

INTERAÇÃO ENTRE DUREZA DA ÁGUA E CLORIDRATO DE CLOREXIDINA NO CONTROLE DE MICRORGANISMOS DE TEGUMENTO CANINO

INTERACTION BETWEEN WATER HARDNESS AND CLOREXIDINE CHLORIDRATE IN THE CONTROL OF CANINE TEGUMENTO MICRORGANISMS.

Suziane Braga e Silva¹
Alessandra Viana Mendes Colares¹
Leonardo de Oliveira Nobre Neves¹
Patrícia Natalícia Mendes de Almeida²

RESUMO

O tegumento forma uma barreira fundamental entre os outros sistemas do corpo animal e os elementos do mundo externo a ele. Na pele dos cães existem bactérias residentes, transitórias e patogênicas, sendo que as bactérias residentes vivem em simbiose com o animal. O *Staphylococcus sp.* é um microrganismo residente da pele, porém é o causador mais comum das piodermites. A clorexidina é um excelente antisséptico para ferimentos na pele, pois estabelece rápida ação bactericida, porém, quando usado com águas mineralizadas pesadas podem diminuir seu efeito, e em soluções salinas ocorre a precipitação e inativação da clorexidina. A água do município de Montes Claros/MG é considerada moderadamente dura. Objetivou-se, com este trabalho, avaliar a eficiência do gluconato de clorexidina em diferentes concentrações, diluídas na água do município, frente a microrganismos comuns em lesões de pele de cães. A população deste estudo foi composta pela microbiota comum na pele de cães. Sendo o interesse desta pesquisa farmacológica, a amostra da pesquisa foi obtida a partir do banco de microrganismos do laboratório da FUNORTE, os testes para avaliação seguiram o modelo de antibiograma, usando o disco difusor e comparando o halo de ação da clorexidina. Nesta pesquisa, verificou-se que as diferentes concentrações de clorexidina não apresentaram diferença quanto à eficácia na inibição dos microrganismos utilizados na pesquisa. Entretanto, o *Staphylococcus aureus* mostrou-se mais sensível à clorexidina do que os demais microrganismos, sendo que a água de Montes Claros/ MG, apesar da sua dureza, não influenciou na eficiência do antisséptico.

Palavras-chave: Antisséptico. Piodermite. *Staphylococcus sp.*

ABSTRACT

The integument forms a fundamental barrier between the other systems of the animal body and the elements of the external world to it. In the skin of dogs there are resident bacteria, transient and pathogenic, and resident bacteria live in symbiosis with the animal. *Staphylococcus sp.* is a resident microorganism of the skin, but is the most common cause of pyoderma. Chlorhexidine is an excellent antiseptic for skin wounds, since it establishes a fast bactericidal action, but when used with heavy mineralized water can diminish its effect, and in salt solutions occurs to the precipitation and inactivation of chlorhexidine. The water of the municipality of Montes Claros / MG is considered moderately hard. The objective of this work was to evaluate the efficiency of

¹ Acadêmicos de Medicina Veterinária das Faculdades Integradas do Norte de Minas - FUNORTE.

² Professora do Departamento de Medicina Veterinária das Faculdades Integradas do Norte de Minas - FUNORTE
Patrícia Natalícia Mendes de Almeida. Endereço: Av. Osmane Barbosa, 11111 - Universitário, Montes Claros - MG, 39404-549, telefone: (38) 99972-6207 E-mail: patricia@funorte.edu.br

INTERAÇÃO ENTRE DUREZA DA ÁGUA E CLORIDRATO DE CLOREXIDINA NO CONTROLE DE MICRORGANISMOS DE TEGUMENTO CANINO

chlorhexidine gluconate in different concentrations, diluted in the water of the municipality, against microorganisms common in dog skin lesions. The population of this study was composed of the common microbiota in the skin of dogs. Being the interest of this pharmacological research the research sample was obtained from the microorganisms bank of FUNORTE laboratory, the tests for evaluation followed the model of antibiogram, using the diffuser disk and comparing the halo of action of chlorhexidine. In this research it was verified that the different concentrations of chlorhexidine did not show any difference in the efficacy of inhibition of the microorganisms used in the research. However, *Staphylococcus aureus* was more sensitive to chlorhexidine than other microorganisms, and Montes Claros / MG water, despite its hardness, did not influence the efficiency of the antiseptic.

Keywords: Antiseptic. Pyoderma. *Staphylococcus* sp.

INTRODUÇÃO

São muitas as patologias que acometem os animais de companhia. As mais comuns em clínicas veterinárias de pequenos animais são as doenças infecciosas. Essas podem ser transmitidas aos animais, quando são expostos aos agentes infecciosos por contato direto com indivíduos infectados, assintomáticos ou não e por contaminações do ambiente (RAMSEY; TENNANT, 2010).

Há grande diversidade de microrganismos presentes na natureza, todavia a maioria não traz prejuízos aos animais, vivem de forma comensal ou em mutualismo. Muitas bactérias e fungos têm importante contribuição em atividades biológicas que ocorrem no solo, água, pele e no trato digestório dos animais. Aqueles que trazem algum tipo de prejuízo são referidos como patogênicos (QUINN, 2005).

A área dermatológica ganha importância na medicina veterinária, especialmente pelo elevado número de atendimento em casos clínicos associados a patologias cutâneas. Estima-se que em média 42% dos atendimentos veterinários realizados em clínicas e hospitais estão diretamente relacionados às doenças de pele. Essa alta prevalência ocorre pelo fato de que a pele reflete processos patológicos que são primários ou compartilhados com outros órgãos (GASPARETTO *et al.*, 2013). Além disso, as alterações de pele são facilmente visíveis e levam o proprietário a procurar auxílio veterinário rapidamente (SOUZA *et al.*, 2009).

Colares *et al.* (2015), em seu estudo, relatam que dados apresentados por veterinários entrevistados na cidade de Montes Claros/ MG, dos 539 casos registrados em cães nas clínicas destacam-se as patologias: dermatopatias com 107 casos, sendo 43 classificados como otites, sendo responsáveis por 19,85% dos casos atendidos.

INTERAÇÃO ENTRE DUREZA DA ÁGUA E CLORIDRATO DE CLOREXIDINA NO CONTROLE DE MICRORGANISMOS DE TEGUMENTO CANINO

Souza *et al.* (2009), em sua pesquisa no município de Santa Maria/RS, relatam a prevalência das dermatopatias diagnosticadas, e detectaram que 103 de 502 casos eram dermatopatias bacterianas (20,5%). Já Cardoso *et al.* (2011), em sua revisão de 257 casos envolvendo dermatopatias, 30,35% foram diagnosticados como desordens bacterianas.

Hnilica (2012) propõe que, para o tratamento de piodermites superficiais ou profundas, sendo essas primárias ou secundárias, faça-se uso de antibióticos sistêmicos e o uso tópico, como xampus à base de clorexidina ou com peróxido de benzoíla. Ambos os medicamentos são os mais adotados nas clínicas veterinárias como uso tópico profilático e terapêutico. A clorexidina pode variar na concentração de 0,2 a 5% dos produtos comercializados (BOOTH; MCDONALDM, 1992)

Santos e Alessi (2011) afirmam que a pele compõe o maior e mais investigável órgão do corpo animal, sendo essencial para a manutenção da vida. Assim, para que um microrganismo desenvolva uma infecção na pele, esse precisa superar os mecanismos de defesa imune e não imune da pele. Destacam-se as imunorregulações realizadas pelos queratinócitos, células de Langerhans, linfócito, bem como as secreções (suor e cerume) (RAMSEY; TENNANT, 2010).

O tegumento forma uma barreira fundamental entre os outros sistemas do corpo e os elementos do mundo externo a ele. Torna-se um dos maiores e mais extensos sistemas orgânicos do corpo (COLVILLE; BASSERT, 2010). A pele junto com seus anexos forma o sistema tegumentar que, em geral, possui quatro padrões anatômicos que diferem principalmente em relação à espessura. Os padrões incluem pele com pelos, pele escrotal, coxins e plano nasal. A pele com pelos caracteriza-se por possuir uma espessura variável de 0,5 a 5 mm no cão e 0,4 a 2 mm no gato. Sendo que a pele escrotal é a mais fina seguida por aquela ao redor dos olhos, os coxins e o plano nasal são mais espessos (SOUZA *et al.*, 2009).

Assim, a espessura da pele varia de acordo com sua localização anatômica, bem como entre as inúmeras espécies e raças. De acordo com Santos e Alessi (2011), a pele possui origem ectodérmica, endodérmica e crista neural. Histologicamente é dividida em três camadas distintas: epiderme, derme e hipoderme.

A epiderme é a camada mais superficial da pele, constituída de epitélio pavimentoso estratificado, composta principalmente de queratinócitos e contendo pequeno número de células de Langerhans, melanócitos, células de Merkel, e linfócitos migratórios (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004). Santos e Alessi (2011) completam que, na epiderme 85% das células são queratinócitos,

INTERAÇÃO ENTRE DUREZA DA ÁGUA E CLORIDRATO DE CLOREXIDINA NO CONTROLE DE MICRORGANISMOS DE TEGUMENTO CANINO

seguidos de 5% de melanócitos, de 3 a 8% de células de Langerhans e 2% de células de Merkel. E, ainda, a epiderme pode ser dividida em cinco camadas, da mais superficial para a mais interna: estrato córneo, estrato lúcido (presente apenas na pele espessa), estrato granuloso, estrato espinhoso, estrato basal.

Quanto à derme, Junqueira e Carneiro (2004) afirmam que se localiza logo abaixo da epiderme, separadas pela camada basal. Formada por tecido conjuntivo que se apoia no panículo adiposo. Suas camadas, papilar e reticular, são formadas por tecido conjuntivo frouxo e conjuntivo denso respectivamente, sendo em parte responsável pela elasticidade da pele. Barbosa (2009) completa que a derme também contém os apêndices da epiderme, músculos eretores dos pelos, nervos e vasos sanguíneos e linfáticos, glândulas sudoríparas e sebáceas

A hipoderme ou tecido subcutâneo localiza-se logo abaixo da derme. Constituída principalmente por tecido adiposo e funcionando como isolante térmico e absorvente de choques mecânicos (COLVILLE; BASSERT, 2010). De acordo com Barbosa (2009), a hipoderme tem origem mesenquimal, sendo a camada mais profunda e geralmente a mais espessa da pele. Contudo, em algumas áreas, por motivos funcionais, não existe o tecido subcutâneo como nos lábios, bochecha, pálpebra, ouvido externo e ânus.

Conforme Santos e Alessi (2011), a dermatopatologia emprega termos próprios para as lesões que se formam na pele, singulares para identificação e classificação das patologias. Entre as várias descritas, as que envolvem lesões bacterianas são normalmente a pústula, escoriação, abscesso, furunculose e úlcera. Mueller (2010) já tratava que os agentes microbianos patogênicos proliferam na superfície do estrato córneo e no lúmen folicular, e apenas eventualmente penetram na barreira epitelial, causando ulceração e furunculose.

Ao identificar as doenças dermatológicas mais frequentes em pequenos animais, especialmente nos cães (*Cannis familiares*), percebe-se grande participação de infecções primárias ou secundárias de cepas bacterianas, principalmente de *Staphylococcus* spp. O tratamento tópico com shampoos é auxiliar à terapia sistêmica das piodermites. Todavia, caso o tratamento seja instituído de forma ineficiente, a população microbiana típica da pele dos animais pode sofrer seleção e resistência na utilização dessas drogas.

A pele é um órgão constituído por muitas estruturas, sendo elas todas interligadas, o que vai conferir uma proteção ao organismo. As defesas do organismo constituem principalmente em: defesa física, defesa imunológica e mecanismos de reparo. O estrato córneo, epiderme, membrana

INTERAÇÃO ENTRE DUREZA DA ÁGUA E CLORIDRATO DE CLOREXIDINA NO CONTROLE DE MICRORGANISMOS DE TEGUMENTO CANINO

basal e derme superficial são as defesas mais importantes da pele, pois formam uma barreira para a entrada de microrganismos. O queratinócito é uma das células mais importantes na pele. Ele produz citocinas, fator de necrose tumoral, fatores de crescimento e fatores de crescimento derivado das plaquetas, participando assim da imunidade passiva e adaptativa e da comunicação entre ambas (MCGAVIN; ZACHARY, 2009).

As barreiras de defesa da pele conferem ao animal proteção do organismo. A cobertura pilosa serve como uma barreira física contra radiação ultravioleta, extremos de temperatura e pequenos traumatismos. As vibrissas e neurônios sensoriais dão ao animal consciência do ambiente no qual está, propiciando tomada de decisões para a sobrevivência. O estrato córneo impede a saída de água do meio interno para o externo, entre outras formas de defesa física. As defesas do organismo contra as forças mecânicas são proporcionadas pela resiliência³ do estrato córneo, os coxins proporcionam proteção a traumatismos na superfície, por proporcionar alguma absorção (MCGAVIN; ZACHARY, 2009).

Milani (2009) afirma que na pele dos cães existem bactérias residentes, transitórias e patogênicas. As bactérias residentes vivem em simbiose com o animal; entre elas podemos encontrar estafilococos coagulase-negativos (*S. epidermidis*, *S. cohnii*, *S. saprophyticus*, *S. hominis*, *S. haemolyticus*, *S. capitis*, *S. warneri*, *S. xylosus*, *S. simulans*, *S. sciuri*); estafilococos coagulase-positivos (*S. intermedius*), *Micrococcus* sp.; estreptococos alfa-hemolíticos e *Acinetobacter* sp. As bactérias transitórias (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Corynebacterium* sp. e *Bacillus* sp., *Streptococcus*, *Alcaligenes* sp. e *Staphylococcus* sp.) podem não se multiplicar em condições normais da pele, mas podem provocar infecções secundárias. *Malassezia pachydermatis* são microrganismos comensais da pele, e, quando ocorre alguma alteração no microambiente, eles podem transitar da forma comensal para o parasitismo.

A imunidade inata é aquela que combate rapidamente os patógenos nos seus primeiros dias, até que a imunidade adaptativa seja desenvolvida. A primeira etapa da defesa inata é a barreira do estrato córneo, que irá impedir a adesão de microrganismos e proporciona uma superfície antimicrobiana. Essa barreira superficial inclui a microbiota residente da pele, o qual irá competir pelo local de adesão e pelos nutrientes, essa microbiota também produz antimicrobianos que irão impedir a colonização dos microrganismos patógenos. A imunidade adaptativa irá se desenvolver mais tardiamente, já que os linfócitos precisam aumentar em número para que esse tipo de

³ Resiliência, neste contexto, significa a capacidade de um material e organismos em absorver energia sem sofrer deformação plástica (POLETTTO; KOLLER, 2008).

INTERAÇÃO ENTRE DUREZA DA ÁGUA E CLORIDRATO DE CLOREXIDINA NO CONTROLE DE MICRORGANISMOS DE TEGUMENTO CANINO

imunidade ocorra. Os principais integrantes da imunidade adaptativa superficial são os queratinócitos, células dendríticas, linfócitos e células endoteliais (MCGAVIN; ZACHARY, 2009).

Na epiderme, existem portas de entrada que incluem os poros, disseminação hematogênica por via direta ou por pele lesionada. As infecções bacterianas podem variar de diversas formas, tanto na localização, morfologia, distribuição e gravidade dos sinais clínicos. Essa variação ocorre de acordo com o organismo que está envolvido e até mesmo da resposta imunológica do outro hospedeiro (MCGAVIN e ZACHARY, 2009).

Entende-se por piodermite qualquer microrganismo que produza pus na pele, sendo que é mais utilizado quando se refere a infecções bacterianas cutâneas. A piodermite pode ser dividida em primária e secundária. A primária é quando a infecção é cutânea, decorrente de uma lesão não recorrente, e que não reaparecerá depois do tratamento, ocasionada inicialmente pela bactéria. A secundária ocorre com mais frequência, devido a um agente causador primário e recorrente, o que irá comprometer a resistência superficial da pele (ROSSER JUNIOR, 2009).

Hnilica (2012) define a piodermite superficial como uma infecção bacteriana que envolve os folículos pilosos e erosão superficial da camada córnea sem atingir a camada basal da epiderme, sendo quase sempre secundária a uma doença base, como nas alergias ou doenças endócrinas. Reforçando, ainda, Barbosa (2009) descreve que as lesões da piodermite superficial se caracterizam como: pústulas, pápulas, crostas, eritema, colarinhos epidérmicos, alopecia, descamação e hiperpigmentação.

Continuando a definir, Hnilica (2012) fala que, na piodermite profunda, a infecção rompe a camada basal da epiderme e os folículos pilosos comprometendo ocasionalmente o tecido subcutâneo, produzindo furunculose e celulite. Barbosa (2009) descreve as lesões profundas como: crostas, eritema, alopecia, bolhas hemorrágicas, exsudação, ulceração, erosões e fistulação.

Rosser Junior (2009) ainda complementa que a infecção será causada por colonização ou invasão de bactérias na pele, principalmente por *Staphylococcus intermedius*. Na crônica, pode haver colonização por bactérias oportunistas, como *Proteus spp*, *Pseudomonas spp* e *Escherichia coli*. Na piodermite profunda, existem bactérias anaeróbicas, como *Bacteroides spp.*, *Fusobacterium spp.*, *Clostridium spp*, *Peptostreptococcus spp.* e *Porphyromonas spp*.

Milani (2009) afirma que o *Staphylococcus intermedius* é um microrganismo residente da pele, porém é o causador mais comum das piodermites superficiais, quando há um desequilíbrio na superfície na pele com uma colonização excessiva desses microorganismos inicia-se uma infecção

INTERAÇÃO ENTRE DUREZA DA ÁGUA E CLORIDRATO DE CLOREXIDINA NO CONTROLE DE MICRORGANISMOS DE TEGUMENTO CANINO

bacteriana. A infecção piogênica é recorrente quando o *S. intermedius* invade o estrato córneo e o folículo piloso, o que resultará na formação de pústulas não foliculares, cujo rompimento desta ocasionará colaretos epidérmicos e crostas. As piodermites profundas são em camadas mais profundas da pele, sendo assim, são uma evolução das superficiais.

Em um levantamento histórico, Zanatta e Rosing (2007), em sua pesquisa sobre clorexidina e mecanismo de ação em evidências atuais de sua eficácia no contexto do biofilme supragengival, mostra que a clorexidina foi sintetizada nos anos 40 e introduzida no mercado em 1954 como um antisséptico para ferimentos na pele, um detergente catiônico, da classe das bisbiguanidas, disponível nas formas de acetato, hidrocloreto e digluconato, sendo este último o sal mais comumente usado em formulações comerciais.

Booth e McDonald (1992) consideram que a clorexidina estabelece rápida ação bactericida, tanto contra gram-positivas como gram-negativas e outros microrganismos. A clorexidina não é inativada por pequenas quantidades de matéria orgânica, sendo amplamente utilizado como antisséptico cirúrgico e dentário. É um composto sintético da família das biguanidas mais usado no meio hospitalar, em pré-operatórios de pacientes, limpeza de feridas e antisséptico profilático.

A clorexidina age sobre as bactérias ao ligar-se à membrana celular provocando adsorção da membrana, desorganiza-a e leva à perda de componentes intracelulares. O tempo de ação da clorexidina é de acordo com a concentração, quanto maior, mais rápida é a perda dos componentes e, além disso, ela apresenta uma excelente ação residual, permanecendo na pele por, no mínimo, seis horas. E, ainda, tem baixa irritabilidade de mucosa e outros tecidos, além de não ser absorvida pela pele intacta (SPINOSA *et al.*, 2011).

Kalil *et al.* (2009), em sua avaliação experimental da atividade antibiofilme do digluconato de clorexidina em bases detergentes, concluem que a ação das bases detergentes auxilia na desestabilização da estrutura do biofilme estafilocócico, sendo maior que a mera solução aquosa de clorexidina 1%. Assim, os sabões permanecem sendo as formas farmacêuticas mais indicadas para a inativação de biofilmes, o que também proporciona melhores resultados da clorexidina.

Mueller (2010), em dicas para terapia dermatológica tópica, destaca que os xampus são adequados para diminuir ou eliminar temporariamente o prurido e odor, bem como melhoram a aparência da pele e pelos. E em terapias de infecções profundas, os medicamentos tópicos podem ser úteis no tratamento adjuvante, sendo que a maioria dos shampoos requer um tempo de contato de 10 a 15 minutos para melhor eficiência.

INTERAÇÃO ENTRE DUREZA DA ÁGUA E CLORIDRATO DE CLOREXIDINA NO CONTROLE DE MICRORGANISMOS DE TEGUMENTO CANINO

Pinto (2002), em seus estudos sobre os efeitos da clorexidina a 0,5% e 5% na mucosa oral de rato wistar, dos resultados obtidos conclui-se que existe uma grande diferença entre os efeitos dependentes da concentração e do tempo de ação do gluconato de clorexidina, sendo que tem capacidade citotóxica evidentemente lesiva quando utilizado na concentração de 5%, e grande valor terapêutico na concentração de 0,5%.

Contudo, Spinosa *et al.* (2011) destacam algumas desvantagens da clorexidina, uma delas é o fato de ser ototóxica, sendo imprescindível evitar o uso no conduto auditivo. Também aborda que o uso com águas mineralizadas pesadas pode diminuir seu efeito, e em soluções salinas ocorre a precipitação e inativação da clorexidina.

O município de Montes Claros está inserido na região do Norte de Minas Gerais, dentro da região conhecida como “Polígono da Seca”. O clima dominante na região é o tropical semiúmido, com chuva concentradas no verão e temperaturas elevadas. As coordenadas geográficas da sede do município correspondem a 16°50’52” de latitude sul, 43°55’29” de longitude oeste e encontra-se a 646m de altitude (GOMES, 2007).

Borges (2007) em sua dissertação sobre a qualidade da água do rio Vieira, afirma que a cidade de Montes Claros se situa na bacia hidrográfica do Rio Verde Grande, bacia federal, na depressão Sanfranciscana. Planície aluvial com cotas altimétricas que variam de 550m a 1250m no Planalto do Espinhaço. Essas cotas facilitam o escoamento subterrâneo e a evolução de um terreno cárstico e a deposição do carbonato de cálcio na água.

Nas características de um processo de “carstificação” intervêm diversos fatores geológicos. Nesse processo, existe um mecanismo básico que é a dissolução pela água de uma rocha carbonática (solúvel) fissurada. São peculiares aos carstes as entradas de águas de superfície em condutos localizados (sumidouros) (FEITOSA; MANOEL FILHO, 2000, p. 164)

As análises da água do rio Vieira feitas por Borges (2007) além dos parâmetros da concentração de metais pesado, óleos graxos e microrganismos, constataram-se, também valores da dureza e concentração de cálcio. E esses últimos apesar de respeitarem o limite de qualidade para rios de classe 2, que não ultrapassa os 500mg/L, ambos os valores também não abaixavam para menos de 100mg/L ao longo do ano, chegando ao limite máximo em algumas datas.

França *et al.* (2014), em sua pesquisa sobre análises físico-químicas e microbiológicas da água de destiladores dos laboratórios da Universidade Estadual de Montes Claros – MG, concluíram que a água da cidade de Montes Claros apresenta em sua maior composição alto teor de Ca⁺, em

INTERAÇÃO ENTRE DUREZA DA ÁGUA E CLORIDRATO DE CLOREXIDINA NO CONTROLE DE MICRORGANISMOS DE TEGUMENTO CANINO

relação aos dados da qualidade da água de Janaúba (município próximo), em que a concentração de Ca^{+} é pequena.

Pires *et al.* (2015) fizeram um estudo no Município de Montes Claros-MG comparando a prevalência de urolitíases em cães que fazem consumo de água fornecida pelo serviço de abastecimento do município em questão e o de Viçosa-MG. Através da análise físico-química da água fornecida pelos serviços de abastecimento da cidade de Montes Claros e Viçosa, constatou-se o nível de dureza das amostras da água. Assim, a cidade de Montes Claros possui dureza de 89,8 mg/L, uma água mais dura do que a água de Viçosa, que foi de 24,7 mg/L. De acordo com a classificação citada pela Associação Portuguesa de Distribuição e Drenagem de Águas (2012), a água de Viçosa é mole e a de Montes Claros é moderadamente dura.

O objetivo, com este estudo, foi avaliar a eficiência do gluconato de clorexidina em diferentes concentrações, diluídas em água destilada e na água fornecida pelo sistema de abastecimento de Montes Claros/MG, frente a microrganismos comumente encontrados nas lesões de pele de cães com piodermite.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo caracterizou-se por ser experimental, de corte transversal, com análise quantitativa e qualitativa. A população deste estudo foi composta pela microbiota comum na pele dos cães, sendo o interesse desta pesquisa farmacológica. A amostra da pesquisa foi obtida a partir do banco de microrganismos do laboratório das Faculdades Integradas do Norte de Minas – FUNORTE de Montes Claros/MG, sendo selecionadas aquelas bactérias contidas no banco de microrganismos, citadas na literatura como as mais prevalentes na pele de cães (ALMEIDA, 2011).

O primeiro passo constituiu na preparação dos discos de papel-filtro com 0,5cm de diâmetro, previamente autoclavados e embebidos nas soluções que foram testadas, sendo elas: clorexidina a 0,5% diluída em água destilada na proporção de 1:2, e na água encanada na mesma proporção; clorexidina a 1% diluída em água destilada na proporção de 1:2, e na água encanada na mesma proporção; clorexidina a 2% diluída em água destilada na proporção de 1:2, e na água encanada na mesma proporção. A proporção foi determinada com a maior parte de água, devido ao uso empírico em banhos terapêuticos, nos quais se utilizam mais água.

INTERAÇÃO ENTRE DUREZA DA ÁGUA E CLORIDRATO DE CLOREXIDINA NO CONTROLE DE MICRORGANISMOS DE TEGUMENTO CANINO

À parte, foram preparados os meios de cultura para isolamento bacteriano. Foram utilizadas placas com os meios de cultura Ágar Sal Manitol, para isolamento de *Stapylococcus spp.* gram-positivos, meio Ágar MacConkey e Ágar Sangue para isolamento de gram-negativos e beta-hemolíticos (RIBEIRO; STELATO, 2011).

Para cada swab coletado, foi feita semeadura em estrias por esgotamento em placas de Petri. Cada amostra foi preparada em triplicata nos meios de cultura. As placas foram incubadas em atmosfera de aerobiose a 37° C, durante 48 horas e posteriormente observadas para identificação do crescimento das colônias (Imagem 1) (RIBEIRO; STELATO, 2011).

Imagem 1 – Crescimento bacteriano nos meios de cultura Ágar Sal Manitol e Ágar Sangue.



Fonte: arquivo da pesquisa

As colônias encontradas em cada meio de cultura foram repicadas, cada uma em triplicata, em tubos com meio TSA inclinado e incubado à temperatura de 37°C. A seguir, de cada tubo, foi coletados a colônia por meio da alça de repicagem e diluída em solução fisiológica até atingir o grau de opacidade, de acordo com a escala de turbidez McFarland. Após esse procedimento, foram inoculados 100 µl dessa solução em cada placa de meio de cultura Ágar Mueller-Hinton (NCCLS, 2003).

Em cada placa, foram colocados três discos equidistantes, cada um com uma das soluções que foram testadas. As placas foram incubadas a 37°C, por 72 horas, em atmosfera de aerobiose. Após a incubação, foi medido o diâmetro do halo de inibição de crescimento bacteriano de cada um dos discos, utilizando o paquímetro em milímetros. O halo de inibição correspondeu à área em

INTERAÇÃO ENTRE DUREZA DA ÁGUA E CLORIDRATO DE CLOREXIDINA NO CONTROLE DE MICRORGANISMOS DE TEGUMENTO CANINO

torno do disco de medicamento em que o crescimento bacteriano foi inibido (Imagem 2) (RIBEIRO; STELATO, 2011). As médias dos dados foram comparadas através do teste Scott – Knott no programa estatístico SAEG®.

Imagem 2 – Medição do halo de inibição de crescimento bacteriano pela clorexidina



Fonte: arquivo da pesquisa.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 27 amostras obtidas, no grupo controle, houve crescimento bacteriano em todas, sem halo de inibição. Dentre os microrganismos, houve diferença estatística significativa pelo teste Scott-Knott ($p \leq 0,05$). O *Staphylococcus epidermits* foi o mais sensível, sendo seguido pelo *Staphylococcus aureus* e as *Enterobacteriaceae* mostrando-se os mais resistentes dentre os microrganismos avaliados (Tabela 1). Entretanto, quando se compararam as concentrações de clorexidina diluída em água destilada e em água tratada, não houve diferença estatística significativa entre os tipos de água e nem entre as diluições. Essa igualdade foi observada dentro dos dados dos três micro-organismos.

INTERAÇÃO ENTRE DUREZA DA ÁGUA E CLORIDRATO DE CLOREXIDINA NO CONTROLE DE
MICRORGANISMOS DE TEGUMENTO CANINO

Tabela 1 - Médias de diâmetro de halo de microrganismos típicos da pele cães saudáveis ao antibiograma de Clorexidina diluída em água

Microrganismo	Média do diâmetro de inibição do halo*
<i>Staphylococcus epidermits</i>	1,9177 cm A
<i>Staphylococcus aureus</i>	1,6466 cm B
<i>Enterobacteriaceaes</i>	1,1611 cm C

*médias de diâmetros de halo acompanhadas por letras diferentes apresentam diferença estatística significativa ao teste Scott-Knott a 5% de probabilidade

Monteiro *et al.* (2001), em sua pesquisa sobre a antissepsia de pele de cães, utilizando-se clorexidina a 2%, povidine a 10% e álcool iodado a 5%, detectaram que a clorexidina é um excelente bactericida, já que, na amostra, apenas 20% das bactérias expostas ao antisséptico apresentaram resistência. Todavia, esses 20% eram compostos por *Bacillus sp.*, resultado esperado, já que a clorexidina não apresenta efeito sobre microrganismos que esporulam.

Medeiros *et. al* (2009), em seu estudo, relatam que o nível de sensibilidade do *Staphylococcus sp.* na pele de bovinos está diretamente ligado ao tempo de exposição da Clorexidina, nos tempos de 15", 30", 60" e 300", observou que 82,20%, 88,90%, 93,30% e 93,30% dos isolados foram sensíveis nos tempos estudados. Quando comparado ao iodo, causa menor reação tecidual nas diluições recomendadas.

González (2011), em sua dissertação sobre a capacidade de inativação de desinfetantes sobre microrganismos isolados de superfícies fixas em áreas críticas de um hospital veterinário de ensino, verificou que a clorexidina nas concentrações de 0,125%, 0,25% e 0,5% em superfícies, nos tempos de 1", 5" e 10", foram eficientes na inativação de *Staphylococcus sp.* e *Enterobacter sp.*

CONCLUSÃO

A partir do presente estudo verificou-se que a clorexidina na concentrações de 0,5%, 1% e 2% não apresentou diferença quanto à eficácia na inibição dos microrganismos utilizados na pesquisa. Assim, pelo custo benefício, a concentração de 0,5% de clorexidina torna-se mais viável nos tratamentos tópicos de pele em cães. Entretanto, o *Staphylococcus epidermits* mostrou-se mais sensível à clorexidina do que os demais microrganismos, sendo que a água de Montes Claros/ MG, apesar da sua dureza, não influenciou significativamente na eficiência do antisséptico.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, G. R. **Isolamento de Staphylococcus spp. Multiresistente da pele de cães saudáveis e com piodermites**. Dissertação, UFG. Goiânia, 2011. Disponível em: <https://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tde/854?locale=pt_BR>. Acesso em: 22 Jan. 2016.
- BARBOSA, D. C. **Participação bacteriana nas dermatopatias piogênicas em cães de abrigo e padrões de sensibilidade do *Staphylococcus intermedius* aos antimicrobianos**. Dissertação, UFPR. Curitiba, 2009. Disponível em: <<http://livros01.livrosgratis.com.br/cp131737.pdf>>. Acesso em: 26 Jan. 2016.
- BOOTH, N. H.; MCDONALD, L. E. **Farmacologia e Terapêutica em Veterinária**. [trad. Penildon Silva... *et al.*]. Ed. Guanabara Koogan S.A. Rio de Janeiro, 1992.
- BORGE, L. **Qualidade da água do rio vieira sob a influência da área urbana de Montes Claros-MG**. Dissertação, UFU. Uberlândia, 2007. Disponível em: <<http://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/433/1/QualidadeAguaRio.pdf>>. Acesso em: 03 fev. 2016.
- CARDOSO, M. J. L.; MACHADO, L. H. A.; MELUSSI, M.; ZAMARIAN, P.; CARNIELLI, C. M.; FERREIRA JUNIOR, J. C. M.; **Dermatopatias em cães: revisão de 257 casos**. **Archives of Veterinary Science**, v. 16, n. 2, p. 66-74, 2011.
- COLARES, A. V. M.; BRAGA, S. B. ALMEIDA, P. N. M. **Levantamento das Principais Patologias que Acometem Cães de Companhia no Município de Montes Claros – MG**. Congresso de Medicina Veterinária de Especialidades, Curitiba, 2015.
- COLVILLE, T. P.; BASSERT, J. M. **Anatomia e fisiologia clínica para medicina veterinária**. [trad. Verônica Barreto Novais...*et al.*]. 2ª ed. Elsevier. Rio de Janeiro, 2010.
- FEITOSA, F. A. C.; MANOEL FILHO, J. **Hidrologia – conceitos e aplicações**. CPRM/RFO, LABHID-UFPE. 2ª ed. Fortaleza, 2000.
- FRANÇA, A. L.; FONSECA, A. L.; OLIVEIRA, H. M. B.; SILVA, R. A. R.; SILVA, R. F.; SOARES, L. C.; CARVALHO, N. P. M. **Análises físico-químicas e microbiológicas da água de destiladores dos laboratórios da Universidade Estadual de Montes Claros – MG**. **Anais do Fórum de Ensino, Pesquisa, Extensão e Pesquisa - FPEG, Unimontes. Montes Claros, 2014**. Disponível em: <<http://www.fepeg2014.unimontes.br/?q=publicacao-anais&page=13>> Acesso em: 08 Ago. 2016.
- GASPARETTO, N. D.; TREVISAN, Y. P. A.; ALMEIDA, N. B.; NEVES, R. C. S. M.; ALMEIDA, A. B. P. F.; DUTRA, V.; COLODEL, E. M.; SOUZA, V. R. F. **Prevalência das doenças de pele não neoplásicas em cães no município de Cuiabá, Mato Grosso**. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 3, p. 359-362, 2013.

GOMES, F. S. **Discursos Contemporâneos sobre Montes Claros: (re) estruturação urbana e novas articulações urbano-regionais**. Dissertação. Escola de Arquitetura da UFMG. Belo Horizonte, 2007. Disponível em: <URL:<http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/bitstream/handle/1843/RAAO-7BMQ8A>>. Acesso em: 20 dez. 2014.

GONZÁLEZ, N. H. **Capacidade de inativação de desinfetantes sobre microrganismos isolados de superfícies fixas em áreas críticas de um hospital veterinário de ensino**. Dissertação. UFRGS. Porto Alegre, 2011. Disponível em: <<http://www.fmvz.unesp.br/rvz/index.php/rvz/article/view/704>>. Acesso em: 30 abr. 2017.

HNILICA, K. A. **Dermatologia de pequenos animais: Atlas colorido e guia terapêutico**. [trad. Aline Santana da Hora... *et al.*]. 3ed. Elsevier. Rio de Janeiro, 2012.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 10ª Ed. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro, 2004.

KALIL, A. J.; MEIRA, C. B.; THOMAZ, H. T.; ARANTES, A. B.; ROSA E. A. R. Avaliação experimental da atividade antibiofilme do digluconato de clorexidina em bases detergentes. **Revista de Estudos de Biologia**, v. 31, n. 73/74/75, p.75-80, 2009.

McGAVIN, M. D.; ZACHARY, J. F. **Bases da Patologia em Veterinária**. Elsevier, 4ª ed. Rio de Janeiro, 2009.

MEDEIROS, E. S.; SANTOS, M. V.; PINHEIRO JUNIOR, J. W.; FARIA, E. B.; WANDERLEY, G. G.; TELES, J. A. A.; MOTA, R. A. Avaliação in vitro da eficácia de desinfetantes comerciais utilizados no pré e pós-dipping frente amostras de *Staphylococcus* spp. isoladas de mastite bovina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 29, n. 1, p. 71-75, 2009.

MILANI, B. C. **Piodermites bacterianas em cães - Revisão de literatura**. Monografia, UFERSA. Curitiba, 2009. Disponível em: <https://www.equalis.com.br/arquivos_fck_editor/monografia_40.pdf>. Acesso em: 02 Ago 2016.

MONTEIRO, V. L. C.; COELHO, M. C. O. C.; MOTA, R. A.; CARRAZZONI, P. G.; TENÓRIO FILHO, F.; LIMA, E. T.; MONTEIRO, F. G. C. Anti-sepsia de pele de cães utilizando-se clorhexidina a 2%, povidine a 10% e álcool iodado a 5%. **Revista de Ciência Animal**, v. 11, n. 1, p. 7-12, 2001.

MUELLER, R. S. **Terapia dermatológica tópica**. In: MADDISON, J.E. PAGE, S.W. CHURCH, D.B. (Org.) *Farmacologia clínica de pequenos animais*. 2 ed. Elsevier. Rio de Janeiro, 2010.

NCCLS. **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard— Eighth Edition**. NCCLS document M2-A8 [ISBN 1-56238-485-6]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003.

NONATO, R. D. T. **Prevalência das principais dermatopatias em cães procedentes da região metropolitana de Belém – PA.** 2008, TCC – UCB, Belém, 2008. Disponível em: URL: <<http://www.qualittas.com.br/uploads/documentos/Prevalencia>>. Acesso em: 05 Ago. 2016.

PINTO, L. P.; SOUZA, B. L.; LAGRANGE, M. B. S.; CARDOSO, L. B. Q.; ANDRADE, M. C. Estudo dos efeitos do gluconato de clorexidina a 05% e 5% na mucosa oral de ratos wistar. **Revista da Faculdade de Odontologia**, Porto Alegre, v. 43, n. 1, p. 3-7. 2002.

PIRES, J. S. C.; FONSECA, L. M. P.; ALMEIDA, P. N. M.; DORNAS, R. F. **Comparação da prevalência de urolitíase em cães que fazem o consumo de água fornecida pelos serviços de abastecimento das cidades de Montes Claros-MG e Viçosa-MG.** TCC, FUNORTE. Montes Claros, 2015.

POLETTI, M.; KOLLER, S. H. Contextos ecológicos: promotores de resiliência, fatores de risco e de proteção. **Estudos de Psicologia**, v. 25, n. 3, p. 405-416, 2008.

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J.; LEONARD, F. C. **Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas** [trad. Lúcia Helena Niederauer e Rita Denise Niederauer Weiss]. Porto Alegre: Artmed, 2005.

RAMSEY, I. K.; TENNANT, B. J. **Manual de Doenças Infecciosas em Cães e Gatos.** Editora Roca LTDA, São Paulo, p.VII, 2010.

RIBEIRO, M. C.; STELATO, M. M.; **Microbiologia prática: aplicações de microbiologia básica – bactérias, fungos e vírus.** 2ª Ed. Atheneu. São Paulo, 2011.

ROSSER JUNIOR, E. J. **Piodermites.** In: BIRCHARD, S. J.; SHERDING, R. G. (Eds) Manual Saunders clínica de pequenos animais. Roca, 3ª ed. São Paulo, 2009.

SANTOS, R. L.; ALESSI, A. C. **Patologia Veterinária.** Roca: São Paulo, 2011

SOUZA, T. M.; FIGHERA, R. A.; SCHMIDT, C.; RÉQUIA, A. H.; BRUM, J. S.; MARTINS T. B.; BARROS C. S. L. Prevalência das dermatopatias não-tumorais em cães do município de Santa Maria, Rio Grande do Sul (2005-2008). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 2, p. 157-162, 2009.

SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNADI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária.** 5ª Ed. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro, 2011.

ZANATTA, F. B.; ROSING, C. K. Clorexidina: mecanismo de ação e evidências atuais de sua eficácia no contexto do biofilme supragengival. **Revista Science Advances**, v. 1, n. 2, p. 35-43, 2007.