

EFICÁCIA DO NIM (*Azadirachta indica*) NO TRATAMENTO DE OTITE EXTERNA POR *Malassezia* sp. EM CÃES*

José Carlos Rodrigues Malcher¹, Érica Landy de Oliveira², Larissa Renata Silva de Castro², Paula Barbosa da Silva², Érica Lorena Mendonça Ramos² e Julio Israel Fernandes³⁺

ABSTRACT. Malcher J.C.R., de Oliveira E.L., de Castro L.R.S., da Silva P.B., Ramos E.L.M. & Fernandes J.I. [Efficacy of neem (*Azadirachta indica*) in the treatment of *Malassezia* sp. otitis externa on dogs]. Eficácia do nim (*Azadirachta indica*) no tratamento de otite externa por *Malassezia* sp. em cães. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 34(Supl. 1):89-94, 2012. Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Pará, BR-316, Km 61, Castanhal, PA 68740-970, Brasil. E-mail: vetjulio@yahoo.com.br

The aim of this study was to evaluate the efficacy of Neem (*Azadirachta indica*) oil and 10% Neem oil emulsion in the treatment of fungal otitis caused by *Malassezia* sp. on naturally infected dogs. Thirty-six animals of different breeds and ages were divided into three groups of 12 animals each. Group A, control group, was treated daily with saline solution by spraying. Group B was treated with 100% Neem oil by instilling 0.5 mL in each ear daily. Group C was treated using a 10% Neem oil emulsion at a dose of 3 mL/kg per ear, daily. The treatment duration was 21 days. Animals were evaluated daily for appearance of product-related side effects. Dogs were examined by bilateral cytology on days +3, +7, +14, +21, +28, and + 35 post-treatment to evaluate efficacy of treatments. No adverse reactions were seen in any of the treated animals. Despite the clinical improvement of all treated animals, the Neem oil and the 10% Neem oil emulsion were not efficacious in the treatment of ear infections caused by *Malassezia* sp.

KEY WORD. Otitis, Treatment, Phytotherapy, Neem, *Azadirachta indica*.

RESUMO. O objetivo do estudo foi verificar a eficácia do óleo de Nim (*Azadirachta indica*) e a sua emulsão a 10%, no tratamento das otites fúngicas causadas por *Malassezia* sp. em cães naturalmente infectados. Foram utilizados 36 animais de diferentes raças e idades, divididos em três grupos com 12 animais cada. O grupo A, grupo controle, foi tratado com solução fisiológica diariamente com auxílio de borrifador. O grupo B foi tratado com óleo de Nim na concentração de 100%, instilando-se 0,5 mL em cada conduto auditivo a cada 24 horas. Já o Grupo C foi medicado utilizando-se emulsão aquosa de Nim a 10%, na dose de 3mL/

kg, uma vez ao dia. A duração dos tratamentos foi de 21 dias. Foram realizadas observações diárias nos animais para verificar possíveis reações adversas ao produto. A avaliação da eficácia dos tratamentos foi feita através de citologia bilateral nos dias +3, +7, +14, +21, +28 e + 35. Não foram observadas reações adversas ao produto nos animais tratados. Apesar da evidente melhora clínica dos animais tratados, o óleo de Nim e sua emulsão a 10% não foram eficazes no tratamento das otites por *Malassezia* sp.

PALAVRAS-CHAVE. Otite externa, Tratamento, Fitoterapia, Nim, *Azadirachta indica*.

*Recebido em 12 de novembro de 2012.

Aceito para publicação em 27 dezembro de 2012.

¹ Médico-veterinário, Programa de Pós-Graduação em Saúde Animal na Amazônia, Universidade Federal do Pará, BR-316, Km 61, Castanhal, PA 68740-970, Brasil. E-mail: malcher@ufpa.br - bolsista Capes.

² Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Pará, BR-316, Km 61, Castanhal, PA 68740-970, Brasil. E-mail: ericalandy@hotmail.com; larissacastro_vet@yahoo.com.br; paulabdasilva@gmail.com; ericamosvet@hotmail.com

³ Médico-veterinário, DSc, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Pará, BR-316, Km 61, Castanhal, PA 68740-970, Brasil. +Autor para correspondência. E-mail: vetjulio@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

A otite externa é um processo inflamatório que atinge os pavilhões auriculares e o meato acústico externo de diversos animais, podendo ser um processo patológico com evolução aguda, crônica ou ainda crônica recidivante (Radlinsky et al. 2005). A otite externa possui grande importância clínica, sendo estimado que cerca de 5 a 20% dos cães sejam acometidos por alguma forma desta doença (Pena 2007).

A otite externa usualmente é secundária, tendo como fatores predisponentes infestação por pulgas, obstrução ceruminosa acompanhada de infestação por ácaros, injúria traumática, entre outros (Scott et al. 2002).

Clinicamente observa-se dor regional, edema, inflamação, formação de exsudato ou cerúmen em excesso e balançar constante da cabeça (White 1992, Bruyette & Lorenz 1993). A otite externa possui etiologia multifatorial, sendo isolados vários agentes nas orelhas doentes, como bactérias, fungos e ácaros (Leite et al. 2003).

O micro-organismo mais comumente isolado das otites externas de cães é a levedura *Malassezia* sp. (Nardoni et al. 2004), pertencente a microbiota normal, sendo considerado um patógeno oportunista do conduto auditivo externo e tegumento de cães e gatos, que pode causar dermatite e otite externa (Martins et al. 2004).

O tratamento da otite deve ser direcionado para os fatores ocasionais correspondentes, destacando assim a importância da correta identificação e classificação dos mesmos. A resposta ao tratamento pode ser complicada devido às etiologias multifatoriais, sendo a identificação do agente primário de relevante importância ao sucesso terapêutico (Carfaglia 2005).

Fármacos como Anfotericina B (Morrison & Weisdorf 2000), Cetoconazol, Fluconazol e Itraconazol (Nascente et al. 2003) e Tiabendazol (Nascente et al. 2009), mostram-se eficazes no tratamento de animais infectados com a levedura. Já Carvalho et al. (2010) demonstraram através de testes *in vitro* a resistência do Itraconazol, Econazol e Clotrimazol no tratamento de *M. pachydermatis*. O uso de Clorexidina 2% e Miconazol 2% também se mostrou eficaz contra a *Malassezia* em cães com dermatite causada pelo fungo (Campbell & Matoušek 2002).

Na tentativa de minimizar o uso de produtos químicos, muitas vezes deletérios aos animais, a asso-

ciação com produtos fitoterápicos pode representar uma alternativa no controle das leveduras, diminuindo a dose ou o tempo de aplicação dos produtos convencionais (Fernandes et al. 2010b).

O Nim (*Azadirachta indica*) é uma árvore da família Meliaceae, sendo utilizada a mais de dois mil anos para controle de diversos micro-organismos. Diferentes compostos químicos já foram identificados: compostos fenólicos, carotenóides, esteróides, cetonas e os triterpenos, que além de serem os mais abundantes, como a Azadiractina (Chattopadhyay 1999, Abdel-Shafy & Zayed 2002, Martinez 2002), fungicida natural. Apresenta ainda a vantagem de ser biodegradável, não apresentando efeitos tóxicos para mamíferos, exceto quando administrados em altas concentrações (Nudmu et al. 1999).

O objetivo do presente estudo foi verificar a eficácia do óleo de Nim e a sua emulsão a 10%, no tratamento das otites fúngicas que tem como agente etiológico *Malassezia* sp. em cães naturalmente infectados.

MATERIAL E MÉTODOS

Para avaliar a eficácia do Nim, foram utilizados 36 cães sem distinção de sexo, raça e idade, que apresentavam otite externa, em ambos os condutos auditivos, causada por leveduras do gênero *Malassezia*. Foi realizado exame físico geral para acompanhamento dos animais durante o período experimental, com objetivo de verificar possíveis reações adversas causadas pelo emprego do Nim.

O diagnóstico foi realizado através da coleta de material dos condutos auditivos dos animais utilizando hastes de zaragatoa. Posteriormente, o material foi colado em lâminas de microscopia e fixado com fogo. Uma vez fixado, as lâminas foram coradas com corante panótico rápido, e avaliadas à microscopia óptica sob objetiva de 100x com óleo de imersão. A leitura foi realizada em cinco campos distintos e a partir da leitura foi obtida a média dos campos e encontrado o resultado final. O exame direto foi avaliado segundo Kowalsky (1988), onde se considera negativo (-) a ausência de leveduras/campo, (+) existindo até cinco leveduras/campo, (++) presença de seis a dez leveduras/campo e (+++) quando encontrada mais de dez leveduras/campo. Só foram incluídos no experimento, animais (+++) e que estivessem sem tratamento com qualquer produto por um período mínimo de 60 dias.

Os animais foram divididos em três grupos experimentais com 12 animais em cada grupo: grupo

controle (Grupo A) medicado com solução fisiológica. O (Grupo B) foi tratado com óleo de Nim 100%, adquirido do laboratório Natural Rural®, insulando 0,5 (meio) ml em cada conduto auditivo a cada 24 horas, durante 21 dias, com auxílio de uma seringa. Já o (Grupo C) foi medicado utilizando-se emulsão aquosa de Nim a 10%. O preparo da emulsão foi realizado acrescentando a uma parte do óleo, tween 80 (emulsificante) na concentração de 30%. Posteriormente, a solução foi levada a um agitador magnético com aquecimento, onde permanecia por 10 minutos a uma temperatura de 40°C, completando até a quantidade desejada com água. A dose empregada em cada animal foi de 3 ml/kg de peso vivo, sendo administrada com auxílio de um borrifador, a cada 24 horas, durante 21 dias.

Foram realizadas observações diárias nos animais para verificar possíveis reações adversas causadas pelo produto. Nos dias +3, +7, +14, +21, +28 e +35, os animais foram reexaminados através de citologia bilateral conforme técnica descrita anteriormente, para avaliação da evolução da infecção.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos exames citológicos realizados nos animais ao longo do período experimental e nos diferentes grupos encontram-se descritos na Tabela 1. No dia zero da experimentação, todos os animais apresentavam sinais clínicos da doença.

Ainda não há relatos da utilização de óleo de Nim ou de suas emulsões e infusões para utilização no tratamento de otite causada *Malassezia* sp. Picoli

Tabela 1. Resultado da citologia realizada nos animais com otite externa naturalmente infectados com a levedura *Malassezia* sp.

Animais	Dias após o tratamento													
	0		3		7		14		21		28		35	
	OD ¹	OE ²	OD	OE										
Controle														
01	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
02	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
03	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
04	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
05	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
06	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
07	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
08	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
09	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
10	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
11	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Nim 100%														
13	+++	+++	++	++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
14	+++	+++	++	+++	++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++
15	+++	+++	++	++	+	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
16	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
17	+++	+++	+++	++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
18	+++	+++	++	+++	++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++
19	+++	+++	+++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
20	+++	+++	++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
21	+++	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
22	+++	+++	++	++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
23	+++	+++	++	++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
24	+++	+++	++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Nim 10%														
25	+++	+++	+	+	+	-	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
26	+++	+++	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
27	+++	+++	++	++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++
28	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
29	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
30	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
31	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
32	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
33	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
34	+++	+++	+++	+++	++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
35	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
36	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Orelhas, direita^a e esquerda^b; Critério de classificação segundo Kowalsky (1988):(-) a ausência de leveduras/campo, (+) existindo até cinco leveduras/campo, (++) presença de seis a dez leveduras/campo e (+++) quando encontrada mais de dez leveduras/campo.

et al. (2007) verificaram a Concentração Inibitória Mínima (CIM) do óleo de essencial de carqueja, retirada de *Bacharis timera* no controle de *M. pachydermatis* demonstrando ser um agente promissor no controle da levedura.

Fármacos como Anfotericina B (Morrison & Weisdorf 2000), Cetoconazol, Fluconazol e Itracozazol (Nascente et al. 2003) e Tiabendazol (Nascente et al. 2009), mostram-se eficazes no tratamento de animais infectados com a levedura, utilizando por um período mínimo de 21 dias, ao contrário do tratamento com o Nim, o qual se mostrou ineficaz. Entretanto, embora os produtos comerciais apresentem ótimos resultados no controle in vivo dos micro-organismos, estudos recentes vêm alertando sobre a ototoxicidade de alguns fármacos para os animais, levando a hipoacusia ou a surdez (Oliveira et al. 2000, Lacazet al. 2002).

Ao longo de todo período experimental, o grupo controle apresentou sempre um grande número de leveduras em todos os condutos auditivos examinados. O fato de ter sido aplicada solução fisiológica não alterou a quantidade de leveduras e não produziu alteração clínica significativa. Aplicações de soro fisiológico ou até mesmo água podem propiciar um ambiente para o desenvolvimento de leveduras ou bactérias. Estudos mostram que os fatores climáticos são de grande importância na incidência de otites externas (Aizawa et al. 1999, Scott et al. 2002). Porém, uma vez instalado o processo de otite, a lavagem pode auxiliar a resolução do quadro clínico, pois proporciona a remoção de micro-organismos perpetuantes das otites, entretanto, não foi observado no presente estudo, uma vez que os sinais clínicos da otite, como presença de intenso cerúmen e eritema da orelha foram observados nos animais do grupo controle ao longo do período experimental (Figura 1).

Já o grupo de animais em que foi aplicado o óleo de Nim puro na concentração de 100%, das 24 orelhas tratadas e que apresentavam (+++) de leveduras no dia 0, 17 orelhas tiveram uma redução na quantidade de leveduras no dia +3. No dia +7, apenas 14 orelhas demonstravam redução na quantidade de leveduras, enquanto no dia +14, apenas seis orelhas mantinham essa redução. Nos dias subsequentes, foi observado o aumento na quantidade das leveduras, permanecendo assim até o final do período observacional.

A utilização da emulsão aquosa contendo 10% de óleo de Nim também não foi eficaz no tratamen-

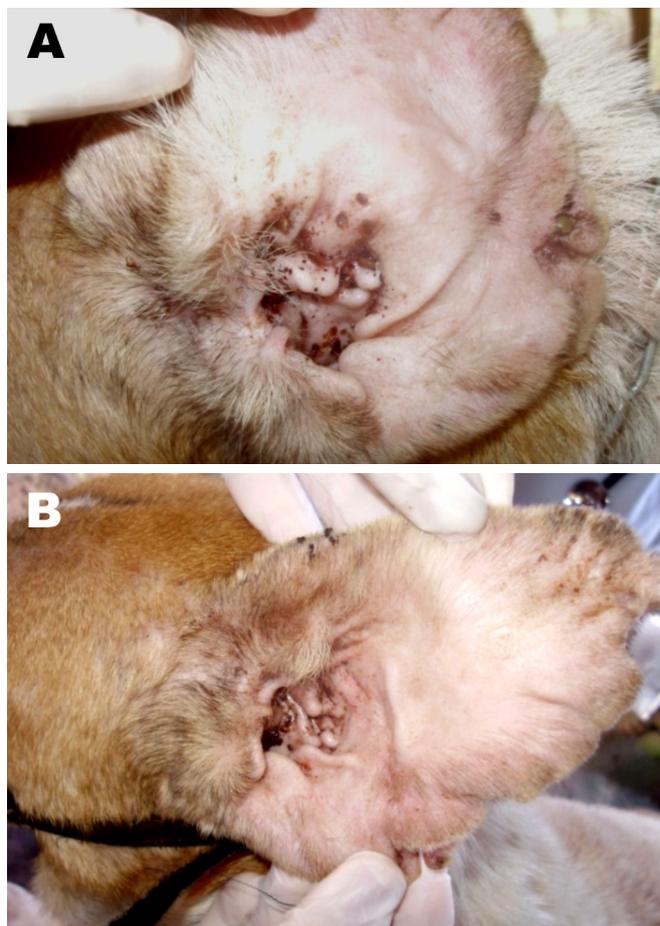


Figura 1. Animal pertencente ao grupo controle. (A) Presença de carrapatos, cerúmen e exsudato no dia 0. (B) Perpetuação dos sinais clínicos no dia +35. Notar que não houve melhora clínica das lesões.

to das leveduras de *Malassezia* sp. No dia +3, apenas seis condutos auditivos apresentaram redução na quantidade de leveduras. Como o produto em teste foi aspergido com auxílio de um borrifador, inicialmente os resultados foram superiores ao grupo tratado apenas com óleo de Nim, pois a quantidade de leveduras atingiu níveis reduzidos. Essa observação pode ser explicada pela remoção mecânica das leveduras através da limpeza indireta do conduto auditivo. Nos dias subsequentes, houve aumento no número das leveduras, permanecendo até o final do período observacional. Possivelmente, a utilização da água, diluente do produto, tenha propiciado a limpeza nos primeiros dias. Entretanto, sua utilização em longo prazo, proporcionou um ambiente ideal para multiplicação das leveduras (Mur 1997).

Nenhum dos animais tratados com óleo de Nim ou com a emulsão a 10% apresentou reação adversa ao produto, desde que utilizado nas concentrações aplicadas. Essa observação é diferente da relatada por Fernandes et al. (2010a) e Fernandes et al.

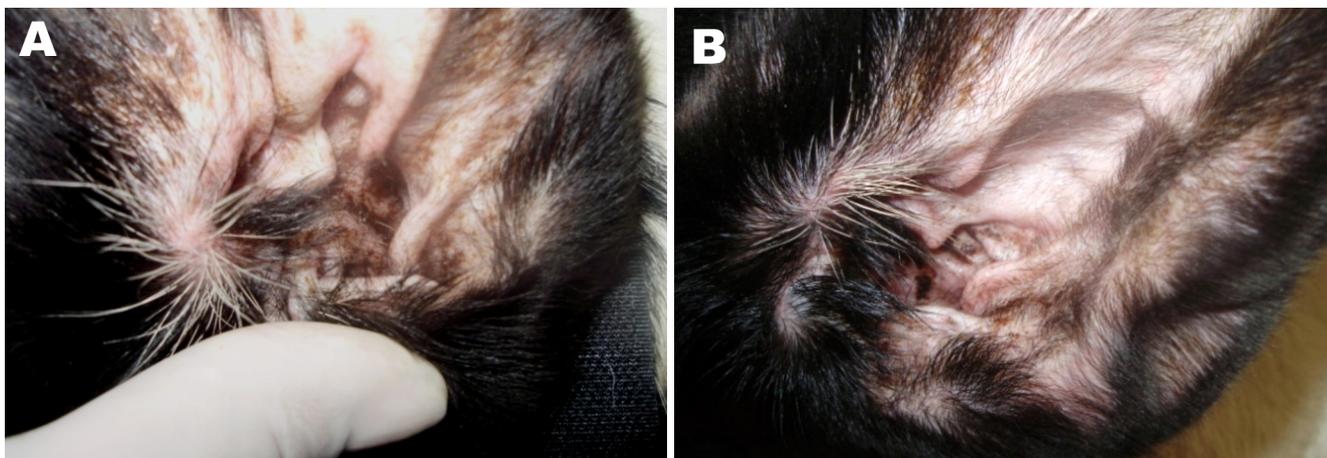


Figura 2. Animal pertencente ao grupo tratado com óleo de Nim 100%. (A) Orelha externa no dia 0 apresentando estenose do conduto auditivo com presença de intensa produção de cerúmen. (B) Mesmo animal no dia +35, evidenciando melhora da estenose e redução na quantidade de cerúmen.

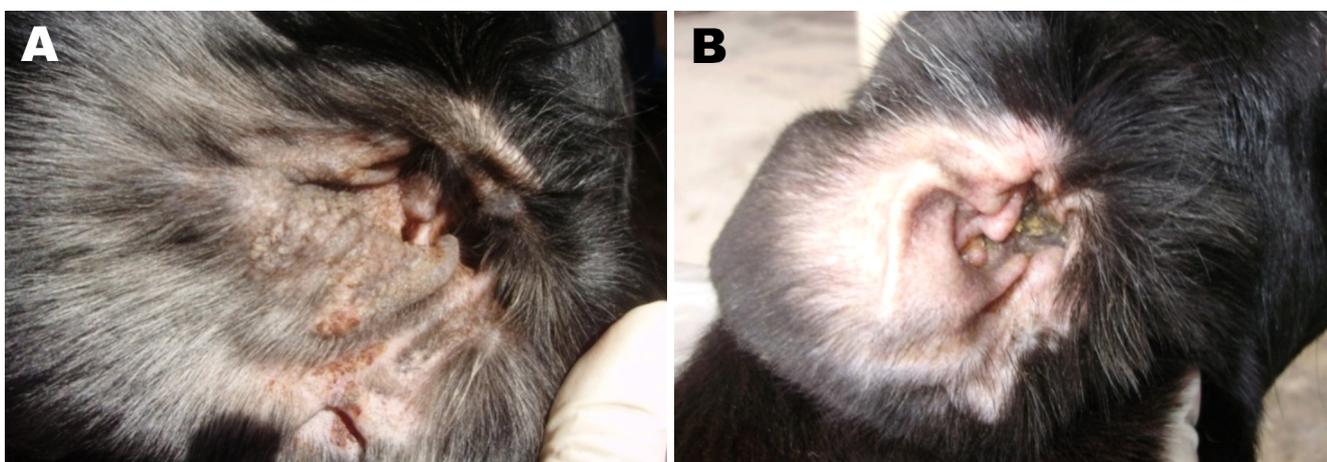


Figura 3. Animal pertencente ao grupo tratado com emulsão aquosa contendo 10% de óleo de Nim. (A) Animal com otite externa caracterizada pela presença de hiperqueratose, escoriações e eritema no dia 0. (B) Mesmo animal no dia +35 apresentando melhora das lesões.

(2010b) onde a utilização do produto, na mesma concentração, causou reações dermatológicas nos animais tratados.

Ao logo de todo período experimental, pode ser notado que os grupos tratados com óleo de Nim ou com a emulsão aquosa, mesmo que não apresentassem redução na quantidade de leveduras de *Malassezia* sp. diagnosticadas através de citologia, houve melhora significativa no aspecto macroscópico dos condutos auditivos. No grupo tratado com óleo de Nim, foi observada a diminuição da produção de cerúmen e resolução da estenose do conduto auditivo (Figura 2). Já o grupo tratado com a emulsão aquosa contendo 10% de óleo de Nim, a melhora clínica relatada foi a diminuição do eritema e da hiperqueratose (Figura 3). Em ambos os grupos tratados, os proprietários informaram a significativa diminuição do prurido e da sensibilidade dos condutos auditivos.

Todas as melhoras clínicas observadas podem ter sido desencadeadas, possivelmente, pelas propriedades anti-inflamatórias do Nim, como relatado por Mossini & Kemmelmeier (2004), e Pereira et al. (2012), assim como questionado no trabalho de Fernandes et al. (2010b) ao empregarem uma emulsão aquosa contendo 10% de óleo de Nim no tratamento de cães com *Demodex canis*, onde apesar de não ser eficaz no controle do ácaro, os animais tratados apresentaram melhora das lesões dermatológicas.

CONCLUSÃO

A utilização do óleo de Nim puro ou a emulsão aquosa contendo 10% de óleo de Nim, não foram eficazes no tratamento de otites causadas por *Malassezia* sp. em cães. Entretanto, houve melhora clínica, caracterizada pela diminuição da dor, prurido e inflamação das orelhas tratadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdel-Shafy S. & Zayed A.A. In vitro acararicidal effect of plant extract of Neem seed oil (*Azadirachta indica*) on egg, immature, and adult stages of *Hyalomma anatolicumexcavatum* (Ixodoidea: Ixodidae). *Vet. Parasitol.*, 106:89-71, 2002.
- Aizawa T., Kano R., Nakamura Y., Watanabe S. & Hasegawa A., Molecular heterogeneity in clinical isolates of *Malassezia pachydermatis* from dogs. *Vet. Microbiol.*, 70:67-75, 1999.
- Bruyette D.S. & Lorenz M.D. Otitis externa and otitis media: diagnostic and medical aspects. *Sem. Vet. Med. Surg., Small Anim.*, 8:3-9, 1993.
- Campbell K.L. & Matousek J.L. *Malassezia* Dermatitis. *Vet. Therap. Art.*, 24:224-232, 2002.
- Carfanchia C. Frequency, Body Distribution, and Population Size of *Malassezia* Species. In: Healthy Dogs and in Dogs with Localized Cutaneous Lesion. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 17:316-322, 2005.
- Carvalho L.V.C., Albuquerque P.P.F., Neto O.L.S., Santos A.S., Lima D.C.V., Cavalcante R.V., Silva V.A.S., Silva L.B.G. & Mota R.A. Otite crônica em cão: diagnóstico laboratorial e tratamento. In: Jornada de ensino, pesquisa e extensão, 2010, Recife. (Disponível em: <<http://www.sigeventos.com.br/jepex/inscricao/resumos/0001/R1101-2.PDF>>). Vide Instrução aos Autores da RBMV - RETIRAR
- Chattopadhyay R.R. Possible mechanism of anti hyperglycemic effect of *Azadirachta indica* leaf extract. *J. Ethnopharmacol.*, 67:373-376, 1999.
- Fernandes J.I., Correia T.R., Ribeiro F.A., Cid Y.P., Tavares P.V. & Scott F.B. Eficácia do Nim (*Azadirachta indica*) no controle de *Otodectes cynotis* (Hering, 1838) em cães. *Rev. Bras. Med. Vet.*, 32(Supl. 1): 55-58, 2010a.
- Fernandes J.I., Correia T.R., Ribeiro F.A., Cid Y.P., Tavares P.V. & Scott F.B. Eficácia do nim (*Azadirachta indica*) no controle de *Demodex canis* (Leydig, 1859) em cães. *Rev. Bras. Med. Vet.*, 32(Supl. 1):59-63, 2010b.
- Kowalsky J.J. The microbial environment of the ear canal in health and disease. *Vet. Clin. North Americ.: Small Anim. Pract.*, 18:743-754, 1988.
- Lacaz C.S., Porto E., Martins J.E.C., Heinz-Vaccari E.M. & Melo N.T. *Tratado de Micologia Médica Lacaz*. Savier, São Paulo, 2002. 1104p.
- Leite C.A.L., Abreu V.L.V., Costa G.M. Frequência de *Malassezia pachydermatis* em otite externa de cães. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 55:101-104, 2003.
- Martinez S.S. O Nim - *Azadirachta indica*: Natureza, usos múltiplos, produção. Instituto Agrônomo do Paraná, Londrina. 2002. 142p.
- Martins A.A., Rosa C.S., Nascente P.S. Souza L.L., Santos D.V., Faria R.O. & Meireles M.C.A. Utilização dos Tween 20, 40, 60 e 80 para identificação das espécies do gênero *Malassezia*. Anais do XIII Congresso de Iniciação Científica. Pelotas - RS, 2004. (Disponível em: <http://www.ufpel.edu.br/cic/2004/arquivos/indice_CA.html>).
- Morrison V.A. & Weisdorf D.J. The spectrum of *Malassezia* infections in the bone marrow transplant population. *Bon. Marro. Transpl.*, 26:645-648, 2000.
- Mossini S.A.G. & Kemmelmeier C. A árvore Nim (*Azadirachta indica* A. Juss): Múltiplos Usos. *Acta Farm. Bonariense*, 1:139-148, 2004.
- Mur E.S. *Atualizaciones Veterinarias - Clinica de pequeños animales: Manual clínico de dermatologia no cão y no gato*. Pulso ediciones, Barcelona, 1997, 175-181p.
- Nardoni S., Mancianti F., Corazza M. & Rum A. Occurrence of *Malassezia* species in healthy and dermatologically diseased dogs. *Mycopathologia*, 157:383-388, 2004.
- Nascente P.S., Nobre M.O., Schuch L.F., Lucia-Junior T. & Meireles M.C.A. Evaluation of *Malassezia pachydermatis* antifungal susceptibility using two different methods. *Braz. J. Microbiol.*, 34:359-362, 2003.
- Nascente P.S., Meirerz A.R.M., Faria R.O., Schuch L.F.D., Meireles M.C.A. & Mello J.R.B. CLSI Broth Microdilution Method for Testing Susceptibility of *Malassezia pachydermatis* to Thiabendazole. *Braz. J. Microbiol.*, 40:222-226, 2009.
- Nudmu P.A., George J.B.B. & Choudhury M.K. Toxicity of neem seed oil (*Azadirachta indica*) against the larvae of *Amblyomma variegatum* a three-host tick in cattle. *Phytotherapy Res.*, 13:532-534, 1999.
- Oliveira J.A., Demarco R.C. & Rassato M. Regeneração de células ciliadas após ototoxicidade com aminoglicosídeos na cóclea em aves. *Rev. Bras. Otorrinolaringol.*, 66:24-29, 2000.
- Pena S.B. *Frequência de dermatopatias infecciosas, parasitárias e neoplásicas em cães na região de garça, São Paulo - Brasil*. Dissertação (Medicina Veterinária), Universidade Estadual Paulista. Botucatu, 2007. 67p. (Disponível em: <http://www.athena.biblioteca.unesp.br/exlibris/bd/bbo/33004064022P3/2007/pena_sb_me_botfmvz.pdf>).
- Pereira L.P., Silva K.E.S., Silva R.O., Assreuy A.M.S. & Pereira M.G. Anti-inflammatory polysaccharides of *Azadirachta indica* seed tegument. *Braz. J. Pharmacol.*, 22:617-622, 2012.
- Picoli T., Dourado M.T., Dourado A.S., Nascente P.S. & Nascimento S.L.S. Efeito do óleo essencial de *Baccharis trimera* (carqueja) frente a leveduras. Anais do XVI Congresso de Iniciação Científica. Pelotas - RS, 2007. (Disponível em: <http://www.ufpel.edu.br/cic/2007/cd/pdf/CB/CB_01199.pdf>).
- Radlinsky M.G., Mason D.E., Roush J.K. & Pineda R. Use of a continuous, local infusion of bupivacaine for postoperative analgesia in dogs undergoing total ear canal ablation. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 227:414-419, 2005.
- Scott W.D., Miller H.W. & Griffin C.E. Enfermedades Del oído externo, p.1250-1280. In: Muller & Kirk's, (Eds), *Dermatologia em Pequeños Animales*. 6ª ed. Inter-Médica. Buenos Aires, 2002.
- White S.D. Otitis externa. *Walt. Int. Focus*, 2:2-9, 1992.