 2014;25(3):163-e43.
29
30 Horner C, Mawer D, Wilcox M. Reduced susceptibility to chlorhexidine in
31 staphylococci: is it increasing and does it matter? J Antimicrob Chemother.
32 2012;67(11):2547-2559.
33
34 Iverson AS, Brazil AM, Ferguson JM, Nelson K, Lautenbach E, Rankin SC, et al.
35 Anatomical patterns of colonization of pets with staphylococcal species in homes of
36 people with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) skin or soft tissue
37 infection (SSTI). Vet Microbiol. 2015;176(1-2):202-8.
38
39 Kasai T, Saegusa S, Shirai M, Murakami M, Kato Y. New categories designated as
40 healthcare-associated and community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus*
41 *pseudintermedius* in dogs. Microbiol Immunol. 2016;60(8):540-551.
42
43 Kawakami T, Shibata S, Murayma N, Nagnata M, Nishifuki K, Iwasaki T, et al.
44 Antimicrobial susceptibility and methicillin resistance in *Staphylococcus*
45 *pseudintermedius* and *Staphylococcus schleiferi subsp. coagulans* isolated from dogs
46 with pyoderma in Japan. J Vet Med Sci. 2010;72(12):1615-1619.
47
48 Khosravi AR, Shokri H, Fahmirad S. Efficacy of medicinal essential oils against
49 pathogenic *Malassezia sp.* isolates. J Mycol Med. 2016;26(1):28-34.
50

1 Kloos I, Straubinger RK, Werckenthin C, Mueller RS. Residual antibacterial activity of
2 dog hairs after therapy with antimicrobial shampoos. *Vet Dermatol.* 2013;24(2):250-
3 e54.
4
5 Krumperman PH. Multiple antibiotic resistance indexing of *Escherichia coli* to identify
6 high-risk sources of fecal contamination of foods. *Appl. Environ. Microbiol.*
7 1983;46(1):165-170.
8
9 Kuyyakanond T, Quesnel LB. The mechanism of action chlorhexidine. *FEMS Microbiol*
10 *Lett.* 1992;100(1-3):211-5.
11
12 Lai CH, Ma YC, Shia WY, Hsieh YL, Wang CM. Risk Factors for Antimicrobial
13 Resistance of *Staphylococcus* Species Isolated from Dogs with Superficial Pyoderma
14 and Their Owners. *Vet Sci.* 2022;9(7):306.
15
16 Lévesque S, Dufresne PJ, Soualhine H, Domingo M, Bekal S, Lefebvre B, et al. A Side
17 by Side Comparison of Bruker Biotyper and VITEK MS: Utility of MALDI-TOF MS
18 Technology for Microorganism Identification in a Public Health Reference Laboratory.
19 *PLoS One.* 2015;10(12):e0144878.
20
21 Lloyd DH, Lambort AI. Activity of chlorhexidine shampoos in vitro against
22 *Staphylococcus intermedius*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Malassezia*
23 *pachydermatis*. *Vet Rec.* 1999; 144(19):536-7.
24
25 Lodovico SD, Menghini L, Ferrante C, Recchia E, Castro-Amorim J, Gameiro P, et al.
26 Hop Extract: An Efficacious Antimicrobial and Anti-biofilm Agent Against Multidrug-
27 Resistant *Staphylococci* Strains and *Cutibacterium acnes*. *Front Microbiol.*
28 2020;11:1852.
29
30 Loeffler A, Boag AK, Sung J, Lindsay JA, Guardabassi L, Dalsgaard A, et al.
31 Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among staff and pets in a
32 small animal referral hospital in the UK. *J Antimicrob Chemother.* 2005;56(4):692-697.
33
34 Loeffler A, Linek M, Guardabassi L, Sung JML, Winkler M, Weiss R, et al. First report
35 of multiresistant, *mecA*-positive *Staphylococcus intermedius* in Europe: 12 Cases from
36 a veterinary dermatology referral clinic in Germany. *Vet Dermatol.* 2007;18(6):412-
37 421.
38
39 Loeffler A, Lloyd DH. What has changed in canine pyoderma? A narrative review. *Vet*
40 *J.* 2018;235:73-82.
41
42 Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al.
43 Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an
44 international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance.
45 *Clin Microbiol Infect.* 2012;18(3):268-281.
46
47 Meason-Smith C, Diesol A, Patterson AP, Older CE, Mansell JM, Suchodolski JS, et
48 al. Characterization of the canine cutaneous mycobiota and fungal dysbiosis in canine
49 allergic dermatitis. *FEMS Microbiol Ecol.* 2015. 91(12):fiv139.
50

- 1 Meroni G, Cardin E, Rendina C, Millar VRHM, Filipe JFSF, Martino PA. In vitro efficacy
2 of essential oils from *melaleuca alternifolia* and *rosmarinus officinalis*, *manuka honey-*
3 *based gel*, and propolis as antibacterial agents against canine *Staphylococcus*
4 *pseudintermedius* strains. *Antibiotics*. 2020;9(6):1-14.
- 5
6 Melo ABD, Amaral AF, Schaefer G, Luciano FB, Andrade C, Costa LB, et al.,
7 Antimicrobial effect against different bacterial strains and bacterial adaptation to
8 essential oils used as feed additives. *Can J Vet Res*. 2015;79(4):285-289.
- 9
10 Mimica LMJ, Mendes CMF, Mimica IM. Controle laboratorial do tratamento das
11 infecções bacterianas. *Microbiologia*. 4th ed. São Paulo:Atheneu; 2005.
- 12
13 Morris DO, Loeffler A, Davis MF, Guardabassi L, Weese S. Recommendations for
14 approaches to methicillin-resistant staphylococcal infections of small animals:
15 diagnosis, therapeutic considerations and preventative measures.: Clinical Consensus
16 Guidelines of the World Association for Veterinary Dermatology. *Vet Dermatol*.
17 2017;28(3):304-e69.
- 18
19 Murugaiyan J, Walther B, Stamm I, Abou-Elnaga Y, Brueggeman-Schwarse S,
20 Vincze S, et al. Species differentiation within the *Staphylococcus intermedius* group
21 using a refined MALDI-TOF MS database. *Clin Microbiol Infect*. 2014; 20(10):1007-15.
- 22
23 Nisa S, Bercker C, Midwinter AC, Bruce I, Graham CF, Venter P, et al. Combining
24 MALDI-TOF and genomics in the study of methicillin resistant and multidrug resistant
25 *Staphylococcus pseudintermedius* in New Zealand. *Sci Rep*. 2019;9(1):1271.
- 26
27 Nocera FP, Mancini S, Najjar B, Bertelloni F, Pistelli L, Filippis A, et al. Antimicrobial
28 activity of some essential oils against methicillin-susceptible and methicillin-resistant
29 *Staphylococcys pseudintermedius* associated pyoderma in dogs. *Animals*.
30 2020;10(10): 1-12.
- 31
32 Nograles KE, Suárez-Fariñas M, Shemer A, Fuentes-Duculan J, Chiricozzi A,
33 Cardinale I, et al. Atopic dermatitis keratinocytes exhibit normal Th17 cytokine
34 responses. *J. Allergy Clin. Immunol*. 2010;125(3):744-746.
- 35
36 Odore R. Valle VC, Re G. Efficacy of chlorhexidine against some strains of cultured
37 and clinically isolated microorganisms. *Vet Res Commun*. 2000;24(4):229-38.
- 38
39 Onuma K, Tanabe T, Sato H. Antimicrobial resistance of *Staphylococcus*
40 *pseudintermedius* isolates from healthy dogs and dogs affected with pyoderma in
41 Japan. *Vet Dermatol*. 2012;23(1):17-22.
- 42
43 Pantosti A. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Associated with Animals and
44 Its Relevance to Human Health. *Front Microbiol*. 2012;9(3):127.
- 45
46 Pucheu-Haston CM, Eisenschenk MNC, Bizikova P, Marsella R, Nuttall T, Santoro D.
47 Introduction to the review articles by ICADA on the pathogenesis of atopic dermatitis
48 in dogs. *Vet Dermatol*. 2015;26(2):77-8.
- 49

1 Robb AR, Wright ED, Foster AME, Walker R, Malone C. Skin infection caused by a
2 novel strain of *Staphylococcus pseudintermedius* in a Siberian husky dog owner. JMM
3 Case Rep. 2017;4(3): jmmcr005087.
4
5 Rybnicek J, Lau-gillar PJ, Harvey R, Hill PB. Further validation of a pruritus severity
6 scale for use in dogs. Vet Dermatol. 2009;20(2):115-122.
7
8 Sakkas H, Papadopoulou C. Antimicrobial Activity of Basil, Oregano, and Thyme
9 Essential Oils. J Microbiol Biotechnol. 2017;27(3):429-438.
10
11 Seng P, Barbe M, Pinelli PO, Drancourt M, Minebois A, Cellier N, et al. *Staphylococcus*
12 *caprae* bone and joint infections: a re-emerging infection? Clin Microbiol Infect.
13 2014;20(12): O1052-8.
14
15 Shin B, Park W. Zoonotic diseases and phytochemical medicines for microbial
16 infections in veterinary science: current state and future perspective. Frontiers in Vet
17 Sci. 2018;5(7):1-9.
18
19 Silva V, Caniça M, Manageiro V, Vieira-Pinto M, Pereira JE, Maltez L, et al.
20 Antimicrobial Resistance and Molecular Epidemiology of *Staphylococcus aureus* from
21 Hunters and Hunting Dogs. Pathogens. 2022;11(5):548.
22
23 Soedarmanto J, Kanbar T, Ülbegi-Mohyla H, Hijazin M, Alber J, Lämmeler C, et al.
24 Genetic relatedness of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP)
25 isolated from a dog and the dog owner. Res Vet Sci. 2011;91(3):e25–e27.
26
27 Solomon SEB, Farias MR, Pimpão CT, Myasava S, Oliveira TV. Piodermite bacteriana
28 em cães com dermatite atópica - Revisão de literatura. MedVepDermato.
29 2010;1(1):57-62.
30
31 Solomon SEB, Farias MR, Pimpão CT. Use of *Staphylococcus aureus* Phage Lysate
32 Staphage Lysate (SPL)® for the Control of Recurrent Pyoderma Eczema in Dogs with
33 Atopic Dermatitis. Acta Sci Vet. 2016;44(1382):1-7.
34
35 Sousa CA, Charfield J, File TM, Koch SN, Leu DB, Loeffler A, et al. Hostage to history
36 - questioning the duration of systemic antimicrobial therapy for the treatment of canine
37 superficial bacterial folliculitis. J Am Vet Med Assoc. 2022;260(10):1153-1156.
38
39 Starlander G, Börjesson S, Grönlund-Andersson U, Tellgren-Roth C, Melhus A.
40 Cluster of infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*
41 in humans in a tertiary hospital. J Clin Microbiol. 2014;52(8):3118-20.
42
43 Trabulsi LR, Mimima IM, Mimica LMJ. Características dos principais grupos de
44 antibacterianos: espectro de ação e indicações. Microbiologia. 4th ed. São Paulo:
45 Atheneu, 2005.
46
47 Toma S, Colombo S, Cornegliani L, Persico P, Galzerano M, Gianino MM, Noli C.
48 Efficacy and tolerability of once-daily cephalexin in canine superficial pyoderma: an
49 open controlled study. J Small Anim Pract. 2008;49(8):384-91.
50

1 Valdivieso-Ugarte M, Gomez-Llorente C, Plaza-Díaz J, Gil A. Antimicrobial,
2 Antioxidant, and Immunomodulatory Properties of Essential Oils: A Systematic
3 Review. *Nutrients*. 2019;11(11):2786.
4

5 van Damme CMM, Broens EM, Auxilia ST, Schlotter YM. Clindamycin resistance of
6 skin derived *Staphylococcus pseudintermedius* is higher in dogs with a history of
7 antimicrobial therapy. *Vet Dermatol*. 2020;31(4):305-e75.
8

9 van Duijkeren E, Catry B, Greko C, Moreno MA, Pomba MC, Pyorala S, et al. Review
10 on methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*. *J. Antimicrob Chemother*.
11 2011;66(12):2705–2714.
12

13 Van den Poel B, Saegeman V, Schuermans A. Increasing usage of chlorhexidine in
14 health care settings: blessing or curse? A narrative review of the risk of chlorhexidine
15 resistance and the implications for infection prevention and control. 2022;41(3):349-
16 362.
17

18 Vangay P., Ward T., Gerber J.S. & Knights D. Antibiotics, Pediatric Dysbiosis, and
19 Disease. *Cell Host Microbe*. 2015;17(5):553 – 564.
20

21 Viegas FM, Santana JA, Silva BA, Xavier RGC, Bonisson CT, Sette SL, et al.
22 Occurrence and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus spp.* in
23 diseased dogs in Brazil. *PLoS One*. 2022;17(6):1-17.
24

25 Weese JS, Van Duijkeren E. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and
26 *Staphylococcus pseudintermedius* in veterinary medicine. *Vet. Microbiol*. 2010;140(3-
27 4): 418-429.
28

29 Wińska K, Mączka W, Łyczko J, Grabarczyk M, Czubaszek A, Szumny A. Essential
30 Oils as Antimicrobial Agents-Myth or Real Alternative? *Molecules*. 2019;24(11):2130.
31
32

CAPÍTULO 3

CONCLUSÃO/ IMPACTO E PERSPECTIVAS FUTURAS

O presente estudo permite concluir que cães diagnosticados com piodermite superficial são comumente infectados por *Staphylococcus pseudintermedius*, apresentam concomitantemente doenças alérgico-inflamatórias como a dermatite atópica associadas ao quadro, além de histórico de uso frequente ou intermitente de antimicrobianos sistêmicos.

Este estudo permite concluir que essa nova linha contendo antimicrobianos naturais é eficaz, mesmo contra cepas meticilina resistentes, e segura para tratamento das piodermites superficiais em cães e é, portanto, um promissor agente antimicrobiano para controle de infecções estafilocócicas tegumentares em cães e potencial substituto às terapias antibióticas ou antissépticas convencionais, pois, demonstrou-se igualmente eficaz a terapia com cefalexina oral e superior a terapia com xampu a base de clorexidina com miconazol.

Este estudo impacta diretamente em fornecer aos médicos veterinários uma nova opção terapêutica, disponível comercialmente, às abordagens convencionais com antissépticos tópicos ou antimicrobianos sistêmicos, utilizados com frequência na rotina de pacientes com lesões tegumentares em um mundo onde a preocupação com a resistência antimicrobiana é crescente no contexto de saúde única.

Ainda, outro aspecto muito importante é a segurança para o uso desse produto em animais que apresentam recorrência de piodermite, pois são ativos tópicos e considerados como GRAS (Generally Recognized as Safe) pelo Food and Drug Administration (FDA - EUA).

ANEXOS

1
2
3

Anexo 1: parecer de aprovação CEUA.



Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação
Comissão de Ética em Pesquisa no Uso de Animais

PARECER CONSUBSTANCIADO DA CEUA

TÍTULO DA PESQUISA	Eficácia e segurança de antimicrobianos naturais no tratamento da esporotricose em gatos e piodermite em cães		
Nº DO PARECER / VERSÃO	02081 – versão I		
PESQUISADOR RESPONSÁVEL	Marconi Rodrigues de Farias		
ESPECIE DO ANIMAL	Canis lupus familiaris	Nº DE ANIMAIS	30
NOME COMUM DO ANIMAL	Cães	Nº SISBIO <small>(animal de vida livre)</small>	Não se aplica
SEXO / IDADE / PESO	Variados	ATIVIDADES <small>(animal de vida livre)</small>	Não se aplica
ORIGEM DO ANIMAL	CVE	GP TAXONÔMICOS <small>(animal de vida livre)</small>	Não se aplica
DATA DE INICIO DA PESQUISA	Maior/2021	LOCAL (IS) <small>(animal de vida livre)</small>	Não se aplica
DATA DE TERMINO DA PESQUISA	Março/2022	Nº SISGEN	Não se aplica
APRESENTAÇÃO DO PROJETO	<p>A esporotricose é uma micose de implantação, de caráter subagudo a crônico, causada por um fungo saprófita e dimórfico do complexo <i>Sporothrix schenckii</i>, geralmente restrita ao tecido subcutâneo e linfático adjacente que, eventualmente, pode disseminar-se para outros órgãos. Acomete humanos e animais, sendo os gatos os animais mais acometidos (Gremião et al., 2015). Nas últimas décadas, uma espécie críptica derivada do <i>Sporothrix schenckii</i> spp, o <i>Sporothrix brasiliensis</i>, se tornou mais adaptado ao tecido de mamíferos e mais virulento, causando infecções em gatos geralmente cutâneo disseminadas, com alta carga parasitária, resistente aos antifúngicos em doses convencionais e tornou este o principal responsável por surtos urbanos de esporotricose animal e humana (Gremião et al., 2017), sendo sua forma de transmissão decorrente principalmente de mordeduras, arranhaduras ou pelo contato direto com exsudato de lesões de gatos infectados (Rodrigues et al., 2013). O tratamento convencional em gatos consiste na administração de triazólicos associados ou não aos iodetos e cursa com resposta terapêutica moderada e diversos efeitos colaterais (Gremião et al., 2009). Em adição, há um número limitado de medicações antifúngicas disponíveis no mercado, o tratamento é oneroso e o tempo é prolongado, além de ser um desafio para os Médicos Veterinários e tutores o fornecimento diário de medicamentos por via oral em gatos (Barros et al., 2004; Gremião et al., 2009). As infecções bacterianas tegumentares superficiais são algumas das dermatopatias mais frequentes em cães, geralmente causadas pelo <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> (Solomon et al., 2010; Botoni et al., 2014), e se caracterizam pela infecção da epiderme ou da unidade pilosebácea, tendo geralmente caráter secundário às doenças alérgico-inflamatórias tegumentares, parasitárias, disqueratóticas, displásicas e de origem endócrina.</p>		
OBJETIVO DA PESQUISA	<p>Avaliar a eficácia e segurança de fórmulas farmacêuticas a base de óleos essenciais contendo antimicrobianos naturais no tratamento da esporotricose felina e de infecções estafilocócicas tegumentares em cães. Específicos: - Avaliar eficácia, a segurança, o tempo de tratamento, manuseio e os aspectos cosméticos de fórmulas farmacêuticas a base de antimicrobianos naturais, isoladamente e associada ao itraconazol e iodeto de potássio, em gatos com lesões cutâneas fixa ou disseminadas associadas à esporotricose; - Avaliar eficácia, a segurança, o tempo de tratamento, manuseio e os aspectos cosméticos das fórmulas farmacêuticas a antimicrobianos naturais em cães com impetigo e foliculites de origem estafilocócica.</p>		

Rua Imaculada Conceição, 1155 Prado Velho CEP 80.215-901 Curitiba Paraná Brasil
Telefone: (41) 3271-2292 www.pucpr.br

4
5
6
7



Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação
Comissão de Ética em Pesquisa no Uso de Animais

RISCOS E ATITUDES MITIGATÓRIAS	A presença de um gato portador da esporotricose é um fator de alto risco para o contágio de outros animais, humanos e contaminação ambiental, então serão ofertadas luvas, máscaras, gorros, e aventais – equipamentos de proteção individuais (EPI's). Preferencialmente os produtos testados em gatos com esporotricose serão utilizados em uso hospitalar (animais com esporotricose internados com ciência do tutor no isolamento da clínica veterinária escola da PUCPR), portanto, somente pessoas treinadas farão a aplicação dos produtos tópicos. - Pode ocorrer sensibilidade ou reações alérgicas aos componentes da formulação do produto. Todos os eventuais efeitos adversos são restritos a pele e seus principais sinais são: aparecimento de lesões avermelhadas elevadas (pápulas), vermelhidão, edema e calor no local onde o produto foi aplicado. Essas reações são incomuns, principalmente porque os produtos são formulados, testados e fornecidos por uma empresa de manipulação farmacêutica com todo o acompanhamento farmacêutico para formulação e manipulação dos produtos, porém, as atitudes mitigatórias para esses riscos serão: - Para cães com piодermite tratados à domicílio: orientar o tutor a suspender o uso dos produtos mediante qualquer alteração, iniciar a administração de prednisolona na dose de 0,5 mg/kg uma vez ao dia por via oral e retornar no dia seguinte para avaliação do pesquisador/professor responsável. - Para gatos com esporotricose tratados em ambiente hospitalar: suspensão do uso mediante qualquer alteração e administração de dexametasona até controle do quadro reacional.
CONSIDERAÇÕES SOBRE A PESQUISA	Não há.
CONSIDERAÇÕES SOBRE OS TERMOS DE APRESENTAÇÃO OBRIGATÓRIA	Todos os termos de apresentação obrigatória foram submetidos e estão de acordo.
RECOMENDAÇÕES	Não há recomendações.
CONCLUSÕES OU PENDÊNCIAS E LISTA DE INADEQUAÇÕES	Nada a declarar.
CONSIDERAÇÕES FINAIS	O colegiado da CEUA certifica que este protocolo que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto homem), para fins de pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794/2018 e Decreto nº 6.899/2009, e com as normas editadas pelo CONCEA sendo aprovado pela CEUA - PUCPR em reunião de colegiado. Se houver mudança do protocolo o pesquisador deve enviar uma emenda à CEUA descrevendo de forma clara e sucinta, a parte do protocolo a ser modificado e as suas justificativas. Se a pesquisa, ou parte dela for realizada em outras instituições, cabe ao pesquisador não iniciar antes de receber a autorização formal para a sua realização.
SITUAÇÃO DO PARECER	APROVADO

CURITIBA, 16 de setembro de 2021

PROF. DR. SÉRGIO LUIZ ROCHA

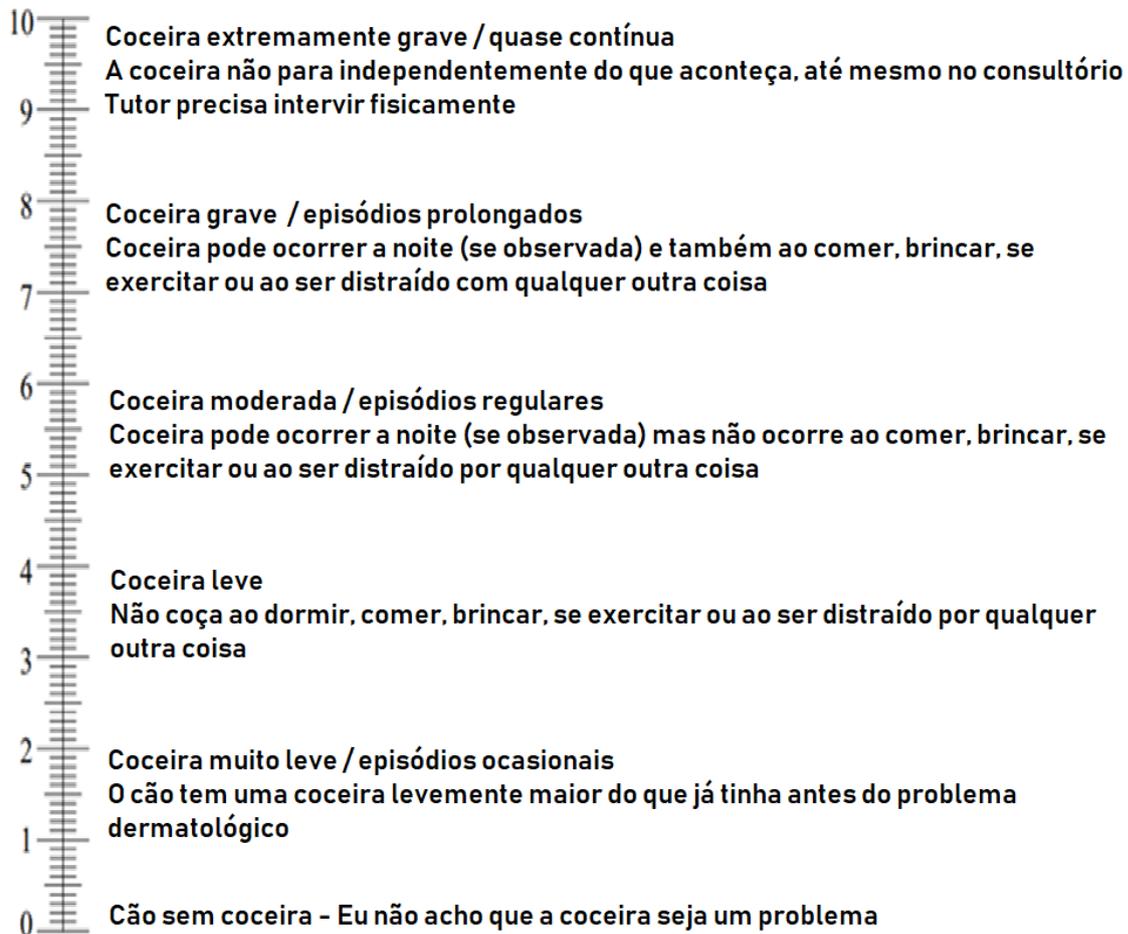
Coordenador CEUA-PUCPR

A validade deste documento pode ser confirmada pelo e-mail ceua@pucpr.br informando o número do parecer.

Rua Imaculada Conceição, 1155 Prado Velho CEP 80.215-901 Curitiba Paraná Brasil
Telefone: (41) 3271-2292 www.pucpr.br

1 **Anexo 2 - Escala Visual de Prurido (Rybníček et al., 2009)**

2



3