


## ESTUDO DAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANAS DE ÓLEOS ESSENCIAIS E SUAS ASSOCIAÇÕES NO CONTROLE DA MASTITE EM BOVINOS

 <https://doi.org/10.56238/arev6n3-370>

Data de submissão: 28/10/2024

Data de publicação: 28/11/2024

**Jessé Lahos Borges**

Universidade Paranaense, Brasil

E-mail: lahosjesse@gmail.com

LATTES: <http://lattes.cnpq.br/9287727381506777>

**Patrícia Wynnek Meskiv**

Universidade Paranaense, Brasil

E-mail: patricia241095@edu.unipar.br

LATTES: <http://lattes.cnpq.br/5678457607908497>

**Bruna de Fatima Antunes Laginestra**

Universidade Paranaense, Brasil

E-mail: bruna.laginestra@edu.unipar.br

LATTES: <http://lattes.cnpq.br/1108081645371012>

**João Vitor Moraes Simões**

Universidade Paranaense, Brasil

E-mail: j.simoes@edu.unipar.br

LATTES: <http://lattes.cnpq.br/0303894935481140>

**Gilson Roberto Macagnan**

Universidade Paranaense, Brasil

E-mail: gilson.macagnan@edu.unipar.br

LATTES: <http://lattes.cnpq.br/2971581144136105>

**Zilda Cristiani Gazim**

Universidade Paranaense, Brasil

E-mail: cristianigazim@prof.unipar.br

LATTES: <http://lattes.cnpq.br/4838876297995953>

**Daniela Dib Gonçalves**

Universidade Paranaense, Brasil

E-mail: danieladib@prof.unipar.br

LATTES: <http://lattes.cnpq.br/9047414677271009>

**Ranulfo Piau Junior**

Universidade Paranaense, Brasil

E-mail: piau@prof.unipar.br

LATTES: <http://lattes.cnpq.br/9711828573830938>

## RESUMO

Os óleos essenciais (OEs) são compostos voláteis e oleosos que podem ser extraídos das plantas. Vários constituintes dos OEs possuem atividades antimicrobianas de amplo espectro contra bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, fungos e leveduras, tornando os óleos essenciais uma alternativa promissora aos tratamentos convencionais, frequentemente associados a efeitos adversos e resistência microbiana. A mastite, uma inflamação da glândula mamária causada principalmente por infecções bacterianas, de diversas formas, prejudica todo o sistema produtivo, causando um impacto negativo significativo na produção de leite. Esta enfermidade é categorizada em mastite clínica e subclínica, ambas afetam a quantidade e a qualidade do leite produzido. O estudo das propriedades antibacterianas dos OEs é de interesse crescente, pois terapias com drogas alternativas são bem-vindas para combater infecções causadas por cepas resistentes a antibióticos. Desse modo, este estudo objetivou estudar as propriedades antimicrobianas dos OEs de *Syzygium aromaticum*, *Thymus vulgaris* e *Pogostemon cablin* e a possibilidade de usá-los em pesquisas futuras no tratamento da mastite bovina.

**Palavras-chave:** Tratamento Alternativo. Bactéria. Produtos Bioativos.

## 1 INTRODUÇÃO

Farmacologicamente, determinadas espécies vegetais possuem propriedades anti-inflamatórias, antimicrobiana, espasmolítica, sedativa, analgésica e anestésica local, entre outras propriedades (TSUCHIYA, 2017; BATIHA et al., 2020). Nas plantas aromáticas, é possível a extração de OEs, que possuem a característica de serem voláteis e óleosos, extraídos de materiais vegetais como sementes, flores, folhas, botões, galhos, cascas, madeira, frutas e raízes (BRENES; ROURA, 2010). As atividades farmacológicas das espécies vegetais são atribuídas aos seus fitoconstituintes, tais como glicosídeos, saponinas, flavonóides, esteróides, taninos, alcalóides, terpenos, com aplicações em várias áreas médicas (MUJEEB et al., 2014). Alguns constituintes dos OEs, como carvacrol e timol presentes no tomilho, oferecem atividades antimicrobianas de amplo espectro contra bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, fungos e leveduras (ROLLER; SEEDHAR, 2002, ABBASZADEH et al., 2014).

O estudo das propriedades anti-bacterianas dos OEs é de interesse crescente, pois terapias com drogas alternativas são bem-vindas para combater infecções causadas por cepas resistentes a antibióticos. Na medicina humana já são utilizados contra infecções bacterianas, virais e fúngicas (OJAH, 2020; SILVA et al., 2020; ALJAAFARI et al., 2021). Na medicina veterinária além do combate a uma gama de patógenos (VALDIVIESO-UGARTE et al., 2019), outros problemas poderiam ser resolvidos pelo emprego de OEs, como a presença de resíduos de antibióticos em alimentos de origem animal e no meio ambiente (PIKKEMAAT et al, 2016). Embora a atividade antimicrobiana *in vitro* dos OEs tenha sido frequentemente demonstrada em estudos realizados com cepas bacterianas e fúngicas de diferentes origens, ainda são escassas as informações sobre sua eficácia no tratamento de infecções em animais (EBANI; MANCIANTI, 2020).

A mastite bovina é a doença mais importante que afeta os rebanhos leiteiros em todo o mundo, causando impactos diretos na rentabilidade das fazendas e questões de segurança alimentar. A prevenção e tratamento desta patologia é feito especialmente por meio de antimicrobianos, mas o aumento da resistência antimicrobiana dos patógenos a essa doença pode afetar a eficiência dos medicamentos convencionais. Além disso, os resíduos de antimicrobianos no leite e no meio ambiente são uma ameaça potencial à saúde humana, pelo fato de aumentar a resistência das bactérias a longo prazo (LOPES et al., 2020).

Assim, o uso de extratos vegetais e OEs pode se tornar uma alternativa promissora para o controle da mastite bovina. Propriedades antimicrobianas presentes em várias plantas já estão bem descritas. Extratos vegetais e OEs são frequentemente considerados seguros para animais, humanos e meio ambiente. Desse modo, este estudo objetivou estudar e comprovar se existem propriedades

antimicrobianas dos OEs de *Syzygium aromaticum*, *Thymus vulgaris* e *Pogostemon cablin* e a possibilidade de usá-los em pesquisas futuras no tratamento da mastite bovina.

## **2 MASTITE BOVINA E RESISTÊNCIA BACTERIANA**

A pecuária brasileira está entre as 5 principais potências em relação a produtividade de leite, sendo sua produção em 2021 de 35.305.047 mil litros, o que destaca a importância de se tratar de maneira sustentável a mastite bovina (IBGE, 2021). O estado que mais produz leite no Brasil atualmente é o estado de Minas Gerais com 9.611.706 Mil litros, sendo o Paraná com uma produção de 4.415.634 Mil litros (IBGE, 2021).

A mastite bovina é uma resposta inflamatória do tecido do úbere na glândula mamária causada por trauma físico ou infecções por microrganismos. É considerada a doença mais comum que leva a perdas econômicas nas indústrias de laticínios devido à redução do rendimento e má qualidade do leite (GOMES; HENRIQUES, 2016). Em média, o custo total de falha devido à mastite bovina é estimado em 28% por vaca por ano, principalmente devido a perdas de produção de leite e descarte, o que representa 11% a 18% da margem bruta por vaca por ano (HOGVEEN et al, 2019). No tecido mamário os danos que levam à redução da produção de leite são responsáveis por 70% das perdas totais no rebanho (CHEN et al., 2016).

A mastite bovina pode ser classificada em 3 classes com base no grau de inflamação, a saber, mastite clínica, subclínica e crônica. A mastite bovina clínica é evidente e facilmente detectada por anormalidades visíveis, como úbere vermelho e inchado e febre em vacas leiteiras. O leite da vaca apresenta-se aquoso com presença de flocos e coágulos (KHAN; KHAN, 2006). A mastite clínica pode ser subdividida em hiperaguda, aguda e subaguda, dependendo do grau da inflamação (KIBEBEW, 2017). Casos graves de mastite clínica também podem ser fatais (GRUET et al., 2001).

Ao contrário da mastite clínica, a mastite subclínica não apresenta anormalidades visíveis no úbere ou no leite, mas a produção de leite diminui e aumenta a contagem de células somáticas (CCS) (ABEBE et al., 2016). A perda contribuída pela mastite subclínica é muito difícil de quantificar, mas os especialistas concordam que ela representa mais perdas financeiras no rebanho do que os casos clínicos (CHEN et al., 2016; ROMERO et al., 2018). Ao contrário, a mastite crônica é um processo inflamatório que dura vários meses, com surtos clínicos ocorrendo em intervalos irregulares.

## **3 FATORES DE RISCO**

Existem vários fatores de risco conhecidos por estarem associados à incidência de mastite bovina que desempenham papel significativo, incluindo alguns patógenos, genética bovina e fatores

ambientais. Todos esses fatores devem ser considerados na implementação de programas para controle de mastite (KLAAS; ZADOKS, 2018). No interesse deste estudo, descreveremos apenas sobre os patógenos causadores da mastite bovina.

A infecção bacteriana intramamária é considerada a principal causa de mastite bovina. Muitas espécies bacterianas foram identificadas como agentes causadores da mastite bovina. Essas infecções bacterianas podem ser classificadas em 2 tipos com base na origem bacteriana – contagiosa e ambiental [LAKEW, 2019]. A mastite contagiosa refere-se à mastite que pode ser transmitida de vaca para vaca, especialmente durante a ordenha (SCHREINER; RUEGG, 2002).

Patógenos contagiosos como *S. aureus* e *Streptococcus agalactiae*, e espécies menos comuns como *Mycoplasma bovis* e *Corynebacterium*, vivem no úbere da vaca e na pele do teto, colonizando e crescendo no canal do teto (KIBEBEW, 2017). Estes são capazes de estabelecer infecções subclínicas, geralmente com elevação no CCS. O CCS é uma indicação útil de infecção por IMI (infecção intramamária) e que consiste em leucócitos (ou seja, neutrófilos, macrófagos, linfócitos e eritrócitos) e células epiteliais (SHARMA et al., 2011). As infecções contagiosas podem ser controladas reduzindo o contato entre os reservatórios e as vacas não infectadas. Portanto, a manutenção adequada do equipamento de ordenha, teto pós-ordenha, desinfecção, descarte e terapia de vaca seca (DCT) são importantes para prevenir infecções contagiosas (LANGE et al., 2017).

Ao contrário dos patógenos contagiosos, os patógenos ambientais geralmente não vivem na pele do úbere e do teto da vaca; em vez disso, eles existem na cama e alojamento do rebanho. Eles são melhor descritos como patógenos oportunistas, procurando a chance de causar uma infecção. Por exemplo, eles podem entrar no teto durante a ordenha devido ao deslizamento da teteira, ou quando a imunidade natural da vaca é fraca, causando mastite clínica. Patógenos ambientais como *Escherichia coli* ou *Streptococcus uberis* invadem e se multiplicam no úbere da vaca, induzem uma resposta imune do hospedeiro e são rapidamente eliminados (BRADLEY et al., 2002).

Uma ampla gama de espécies bacterianas foram relatadas como causadoras de mastite ambiental, a saber, *Streptococcus* spp., espécies de coliformes (por exemplo, *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Pseudomonas* spp., etc (BOGNI et al., 2011). O controle da infecção ambiental pode ser alcançado reduzindo a exposição das extremidades dos tetos a patógenos ambientais e aumentando a resistência da vaca ao IMI por intervenção antibiótica e vacinação (LANGE et al., 2017).

#### **4 RESISTÊNCIA BACTERIANA**

Os antibióticos são amplamente utilizados na indústria de laticínios para combater doenças e melhorar o desempenho animal. Antibióticos como penicilina, cefalosporina, estreptomicina e

tetraciclina são usados para o tratamento e prevenção de doenças que afetam vacas leiteiras causadas por uma variedade de bactérias gram-positivas e gram-negativas. Antibióticos são frequentemente administrados rotineiramente a rebanhos inteiros para prevenir a mastite durante o período seco. Um aumento na incidência de doenças em um rebanho geralmente resulta no aumento do uso de antimicrobianos, o que, por sua vez, aumenta o potencial de resíduos de antibióticos no leite e o potencial de aumento da resistência bacteriana aos antimicrobianos (OLIVER; MURINDA, 2012).

O tratamento eficaz da mastite bovina depende da suscetibilidade antimicrobiana dos patógenos, do tipo de mastite, da raça do gado e do regime de tratamento (BARKEMA et al., 2006). O surgimento de resistência aos medicamentos é um sério desafio para o controle da mastite, pois os perfis de resistência são frequentemente específicos de cada rebanho (SILVEIRA-FILHO et al., 2014). A combinação de mais de um agente antimicrobiano sinérgico pode ser mais eficaz do que o uso de um único medicamento e pode alcançar uma alta taxa de cura (OLIVER et al., 2011; LAVEN et al., 2014; VAKKAMÄKI et al., 2017).

A identificação rápida e a compreensão da diversidade dos patógenos associados à mastite é essencial para prevenção e controle efetivos. Entretanto, prevê-se que o tratamento se torne problemático em um futuro próximo devido ao rápido aumento de patógenos resistentes a antibióticos (VAKKAMÄKI et al., 2014). A transmissão de patógenos de mastite resistentes a antimicrobianos e patógenos de origem alimentar para humanos podem ocorrer se o leite não pasteurizado for consumido (ABRAJMSÉN et al., 2013; OLIVEIRA; RUEGG, 2014; BEYENE et al., 2017).

O uso generalizado de antibióticos no controle da mastite aumenta muito o risco de instalação e transmissão de resistência aos antibióticos aos consumidores. Tal possibilidade está constantemente na atenção das autoridades de saúde animal e saúde pública, exigindo uma redefinição cientificamente fundamentada das terapias antibióticas levando em consideração a interseção do bem-estar animal com as preocupações sociais (RUEGG 2009; STEVENS et al. 2016).

Entre os patógenos causadores de mastite o *S. aureus* é o patógeno gram-positivo mais prevalente conhecido por estar associado a várias formas de mastite clínica e subclínica (VASUDEVAN et al., 2003). O reservatório fundamental do *S. aureus* está cronicamente infectando glândula mamária, portanto, manter a higiene do úbere e a ordenha pode proteger a vaca saudável da vaca infectada, reduzindo assim a infecção (RAINARD et al., 2018). O *S. aureus* não desencadeia uma resposta imune na vaca tão forte quanto a *E. coli* ou a endotoxina, portanto a infecção por *S. aureus* é sempre mais leve, levando à mastite crônica que dura alguns meses (GILBERT et al., 2013). *S. aureus* não causam anormalidades ou fatalidade, no entanto, produz enzimas degradativas e toxinas que

danificam irreversivelmente o tecido de ordenha, diminuindo a produção de leite (VASUDEVAN et al., 2003).

Tratamento de *S. aureus* é feito pelo uso de antibióticos. No entanto, Rainard et al (2018), demonstraram que o antibiótico não é um método eficiente devido à resistência desenvolvida pelo patógeno contra antibióticos  $\beta$ -lactâmicos, ou seja, a meticilina. Tais cepas de *S. aureus* são conhecidas como *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA), que possuem um gene *mecA* que confere a resistência (HAMID et al., 2017). Além disso, a habilidade do *S. aureus* em produzir biofilme e se adaptar ao ambiente do hospedeiro, o torna um alvo ainda mais difícil para o tratamento dessa infecção (OLIVEIRA et al., 2011; SCALI et al., 2015).

## 5 ÓLEOS ESSENCIAIS

A história dos OEs iniciou-se no Oriente, pois o processo de destilação, que é a base técnica da obtenção do OE, foi concebido e empregado pela primeira vez nesta região, especialmente no Egito, na Pérsia e na Índia. Embora o uso religioso de OEs tenha sido registrado já em 6.000 ac, o uso terapêutico de OEs só começou a crescer depois do século 19, quando o OE de lavanda foi utilizado com sucesso no tratamento de queimaduras (GUENTHER, 2017; MANION; WIDDER, 2017).

Os OEs são compostos de compostos lipofílicos e altamente voláteis, metabólitos secundários de plantas, atingindo uma massa abaixo de um peso de 300, que pode ser fisicamente separado de outros componentes da planta ou tecido membranoso. Conforme definido pela Organização Internacional para Padronização (ISO), o termo “óleo” essencial é reservado para produto obtido a partir de matéria-prima vegetal, seja por destilação com água ou vapor, ou do epicarpo de frutas cítricas por processo mecânico, ou por destilação a seco, ou seja, apenas por meios físicos. Assim, a maioria dos OEs disponíveis no mercado são obtidos por hidrodestilação (GRASSMANN; ELSTNER, 2003; SCHMIDT, 2010; SELL, 2010).

São substâncias isoladas por processos físicos de uma planta odorífera. O óleo leva o nome da planta da qual é derivado, por exemplo, óleo de rosas ou óleo de hortelã-pimenta. Esses óleos foram chamados de essenciais porque se pensava que representavam a própria essência do odor e do sabor (GUENTHER, 2017; HAAGEN-SMIT, 2017).

A destilação é o método mais comum para o isolamento de OEs, mas outros processos, enfleurage (extração usando gordura), maceração, extração com solvente e prensagem mecânica são usados para certos produtos. As plantas mais jovens produzem maior quantidade de óleo do que as mais velhas, mas as plantas mais velhas são mais ricas em óleos mais resinosos e mais escuros devido

à evaporação contínua das frações mais leves do óleo (GUENTHER, 2017; HAAGEN-SMIT, 2017, MANION; WIDDER, 2017).

Os primeiros registros de OEs vêm da antiga Índia, Pérsia e Egito, e tanto a Grécia como Roma realizaram amplo comércio de óleos e unguentos odoríferos com os países do Oriente. Muito provavelmente esses produtos eram extratos preparados colocando flores, raízes e folhas em óleos graxos. Na maioria das culturas antigas, as plantas odoríferas ou seus produtos resinosos eram usados diretamente. Somente com a chegada da idade de ouro da cultura árabe foi desenvolvida uma técnica para a destilação de OEs. Os árabes foram os primeiros a destilar álcool etílico a partir de açúcar fermentado, fornecendo assim um novo solvente para a extração de OEs no lugar dos óleos graxos que provavelmente eram usados há vários milênios (URDANG, 2017). Os OEs possuem constituintes químicos complexos, que variam de acordo com a quantidade de chuva e luz do dia a que as plantas estão expostas, e as condições do solo, umidade, altitude, até mesmo a hora do dia em que as plantas são colhidas (GOBBO-NETO; LOPES, 2007), e também não se detectou resistência bacteriana na utilização destes óleos (BECERRIL et al., 2012; WILLING et al., 2018).

Os OEs são utilizados na indústria farmacêutica como ingredientes ativos ou constituintes de medicamentos, sabonetes, xampus, perfumes e cosméticos. Eles também são utilizados como conservantes de produtos alimentícios na indústria alimentícia (PAULI, 2001; CHOUHAN et al., 2017).

Portanto, o interesse em OEs e outros extratos de plantas como fontes de produtos naturais tem aumentado nos últimos anos. Eles são selecionados por seus usos potenciais como medicamentos alternativos para o tratamento de muitas doenças infecciosas (KRÓL et al., 2013).

## **6 ATIVIDADES BIOLÓGICAS DOS OES**

Os OEs têm sido reconhecidos há muito tempo por possuírem várias atividades biológicas diferentes. Vários desses metabólitos secundários de plantas apresentam efeitos antimicrobianos marcantes que tornaram seu uso como antisséptico e ou conservante em alimentos bem conhecidos desde os tempos antigos (MANCIANTI; EBANI, 2020).

Na produção de alimentos, inibir o crescimento de microrganismos através do uso de conservantes socialmente aceitáveis é um problema sério. A relutância da sociedade em usar antibióticos e conservantes sintéticos, como ácido benzoico, ácido sórbico, ácido láctico, ácido propiônico, ácido acético e seus derivados, parabenos ou sulfatos inorgânicos, nitritos e nitratos, necessita encontrar soluções alternativas (SHARIFI-RAD et al., 2018). Esta pode ser uma aplicação para OEs, especialmente porque os conservantes químicos não podem eliminar várias bactérias

patogênicas, como *Listeria monocytogenes*, em produtos alimentícios ou retardar o crescimento de microrganismos deteriorantes. Além disso, os produtos naturais são inerentemente mais bem tolerados no corpo humano e geralmente com menos efeitos colaterais (LIU et al., 2017).

A maioria dos OEs já foram testados quanto a sua atividade antibacteriana/antifúngica *in vitro* e foram escolhidos alguns microrganismos, pela sua perspectiva de uma aplicação prática para enfrentar diferentes situações no campo. O OE de *Clausena lausium* mostrou atividade potente contra leveduras *Candida*, corroborando a eficácia desses remédios tradicionais na medicina popular chinesa (HE et al., 2019), enquanto os OEs de *Cymbopogon flexuosum*, *Litsea cubeba* e *Citrus bergamia* se mostraram ativos contra *Saprolegnia parasitica* (NARDONI et al., 2019). No entanto, cuidados especiais devem ser dados à administração *in vivo* desses produtos, sendo que alguns OEs mostraram exercer fortes efeitos antimicrobianos na prática animal, onde apresentariam efeitos tóxicos danificando o fígado, rim ou tecidos gastrointestinais (HORKY et al., 2019).

Embora o uso de OEs como antimicrobianos tenha sido relatado como não induzindo alterações relevantes na sensibilidade a drogas antibacterianas (LEITE de SOUZA, 2016), uma nova visão sobre os mecanismos de ação da resistência do *S. aureus* contra constituintes individuais ativos como carvacrol, citral e óxido de (+)-limoneno foi comprovada por Berdejo et al. (2019). Microrganismos selecionados, expostos a doses sub-inibitórias de tais compostos, apresentaram maior tolerância a tratamentos letais por constituintes individuais ou calor.

Além das múltiplas e bem documentadas propriedades antimicrobianas e antifúngicas na medicina humana e veterinária, esse grupo de compostos também possuem propriedades antivirais distintas. Os OEs são capazes de suprimir os vírus de diferentes maneiras. Eles podem inibir sua replicação ou podem impedir sua propagação de célula para célula (BASER; BUCHBAUER, 2009). Benência et al. (1999) publicaram seus resultados sobre a atividade antiviral do óleo de sândalo (*Santalum album*) contra o vírus Herpes simplex tipo 1 e tipo 2, esses autores descobriram que o OE inibiu a replicação dos vírus. HSV-1 foi mais influenciado do que HSV-2 dependendo da dose utilizada.

Devido ao modo de extração, principalmente por destilação de plantas aromáticas, os OEs contêm uma variedade de moléculas voláteis, como terpenos e terpenóides, componentes aromáticos derivados de fenol e componentes alifáticos. Ensaios físico-químicos *in vitro* caracterizam a maioria deles como antioxidantes. No entanto, estudos recentes mostram que em células eucarióticas, os OEs podem atuar como pró-oxidantes que afetam as membranas celulares internas e organelas, como as mitocôndrias. Dependendo do tipo e da concentração, exibem efeitos citotóxicos nas células vivas, mas geralmente não são genotóxicos. Em alguns casos, alterações no potencial redox intracelular e disfunção mitocondrial induzidas por OEs podem estar associadas à sua capacidade de exercer efeitos

anti-genotóxicos. Esses achados sugerem que, pelo menos em parte, os efeitos benéficos encontrados nos OEs são devidos a efeitos pró-oxidantes a nível celular (BAKKALIA et al., 2008; BASER.; BUCHBAUER, 2009; APONSO et al., 2021).

A atividade antiparasitária também foi avaliada *in vitro* por OEs originários da Índia, contra protozoários flagelados. Em especial, o OE de *Endlicheria bracteolata* mostrou ser ativo contra ambos os estágios em cultura amastigota e promastigota de *Leishmania amazonensis* (MARGATTO ROTTINI et al., 2019), enquanto alguns OEs originários do Vietnã foram testados contra *Trypanosoma brucei brucei*. Entre eles, a *Curcuma longa* foi eficaz e, em particular, seu principal componente, a curcuma, apareceu como um candidato anti-tripanosossomal promissor (BINH LE et al., 2019).

E por fim, desde os tempos antigos, os OEs têm sido amplamente utilizados para aplicações bactericidas, virucidas, fungicidas, antiparasitárias, inseticidas, medicinais e cosméticas, especialmente atualmente nas indústrias farmacêutica, sanitária, cosmética, agrícola e alimentícia.

## 7 PLANTAS PRODUTORAS DE OES COM ATIVIDADES ANTIMICROBIANAS

*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry (Myrtaceae), conhecida popularmente como cravo da Índia (Figura 1), é uma espécie arbustiva que cresce principalmente no bioma tropical úmido nativa em Maluku e introduzida em Borneo, Caroline Is., Comoros, Gulf of Guinea Is., Madagascar, Nicobar Is., Seychelles, Tanzania e Trinidad-Tobago conforme descrição na Figura 2 (POWO, 2024).

Figura 1: *Syzygium aromaticum*



Fonte: Plants of the World Online, Royal Botanic Gardens, Kew. 2024. Licensed under Creative Commons Attribution CC BY). Acesso em: <https://powo.science.kew.org/>.

Figura 2: Distribuição Geográfica de *Syzygium aromaticum* (L.)



Fonte: Plants of the World Online, Royal Botanic Gardens, Kew. 2024. Licensed under Creative Commons Attribution CC BY). Acesso em: <https://powo.science.kew.org/>.

Esta espécie têm 8 sinônimos, sendo quatro classificados como homotípicos: *Caryophyllus aromaticus* L, *Eugenia aromatica* (L.), *Syzygium aromaticum* (Spreng.), *Myrtus caryophyllus* Spreng.; e quatro classificados como heterotípicos: *Caryophyllus hortensis*, *Caryophyllus silvestris* Teijsm. ex Hassk., *Eugenia caryophyllata* Thunb., *Jambosa caryophyllus* (Thunb.) Nied. (POWO, 2024).

O *Syzygium aromaticum* é popularmente utilizado como condimento na culinária, devido ao seu odor característico, como também para tratar afecções e mascarar os maus odores bucais (AFFONSO et al., 2012).

Apresenta dentro da sua composição, o eugenol como sendo o constituinte com maiores teores planta, contudo outras substâncias como o  $\beta$ -cariofileno também possuem quantidades significativas em sua estruturação (AFFONSO et al., 2012). Possui comprovada atividade contra bactérias gram-negativas (REICHLING et al., 2009).

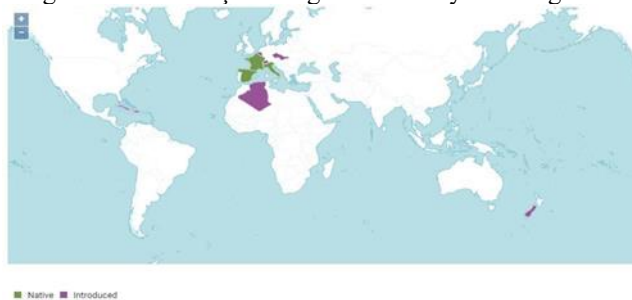
A espécie *Thymus vulgaris* L. (Lamiaceae) conhecida popularmente como tomilho, é um subarbusto que cresce principalmente no bioma temperado. Ocorre naturalmente desde o oeste da Europa ao sudeste da Itália, abrangendo Baleares, França, Itália e Espanha, e foi introduzida na Algeria, Belgium, Cuba, Czechoslovakia, Dominican Republic, Haiti, Leeward Is., New Zealand South, Puerto Rico, Switzerland como verificado na Figura 4 (POWO, 2024).

Figura 3: *Thymus vulgaris* L.



Fonte: Plants of the World Online, Royal Botanic Gardens, Kew. 2024. Licensed under Creative Commons Attribution CC BY). Acesso em: <https://powo.science.kew.org/>.

Figura 4: Distribuição Geográfica de *Thymus vulgaris* L.



Fonte: Plants of the World Online, Royal Botanic Gardens, Kew. 2024. Licensed under Creative Commons Attribution CC BY). Acesso em: <https://powo.science.kew.org/>.

Esta espécie tem 2 sinônimos homotípicos: *Origanum thymus* Kuntze e *Thymus collinus* Salisb.; e dois sinônimos infraespecíficos aceitos, sendo estes *Thymus vulgaris* subsp. *mansanetianus* e *Thymus vulgaris* subsp. *vulgaris* (POWO, 2024).

Na medicina popular é utilizada como adstringente, expectorante, estimulante da digestão, contra espasmos, além de apresentar propriedades antisépticas, antifúngica, antioxidante e antimicrobiana (LORENZINI; MATOS, 2002).

Dentro da sua composição há principalmente a presença do timol, que possuem teores bem elevados dentro da planta, sendo que na vasta literatura é relatado suas atividades biológicas (SALGADO et al. 2012). Outras substâncias que também possuem atividades biológicas e que estão presentes em seu OE é o  $\rho$ -cimeno e o carvacrol em menores quantidades, os quais têm teores maiores ou menores dependendo das particularidades encontradas no cultivo de cada planta (NUNES et al. 2016). É uma especiaria, possui ação contra *S. aureus*, coagulase negativas e *Streptococcus* sp. (IMELOUANE et al., 2009).

A espécie *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth. (Lamiaceae), conhecida popularmente como Patchouli (Figura 5), é nativa do Sri Lanka, W. & Central Malesia, Papua Nova Guiné. Foi introduzida na China Southeast, Fiji, Hainan, Samoa, Taiwan, Thailand, Tonga, Trinidad-Tobago, Vietnam (Figura 6). É uma planta perene ou subarborescente e cresce principalmente no bioma tropical sazonalmente seco (POWO, 2024).

Figura 5: *Pogostemon cablin*



Fonte: Plants of the World Online, Royal Botanic Gardens, Kew. 2024. Licensed under Creative Commons Attribution CC BY). Acesso em: <https://powo.science.kew.org/>.

Figura 6: Distribuição Geográfica de *Pogostemon cablin*



Fonte: Plants of the World Online, Royal Botanic Gardens, Kew. 2024. Licensed under Creative Commons Attribution CC BY). Acesso em: <https://powo.science.kew.org/>.

Esta espécie possui 14 sinônimos, sendo um homotípico: *Mentha cablin* Blanco, e treze heterotípicos: *Mentha auricularia* Blanco; *Pogostemon battakianus* Ridl.; *Pogostemon comosus* Miq.; *Pogostemon heyneanus* var. *patchouly* (Pellet.-Saut.) Kuntze; *Pogostemon hortensis* Backer ex K. Heyne; *Pogostemon javanicus* Backer ex Adelb.; *Pogostemon mollis* Hassk.; *Pogostemon nepetoides* Stapf; *Pogostemon nepetoides* var. *glandulosus* Merr.; *Pogostemon patchouly* Pellet.-Saut.; *Pogostemon patchouly* var. *suavis* (Ten.) Hook.f.; *Pogostemon suavis* Ten.; *Pogostemon tomentosus* Hassk.

Em suas folhas ao se realizar a extração possui um odor amadeirado único, que é utilizado desde a antiguidade como um dos OEs mais importantes para se fazer perfumes (BEEK, 2017). Possui ação contra *S. aureus* e *Escherichia coli* (ABDULLAH et al., 2011).

## 8 CONCLUSÃO

A resistência a antibióticos está tornando cada vez mais difícil o tratamento da mastite em vacas leiteiras. Através deste estudo, pôde-se constatar que os óleos essenciais tornam-se uma opção ao controle de microrganismos causadores desta importante enfermidade, contribuindo desta forma para a saúde do animal.

## REFERÊNCIAS

- ABBASZADEH, S. *et al.* The effect of alginate and chitosan concentrations on some properties of chitosan-coated alginate beads and survivability of encapsulated *Lactobacillus rhamnosus* in simulated gastrointestinal conditions and during heat processing. *Journal of the science of food and agriculture*, v. 94, n. 11, p. 2210-2216, 2014.
- ABEBE, R. *et al.* Bovine mastitis: prevalence, risk factors and isolation of *S. aureus* in dairy herds at Hawassa milk shed, South Ethiopia. *BMC Veterinary Research*, v. 12, n. 1, p. 270-281, 2016.
- ABRAHMSÉN, M.; PERSSON, Y.; KANYIMA, B.M.; BÅGE, R. Prevalence of subclinical mastitis in dairy farms in urban and peri-urban areas of Kampala. *Tropical animal health and production*, v. 46, n. 1, p. 99-105, 2013.
- ALJAAFARI, M. N. *et al.* An Overview of the Potential Therapeutic Applications of Essential Oils. *Molecules*, v. 26, n. 3, p. 1-27. 2021.
- APONSO, M.; PATTI, A.; HEARN, M. T. W.; BENNETT, L. E. Anxiolytic effects of essential oils may involve anti-oxidant regulation of the pro-oxidant effects of ascorbate in the brain. *Neurochemistry International*, v. 150, p. 1-16, 2021.
- BAKKALIA, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, v. 46, p. 446-475, 2008.
- BARHEMA, H.; SCHUKKEN, Y.; ZADOKS, R. Invited Review: The Role of Cow, Pathogen, and Treatment Regimen in the Therapeutic Success of Bovine *S. aureus* Mastitis. *Journal of Dairy Science*, v. 89, n. 6, p. 1877-1895, 2006.
- BASER, K. H. C.; BUCHBAUER, G. *Handbook of essential oils: science, technology, and applications*. Boca Raton EUA: CRC Press, 2009. p. 209-232.
- BATIHA, G. S. *et al.* *Syzygium aromaticum* L. (Myrtaceae): Traditional Uses, Bioactive Chemical Constituents, Pharmacological and Toxicological Activities. *Biomolecules*, v. 10, n. 2, p. 1-16, 2020.
- BECERRIL, R.; NERIN, C.; GÓMEZ-LUS, R. Evaluation of Bacterial Resistance to Essential Oils and Antibiotics After Exposure to Oregano and Cinnamon Essential Oils. *Foodborne Pathogens and Disease*, v. 9, n. 8, p. 699-705, 2012.
- BEEK, T. A. JOULAIN, D. The essential oil of patchouli, *Pogostemon cablin*: A review. *Flavour Fragrance Journal*, p. 1-46, 2017.
- BENECIA, F.; COURRÈGES, M. C. Antiviral activity of sandalwood oil against Herpes simplex viruses-1 and -2. *Phytotherapy*, v. 6, n. 2, p. 119-123, 1999.
- BERDEJO, D. *et al.* Sub inhibitory doses of individual constituents of essential oils can select for *S. aureus* resistant mutants. *Molecules*, v. 24, n. 1, p. 170-186, 2019.
- BEYENE, T. J. *et al.* Prevalence and antimicrobial resistance profile of *Staphylococcus* in dairy farms, abattoir and humans in Addis Ababa. *BMC Research Notes*, v. 10, n. 1, p. 171-180, 2017.

BINH LE, T. et al. Evaluation of anti trypanosomal activity of vietnamese essential oils, with emphasis on *Curcuma longa* L. and its components. *Molecules*, v. 24, n. 6, p. 1158, 2019.

BOGNI, C. et al. War against mastitis: current concepts on controlling bovine mastitis pathogens. In: MÉNDEZ-VILAS, A. (Ed.). *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances*. Spain: Formatex Research Center, 2011. p. 483-494.

BRADLEY, A. J. Bovine mastitis: an evolving disease. *Veterinary Journal*, v. 168, n. 2, p. 116-128, 2002.

BRENES, A; ROURA, E. Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action. *Animal Feed Science and Technology*, v. 158, n. 1-2, p. 1-14, 2010.

CHEN, Q. et al. Stromal fibroblasts derived from mammary gland of bovine with mastitis display inflammation-specific changes. *Scientific Reports*, v. 6, n. 6, p. 1-13, 2016.

CHOUHAN, S.; SHARMA, K. GULERIA, S. Antimicrobial Activity of Some Essential Oils - Present Status and Future Perspectives. *Medicines*, v. 4, n. 3, p. 58-79, 2017.

EBANI, V. V.; MANCIANTI, F. Use of Essential Oils in Veterinary Medicine to Combat Bacterial and Fungal Infections. *Veterinary Sciences*, v. 7, n. 4, p. 193-228, 2020.

GILBERT, F. B. et al. Differential response of bovine mammary epithelial cells to *S. aureus* or *Escherichia coli* agonists of the innate immune system. *Veterinary Research*, v. 44, p. 1-22, 2013.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química Nova*, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GOMES, F.; HENRIQUES, M. Control of bovine mastitis: old and recent therapeutic approaches. *Current Microbiology*, v. 72, n. 4, p. 377-382, 2016.

GRASSMANN, J.; ELSTNER, E. F. Essential oils. Properties and uses. In: CABALLERO, B.; TRUGO, L.; FINGLAS, P. (Eds). *Encyclopedia of food science and nutrition*. 2. ed. Amsterdam: Elsevier, 2003. p. 2177-2184.

GRUET, P.; MAINCENT, P.; BERTHELOT, X.; KALTSATOS, V. Bovine mastitis and intramammary drug delivery: review and perspectives. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 50, n. 3, p. 245-259, 2001.

GUENTHER, E. *The Essential Oils*. New York: Jepson Press, 2017, 452 p.

GUENTHER, E. The production of essential oils: Methods of distillation, enfleurage, maceration, and extraction with volatile solvents. In: GUENTHER, E. *The Essential Oils*. New York: Jepson Press, 2017, p. 111-262.

HAAGEN-SMIT, A. J. The chemistry, origin and function of essential oils in plant life. In: GUENTHER, E. *The Essential Oils*. New York: Jepson Press, 2017, p. 33-99.

HAMID, S. et al. Phenotypic and genotypic characterization of methicillin-resistant *S. aureus* from bovine mastitis. *Vet World*, v. 10, n. 3, p. 363-367, 2017.

HE, X. et al. Correlation between chemical composition and antifungal activity of *Clausena lansium* essential oil against *Candida spp.* *Molecules*, v.24, n. 7, p. 1394, 2019.

HOGVEEN, H.; STEENEVELD, W.; WOLF, C. A. Production diseases reduce the efficiency of dairy production: A review of the results, methods, and approaches regarding the economics of mastitis. *Annual Review of Resource Economics*, v. 14, p. 289-312, 2019.

HORKY, P.; SKALICKOVA, S.; SMERKOVA, K.; SKLADANKA, J. Essential oils as additives: Pharmacokinetics and potential toxicity in monogastric animals. *Animals*, v. 9, n. 6, p. 352, 2019.

HUSSAIN, A. I; ANWAR, F; NIGAM, P. C.; SARKER, S. D; MOORE, J. C.; RAO, J. R.; MAZUMDAR, A. Antibacterial activity of some Lamiaceae essential oils using resazurin as an indicator of cell growth. *LWT - Food Science and Technology*, v. 44, n. 4, p. 1199-1206, 2011.

IMELOUANE, B. et al. *International Journal of Agriculture And Biology*, v. 11, n. 2, p. 205-208, 2009.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. Pesquisa da Pecuária Municipal – PPM 2021. Rio de Janeiro: Sidra, 2021. Disponível em: Acesso em: 13 Fev. 2023.

KHAN, M.; KHAN, A. Basic facts of mastitis in dairy animals: a review. *Pakistan Veterinary Journal*, v. 26, n. 4, p. 204-208, 2006.

KIBEBEW, K. Bovine mastitis: A review of causes and epidemiological point of view. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*, v. 7, n. 2, p. 1-14, 2017.

KLAAS, I. C.; ZADOKS, R. N. An update on environmental mastitis: Challenging perceptions. *Transboundary and Emerging Diseases*, v. 65, n. 1, p. 166-185, 2018.

KRÓL, S. K.; SKALICKA-WOZNIAK, K.; KANDEFER-SZRSZEŃ, M.; STEPULAK, A. The biological and pharmacological activity of essential oils in the treatment and prevention of infectious diseases. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, v. 22, n. 67, p. 1000-1007, 2013.

LAKEW, B. T.; FAYERA, T.; ALI, Y. M. Risk factors for bovine mastitis with the isolation and identification of *Streptococcus agalactiae* from farms in and around Haramaya district, eastern Ethiopia. *Tropical Animal Health and Production*, v. 51, n. 6, p. 1507-1513, 2019.

LANGE, M. J. et al. Tipologia de manejo de ordenha: análise de fatores de risco para a mastite subclínica. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 37, n. 11, p. 1205-1212, 2017.

LAVEN, R.; BALCOMB, C. C.; TULLEY, W. T.; LAWRENCE, K. E. Effect of dry period length on the effect of an intramammary teat sealant on the risk of mastitis in cattle treated with antibiotics at drying off. *New Zealand Veterinary Journal*, v. 62, n. 4, p. 214-220, 2014.

LEITE DE SOUZA, E. The effects of sublethal doses of essential oils and their constituents on antimicrobial susceptibility and antibiotic resistance among food related bacteria: A review. *Trends in Food Science & Technology*, v. 56, p. 1-12, 2016.

LIU, Q. et al. Antibacterial and antifungal activities of spices. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 18, n. 6, p. 1283-1345, 2017.

LOPES, T. S. et al. Use of plant extracts and essential oils in the control of bovine mastitis. *Research in Veterinary Science*, v. 131, p. 186-193, 2020.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. *Plantas Medicinais no Brasil: Nativas e exóticas*. Nova Odesa: Instituto Plantarum. 2002. 512p.

MANCIANTI, F.; EBANI, V. V. Biological Activity of Essential Oils. *Molecules*, v. 25, n. 3, p. 678-682, 2020.

MANION, C. R.; WIDDER, R. M. Essentials of essential oils. *American Journal of Health-System Pharmacy*, v. 74, n. 9. p. 153-162, 2017.

MARGATTO ROTTINI, M. et al. *Endlicheria bracteolata* (Meisn.) essential oil as a weapon against *Leishmania amazonensis*: In vitro assay. *Molecules*, v. 24, n. 14, p. 2525-2538, 2019.

MUJEEB, F.; BAJPAI, P.; PATHAK, N. Phytochemical Evaluation, Antimicrobial Activity, and Determination of Bioactive Components from Leaves of *Aegle marmelos*. *BioMed Research International*, v. 2014, p. 1-11, 2014.

NARDONI, S.; NAJAR, B.; FRONTE, B.; PISTELLI, L. In vitro activity of essential oils against *Saprolegnia parasitica*. *Molecules*, v. 24, n. 7, p. 1270, 2019.

NUNES, R. T.; SILVA, M. R. R.; ABRÃO, F. Y.; FERNANDES, O. F. L.; SÁ, F. A. S.; SOUZA L. K. H. Effects of the essential oil OF *Thymus vulgaris* L. Against *Cryptococcus neoformans*. *Journal of Tropical Pathology*, v. 45, n. 3, p. 273-284, 2016.

OJAH, E. O. Exploring essential oils as prospective therapy against the ravaging Coronavirus (SARS-CoV-2). *Iberoamerican Journal of Medicine*, v. 4, p. 322-330, 2020.

OLIVEIRA, L.; RUEGG, P. Treatments of clinical mastitis occurring in cows on 51 large dairy herds in Wisconsin. *Journal of Dairy Science*, v. 97, n. 9, p. 5426-5436, 2014.

OLIVEIRA, M.; BEXIGA, R.; NUNES, S. F.; VILELA, C. L. Invasive potential of biofilm-forming *Staphylococci* bovine subclinical mastitis isolates. *The Journal of Veterinary Science*, v. 12, n. 1, p. 95-97, 2011

OLIVER, S. P.; MURINDA, S. E. Antimicrobial resistance of mastitis pathogens. *Veterinary clinics*, v. 28, n. 2, p. 165-185, 2012.

OLIVER, S. P.; MURINDA, S. E.; JAYARAO, B. M. Impact of Antibiotic Use in Adult Dairy Cows on Antimicrobial Resistance of Veterinary and Human Pathogens: A Comprehensive Review. *Foodborne pathogens and disease*, v. 8, n. 3, p. 337-355, 2011.

PAULI, A. Antimicrobial properties of essential oil constituents. *International Journal of Aromatherapy*, v. 11, n. 3, p. 126-133, 2001.

PIKKEMAAT, M. G.; YASSIN, H.; FELS-KLERX, H. J.; BERENDSEN, B. J. A. Antibiotic Residues and Resistance in the Environment. The Netherlands: University in Wageningen, 2016, p. 10.

POWO Plants of the World Online (2024). Facilitated by the royal botanic Gardens, Kew. Published on the Internet Available at: <http://www.plantsoftheworldonline.org/> (Accessed date August 28, 2024).  
RAINARD, P. et al. Knowledge gaps and research priorities in *S. aureus* mastitis control. Transbound Emerging Diseases, v. 65, n. 1, p. 149-165, 2018.

REICHLING, J; SCHNITZLERB, P; SUSCHKEA, U; SALLER, R. Essential Oils of Aromatic Plants with Antibacterial, Antifungal, Antiviral, and Cytotoxic Properties – an Overview. Forsch Komplementmed, v. 16, n. 2, p. 79-90, 2009.

ROLLER, S.; SEEDHAR, P. Carvacrol and cinnamic acid inhibit microbial growth in fresh-cut melon and kiwifruit at 4 degrees and 8 degrees. Letters in applied microbiology, v. 35, n. 5, p. 390-394, 2002.

ROMERO, J.; BENAVIDES, E.; MEZA, C. Assessing financial impacts of subclinical mastitis on colombian dairy farms. Frontiers in veterinary science, v. 27, n. 5, p. 273-284, 2018.

RUEGG, P. L. Management of mastitis on organic and conventional dairy farms. Journal of animal science, v. 87, n. 13, p. 43-55, 2009.

SALGADO, A. P. S. P.; CARDOSO, M. C.; CASTRO, E. M.; MACHADO, S. M. F.; GUIMARÃES, L. G. L.; ANDRADE, M. A. PASSOS, L. O. Caracterização química e anatômica de folhas de tomilho provenientes de plantas submetidas a diferentes condições luminosas, Bioscience Journal, Uberlândia, v. 28, n. 6, p. 929-937, 2012.

SCALI, F. et al. Which are important targets in development of *S. aureus* mastitis vaccine? Research Veterinary Science, v.100, p.88-99, 2015

SCHMIDT, E. Production of essential oils. In: BAŞE, K. H.; BUCHBAUER, G. (Eds). Handbook of essential oils. Science, Technology, and Applications. Boca Raton, Fla.: CRC Press, 2010. p. 83–119.

SCHREINER, D.; RUEGG, P. Effects of tail docking on milk quality and cow cleanliness. Journal of dairy science, v. 85, n. 10, p. 2503-2511, 2002.

SELL, C. Chemistry of essential oils. In: BAŞER, K. H.; BUCHBAUER, G. (Eds). Handbook of essential oils. Science, technology, and applications. Boca Raton: CRC Press, 2010. p 121–150.

SHARIFI-RAD, M. et al. *Salvia spp.* plants-from farm to food applications and phytopharmacotherapy. Trends in Food Science & Technology, v. 80, p. 242-263, 2018.

SHARMA, N; SINGH, N.; BHADWAL, M. Relationship of somatic cell count and mastitis: An overview. Asian-Australas Journal Animal Science, v. 24, n. 3, p.429-438, 2011.

SILVA, J. K. R. et al. Essential Oils to Treat SARS-CoV-2 Infection: An *In-Silico* Investigation. International Journal of Molecular Sciences, v. 21, n. 10, p. 1-35, 2020.

SILVEIRA-FILHO, V. M. et al. Antibiotic Resistance and Molecular Analysis of *S. aureus* Isolated from Cow's Milk and Dairy Products in Northeast Brazil. Journal of food protection, v. 77, n. 4. p. 583-591, 2014.

STEVENS, M.; PIEPERS, S.; DE VliegHER, S. Mastitis prevention and control practices and mastitis treatment strategies associated with the consumption of (critically important) antimicrobials on dairy herds in Flanders, Belgium. Journal of dairy science, v. 99, n. 4, p. 2896-2903, 2016.

TSUCHIYA, H. Anesthetic Agents of Plant Origin: A Review of Phytochemicals with Anesthetic Activity. Molecules, v. 22, n. 8, p. 1-34, 2017.

URDANG, G. The origin and development of the essential oil industry. In: GUENTHER, E. The Essential Oils. New York: Jepson Press, 2017, p. 20-32.

VAKKAMÄKI, J.; TAPONEN, S.; HEIKKILÄ, A.M.; PYÖRÄLÄ, S. Bacteriological etiology and treatment of mastitis in Finnish dairy herds. Acta veterinaria Scandinavica, v. 59, n. 1, p. 33, 2017.

VALDIVIESO-UGARTE, M.; GOMEZ-LLORENTE, C.; PLAZA-DÍAZ, J.; GIL, Á. Antimicrobial, antioxidant, and immunomodulatory properties of essential oils: A systematic review. Nutrients, v. 11, n. 11, p. 2786-2815, 2019.

VASUDEVAN, P.; NAIR, M. K. M.; ANNAMALAI, T.; VENKITANARAYANAN, K. S. Phenotypic and genotypic characterization of bovine mastitis isolates of *S. aureus* for biofilm formation. Veterinary Microbiology, v. 92, n. 1-2, p. 179-185, 2003.

WILLING, B. P. et al. Bacterial resistance to antibiotic alternatives: a wolf in sheep's clothing? Animal Frontiers, v. 8, n. 2, p. 39-47, 2018.