

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Veterinária



Dissertação

“Eficácia de extratos vegetais na desinfecção de superfícies contaminadas com fungos do complexo *Sporothrix*”

Caroline Bohnen de Matos

Pelotas, 2014

CAROLINE BOHNEN DE MATOS

“Eficácia de extratos vegetais na desinfecção de superfícies contaminadas com fungos do complexo *Sporothrix*”.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área do conhecimento: Sanidade Animal).

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Marlete Brum Cleff

Co-orientadora: Dr^a. Isabel Martins Madrid

Pelotas, 2014

Dados de catalogação na fonte:

(Gabriela Machado Lopes – CRB-10/1842)

M433e Matos, Caroline Bohnen

Eficácia de extratos vegetais na desinfecção de
superfícies contaminadas com fungos do complexo
*Sporothrix*dubação / Caroline Bohnen Matos ; orientadora
Marlete Brum Cleff - Pelotas,2014.

83 f. : il.

Banca examinadora:

Prof^a. Dr^a. Márcia de Oliveira Nobre - UFPel

Prof^a. Dr^a. Melissa Orzechowski Xavier - FURG

Prof^a. Dr^a. Renata Osório de Faria - UFPel

Prof^a Dr^a. Marlete Brum Cleff– UFPel (Orientadora)

Agradecimentos

Agradeço aos meus pais Odilon e Vera, por estarem presentes não só nestes momentos, mas em toda a minha vida. Não tenho palavras que expressem meu amor e agradecimento por vocês.

Ao meu amor, Emanuel, agradeço por se mostrar um grande amigo, companheiro, pelo amor, carinho, paciência, compreensão e incentivo em todos os momentos.

Aos amigos, colegas e professores do Laboratório de Micologia da Faculdade de Veterinária UFPel (MicVet-UFPel), em especial ao professor Mário Carlos Araújo Meireles e a professora Renata Osório de Faria, pelos ensinamentos e apoio no desenvolvimento deste trabalho. À todas as pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram com este trabalho, bolsistas, estagiárias e funcionários.

Ao Fitopeet (Grupo de pesquisa, ensino e extensão em produtos naturais na clínica médica veterinária) pela amizade, apoio, ensinamentos e boas risadas.

À minha orientadora e amiga, Marlete Brum Cleff (Eme), meu muito obrigada pela confiança, incentivo, compreensão e ensinamentos em todos os momentos.

À amiga e co-orientadora, Isabel Martins Madrid (Isabelzitcha), meu agradecimento pelas horas dedicadas, pelo conhecimento compartilhado, pelos momentos vivos juntas e pelas muitas risadas proporcionadas.

Às minhas amigas, Claudinha, Seminha e Karina pelo companheirismo, amizade, ajuda nos momentos difíceis, conversas, trabalhos e principalmente pelos momentos de diversão e risadas que passamos juntas.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos, e aos demais órgãos financiadores CNPq e FAPERGS.

Ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária, a todos professores, alunos e servidores da Faculdade de Veterinária.

Agradeço por último, mas não menos importante, aos animais, que são a razão pela qual escolhi esta profissão

“O cientista não é o homem que fornece as verdadeiras respostas;
é quem faz as verdadeiras perguntas”.
(Claude Lévi-Strauss)

RESUMO

MATOS, Caroline Bohnen. **Eficácia de extratos vegetais na desinfecção de superfícies contaminadas com fungos do complexo *Sporothrix***. 2014. 83f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

A esporotricose é a principal micose dos felinos domésticos, apresentando grande importância por tratar-se de uma zoonose envolvendo seis espécies fúngicas pertencem ao complexo *Sporothrix*. O isolamento fúngico de ambientes domiciliares e veterinários já foi comprovado, revelando-se uma importante fonte de infecção para animais e humanos. A busca de produtos alternativos aos desinfetantes utilizados normalmente é crescente, principalmente pelos constantes relatos de resistência por parte dos microrganismos. O *Origanum vulgare* e o *Rosmarinus officinalis* destacam-se por apresentarem atividade antimicrobiana comprovada. Diante do exposto, o objetivo do estudo foi avaliar a eficácia de desinfetantes e de extratos vegetais na eliminação de fungos do complexo *Sporothrix*, e relatar um caso clínico de dermatite multifatorial em um canino. Para isso, testes *in vitro* foram realizados através da técnica de exposição direta para avaliar a ação da tintura, do extrato aquoso e do extrato hidroalcoólico de *O. vulgare* e *R. officinalis* frente a isolados clínicos de cães e gatos com esporotricose. Posteriormente, os extratos vegetais que demonstraram melhores resultados no teste de exposição direta foram avaliados em relação a eliminação do *Sporothrix* spp de diferentes superfícies contaminadas, utilizando também diferentes desinfetantes. Como modelo experimental foram utilizadas superfícies de aço inoxidável, fórmica e piso cerâmico, testadas em quadruplicata através da técnica de *spray-wipe-spray*. De acordo com o estudo, o extrato hidroalcoólico e a tintura de *O. vulgare* e *R. officinalis* foram eficazes na eliminação de fungos do complexo *Sporothrix*, não havendo diferença em relação a superfície utilizada, inclusive apresentando melhores resultados quando comparado aos produtos comerciais utilizados.

Palavras-chave: Desinfecção Ambiental. Esporotricose. *Origanum vulgare*. *Rosmarinus officinalis*.

ABSTRACT

MATOS, Caroline Bohnen. **Eficácia de extratos vegetais na desinfecção de superfícies contaminadas com fungos do complexo *Sporothrix***. 2014. 83f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Sporotrichosis is the main domestic feline ringworm, highly relevant because it is a zoonosis involving six fungal species belonging to the *Sporothrix* complex. The fungal isolation of home and veterinary environments has been proven, proving to be an important source of infection for animals and humans. The search for alternative to disinfectants commonly used products is increasing, mainly by continuing reports of resistance by microorganisms. The *Origanum vulgare* and *Rosmarinus officinalis* stand out because they have proven antimicrobial activity. Given the above, the objective of the study was to evaluate the efficacy of disinfectants and plant extracts in eliminating the fungus *Sporothrix* complex, and report a case of multifactorial dermatitis in a dog. For this, *in vitro* tests were performed using the technique of direct exposure to evaluate the action of the tincture, aqueous extract and alcoholic extract of *O. vulgare* and *R. officinalis* against clinical isolates of dogs and cats with sporotrichosis. Subsequently, the plant extracts that showed better results in the direct exposure test were evaluated for the elimination of *Sporothrix* spp different contaminated surfaces, also using different disinfectants. As an experimental model surfaces of stainless steel, formica and ceramic tile floors, tested in quadruplicate using the technique of spray-wipe-spray were used. According to the study, the hydroalcoholic extract and tincture of *O. vulgare* and *R. officinalis* were effective in eliminating the fungus *Sporothrix* complex, with no difference from the area used, including showing better results when compared to commercial products used.

Key words: Environmental disinfection. *Origanum vulgare*. *Rosmarinus officinalis*. Sporotrichosis.

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 2 Alternativas a eliminação de fungos do complexo *Sporothrix* spp utilizando extratos vegetais através de testes de exposição direta

Tabela 1 Média das contagens das UFC do teste de exposição direta com os extratos hidroalcoólicos de *O. vulgare* e *R. officinalis* em isolados de *Sporothrix* sp.....48

ARTIGO 3 Desinfecção de superfícies em veterinária: Avaliação de extratos vegetais como desinfetantes em superfícies contaminadas

Tabela 1 Percentual de eliminação fúngica pós-desinfecção de acordo com cada isolado testado.....60

SUMÁRIO

1 Introdução.....	10
2 Objetivos.....	12
3 Revisão Bibliográfica.....	13
3.1 Esporotricose e Complexo <i>Sporothrix</i>	13
3.2 Tratamento da Esporotricose.....	16
3.3 Controle e Profilaxia da Esporotricose.....	19
3.4 Desinfetantes.....	20
3.4.1 Hipoclorito de Sódio.....	21
3.4.2 Álcool 70°.....	22
3.5 Uso das Plantas Medicinais.....	23
3.5.1 <i>Origanum vulgare</i>	24
3.5.2 <i>Rosmarinus officinalis</i>	26
3.6 Casos clínicos de esporotricose.....	28
4 Artigos.....	29
4.1 Artigo 1 – Dermatite Multifatorial em um Canino.....	29
4.2 Artigo 2 – Alternativas a eliminação de fungos do complexo <i>Sporothrix</i> spp utilizando extratos vegetais através de testes de exposição direta.....	39
4.3 Artigo 3 - Desinfecção de superfícies em veterinária: Avaliação de extratos vegetais como desinfetantes em superfícies contaminadas.....	56
5 Conclusão geral.....	68
6 Referencias.....	68

1 INTRODUÇÃO

A esporotricose é considerada a principal micose subcutânea dos felinos domésticos, apresentando importância maior por tratar-se de uma zoonose, sendo transmitida por animais que vivem em estreita relação com o homem (BARROS et al., 2004; MADRID, et al., 2007, MARIMON et al., 2007). O fungo causador desta enfermidade pertence a seis espécies do complexo *Sporothrix* (CRUZ, 2013).

A limpeza e desinfecção de ambientes contaminados, concomitantemente, com o tratamento do paciente, representam uma das principais medidas a serem adotadas a fim de controlar a doença e prevenir uma re-infecção (QUINN et al., 2005), uma vez que a permanência dos fungos do complexo *Sporothrix* em ambientes veterinários e domiciliares já foi comprovada (MATTEI et al., 2011).

O passo inicial para o sucesso da desinfecção é o conhecimento dos germicidas e seus mecanismos de ação, assim como toxicidade e ação deletéria no local a ser desinfetado (HEIT; RIVIERE, 1995), sendo o Teste de Eficiência de Desinfetantes (BRASIL, 2003) considerado padrão para avaliar a ação destes produtos (SANTOS et al., 2007). Outras técnicas como o uso dos testes de exposição direta, utilizando o hipoclorito de sódio, produto a base de pinho e álcool 70° já vem sendo realizados (SANTOS et al., 2007), porém testes avaliando a ação de desinfetantes frente ao *Sporothrix* spp ainda são escassos.

O aumento do interesse pelo uso de extratos vegetais como alternativa na prevenção e tratamento de enfermidades tem gerado pesquisas, buscando avaliar as propriedades antimicrobianas de plantas condimentares, como o *Origanum vulgare* (orégano) e *Rosmarinus officinalis* (alecrim). O óleo essencial, bem como diferentes tipos de extratos destas plantas já foram estudados *in vitro* frente a microrganismos isolados de casos clínicos, demonstrando propriedades antibacterianas e antifúngicas, inclusive frente a fungos do complexo *Sporothrix* (LAMBERT et al., 2001; LUQMAN et al., 2007; CLEFF et al., 2008; CLEFF et al., 2010; ARAUJO et al., 2013; SANTIN, 2013).

Em contrapartida, estudos avaliando a ação de extratos vegetais como desinfetantes são raros, sendo este um campo pouco explorado, especialmente com relação a agentes de importância em saúde pública. Apesar dos óleos essenciais terem demonstrado ação inibitória e fungicida, em testes *in vitro*, em isolados de *Sporothrix* spp (LUQMAN et al., 2007; CLEFF et al., 2008; CLEFF et al., 2010), sua aplicabilidade para desinfecção e limpeza de superfícies e instrumentos contaminados é dificultada, entretanto outras formas de extratos podem representar uma boa opção. Assim, de acordo com o exposto evidencia-se a necessidade de estudos acerca da ação de extratos de *Origanum vulgare* e *Rosmarinus officinalis* frente a fungos do complexo *Sporothrix* como alternativa aos desinfetantes utilizados.

2 Objetivos

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a eficácia de desinfetantes e de extratos vegetais na eliminação de fungos do complexo *Sporothrix*.

2.2 Objetivos Específicos

- Relatar um caso clínico de dermatite multifatorial em um canino;
- Avaliar a sensibilidade *in vitro* de isolados clínicos obtidos de cães e gatos com esporotriose frente a extratos vegetais e soluções desinfetantes;
- Avaliar e comparar ação de substâncias desinfetantes e de extratos vegetais em superfícies contaminadas com isolados clínicos de *Sporothrix* spp.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Esporotricose e Complexo *Sporothrix*

A esporotricose é a principal micose subcutânea relacionada ao felino doméstico. É causada por fungos geofílicos, dimórficos pertencentes ao complexo *Sporothrix*, e tem grande importância em saúde pública devido ao potencial zoonótico (MARIMON et al., 2008).

Até a última década, o *Sporothrix schenckii*, que está classificado na subdivisão *Deuteromycotina*, classe *Hyphomycetes*, ordem *Moniliales*, família *Moniliaceae*, gênero *Sporothrix* e espécie *schenckii* (KWON-CHUNG; BENNETT, 1992), era considerado a única espécie do gênero patogênica ao homem e aos animais. No entanto, estudos recentes utilizando técnicas moleculares revelaram diferenças entre os isolados de *S. schenckii*, demonstrando a existência de diferentes espécies envolvidas com quadros clínicos da doença (MARIMON et al., 2007). Desta forma, atualmente o fungo passou a ser denominado como complexo *Sporothrix*, estando constituído pelas espécies *S. schenckii*, *S. brasiliensis*, *S. globosa*, *S. mexicana*, *S. luriae* e *S. albicans* (MARIMON et al., 2007).

Com a descoberta destas novas espécies patogênicas, alguns pesquisadores estão reclassificando as cepas estocadas e identificadas primariamente como *S. schenckii*, a fim de determinar qual a espécie predominante nos casos de esporotricose descritos no Brasil (CRUZ, 2013). Um estudo com 161 cepas de *Sporothrix* spp provenientes de amostras clínicas e ambientais de diversas regiões do Brasil e de outros países, demonstrou que as espécies *S. brasiliensis*, *S. globosa*, *S. mexicana* e *S. schenckii* tinham ampla distribuição geográfica no país (RODRIGUES et al., 2013). Este mesmo estudo registrou que a espécie *S. brasiliensis* foi isolada com alta frequência de felinos nos estados do Rio Grande do Sul e Rio de Janeiro. Em um trabalho semelhante, ao analisar 246 culturas isoladas no Rio de Janeiro, durante o período de 1998 a 2008, resultou na reclassificação de 230 isolados como *S. brasiliensis*, 15 como *S. schenckii* e um como *S. globosa* (OLIVEIRA et al., 2011).

A infecção ocorre através do contato do hospedeiro com o solo, transmissão dita geofílica, ou ainda por mordedura, arranhadura ou outra forma de inoculação traumática do fungo no hospedeiro. Depois da entrada do fungo no tegumento, ocorre o período pré-patente da infecção, de duração variável de três a 84 dias, com média de 21 dias (LARSSON, 2011). Por serem fungos dimórficos, ao infectar o hospedeiro os fungos passam da forma micelial para leveduriforme, uma vez que apresentam dimorfismo térmico, ou seja, na temperatura de 25° são encontrados na forma de filamento e à 37° na forma de levedura (KNOW-CHUNG & BENNETT, 1992; SCHUBACH, 2004). Outros fatores como aeração, pH, fontes de carbono e tensão de oxídido de carbono, podem estar envolvidos na transição morfológica do *S. schenckii* (LOPES-BEZERRA; SCHUBACH; COSTA, 2006). O tempo de transição da forma micelial para a leveduriforme nos tecidos, dura em torno de 13 dias, sendo que 24-48 horas pós inoculação da fase filamentosa do fungo ocorre o desaparecimento das hifas e inicia-se a conversão dos conídios para levedura (CORREA et al., 1991).

Sporothrix spp apresentam características que determinam sua patogenicidade, incluindo produção de enzimas extracelulares, termoloterância, composição da parede celular e presença de grânulos de melanina, o que conferem certo grau de resistência, auxiliando na invasão tecidual e interferindo na eficácia da resposta imune ao fungo (HOGAN et al., 1996; LOPES-BEZERRA; SCHUBACH; COSTA, 2006).

A forma de apresentação da doença tem sido relacionada a patogenicidade da cepa envolvida (KONG et al., 2006), podendo ocorrer na forma cutânea fixa, linfocutânea e disseminada (LOPES-BEZERRA; SCHUBACH; COSTA, et al., 2006). Casos isolados de formas extracutâneas como, ocular, pulmonar, sistêmica, óssea e articular já foram descritos (DUNSTAN et al., 1986; LARSSON et al., 1989; MARQUES et al., 1993; MADRID et al., 2007).

As lesões cutâneas da esporotricose são caracterizadas por nódulos que podem evoluir para úlceras, as quais drenam exsudato acastanhado levando a formação de crostas, sendo observado, na histologia, um infiltrado inflamatório piogranulomatoso composto principalmente por células mononucleares (DUNSTAN et al., 1986; LARSSON et al., 1989; MARQUES et al., 1993; MADRID et al., 2007; CRUZ, 2013).

Nos felinos, as lesões são caracterizadas pela presença de grande quantidade de células leveduriformes, que possuem características pleomórficas, variando de formas clássicas de “charutos” até arredondadas e ovaladas (PEREIRA et al., 2011). A forma cutânea disseminada da micose é a mais comumente observada nessa espécie, acarretando um comprometimento do estado geral do animal, podendo evoluir ao óbito (XAVIER et al., 2004; VIAUD; BESIGNOR, 2008). Em geral, os gatos possuem a maior parte das lesões localizadas na cabeça, parte distal dos membros e base da cauda, geralmente limitadas à pele e tecido subcutâneo (NOBRE et al., 2002; FRIBERG, 2006), sendo também relatada em mucosa conjuntival, escroto e testículos (SCHUBACH et al., 2004; CORGOZINHO et al., 2006; MADRID et al., 2007; SILVA et al., 2008).

Os casos descritos na espécie canina tem sido crescentes, demonstrando uma mudança no perfil da doença ou do agente, já que até pouco tempo a ocorrência era reconhecida como incomum ou rara (SCHUBACH et al., 2006; MADRID et al., 2007; MATOS et al., 2012). Nos caninos a forma mais comum de apresentação da enfermidade é a cutânea fixa, onde são observados nódulos firmes e múltiplos, áreas alopecicas e lesões ulceradas não dolorosas nem pruriginosas, principalmente localizadas no tronco, cabeça e orelhas (MULLER; KIRK, 2003; WHITTEMORE; WEBB, 2007; MADRID et al., 2012).

O diagnóstico presuntivo baseia-se nas lesões clínicas, associadas aos dados relativos à anamnese (LARSSON, 2011), devendo ser confirmado através do isolamento fúngico do material das lesões (CRUZ, 2013).

A citologia das lesões cutâneas é um meio auxiliar de diagnóstico, sendo mais útil para os felinos, já que as lesões nesta espécie contêm grande quantidade de células fúngicas (RESENDE & FRANCO 2001; TABOADA, 2004; PAES, 2007). O citodiagnóstico, a partir de material como exsudato, aspirado e/ou biopsia, quando submetido à coloração de Gram, Wright, Giemsa ou Rosenfeld, permite que se evidenciem formas de leveduras, arredondadas, ovaloides ou em forma de “charuto” (LARSSON, 2011; SILVA et al., 2012b).

O diagnóstico definitivo é feito através da cultura das amostras obtidas das lesões e isolamento do agente (ETTINGER; FELDMAN, 2000; THRAL, 2002; LARSSON, 2011). O fungo é aeróbico de reprodução sexuada e apresenta-se na forma filamentosa, entre 25°C e 30°C, passando à forma leveduriforme a 37°C

(RESENDE; FRANCO 2001), sendo que a inibição do crescimento ocorre entre 39°C e 40°C (LACAZ et al., 2002). Algumas características morfofisiológicas distintas foram observadas entre as novas espécies, principalmente com relação ao pigmento de conídios sésseis, velocidade de crescimento, termotolerância, assimilação de sacarose e assimilação de rafinose (MARIMON et al., 2007; RODRIGUES et al., 2013; CRUZ, 2013).

Schubach et al. (2004) demonstraram que a cultura do coágulo pode ser considerado um método alternativo, prático, eficiente e econômico para o diagnóstico de doença disseminada em felinos domésticos, além de ser possível utilizar o soro da mesma amostra de sangue para outras provas laboratoriais.

Os testes sorológicos são indicadores altamente específicos, sendo o teste de aglutinação o mais sensível; o resultado da sorologia é possível em três a quatro semanas, podendo ser positivo em títulos baixos em pacientes normais de áreas endêmicas, sendo particularmente úteis para o diagnóstico de esporotricose extracutânea, ou para monitorar a resposta ao tratamento (RESENDE; FRANCO, 2001; XIANLING, 2012).

A detecção do agente diretamente de amostras teciduais biopsiadas de pacientes com esporotricose através da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) também tem sido utilizado (LARSSON et al., 2011). Porém, ainda são poucas as propostas de métodos baseados em detecção molecular para o diagnóstico da esporotricose e ainda há muito o que fazer para torná-los mais simples e econômicos (CRUZ, 2013).

3.2 Tratamento da Esporotricose

O número de substâncias químicas existentes com ação antifúngica é restrito quando comparado ao número de fármacos antibacterianos disponíveis (NOBRE et al., 2002; REIS-GOMES et al., 2013). Com relação ao tratamento da esporotricose, existem vários antifúngicos que podem ser utilizados, dentre eles, o iodeto de potássio, a anfotericina B, o itraconazol e a terbinafina. Mais recentemente tem-se demonstrado a eficácia da utilização de imunomoduladores concomitante com o tratamento com drogas antifúngicas sistêmicas (GRAM; RHODES, 2003; MAHAJAN et al., 2005; MEINERZ et al., 2007; PEREIRA et al., 2009; MARTINS, 2012).

O iodeto de potássio foi considerado, durante muitos anos, o fármaco de eleição, sendo ainda muito utilizado para as formas cutâneas e linfocutâneas da doença em humanos e caninos (MAHAJAN et al., 2005). Em gatos, este tratamento tem sido evitado pelos veterinários porque pode levar a ocorrência de iodismo, caracterizado por vômitos, anorexia, depressão, icterícia, tremores, corrimento nasal e ocular, hipotermia, insuficiência cardíaca (CRUZ, 2010; CRUZ, 2013). Porém, com os casos de resistência apresentados frente ao itraconazol, o iodeto de potássio vem sendo reconsiderado para o uso nos felinos na dose de 10mg/animal (CRUZ, 2013).

A anfotericina B apresenta ação antifúngica e imunoestimulante, aumentando a resistência do hospedeiro à infecção. Sua dose total em cães e gatos varia de 4-12mg/kg, fracionada em 0,15-0,5mg/kg/dia por via intravenosa em dias alternados (PEREIRA et al., 2009). Como efeito adverso mais significativo temos a nefrotoxicidade, que é dependente da dose administrada e do tempo de tratamento (TABOADA, 2004).

Atualmente, o itraconazol é considerado o fármaco de eleição para o tratamento da esporotricose, por apresentar bons resultados no processo de cicatrização das lesões, além de boa tolerância para as espécies canina e felina (ANTUNES et al., 2009), com efeitos colaterais reduzidos (GRAM, 2003), na dose preconizada de 10mg/Kg por via oral, sendo que o tratamento pode durar meses (MADRID et al., 2010; LARSSON, 2011). Porém, estudos recentes vem demonstrado a existência de isolados resistentes a esse antifúngico (BUSTAMANTE; CAMPOS, 2004; SCHUBACH et al., 2004), fazendo com que aumentem os estudos a cerca de novas alternativas de tratamento para essa micose, como os realizados com o uso de terbinafina (MEINERZ et al., 2007) e (1-3) β – glucana (MARTINS, 2012).

A (1-3) β – glucana, é um polissacarídeo composto de unidades de glicopiranoses unidas por ligações glicosídicas β 1-3 de alto peso molecular, extraído da parede celular interna do fungo *Saccharomyces cerevisiae*, que apresenta ampla e potente atividade sobre o sistema reticuloendotelial (SRE). Com o seu uso, é esperado uma hiperfagocitose e hipertrofia de órgãos reticuloendoteliais, devido ao aumento no tamanho e número dos macrófagos, aumentando a resposta imune do hospedeiro (FREITAS et al., 2004).

A terbinafina é um antifúngico do grupo das alilaminas, que vem demonstrando, em vários estudos *in vitro*, sua ação primária fungicida frente a fungos dimórficos, incluindo os do complexo *Sporothrix*, além de efeitos tóxicos reduzidos quando comparado ao itraconazol (KAUFFMAN et al., 2000; BUSTAMANTE; CAMPOS, 2004; COSKUN et al., 2004; MEINERZ et al., 2007).

As dificuldades terapêuticas encontradas ocorrem, na maioria das vezes, devido as falhas terapêuticas observadas ao longo do tratamento, ocasionadas principalmente pela dificuldade na administração dos fármacos, ou pelo simples fato de haver a remissão dos sinais clínicos sem que haja a cura do animal (SCHUBACH et al., 2004; MADRID et al., 2007; SILVA et al., 2012a). Assim como, a sensibilidade existente por parte do hospedeiro a determinados fármacos (MADRID et al., 2007), e o fato do proprietário abandonar o animal ao descobrir que trata-se de uma zoonose também dificultam o tratamento (SCHUBACH et al., 2004; CRUZ, 2013). Estes fatos acabam proporcionando a permanência do *Sporothrix* spp nos animais, tornando-os reservatórios e disseminadores da doença (SCHUBACH et al., 2004).

Os erros ocorridos durante a terapia propiciam a manutenção do fungo nos ambientes em que os animais doentes ficam alojados, tais como residências, clínicas e hospitais veterinários, sendo que a permanência do fungo nesses locais implica na possível contaminação de outros animais ou humanos, além de também estarem relacionados a casos de re-infecções (SCHUBACH et al., 2004).

Infelizmente as práticas de desinfecção e profilaxia, não são devidamente padronizadas e avaliadas em ambientes veterinários, seja por desconhecimento da epidemiologia do agente ou principalmente pelo desconhecimento do tempo e condições de permanência dos contaminantes em diferentes materiais e superfícies ambientais (SANTOS et al., 2007).

Métodos de controle de infecções associando a limpeza e desinfecção de fômites e ambientes são corriqueiros na medicina humana, estando a veterinária ainda defasada neste aspecto (SANTOS, et al., 2007). Para isso é imprescindível que medidas de controle e profilaxia sejam adotadas, padronizadas e avaliadas, fazendo com que haja uma diminuição na disseminação de agentes que possam infectar tanto outros animais como o próprio homem.

3.3 Controle e Profilaxia da Esporotricose

Durante a evolução do comportamento moderno social, os animais domésticos tem ocupado papel de destaque entre as famílias, possuindo inclusive um grande valor afetivo, e uma íntima relação com seus donos, culminando para a maior propagação de doenças zoonóticas (AFONSO et al., 2008).

Dentre as inúmeras zoonoses, a esporotricose destaca-se por ser uma enfermidade que necessita diversos cuidados no que diz respeito ao seu controle e profilaxia, sendo que a prevenção é considerada difícil de ser realizada devido a fatores que dificultam a eliminação do fungo do ambiente (MARTINS, 2012). O simples fato de tratar-se de um fungo geofílico, ou seja, encontrado amplamente distribuído na natureza, sob a forma micelial em solo rico em matéria orgânica, cascas de árvores e vegetais em decomposição é determinante para o seu controle (KNOW-CHUNG & BENNETT, 1992; CRUZ, 2013).

Contudo, no sentido de tentar minimizar a disseminação da doença ou a re-infecção dos animais doentes, existem medidas rígidas de proteção, para as pessoas em contato como os animais suspeitos ou doentes, que devem ser adotadas, sendo orientada a diminuição do contato com o exsudato das lesões através da utilização de luvas de procedimento, lavar punhos, mãos e braços com iodo-povidina ou clorexidine após a manipulação do animal (TABOADA, 2004; SILVA et al., 2012; MARTINS, 2012). Outro procedimento importante a ser adotado principalmente pelos profissionais da saúde que irão manipular o animal, é a utilização de equipamentos de proteção individual, tais como aventais descartáveis de manga longa com elástico no punho, luvas de procedimento descartáveis, máscara, óculos de proteção e touca descartável (SILVA et al., 2012a)

Com relação aos cuidados que devem ser adotados com os animais, tem sido recomendado a separação de gatos doentes de outros animais criados no mesmo ambiente, a castração dos animais, o mantimento dos mesmos domiciliados, dentre outras medidas (SCHUBACH et al., 2001).

Além disso, é orientado ao proprietário que seja feita a higienização da caixa de transporte, o destino para os resíduos gerados pelos animais doentes e a limpeza do ambiente onde o animal está sendo mantido também são medidas importantes que não devem ser esquecidas (SILVA et al., 2012a). Com relação aos procedimentos que devem ser adotados no ambiente veterinário, estão incluídos a

higienização da mesa de atendimento e instrumental, após cada exame clínico, uma vez que o isolamento fúngico de ambientes veterinários e domiciliares já foi comprovado (MATTEI et al., 2011).

Com o intuito de prevenir a contaminação cruzada de indivíduos que entrem em contato com superfícies, equipamentos e artigos contaminados, é preconizada a realização de procedimentos de limpeza, desinfecção e/ou esterilização utilizando substâncias a base de hipoclorito de sódio (BRASIL, 2006; PENNA, 2006; SILVA et al., 2012a; MADRID et al., 2013). Porém, através de testes realizados por pesquisadores ao longo dos anos, pode-se notar que a ação desses produtos é contraditória (FRAISE et al., 2004; MADRID et al., 2013).

O cuidado especial que deve ser adotado com a espécie felina ocorre devido ao seu alto potencial disseminador, principalmente pelo fato dessa espécie possuir grande quantidade de organismos fúngicos presentes nas lesões, diferentemente das outras espécies, e pelo fato dos felinos carregarem o agente nas unhas e cavidade oral, tornando mais provável a transmissão a partir desta espécie do que de outros animais (TABOADA, 2004; ANTUNES et al., 2009; PEREIRA et al., 2011, MADRID et al., 2012).

O esclarecimento do proprietário é outro fator importante que deve ser levado em conta, por tratar-se de uma doença zoonótica que apresenta alto risco de contaminação, portanto a correta orientação sobre o manuseio do animal doente é imprescindível (SILVA et al., 2012a; MARTINS, 2012).

Barros et al. (2010) preconiza que o aumento de números de unidades de controle de zoonoses para o tratamento e castração de felinos, eutanásia dos animais em caso de impossibilidade terapêutica, cremação dos corpos que evoluíram para o óbito e educação para posse responsável de animais domésticos são medidas que adotadas em conjunto minimizam a disseminação da doença.

3.4 Desinfetantes

A prevenção das infecções cruzadas tem enfrentado uma grande dificuldade, principalmente pelo fato de que na maioria das vezes, os microrganismos tem vencido as medidas de segurança adotadas na atualidade, colocando em risco profissionais e pacientes (MACHADO et al., 2008).

A desinfecção trata-se de um processo de curta duração, que pode variar de alguns segundos a 30 minutos (VENTURELLI et al., 2009), sendo a desinfecção de superfície realizada nas áreas externas de equipamentos e ambientes (MOZACHI; SOUZA, 2005). Segundo a literatura, a desinfecção pode ser responsável pela eliminação de todos os microrganismos patológicos, com exceção dos endosporos bacterianos (KALIL; COSTA, 1994).

No mercado existem inúmeros princípios ativos disponíveis, sendo necessário o conhecimento do espectro de atividade, toxicidade, poder residual, custo e natureza do material a ser tratado. Ainda não existe um produto que apresente todas essas características, possuindo vantagens e desvantagens que devem ser avaliadas no momento da seleção para o uso (MCDONNELL; RUSSELL, 1999). Além disso, deve-se considerar que os fungos são microrganismos considerados de resistência intermediária a desinfetantes (BRASIL, 1999).

Na desinfecção de alto nível, obtém-se a destruição de todos os microrganismos, com exceção dos esporos. Fala-se em desinfecção de nível intermediário quando se consegue o extermínio da maioria dos microrganismos, o que inclui o bacilo da tuberculose e os fungos de maneira geral, mas não todos os tipos de vírus nem esporos. Quando poucos microrganismos são eliminados por meio dos agentes químicos, nomeia-se de desinfecção de baixo nível.

Dentre os desinfetantes mais comumente utilizados em ambientes veterinários podemos citar o hipoclorito de sódio, o digluconato de clorexidina e o álcool 70°, dentre outros (SANTOS, et al., 2007).

3.4.1 Hipoclorito de Sódio

O hipoclorito de sódio é utilizado para a desinfecção de superfícies não metálicas em geral, possuindo amplo espectro de atividade antimicrobiana, baixo custo e ação rápida, inclusive na presença de matéria orgânica (BRASIL, 2010; MADRID et al., 2013).

A principal desvantagem encontrada nesse produto é o fato da temperatura, concentração, presença de luz e pH interferirem e levarem à sua decomposição (BRASIL, 2010).

Acredita-se que a ação destes produtos ocorra através da inibição de algumas reações enzimáticas-chave dentro das células, por desnaturação de proteína e por inativação do ácido nucléico, sendo ativo contra bacilo da tuberculose, vírus e fungos, na concentração de 0,5% a 1% (MADRID et al., 2013).

Estudos a respeito de sua atividade tem demonstrado um certo grau de resistência dos microrganismos, principalmente pelo fato das concentrações utilizadas não serem as necessárias para a eliminação por completo dos agentes (WALTIMO et al., 1999; ESTRELA et al., 2003; FRAISE et al., 2004; MENEZES et al., 2008; CHANDRA et al., 2010; MADRID et al., 2013).

3.4.2 Álcool 70°

Os álcoois etílico e isopropílico são considerados desinfetantes de nível intermediário, empregados tanto em superfícies e instrumentos como na pele, como antisséptico (VENTURELLI et al., 2009; BRASIL, 2010).

A atividade antimicrobiana dos álcoois está condicionada à sua concentração em peso ou em volume em relação à água, que deve ser de 70% (P/P) ou 77% (V/V), respectivamente. Nessa concentração, o álcool não desidrata a parede celular do microrganismo, podendo penetrar no seu interior, onde irá desnaturar proteínas, fato que não ocorre quando se utiliza o álcool acima ou abaixo da concentração ideal (VENTURELLI et al., 2009).

Podemos citar como vantagens da desinfecção com o álcool 70%: bactericida de ação rápida; ação na presença do *Mycobacterium tuberculosis* e virucida (somente para vírus lipofílicos); irritante leve; baixo custo; não-tóxico; incolor e não deixa resíduos. Como desvantagens, podemos considerar as seguintes características: não é esporicida; tem atividade diminuída na presença de matéria orgânica; danifica material de plástico, borracha ou acrílico; evapora rapidamente, apresenta diminuição da atividade antimicrobiana em sangue seco, saliva e outras matérias orgânicas; não tem registro como desinfetante na Environmental Protection Agency (EPA) e não ser aceito pela Centers for Disease Control (CDC) como desinfetante de superfície fixa e instrumental; não apresenta ação contra vírus hidrofílicos; não tem ação residual; e é um desinfetante de nível médio. O uso do álcool 70% é um método de desinfecção bastante popular, por ser um processo simples, relativamente rápido e de baixo custo para se realizar a destruição de

microrganismos. No entanto, o uso do álcool acaba sendo, muitas vezes, superestimado, provavelmente devido à sua facilidade de obtenção e aplicação (VENTURELLI et al., 2009).

3.5 Uso das plantas medicinais

Cada vez mais o estudo de novos agentes antimicrobianos é fundamental e se faz necessário principalmente pelo surgimento de microrganismos resistentes e de infecções oportunistas fatais (OSTROSKY et al., 2008; MACHADO et al., 2013). Um fator que corrobora com o surgimento desses microrganismos resistentes é o uso indiscriminado de medicamentos no tratamento e prevenção de doenças, tanto relacionado ao homem quanto aos animais (MACHADO et al., 2013).

O aumento de infecções oportunistas em pacientes imunocomprometidos e o aparecimento de algumas cepas de microrganismos resistentes aos antimicrobianos usualmente administrados, gerou interesse em pesquisas voltadas para agentes fitoterápicos. A combinação de alguns antifúngicos como fluconazol ou cetaconazol com esses agentes fitoterápicos potencializam os efeitos desses medicamentos e podem diminuir os efeitos colaterais e secundários (GIORDANI, 2004).

Na maioria das vezes, as plantas são usadas na forma de extratos, que são preparações concentradas obtidas a partir do material vegetal que passou por estabilização, secagem e ou moagem, e posteriormente por um solvente extrator através de determinada metodologia (SIMÕES et al., 2003). Os primeiros registros da utilização de extratos vegetais datam do ano 1.500 d.C., sendo utilizados vinho, vodka e gim como solvente. Outros métodos de extração foram surgindo e sendo aprimorados com o passar dos anos (CLEFF et al., 2008).

Segundo a literatura, as metodologias de extração mais utilizadas são maceração, infusão, decocção, digestão, percolação, destilação, secagem e outros processos mais sofisticados que permitem obter extratos qualitativamente superiores como a extração por solvente assistida por microondas, extração com CO₂ supercrítico, "Vacuum Microwave HydroDist'illation" (VMHD), extração biotecnológica com fermentação e bioconversão (SIMÕES et al., 2003).

Numa população com baixo acesso a medicamentos, agregar garantias científicas a essa prática terapêutica traz inúmeras vantagens, como baixo custo e fácil acesso, diminuição de efeitos adversos e dos riscos de intoxicação por uso inadequado (FURLAN, 1998; GIORDANI et al., 2012).

No início da década de 90, a Organização Mundial de Saúde (OMS) divulgou que 65-80% da população dos países em desenvolvimento dependiam das plantas medicinais como única forma de acesso aos cuidados básicos de saúde (GARCIA et al., 2005; SOUSA; CONCEIÇÃO, 2007).

É sabido que a composição química das plantas sofre influência de fatores climáticos, altitude, condições e características de solo, da parte da planta analisada, do tipo de extrato, além das condições de cultivo e estocagem entre outros fatores (SIMÕES et al., 2003). Entretanto alguns componentes se mantêm na forma qualitativa variando apenas em quantidade (DANILA; GATEA; RADU, 2011).

A família Lamiaceae engloba diversas plantas aromáticas, das quais é possível extrair óleo essencial de odor agradável, que apresenta em sua composição química uma complexa mistura de hidrocarbonetos, álcoois e compostos carbonílicos, além de compostos fenólicos. Dentre os pertencentes a esta família, e que são conhecidos por seu poder antimicrobiano, podemos citar *Origanum vulgare*, *Rosmarinus officinalis*, *Origanum majorana*, *Thymus vulgaris*, dentre outros (LORENZI; MATOS, 2006; CLEFF et al., 2008; SANTIN, 2013).

As propriedades antimicrobianas de extratos e óleos essenciais que as plantas contêm como produtos de seu metabolismo secundário é conhecida empiricamente ao longo dos séculos, no entanto, a comprovação científica só ocorreu recentemente (DUARTE, 2006), principalmente pelo fato dessas propriedades impulsionarem vários grupos de pesquisadores a estudarem a atividade biológica das plantas utilizadas para fins medicinais ao redor do mundo.

3.5.1 *Origanum vulgare* L.

O *Origanum vulgare* L., conhecido popularmente como orégano, é uma planta perene, originária da região mediterrânea que tem apresentado resultados de destaque como agente hábil de inibição de bactérias e fungos, estando enquadrado na família *Lamiaceae* (LORENZI; MATOS, 2006; CLEFF et al., 2008; FREITAS et al., 2013; SANTIN, 2013).

Suas folhas secas e seu óleo essencial tem sido utilizados na medicina por vários séculos em diferentes partes do mundo, e seu efeito positivo sobre a saúde humana tem sido atribuído à presença de compostos antioxidantes na erva e conseqüentemente em seus produtos derivados (PEAK et al., 1991; CERVATO et al., 2002).

Sahin et al. (2003), conduziram um estudo a respeito da ação do óleo essencial de *O. vulgare* e de seu extrato metanólico sobre uma série de espécies de bactérias deteriorantes de alimentos, observando que o óleo teve ação sobre a maioria delas, ao contrario do extrato metanólico.

Alvarenga e colaboradores (2007) avaliaram a ação do extrato aquoso e do extrato alcoólico de *O. vulgare* frente a isolados bacterianos de *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Listeria*, *Salmonella* e *Shigella* através da técnica de difusão em disco, demonstrando a ação somente por parte do extrato alcoólico a 20% frente a *Shigella*.

Em 2008, Silva et al., ao avaliar a ação da tintura e da infusão de *O. vulgare* observou que as concentrações testadas não apresentaram atividade antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Candida albicans*, nas condições avaliadas.

Já no ano de 2009, Saeed & Tariq, demonstraram a atividade da infusão e do óleo essencial frente a 111 bactérias Gram-positivas, porém ao testar a decocção todos os microrganismos testados mostraram-se resistentes.

Afim de descobrir os componentes responsáveis pela ação antimicrobiana presente no *O. vulgare*, alguns pesquisadores tem realizado estudos com a finalidade de descrever o perfil químico de diferentes extratos de *O. vulgare* (PIZZALE et al., 2002; SKERGET, et al., 2005). Danila; Gatea; Radu (2011) ao realizar um estudo da identificação química do extrato hidroalcoólico de *Origanum vulgare*, detectou a presença de compostos fenólicos como, ácido clorogênico, ácido caféico, ácido ferúlico, cumárico, ácido rosmarínico e os flavonóides, rutina, luteolina, quercetol, apigenina, quercetina e kaempferol, sendo que os majoritários foram os ácidos rosmarínico, cumárico e a rutina.

Na medicina veterinária, estudos a respeito das atividades do óleo essencial de *O. vulgare* já são bastante conhecidos, principalmente no que diz respeito a sua ação frente a fungos leveduriformes tais como *Candida spp*, *Cryptococcus neoformans*, *Malassezia pachydermatis* e inclusive o *Sporothrix* (MANOHAR et al., 2001; CHAMI et al.,

2004; CLEFF et al., 2008; CLEFF et al., 2010), porém a ação de outros tipos de extratos, como extrato aquoso e hidroalcoólico, ainda é pouco estudada.

3.5.2 *Rosmarinus officinalis* L.

O *Rosmarinus officinalis* L., conhecido popularmente como alecrim, é um arbusto aromático de pequeno porte da família Lamiaceae, cujas folhas abrigam pequenas glândulas contendo óleo aromático (AL-SEREITI et al., 1999) e desde os primórdios, tem atividade antimicrobiana atribuída (LORENZI ; MATOS, 2006).

A palavra *Rosmarinus* significa “o orvalho que vem do mar”, em alusão ao seu aroma abundante das praias mediterrâneas onde o alecrim cresce e se desenvolve espontaneamente, já a palavra *officinalis* significa que era uma planta reconhecida pela prática médico-herborista (FARIA, 2005).

Suas partes utilizadas são as folhas e flores, sendo que as folhas servem para o preparo de xaropes, infusões, tinturas, pó e também para a obtenção do óleo essencial (LORENZI ; MATOS, 2006). As folhas de *R.officinalis* tem sido popularmente utilizadas com propriedades anti-hipertensiva e digestiva (AGRA et al., 2007), além de antisséptico, diurético e anti-espasmódico (ALLARDICE; BONE; HUTCHISON, 1999).

Seu uso tópico como cicatrizante, antimicrobiano, principalmente frente a *Staphylococcus* e *Monilia*, e estimulante do couro cabeludo já foi descrito por Lorenzi & Matos (2006), no entanto pode causar aborto, sonolência, espasmos, gastrite e irritação nervosa se utilizado em altas dosagens.

Estudos relacionando a ação do óleo essencial extraído dessa planta frente a diversos microrganismos vem sendo realizados, principalmente na área de odontologia frente ao gênero *Candida*, conhecido pelo seu efeito antimicrobiano e antiaderente (CELIK TAS et al., 2007; LUQMAN et al., 2007; POZZATTI et al., 2008; BERNARDES et al., 2010; HUSSAIN et al., 2010; CAVALCANTI, ALMEIDA; PADILHA, 2011; SANTIN, 2013). Os compostos ativos responsáveis por essas ações são considerados biomoléculas secundárias (FURLAN, 1998).

Seu óleo essencial é constituído por hidrocarbonetos monoterpênicos, ésteres terpênicos, linalol, verbinol, terpineol, 3- octanona e acetato de isobornila. Os terpenóides são representados pelo carnosol, ácidos carnosílico, oleânico, ursólico, entre outros. Os flavonoides incluem diosmetina, diosmina, gencuanina, luteolina,

hispidulina e apigenina. Apresenta ainda os ácidos rosmarínico, caféico, clorogênico, neoclorogênico e labiático (ALONSO, 1998).

Um estudo analisando a composição química do alecrim, identificou os compostos fenólicos representados por flavonóides (apigenina, luteolina esteróides do luteol, diosmetol) e flavonas metoxiladas em C-6 e/ou C-7 e por ácidos fenólicos, sobretudo derivados caféicos como ácido caféico, ácido clorogênico e rosmarínico, além disso, observou-se a presença de diterpenos tricíclicos como ácido carnosólico, carnosol rosmanol; epirosmanol; isorosmanol; rosmarinidifenol; rosmariniquinona e rosmadiol, assim como triterpenos como ácido ursólico e oleanólico e amirinas (BRUNETON, 2001; NOLKEMPER et al., 2006).

Nascimento et al. (2000) relataram a ação antimicrobiana de extratos de alecrim frente a bactérias sensíveis e resistentes a antibióticos sintéticos, verificando sinergismo entre antibióticos e os extratos utilizados, possibilitando que antibióticos ineficazes apresentassem ação sobre bactérias resistentes.

Em 2006, Lima et al., avaliaram a ação do óleo essencial de *R. officinalis* frente a diferentes isolados de *Candida*, podendo notar que o mesmo era eficaz na inibição do crescimento e eliminação desse microrganismo.

Já em 2007, o mesmo não aconteceu com Alvarenga et al. (2007), que ao avaliar a ação do extrato aquoso e alcoólico de *R. officinalis* frente a diversas bactérias Gram positivas e Gram negativas, descobriu que esse tipo de extrato, na concentração de 10% e 20%, não possuía ação frente a esses microrganismos, porém, Newall et al.(2002), havia encontrado ação do óleo frente as bactérias testadas por Alvarenga et al. (2007). Neste mesmo ano, Packer e Luz (2007), demonstraram atividade bacteriostática e fungistática do alecrim empregando a técnica do orifício em ágar.

A literatura nos cita que existe uma alta sensibilidade por parte de bactérias Gram positivas, incluindo *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus* sp. e *Sarcina* sp., bem como a levedura *Saccharomyces cerevisiae* frente ao uso do óleo essencial de *R. officinalis*, porém nenhum ou muito pouco efeito foi verificado contra as bactérias Gram negativas, tais como *Pseudomonas fluorescens*, *Escherichia coli* e *Serratia* (PORTE; GODOY 2001; SOUSA; CONCEIÇÃO, 2007).

Simões et al. (2003) relatam que a composição química das plantas sofre forte influência de fatores climáticos, altitude, condições e características de solo, da parte da planta analisada, do tipo de extrato, além das condições de cultivo e estocagem entre outros fatores. Entretanto, alguns componentes se mantêm na forma qualitativa variando apenas em quantidade (DANILA; GATEA; RADU, 2011). Este fato pode justificar a diferença de resultados encontrados ao trabalhar com diferentes tipos de extratos.

Dentro da medicina veterinária ainda são escassos os estudos a respeito da utilização dos extratos de *R. officinalis* frente aos diferentes patógenos, porém, Cleff et al. (2012) ao avaliar a ação do óleo essencial frente a isolados clínicos de animais acometidos por fungos do gênero *Candida* demonstrou a ação fungicida e fungistática do óleo frente a esses isolados, muito importante nesta área visto a problemática existente com relação a crescente resistência antifúngica.

3.6 Casos clínicos de esporotricose

Durante o período de 2012 a 2014 foram diagnosticados pelo Laboratório de Micologia – UFPel (MICVET-UFPel), 62 casos de esporotricose envolvendo animais na região de Pelotas-RS. O MICVET caracteriza-se por receber e processar amostras oriundas de Clínicas Veterinárias Particulares e Hospital Veterinário – UFPel, localizados na região sul do RS atendendo principalmente as cidades de Pelotas, Rio Grande, Morro Redondo, Cascata e Capão do Leão, entre outras. Esta região é considerada como endêmica para esporotricose felina, estando como a segunda região do Brasil com maior ocorrência da micose em animais domésticos (MADRID et al., 2007; MADRID et al., 2010; MADRID et al., 2011). Entretanto, dos diagnósticos realizados no período, somente um caso era relacionado a uma infecção mista com esporotricose na espécie canina. Devido a menor ocorrência da esporotricose na espécie canina, ainda mais raro quando associada a outros patógenos, decidiu-se por relatar o caso, o qual gerou o artigo I desta dissertação.

4 Artigos

4.1 Artigo 1

DERMATITE MULTIFATORIAL EM UM CANINO

**C.B. Matos, I.M. Madrid, R. Santin, R.H.Azambuja,I.Schuch, M.C.A. Meireles,
M.B. Cleff**

Artigo Publicado na Revista Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia

Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.64, n.6, p.1478-1482, 2012.

DERMATITE MULTIFATORIAL EM UM CANINO
MULTIFACTORIAL DERMATITIS IN A DOG

Caroline Bohnen de Matos¹, Isabel Martins Madrid², Rosema Santin³,
RosáriaHelenaAzambuja⁴, IsabelSchuch⁵, Mário Carlos Araújo Meireles⁶, Marlete Brum
Cleff⁷

¹MV. Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Micologia Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas

²DSc. Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Micologia Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas

³MSc. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

⁴MV. Técnica em Laboratório, Universidade Federal de Pelotas

⁵MV. Residente em Clínica de Pequenos Animais, Departamento de Clínicas Veterinária da Veterinária, Universidade Federal de Pelotas

⁶DSc. Departamento de Veterinária Preventiva, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas

⁷DSc. Departamento de Clínicas Veterinárias, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas

Endereço: Rua Adolfo Aveiro, 304. Areal, Pelotas – RS. CEP: 96077-520

Telefone: (53) 9106-5597

Email: bohnencarol@gmail.com

RESUMO

Relatou-se um caso clínico de dermatite multifatorial em cão, envolvendo *Demodex canis*, *Sporothrix schenckii* e bactérias dos gêneros *Staphylococcus* e *Streptococcus*. O animal, macho, da raça Pit Bull, com um ano e três meses de idade apresentou lesões úmidas, hiperêmicas, descamativas e ulcerativas na região do pescoço e tórax. Exames laboratoriais confirmaram o diagnóstico de infecção concomitante por fungo, bactéria e parasito. A terapia antimicrobiana com moxidectina, itraconazol e amoxicilina foi efetiva, com remissão dos sinais clínicos após 30 dias de tratamento. Este relato salienta a importância do diagnóstico de certeza, que foi determinante para estabelecimento da terapêutica adequada e recuperação do animal.

Palavras-chave: Cão, demodicose, esporotricose, piodermite.

ABSTRACT

It was report a clinical case of multifactorial dermatitis in a dog, involving *Demodex canis*, *Sporothrix schenckii*, *Staphylococcus* sp. and *Streptococcus* sp. A male dog, Pit bull with one year and three month-old presented humid lesions, redness, scaling and ulcer in the neck and chest. After laboratorial examination were obtained the confirmation of the diagnosis of concomitant infection by fungi, bacteria and parasites. Antimicrobial therapy with moxidectin, itraconazole and amoxicillin was effective, with remission of the clinical signs after a period of 30 days of treatment. This report emphasizes the importance of accurate diagnosis, which was crucial to establish the correct treatment and recovery of the animal.

Key-words: Dog, demodicosis, sporotrichosis, pyoderma.

INTRODUÇÃO

As afecções do sistema tegumentar possuem grande importância na clínica de pequenos animais representando cerca de 30 a 40% dos casos presenciados na clínica médica (Willense, 2000). Segundo Meneses et al. (2000), as principais dermatopatias de cães e gatos, em ordem decrescente de ocorrência, de acordo com a etiologia são bacterianas, parasitárias e fúngicas. Dentre os principais agentes etiológicos estão bactérias dos gêneros *Staphylococcus* e *Streptococcus*, destacando-se *Staphylococcus pseudintermedius* na maioria dos casos de piodermite canina e ectoparasitas como *Demodex canis* e *Sarcoptes scabiei* var. *canis* (Barbosa et al., 2011). Os diagnósticos micológicos na clínica de pequenos animais são crescentes, especialmente naqueles animais que apresentam fatores predisponentes e/ou infecções associadas, favorecendo assim a instalação fúngica. Dentre as diferentes espécies fúngicas de importância clínica destacam-se *Malassezia pachydermatis*, *Sporothrix schenckii* e os dermatófitos (Muller e Kirk, 2003; Machado et al., 2004; Whittemore e Webb, 2007; Madrid et al., 2010).

Inúmeros agentes podem estar envolvidos nas dermatopatias, levando a diferentes quadros clínicos, tanto localizados quanto disseminados. Os casos em que há associação de microrganismos requerem uma atenção redobrada, para que se possa instituir terapêutica adequada (Pereira et al., 2005). Assim, o objetivo deste trabalho foi relatar um caso de dermatite multifatorial em um cão da raça Pit Bull, envolvendo ectoparasita, bactérias e fungo.

RELATO DO CASO

Um cão, macho, da raça Pit Bull com um ano e três meses de idade foi encaminhado para atendimento clínico em Ambulatório do Hospital Veterinário Escola, apresentando lesões úmidas, hiperêmicas, descamativas e ulcerativas na região do pescoço e tórax há aproximadamente 45 dias. O proprietário relatou que, inicialmente, as lesões eram pequenas e localizadas, e com a progressão da enfermidade houve disseminação e agravamento das lesões. No exame clínico geral foram avaliadas a frequência cardiorespiratória, tempo de preenchimento capilar e temperatura, os quais encontravam-se dentro dos valores fisiológicos para a espécie.

Para o diagnóstico definitivo foram colhidas amostras de suabes das secreções de pele e raspado cutâneo com coleta de pelos e crostas. As amostras foram acondicionadas e

encaminhadas ao laboratório para realização de exame direto da amostra clínica e cultivo microbiológico.

Para a pesquisa de ácaros foi realizado um raspado cutâneo profundo com lâmina de bisturi até produção de sangramento para a visualização, em microscópio óptico, de ácaros adultos ou formas imaturas. O exame parasitológico revelou a presença do ácaro *Demodex canis*, sendo instituída terapia com moxidectina (Cydectin®) na dose de 0,5 mg/kg, por via oral, em quatro aplicações, com intervalos semanais.

Para isolamento fúngico, as amostras foram cultivadas em ágar Sabouraud dextrose acrescido de cloranfenicol e cicloheximida, incubadas a 32°C por um período de até três semanas com observação diária. Após o crescimento fúngico foram avaliadas as características macro e micromorfológicas das colônias. Em 32°C as colônias apresentavam coloração creme-acastanhada e microscopicamente filamentos finos hialinos septados com conídios piriformes dispostos simpodialmente no ápice do conidióforo, compatível com *Sporothrix schenckii*. A confirmação do agente etiológico foi obtida com a conversão da fase filamentosa a leveduriforme em ágar Sabouraud dextrose acrescido de extrato de levedura em temperatura de 37°C. A terapia antifúngica no cão, foi realizada com itraconazol na dose de 10mg/kg por via oral, uma vez ao dia por um período de 60 dias.

Para identificação bacteriana foram realizados provas e testes bioquímicos que resultaram na identificação de *Staphylococcus* spp e *Streptococcus* spp, diferenciadas pela prova bioquímica de catalase. No tratamento inicial foi utilizado sulfametoxazol associado a trimetropina, por via oral durante uma semana, 20mg/kg, duas vezes ao dia, nas três semanas seguintes à antibioticoterapia seguiu com amoxicilina com clavulanato, 20mg/kg, três vezes ao dia. Os resultados obtidos pelos tratamentos foram satisfatórios, com visível melhora dos sinais clínicos.

DISCUSSÃO

Dentre as dermatopatias de maior ocorrência em cães destacam-se as piodermites bacterianas, sendo que bactérias Gram positivas predominam nos isolamentos (Barbosa et al., 2011). Isolados de *Staphylococcus* spp e *Streptococcus* spp são bactérias comumente descritas como agentes causadores de piodermites secundárias (Conte, 2008). A infecção bacteriana é frequente em doenças dermatológicas, sendo secundária a um problema subjacente que altera a resistência da pele (Pena, 2007). A associação de bactérias do gênero *Staphylococcus* com o

Demodex canis tem sido descrita em quadros de dermatites (Guimarães et al., 2001). Santarem (2007) afirmou que em 90% dos casos de demodicose há o envolvimento de bactérias gram-positivas causando piodermites.

Casos de infecção fúngica e parasitária concomitante são raramente diagnosticados na clínica de pequenos animais e pouco descritos na literatura. Nobre et al. (1998) obtiveram 22,2% de associação de malasseziose e demodicose em cães com dermatites recidivantes. Enquanto Machado et al. (2004) observaram que somente 12,2% dos cães apresentavam associação da malasseziose e demodicose.

Casos de infecção mista de *S. schenckii* com agentes parasitários ou fúngicos são raros, havendo somente um caso de esporotricose e criptococose associadas em um cão (Shany, 2000). Nesse sentido, o presente relato foi o primeiro encontrado na literatura consultada, pois descreve um caso de infecção mista de esporotricose e demodicose em um cão. Este relato é semelhante ao descrito por Pereira et al. (2005) em gato com demodicose, esporotricose e pediculose co-infectado pelo vírus da imunodeficiência felina (FIV) e vírus da leucemia felina (FeLV).

A esporotricose, micose causada pelo fungo dimórfico *S. schenckii*, é uma doença considerada rara em cães (Londero et al., 1964; Schubach e Schubach, 2000; Madrid et al., 2007). Entretanto, casos esporádicos tem sido descritos nessa espécie em diferentes estados do Brasil (Larsson et al., 1993; Souza et al., 2009), assim como, recentemente, um grande número de casos em cães nos estados do Rio de Janeiro e Rio Grande do Sul (Schubach et al., 2006; Madrid et al., 2007). As alterações cutâneas observadas no presente relato não apresentavam padrão específico, assemelhando-se a uma infecção parasitária e/ou bacteriana. Entretanto, a presença de áreas ulceradas pode ser sugestiva de esporotricose, uma vez que as lesões desta micose caracterizam-se por nódulos firmes que evoluem a áreas alopécicas e/ou ulceradas (Schubach e Schubach, 2000; Madrid et al., 2007; Souza et al, 2009). Muitos sinais clínicos como alopecia, eritema, descamação, pápulas, liquenificação, hiperpigmentação, pústulas, erosões, crostas e/ou úlceras decorrentes de piodermatite secundária superficial ou profunda (Paradis, 1999; Mueller, 2004), são observados em casos de demodicose.

A demodicose é uma doença parasitária causada pelo ácaro *Demodex canis* com frequência muito variável na clínica de pequenos animais. Bellato et al. (2003), em Santa Catarina, detectaram que 52,8% dos cães atendidos nas clínicas eram acometidos por

ectoparasitas. Outros relatos brasileiros descreveram *D. canis* como o agente causal de 40% a 48,2% dos casos de sarna canina (Delayte et al., 2006; Santarém, 2007). Na Índia e no Canadá observou-se baixa prevalência de demodicose em cerca de 3% e 2,3% dos cães, respectivamente (Nayak et al., 1997; Scott e Paradis, 1990). Essa variação está relacionada, possivelmente, às dificuldades em confirmar o *D. canis* nos raspados cutâneos (Muller e Kirk, 2003). Esse ectoparasita é considerado residente normal da pele de cães, sendo que estados de imunodeficiência favorecem sua multiplicação, tornando-o patogênico. Vários autores citaram o aparecimento da demodicose quando ocorrem estados de imunodeficiência geral do animal (Muller e Kirk, 2003), como no caso relatado, em que o animal possuía vários agentes responsáveis pela dermatopatia.

Para o sucesso do tratamento das piodermites caninas deve-se ter como princípios básicos a escolha adequada do antibiótico, dose efetiva e manutenção da terapia por tempo adequado para a erradicação do agente, assim como a eliminação dos fatores predisponentes ou perpetuantes (Barbosa et al., 2011). Neste caso, para a infecção bacteriana foi prescrito sulfametoxazol associado ao trimetoprim, como a resposta inicial não foi efetiva, optou-se pela substituição do antibiótico por amoxicilina com clavulanato, apresentando melhora significativa do quadro clínico. A resistência bacteriana tem sido relatada e trata-se de um problema emergente, entretanto segundo Barbosa et al. (2011), cerca de 90% dos *Staphylococcus pseudointermedius* isolados de cães com piodermites são sensíveis a amoxicilina com clavulanato.

Os protocolos terapêuticos instituídos para esporotricose e demodicose apresentaram resultados satisfatórios, semelhantes aos descritos por Schubach e Schubach (2000). O itraconazol apresenta amplo espectro de ação tanto nas micoses superficiais como sistêmicas sendo considerado o antifúngico de eleição para o tratamento da esporotricose em humanos e animais (Schubach e Schubach, 2000; Schubach et al., 2006; Madrid et al., 2010). A moxidectina utilizada no presente relato é descrita como eficaz na maioria dos tratamentos de demodicose em cães (Paradis, 1999).

O quadro clínico apresentado pelo animal do presente relato provavelmente está relacionado a um desequilíbrio do sistema imune uma vez que se tratava de um animal jovem. Entretanto, um estudo mais detalhado objetivando identificar as causas que propiciaram o desenvolvimento deste quadro clínico não foi realizado principalmente, porque o animal pertencia a uma família de baixa renda. Em razão da grande importância das dermatopatias na

clínica veterinária e a possibilidade de envolvimento de inúmeros agentes etiológicos, a realização de exames complementares é uma ferramenta imprescindível para o estabelecimento do diagnóstico de certeza e conseqüentemente, uma adequada terapia antimicrobiana, a fim de obter a cura clínica.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Tecnológico (CNPq), a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) pelo suporte financeiro.

REFERÊNCIAS

BARBOSA, D.C.; SANTOS, L.L.; WARTH, J.F. et al. Dermatopatias piogênicas em cães de abrigo e padrões de sensibilidade aos antimicrobianos *in vitro* de cepas de *Staphylococcus pseudintermedius*. *Clín.Vet.*, n.93; p.72-78, 2011.

BELLATO, V.; SARTOR A.A.; SOUZA A.P. et al. Ectoparasitoses em caninos no município de Lages, Santa Catarina, Brasil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v. 12, p. 95-98, 2003.

CONTE, A.P. *Demodicose canina generalizada: relato de caso*. 2008. Monografia (Curso de Especialização *Latu Sensu* em Clínica Médica e Cirúrgica de Pequenos Animais) Curitiba.

DELAYTE, E.H.; OTSUKA, M; LARSSON, C.E. et al. Eficácia das lactonasmacrocíclicas sistêmicas (ivermectina e moxidectina) na terapia da demodicidose canina generalizada. *Arq. Bras. Med. Vet. e Zootec.*, v. 58, p. 31-38, 2006.

GUIMARÃES, J.H.; TUCCI, E.C.; BARROS-BATTESTI, D.M. *Ectoparasitos de importância Veterinária*. São Paulo: Plêiade, 2001.

LARSSON, C.E.; DAGLI, M.L.Z.; PAULA, C.R. MICHALANY, N.S. Esporotricose canina – relato de caso insólito. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CLÍNICOS VETERINÁRIOS DE PEQUENOS ANIMAIS, 15., 1993, Rio de Janeiro, RJ. *Anais...*

LONDERO, A.T.; CASTRO, R.M.; FISCHMAN, O. Two cases of sporotrichosis in dogs in Brazil. *Sabouraudia*, v. 18, p. 273-274, 1964.

- MACHADO, M.L.S., APPELT, C.E.; FERREIRO, L. Dermatofitos e leveduras isolados da pele de cães com dermatopatias diversas. *Acta Scientiae Veterinariae*, Porto Alegre, v.32, p.225-232, 2004.
- MADRID, I.M.; SANTOS JR, R.; SAMPAIO JR, D.P. et al. Esporotricose canina: relato de três casos. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 35, p. 105-108, 2007.
- MADRID, I.M; MATTEI, A.S; MARTINS, A.A. et al. Feline sporotrichosis in the southern region of Rio Grande do Sul, Brazil: clinical, zoonotic and therapeutic aspects. *Zoonoses and Public Health*, v.57, p.151-154, 2010.
- MENESES, A.M.C.; CARDOSO, M.J.L.; FRANCO, S.R.V.S. et al. Ocorrência das dermatopatias em cães e gatos. *Rev. Bras. Cienc.Vet.*, v. 2, p. 20, 2000.
- MUELLER, R.S. Treatment protocols for demodicosis: an evidence-based review. *Vet. Dermatol.*, v. 15, p. 75–89, 2004.
- MULLER, G.H.; KIRK, R.W. *Dermatologia de pequenos animais*. Rio de Janeiro: Interlivros, p.88-103, 2003.
- NAYAK, D. C.; TRIPATY, S. B.; DEY, P. C. et al. Prevalence of canine demodicosis in Orissa (Índia). *Vet. Parasitol.*, v. 73, n. 3-4, p. 347-352, 1997.
- NOBRE, M.; MEIRELES, M., GASPARG, L.F.; et al. *Malassezia pachydermatis* e outros agentes infecciosos nas otites externas e dermatites em cães. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.28, n.3, p 447-452, 1998.
- PARADIS, M. New approaches to the treatment of canine demodicosis. *Vet. Clin. North Am.: Small Animal Practice*, v. 29, p.1425-1436, 1999.
- PENA, S.B. *Frequência de dermatopatias infecciosas, parasitárias e neoplásicas em cães na região de Graça, São Paulo – Brasil*, 2009. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, São Paulo.
- PEREIRA, S.A.; SCHUBACH, T.M.P.; FIGUEIREDO, F.B. et al. Demodicose associada à Esporotricose e Pediculose em gato co-infectado por FIV/FeLV. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 33, n. 1, p. 75-78, 2005.
- SANTAREM, V. Demodicose canina: revisão. *Clín. Vet.*, v. 69, p. 86-98, 2007.

SCOTT, D.W.; PARADIS, M. A survey of canine and feline skin disorders seen in a university practice: small animal clinic, University of Montreal, Saint-hyacinthe, Quebec (1987-1988). *Can. Vet. J.*, v. 31, p. 830-834, 1990.

SCHUBACH, T.M.P.; SCHUBACH, A.O. Esporotricose em gatos e cães: revisão. *Clín.Vet.*, n. 29, p. 21-24, 2000.

SCHUBACH, T.M.P.;SCHUBACH, A.; OKAMOTO, T.et al. Canine sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: clinical presentation, laboratory diagnosis and therapeutic response in 44 cases (1998-2003). *Medical Mycology*, v. 44, p. 87-92, 2006.

SHANY, M. A mixed fungal infection in a dog: sporotrichosis and cryptococcosis. *Can. Vet. J.*, v. 41, p. 799-800, 2000.

SOUZA, N.T.; NASCIMENTO, A.C.B.M.; SOUZA, J.O.T. et al. Esporotricose canina: relato de caso. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.61, p.572-576, 2009.

WILLEENSE, T.*Dermatologia clínica de cães e gatos*. São Paulo: Manole, p.117, 2002.

WHITTMORE, J.C.; WEBB, C.B. Successful treatment of nasal sporotrichosis in a dog.*Can. Vet. J.*, v.48, p.411-414, 2007.

4.2 Artigo 2

Atividade antimicrobiana de extratos vegetais frente ao *Sporothrix* sp

Caroline Bohnen de Matos, Isabel Martins Madrid, Mario Carlos Araujo Meireles,
Marlete Brum Cleff

Será submetido a revista Archives of Veterinary Science

Atividade antimicrobiana de extratos vegetais frente ao *Sporothrix* sp

Antimicrobial activity of the vegetables extracts against *Sporothrix* sp

Caroline Bohnen de Matos¹, Isabel Martins Madrid², Mário Carlos Araújo Meireles³,

Marlete Brum Cleff⁴

¹Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Universidade Federal de Pelotas – UFPel

²Prefeitura Municipal de Pelotas

³Departamento de Veterinária Preventiva, Universidade Federal de Pelotas – UFPel

⁴Departamento de Clínicas Veterinária, Universidade Federal de Pelotas - UFPel

RESUMO

Visto que já é relatado na literatura o fato de existir uma grande resistência por parte dos microrganismos frente aos produtos comerciais utilizados para a desinfecção de ambientes contaminados, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade da tintura, do extrato aquoso (infusão e decocção) e do extrato hidroalcoólico de *Origanum vulgare* e *Rosmarinus officinalis*, como meio alternativo a utilização de desinfetantes, frente a fungos do complexo *Sporothrix*. Para isso, foram utilizados isolados fúngicos provenientes de cães e gatos com esporotricose. A sensibilidade do *Sporothrix* frente aos extratos das plantas foi testada através da técnica de exposição direta, na presença ou não de matéria orgânica, sendo sua ação avaliada nos tempos de 5, 10 e 15 minutos de exposição. Como controle, utilizou-se uma solução de água estéril contendo o inóculo e como controle dos desinfetantes utilizados no mercado foram utilizados hipoclorito de sódio e álcool 70°. Todos isolados testados foram eliminados com a utilização da tintura, tanto de orégano como de alecrim, e com a utilização do extrato hidroalcoólico de orégano, demonstrando a sensibilidade por parte do *Sporothrix* sp a esses extratos.

Palavras-chave: *Origanum vulgare*, *Rosmarinus officinalis*, desinfecção, esporotricose.

ABSTRACT

It is already reported in the literature, the fact that there is a resistance by the microorganisms against commercial products used for the disinfection of contaminated environments, the aim of this study was to evaluate the activity of the tincture, aqueous extract (decoction and infusion) and hydroalcoholic extract of *Origanum vulgare* and *Rosmarinus officinalis*, as an alternative to disinfectants, using the technique of direct exposure, front *Sporothrix* spp. For this, direct exposure tests with fungal isolates from clinical cases pertaining to dogs and cats with sporotrichosis, where the sensitivity against *Sporothrix* extracts of the plants was tested using the technique of direct exposure, with its action evaluated in the times of 5, 10, 15, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270, 300, 330, 360, 390, 420, 450, 480, 510, 540, 570, 600, 630, 660, 690, 720, 750, 780, 810, 840, 870, 900, 930, 960, 990, 1020, 1050, 1080, 1110, 1140, 1170, 1200, 1230, 1260, 1290, 1320, 1350, 1380, 1410, 1440, 1470, 1500, 1530, 1560, 1590, 1620, 1650, 1680, 1710, 1740, 1770, 1800, 1830, 1860, 1890, 1920, 1950, 1980, 2010, 2040, 2070, 2100, 2130, 2160, 2190, 2220, 2250, 2280, 2310, 2340, 2370, 2400, 2430, 2460, 2490, 2520, 2550, 2580, 2610, 2640, 2670, 2700, 2730, 2760, 2790, 2820, 2850, 2880, 2910, 2940, 2970, 3000, 3030, 3060, 3090, 3120, 3150, 3180, 3210, 3240, 3270, 3300, 3330, 3360, 3390, 3420, 3450, 3480, 3510, 3540, 3570, 3600, 3630, 3660, 3690, 3720, 3750, 3780, 3810, 3840, 3870, 3900, 3930, 3960, 3990, 4020, 4050, 4080, 4110, 4140, 4170, 4200, 4230, 4260, 4290, 4320, 4350, 4380, 4410, 4440, 4470, 4500, 4530, 4560, 4590, 4620, 4650, 4680, 4710, 4740, 4770, 4800, 4830, 4860, 4890, 4920, 4950, 4980, 5010, 5040, 5070, 5100, 5130, 5160, 5190, 5220, 5250, 5280, 5310, 5340, 5370, 5400, 5430, 5460, 5490, 5520, 5550, 5580, 5610, 5640, 5670, 5700, 5730, 5760, 5790, 5820, 5850, 5880, 5910, 5940, 5970, 6000, 6030, 6060, 6090, 6120, 6150, 6180, 6210, 6240, 6270, 6300, 6330, 6360, 6390, 6420, 6450, 6480, 6510, 6540, 6570, 6600, 6630, 6660, 6690, 6720, 6750, 6780, 6810, 6840, 6870, 6900, 6930, 6960, 6990, 7020, 7050, 7080, 7110, 7140, 7170, 7200, 7230, 7260, 7290, 7320, 7350, 7380, 7410, 7440, 7470, 7500, 7530, 7560, 7590, 7620, 7650, 7680, 7710, 7740, 7770, 7800, 7830, 7860, 7890, 7920, 7950, 7980, 8010, 8040, 8070, 8100, 8130, 8160, 8190, 8220, 8250, 8280, 8310, 8340, 8370, 8400, 8430, 8460, 8490, 8520, 8550, 8580, 8610, 8640, 8670, 8700, 8730, 8760, 8790, 8820, 8850, 8880, 8910, 8940, 8970, 9000, 9030, 9060, 9090, 9120, 9150, 9180, 9210, 9240, 9270, 9300, 9330, 9360, 9390, 9420, 9450, 9480, 9510, 9540, 9570, 9600, 9630, 9660, 9690, 9720, 9750, 9780, 9810, 9840, 9870, 9900, 9930, 9960, 9990, 10020, 10050, 10080, 10110, 10140, 10170, 10200, 10230, 10260, 10290, 10320, 10350, 10380, 10410, 10440, 10470, 10500, 10530, 10560, 10590, 10620, 10650, 10680, 10710, 10740, 10770, 10800, 10830, 10860, 10890, 10920, 10950, 10980, 11010, 11040, 11070, 11100, 11130, 11160, 11190, 11220, 11250, 11280, 11310, 11340, 11370, 11400, 11430, 11460, 11490, 11520, 11550, 11580, 11610, 11640, 11670, 11700, 11730, 11760, 11790, 11820, 11850, 11880, 11910, 11940, 11970, 12000, 12030, 12060, 12090, 12120, 12150, 12180, 12210, 12240, 12270, 12300, 12330, 12360, 12390, 12420, 12450, 12480, 12510, 12540, 12570, 12600, 12630, 12660, 12690, 12720, 12750, 12780, 12810, 12840, 12870, 12900, 12930, 12960, 12990, 13020, 13050, 13080, 13110, 13140, 13170, 13200, 13230, 13260, 13290, 13320, 13350, 13380, 13410, 13440, 13470, 13500, 13530, 13560, 13590, 13620, 13650, 13680, 13710, 13740, 13770, 13800, 13830, 13860, 13890, 13920, 13950, 13980, 14010, 14040, 14070, 14100, 14130, 14160, 14190, 14220, 14250, 14280, 14310, 14340, 14370, 14400, 14430, 14460, 14490, 14520, 14550, 14580, 14610, 14640, 14670, 14700, 14730, 14760, 14790, 14820, 14850, 14880, 14910, 14940, 14970, 15000, 15030, 15060, 15090, 15120, 15150, 15180, 15210, 15240, 15270, 15300, 15330, 15360, 15390, 15420, 15450, 15480, 15510, 15540, 15570, 15600, 15630, 15660, 15690, 15720, 15750, 15780, 15810, 15840, 15870, 15900, 15930, 15960, 15990, 16020, 16050, 16080, 16110, 16140, 16170, 16200, 16230, 16260, 16290, 16320, 16350, 16380, 16410, 16440, 16470, 16500, 16530, 16560, 16590, 16620, 16650, 16680, 16710, 16740, 16770, 16800, 16830, 16860, 16890, 16920, 16950, 16980, 17010, 17040, 17070, 17100, 17130, 17160, 17190, 17220, 17250, 17280, 17310, 17340, 17370, 17400, 17430, 17460, 17490, 17520, 17550, 17580, 17610, 17640, 17670, 17700, 17730, 17760, 17790, 17820, 17850, 17880, 17910, 17940, 17970, 18000, 18030, 18060, 18090, 18120, 18150, 18180, 18210, 18240, 18270, 18300, 18330, 18360, 18390, 18420, 18450, 18480, 18510, 18540, 18570, 18600, 18630, 18660, 18690, 18720, 18750, 18780, 18810, 18840, 18870, 18900, 18930, 18960, 18990, 19020, 19050, 19080, 19110, 19140, 19170, 19200, 19230, 19260, 19290, 19320, 19350, 19380, 19410, 19440, 19470, 19500, 19530, 19560, 19590, 19620, 19650, 19680, 19710, 19740, 19770, 19800, 19830, 19860, 19890, 19920, 19950, 19980, 20010, 20040, 20070, 20100, 20130, 20160, 20190, 20220, 20250, 20280, 20310, 20340, 20370, 20400, 20430, 20460, 20490, 20520, 20550, 20580, 20610, 20640, 20670, 20700, 20730, 20760, 20790, 20820, 20850, 20880, 20910, 20940, 20970, 21000, 21030, 21060, 21090, 21120, 21150, 21180, 21210, 21240, 21270, 21300, 21330, 21360, 21390, 21420, 21450, 21480, 21510, 21540, 21570, 21600, 21630, 21660, 21690, 21720, 21750, 21780, 21810, 21840, 21870, 21900, 21930, 21960, 21990, 22020, 22050, 22080, 22110, 22140, 22170, 22200, 22230, 22260, 22290, 22320, 22350, 22380, 22410, 22440, 22470, 22500, 22530, 22560, 22590, 22620, 22650, 22680, 22710, 22740, 22770, 22800, 22830, 22860, 22890, 22920, 22950, 22980, 23010, 23040, 23070, 23100, 23130, 23160, 23190, 23220, 23250, 23280, 23310, 23340, 23370, 23400, 23430, 23460, 23490, 23520, 23550, 23580, 23610, 23640, 23670, 23700, 23730, 23760, 23790, 23820, 23850, 23880, 23910, 23940, 23970, 24000, 24030, 24060, 24090, 24120, 24150, 24180, 24210, 24240, 24270, 24300, 24330, 24360, 24390, 24420, 24450, 24480, 24510, 24540, 24570, 24600, 24630, 24660, 24690, 24720, 24750, 24780, 24810, 24840, 24870, 24900, 24930, 24960, 24990, 25020, 25050, 25080, 25110, 25140, 25170, 25200, 25230, 25260, 25290, 25320, 25350, 25380, 25410, 25440, 25470, 25500, 25530, 25560, 25590, 25620, 25650, 25680, 25710, 25740, 25770, 25800, 25830, 25860, 25890, 25920, 25950, 25980, 26010, 26040, 26070, 26100, 26130, 26160, 26190, 26220, 26250, 26280, 26310, 26340, 26370, 26400, 26430, 26460, 26490, 26520, 26550, 26580, 26610, 26640, 26670, 26700, 26730, 26760, 26790, 26820, 26850, 26880, 26910, 26940, 26970, 27000, 27030, 27060, 27090, 27120, 27150, 27180, 27210, 27240, 27270, 27300, 27330, 27360, 27390, 27420, 27450, 27480, 27510, 27540, 27570, 27600, 27630, 27660, 27690, 27720, 27750, 27780, 27810, 27840, 27870, 27900, 27930, 27960, 27990, 28020, 28050, 28080, 28110, 28140, 28170, 28200, 28230, 28260, 28290, 28320, 28350, 28380, 28410, 28440, 28470, 28500, 28530, 28560, 28590, 28620, 28650, 28680, 28710, 28740, 28770, 28800, 28830, 28860, 28890, 28920, 28950, 28980, 29010, 29040, 29070, 29100, 29130, 29160, 29190, 29220, 29250, 29280, 29310, 29340, 29370, 29400, 29430, 29460, 29490, 29520, 29550, 29580, 29610, 29640, 29670, 29700, 29730, 29760, 29790, 29820, 29850, 29880, 29910, 29940, 29970, 30000, 30030, 30060, 30090, 30120, 30150, 30180, 30210, 30240, 30270, 30300, 30330, 30360, 30390, 30420, 30450, 30480, 30510, 30540, 30570, 30600, 30630, 30660, 30690, 30720, 30750, 30780, 30810, 30840, 30870, 30900, 30930, 30960, 30990, 31020, 31050, 31080, 31110, 31140, 31170, 31200, 31230, 31260, 31290, 31320, 31350, 31380, 31410, 31440, 31470, 31500, 31530, 31560, 31590, 31620, 31650, 31680, 31710, 31740, 31770, 31800, 31830, 31860, 31890, 31920, 31950, 31980, 32010, 32040, 32070, 32100, 32130, 32160, 32190, 32220, 32250, 32280, 32310, 32340, 32370, 32400, 32430, 32460, 32490, 32520, 32550, 32580, 32610, 32640, 32670, 32700, 32730, 32760, 32790, 32820, 32850, 32880, 32910, 32940, 32970, 33000, 33030, 33060, 33090, 33120, 33150, 33180, 33210, 33240, 33270, 33300, 33330, 33360, 33390, 33420, 33450, 33480, 33510, 33540, 33570, 33600, 33630, 33660, 33690, 33720, 33750, 33780, 33810, 33840, 33870, 33900, 33930, 33960, 33990, 34020, 34050, 34080, 34110, 34140, 34170, 34200, 34230, 34260, 34290, 34320, 34350, 34380, 34410, 34440, 34470, 34500, 34530, 34560, 34590, 34620, 34650, 34680, 34710, 34740, 34770, 34800, 34830, 34860, 34890, 34920, 34950, 34980, 35010, 35040, 35070, 35100, 35130, 35160, 35190, 35220, 35250, 35280, 35310, 35340, 35370, 35400, 35430, 35460, 35490, 35520, 35550, 35580, 35610, 35640, 35670, 35700, 35730, 35760, 35790, 35820, 35850, 35880, 35910, 35940, 35970, 36000, 36030, 36060, 36090, 36120, 36150, 36180, 36210, 36240, 36270, 36300, 36330, 36360, 36390, 36420, 36450, 36480, 36510, 36540, 36570, 36600, 36630, 36660, 36690, 36720, 36750, 36780, 36810, 36840, 36870, 36900, 36930, 36960, 36990, 37020, 37050, 37080, 37110, 37140, 37170, 37200, 37230, 37260, 37290, 37320, 37350, 37380, 37410, 37440, 37470, 37500, 37530, 37560, 37590, 37620, 37650, 37680, 37710, 37740, 37770, 37800, 37830, 37860, 37890, 37920, 37950, 37980, 38010, 38040, 38070, 38100, 38130, 38160, 38190, 38220, 38250, 38280, 38310, 38340, 38370, 38400, 38430, 38460, 38490, 38520, 38550, 38580, 38610, 38640, 38670, 38700, 38730, 38760, 38790, 38820, 38850, 38880, 38910, 38940, 38970, 39000, 39030, 39060, 39090, 39120, 39150, 39180, 39210, 39240, 39270, 39300, 39330, 39360, 39390, 39420, 39450, 39480, 39510, 39540, 39570, 39600, 39630, 39660, 39690, 39720, 39750, 39780, 39810, 39840, 39870, 39900, 39930, 39960, 39990, 40020, 40050, 40080, 40110, 40140, 40170, 40200, 40230, 40260, 40290, 40320, 40350, 40380, 40410, 40440, 40470, 40500, 40530, 40560, 40590, 40620, 40650, 40680, 40710, 40740, 40770, 40800, 40830, 40860, 40890, 40920, 40950, 40980, 41010, 41040, 41070, 41100, 41130, 41160, 41190, 41220, 41250, 41280, 41310, 41340, 41370, 41400, 41430, 41460, 41490, 41520, 41550, 41580, 41610, 41640, 41670, 41700, 41730, 41760, 41790, 41820, 41850, 41880, 41910, 41940, 41970, 42000, 42030, 42060, 42090, 42120, 42150, 42180, 42210, 42240, 42270, 42300, 42330, 42360, 42390, 42420, 42450, 42480, 42510, 42540, 42570, 42600, 42630, 42660, 42690, 42720, 42750, 42780, 42810, 42840, 42870, 42900, 42930, 42960, 42990, 43020, 43050, 43080, 43110, 43140, 43170, 43200, 43230, 43260, 43290, 43320, 43350, 43380, 43410, 43440, 43470, 43500, 43530, 43560, 43590, 43620, 43650, 43680, 43710, 43740, 43770, 43800, 43830, 43860, 43890, 43920, 43950, 43980, 44010, 44040, 44070, 44100, 44130, 44160, 44190, 44220, 44250, 44280, 44310, 44340, 44370, 44400, 44430, 44460, 44490, 44520, 44550, 44580, 44610, 44640, 44670, 44700, 44730, 44760, 44790, 44820, 44850, 44880, 44910, 44940, 44970, 45000, 45030, 45060, 45090, 45120, 45150, 45180, 45210, 45240, 45270, 45300, 45330, 45360, 45390, 45420, 45450, 45480, 45510, 45540, 45570, 45600, 45630, 45660, 45690, 45720, 45750, 45780, 45810, 45840, 45870, 45900, 45930, 45960, 45990, 46020, 46050, 46080, 46110, 46140, 46170, 46200, 46230, 46260, 46290, 46320, 46350, 46380, 46410, 46440, 46470, 46500, 46530, 46560, 46590, 46620, 46650, 46680, 46710, 46740, 46770, 46800, 46830, 46860, 46890, 46920, 46950, 46980, 47010, 47040, 47070, 47100, 47130, 47160, 47190, 47220, 47250, 47280, 47310, 47340, 47370, 47400, 47430, 47460, 47490, 47520, 47550, 47580, 47610, 47640, 47670, 47700, 47730, 47760, 47790, 47820, 47850, 47880, 47910, 47940, 47970, 48000, 48030, 48060, 48090, 48120, 48150, 48180, 48210, 48240, 48270, 48300, 48330, 48360, 48390, 48420, 48450, 48480, 48510, 48540, 48570, 48600, 48630, 48660, 48690, 48720, 48750, 48780, 48810, 48840, 48870, 48900, 48930, 48960, 48990, 49020, 49050, 49080, 49110, 49140, 49170, 49200, 49230, 49260, 49290, 49320, 49350, 49380, 49410, 49440, 49470, 49500, 49530, 49560, 49590, 49620, 49650, 49680, 49710, 49740, 49770, 49800, 49830, 49860, 49890, 49920, 49950, 49980, 50010, 50040, 50070, 50100, 50130, 50160, 50190, 50220, 50250, 50280, 50310, 50340, 50370, 50400, 50430, 50460, 50490, 50520, 50550, 50580, 50610, 50640, 50670, 50700, 50730, 50760, 50790, 50820, 50850, 50880, 50910, 50940, 50970, 51000, 51030, 51060, 51090, 51120, 51150, 51180, 51210, 51240, 51270, 51300, 51330, 51360, 51390, 51420, 51450, 51480, 51510, 51540, 51570, 51600, 51630, 51660, 51690, 51720, 51750, 51780, 51810, 51840, 51870, 51900, 51930, 51960, 51990, 52020, 52050, 52080, 52110, 52140, 52170, 52200, 52230, 52260, 52290, 52320, 52350, 52380, 52410, 52440, 52470, 52500, 52530, 52560, 52590, 52620, 52650, 52680, 52710, 52740, 52770, 52800, 52830, 52860, 52890, 52920, 52950, 52980, 53010, 53040, 53070, 53100

A esporotricose é uma das principais doenças fúngicas de animais domésticos, representando cerca de 3,4% de todas as dermatoses fúngicas dos felinos (Larsson, 2011), tendo uma importância maior por tratar-se de uma zoonose transmitida por animais que vivem em estreita relação com o homem (Kwon-Chung & Bennet, 1992; Barros *et al.*, 2004; Madrid *et al.*, 2011; Cruz, 2013).

A maioria das infecções pelo *Sporothrix* spp. ocorrem por meio de ferimentos por espinhos, farpas de madeiras e outros materiais de origem vegetal, ou arranhadura e mordedura de animais contaminados (CRUZ, 2013). Porém, já foram descritas outras formas de contaminação como picada de inseto e transmissão por outros animais (Kwon-Chung & Bennet., 1992).

Nos últimos anos, diversos autores tem enfatizado a importância do felino doméstico como principal transmissor da doença para o homem e para outros animais, inclusive para o próprio gato (Barros *et al.*, 2001; Barros *et al.*, 2004; Barros *et al.*, 2008; Schubach *et al.*, 2008). Esta espécie constitui um importante reservatório com isolamento fúngico a partir de 100% das lesões cutâneas, 66,2% das cavidades nasais, 41,8% das cavidades orais e 39,5% das unhas destes animais, sendo que felinos assintomáticos também podem conter o fungo nas unhas e cavidade oral (Reis *et al.*, 2009; Madrid *et al.*, 2011).

A necessidade de um tratamento antifúngico regular e prolongado, seu custo elevado e a dificuldade na administração de medicamentos por via oral aos gatos domésticos são fatores que podem contribuir para o baixo percentual de cura clínica da esporotricose felina (Schubach *et al.*, 2004).

Outro fator importante a ser considerado é o risco zoonótico da doença que leva o proprietário abandonar o animal longe da sua residência, favorecendo ainda mais a disseminação da doença. Além disso, o sacrifício dos animais e o descarte

incorreto dos corpos, em terrenos baldios ou enterrando-os nos quintais, também favorece a permanência do fungo no meio ambiente (Barros *et al.*, 2010; Silva *et al.*, 2012).

Mattei *et al.* (2011) comprovou que os fungos do complexo *Sporothrix* podem ser isolados de ambientes hospitalares e domiciliares, havendo uma necessidade de aumentar os cuidados com a desinfecção desses ambientes uma vez que, o risco de animais ou humanos se contaminarem é eminente.

O uso de luvas na manipulação dos animais e a desinfecção das instalações e utensílios com solução de hipoclorito de sódio são indicadas para minimizar os riscos de contaminações cruzadas (Barros *et al.*, 2010; Silva *et al.*, 2012). A prevenção da infecção cruzada é parte fundamental na conduta prática de um tratamento, sendo a realização da desinfecção de superfícies um dos procedimentos fundamentais para manter a biossegurança nos consultórios e hospitais (Fantinato *et al.*, 1994; Bambace *et al.* 2008). Portanto, o produto químico escolhido deve realizar, efetivamente, as funções de descontaminação e desinfecção (Brasil, 2000).

Cada vez mais tem se buscado alternativas terapêuticas em plantas medicinais, devido a resistência estabelecida dos microrganismos frente aos produtos disponíveis no mercado (Nascimento *et al.*, 2000; Castro *et al.*, 2000). A capacidade antimicrobiana de extratos vegetais de *R. officinalis* e *O. vulgare* já vem sendo testada frente a diversos microrganismos (Cleff *et al.*, 2008; Cleff *et al.*, 2010; Santin *et al.*, 2013), porém sua atividade desinfetante ainda não foi avaliada.

Diante do exposto esse trabalho teve por objetivo avaliar a eficácia de diferentes extratos vegetais de *Origanum vulgare* e *Rosmarinus officinalis* na eliminação de fungos do complexo *Sporothrix*, na presença ou não de matéria orgânica.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados isolados de *Sporothrix* spp provenientes de casos clínicos de esporotricose felina e canina, que estavam armazenados na micoteca do Laboratório de Micologia Veterinária da Universidade Federal de Pelotas (UFPel). Os isolados fúngicos foram cultivados em ágar batata dextrose (PDA) a 28°C durante sete dias para que se obtivesse a fase filamentosa do fungo. Posteriormente, o inoculo fúngico foi preparado em água destilada estéril, sendo a turbidez da solução ajustada por espectrofotômetro em 70% de transmitância, alcançando densidade final de 1 a 5×10^6 células/mL.

Os extratos vegetais de *Origanum vulgare* e *Rosmarinus officinalis* foram preparados a partir de folhas das plantas adquiridas de distribuidor comercial (LUAR SUL®) com certificação botânica. O extrato hidroalcoólico foi obtido através da destilação fracionada em rota-evaporador à pressão reduzida para extração do álcool (solvente) da tintura de *O. vulgare* e de *R. officinalis*, sendo esta preparada na concentração de 10% em álcool 70°GL de cereais. Para a preparação da tintura, a mistura foi mantida ao abrigo da luz durante sete dias a temperatura ambiente, sendo realizada a homogeneização do produto uma vez ao dia. Após sete dias, a solução foi filtrada e armazenada em um vidro âmbar estéril, segundo protocolo estabelecido por Schiedeck *et al.* (2008). Após a extração do solvente, procedeu-se a re-hidratação com água destilada estéril reconstituindo a concentração original do extrato.

O extrato aquoso foi obtido através de duas formas, a infusão (Inf) e decocção (Dec). A infusão foi obtida através da imersão de 10g de planta em 100mL de água destilada estéril aquecida a 100°C. O tempo de contato da planta com a água aquecida foi de 10 minutos. Após, a mistura de água e planta, foi filtrada e

armazenada para utilização imediata. Para a decocção, procedeu-se a imersão de 10g de planta em 100mL de água destilada estéril fervente, mantidos em contados por 10 minutos, com posterior filtração e armazenagem para a utilização imediata (Brasil, 2011).

O teste foi acompanhado de controles positivos de desinfetantes utilizados na rotina para a limpeza e desinfecção de superfícies sendo hipoclorito de sódio 4% e álcool 70°.

A suscetibilidade *in vitro* foi testada de acordo com o protocolo descrito por Schuch *et al.* (2008) com modificações. Quatro tubos-teste contendo 4 ml de cada produto foram utilizados, sendo que todos os extratos tanto de orégano quanto de alecrim foram testados na concentração de 10%. Em dois deles foi adicionado 1 mL de água destilada esteril, e em outros dois adicionou-se 1mL de leite UHT (representando a matéria orgânica). Os tubos foram rigorosamente agitados e em seguida 100µL do inóculo fúngico foi adicionado. Nos tempos de 5, 10 e 15 minutos, aliquotas de 100µL eram retiradas dos tubos e semeadas, em triplicata, nas placas de Petri contendo ágar sabouraud dextrose. Como controle negativo, utilizou-se uma solução de água destilada estéril contendo o inóculo. Todas as placas foram incubadas a uma temperatura de 25°C durante sete dias, para posterior contagem do número de unidades formadoras de colônias.

Os resultados foram analisados através da ANOVA seguido do teste de TUKEY no programa Statistix 9®.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tintura a 10% obtida a partir do *Origanum vulgare* e *Rosmarinus officinalis* inibiu em 100% o crescimento de todos isolados de *Sporothrix* spp testados, na

presença ou não de matéria orgânica. Ao contrário do que foi observado, um estudo conduzido por Silva *et al.* (2008) demonstrou que a tintura e a infusão de *O. vulgare* não foram eficazes na eliminação de *Candida spp*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, a partir da concentração de 50%, sendo o teste realizado através da técnica de máxima diluição inibitória. Segundo a literatura, o teste de exposição direta é considerado o teste que melhor reproduz a forma com que os desinfetantes são utilizados quando comparado com os testes de microdiluição em caldo e difusão em disco (Madrid *et al.*, 2012), fato este que pode ter culminado para a obtenção de resultados divergentes aos encontrados na literatura com relação ao uso da tintura, sem contar que trata-se de microrganismos diferentes (Silva *et al.*, 2008).

Em um estudo conduzido por Mattei *et al.* (2011), foi possível observar que o álcool 70° era eficaz na eliminação do *Sporothrix spp*. A tintura possui em sua composição o álcool 70° de forma ativa, fato que pode ter influenciado nos resultados obtidos, ajudando na eliminação do fungo.

Os extratos aquosos (infusão e decocção) tanto de *Origanum vulgare* como de *Rosmarinus officinalis*, não apresentaram atividade fungicida frente a nenhum dos isolados de *Sporothrix spp* testados, concordando com um estudo realizado por Alvarenga e colaboradores (2007) que observaram ineficácia do extrato aquoso de *O. vulgare* e do *R. officinalis* na concentração de 10% e 20% frente a *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Listeria monocytogenes* (ATCC 33090), *Salmonella choleraesuis* (ATCC 14028), *Shigella flexneri* (ATCC 25931), *Streptococcus mitis* (ATCC 9811) e *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

Em relação aos desinfetantes testados, estes apresentaram 100% de eliminação de todos isolados em todos os tempos a que foram submetidos, na

presença ou não de matéria orgânica. Os resultados obtidos eram esperados, uma vez que a literatura cita a ação do hipoclorito de sódio e do álcool 70° como desinfetantes eficazes na eliminação do *Sporothrix* spp (Mattei *et al.*, 2011; Madrid *et al.*, 2012).

Pesquisas a respeito da atividade antifúngica de agentes químicos utilizados na desinfecção de ambientes veterinários são escassas (Santos *et al.*, 2007; Xavier *et al.*, 2007), porém, estudos acerca da atividade antifúngica da clorexidina e do hipoclorito de sódio na área da odontologia são frequentes, principalmente no que diz respeito ao gênero *Candida* (Waltimo *et al.*, 1999; Estrela *et al.*, 2003; Fraiser *et al.*, 2004; Menezes *et al.*, 2008; Chandra *et al.*, 2010). Os resultados obtidos no presente estudo se assemelham aos obtidos por Madrid *et al.* (2012) que avaliaram a ação do hipoclorito de sódio e do digluconato de clorexidina frente ao *Sporothrix* spp, através da técnica de exposição direta, e observaram maior eficácia do hipoclorito na concentração de 4% quando comparado ao digluconato de clorexidina na eliminação desse fungo.

Quanto aos resultados obtidos com o uso do extrato hidroalcoólico de *R. officinalis* e *O. vulgare*, verificou-se que não houve diferença na suscetibilidade entre os isolados felinos e caninos testados. O EHA de *O. vulgare* foi o único que se mostrou eficaz, reduzindo significativamente o número de UFC quando comparado ao controle, na presença ou não de matéria orgânica (Tabela 1).

Tabela 1 - Média das contagens das UFC do teste de exposição direta com os extratos de *O. vulgare* e *R. officinalis* em isolados de *Sporothrix* spp

Extrato	Tempo	Isolado 1	Isolado 2	Isolado 3	Isolado 4
Tintura A	5M	0	0	0	0
Tintura A	10M	0	0	0	0
Tintura A	15M	0	0	0	0
Tintura A+L	5M	0	0	0	0
Tintura A+L	10M	0	0	0	0
Tintura A+L	15M	0	0	0	0
Tintua O	5M	0	0	0	0
Tintua O	10M	0	0	0	0
Tintua O	15M	0	0	0	0
Tintua O+L	5M	0	0	0	0
Tintua O+L	10M	0	0	0	0
Tintua O+L	15M	0	0	0	0
Inf. A	5M	121	142	124	135
Inf. A	10M	115	130	123	127
Inf. A	15M	102	124	116	120
Inf. A+L	5M	132	146	130	137
Inf. A+L	10M	125	143	126	133
Inf. A+L	15M	121	144	122	136
Inf. O	5M	123	141	126	132
Inf. O	10M	121	139	128	120
Inf. O	15M	110	139	120	126
Inf. O+L	5M	130	138	131	142
Inf. O+L	10M	126	132	128	136
Inf. O+L	15M	115	126	120	131
Dec. A	5M	128	129	121	132
Dec. A	10M	122	116	119	129
Dec. A	15M	118	105	110	123
Dec. A+L	5M	122	123	123	132
Dec. A+L	10M	118	110	117	124
Dec. A+L	15M	110	108	102	110
Dec. O	5M	136	132	120	132
Dec. O	10M	128	125	114	124
Dec. O	15M	110	110	103	113
Dec. O+L	5M	131	120	120	123
Dec. O+L	10M	125	110	116	116
Dec. O+L	15M	107	107	102	107
EHA A	5M	168	142	156	151
EHA A	10M	118	132,3	136	140
EHA A	15M	103	112,1	100	120
EHA A + L	5M	138	125	157	131
EHA A + L	10M	119	120	130	125
EHA A + L	15M	110	110	63	120

EHA O	5M	0	0	3	1
EHA O	10M	0	0	3	1
EHA O	15M	0	0	1	1
EHA O+L	5M	1	2	33	0
EHA O+L	10M	0	0	20	0
EHA O+L	15M	0	0	5	0
Hipoclorito	5M	0	0	0	0
Hipoclorito	10M	0	0	0	0
Hipoclorito	15M	0	0	0	0
Hipoclorito + L	5M	0	0	0	0
Hipoclorito + L	10M	0	0	0	0
Hipoclorito + L	15M	0	0	0	0
Álcool 70°	5M	0	0	0	0
Álcool 70°	10M	0	0	0	0
Álcool 70°	15M	0	0	0	0
Álcool 70° + L	5M	0	0	0	0
Álcool 70° + L	10M	0	0	0	0
Álcool 70° + L	15M	0	0	0	0
Controle	5M	134	140	142	152
Controle	10M	130	143	156	149
Controle	15M	127	138	146	147

Dec: decocção; Inf: infusão; A: alecrim; O: orégano; EHA: extrato hidroalcoólico; L: Leite; M: minutos

Conforme Silva *et al.* (2008), as plantas que tem em sua estrutura componentes fenólicos, tais como o carvacrol e timol, tendem a apresentar atividade antimicrobiana. Este fato faz com que haja um aumento na pesquisa da ação de diferentes tipos de extratos de *O. vulgare* e *R. officinalis*, uma vez que se sabe que essas plantas possuem esses componentes em sua estrutura.

O fato do EHA de *O. vulgare* ter demonstrado ação frente ao *Sporothrix* spp e o extrato aquoso dessa mesma planta não, pode ser justificada pelo simples motivo de que a composição química da planta sofre influência do tipo de solvente a que a extração é submetida, uma vez que solventes diferentes podem extrair compostos ativos diferentes responsáveis pela ação antimicrobiana da planta (Simões *et al.*, 2003). Entretanto, alguns componentes podem se manter na forma qualitativa, variando apenas em quantidade (Danila; Gatea; Radu, 2011).

Segundo Danila; Gatea; Radu (2011), o extrato hidroalcoólico de *O. vulgare* apresenta como constituintes compostos fenólicos como, ácido clorogênico, ácido caféico, ácido ferúlico, cumárico, ácido rosmarínico e os flavonóides, rutina, luteolina, quercetol, apigenina, quercetina e kaempferol, sendo que os ácidos rosmarínico, cumárico e a rutina foram identificados como os compostos majoritários (Danila; Gatea; Radu, 2011). Tais compostos fenólicos são capazes de dissolverem-se dentro da membrana microbiana e desta forma penetrar dentro da célula, onde irá interagir com mecanismos do metabolismo microbiano (Marino *et al.*, 2001). De acordo com a literatura, os compostos majoritários no EHA de *O. vulgare*, podem atuar reduzindo a permeabilidade celular (Cunha *et al.*, 2008; Leonardi & Chorilli, 2010) e assim influenciar na entrada e saída de metabolitos da célula fúngica, o que pode ter levado a morte celular do *Sporothrix* spp.

Pesquisas a respeito da ação do EHA do *O. vulgare* e *R. officinalis* ainda não escassas. Porém, a ação do óleo essencial de orégano frente a isolados fúngicos do complexo *Sporothrix* já foi testada por Cleff *et al.* (2008), mostrando o poder fungicida do óleo frente a esse microrganismo.

O uso de plantas medicinais ou de substâncias ativas das plantas na Medicina Veterinária é de grande importância, principalmente no que diz respeito a resíduos deixados por medicamentos alopáticos em produtos de origem animal, fato que tem levado o mercado a rejeitar tais produtos (Benez *et al.*, 2002), além da resistência existente por parte dos microrganismos a esses produtos (Andremont, 2001).

Um trabalho avaliando a ação desinfetante de extratos hidroalcoólicos e aquosos de *Eucalyptus* ssp, *Baccharis trimera* e *Tagetes minuta*, todos na concentração de 10%, frente a *S. aureus*, *S. agalactiae* e *P. aeruginosa* através do teste de exposição direta, comprovou a ação desses extratos frente a esses

microrganismos sugerindo a utilização dessas soluções em situações-problema em que as bactérias estivessem envolvidas (Schuch *et al.*, 2008).

A rapidez do efeito antimicrobiano da solução empregada é essencial (Schuch *et al.*, 2008), e o fato do EHA de orégano ter apresentação ação frente ao *Sporothrix* spp com apenas 5 minutos de exposição, tanto na presença como na ausência da matéria orgânica sustenta à indicação de uso desse produto como desinfetantes/anti-séptico.

Conclusão

Os resultados demonstraram que a tintura e o extrato hidroalcoólico de *Origanum vulgare* na concentração de 10% foram eficazes na eliminação de *Sporothrix* spp tanto na presença quanto na ausência de matéria orgânica, a partir de 5 minutos de contato com o fungo, sendo que os demais extratos não apresentaram atividade frente ao *Sporothrix* spp na concentração avaliada, durante 5, 10 e 15 minutos de contato.

Referências

ALVARENGA, A. L.; SCHWAN, R. F.; DIAS, D. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; Bravo-Martins, C. E. C. Atividade antimicrobiana de extratos vegetais sobre bactérias patogênicas humanas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.9, p.86-91, 2007.

ANDREMONT, Antoine. The future control of bacterial resistance to antimicrobial agents. **American Journal of Infection Control**, v.29, p.256-25, 2001.

BAMBACE, A. M. J.; BARROS, E. J. A.; SANTOS, S. S. F.; JORGE, A. O. C. Eficácia de soluções aquosas de clorexidina para desinfecção de superfícies. **Revista Biociência de Taubaté**, v.9, n.2, p.73-81, 2008.

BARROS, M. B. L.; SCHUBACH, T. M. P.; GALHARDO, M. C. G.; SCHUBACH, A. O.; MONTEIRO P. C. F.; REIS, R. S.; ZANCOPE-OLIVEIRA; R. M.; LAZÉRA, M. S.; CUZZI-MAYA; T.; BLANCO, T. C. M.; MARZOCHI, K. B. F.; WANKE, B.; VALLE, A.

C. F. Sporotrichosis: an emergent zoonosis in Rio de Janeiro. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.96, p.777-779, 2001.

BARROS, M. B.; SCHUBACH, A. O.; VALLE, A. C. F.; GALHARDO, M. C. G.; CONCEIÇÃO-SILVA, F.; SCHUBACH, T. M. P.; REIS, R. S.; WANKE, B.; MARZOCHIL, K. B. F.; CONCEIÇÃO, M. J. Cattransmitted sporotrichosis epidemic in Rio de Janeiro, Brazil: description of a series of cases. **Clinical Infection Diseases**, v.38, n.4, p.529–35, 2004.

BARROS, M. B. L.; SCHUBACH, A. O.; SCHUBACH, T. M. P.; WANKE, B.; PASSOS, S. R. L. An epidemic of sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: epidemiological aspects of a series of cases. **Epidemiology & Infection**, v.136, p.1192-1196, 2008.

BARROS, M. B. L.; SCHUBACH, T. P.; COLL, J. O.; GREMIÃO, I. D.; WANKE, B.; SCHUBACH, A. Esporotricose: a evolução e os desafios de uma epidemia. **Revista Panamericana de Salud Publica**, v.27, n.6, p.455, 2010.

BENEZ, S. M.; BOERICKE, W.; CAIRO, N. **Manual de Homeopatia Veterinária: Indicações Clínicas e Patológicas - Teoria e Prática**. São Paulo: Ed. Robe. 2002, p.13-15.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de saúde. Coordenação Nacional de DST e AIDS. Controle de infecções. **Manual de condutas no controle de infecções e a prática odontológica em tempos de AIDS**, Brasília: Ministério da Saúde, 2000.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Formulário de Fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira** / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2011, 126p.

CASTRO, D.M. et al. **Plantas medicinais**. Viçosa: Editora UFV, 2000. 220 p.

CHANDRA, S. S.; MIGLANI, R.; SRINIVASAN, M. R.; INDIRA, R. Efficacy of 5.25% Sodium Hypochlorite, 2% Chlorhexidine Gluconate, and 17% EDTA With and Without an Antifungal Agent. **Journal of Endodontics**, v.36, n.4, p.675-678, 2010.

CLEFF, M. B.; MEINERZ, A. R. M.; SCHUCH, L. F. D.; RODRIGUES, M. R. A.; MEIRELES, M. C. A.; MELLO, J. R. B. Atividade in vitro do óleo essencial de *Origanum vulgare* frente à *Sporothrix Schenckii*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.2, p.513-516, 2008.

CRUZ, Luiz Celso Hygino. COMPLEXO *Sporothrix schenckii*. REVISÃO DE PARTE DA LITERATURA E CONSIDERAÇÕES SOBRE O DIAGNÓSTICO EA EPIDEMIOLOGIA. **Veterinária e Zootecnia**, v.20, p.08-28, 2013.

CUNHA, A. P. **Plantas e Produtos Vegetais em Cosmética e Dermatologia**. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian, 2008.

DANILA, O. A.; GATEA, F.; RADU, G. L. Polyphenol composition and antioxidant activity of selected medicinal herbs. **Chemistry of Natural Compounds**, v.47, n.1, p.22-26, 2011.

ESTRELA, C.; RIBEIRO, R. G.; ESTRELA, C. R.; PÉCORA, J. D.; SOUSA-NETO, M. D. Antimicrobial effect of 2% sodium hypochlorite and 2% chlorhexidine tested by different methods. **Brazilian Dental Journal**, v.14, n.1, p.58-62, 2003.

FANTINATO, V.; ALMEIDA, N. Q.; SCHIMIZU, M. T.; JORGE, A. O. C.; UNTERKIRCHER, C. S. **Manual de esterilização em odontologia**. São Paulo: Santos, 1994. p. 1-12.

FRAISE, Adam; MAILLARD, Jean-Yves; SATTAR, Syed. **Russell, Hugo and Ayliffe's Principles and Practice of Disinfection, Preservation and Sterilization**. 4. ed. Oxford, Blackwell Inc.; 2004. 678p.

KWON-CHUNG, K. J.; BENNET, J. E. **Medical mycology**. Philadelphia: Lea & Febiger; 1992.

LARSSON, Carlos Eduardo. Sporotrichosis. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.48, n.3, p.250-259. 2011.

LEONARDI, G. R.; CHORILLI, M. **Celulite - Prevenção e tratamento**. São Paulo: Pharmabooks, 2010.

MADRID, I. M.; FARIA, R. O.; ANTUNES, T. A.; BETTANZOS, M. G.; CABANA, Â. L.; MEIRELES, M. C. A. Infecção fúngica mista por *Sporothrix schenckii* e *Cryptococcus albidus* em um canino. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.39, n.4, p.1002, 2011.

MADRID, I. M.; MATTEI, A. S.; SANTIN, R.; REIS-GOMES, A.; CLEFF, M. B.; MEIRELES, M. C. A. Inhibitory effect of sodium hypochlorite and chlorhexidine digluconate in clinical isolates of *Sporothrix schenckii*. **Mycoses**, v.55, n.3, p.281-285, 2012.

MARINO, M.; BERSANI, C.; COMI, GIUSEPPE. Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae. **International Journal of Food Microbiology**, v.67, p.187-195, 2001.

MATTEI, A.; MADRID, I.M.; SANTIN, R.; SILVA, F.V.; CARAPETO, L.P.; MEIRELES, M.C.A. *Sporothrix schenckii* in a hospital and home environment in the city of Pelotas/RS – Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v.83 n.4, 2011.

MENEZES, M.M.; OLIVEIRA, L.D.; KOGA-ITO, C.Y.; JORGE, A. O. C.; VALERA, M. C. Concentração fungicida mínima das soluções de clorexidina e hipoclorito de sódio sobre *Candida albicans*. **Ciências Odontológicas Brasileira**, v.11, n.2, p.23-28, 2008.

NASCIMENTO, G. G. F.; LOCATELLI, J.; FREITAS, P. C.; SILVA, G. L. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.31, n.4, p.247-56, 2000.

REIS, R. S.; PAES, R. A.; MUNIZ, M. M.; TAVARES, P. M.; MONTEIRO, P. C.; SCHUBACH, T. M.; GUTIERREZ-GALHARDO, M. C.; ZANCOPÉ-OLIVEIRA, R. M. Molecular characterisation of *Sporothrix schenckii* isolates from humans and cats involved in the sporotrichosis epidemic in Rio de Janeiro, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.104, p.769-74, 2009.

SANTOS, L. R.; SCALCO NETO, J. F.; RIZZO, N. N.; BASTIANI, P. V.; OLIVEIRA, V. M.; BOSCARDIN, G.; RODRIGUES, L. B.; BARCELLOS, H. H. A.; BRUM, M. V. Eficácia de desinfetantes e anti-sépticos empregados no hospital veterinário da UPF (HV-UPF) Brasil. **Revista da FZVA**. v.14, n.2, p.156-164. 2007.

SCHIEDECK, G.; BEVILAQUA, G. A. P.; NACHTIGAL, G. F.; BAUER, M. V. **Método de preparo de tintura de plantas bioativas para fins agrícolas**. EMBRAPA – Comunicado Técnico, 190, outubro, 2008.

SCHUBACH; T.M; SCHUBACH, A; OKAMOTO, T. Evaluation of an epidemic of sporotrichosis in cats: 347 cases (1998-2001). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.224, n.10, p.1623-1629, mai. 2004.

SCHUCH, L. F. D.; WIEST, J. M.; COIMBRA, H. S.; PRESTES, L. S.; TONI, L.; LEMOS, J. S. Cinética da atividade antibacteriana in vitro de extratos naturais frente a microrganismos relacionados a mastite bovina. **Ciência Animal Brasileira**, v.9, p161–169, 2008.

SILVA, D. T.; MENEZES, R. C.; GREMIÃO, I. D. F.; SCHUBACH, T. M. P.; Boechat, J. S.; PEREIRA, S. A. Esporotricose zoonótica: procedimentos de biossegurança. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.40, n.4, p.1-10, 2012.

SILVA, F. C. D.; MAJEWSKI, M.; YAMAMOTO, L. T.; JORGE, A. O. C.; KOGA-ITO, C. Y. Atividade antimicrobiana da tintura e infusão de *origanum vulgare* (orégano); Anti-microbial activity of tincture or infusion of *origanum vulgare* (oregano). **Salusvita**, v.27, n.3, p.353-361, 2008.

SIMÕES, Cláudia Maria O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5.ed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, 2003. 1102p.

WALTIMO, T. M.; ORSTA, V.I.K.; SIRÉN, E.K.; Haapasalo, M.P. In vitro susceptibility of *Candida albicans* to four disinfectants and their combinations. **International Endodontic Journal**, v.32, n.6, p.421-429, nov. 1999.

XAVIER, M.O.; MADRID, I.M.; MEIRNERZ, A.R.M; CLEFF, M. B.; SCHUCH, L. F. D.; NOBRE, M. D. O.; MEIRELES, M. C. A. Atividade in vitro de três agentes químicos frente a diferentes espécies de *Aspergillus*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.74, n.1, p.49-53, 2007.

4.3 Artigo 3

Extratos vegetais para a desinfeção de superfícies contaminadas por *Sporothrix* spp

Caroline Bohnen de Matos, Isabel Martins Madrid, Mário Carlos Araujo Meireles,
Marlete Brum Cleff

Será Submetido à revista Journal of Medical Microbiology

Extratos vegetais para a desinfecção de superfícies contaminadas por *Sporothrix* spp

RESUMO

Com esse trabalho, objetivou-se avaliar a ação desinfetante de extratos hidroalcoólicos de *Origanum vulgare* e *Rosmarinus officinalis* em superfícies contaminadas com fungos do complexo *Sporothrix*. Superfícies de inox, fórmica e piso cerâmico foram contaminadas com inóculos de *Sporothrix* sp e expostas aos extratos vegetais na concentração de 10% a partir da técnica de *spray-wipe-spray*. O experimento foi realizado com isolados fúngicos provenientes de cães e gatos com esporotricose. Como controle, as superfícies contaminadas também foram testadas, através da mesma técnica, frente ao hipoclorito de sódio e álcool 70°. Após a análise dos resultados, pode-se notar a sensibilidade por parte do fungo aos extratos testados, sendo que o extrato hidroalcoólico de *Origanum vulgare* foi o único produto testado que eliminou 100% dos microrganismos fúngicos presentes em todas as superfícies. Os resultados demonstram a eficácia dos extratos como alternativas a desinfecção de superfícies de ambientes veterinários contaminadas com fungos do complexo *Sporothrix*.

Palavras-chave: Complexo *Sporothrix*, infecção cruzada; extratos vegetais

INTRODUÇÃO

Podemos definir infecção cruzada como sendo a transmissão de agentes infecciosos entre pacientes e equipe dentro de um ambiente clínico, podendo ocorrer por contato direto com tecidos, secreções, sangue ou gotículas que contenham agentes infecciosos, ou através de bordos cortantes de instrumentais contaminados, que não foram corretamente esterilizados (SAMARANAYKE et al., 1993; BAMBACE et al., 2008).

O controle deste tipo de infecção é de suma importância dentro de um ambiente veterinário, seja uma clínica, um ambulatório ou principalmente em nível hospitalar, visto que o número de patógenos circulantes é alto, podendo comprometer tanto a saúde dos animais como das pessoas (BAMBACE et al., 2008). Para isso, os produtos químicos escolhidos devem realizar, de forma efetiva, as funções de descontaminação e desinfecção (Brasil, 2000; Bambace et al., 2008), sendo que é sugerido que a desinfecção ambiental ocorra com o rodízio periódico de agentes químicos capazes de eliminar ou inibir o crescimento microbiano (Xavier et al., 2007b).

Sporothrix schenckii até os últimos anos, era a única espécie do gênero *Sporothrix* considerada patogênica para humanos e animais (BARROS et al., 2010), porém, através de estudos genômicos pode-se constatar a existência de seis espécies patogênicas ficando este denominado Complexo *Sporothrix* (MARIMON et al., 2007). Este agente é causador da esporotricose, micose zoonótica de importância em saúde pública (BARROS et al. 2004; SOUZA et al., 2006). O isolamento destes fungos de ambientes veterinários já foi descrito por MATTEI et al. (2011), podendo servir como fonte de infecção para animais ou humanos. Neste sentido a busca por produtos que sejam eficazes contra esses agentes é de extrema importância para a redução da carga microbiana presente.

É conhecido que o uso inadequado de desinfetantes acaba levando a uma seleção natural de isolados resistentes em uma população microbiana (PEDRINI et al., 2003). Por isso, é importante a realização de testes de sensibilidade *in vitro* dos desinfetantes a serem utilizados frente aos agentes presentes no ambiente, para ser preconizado o melhor produto, na melhor concentração e determinação do tempo de exposição necessário para a eliminação da carga microbiana. Assim, cada vez mais surgem pesquisas a respeito de novos compostos, buscando ampliar os recursos existentes para a desinfecção ambiental, contornando possíveis efeitos negativos que algumas substâncias químicas sintéticas possam ter sobre o usuário, o hospedeiro, ou o ambiente, além de driblar a resistência de agentes patogênicos, e propiciar redução de custos das práticas de higiene (AVANCINI et al., 2000).

As propriedades medicinais do *Origanum vulgare*, conhecido popularmente como orégano, e do *Rosmarinus officinalis*, conhecido como alecrim, vem sendo pesquisadas, principalmente no que diz respeito a ação antimicrobiana frente a bactérias e leveduras (LAMBERT et al., 2001; CLEFF et al., 2008; CLEFF et al., 2010, SANTIN, 2013). Desta forma, objetivou-se com esse trabalho avaliar a atividade de extratos hidroalcoólicos de *O. vulgare* e *R. officinalis* como alternativa a desinfecção de superfícies contaminadas com fungos do complexo *Sporothrix*.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os inóculos foram preparados a partir de isolados fúngicos do complexo *Sporothrix* obtidos a partir de casos clínicos de animais com esporotricose, pertencentes a Micoteca do setor de Micologia da Universidade Federal de Pelotas, semeados em ágar batata dextrose (PDA) e mantidos à 25°C por sete dias, para que se obtivesse a fase filamentosa do fungo. Após, uma alçada das colônias fúngicas foi transferida para tubos contendo água destilada

estéril, e ajustadas em espectrofotômetro com comprimento onda de 530nm e 70% de transmitância resultando em aproximadamente $1 \text{ a } 5 \times 10^6$ cels/mL.

Os extratos hidroalcoólicos foram obtidos através da destilação fracionada em rota- evaporador à pressão reduzida para extração do álcool (solvente) da tintura de *O. vulgare* e de *R. officinalis* preparada segundo Schiedeck et al. (2008), na concentração de 10%. Após a extração do solvente, procedeu-se à re-hidratação com água destilada estéril reconstituindo a concentração original do extrato.

Para os testes de desinfecção foram utilizadas superfícies de aço inoxidável (5cm), superfícies de fórmica (5cm) e superfícies de piso cerâmico (5cm), testadas em quadruplicata. As superfícies foram submetidas a descontaminação com hipoclorito de sódio por 30 minutos, lavadas com água, sabão e auxílio de uma escova, embaladas e esterilizadas em autoclave a 121°C por 15 minutos antes da utilização.

Cada uma das superfícies foi contaminada, com os quatro isolados fúngicos, em capela de fluxo laminar, com 0,1mL da suspensão fúngica e espalhada com alça de Drigalsky. Trinta minutos após a inoculação coletou-se o grupo controle negativo (sem desinfecção) com placas de superfície (RODAC®) contendo ágar Sabouraud dextrose com cloranfenicol, que foram deixadas em contato com a superfície por 30 segundos. Logo após, cada superfície foi submetida ao processo de desinfecção pela técnica *spray-wipe-spray* com os extratos hidroalcoólicos de *O.vulgare* e *R.officinalis*. Como controle positivo, utilizou-se álcool 70° e hipoclorito de sódio a 4%, sendo realizados os mesmos procedimentos do teste de desinfecção feito com os extratos.

Dez minutos após a desinfecção foram realizadas novas coletas com placas de superfície (RODAC®) deixadas em contato por 30 segundos com as diferentes superfícies. Todas as placas, controle e pós-desinfecção, foram incubadas a 25° por sete dias para a contagem das unidades formadoras de colônias (UFC).

Os resultados foram expressos através da média da quadruplicata das contagens de UFC de cada teste e percentual de redução de carga fúngica com relação ao controle negativo e analisados através da ANOVA seguido pelo teste de TUKEY no programa Statistix 9®.

RESULTADOS

As soluções desinfetantes testadas demonstraram eficácia na desinfecção de superfícies em inox, fórmica e piso cerâmico contaminados com *Sporothrix* spp, considerando-se a ausência ou baixo número de UFC/placa quando comparado ao controle

negativo. O extrato hidroalcoólico (EHA) de *Origanum vulgare* mostrou-se eficaz na eliminação de 100% dos microrganismos testados independente da superfície testada e do isolado clínico. Já o EHA de *Rosmarinus officinalis* demonstrou redução de carga fúngica entre 76,3% e 100%. Para o Álcool 70°, o percentual de eliminação fúngica variou de 87,4% a 100% enquanto que para o Hipoclorito de Sódio 4% foi de 90,2% a 100% (Tabela 1).

Tabela 1. Percentual de eliminação fúngica pós-desinfecção de acordo com cada isolado testado.

Superfície	Desinfetante	S1	S2	S3	S4
INOX	EHA Orégano	100%	100%	100%	100%
	EHA Alecrim	77%	89,8%	100%	97,6%
	Hipoclorito de Sódio	96%	91%	100%	95,6%
	Álcool 70°	100%	87,3%	98,3%	90%
FÓRMICA	EHA Orégano	100%	100%	100%	100%
	EHA Alecrim	76,3%	92,3%	100%	99,3%
	Hipoclorito de Sódio	96,6%	90,2%	100%	95,9%
	Álcool 70°	100%	89,1%	97,8%	89,9%
PISO	EHA Orégano	100%	100%	100%	100%
	EHA Alecrim	82,3%	83,9%	100%	100%
	Hipoclorito de Sódio	96,1%	90,6%	100%	96,8%
	Álcool 70°	100%	92,5%	100%	90,1%

EHA: extrato hidroalcoólico; S1: isolado felino; S2: isolado felino; S3: Isolado canino; S4: isolado canino

O EHA de *O. vulgare* não apresentou diferença na eliminação dos isolados, nem com relação ao tipo de superfície testada, sendo capaz de eliminar 100% dos microrganismos avaliados. Entretanto, ao se analisar a sensibilidade dos isolados frente a ação do EHA de *R. officinalis* verificou-se que esta sofre uma variação, ficando seus valores fixados em torno de 76,3% a 100%.

Com relação a utilização do hipoclorito de sódio, o percentual médio de eliminação fúngica foi de 90% e para o álcool 70° esse percentual ficou em torno de 88%.

O isolado felino S1, não apresentou diferença na suscetibilidade com relação ao uso do hipoclorito, álcool 70° e EHA de orégano, porém frente ao EHA de alecrim demonstrou maior resistência com percentual de redução da carga fúngica inferior a 82%.

Com relação ao isolado felino S2, podemos notar que o EHA de *O. vulgare* mostrou-se mais eficaz na eliminação do fungo em todas as superfícies testadas, com redução de 100% da carga microbiana. Já o isolado canino S3 demonstrou maior sensibilidade aos produtos

testados, independentemente da superfície analisada, com percentual de eliminação entre 98% e 100%.

Com relação ao isolado S4, podemos notar que em todas as superfícies avaliadas o EHA de *O. vulgare* mostrou-se mais eficaz que os produtos comerciais, sem que houvesse muita diferença em relação a ação do EHA de *R. officinalis*.

DISCUSSÃO

Na rotina veterinária, o álcool iodado é muito utilizado para desinfecção de superfícies, principalmente pelo seu baixo custo, facilidade de aquisição, baixa toxicidade, estabilidade no armazenamento, ser incolor e evaporar sem deixar resíduos no equipamento (Bambace et al., 2008). Apesar disso, tem como desvantagens não ser esporicida, ter atividade diminuída na presença de matéria orgânica, danificar material plástico, borracha ou acrílico, evaporar rapidamente, não ter registro como desinfetante no Environmental Protection Agency (EPA), não ser aceito pela Centers for Disease Control (CDC) como desinfetante de superfície fixa e instrumental, não ter ação residual, sendo considerado um desinfetante de nível médio (FERREIRA, 1995; VENTURELLI et al., 2009). Na literatura, podemos encontrar resultados significativos de redução de número de microrganismos após o seu uso para desinfecção, apesar de não ser o mais eficaz (SILVA; JORGE, 2002; BAMBACE et al., 2008; GRAZIANO et al., 2013).

Em relação ao hipoclorito de sódio, normalmente ele é utilizado para os pisos, sendo pouco utilizado para superfícies de mesas de atendimento e gaiolas, principalmente pelo fato de ser agressivo à pele e causar manchas nas superfícies de inox (Machado et al., 2008). Estudos acerca da atividade desinfetante do hipoclorito de sódio na área da odontologia, principalmente no que diz respeito ao gênero *Candida*, já foram realizados (WALTIMO et al., 1999; ESTRELA et al., 2003; FRAISE et al., 2004; MENEZES et al., 2008; CHANDRA et al., 2010). THÉRAUD et al. (2004) avaliou a ação de clorexidina, álcool 70°, hipoclorito de sódio contra *Candida* spp, *Cryptococcus* spp e *Rhodotorula* spp, sendo que apenas a clorexidina a 0,5% apresentou resultados satisfatórios contra os isolados.

De um modo geral, pesquisas quanto a atividade antifúngica de agentes químicos utilizados na desinfecção de ambientes veterinários contaminados com o *Sporothrix* spp são escassas (SANTOS et al., 2007; XAVIER et al., 2007). Porém, Madrid et al. (2012) ao avaliar a ação do hipoclorito de sódio e digluconato de clorexidina frente a isolados clínicos de *Sporothrix*, através da técnica de exposição direta e de disco difusão, observou que o

hipoclorito tinha alto potencial antifúngico quando comparado com o digluconato de clorexidina.

Em outro estudo realizado por Madrid et al. (2013), utilizando a técnica de microdiluição em caldo, pode-se observar que o hipoclorito de sódio obteve valores de CIM e CFM de 4% frente a fungos do complexo *Sporothrix*, mesma concentração utilizada para a realização deste trabalho, e de 2% a 8% para outros fungos como *Microsporium gypseum*, *C. guilliermondii* e *C. neoformans*. A utilização de concentrações de forma empírica, como é realizada na maioria dos ambientes veterinários, pode acarretar na não eliminação total da carga microbiana presente no ambiente e selecionar microrganismos resistentes. Para tanto se faz necessário a realização de testes de eficácia dos desinfetantes.

A busca por produtos alternativos para a limpeza e desinfecção de ambientes contaminados é crescente, já que vem sendo citado na literatura o fato de existir microrganismos resistentes aos produtos disponíveis (ANDREMONT, 2001).

O óleo essencial de *Origanum vulgare* e *Rosmarinus officinalis* e seus extratos já tem seu efeito antimicrobiano comprovado em testes *in vitro* frente a diferentes microrganismos (CLEFF et al., 2008; CLEFF et al., 2010; Matos et al., 2012; SANTIN, 2013), entretanto, o uso de extratos na eliminação de fungos do complexo *Sporothrix* de superfícies ainda não havia sido testado.

A utilização do óleo essencial dessas plantas para a limpeza de superfícies é dificultada principalmente pelas peculiaridades que os óleos apresentam, tais como volatilidade, insolubilidade em água e complexidade, características que podem interferir em alguns resultados (NASCIMENTO et al., 2007), sendo necessária a utilização dessas plantas para esse fim em outras formas de extratos.

Danila et al. (2011) ao analisar a composição química do extrato hidroalcoólico de *Origanum vulgare*, detectou compostos fenólicos como, ácido clorogênico, ácido caféico, ácido ferúlico, cumárico, ácido rosmarínico e os flavonóides, rutina, luteolina, quercetol, apigenina, quercetina e kaempferol, sendo que os majoritários foram os ácidos rosmarínico, cumárico e a rutina e, Reichling et al. (2008) ao estudar a composição química do extrato etanólico de *Rosmarinus officinalis*, observou que o composto majoritário demonstrado foi o ácido rosmarínico.

Com relação ao isolado que apresentou maior resistência frente aos produtos testados, o mesmo era pertencente a um caso clínico de um felino e tratava-se de um isolado com maior grau de pigmentação em relação aos outros. A pigmentação do fungo dá-se, principalmente,

devido a presença de melanina DHN, que está relacionada a resistência fúngica (ROMERO-MARTINEZ et al., 2000; NOBRE et al., 2004). O fato desse isolado em questão mostrar-se mais resistente, pode ser justificado pela presença dessa melanina na membrana que age impedindo a penetração dos protudos testados para dentro da célula fúngica.

Um fator importante que nos faz buscar produtos naturais alternativos, é no que diz respeito a toxicidade e efeito residual envolvendo os produtos que já são usados, podendo causar risco a saúde humana e animal e também prejuízos ao ambiente. Um exemplo clássico é o hipoclorito de sódio, amplamente utilizado para a limpeza e que em altas concentrações (> 500 ppm) tem ação corrosiva de metais e tecidos, além de liberar gases tóxicos de cloro quando misturados com amônia ou ácido (MRVOS et al., 1993; FERREIRA, 2012).

Os resultados obtidos com o uso dos extratos vegetais tanto de *O. vulgare* como de *R. officinalis* na desinfecção de superfícies contaminadas com isolados de *Sporothrix* spp abre a possibilidade da continuidade de estudos, enfocando o uso destes na limpeza e desinfecção de ambientes veterinários, com a realização de mais estudos, principalmente a respeito da citotoxicidade e toxicidade desses produtos, além da elucidação do mecanismo de ação e dos compostos majoritários atuantes, principalmente pelo fato desses produtos terem se mostrado eficaz na eliminação desse fungo diante das superfícies analisadas.

CONCLUSÃO

As soluções de extratos vegetais demonstraram eficácia na desinfecção de superfícies em inox, fórmica e piso cerâmico contaminados com *Sporothrix* spp, sendo que o extrato de *O. vulgare* eliminou 100% dos isolados em todas as superfícies.

REFERÊNCIAS

ANDREMONT, Antoine. The future control of bacterial resistance to antimicrobial agents. **American Journal of Infection Control**, v.29, p.256-25, 2001.

AVANCINI, C. A. M.; WIEST, J. M.; MUNDSTOCK, E. Bacteriostatic and bactericidal activity of the *Baccharis trimera* (Less.) DC-Compositae decocto, as disinfectant or antiseptic. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.52, n.3, p.230-234, 2000.

BAMBACE, A. M. J.; BARROS, E. J. A.; SANTOS, S. S. F.; JORGE, A. O. C. Eficácia de soluções aquosas de clorexidina para desinfecção de superfícies. **Revista Biociência de Taubaté**, v.9, n.2, p.73-81, 2008.

BARROS, M. B.; SCHUBACH, A. O.; VALLE, A. C. F.; GALHARDO, M. C. G.; CONCEIÇÃO-SILVA, F.; SCHUBACH, T. M. P.; REIS, R. S.; WANKE, B.; MARZOCHIL, K. B. F.; CONCEIÇÃO, M. J. Cattransmitted sporotrichosis epidemic in Rio de Janeiro, Brazil: description of a series of cases. **Clinical Infection Diseases**, v.38, n.4, p.529–35, 2004.

BARROS, M. B. L.; SCHUBACH, T. P.; COLL, J. O.; GREMIÃO, I. D.; WANKE, B.; SCHUBACH, A. Esporotricose: a evolução e os desafios de uma epidemia. **Revista Panamericana de Salud Publica**, v.27, n.6, p.455, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de saúde. Coordenação Nacional de DST e AIDS. Controle de infecções. **Manual de condutas no controle de infecções e a prática odontológica em tempos de AIDS**, Brasília: Ministério da Saúde, 2000.

CLEFF, M. B.; MEINERZ, A. R. M.; SCHUCH, L. F. D.; RODRIGUES, M. R. A.; MEIRELES, M. C. A.; MELLO, J. R. B. Atividade in vitro do óleo essencial de *Origanum vulgare* frente à *Sporothrix Schenckii*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.2, p.513-516, 2008.

CHANDRA, S. S.; MIGLANI, R.; SRINIVASAN, M. R.; INDIRA, R. Efficacy of 5.25% Sodium Hypochlorite, 2% Chlorhexidine Gluconate, and 17% EDTA With and Without an Antifungal Agent. **Journal of Endodontics**, v.36, n.4, p.675-678, 2010.

CLEFF, M. B.; MEINERZ, A. R.; XAVIER, M. O.; SCHUCH, L. F.; MEIRELES, M. C. A.; RODRIGUES, M. R. A.; MELLO, J. R. B. D. In vitro activity of *Origanum vulgare* essential oil against *Candida* species. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.41, n.1, p.116-123, 2010.

DANILA, O. A.; GATEA, F.; RADU, G. L. Polyphenol composition and antioxidant activity of selected medicinal herbs. **Chemistry of Natural Compounds**, v.47, n.1, p.22-26, 2011.

ESTRELA, C.; RIBEIRO, R. G.; ESTRELA, C. R.; PÉCORA, J. D.; SOUSA-NETO, M. D. Antimicrobial effect of 2% sodium hypochlorite and 2% chlorhexidine tested by different methods. **Brazilian Dental Journal**, v.14, n.1, p.58-62, 2003.

FERREIRA, R. A. Barrando o invisível. **Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas**, v.49, n.6, p.417-427, 1995.

FERREIRA, T. G. **Efeito de desinfetantes hospitalares sobre células vegetativas e esporos de ribotipos de *Clostridium difficile* isolados exclusivamente no Brasil**. 2012. 95f. Dissertação (Mestrado), Curso de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas a Produtos para a Saúde da Universidade Federal Fluminense. Rio de Janeiro, Brasil.

FRAISE, Adam; MAILLARD, Jean-Yves; SATTAR, Syed. **Russell, Hugo and Ayliffe's Principles and Practice of Disinfection, Preservation and Sterilization**. 4. ed. Oxford, Blackwell Inc.; 2004. 678p.

GRAZIANO, M. U.; GRAZIANO, K. U.; PINTO, F. M. G.; BRUNA, C. Q. M.; QUEIROZ, R. Q.; LASCALA, C. A. Eficácia da desinfecção com álcool 70% (p/v) de superfícies

contaminadas sem limpeza prévia. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v.21, n.2, p.01-06, 2013.

LAMBERT, R. J. W.; SKANDAMIS, P. N.; COOTE, P. J. A Study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. **Journal of Applied Microbiology**, v.91, p.453-462, 2001.

MACHADO, G. L.; KATHER, J. M. Estudo do controle da infecção cruzada utilizada pelos cirurgiões-dentistas de Taubaté. **Revista Biociências**, v.8, n.1, 2008.

MADRID, I. M.; MATTEI, A. S.; SANTIN, R.; REIS-GOMES, A.; CLEFF, M. B.; MEIRELES, M. C. A. Inhibitory effect of sodium hypochlorite and chlorhexidine digluconate in clinical isolates of *Sporothrix schenckii*. **Mycoses**, v.55, n.3, p.281-285, 2012.

MADRID, I. M.; TELES, A. J.; SANTIN, R.; MATTEI, A. S.; GOMES, A.; WALLER, S. B. Eficácia de soluções desinfetantes na eliminação de fungos de importância médica e veterinária. **Archives of Veterinary Science**, v.18, n.1, p.65-70, 2013.

MARIMON, R.; CANO, J.; GENÉ, J.; SUTTON, D.; KAWASAKI, M.; GUARRO, J. *Sporothrix brasiliensis*, *S. globosa*, and *S. mexicana*, Three New *Sporothrix* Species of Clinical Interest. **Journal of Clinical Microbiology**, v.45, n.10, p.3198-3206, 2007.

MATOS, C. B.; MADRID, I. M.; GIORDANI, C.; MEIRELES, M. C. A.; CLEFF, M. B. Ação do extrato hidroalcoólico de *Origanum vulgare* frente ao *Sporothrix schenckii*. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 22., 2012, Bento Gonçalves. **Anais do XXII Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil**, Bento Gonçalves: UFRGS, 2012.

MATTEI, A.; MADRID, I.M.; SANTIN, R.; SILVA, F.V.; CARAPETO, L.P.; MEIRELES, M.C.A. *Sporothrix schenckii* in a hospital and home environment in the city of Pelotas/RS – Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v.83 n.4, 2011.

SAMARANAYAKE, L. P.; SCHEUTZ, F.; COTTONE, J. A. **Controle da infecção para equipe odontológica**. São Paulo: ed. Santos, 1993. p.94-101.

MENEZES, M.M.; OLIVEIRA, L.D.; KOGA-ITO, C.Y.; JORGE, A. O. C.; VALERA, M. C. Concentração fungicida mínima das soluções de clorexidina e hipoclorito de sódio sobre *Candida albicans*. **Ciências Odontológicas Brasileira**, v.11, n.2, p.23-28, 2008.

MRVOS, R.; DEAN, B. S.; KRENZELOK, E. P. Home exposures to chlorine/chloramine gas: review of 216 cases. **Southern medical journal**, v.86, n.6, p.654-657, 1993.

NASCIMENTO, P. F.; NASCIMENTO, A. C.; RODRIGUES, C. S.; ANTONIOLLI, A. R.; SANTOS, P. O.; BARBOSA-JÚNIOR, A. M.; TRINDADE, R. C. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, n.1, p.108-113, 2007.

NOBRE M.O.; ANTUNES T.A.; MEIRELES M.C.A.; FERREIRO L. Production and evaluation of albino mutants of *Sporothrix schenckii*. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.32, n.2, p.119-123, 2004.

PEDRINI, S. C. B.; MARGATHO, L. F. F. Sensibilidade de microrganismos patogênicos isolados de casos de mastite clínica em bovinos frente a diferentes tipos de desinfetantes. **Biológico, São Paulo**, v.70, n.4, p.391-395, 2003.

REICHLING, J.; NOLKEMPERA, S.; STINTZING, F.C.; SCHNITZLER, P. Impact of Ethanolic Lamiaceae Extracts on Herpesvirus Infectivity in Cell Culture. **Forsch Komplementmed**, p.15:313–320, 2008.

ROMERO-MARTINEZ, R.; WHEELER, M.; GUERRERO-PLATA, A.; RICO, G.; TORRES-GUERRERO, H. Biosynthesis and Functions of Melanin in *Sporothrix schenckii*. **Infection and immunity**, v.68, n.6, p.3696-3703, 2000.

SANTIN, Rosema. **Potencial antifúngico e toxicidade de óleos essenciais da família Lamiaceae**. 2013. 104f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

SANTOS, L. R.; SCALCO NETO, J. F.; RIZZO, N. N.; BASTIANI, P. V.; OLIVEIRA, V. M.; BOSCARDIN, G.; RODRIGUES, L. B.; BARCELLOS, H. H. A.; BRUM, M. V. Eficácia de desinfetantes e anti-sépticos empregados no hospital veterinário da UPF (HV-UPF) Brasil. **Revista da FZVA**. v.14, n.2, p.156-164. 2007.

SCHIEDECK, G.; BEVILAQUA, G. A. P.; NACHTIGAL, G. F.; BAUER, M. V. **Método de preparo de tintura de plantas bioativas para fins agrícolas**. EMBRAPA – Comunicado Técnico, 190, outubro, 2008.

SILVA, C. R. G.; JORGE, A. O. C. Avaliação de desinfetantes de superfície utilizados em odontologia. **Pesquisa Odontológica Brasileira**, v.16, n.2, p.107-114, 2002.

SOUZA, L.; NASCENTE, P.; NOBRE, M.; MEINERZ, A.; MEIRELES, M. Isolation of *Sporothrix schenckii* from the nails of healthy cats. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.37, p.372-374, 2006.

THÉRAUD, M.; BÉDOUIN, Y.; GUIGUEN, C.; GANGNEUX, J. P. Efficacy of antiseptics and disinfectants on clinical and environmental yeast isolates in planktonic and biofilm conditions. **Journal of Medical Microbiology**, v.53, p.1013-1018, 2004.

VENTURELLI, A. C., TORRES, F. C., ALMEIDA-PEDRIN, R. R. D., ALMEIDA, R. R. D., ALMEIDA, M. R. D., FERREIRA, F. P. C. Avaliação microbiológica da contaminação residual em diferentes tipos de alicates ortodônticos após desinfecção com álcool 70%. **Revista Dental Press de Ortodontia e Ortopedia Facial**, v. 14, n. 4, p.43-52, 2009.

WALTIMO, T. M.; ORSTA, V.I.K.; SIRÉN, E.K.; Haapasalo, M.P. In vitro susceptibility of *Candida albicans* to four disinfectants and their combinations. **International Endodontic Journal**, v.32, n.6, p.421-429, nov. 1999.

XAVIER, M.O.; MADRID, I.M.; MEIRNERZ, A.R.M; CLEFF, M. B.; SCHUCH, L. F. D.; NOBRE, M. D. O.; MEIRELES, M. C. A. Atividade in vitro de três agentes químicos frente a diferentes espécies de *Aspergillus*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.74, n.1, p.49-53, 2007.

5 CONCLUSÃO GERAL

Os resultados obtidos permitiram concluir que:

- Cada vez mais é crescente o número de casos clínicos relatados na espécie canina, demonstrando a importância também dessa espécie na cadeia epidemiológica da esporotricose;

- A eliminação de fungos do complexo *Sporothrix* de ambientes domiciliares e veterinários ainda é um fator determinante na manutenção dessa enfermidade, principalmente no que diz respeito na permanência do fungo no ambiente servindo como fonte infectante para o próprio animal, para outros animais ou até mesmo para o homem, sendo necessário intensificar as pesquisas com substâncias capazes de eliminar o fungo do ambiente;
- A tintura de *Origanum vulgare* e de *Rosmarinus officinalis*, mostrou-se eficaz na eliminação de 100% dos isolados fúngicos de *Sporothrix* spp testados, , através do teste de exposição direta, na concentração de 10%, nos tempos de 5, 10 e 15 minutos de contato;
- Os extratos aquosos (infusão e decocção) de *Origanum vulgare* e *Rosmarinus officinalis* não foram eficazes na eliminação dos isolados testados de *Sporothrix* spp, através do teste de exposição direta, na concentração de 10%, nos tempos de 5, 10 e 15 minutos de contato;
- O extrato hidroalcoólico de *Origanum vulgare*, na concentração de 10%, foi eficaz na eliminação de *Sporothrix* spp tanto na presença quanto na ausência de matéria orgânica, a partir de 5 minutos de contato com o fungo;
- Os extratos hidroalcoólicos de *Origanum vulgare* e *Rosmarinus officinalis* demonstraram eficácia na desinfecção de superfícies em inox, fórmica e piso cerâmico contaminados com *Sporothrix* spp, mostrando-se uma boa opção alternativa aos produtos existentes no mercado para a desinfecção.

6 REFERÊNCIAS

AFONSO, T.; BERDASCO, L.; MEDEIROS, T.; REJOWSKI, M. Mercado pet em ascensão-hotelaria para cães e gatos em São Paulo (Brasil). **Revista Brasileira de Pesquisa em Turismo**, v.2, n.4, p.102-123, 2008.

AGRA, M. F.; FRANÇA, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, p.114-140, 2007.

ALLARDICE, P.; BONE, K.; HUTCHISON, F. **Segredos e virtudes das plantas medicinais**. Rio de Janeiro: Editora Reader's Digest Brasil Ltda. 1999.

ALONSO, Jorge R. **Tratado de fitomedicina: bases clínicas y farmacológicas**. Buenos Aires: Isis Ediciones, 1998. p. 327-330.

AL-SEREITI, M. R.; ABU-AMER, K. M.; SEN, P. Pharmacology of rosemary (*Rosmarinus officinalis* Linn.) and its therapeutic potentials. **Indian Journal Experimental Biology**, v.37, p.124-130, 1999.

ALVARENGA, A. L.; SCHWAN, R. F.; DIAS, D. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; Bravo-Martins, C. E. C. Atividade antimicrobiana de extratos vegetais sobre bactérias patogênicas humanas. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v.9, p.86-91, 2007.

ANDREMONT, Antoine. The future control of bacterial resistance to antimicrobial agents. **American Journal of Infection Control**, v.29, p.256-25, 2001.

ARAÚJO, S. G.; PINTO, M. E. A.; SILVA, N. L.; DOS SANTOS, F. J. L.; CASTRO, A. H. F.; SANTOS LIMA, L. A. R. Atividades antioxidante e alelopática do extrato e frações obtidos de *Rosmarinus officinalis*. **Biochemistry and Biotechnology Reports**, v.2, n.1, p.35-43, 2013.

ANTUNES, T. A.; NOBRE, M. O.; FARIA, R. O.; MEINERZ, A. R. M.; MARTINS, A. A.; CLEFF, M. B.; FERNANDES, C. G.; MEIRELES, M. C. A. Esporotricose cutânea experimental: Avaliação in vivo do itraconazol e terbinafina; Experimental cutaneous sporotrichosis: in vivo evaluation of itraconazole and terbinafine. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.42, n.6, p.706-710, 2009.

AVANCINI, C. A. M.; WIEST, J. M.; MUNDSTOCK, E. Bacteriostatic and bactericidal activity of the *Baccharis trimera* (Less.) DC-Compositae decocto, as disinfectant or antiseptic. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.52, n.3, p.230-234, 2000.

BELLATO, V.; SARTOR A.A.; SOUZA A.P. et al. Ectoparasitoses em caninos no município de Lages, Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 12, p. 95-98, 2003.

BAMBACE, A. M. J.; BARROS, E. J. A.; SANTOS, S. S. F.; JORGE, A. O. C. Eficácia de soluções aquosas de clorexidina para desinfecção de superfícies. **Revista Biociência de Taubaté**, v.9, n.2, p.73-81, 2008.

BARBOSA, D.C.; SANTOS, L.L.; WARTH, J.F. et al. Dermatopatias piogênicas em cães de abrigo e padrões de sensibilidade aos antimicrobianos *in vitro* de cepas de *Staphylococcus pseudintermedius*. **Clínica Veterinária**, n.93; p.72-78, 2011.

BARROS, M. B. L.; SCHUBACH, T. M. P.; GALHARDO, M. C. G.; SCHUBACH, A. O.; MONTEIRO P. C. F.; REIS, R. S.; ZANCOPE-OLIVEIRA; R. M.; LAZÉRA, M. S.; CUZZI-MAYA; T.; BLANCO, T. C. M.; MARZOCHI, K. B. F.; WANKE, B.; VALLE, A. C. F. Sporotrichosis: an emergent zoonosis in Rio de Janeiro. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.96, p.777-779, 2001.

BARROS, M. B.; SCHUBACH, A. O.; VALLE, A. C. F.; GALHARDO, M. C. G.; CONCEIÇÃO-SILVA, F.; SCHUBACH, T. M. P.; REIS, R. S.; WANKE, B.; MARZOCHIL, K. B. F.; CONCEIÇÃO, M. J. Cattransmitted sporotrichosis epidemic in Rio de Janeiro, Brazil: description of a series of cases. **Clinical Infection Diseases**, v.38, n.4, p.529–35, 2004.

BARROS, M. B. L.; SCHUBACH, A. O.; SCHUBACH, T. M. P.; WANKE, B.; PASSOS, S. R. L. An epidemic of sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: epidemiological aspects of a series of cases. **Epidemiology & Infection**, v.136, p.1192-1196, 2008.

BARROS, M. B. L.; SCHUBACH, T. P.; COLL, J. O.; GREMIÃO, I. D.; WANKE, B.; SCHUBACH, A. Esporotricose: a evolução e os desafios de uma epidemia. **Revista Panamericana de Salud Publica**, v.27, n.6, p.455, 2010.

BENEZ, S. M.; BOERICKE, W.; CAIRO, N. **Manual de Homeopatia Veterinária: Indicações Clínicas e Patológicas - Teoria e Prática**. São Paulo: Ed. Robe. 2002, p.13-15.

BERNARDES, W. A.; LUCARINI, R.; TOZATTI, M. G.; SOUZA, M. G.; SILVA, L.; FILHO, A. A.; MARTINS, C. H.; CROTTI, A. E.; PAULETTI, P. M.; GROPPPO, M.; CUNHA, W. R. Antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* against oral pathogens: relevance of carnosic acid and carnosol. **Chemistry & Biodiversity**, v.7, n.7, p.1835-40, 2010.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual de Condutas: Exposição ocupacional a material biológico: Hepatite e HIV**. Brasília, 1999.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de saúde. Coordenação Nacional de DST e AIDS. Controle de infecções. **Manual de condutas no controle de infecções e a prática odontológica em tempos de AIDS**, Brasília: Ministério da Saúde, 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62. Oficializa os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 18 set. 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. **Diretrizes gerais para o trabalho em contenção com agentes biológicos**. Ministério da Saúde. 2.ed. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 52p, 2006.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. **Segurança do paciente em serviços de saúde: Limpeza e desinfecção de superfície**. Brasília: Anvisa, 2010. 116p

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Formulário de Fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira** / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2011, 126p.

BRUNETON, Jean. **Farmacognosia, Fitoquímica, Plantas Medicinales**. 2.ed. ACRIBIA S.A/Zaragosa, Espanha, 2001, 1099p.

BUSTAMANTE, B.; CAMPOS, P. E. Sporotrichosis: a forgotten disease in the drug research agenda. **Expert Review of Anti-infective Therapy**, v.2, p.85-94, 2004.

CASTRO, D.M. et al. **Plantas medicinais**. Viçosa: Editora UFV, 2000. 220p.

CAVALCANTI, Y. W.; ALMEIDA, L. F. D.; PADILHA, W. W. N. Anti-adherent activity of *Rosmarinus officinalis* essential oil on *Candida albicans*: an SEM analysis. **Revista Odonto Ciência**, v.26, n.2, p. 139-144, 2011.

CELIK TAS, O. Y.; KOCABAS, E. E.; BEDIR, E.; SUKAN, F. V.; OZEK, T.; BASER, K. H. C. Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. **Food Chemistry**, v.100, n.2, p.553-559, 2007.

CERVATO, C.; CARABELLI, M.; GERVASIO, S.; CITTERA, A.; CAZZOLA, R.; CESTARO, B. Antioxidant properties of oregano [*Origanum vulgare*] leaf extracts. **Journal of Food Biochemistry**, v.24, p.453-465, 2002.

CHAMI, N.; CHAMI, F.; BENNIS, S.; TROUILLAS, J.; REMMAL, A. Antifungal treatment with carvacrol and eugenol of oral candidiasis in immunosuppressed rats. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v.8, n.3, p.217-226, 2004.

CHANDRA, S. S.; MIGLANI, R.; SRINIVASAN, M. R.; INDIRA, R. Efficacy of 5.25% Sodium Hypochlorite, 2% Chlorhexidine Gluconate, and 17% EDTA With and Without an Antifungal Agent. **Journal of Endodontics**, v.36, n.4, p.675-678, 2010.

CLEFF, M. B.; MEINERZ, A. R. M.; SCHUCH, L. F. D.; RODRIGUES, M. R. A.; MEIRELES, M. C. A.; MELLO, J. R. B. Atividade in vitro do óleo essencial de

Origanum vulgare frente à *Sporothrix Schenckii*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.2, p.513-516, 2008.

CLEFF, M. B.; MEINERZ, A. R.; XAVIER, M. O.; SCHUCH, L. F.; MEIRELES, M. C. A.; RODRIGUES, M. R. A.; MELLO, J. R. B. D. In vitro activity of *Origanum vulgare* essential oil against *Candida* species. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.41, n.1, p.116-123, 2010.

CLEFF, M. B.; MEINERZ, A. R.; FARIA, R. O.; XAVIER, M. O.; SANTIN, R.; NASCENTE, P. S.; RODRIGUES, M. R.; MEIRELES, M. C. A. Inhibitory activity of organum essential oil against important fungus in veterinary. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.5, p.1291-1294, 2010.

CLEFF, M. B.; MEINERZ, A. R. M.; MADRID, I. M.; FONSECA, A. O.; ALVES, H. G.; MEIRELES, M. C. A.; RODRIGUES, M. R. A. Susceptibility profile of *Candida* spp. isolated from animals to the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.14, n.1, p.43-49, 2012

CONTE, A.P. **Demodicose canina generalizada: relato de caso**. 2008. Monografia (Curso de Especialização Latu Sensu em Clínica Médica e Cirúrgica de Pequenos Animais) Curitiba.

CORGOZINHO, K. B.; SOUZA, H. J. M.; NEVES, A.; FUSCO, M. A.; BELCHIOR, C. Um caso atípico de esporotricose felina. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.34, p.167-170, 2006.

CORREA, B.; GAMBALE, W.; PAULA, C. R.; PALAZZO, S. Morphogenesis of *Sporothrix schenckii* "in vivo" and "in vitro" through the method of viability by fluorescence. **Applied Fluorescence Technology**, v.3, p.1-8, 1991.

COSKUN, B.; SARA, L. Y.; AKPOLAT, N.; ATASEVEN, A.; ÇICEK, D. Sporotrichosis successfully treated with terbinafine and potassium iodide: case report and review of the literature. **Mycopathologia**, v.158, p.53-56, 2004.

CRUZ, Luiz Celso Hygino. COMPLEXO *Sporothrix schenckii*. REVISÃO DE PARTE DA LITERATURA E CONSIDERAÇÕES SOBRE O DIAGNÓSTICO E A EPIDEMIOLOGIA. **Veterinária e Zootecnia**, v.20, p.08-28, 2013.

CUNHA, A. P. **Plantas e Produtos Vegetais em Cosmética e Dermatologia**. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian, 2008.

DANILA, O. A.; GATEA, F.; RADU, G. L. Polyphenol composition and antioxidant activity of selected medicinal herbs. **Chemistry of Natural Compounds**, v.47, n.1, p.22-26, 2011.

DELAYTE, E.H.; OTSUKA, M; LARSSON, C.E. et al. Eficácia das lactonasmacrocíclicas sistêmicas (ivermectina e moxidectina) na terapia da demodicose canina generalizada. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, p. 31-38, 2006.

DUARTE, Marta Cristina Teixeira. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. **MultiCiência: Construindo a história dos produtos naturais** [Obtido 2007 Oct 04]. Disponível em: http://www.multiciencia.unicamp.br/artigos_07/a_05_7.pdf, 2006.

DUNSTAN, R. W.; LANGHAM, R. F.; REIMANN, K. A.; WAKENELL, P. S. Feline sporotrichosis: A report of five cases with transmission to humans. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v.15, p.37-45, 1986.

ESTRELA, C.; RIBEIRO, R. G.; ESTRELA, C. R.; PÉCORÁ, J. D.; SOUSA-NETO, M. D. Antimicrobial effect of 2% sodium hypochlorite and 2% chlorhexidine tested by different methods. **Brazilian Dental Journal**, v.14, n.1, p.58-62, 2003.

ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Tratado de Medicina Interna**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. 499p.

FANTINATO, V.; ALMEIDA, N. Q.; SCHIMIZU, M. T.; JORGE, A. O. C.; UNTERKIRCHER, C. S. **Manual de esterilização em odontologia**. São Paulo: Santos, 1994. p. 1-12.

FARIA, L. R. D. **Validação farmacológica do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L. (alecrim) – atividades antiinflamatória e analgésica**. 2005. 66f. Dissertação (Mestre em Ciência Animal) - Universidade José do Rosário Vellano – UNIFENAS, Alfenas/MG.

FERREIRA, R. A. Barrando o invisível. **Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas**, v.49, n.6, p.417-427, 1995.

FERREIRA, T. G. **Efeito de desinfetantes hospitalares sobre células vegetativas e esporos de ribotipos de *Clostridium difficile* isolados exclusivamente no Brasil**. 2012. 95f. Dissertação (Mestrado), Curso de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas a Produtos para a Saúde da Universidade Federal Fluminense. Rio de Janeiro, Brasil.

FRAISE, Adam; MAILLARD, Jean-Yves; SATTAR, Syed. **Russell, Hugo and Ayliffe's Principles and Practice of Disinfection, Preservation and Sterilization**. 4. ed. Oxford, Blackwell Inc.; 2004. 678p.

FREITAS, M. A.; ANDRADE, J. C.; GUEDES, G. M. M.; TINTINO, S. R.; SOUZA, C. E. S.; LEITE, N. F.; GONDIM, C. N. F. L.; MORAIS-BRAGA, M. F. B.; MATIAS, E. F. F.; COUTINHO, H. D. M. Avaliação in Vitro da atividade antimicrobiana do carvacrol através dos métodos de contato direto e gasoso= Evaluation In vitro of antimicrobial activity of carvacrol by the direct and gaseous contact methods. **Bioscience Journal**, v.29, n.3, p.781-786, 2013.

FRIBERG, Cecilia. Feline facial dermatoses. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.36, n.1, p.115-140, 2006.

FURLAN, Marcos Roberto. **Cultivo de plantas medicinais**. Cuiabá: SEBRAE , 1998. 137p.

FREITAS, J. C. D. O. C.; MEDEIROS, A. D. C.; SALES, V. S. D. F. Protection for glucan in experimental model of sepsis. **Acta Cirurgica Brasileira**, v.19, n.3, p.296-307, 2004.

GARCIA, E. S.; SILVA, A. C. P.; GILBERT, B.; CORRÊA, C. B. V.; CAVALHEIRO, M. V. S.; SANTOS, R. R.; TOMASSINI, T. **Fitoterápicos**. Cap.10. Disponível em: [<http://www.bdt.fat.org.br/publicacoes/padct/bio/cap10/eloi.html>]. Acesso em: 20 dez. 2013.

GIORDANI, Claudia; SANTIN, Rosema; CLEFF, Marlete. **Plantas medicinais e tóxicas em Pelotas, RS – Usos e Cuidados**. 1.ed. Pelotas, 2012. 70p.

GRAM, D.; RHODES, K. H. Esporotricose. In: **Consulta Veterinária em 5 minutos**. 1a ed. Brasileira, São Paulo: Manole, 2003. 1210p.

GRAZIANO, M. U.; GRAZIANO, K. U.; PINTO, F. M. G.; BRUNA, C. Q. M.; QUEIROZ, R. Q; LASCALA, C. A. Eficácia da desinfecção com álcool 70% (p/v) de superfícies contaminadas sem limpeza prévia. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v.21, n.2, p.01-06, 2013.

GUIMARÃES, J.H.; TUCCI, E.C.; BARROS-BATTESTI, D.M. **Ectoparasitos de importância Veterinária**. São Paulo: Plêiade, 2001.

GÜLLÜCE, M; SÖKMEN, M; DAFERERA, D; AĞAR, G; OZKAN, H; KARTAL, N; POLISSIOU, M; SÖKMEN, A; SAHIN, F. In vitro antibacterial, antifungal, and antioxidant activities of the essential oil and methanol extracts of herbal parts and callus cultures of *Satureja hortensis* L. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, n.14, p.3958-3965, jul. 2003.

HEIT M.C.; RIVIERE J.E. Antiseptics and disinfectants. In: Adams AR. (ed.) **Veterinary Pharmacology and Therapeutics**. 7 ed. Iowa: Iowa State University, 1995. p.741-752.

HOGAN, L.H.; KLEIN, B.S.; LEVITZ, S.M. Virulence factors of medically important fungi. **Clinical Microbiology Reviews**, v.9, n.4, p.469-488, 1996.

HUSSAIN, A. I.; ANWAR, F.; CHATHA, S. A. S.; JABBAR, A.; MAHBOOB, S.; NIGAM, P. S. *Rosmarinus officinalis* essential oil: antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities. **Brazilian Journal of Microbiology**. v.41, p.1070-1078, 2010.

KALIL, E. M.; COSTA, A. J. F. Desinfecção e esterilização. **Acta Ortopédica Brasileira**, v.2, n.4, p.1, 1994.

KAUFFMAN, C. A.; HAJJEH, R.; CHAPMAN, S. W. Practice Guidelines for the management of patients with sporotrichosis. **Clinical Infectious Diseases**, v.30, p.684-687, 2000.

KONG, X.; XIAO, T.; LIN, J.; WANG, Y.; CHEN, H. D. Relationships among genotypes, virulence and clinical forms of *Sporothrix schenckii* infection. **Clinical microbiology and infection**, v.12, n.11, p.1077-1081, 2006.

KWON-CHUNG, K. J.; BENNET, J. E. **Medical mycology**. Philadelphia: Lea & Febiger; 1992.

LACAZ, C. S.; PORTO, E.; MARTINS, J. E. C.; HEINS-VACCARI, E. M.; MELO, N. T. **Tratado de Micologia Médica**, Ed: Savier, São Paulo, 9.ed., 2002, p.479-497.

LAMBERT, R. J. W.; SKANDAMIS, P. N.; COOTE, P. J. A Study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. **Journal of Applied Microbiology**, v.91, p.453-462, 2001.

LARSSON, C. E.; GONÇALVES, M. A.; ARAÚJO, V. C.; DAGLI, M. L. Z.; CORREA, B.; FAVA NETO, C. Sporotrichosis feline: aspectos clínicos e zoonóticos. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.31, n.5, p.351-358, 1989.

LARSSON, Carlos Eduardo. Sporotrichosis. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.48, n.3, p.250-259. 2011.

LEONARDI, G. R.; CHORILLI, M. **Celulite - Prevenção e tratamento**. São Paulo: Pharmabooks, 2010.

LIMA, I. D. O.; OLIVEIRA, R. D. A. G.; LIMA, E. D. O.; FARIAS, N. M. P.; SOUZA, E. L. D. Antifungal activity from essential oils on *Candida* species. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, n.2, p.197-201, 2006.

LONDERO, A.T.; CASTRO, R.M.; FISCHMAN, O. Two cases of sporotrichosis in dogs in Brazil. **Sabouraudia**, v. 18, p. 273-274, 1964.

LOPES-BEZERRA, L. M.; SCHUBACH, A.; COSTA, R. O. *Sporothrix schenckii* and sporotrichosis. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.78, n.2, p.293-308, 2006.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. **Plantas Medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas Cultivadas**. 1.ed. Instituto Plantarum, Nova Odessa, 2006. 512p.

LUQMAN, S.; DWIVEDI, G. R.; DAROKAR, M. P.; KALRA, A.; KHANUJA, S. P. Potential of rosemary oil to be used in drug-resistant infections. **Alternative Therapies in Health and Medicine**, v.13, n.5, p.54-59, 2007.

MACHADO, M.L.S., APPELT, C.E.; FERREIRO, L. Dermatofitos e leveduras isolados da pele de cães com dermatopatias diversas. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v.32, p.225-232, 2004.

MACHADO, G. L.; KATHER, J. M. Estudo do controle da infecção cruzada utilizada pelos cirurgiões-dentistas de Taubaté. **Revista Biociências**, v.8, n.1, p.37-44, 2008.

MACHADO, B. A. S.; RIBEIRO, D. S.; DRUZIAN, J. I. Estudo prospectivo relativo à atividade antimicrobiana de algumas plantas aromáticas. **Cadernos de Prospecção**, v.6, n.1, p.97-105, 2013.

MADRID, I. M.; SANTOS JR., R.; SAMPAIO JR., D. P.; MUELLER, E. N.; DUTRA, D.; NOBRE, M. O.; MEIRELES, M. C. A. Esporotricose canina: relato de três casos. **Acta Scientiae Veterinária**, v.35, n.1, p.105-108, 2007.

MADRID, I.M.; MATTEI, A.; MARTINS, A.; NOBRE, M. O.; MEIRELES, M. C. A. Feline Sporotrichosis in the Southern Region of Rio Grande Do Sul, Brazil: Clinical, Zoonotic and Therapeutic Aspects. **Zoonoses and Public Health**, v.57, n.2, p.151-154, 2010.

MADRID, I. M.; FARIA, R. O.; ANTUNES, T. A.; BETTANZOS, M. G.; CABANA, Â. L.; MEIRELES, M. C. A. Infecção fúngica mista por *Sporothrix schenckii* e *Cryptococcus albidus* em um canino. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.39, n.4, p.1002, 2011.

MADRID, I. M.; MATTEI, A. S.; FERNANDES, C. G.; NOBRE, M. O.; MEIRELES, M. C. A. Epidemiological findings and laboratory evaluation of sporotrichosis: a description of 103 cases in cats and dogs in southern Brazil. **Mycopathologia**, v.173, n.4, p.265-273, 2012.

MADRID, I. M.; MATTEI, A. S.; SANTIN, R.; REIS-GOMES, A.; CLEFF, M. B.; MEIRELES, M. C. A. Inhibitory effect of sodium hypochlorite and chlorhexidine digluconate in clinical isolates of *Sporothrix schenckii*. **Mycoses**, v.55, n.3, p.281-285, 2012.

MADRID, I. M.; TELES, A. J.; SANTIN, R.; MATTEI, A. S.; GOMES, A.; WALLER, S. B. Eficácia de soluções desinfetantes na eliminação de fungos de importância médica e veterinária. **Archives of Veterinary Science**, v.18, n.1, p.65-70, 2013.

MAHAJAN, V. K.; SHARMA, N. L.; SHARMA, C.; GUPTA, M. L.; GARG, G.; KANGA, A. K. Cutaneous sporotrichosis in Himachal Pradesh, Índia. **Mycoses** v.48, p.25-31, 2005.

MANOHAR, V.; INGRAM, C.; GRAY, J.; TALPUR, N. A.; ECHARD, B. W.; BAGCHI, D.; PREUSS, H. G. Antifungal activities of origanum oil against *Candida albicans*. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v.228, n.1-2, p.111–117, 2001.

MARIMON, R.; CANO, J.; GENÉ, J.; SUTTON, D.; KAWASAKI, M.; GUARRO, J. *Sporothrix brasiliensis*, *S. globosa*, and *S. mexicana*, Three New *Sporothrix* Species of Clinical Interest. **Journal of Clinical Microbiology**, v.45, n.10, p.3198-3206, 2007.

MARIMON, R.; GENE, J.; CANO, J.; GUARRO, J. *Sporothrix luriei*: a rare fungus from clinical origin. **Medical Mycology**, v.46, n.6, p.621-625, 2008.

MARINO, M.; BERSANI, C.; COMI, GIUSEPPE. Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae. **International Journal of Food Microbiology**, v.67, p.187-195, 2001.

MARQUES, S. A.; FRANCO, S. R.; CAMARGO, R. M.; DIAS, L. D. F.; HADDAD JÚNIOR, V.; FABRIS, V. E. Esporotricose do gato doméstico (*Felis catus*): transmissão humana. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.35, p.327-330, 1993.

MARTINS, Anelise Afonso. **Esporotricose sistêmica experimental: avaliação *in vitro* da $\beta(1-3)$ glucana e em associação ao itraconazol em modelo murino**. 2012. 119f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

MATOS, C. B.; MADRID, I. M.; GIORDANI, C.; MEIRELES, M. C. A.; CLEFF, M. B. Ação do extrato hidroalcoólico de *Origanum vulgare* frente ao *Sporothrix schenckii*. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 22., 2012, Bento Gonçalves. **Anais do XXII Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil**, Bento Gonçalves: UFRGS, 2012.

MATTEI, A.; MADRID, I.M.; SANTIN, R.; SILVA, F.V.; CARAPETO, L.P.; MEIRELES, M.C.A. *Sporothrix schenckii* in a hospital and home environment in the city of Pelotas/RS – Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v.83 n.4, 2011.

MCDONNELL, G.; RUSSELL, A. D. Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action, and Resistance. **Clinical Microbiology Reviews**, v.12, n.1, p.147-179, 1999.

MEINERZ, A.R.M.; CLEFF, M.B.; NASCENTE, P.S. Esporotricose felina, micose de interesse em saúde pública. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.29, p.174-176, 2007.

MENESES, A.M.C.; CARDOSO, M.J.L.; FRANCO, S.R.V.S. et al. Ocorrência das dermatopatias em cães e gatos. **Revista Brasileira de Ciências Veterinária**, v. 2, p. 20, 2000.

MENEZES, M. M.; OLIVEIRA, L. D.; KOGA-ITO, C. Y.; JORGE, A. O. C.; VALERA, M. C. Concentração fungicida mínima das soluções de clorexidina e hipoclorito de sódio sobre *Candida albicans*. **Ciências Odontológicas Brasileira**, v.11, n.2, p.23-28, 2008.

MOZACHI, Nelson; SOUZA, Virgínia Helena Soares. **Hospital: manual do ambiente hospitalar**. Curitiba: Os autores. 2005. 816p.

MRVOS, R.; DEAN, B. S.; KRENZELOK, E. P. Home exposures to chlorine/chloramine gas: review of 216 cases. **Southern medical journal**, v.86, n.6, p.654-657, 1993.

MUELLER, R.S. Treatment protocols for demodicosis: an evidence-based review. *Veterinária Dermatologia*, v. 15, p. 75–89, 2004.

MULLER, George H.; KIRK, Robert W.; SCOTT, Danny W. **Dermatologia de pequenos animais**. Rio de Janeiro: Interlivros, 2003. p.88-103.

NASCIMENTO, G. G. F.; LOCATELLI, J.; FREITAS, P. C.; SILVA, G. L. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.31, n.4, p.247-56, 2000.

NASCIMENTO, P. F.; NASCIMENTO, A. C.; RODRIGUES, C. S.; ANTONIOLLI, A. R.; SANTOS, P. O.; BARBOSA-JÚNIOR, A. M.; TRINDADE, R. C. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, n.1, p.108-113, 2007.

NAYAK, D. C.; TRIPATY, S. B.; DEY, P. C. et al. Prevalence of canine demodicosis in Orissa (Índia). **Veterinaria Parasitologia**, v. 73, n. 3-4, p. 347-352, 1997.

NEWALL, C. A.; ANDERSON, L. A.; PHILLIPSON, J. D. **Plantas medicinais: guia para profissional de saúde**. São Paulo: Premier. 2002.

NOBRE, M.; MEIRELES, M., GASPAR, L.F.; et al. *Malassezia pachydermatis* e outros agentes infecciosos nas otites externas e dermatites em cães. **Ciência Rural**, v.28, n.3, p 447-452, 1998.

NOBRE, M. O.; MEIRELES, M. C. A.; CAETANO, D. T.; FAÉ, F.; CORDEIRO, J. M. C.; MEIRELES, R. M.; APPELT, C. E.; FERREIRO, L. Esporotricose zoonótica na região sul do Rio Grande do Sul (Brasil) e revisão da literatura brasileira. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v.9, n.1, p.36-41, 2002.

NOBRE M.O.; ANTUNES T.A.; MEIRELES M.C.A.; FERREIRO L. Production and evaluation of albino mutants of *Sporothrix schenckii*. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.32, n.2, p.119-123, 2004.

NOLKEMPER, S.; REICHLING, J.; STINTZING, F.C.; CARLE, R.; SCHNITZLER, P. Antiviral effect of aqueous extracts from species of the Lamiaceae family against Herpes simplex virus type 1 and type 2 in vitro. **Planta Medica**, v.72, n.15, p.1378-1382, 2006.

OLIVEIRA, M. M.; PAES, R. A.; MUNIZ, M. M.; GALHARDO, M. C. G.; OLIVEIRA, R. M. Z. Phenotypic and molecular identification of *Sporothrix* isolates from an epidemic area of sporotrichosis in Brazil. **Mycopathologia**, v.172, p.257-67, 2011.

OSTROSKY, E.; MIZUMOTO, M. K.; LIMA, M. E. L.; KANEKO, T. M.; NISHIKAWA, S. O.; FREITAS, B. R. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n.2, p.301-307, 2008.

PACKER, J. F.; LUZ, M. M. S. Método para avaliação e pesquisa da atividade antimicrobiana de produtos de origem natural. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, n.1, p.102-7, 2007.

PAES, Rodrigo de Almeida. **Antígenos e Anticorpos na esporotricose: caracterização e aplicações diagnósticas**. 2007. 86f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) - Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.

PARADIS, M. New approaches to the treatment of canine demodicosis. **Veterinary Clinical of North America: Small Animal Practice**, v. 29, p.1425-1436, 1999.

PEAK, P. W.; PUSSEL, B. A.; MARTYN, P.; TIMMERMANS, V.; CHARLESWORTH, J. A. The inhibitory effect of rosmarinic acid on complements involves the C5 convertase. **International Journal of Immunopharmacology**, v.13, p.853-857, 1991.

PEDRINI, S. C. B.; MARGATHO, L. F. F. Sensibilidade de microrganismos patogênicos isolados de casos de mastite clínica em bovinos frente a diferentes tipos de desinfetantes. **Biológico, São Paulo**, v.70, n.4, p.391-395, 2003.

PENA, S.B. **Frequência de dermatopatias infecciosas, parasitárias e neoplásicas em cães na região de Graça, São Paulo – Brasil**, 2009. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, São Paulo.

PENNA, T.C.V. 2006. Métodos de desinfecção e esterilização. In: Mastroeni M.F. (Ed). **Biossegurança aplicada a laboratórios e serviços de saúde**. 2.ed. São Paulo: Atheneu, p. 135-168

PEREIRA, S.A.; SCHUBACH, T.M.P.; FIGUEIREDO, F.B. et al. Demodicose associada à Esporotricose e Pediculose em gato co-infectado por FIV/FeLV. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33, n. 1, p. 75-78, 2005.

PEREIRA, S. A.; Schubach, T. M. P.; Gremião, I. D. F.; da Silva, D. T.; Figueiredo, F. B.; de Assis, N. V.; Passos, S. R. L. Aspectos terapêuticos da esporotricose felina. **Acta Scientiae Veterinariae**. v. 37, n. 4, p, 311-321, 2009.

PEREIRA, S. A.; Menezes. R. C.; Gremião, I. D.; Silva, J. N.; Honse, C. O.; Figueiredo, F. B.; da Silva, D. T.; Kitada, A. A.; dos Reis, E. G.; Schubach, T. M. Sensitivity of cytopathological examination in the diagnosis of feline sporotrichosis. **Journal of feline medicine and surgery**, v.13, n.4, p.220-223, abr. 2011.

PIZZALE, L.; BORTOLOMEAZZI, R.; VICHI, S.; ÜBEREGGER, E.; CONTE, L. S. Antioxidant activity of sage (*Salvia officinalis* and *S. fruticosa*) and oregano (*Origanum onites* and *O. onites*) extracts related to their phenolic compound content. **Journal of Science and Food Agriculture**, v.82, n. 14, p. 1645-1651, nov. 2002.

PORTE, A.; GODOY, R. L. O. Alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.): Propriedades antimicrobiana e química do óleo essencial. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**. v.19, n.2, p.193-210, jul./dez. 2001

POZZATTI, P.; SCHEID, L. A.; SPADER, T. B.; ATAYDE, M. L.; SANTURIO, J. M.; ALVES, S. H. In vitro activity of essential oils extracted from plants used as spices against fluconazole-resistant and fluconazole-susceptible *Candida* spp. **Canadian Journal of microbiology**, v.54, n.11, p.950-956, 2008.

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J.; LEONARD, F. C. Desinfecção e outros aspectos do controle de doenças. In: **Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas**. Porto Alegre: Artmed, p.466-478, 2005.

REICHLING, J.; NOLKEMPERA, S.; STINTZING, F.C.; SCHNITZLER, P. Impact of Ethanolic Lamiaceae Extracts on Herpesvirus Infectivity in Cell Culture. **Forsch Komplementmed**, p.15:313–320, 2008.

REIS, R. S.; PAES, R. A.; MUNIZ, M. M.; TAVARES, P. M.; MONTEIRO, P. C.; SCHUBACH, T. M.; GUTIERREZ-GALHARDO, M. C.; ZANCOPE-OLIVEIRA, R. M. Molecular characterisation of *Sporothrix schenckii* isolates from humans and cats involved in the sporotrichosis epidemic in Rio de Janeiro, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.104, p.769-74, 2009.

REIS-GOMES, A.; MADRID, I. M.; MATOS, C. B.; TELLES, A. J.; WALLER, S. B.; NOBRE, M. O.; MEIRELES, M. C. A. Dermatopatias fúngicas: aspectos clínicos, diagnósticos e terapêuticos. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.6, n.4, p.272-284, 2013.

RESENDE, P. P.; Franco, A. V. Esporotricose Cutâneo-linfática. **Cadernos Brasileiros de Medicina**, vol. XIV, n. 1, 2, 3 e 4, p.35-44, jan.-dez., 2001.

RODRIGUES, M. P.; PALUMBO, M. I. P.; HECKLER, M. C. T. Cytologic diagnosis and treatment of feline sporotrichosis: case report / Diagnóstico citológico e tratamento da esporotricose felina: relato de caso / Diagnóstico citológico y tratamiento de la esporotricosis felina: caso clínico. **Veterinária e Zootecnia**, v.19, n.2, p.186-191, 2012.

RODRIGUES, A. M.; TEIXEIRA, M. M.; HOOG, G. S.; SCHUBACH, T. M. P.; PEREIRA, S. A.; FERNANDES, G. F.; BEZERRA, L. M. L.; FELIPE, M. S.; CAMARGO, Z. P. Phylogenetic analysis reveals a high prevalence of *Sporothrix brasiliensis* in feline sporotrichosis outbreaks. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 7, n. 6, p. e2281, 2013.

ROMERO-MARTINEZ, R.; WHEELER, M.; GUERRERO-PLATA, A.; RICO, G.; TORRES-GUERRERO, H. Biosynthesis and Functions of Melanin in *Sporothrix schenckii*. **Infection and immunity**, v.68, n.6, p.3696-3703, 2000.

SAEED, Sabahat; TARIQ, Perween. Antibacterial activity of oregano (*Origanum vulgare* Linn.) against gram positive bacteria. **Pakistan journal of pharmaceutical sciences**, v.22, n.4, p.421-424, 2009.

SAMARANAYAKE, L. P.; SCHEUTZ, F.; COTTONE, J. A. **Controle da infecção para equipe odontológica**. São Paulo: ed. Santos, 1993. p.94-101.

SANTAREM, V. Demodicose canina: revisão. **Clínica Veterinária**, v. 69, p. 86-98, 2007.

SANTIN, Rosema. **Potencial antifúngico e toxicidade de óleos essenciais da família Lamiaceae**. 2013. 104f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

SANTOS, L. R.; SCALCO NETO, J. F.; RIZZO, N. N.; BASTIANI, P. V.; OLIVEIRA, V. M.; BOSCARDIN, G.; RODRIGUES, L. B.; BARCELLOS, H. H. A.; BRUM, M. V. Eficácia de desinfetantes e anti-sépticos empregados no hospital veterinário da UPF (HV-UPF) Brasil. **Revista da FZVA**. v.14, n.2, p.156-164. 2007.

SCHIEDECK, G.; BEVILAQUA, G. A. P.; NACHTIGAL, G. F.; BAUER, M. V. **Método de preparo de tintura de plantas bioativas para fins agrícolas**. EMBRAPA – Comunicado Técnico, 190, outubro, 2008.

SCHUBACH, T.M.P.; SCHUBACH, A.O. Esporotricose em gatos e cães: revisão. **Clínica Veterinária**, n. 29, p. 21-24, 2000.

SCHUBACH, T. M.; SCHUBACH, A. O.; DOS REIS, R. S.; CUZZI-MAYA, T.; BLANCO, T. C.; MONTEIRO, D. F., BARROS, B. M.; BRUSTEIN, R.; ZANCOPE-OLIVEIRA, R. M.; MONTEIRO, P. C. F.; WANKE, B. *Sporothrix schenckii* isolated from domestic cats with and without sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil. **Mycopathologia**, v.153, n.2, p.83-86, 2002.

SCHUBACH; T.M; SCHUBACH, A; OKAMOTO, T. Evaluation of an epidemic of sporotrichosis in cats: 347 cases (1998-2001). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.224, n.10, p.1623-1629, mai. 2004.

SCHUBACH, T.M.P.; SCHUBACH, A.O.; OKAMOTO, T.; BARROS, M.B.L.; FIGUEIREDO, F.B.; CUZZI, T.; PEREIRA, S.A.; SANTOS, I.B.; PAES, R.A.; PAES-LEME, L.R.; WANKE, B. Canine sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: clinical presentation, laboratory diagnosis and therapeutic response in 44 cases (1998-2003). **Medical Mycology**, v.44, n.1, p.87-92, fev. 2006.

SCHUCH, L. F. D.; WIEST, J. M.; COIMBRA, H. S.; PRESTES, L. S.; TONI, L.; LEMOS, J. S. Cinética da atividade antibacteriana in vitro de extratos naturais frente a microrganismos relacionados a mastite bovina. **Ciência Animal Brasileira**, v.9, p161–169, 2008.

SCOTT, D.W.; PARADIS, M. A survey of canine and feline skin disorders seen in a university practice: small animal clinic, University of Montreal, Saint-hyacinthe, Quebec (1987-1988). **Canadian Veterinary Journal**, v. 31, p. 830-834, 1990.

SHANY, M. A mixed fungal infection in a dog: sporotrichosis and cryptococcosis. **Canadian Veterinary Journal**, v. 41, p. 799-800, 2000.

SILVA, C. R. G.; JORGE, A. O. C. Avaliação de desinfetantes de superfície utilizados em odontologia. **Pesquisa Odontológica Brasileira**, v.16, n.2, p.107-114, 2002.

SILVA, D.T.; PEREIRA, S. A., GREMIÃO, I. D. F.; CHAVES, A. R.; CAVALCANTI, M. C. H.; SILVA, J. N. Esporotricose conjuntival felina. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.36, n.2, p.181-184, 2008.

SILVA, D. T.; MENEZES, R. C.; GREMIÃO, I. D. F.; SCHUBACH, T. M. P.; Boechat, J. S.; PEREIRA, S. A. Esporotricose zoonótica: procedimentos de biossegurança. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.40, n.4, p.1-10, 2012a.

SILVA, J. N., PASSOS, S. L.; KITADA, A. A. B.; GREMIÃO, I. D.; SCHUBACH, T. M. P.; PEREIRA, S. A. Acurácia do exame citopatológico no diagnóstico da esporotricose felina. **Archives of Veterinary Science**, v.17, n.S1, p.157-159, 2012b.

SIMÕES, Cláudia Maria O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5.ed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, 2003. 1102p.

SKERGET, M.; KOTNIK, P.; HADOLIN, M.; HRAS, A. R.; SIMONIC, M.; KNEZ. Z. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. **Food Chemistry**, v.89, n.2 , p.191–198, fev. 2005.

SOUSA, T. M. P.; CONCEIÇÃO, D. M. Atividade antibacteriana do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.). **Ensaio e Ciência**, v.5, n.5, p.7-13, 2007.

SOUZA, L.; NASCENTE, P.; NOBRE, M.; MEINERZ, A.; MEIRELES, M. Isolation of *Sporothrix schenckii* from the nails of healthy cats. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.37, p.372-374, 2006.

SOUZA, N.T.; NASCIMENTO, A.C.B.M.; SOUZA, J.O.T. et al. Esporotricose canina: relato de caso. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia**, v.61, p.572-576, 2009.

TABOADA, J. Micoses sistêmicas. In: **Tratado de medicina interna de pequenos animais**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2004. vol.1; p. 497 - 499.

THERAUD, M.; BÉDOUIN, Y.; GUIGUEN, C.; GANGNEUX, J. P. Efficacy of antiseptics and disinfectants on clinical and environmental yeast isolates in planktonic and biofilm conditions. **Journal of Medical Microbiology**, v.53, p.1013-1018, 2004.

THRAL, M. A. Cytologic Features of Head and Neck Lesions. In: **Western Veterinary Conference**. 2002, CA.

VENTURELLI, A. C., TORRES, F. C., ALMEIDA-PEDRIN, R. R. D., ALMEIDA, R. R. D., ALMEIDA, M. R. D., FERREIRA, F. P. C. Avaliação microbiológica da contaminação residual em diferentes tipos de alicates ortodônticos após desinfecção com álcool 70%. **Revista Dental Press de Ortodontia e Ortopedia Facial**, v. 14, n. 4, p.43-52, 2009.

VIAUD S.; BESIGNOR E. Les dermatozoonoses du chien et du chat. **Pratique Médicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie**, v.43, n.3, p.131-139, out.-dez. 2008.

WALTIMO, T. M.; ORSTA, V.I.K.; SIRÉN, E.K.; Haapasalo, M.P. In vitro susceptibility of *Candida albicans* to four disinfectants and their combinations. **International Endodontic Journal**, v.32, n.6, p.421-429, nov. 1999.

WILLENSE, T. **Dermatologia clínica de cães e gatos**. São Paulo: Manole, p.117, 2002.

WHITTEMORE, J. C.; WEBB, C. B. Successful treatment of nasal Sporotrichosis in a dog. *The Canadian Veterinary Journal*, v. 48, n. 4, p. 411–414, abr. 2007.

XAVIER, M.O.; Nobre, M. O.; Sampaio Jr., D. P.; Antunes, T. A.; Nascente, P. S.; Sória, F. B. A., Meireles, M. C. A. Esporotricose felina com envolvimento humano na cidade de Pelotas, RS, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.6, p.1961-1963, nov./dez. 2004.

XAVIER, M.O.; MADRID, I.M.; MEIRNERZ, A.R.M; CLEFF, M. B.; SCHUCH, L. F. D.; NOBRE, M. D. O.; MEIRELES, M. C. A. Atividade in vitro de três agentes químicos frente a diferentes espécies de *Aspergillus*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.74, n.1, p.49-53, 2007.

ZHANG, Y.; ZU, J; PYLA, V; YUE, Q; XIANLING, C. Rapid Detection of Sporotrichosis by ABC-ELISA. **Journal of Clinical & Experimental Dermatology Research**, v. 3, n. 1, p.1-3, 2012.