

ATIVIDADE GERMICIDA DE EXTRATOS VEGETAIS DE *Origanum vulgare* E *Rosmarinus officinalis* FRENTE A FUNGOS DO COMPLEXO *Sporothrix schenckii*

[Germicidal activity of plant extracts of *Origanum vulgare* and *Rosmarinus officinalis* against *Sporothrix schenckii* complex]

Caroline Bohnen de Matos^{1*}, Karina Affeldt Guterres¹, Claudia Giordani¹, Isabel Martins Madrid², Mário Carlos Araújo Meireles³, Marlete Brum Cleff⁴

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

²Médica Veterinária, Prefeitura Municipal de Pelotas – RS.

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

⁴Departamento de Clínicas Veterinária, Universidade Federal de Pelotas – UFPel.

RESUMO – Na literatura existem muitos relatos de microrganismos resistentes frente aos produtos comerciais utilizados na desinfecção de ambientes. Deste modo, 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, através da técnica de exposição direta, frente a fungos do complexo *Sporothrix schenckii*. Para isso, foram realizados testes com isolados fúngicos de casos clínicos pertencentes a cães e gatos com esporotricose, onde a sensibilidade dos fungos do complexo *Sporothrix schenckii* frente aos extratos das plantas foi testada através da técnica de exposição direta, tendo sua ação avaliada nos tempos de 5, 10 e 15 minutos de exposição. Como controle positivo, utilizou-se uma solução de água estéril contendo o inóculo e como controle dos desinfetantes utilizados no mercado foram utilizados hipoclorito de sódio 4% e álcool 70°GL. Com o estudo, pode-se demonstrar a sensibilidade por parte dos isolados testados frente a tintura de *Origanum vulgare* e *Rosmarinus officinalis* e ao extrato hidroalcoólico de *Origanum vulgare* em todos os tempos de exposição a que foi submetido, na concentração de 10% do extrato.

Palavras-Chave: *Origanum vulgare*; *Rosmarinus officinalis*; desinfecção; esporotricose.

ABSTRACT – The literature shows that is a resistance by the microorganisms against commercial products used for the disinfection of contaminated environments. Due to this, 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, against *Sporothrix schenckii* complex. For this, the direct exposure tests, with fungal isolates from clinical cases pertaining to dogs and cats with sporotrichosis, were used to evaluate the sensitivity of *Sporothrix* spp. against plants extracts, with the action evaluated in the times of 5, 10 and 15 minutes of exposure. As a positive control, it was used a sterile water solution containing innocuous and disinfectants used to control was sodium hypochlorite alcohol and 70°GL. As a result, it can be shown the sensitivity of the fungal isolates front to tincture of *Origanum vulgare* and *Rosmarinus officinalis* and hydroalcoholic extract of *Origanum vulgare* at all times of exposure, in 10% concentration of the extract.

Keywords: *Origanum vulgare*; *Rosmarinus officinalis*; disinfection; sporotrichosis.

* Autor para correspondência. E-mail: bohncarol@gmail.com

Recebido: 06 de abril de 2016.

Aceito para publicação: 22 de junho de 2016.

INTRODUÇÃO

A esporotricose é uma das principais doenças fúngicas de animais domésticos, representando cerca de 18% a 21% de todas as dermatoses 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 (Barros et al., 2004; Ramos-Silva et al., 2007; Madrid et al., 2011; Cruz, 2013). É causada por fungos do complexo *Sporothrix schenckii* (Marimon et al., 2007), sendo adquirida pela inoculação traumática do fungo na derme através de felpas, espinhos e materiais contaminados ou pela arranhadura e mordedura de animais portadores do agente, resultando comumente no desenvolvimento de formas cutâneas (Schubach; Schubach; Okamoto, 2004; Madrid et al., 2011).

Nos últimos anos, tem-se 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; Barros; Wanke, 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; Schubach; Okamoto, 2004; Pereira et al., 2009).

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, 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 schenckii* podem ser isolados de ambientes hospitalares e domiciliares, havendo uma necessidade de se 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 (Antunes et al., 2009; Barros et al., 2010). 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 (Bambace et al., 2008). Para tanto, o produto químico escolhido deve realizar, efetivamente, as funções de descontaminação e desinfecção (BRASIL, 2000).

Cada vez mais tem-se buscado alternativas terapêuticas através do uso de plantas medicinais, principalmente pela resistência estabelecida dos microrganismos frente aos produtos disponíveis no mercado (Nascimento et al., 2000; Castro et al., 2000). A capacidade antimicrobiana de extratos de *Rosmarinus officinalis*, conhecido popularmente como alecrim, e *Origanum vulgare*, conhecido popularmente como orégano, já vem sendo testada frente a diversos microrganismos, como *Candida* sp., *E. coli*, *Sporothrix* spp. (Cleff et al., 2008; Silva et al., 2008; Matos et al., 2011; Cleff et al., 2013; Freitas et al., 2013; Madrid et al., 2013). Porém, sua atividade desinfetante ainda não foi avaliada.

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

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados quatro isolados de *Sporothrix brasiliensis* provenientes de casos clínicos de esporotricose felina (n = 2) e canina (n = 2), 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 inóculo fúngico foi preparado em água destilada estéril, sendo a turbidez da solução ajustada através do espectrofotômetro em 70% de transmitância e comprimento de onda de 530nm, alcançando densidade final de $1 \text{ a } 5 \times 10^6$ células/mL.

Os extratos vegetais de *O. vulgare* e *R. officinalis* foram preparados a partir de folhas das plantas adquiridas de distribuidor comercial (LUAR SUL®) com certificação botânica. A tintura foi obtida através da maceração da planta com álcool de cereais 70°GL, sendo deixado em contato por sete dias, ao abrigo da luz, com posterior filtragem e

armazenamento. Posteriormente, para a realização do extrato hidroalcoólico (EHA), foi realizada a destilação fracionada em rota- evaporador à pressão reduzida da tintura, tendo como objetivo eliminar todo o álcool presente, segundo protocolo estabelecido por Schiedeck et al. (2008). Após a extração do solvente, procedeu-se à reidratação com água destilada estéril, reconstituindo o volume 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°GL.

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 *O. vulgare* quanto de *R. officinalis* foram testados na concentração de 10%. Em dois deles foi adicionado 1 mL de água destilada estéril, e em outros dois adicionou-se 1mL de leite UHT (representando a matéria orgânica). Os tubos foram rigorosamente agitados em seguida 100µL do inóculo fúngico foi adicionado. Nos tempos de 5, 10 e 15 minutos, alíquotas de 100µL foram 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.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As tinturas a 10% obtidas a partir do *O. vulgare* e do *R. officinalis* inibiram em 100% o crescimento de todos isolados de *Sporothrix* spp. testados, na presença ou não de matéria orgânica. Estudos a respeito da ação da tintura de *O. vulgare* e de *R. officinalis* frente aos fungos do complexo *Sporothrix schenckii* não foi encontrada na literatura consultada, porém, em um estudo conduzido por Silva et al. (2008), foi possível observar 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 diluição em caldo. 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). Este fato que pode ter sido responsável pela obtenção de resultados divergentes aos encontrados na literatura, com relação às tinturas.

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

Os extratos aquosos (infusão e decocção) tanto de *O. vulgare* como de *R. officinalis*, não apresentaram atividade fungicida frente a nenhum dos isolados de *Sporothrix* spp. testados. Em um estudo avaliando a suscetibilidade de bactérias, foi possível observar a 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) (Alvarenga et al., 2007).

Em relação aos desinfetantes testados, estes apresentaram eficácia de 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 4% e do álcool 70°GL 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* (Estrela et al., 2003; Fraise; Maillard; Sattar, 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 ao avaliarem a ação do hipoclorito de sódio e do digluconato de clorexidina frente ao *Sporothrix* spp., através da técnica de exposição direta, 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 (Figura 1, 2 e 3). O EHA de *O. vulgare* se mostrou eficaz, reduzindo significativamente o número de UFC quando comparado ao controle, na presença ou não de matéria orgânica nos tempos de 5 (Figura 1), 10 (Figura 2) e 15 minutos (Figura 3).

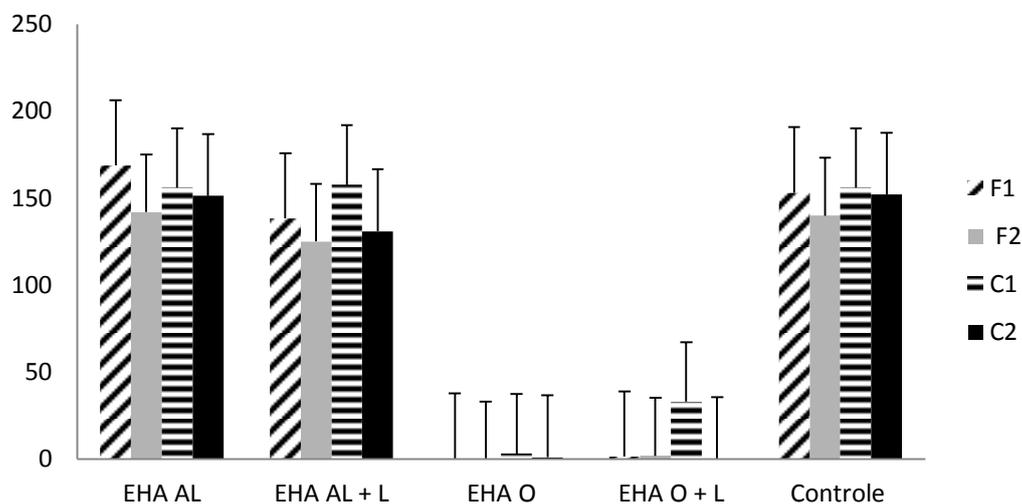


Figura 1. Média das contagens de UFC após 5 minutos de contato com as substâncias testadas. EHA AL: extrato hidroalcoólico de alecrim; EHA AL+L: extrato hidroalcoólico de alecrim acrescido de leite; EHA O: extrato hidroalcoólico de orégano; EHA O+L: extrato hidroalcoólico de orégano acrescido de leite; F1: isolado felino 1; F2: isolado felino 2; C1: isolado canino 1; C2: isolado canino 2.

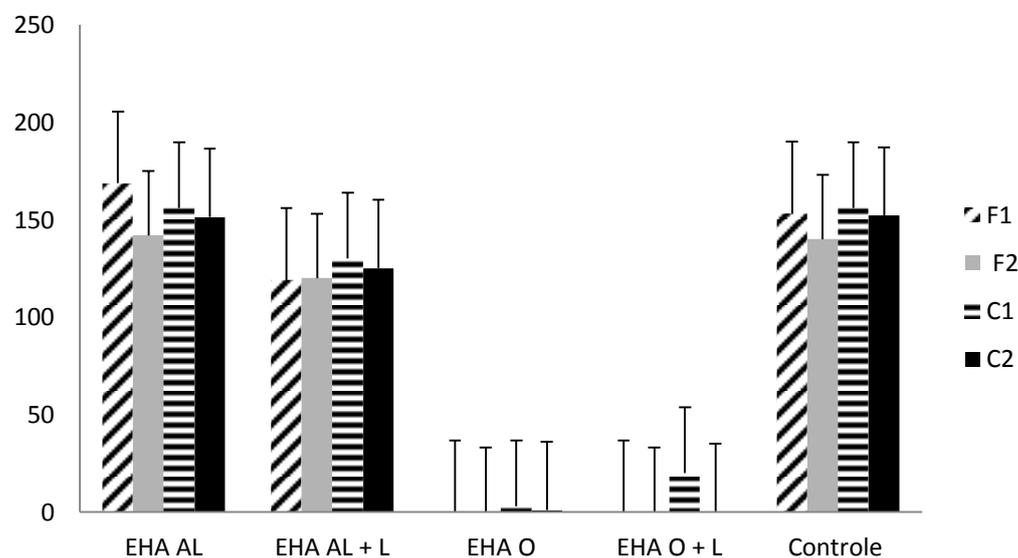


Figura 2. Média das contagens de UFC após 10 minutos de contato com as substâncias testadas. EHA AL: extrato hidroalcoólico de alecrim; EHA AL+L: extrato hidroalcoólico de alecrim acrescido de leite; EHA O: extrato hidroalcoólico de orégano; EHA O+L: extrato hidroalcoólico de orégano acrescido de leite; F1: isolado felino 1; F2: isolado felino 2; C1: isolado canino 1; C2: isolado canino 2.

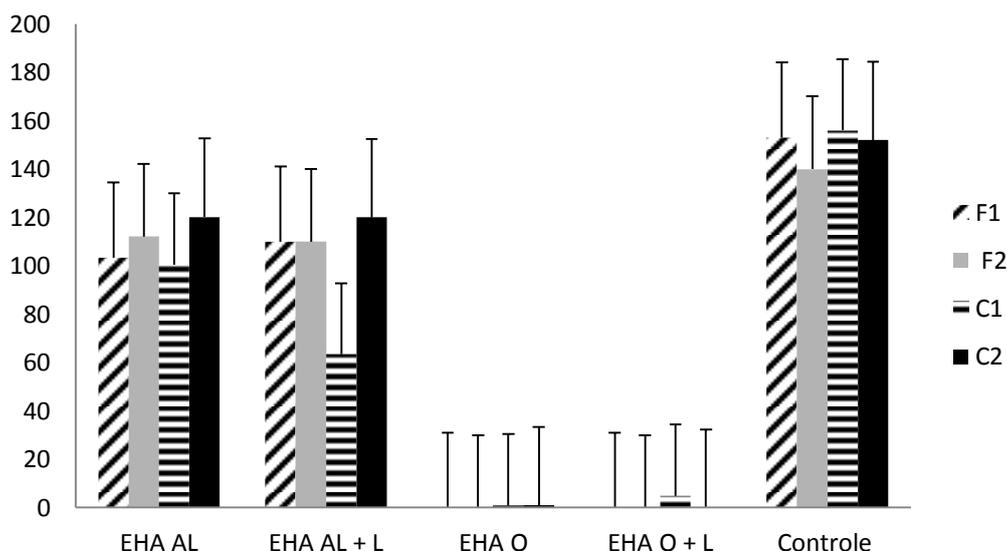


Figura 3. Média das contagens de UFC após 15 minutos de contato com as substâncias testadas. EHA AL: extrato hidroalcoólico de alecrim; EHA AL+L: extrato hidroalcoólico de alecrim acrescido de leite; EHA O: extrato hidroalcoólico de orégano; EHA O+L: extrato hidroalcoólico de orégano acrescido de leite; F1: isolado felino 1; F2: isolado felino 2; C1: isolado canino 1; C2: isolado canino 2.

Conforme Silva et al. (2008), as plantas que possuem 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 tais como ácido clorogênico, ácido caféico, ácido ferúlico, cumárico, ácido rosmarínico e os flavonoides rutina, luteolina, quercetol, apigenina, quercetina ekaempherol, 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 irão interagir com mecanismos do metabolismo microbiano (Marino; Bersani; Comi, 2001). De

acordo com a literatura, os compostos majoritários no EHA de orégano, podem atuar reduzindo a permeabilidade celular (Cunha, 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.

Estudos avaliando a ação dos extratos hidroalcoólicos de *O. vulgare* e de *R. officinalis* frente aos fungos do complexo *Sporothrix schenckii* ainda não escassos. Entretanto, a ação do óleo essencial de *O. vulgare* frente a esse microorganismo já foi testada por Cleff et al. (2008), demonstrando o poder fungicida por parte desta planta.

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 convencionais em produtos de origem animal, levando o mercado a rejeitar tais produtos (Benez; Boericke; Cairo, 2002). Além disso, a existência de resistência por parte dos microrganismos a esses produtos, também nos faz buscar por meios alternativos aos existentes (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 as bactérias *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).

CONCLUSÃO

Através da realização dos testes, 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.

A rapidez do efeito antimicrobiano da solução empregada é essencial e o fato do EHA de *O. vulgare* 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 do uso desse produto como desinfetantes, podendo suas propriedades serem exploradas para sua ação como antisséptico.

REFERÊNCIAS

- ALVARENGA, A. L. et al. Atividade antimicrobiana de extratos vegetais sobre bactérias patogênicas humanas. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v.9, p.86-91, 2007.
- ANDREMONT, A. The future control of bacterial resistance to antimicrobial agents. *American Journal of Infection Control*, v.29, p.256-25, 2001.
- ANTUNES, T. A. et al. Esporotricose cutânea experimental: Avaliação *in vivo* do itraconazol e terbinafina. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.42, p.706-710, 2009.
- BAMBACE, A. M. J. et al. 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. et al. Sporotrichosis: an emergent zoonosis in Rio de Janeiro. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.96, p.777-779, 2001.
- BARROS, M. B. L. et al. 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. et al. 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. et al. 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 Farmacopeia 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. et al. 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. et al. 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. et al. Essential oils against *Candida* spp.: in vitro antifungal activity of *Origanum vulgare*. *African Journal of Microbiology Research*, v.7, n.20, p.2245-2250, 2013.
- CRUZ, L. C. H. 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. et al. Antimicrobial effect of 2% sodium hypochlorite and 2% chlorhexidine tested by different methods. *Brazilian Dental Journal*, v.14, n.1, p.58-62, 2003.
- FRAISE, A.; MAILLARD, J. Y.; SATTAR, S. *Russell, Hugo and Ayliffe's Principles and Practice of Disinfection, Preservation and Sterilization*. 4. ed. Oxford, Blackwell Inc.; 2004. 678p.
- FREITAS, M. A. et al. Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana do carvacrol através dos métodos de contato direto e gasoso. *Bioscience Journal*, v.29, p.781-786, 2013.
- LARSSON, C. E. 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. et al. 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. et al. 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. et al. Eficácia de soluções desinfetantes na eliminação de fungos de importância médica e veterinária. *Archives of Veterinary Science*, v. 18, n. 1, 2013.
- MATOS, C. B. et al. Sensibility of dimorphic fungus to *Origanum vulgare* and *Rosmarinus officinalis* infusions by direct exposure test. *In:II International Symposium on Drug Discovery*. Araraquara, SP, Brazil. 2011.
- MARIMON, R. et al. *Sporothrix brasiliensis*, *S. globosa*, and *S. mexicana*, Three New *Sporothrix* Species of Clinical Interest. *Journal of Clinical Microbiology*, v.45, p.3198-3206, 2007.
- MARINO, M.; BERSANI, C.; COMI, G.. 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. et al. *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. et al. 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. et al. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.31, n.4, p.247-56, 2000.

PEREIRA, S. A. et al. Aspectos terapêuticos da esporotricose felina. **Acta Scientiae Veterinariae**. v.37, n.4, p.311-321, 2009.

RAMOS-E-SILVA, M.; VASCONCELOS, C.; CARNEIRO, S.; CESTARI, T. Sporotrichosis. **Clínica Dermatológica**, v.25, p.181-187, 2007.

REIS, R. S. et al. 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. et al. 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. et al. **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, 2004.

SCHUBACH, A. O; BARROS, M. B. L.; WANKE, B. Epidemic sporotrichosis. **Curr Opin Infect Dis**. 2008, v. 21, p.129-33.

SCHUCH, L. F. D. et al. Cinética da atividade antibacteriana in vitro de extratos naturais frente a microrganismos relacionados a mastite bovina. **Ciência Animal Brasileira**, v.9, p.161-169, 2008.

SILVA, D. T. et al. Esporotricose zoonótica: procedimentos de biossegurança. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.40, n.4, p.1-10, 2012.

SILVA, F. C. D. et al. 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, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5.ed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, 2003. 1102p.

XAVIER, M.O. et al. 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.