
Atividade antimicrobiana do extrato de *Melaleuca leucadendra* (Myrtaceae) em bactérias causadoras da mastite bovina

Antimicrobial activity of *Melaleuca leucadendra* (Myrtaceae) extract on bacteria that cause bovine mastitis

Péricles Tavares Austregésilo FilhoORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7653-2693>

Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE, Brasil

E-mail: periclestaf@gmail.com

Mauriceia do Carmo TschaORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1606-1436>

Centro Universitário Facol – UNIFACOL, Brasil

E-mail: mchtscha@hotmail.com

Eulina Tereza Nery FariasORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1859-317X>

Centro Universitário Facol – UNIFACOL, Brasil

E-mail: etnfarias@yahoo.com.br

Gibson Gomes de OliveiraORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7784-9676>

Centro Universitário Facol – UNIFACOL, Brasil

E-mail: gibson-oliveira@hotmail.com

José Antônio de Sousa Pereira JuniorORCID: <https://orcid.org/0009-0001-6766-0631>

Centro Universitário Facol – UNIFACOL, Brasil

E-mail: spereirajr@gmail.com

Rinaldo Aparecido MotaORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2844-5509>

Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Brasil

E-mail: rinaldomota9@gmail.com

RESUMO

O presente trabalho realizou avaliação fitoquímica e antimicrobiana do extrato hidroalcoólico das folhas de *Melaleuca leucadendra* (Myrtaceae) em bactérias causadores da mastite bovina. Após identificação da planta foi realizado o preparo do extrato e submetido aos testes fitoquímicos e antibacterianos. A verificação da presença das classes metabólicas foi realizada por análise cromatográfica por técnicas tradicionais e para a verificação dos compostos por espectrometria de massas acoplada a eletrosplay HPLC-DAD-ESI(+)-MS/MS (micrOTOF-QII) (ESI-MS). Para avaliar a ação antibacteriana foram verificados a concentração inibitória (CIM) e a concentração bactericida mínima (MBC). Nos resultados verificou-se a presença de terpenos, flavonoides glicosilados, flavonoides aglicona, triterpenos, tanino e a espectrometria identificou 13 superclasses químicas com 88 compostos. O extrato apresentou atividade antimicrobiana contra as cepas de *Staphylococcus aureus* da mastite bovina demonstrando ser uma opção promissora no tratamento da doença.

Palavras-chave: Melaleuca; Mastite; Metabólitos; Antimicrobiano.

ABSTRACT

The present work carried out a phytochemical and antimicrobial evaluation of the hydroalcoholic extract of the leaves of *Melaleuca leucadendra* (Myrtaceae) in bacteria that cause bovine mastitis. After identifying the plant, the extract was prepared and submitted to phytochemical and antibacterial tests. The verification of the presence of metabolic classes was performed by chromatographic analysis using traditional techniques and for the verification of compounds by mass spectrometry coupled to electrospray HPLC-DAD-ESI(+)-MS/MS (microTOF-QII) (ESI-MS). To evaluate the antibacterial action, the inhibitory concentration (MIC) and the minimum bactericidal concentration (MBC) were verified. The results verified the presence of terpenes, glycosylated flavonoids, aglicone flavonoids, triterpenes, tannins and the spectrometry identified 13 chemical superclasses with 88 compounds. The extract showed antimicrobial activity against strains of *Staphylococcus aureus* from bovine mastitis, proving to be a promising option in the treatment of the disease.

Keywords: *Melaleuca*; Mastitis; Metabolites; Antimicrobial.

INTRODUÇÃO

A mastite bovina é uma inflamação da glândula mamária de vacas leiteiras causada principalmente por bactérias patogênicas além de outros agentes infecciosos como fungos, vírus e parasitas presentes no ambiente da vaca (ESSA *et al.*, 2023). A doença é a mais frequente que afeta a produção de leite e compromete sua qualidade (AUSTREGÉSILO-FILHO *et al.*, 2022), é contagiosa nos rebanhos e onera a produção e a indústria de laticínios (LOPES *et al.*, 2018).

A doença pode ser transmitida diretamente de animal para animal, principalmente durante a ordenha, e é causada por bactérias como *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* (ACOSTA *et al.*, 2016). Já a outra forma de transmissão é causada por microrganismos presentes no ambiente da vaca, como *Escherichia coli* e *Streptococcus uberis* (CALIMAN *et al.*, 2023).

Alta variação é observada na frequência dos patógenos da mastite entre os rebanhos e os locais. Estreptococos ambientais e coliformes as bactérias parecem ser os mais prevalentes causadores de mastite clínica, seguido por *Staphylococcus aureus*. As infecções por *S. aureus* são de difícil controle e costumam causar mastite subclínica, clínica e crônica (LI *et al.*, 2017). Esse patógeno tornou-se resistente a múltiplas drogas, facilitando a sua infiltração no sistema imunológico do hospedeiro (ASGHAR, 2014)

Possivelmente, a utilização descontrolada de antibióticos sem orientação do profissional veterinário pode ocasionar a seleção de microrganismos resistentes, gerando um entrave para o sistema de produção do leite. Dessa forma, é possível que esses agentes venham a ser responsáveis pelo desenvolvimento de mastites crônicas (ARCANJO *et al.*, 2017). Martin (2011) enuncia que os resíduos desses antibióticos podem provocar problemas de saúde tanto nos animais quanto nos seres humanos.

O tratamento convencional da mastite baseia-se no uso de antibióticos, porém, é crescente o interesse em alternativas terapêuticas como a fitoterapia, que pode ser utilizada como coadjuvante ou até mesmo substituir o uso de antibióticos.

Um estudo realizado por Nader *et al.* (2010) avaliou a eficácia da fitoterapia em vacas leiteiras com mastite. Os resultados indicaram que o tratamento foi capaz de reduzir a suscetibilidade da glândula mamária à infecção, além de algumas plantas apresentarem potencial antimicrobiano, anti-inflamatório e antioxidante.

Mendonça *et al.* (2021) também utilizaram a fitoterapia como tratamento da mastite bovina e Silveira *et al.* (2023) observaram que a utilização de extratos de plantas, apresentou atividade antimicrobiana, anti-inflamatória e antioxidante, contribuindo para a diminuição da incidência de mastite e melhoria da saúde do animal.

Hemaiswarya *et al.* (2008), Langeveld *et al.* (2014) e Magi *et al.* (2015) realizaram estudos relacionando a potencialidade dos compostos fitoquímicos e a possibilidade de reduzir o uso de antibióticos convencionais. Austregésilo-Filho *et al.* (2022b) enuncia que estudos sobre a eficácia de espécies do gênero *Melaleuca* (Myrtaceae) contra bactérias causadoras de mastite, têm se concentrado nos componentes químicos do óleo essencial.

Desta forma, o presente trabalho realizou a avaliação fitoquímica e atividade antimicrobiana do extrato bruto hidroalcoólico das folhas de *Melaleuca leucadendra* (Myrtaceae) frente a isolados causadores da Mastite Bovina.

MATERIAL E MÉTODOS

No campus da Universidade Federal Rural de Pernambuco/UFRPE, foram coletadas sete (7) amostras da planta em floração. Este material foi prensado e encaminhado ao Herbário Vasconcelos Sobrinho/UFRPE, para herborização. Duplicatas foram enviadas para outras Instituições de Pesquisa e confirmadas as identificações por especialistas, as exsiccatas foram acondicionadas no Herbário da UFRPE registradas com nº 56001 e nº 56002.

No que diz respeito a elaboração do extrato bruto hidroalcoólico da folha de *Melaleuca leucadendra*, o método de extração compreendeu na maceração e extração por solvente a frio. O extrato foi preparado a partir de folhas desidratadas em estufa de ar circulante (35-40°), após a desidratação o material foi pulverizado e acondicionado em extrator e adicionado volume de solvente hidroalcoólico a 70% suficiente para a homogeneização da mistura e completa imersão no solvente. A mistura foi mantida no extrator por um período de 72 horas, sendo posteriormente filtrada e submetida a um evaporador rotatório sob pressão reduzida, aquecido entre 30-45 °C, sob agitação, a 120 rotações por minuto (RPM).

A partir do extrato bruto, foram realizamos testes nos infusos para averiguar a existência de metabólitos secundários relevantes como: taninos (reação de cloreto férrico a 2%), flavonoides (teste de Shinoda), alcaloides (reação de Dragendorff e Mayer), terpenos e esteroides (reação de Liebermann-Buchard) e saponina pelo teste do índice de espuma. Foram

efetuadas análises cromatográficas utilizando placas de gel de sílica G. (Merck) com e sem impregnação de fluorescência sódica 0,02% (Sigma), além de papel Whatman 3MM. As fases móveis selecionadas foram baseadas nas classes de substâncias testadas, de acordo com as técnicas tradicionais (COSTA, 2001; MARKHAM, 1982; WAGNER e BLADT, 1996; HARBONE, 1988).

Para a determinação dos compostos presentes no extrato foi realizado procedimento por espectrometria de massas acoplada a eletrosplay HPLC-DAD-ESI(+)-MS/MS (microTOF-QII) (ESI-MS), segundo métodos utilizados por Moraes e Lago (2003) e Wu *et al.* (2020), permitindo a análise de uma ampla faixa de compostos da planta a partir dos intervalos de massa específicos e suas estruturas moleculares, o que garantiu alta seletividade, sensibilidade e conhecimento de sua composição química.

Na avaliação da sensibilidade ao extrato foram utilizados isolados da Bacterioteca do Laboratório de Doenças Infecciosas da Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, as amostras referência foram: *Escherichia coli* ATCC 25929, *Escherichia coli* ATCC 33456, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, além de 20 amostras de *Staphylococcus aureus* (identificação 1, 2, 3, 4, 13, 14, 15, 17, 23, 27, 50, 62, 63, 64, 75, 96, 119, 120, 125 e 195) coletados em diferentes animais com mastite bovina.

Para verificar a eficácia antibacteriana, utilizou-se o método de microdiluição em caldo, utilizando placas de microtitulação de 96 poços (K12-096, KASVI, CH), conforme descrito por Abu-Melha *et al.* (2019), seguindo as diretrizes do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2018). Nos testes da ação antibacteriana do extrato hidroalcoólico a concentração inibitória mínima (CIM) foi uma medida para determinar a menor quantidade do extrato necessária para inibir o crescimento das amostras e a concentração bactericida mínima (MBC) avaliou a eficácia na eliminação completa das bactérias seguindo os métodos propostos por Cos *et al.* (2006) e Thomas *et al.* (2015). As densidades ópticas foram medidas por espectrofotometria a 600 nm e uma curva de crescimento foi construída após medições em 0 h e 12 h.

RESULTADOS

O perfil dos compostos metabólitos do extrato da folha de *Melaleuca leucadendra* (Myrtaceae) mostrou a presença de terpenos, flavonoides glicosilados, flavonoides aglicona,

triterpenos e tanino, na mesma amostra não foram identificados saponina, alcaloides e cumarina (tabela 1).

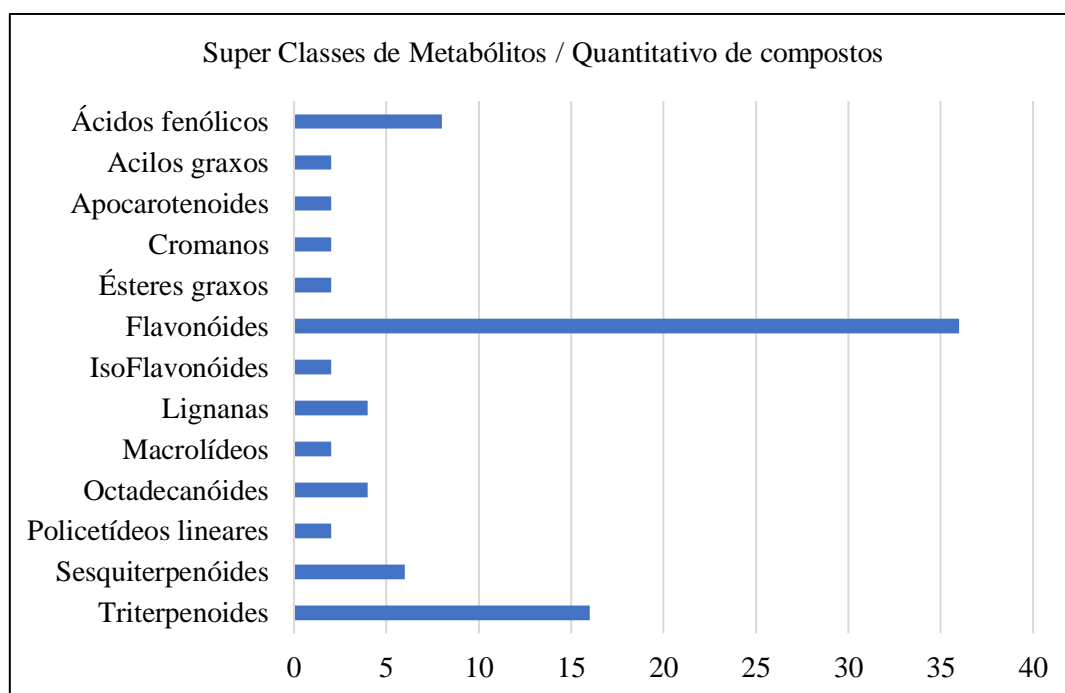
Tabela 1 - Relação dos compostos metabólitos secundários presentes no extrato da folha de *Melaleuca leucadendra* (Myrtaceae).

Classes de Metabólitos	
Saponina	-
Alcaloide	-
Cumarina	-
Terpenos	+
Flavonoides Glicosilados	+
Flavonoides Aglicona	+
Triterpenos	+
Tanino	+

- : ausência, + : presença
Fonte: Os autores (2023)

A análise da HPLC-DAD-ESI(+)-MS/MS (micrOTOF-QII) identificou nas anotações presentes 13 super classes químicas de metabólitos presente no extrato da folha de *Melaleuca leucadendra* (Myrtaceae). A figura 1 apresenta as respectivas abundâncias dessas moléculas. Essas classes são as mais abundantes dentre os compostos anotados na rede molecular tendo apresentado 88 compostos metabólitos.

Figura 1 – Super Classes dos metabólitos e os respectivos quantitativos de compostos do extrato da folha da *Melaleuca leucadendra* (Myrtaceae) identificados por HPLC-DAD-ESI(+)-MS/MS (micrOTOF-QII).



Fonte: os autores (2023)

Em relação às amostras de *Escherichia coli* (ATCC 25929 e ATCC 33456), foi observado que em nenhuma das concentrações testadas resultou em valores de MIC ou MBC, indicando que o extrato bruto da planta não apresentou atividade inibitória nem bactericida específica contra essas cepas. No entanto, as amostras de *Staphylococcus aureus*, foram obtidos resultados significativos, a amostra ATCC 25923 apresentou um MIC de 125 µg/ml e a MBC observada foi de 500 µg/ml. Por sua vez, a amostra ATCC 29213 demonstrou uma maior sensibilidade ao extrato bruto da planta com o MIC de 31,25 µg/ml. No entanto, a MBC foi igual em ambas as amostras (500 µg/ml) (Tabela 2)

Tabela 2 - Concentração inibitória mínima (MIC) e concentração bactericida mínima (MBC) do extrato da folha de *Melaleuca leucadendra* (Myrtaceae) contra isolados de *Escherichia coli* (ATCC 25929 e ATCC 33456) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923 e ATCC 29213).

Isolados	Microdiluição Extrato (µg/mL)									
	3,91	7,81	15,63	31,25	62,5	125	250	500	1000	2000
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25929	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Escherichia coli</i> ATCC 33456	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-

O valor do MIC é indicado pela linha preta vertical e o valor do MBC é indicado pelo símbolo negativo na área cinza. Fonte: os autores (2023).

Sobre as amostras de *Staphylococcus aureus*, as cepas 50, 96, 119, 125 e 195 não apresentaram atividade de concentração inibitória mínima, destacando-se a amostra 50 com resistência múltipla, já as amostras 96, 119, 125 e 195 obtiveram valores de MIC de 31,35; 62,5; 125; e 62,5 µg/ml, respectivamente. Sobre o restante das amostras, as 1 e 2 tiveram MICs de 3,91 e 7,81 µg/ml, as 4, 13, 14 e 17 com MICs acima de 15,63 µg/ml e as amostras 23, 62, 63, 64, 75 e 120 foram evidenciados MICs superiores a 31,25. Quanto as amostras com resultado de MBC, destacou-se a amostra 2 apresentando valor igual ao MIC de 3,91 µg/ml, as restantes ocorreram resultados que variaram de 31,25 a 1000 µg/ml (Tabela 3).

Tabela 3 - Concentração inibitória mínima (MIC) e concentração bactericida mínima (MBC) do extrato da folha de *Melaleuca leucadendra* (Myrtaceae) contra isolados de 29 amostras de *Staphylococcus aureus* (identificação 1, 2, 3, 4, 13, 14, 15, 17, 23, 27, 50, 62, 63, 64, 75, 96, 119, 120, 125 e 195) coletados em diferentes animais com mastite bovina.

ISOLADOS	Microdiluição Extrato (µg/mL)									
	3,91	7,81	15,63	31,25	62,5	125	250	500	1000	2000
<i>Staphylococcus aureus</i> 1	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> 3	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> 4	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> 13	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-

<i>Staphylococcus aureus</i> 14	+	+		+	+	+	+	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> 15	+	+		+	-	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> 17	+	+		+	+	+	+	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> 23	+	+		+	+	+	+	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> 27	+	+		+	-	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> 50	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i> 62	+	+		+	+	+	+	+	+	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> 63	+	+		+	+	+	+	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> 64	+	+		+	+	+	+	+	+	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> 75	+	+		+	+	+	+	+	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> 96	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i> 119	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i> 120	+	+		+	+	+	+	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> 125	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i> 195	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+

O valor do MIC é indicado pela linha preta vertical e o valor do MBC é indicado pelo símbolo negativo na área cinza. Fonte: os autores (2023)

DISCUSSÃO

A família Myrtaceae é reconhecida por suas propriedades medicinais e aromáticas, o gênero *Melaleuca* abriga espécies amplamente utilizadas na medicina tradicional. Seu perfil fitoquímico e antimicrobiano tem despertado grande interesse científico devido ao potencial terapêutico que essas plantas podem oferecer (CARSON *et al.*, 2006; HAMMER *et al.*, 1999; SCHNEIDER e KORBES, 2022).

A espécie *Melaleuca leucadendra* (Myrtaceae) possui vários metabólitos secundários, dentre eles: terpenos, flavonoides glicosilados, flavonoides aglicona, triterpenos e taninos entre outros. Esses compostos têm mostrado uma variedade de atividades biológicas, incluindo propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e antimicrobianas em vários estudos (SILVA *et al.*, 2020; SHAH *et al.* 2013, RINI *et al.* 2012).

Os metabólitos secundários encontrados nas folhas de *Melaleuca leucadendra* (Myrtaceae) têm sido associados a diversas atividades biológicas. Santos & Rodrigues, (2017) enunciam o potencial dos flavonoides como alternativa de atividade anti-inflamatória, antiviral, antitumoral, antioxidante e hormonal. Alves & Moreira, (2021), citam que esses compostos apresentam uma considerável atividade inibitória contra diversas cepas de bactérias causadoras de mastite bovina, incluindo *Staphylococcus aureus*. Em consequência Bustanmante *et al.* (2010) ao investigaram o potencial antimicrobiano e fitoquímico frente a bactérias Gran positivas, Gran negativas e fungos citando a presença de flavonoides como metabólito presente na amostra.

Além dos flavonoides os triterpenos são uma classe de compostos naturais também encontrados em *Melaleuca leucadendra* e têm sido relatados por suas diversas propriedades, incluindo atividade antimicrobiana. Silva *et al.* (2020b) destaca várias citações em sua revisão sobre os triterpenos e suas bioatividades como: anti-inflamatória antimicrobiana, antidiapogênica e antinoceptiva.

Os metabólitos ácidos fenólicos, e outros metabólitos secundários são compostos bioativos encontrados em plantas com propriedades antimicrobianas, antioxidantes e anti-inflamatórias.

De acordo com um estudo apresentado por Vizzoto *et al.* (2010), foi observado que os metabólitos ácidos fenólicos são eficazes contra bactérias e apresentam grande importância na proteção contra fatores bióticos e abióticos diversos.

Embora vários autores testem compostos naturais como alternativas aos antimicrobianos, ainda serão necessários mais estudos científicos relevantes. A maioria das pesquisas menciona esses compostos em apenas um estudo, com ensaios clínicos escassos ou com dados limitados de eficácia. Lopes *et al.* (2020) frisa que é necessário realizar mais estudos sobre os componentes principais metabólitos e seu impacto na mastite bovina.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A análise fitoquímica revelou a presença de vários metabólitos na planta *Melaleuca leucadendra* (Myrtaceae). Esses metabólitos incluem compostos fenólicos, terpenoides, flavonoides e outros compostos secundários. A identificação desses metabólitos é importante, pois eles podem estar relacionados às propriedades antimicrobianas da planta.

Os testes antimicrobianos realizados com o extrato das folhas de *Melaleuca leucadendra* (Myrtaceae) mostraram resultados promissores. O extrato demonstrou atividade contra os isolados causadores da mastite bovina. Isso indica que os metabólitos presentes na planta podem ter propriedades antimicrobianas eficazes contra esses patógenos.

A mastite bovina é uma doença comum e de grande impacto na indústria leiteira. O desenvolvimento de novas estratégias de tratamento e prevenção se torna essencial para reduzir as perdas econômicas e garantir a saúde do rebanho. Nesse contexto, o extrato das folhas de *Melaleuca leucadendra* (Myrtaceae) apresenta potencial como uma opção terapêutica para o controle da mastite bovina, devido à sua atividade antimicrobiana.

Apesar dos resultados encorajadores desta pesquisa, é importante ressaltar a necessidade de estudos adicionais para explorar completamente o potencial terapêutico da *Melaleuca leucadendra* (Myrtaceae) no tratamento da mastite bovina. Estudos futuros podem se concentrar na identificação e isolamento dos compostos ativos presentes no extrato, bem como na realização de ensaios de eficácia in vivo para avaliar a segurança e a eficácia do extrato em condições reais.

Esta pesquisa contribui para o campo da fitoterapia veterinária, fornecendo evidências científicas sobre as propriedades antimicrobianas da *Melaleuca leucadendra* (Myrtaceae) contra isolados causadores da mastite bovina. A incorporação de extratos vegetais na prática veterinária pode oferecer uma alternativa viável aos antibióticos convencionais, reduzindo o uso excessivo de antibióticos e a resistência antimicrobiana.

REFERÊNCIAS

ABU-MELHA, S.; EDREES, M. M.; SALEM, H. H.; KHEDER, N. A.; GOMHA, S. M.; ABDELAZIZ, M. R. Synthesis and biological evaluation of some novel thiazolebased heterocycles as potential anticancer and antimicrobial agents. **Molecules**, v. 24, n. 3, p. 1 -25, 2019.

ALVES, T. V.; MOREIRA, M. A. S. Fatores de risco para mastite bovina: tratamento convencional e ação de compostos extraídos de plantas. **UNICIÊNCIAS**. V. 25, n. 1, p. 20-25. 2021 DOI: 10.17921/1415-5141.2020v25n1p20-25. 2021.

ACOSTA, A. C.; SILVA, L. B. G. D.; MEDEIROS, E. S.; PINHEIRO-JUNIOR, J. W.; MOTA, R. A. Mastites em ruminantes no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 36(7), 565-573. 2016.

ASGHAR, A. H. Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from tertiary care hospitals. **Pak J Med Sci**, v. 30, n. 4, 2014.

ARCANJO, M.; HERBERT, A. OLIVEIRA, P. C. S.; MOREIRA, L. C. JAYME, C. G.; SOARES, N. A.; OLIVEIRA, A. R.; PEREIRA, A. K.; NOGUEIRA, M. A. R. Programa dos seis pontos de controle da mastite em rebanhos leiteiros. **Gl. Sci Technol**, Rio Verde, v.10, n. 01, p.78 – 88, jan/abr. 2017.

AUSTREGÉSILO-FILHO, P. T.; MOURA, G. J. B.; OLIVEIRA, G. G.; PEREIRA JR. J. A. S.; MOTA, R. A. M. Atividade antimicrobiana de *Melaleuca* spp. (Myrtaceae) frente a isolados bacterianos causadoras da mastite bovina: uma análise cienciométrica. **Conjecturas**, v. 22, n. 18, p. 1012-1024, 2022.

AUSTREGÉSILO-FILHO, P. T.; TSCHA, M. C.; FARIAS, E. T. N.; OLIVEIRA, G. G.; PEREIRA JR, J. A. S.; MOTA, R. A. Phytochemical investigation of hexanic extract of the *Melaleuca leucadendra* (L.) Myrtaceae. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v.8, n.8, p.59651-59658. 2022b

BUSTAMANTE, K. G. L.; LIMA, A. D. F.; SOARES, M. L.; FIUZA, T. S.; TRESVENZOL, L. M. F.; BARA, M. T. F. ; PIMENTA, F. C. ; PAULA, J. R. Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato etanólico bruto da casca da sucupira branca (*Pterodon emarginatus* Vogel) – Fabaceae. **Rev. bras. plantas med.** V.12, n. 3. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722010000300012>. 2010.

CALIMAN, M. F.; GASPAROTTO, P. H. G.; RIBEIRO, L. F. Principais impactos da mastite bovina: Revisão de literatura. **Getec**, V.12, n.37, p.91-102. 2023.

CARSON, C. F.; HAMMER, T. V.; RILEY, T. V. *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 28, n. 2, p. 607-625, 2006.

CLSI. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. **Clinical and Laboratory Standards Institute**, v. 29, n. 2, p. 112, 2018.

COS, P.; VIETINCK, A. J.; MAES, L.; BERGHE, D. V. Anti-infective potential of natural products: how to develop a stronger in vitro ‘proof-of-concept’. *J. Heterocycl. Chem.* v. 106, n. 3, p. 290-302, 2006.

COSTA, A. F. **Farmacognosia**. 3 ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001. v. 3.

ESSA, B.; AL-SHARIF, M.; ABDO, M.; FERICEAN, L.; ATEYA, A. New Insights on Nucleotide Sequence Variants and mRNA Levels of Candidate Genes Assessing Resistance/Susceptibility to Mastitis in Holstein and Montbéliarde Dairy Cows. **Journals Veterinary Sciences**. V. 10. Issue 1. 10.3390/vetsci10010035. 2023.

HAMMER, K.A.; CARSON, C. F.; RILEY, T. V.. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. **Journal of Applied Microbiology**, v. 86, n. 6, p. 985-990, doi: 10.1046/j.1365-2672.1999.00780.x. 1999.

HARBONE, J. B. **Textbook of phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis.** London: Chapman and Hall. p. 21-72. 1998.

HEMAISWARYA, S.; KRUTHIVENTI, A. K.; DOBLE, M. Synergism between natural products and antibiotics against infectious diseases. **Phytomedicine**, v. 15, p. 639–652, doi: 10.1016/j.phymed.2008.06.008. 2008.

LANGEVELD, W. T.; VELDHUIZEN, E. J. A.; BURT, S. A. Synergy between essential oil components and antibiotics: a review. **Crit. Rev. Microbiol.**, v. 40, p. 76–94, 2014.

LI, T.; LU, H.; WANG, X.; GAO, Q.; DAI, Y.; SHANG, J. Molecular Characteristics of *Staphylococcus aureus* causing bovine mastitis between 2014 and 2015. **Front. Cell. Infect. Microbiol.**, v. 7, 2017.

LOPES, T. S.; FONTOURA, P. S.; OLIVEIRA, F. A.; RIZZO, F. A.; SILVEIRA, S.; STRECK, A. F. Use of plant extracts and essential oils in the control of bovine mastitis, *Research in Veterinary Science*, V. 131. p. 186-193. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.04.025>. 2020.

LOPES, B. C.; MANZI, M. P.; LANGONI, H. Etiologia das mastites: pesquisa de micro-organismos da classe Mollicutes. **Vet. e Zootec.** 25(2): 173-179. jun.; 2018.

MAGI, G.; MARINI, E.; FACINELLI, B. Antimicrobial activity of essential oils and carvacrol, and synergy of carvacrol and erythromycin, against clinical, erythromycin-resistant Group A Streptococci. **Front. Microbiol.**, v. 6, 2015.

MARKHAM, K. R. Techniques of flavonoids identification. London, **Academic Press**. 1982.

MARTIN, J. G. P. Resíduos de antibióticos em leite – Uma revisão. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 18, n. 2, p. 80-87, 2011.

MENDONÇA, A. T.; CARVALHO, G. A.; INÁCIO, M. C. P; PEREIRA, M. A. Avaliação antimicrobiana da eficácia dos extratos hidroalcoólicos da pitangueira e da goiabeira, in vitro, contra *Staphylococcus aureus* isolados de mastite bovina. **Rev Augustus.** 27(54):59–77. 2021.

MORAES, M. C. B.; LAGO, C. L. Espectrometria de massas com ionização por “Electrosplay aplicada ao estudo de espécies inorgânicas e organometálicas. **Quim. Nova**, V. 26, n. 4, 556-563. 2003.

NADER, T. T.; COPPEDE, J. S.; AMARAL, L. A.; FACCHIN, A. L.; PEREIRA, A. M. S.; FERREIRA, L. M. Avaliação *in vitro* da eficácia de extratos de plantas medicinais do cerrado frente *Staphylococcus aureus* isolado de diferentes fontes de propriedades leiteira. **Arq. Inst. Biol.** 77 (3). 2010.

RINI, P.; OHTANI, Y.; ICHIURA, H. Antioxidant, anti-hyaluronidase and antifungal activities of *Melaleuca leucadendron* Linn. leaf oils. **Journal of wood science**, v. 58, n. 5, p. 429-436, 2012.

SANTOS, D. S.; RODRIGUES M. M. F. Atividades farmacológicas dos flavonoides: um estudo de revisão Macapá, **Estação Científica**. v. 7, n. 3, p. 29-35, set./dez. 2017.

SCHNEIDER, T. & KÖRBES, J. Efeitos terapêuticos do óleo de *Melaleuca*. **Reviva**. V. 1. N. 2. 2022.

SHAH, G.; CHAWLA, A.; BAGHEL, U. S.; RADHAR, S.; SINGH, P.S. Pharmacognostic standardization of leaves of *Melaleuca leucadendron*. **Pharmacognosy Journal**, v. 5, n. 4, p. 143-148, 2013.

SILVA, L. S. B.; PERASOLIA, F. B.; CARVALHO, K. V.; VIEIRA, K. M. V.; LOPES, M. T. P. L.; SOUZA, G. H. B. S.; SANTOS, O. D. H. S.; FREITAS, K. M. *Melaleuca leucadendron* (L.) L. flower extract exhibits antioxidant and photoprotective activities in human keratinocytes exposed to ultravioleta B radiation. *Free Radical Biology and Medicine*. doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.07.022 . 2020.

SILVA, F. C. O.; FERREIRA, M. K. A.; SILVA, A. W.; MATOS, M. G. C.; MAGALHÃES, F. E. A.; SILVA, P. T.; BANDEIRA, P. N.; MENEZES, J. E. S. A; SANTOS, H. S. Bioatividades de Triterpenos Isolados de Plantas: Uma Breve Revisão. *Rev. Virtual Quim*. V. 12, n. 1, 234-247. DOI: 10.21577/1984-6835.20200018. 2020b.

SILVEIRA, A. V. B. A.; BUENO, F. A. ZAIDEN, L.; VENTURA, G. F.; SOUZA, C. M.; STELLA, A. E. Sensibilidade de bactérias causadoras de mastite bovina a extratos de plantas nativas do cerrado. **Veterinária e Zootecnia**. V. 30. 2023.

THOMAS, V.; JONG, A.; MOYAERT, H.; SIMJEE, S.; GARCH, F. E.; MORRISSEY, I.; MARION, H.; VALLÉ, M. Antimicrobial susceptibility monitoring of mastitis pathogens isolated from acute cases of clinical mastitis in dairy cows across Europe: VetPath results. **Int. J. Antimicrob. Agents**, v. 46, n. 1, p. 13-20, 2015.

VIZOTTO, M.; KROLOW A. C.; WEBER, G. E. B. **Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 16 p. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 316). 2010.

WU. L.; WU, W., CAI, Y.; LI, C.; WANG, L. HPLC fingerprinting-based multivariate analysis of phenolic compounds in mango leaves varieties: Correlation to their antioxidant activity and in silico α -glucosidase inhibitory ability, **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, V. 191, doi.org/10.1016/j.jpba. 2020.

WAGNER, H., BLADT, S. *Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas*. New York, **Springer**. 1996.