

UNIVERSIDADE PAENSE – UNIPAR  
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* E PESQUISA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL COM ÊNFASE EM  
PRODUTOS BIOATIVOS

HALISON MURILO DA SILVA OLIVEIRA

**POTENCIAL ANTIBACTERIANO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Cymbopogon winterianus* E *Tetradenia riparia* FRENTE A ISOLADOS DE *Staphylococcus* spp. OXACILINA-RESISTENTES E COM PRESENÇA DO GENE *mecA* DE INTERESSE EM BOVINOCULTURA DE LEITE**

Umuarama  
2026

HALISON MURILO DA SILVA OLIVEIRA

**POTENCIAL ANTIBACTERIANO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Cymbopogon winterianus* E *Tetradenia riparia* FRENTE A ISOLADOS DE *Staphylococcus* spp. OXACILINA-RESISTENTES E COM PRESENÇA DO GENE *mecA* DE INTERESSE EM BOVINOCULTURA DE LEITE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos da Universidade Paranaense como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal com área de concentração em Saúde Única.

Orientação: Dra. Daniela Dib Gonçalves

Umuarama  
2026

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da  
Universidade Paranaense.**

Ficha Catalográfica

O48p Oliveira, Halison Murilo da Silva.  
Potencial antibacteriano dos óleos essenciais de  
*Cymbopogon winterianus* e *Tetradenia riparia* frente a isolados  
de *Staphylococcus* spp. oxacilina-resistentes e com presença do  
gene *mecA* de interesse em bovinocultura de leite / Halison  
Murilo Silva Oliveira. – Umuarama : Universidade Paranaense –  
UNIPAR, 2026.  
101 f.

Orientadora: Dr<sup>a</sup>. Daniela Dib Gonçalves.  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Paranaense –  
UNIPAR.

1. Citronela. 2. Fitoterapia. 3. Mastite. 4. Mirra. 5.  
Resistência bacteriana. 6. Saúde animal. I. Universidade  
Paranaense – UNIPAR. II. Título.  
(21 ed.) CDD: 584.92

Bibliotecária Responsável Regiane Luiza Campaneli CRB 9/2194

O presente trabalho foi realizado no Laboratórios de, Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Pública do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos da Universidade Paranaense, como requisito para a obtenção do título de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos – Área de Concentração Saúde Única, sob orientação da Dra. Daniela Dib Gonçalves

**POTENCIAL ANTIBACTERIANO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Cymbopogon winterianus* E *Tetradenia riparia* FRENTE A ISOLADOS DE *Staphylococcus* spp. OXACILINA-RESISTENTES E COM PRESENÇA DO GENE *mecA* DE INTERESSE EM BOVINOCULTURA DE LEITE**

Os recursos financeiros para o desenvolvimento do projeto foram obtidos junto às agências e órgãos de fomento à pesquisa abaixo relacionadas:

1 UNIPAR: Universidade Paranaense.

2 CNPq: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

HALISON MURILO DA SILVA OLIVEIRA

**POTENCIAL ANTIBACTERIANO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Cymbopogon winterianus* E *Tetradenia riparia* FRENTE A ISOLADOS DE *Staphylococcus* spp. OXACILINA-RESISTENTES E COM PRESENÇA DO GENE *mecA* DE INTERESSE EM BOVINOCULTURA DE LEITE**

Trabalho de conclusão do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos aprovado como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos pela Universidade Paranaense – UNIPAR, pela seguinte banca examinadora:

---

Dra. Daniela Dib Gonçalves

Doutora em Ciência Animal – Universidade Estadual de Londrina - UEL  
Docente da Universidade Paranaense - UNIPAR (orientadora)

---

Dra. Lorryne de Souza Araújo Martins Motta

Doutora em Medicina Veterinária Preventiva – Universidade Estadual Paulista - UNESP  
Docente na Universidade Estadual de Maringá - UEM

---

Dra. Zilda Cristiani Gazim

Doutora em Ciências Farmacêuticas – Universidade Estadual de Maringá - UEM  
Docente da Universidade Paranaense - UNIPAR

Umuarama, 23 de Fevereiro de 2026.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, expresso minha mais profunda gratidão à minha orientadora, Professora Doutora Daniela Dib, por sua dedicação, paciência e por compartilhar comigo seu vasto conhecimento ao longo desta jornada. Sua orientação firme, porém sempre acolhedora, foi essencial para o desenvolvimento deste trabalho e para o meu crescimento acadêmico e pessoal. Agradeço por acreditar no meu potencial e por me inspirar a buscar sempre a excelência em tudo o que faço.

Aos meus amados pais, Antônio Carlos de Oliveira, e Bartira Moreira da Silva Oliveira, deixo meu mais sincero agradecimento. Foram vocês que me ensinaram o valor do esforço, da honestidade e da perseverança. Cada conquista desta caminhada é, antes de tudo, um reflexo do amor, das renúncias e do exemplo que vocês me deram ao longo da vida.

Aos meus irmãos, Hugo Renan da Silva Oliveira e Giovanne Moreira da Silva Oliveira, agradeço pelo companheirismo e pela força que sempre me transmitiram, mesmo nos momentos mais desafiadores. O carinho e o apoio de vocês foram fundamentais para que eu seguisse firme e determinado na realização deste sonho.

Às minhas queridas tias, Mirian Joyce Moreira da Silva, Rita da Silva e Vera Lúcia da Silva, agradeço a presença constante, pelos conselhos, pelas palavras de incentivo e por sempre acreditarem em mim. Cada gesto de carinho e cada demonstração de apoio fizeram toda a diferença ao longo desta caminhada.

Aos meus avós, Martinho Antônio da Silva e Neuza Luzia da Silva (in memoriam), dedico um agradecimento especial. Do meu avô herdei a força e a sabedoria, e da minha saudosa avó, o amor e a fé inabalável.

À minha grande amiga Maria Damaris Ribeiro Cavalcante, deixo um agradecimento cheio de afeto. Sua presença diária durante o mestrado foi um alicerce de apoio e motivação. Compartilhar risadas, desafios e conquistas com você tornou essa jornada muito mais leve e significativa.

Às minhas amigas de trabalho, Isabela Carvalho dos Santos, Vera Lúcia da Silva Santana, Adrielly Dissenha agradeço pelo companheirismo, pelas palavras de incentivo e pela compreensão nos momentos em que precisei. A amizade e o apoio de vocês foram fundamentais para que eu não desistisse.

Agradeço a todas as pessoas que, de alguma forma, fizeram parte desta trajetória. Cada palavra de apoio, cada gesto de carinho e cada contribuição, por menor que tenha parecido,

deixaram marcas profundas e ajudaram a construir este sonho. A todos, meu sincero reconhecimento e eterna gratidão.

Por fim, agradeço a Deus, fonte de toda sabedoria e força. Foi Ele quem me sustentou nos momentos de incerteza, me deu serenidade nas dificuldades e iluminou meu caminho em cada etapa desta jornada. Sem a Sua presença constante, nada disso teria sido possível. A Ele entrego toda honra, glória e gratidão por tornar real este grande sonho.

*“São as nossas escolhas que mostram o que realmente somos, muito mais do que as nossas habilidades”. (Alvo Dumbledore, Harry Potter e a Câmara Secreta, 1998).*

OLIVEIRA, Halison Murilo da Silva. **Potencial antibacteriano dos óleos essenciais de *Cymbopogon winterianus* e *Tetradenia riparia* frente a isolados de *Staphylococcus* spp. oxacilina-resistentes e com presença do gene *mecA* de Interesse em Bovinocultura de Leite.** Orientador: GONÇALVES, Daniela Dib. 2026, 96 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal com Ênfase em Produtos Bioativos) - Universidade Paranaense, Umuarama, 2026.

## RESUMO

A mastite bovina é uma importante enfermidade da pecuária leiteira, com elevados impactos econômicos e crescente preocupação devido à resistência antimicrobiana, impulsionando a investigação de óleos essenciais de plantas medicinais como alternativas naturais aos antibióticos convencionais. O objetivo deste estudo foi avaliar a ação antibacteriana dos óleos essenciais *Tetradenia riparia* (mirra) e *Cymbopogon winterianus* (citronela) e frente a isolados oxacilina resistentes de *Staphylococcus* spp. e com presença do gene *mecA* obtidos de amostras de leite, mão de ordenhador e equipamentos de ordenha provenientes de propriedades com infecção mastítica no rebanho bovino. Foram avaliados dez isolados bacterianos, previamente identificados como *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* coagulase positiva não aureus e *Staphylococcus* coagulase negativa, provenientes de leite mastítico, mãos de ordenhadores e equipamentos de ordenha de pequenas propriedades leiteiras do Noroeste do Paraná, além de cepas padrão utilizadas como controle. Os óleos essenciais foram obtidos por hidrodestilação em aparelho de Clevenger, utilizando folhas de *Cymbopogon winterianus* e folhas e botões florais de *Tetradenia riparia*, sua composição química foi determinada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) sendo realizado posteriormente a microdiluição em caldo para ver a eficácia dos óleos. O óleo de *Cymbopogon winterianus* apresentou atividade antimicrobiana, com CIM entre 0,3 e 0,6 mg/mL, CIM<sub>50%</sub> de 0,51 mg/mL e CIM<sub>90%</sub> de 0,56 mg/mL, evidenciando elevado potencial frente a estafilococos resistentes. O óleo de *Tetradenia riparia*, folha, apresentou CIM de 0,15 a 2,5 mg/mL, CIM<sub>50%</sub> de 0,3 mg/mL e CIM<sub>90%</sub> de 2,08 mg/mL, enquanto o botão floral mostrou CIM de 0,07 a 5 mg/mL, CIM<sub>50%</sub> de 0,12 mg/mL e CIM<sub>90%</sub> de 0,6 mg/mL, sendo a parte mais ativa da planta, Foram identificadas como principais compostos no óleo essencial de *C. winterianus*, citronelal, citronelol e geraniol, com reconhecida ação antimicrobiana, enquanto na *T. riparia*, tanto nos botões florais quanto nas folhas, foram identificados principalmente a fenchona e  $\alpha$ -cadinol que também possuem ação antimicrobiana. Os resultados obtidos evidenciaram que os óleos essenciais testados, no caso o botão floral da *Tetradenia riparia* foi mais ativo (0,07 – 5 mg/mL) apresentando um expressivo potencial como alternativa natural no controle de bactérias causadoras de mastite bovina, frente a isolados de *Staphylococcus* resistentes à oxacilina, um dos maiores desafios da saúde animal. Essa resistência compromete a eficácia dos antimicrobianos convencionais e intensifica a preocupação com a disseminação de cepas multirresistentes na bovinocultura leiteira. O óleo essencial de *C. winterianus* destaca-se como alternativa antimicrobiana natural promissora, podendo ser utilizado no pré-dipping, associado a antibióticos ou em formulações fitoterápicas tópicas, contribuindo para uma produção leiteira mais sustentável e segura. Além disso, considerando que os isolados avaliados são resistentes à oxacilina e portadores do gene *mecA*, os resultados obtidos reforçam ainda mais a relevância do uso desses óleos essenciais, uma vez que esse gene está associado à resistência aos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos e representa um importante desafio no tratamento da mastite bovina. Dessa forma, a atividade

antimicrobiana demonstrada pelos óleos essenciais frente a esses microrganismos evidencia seu potencial como alternativa ou adjuvante aos tratamentos convencionais, contribuindo para o enfrentamento da resistência antimicrobiana e para o desenvolvimento de estratégias mais eficazes no controle de *Staphylococcus spp.* na bovinocultura leiteira.

**Palavras-chave:** Citronela; Fitoterapia; Mastite; Mirra; Resistência Bacteriana; Saúde Animal.

OLIVEIRA, Halison Murilo da Silva. **Antibacterial potential of essential oils from *Cymbopogon winterianus* and *Tetradenia riparia* against oxacillin-resistant e com presença do gene *mecA* *Staphylococcus* spp. Isolates.** Advisor: GONÇALVES, Daniela Dib. 2026, 96 p. Dissertation (Master's degree in Animal Science with Emphasis on Bioactive Products) - Universidade Paranaense, Umuarama, 2026.

## ABSTRACT

Bovine mastitis is a major disease in dairy farming, causing significant economic losses and raising concerns due to increasing antimicrobial resistance, which has driven the search for plant-derived essential oils as natural alternatives to conventional antibiotics. This study aimed to evaluate the antibacterial activity of essential oils from *Tetradenia riparia* (myrrh) and *Cymbopogon winterianus* (citronella) against oxacillin-resistant *Staphylococcus* spp. isolates carrying the *mecA* gene, obtained from milk samples, milkers' hands, and milking equipment from dairy farms with mastitis occurrence. Ten bacterial isolates were analyzed, previously identified as *Staphylococcus aureus*, coagulase-positive non-*aureus* *Staphylococcus*, and coagulase-negative *Staphylococcus*, along with standard strains used as controls. Essential oils were extracted by hydrodistillation using a Clevenger apparatus, and their chemical composition was determined by gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS). Antimicrobial activity was assessed using the broth microdilution method. The essential oil of *C. winterianus* showed antimicrobial activity with minimum inhibitory concentration (MIC) values ranging from 0.3 to 0.6 mg/mL, MIC<sub>50%</sub> of 0.51 mg/mL, and MIC<sub>90%</sub> of 0.56 mg/mL, demonstrating strong activity against resistant staphylococci. The essential oil of *T. riparia* leaves presented MIC values from 0.15 to 2.5 mg/mL (MIC<sub>50%</sub> 0.3 mg/mL; MIC<sub>90%</sub> 2.08 mg/mL), while the floral buds exhibited MIC values ranging from 0.07 to 5 mg/mL (MIC<sub>50%</sub> 0.12 mg/mL; MIC<sub>90%</sub> 0.6 mg/mL), indicating that floral buds were the most active plant part. The major compounds identified in *C. winterianus* oil were citronellal, citronellol, and geraniol, whereas *T. riparia* oils were mainly composed of fenchone and  $\alpha$ -cadinol, all known for their antimicrobial properties. The results demonstrate that the tested essential oils, particularly the floral buds of *T. riparia*, exhibit significant antimicrobial potential against oxacillin-resistant *Staphylococcus* spp., representing a promising natural alternative for controlling bovine mastitis pathogens. The presence of the *mecA* gene highlights the challenge of  $\beta$ -lactam resistance, reinforcing the relevance of these findings. Therefore, these essential oils may be used as alternative or adjunct therapies, including applications in pre-dipping or topical phytotherapeutic formulations, contributing to more sustainable and effective strategies for mastitis control in dairy herds.

**Keywords:** Citronella; Phytotherapy; Mastitis; Myrrh; Bacterial Resistance; Animal Health.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### Revisão de literatura - RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA: DESAFIOS TERAPÊUTICOS FRENTE A INFECÇÃO MASTÍTICA

**Figura 1:** *Cymbopogon winterianus* (Citronela)..... 28

**Figura 2:** *Tetradenia riparia* (Mirra)..... 30

### Artigo - ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Cymbopogon winterianus* e *Tetradenia riparia* SOBRE ISOLADOS DE *Staphylococcus* OXACILINA-RESISTENTES E COM PRESENÇA DO GENE *mecA* ISOLADOS DE INTERESSE EM BOVINOCULTURA DE LEITE.

**Figura 1:** Determinação da concentração inibitória mínima do óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* utilizando a técnica de microdiluição em caldo e revelação pelo corante tetrazólio..... 64

**Figura 2:** Determinação da concentração inibitória mínima do óleo essencial de *Tetradenia riparia* (mirra – botão floral) utilizando a técnica de microdiluição em caldo e revelação pelo corante tetrazólio..... 65

**Figura 3:** Determinação da concentração inibitória mínima do óleo essencial de *Tetradenia riparia* (mirra – folhas) utilizando a técnica de microdiluição em caldo e revelação pelo corante tetrazólio..... 66

**Figura 4:** Ensaio controle de microdiluição utilizando isolados provenientes de leite mastítico, mãos de ordenhadores e equipamentos de ordenha de pequenas propriedades leiteiras não tecnificadas da região Noroeste do Paraná. utilizando a técnica de microdiluição em caldo e revelação pelo corante tetrazólio..... 67

## LISTA DE TABELAS

### Revisão de Literatura - RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA: DESAFIOS TERAPÊUTICOS FRENTE A INFECÇÃO MASTÍTICA

**Tabela 1** - Estudos científicos sobre alinhado ao uso de produtos bioativos no tratamento da mastite bovina..... 24

### Artigo - ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Cymbopogon winterianus* e *Tetradenia riparia* SOBRE ISOLADOS DE *Staphylococcus* OXACILINA-RESISTENTES E COM PRESENÇA DO GENE *mecA* ISOLADOS DE INTERESSE EM BOVINOCULTURA DE LEITE.

**Tabela 1.** Composição química e porcentagem relativa (%) do óleo essencial das folhas de *Tetradenia riparia* (Mirra) e botão floral *Tetradenia riparia* (Mirra)..... 61

**Tabela 2.** Composição química e porcentagem relativa (%) do óleo essencial das folhas de *Cymbopogon winterianus*..... 62

**Tabela 3** - Atividade inibitória do Óleo Essencial de *Cymbopogon winterianus* (Citronela) e *Tetradenia riparia* (Folha e Botão Floral), frente a isolados de *Staphylococcus* spp. oriundas de amostras de mão de ordenhador, leite mastítico e o insuflador de ordenhadeira de cinco pequenas propriedades leiteiras, não tecnificadas da região Noroeste do estado do Paraná..... 63

**Tabela 4:** Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM<sub>50%</sub> e CIM<sub>90%</sub>) de óleos essenciais de *Cymbopogon winterianus* (citronela) e *Tetradenia riparia* (mirra) Folha e Botão floral..... 64

## LISTA DE SIGLAS

CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CCS	Contagem de Células Somáticas
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CIM <sub>50%</sub>	Concentração Inibitória Mínima capaz de inibir 50% dos isolados testados
CIM <sub>90%</sub>	Concentração Inibitória Mínima capaz de inibir 90% dos isolados testados
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
ESBL	$\beta$ -lactamases de Espectro Estendido
mecA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à metilina
OE	Óleo Essencial
RAM	Resistência Antimicrobiana
TTC	Trifeniltetrazólio (corante de viabilidade)
UFC/mL	Unidades Formadoras de Colônias por mililitro
UNIPAR	Universidade Paranaense

## LISTA DE SÍMBOLOS

US\$	Dólar Americano
°	Grau
°C	Graus Celsius
h	Hora
L	Litro
M	Metro
µg/mL	Micrograma por mililitro
µL	Microlitro
mg	Miligrama
mL	Mililitro
mg/mL	Miligrama por mililitro
%	Porcentagem
Kg	Quilograma
×	Sinal de multiplicação
UFC/mL	Unidades Formadoras de Colônias por mililitro

## SUMÁRIO

1	<b>CAPÍTULO 1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>15</b>
1.1	<b>Introdução .....</b>	<b>16</b>
1.2	<b>Revisão da Literatura .....</b>	<b>17</b>
1.2.1	Mastite.....	17
1.2.2	Principais Agentes Etiológicos da Mastite Contagiosa e Ambiental.....	18
1.2.3	Resistência Antimicrobiana na Mastite.....	19
1.2.4	Uso de Óleos Essenciais e Produtos Bioativos no Controle da Mastite Bovina.....	22
1.2.5	<i>Cymbopogon winterianus</i> .....	27
1.2.6	<i>Tetradenia riparia</i> .....	28
1.2.7	Considerações Finais.....	30
1.3	<b>Referências .....</b>	<b>31</b>
1.4	<b>Objetivo .....</b>	<b>38</b>
	<b>CAPÍTULO 2 .....</b>	<b>39</b>
2	<b>ARTIGO - ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE <i>Cymbopogon winterianus</i> e <i>Tetradenia riparia</i> SOBRE ISOLADOS DE <i>Staphylococcus</i> OXACILINA-RESISTENTES E COM PRESENÇA DO GENE <i>mecA</i> ISOLADOS DE MASTITE BOVINA.....</b>	<b>40</b>
	RESUMO.....	41
	ABSTRACT.....	42
2.1	<b>Introdução .....</b>	<b>43</b>
2.2	<b>Material e Métodos .....</b>	<b>45</b>
2.2.1	Origem das amostras.....	45
2.2.2	Coleta e extração do óleo essencial de <i>Cymbopogon winterianus</i> e <i>Tetradenia riparia</i> .....	46

2.2.3	Identificação química dos óleos essenciais de <i>Cymbopogon winterianus</i> e <i>Tetradenia riparia</i> .....	46
2.2.4	Ensaio da atividade antibacteriana - <i>Cymbopogon winterianus</i> e <i>Tetradenia riparia</i> .....	47
2.3	<b>Resultados</b> .....	<b>48</b>
2.4	<b>Discussão</b> .....	<b>50</b>
2.5	<b>Conclusão</b> .....	<b>55</b>
2.6	<b>Referências</b> .....	<b>56</b>
<b>3</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>68</b>
<b>4</b>	<b>APENDICE</b> .....	<b>69</b>
	APENDICE A – Cartilha Como Identificar os Primeiros Sinais de Mastite no Rebanho.....	70
<b>5</b>	<b>ANEXOS</b> .....	<b>81</b>
	ANEXO 1 - Revisão de Literatura - Normas da Revista de Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR.....	82
	ANEXO 2 – Artigo Científico - Normas da Revista de Research in Veterinary Science.....	89
	ANEXO 3 - Registro no Herbário do Centro Nacional de Recursos Genéticos (CENARGEM) – <i>Cymbopogon winterianus</i> .....	90
	ANEXO 4 - Registro no Herbário do Centro Nacional de Recursos Genéticos (CENARGEM) – <i>Tetradenia riparia</i> .....	91
	ANEXO 5 - Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos (CEPEH). 92	
	ANEXO 6 - Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Experimentação Animal (CEPEEA) .....	96

## **CAPÍTULO 1**

### **REVISÃO DA LITERATURA**

## RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA: DESAFIOS TERAPÊUTICOS FRENTE A INFECÇÃO MASTÍTICA

### 1.1 Introdução

A produção leiteira desempenha papel relevante na economia brasileira e em 2024, a produção total de leite no Brasil foi estimada em 36 bilhões de litros, com 25,379 bilhões de litros provenientes de leite inspecionado (EMBRAPA, 2025). No entanto, a mastite bovina, inflamação da glândula mamária geralmente causada por bactérias, representa um dos principais entraves à produtividade e qualidade do leite. Esta enfermidade pode ser clínica, com sinais evidentes como alterações no leite, ou subclínica, sem sintomas visíveis (EMBRAPA, 2013).

A mastite continua a ser uma das enfermidades de maior impacto econômico na pecuária leiteira, representando um ônus substancial para sistemas de produção em nível mundial. Estimativas apontam que as perdas econômicas associadas à mastite ultrapassem os bilhões de dólares anualmente, considerando reduções na produção de leite, descarte de leite contaminado e custos de tratamento e reposição de animais (Halasa et al., 2007; Hogeveen et al., 2011). No Brasil, estudos epidemiológicos indicam que uma alta proporção de rebanhos leiteiros apresenta contagem de células somáticas (CCS) elevada — frequentemente acima dos limites recomendados — refletindo a alta prevalência de mastite subclínica e sua associação com perdas produtivas (Leite-Ribeiro et al., 2021). Além disso, vacas afetadas por mastite exibem reduções significativas na produção diária de leite, o que pode comprometer de forma substancial a rentabilidade do sistema produtivo quando comparadas a animais não acometidos. Além da redução no volume, ela compromete a qualidade, elevando a contagem de células somáticas e levando ao descarte do leite (Souza *et al.*, 2020).

Outro desafio é a resistência antimicrobiana (RAM), agravada pelo uso indiscriminado de antibióticos na pecuária leiteira afim de tratar e/ou controlar a infecção mastítica (Guardabassi *et al.*, 2004). O tratamento da mastite bovina ainda é baseado no uso de antibióticos, sendo os betalactâmicos (como penicilinas e cefalosporinas) e os aminoglicosídeos os mais empregados na prática clínica (Souza *et al.*, 2024; Muloi *et al.*, 2025). Além disso, levantamentos recentes em pequenas propriedades leiteiras no noroeste do estado do Paraná no Brasil evidenciaram alta frequência de bactérias multirresistentes, incluindo cepas produtoras de  $\beta$ -lactamases de espectro estendido (ESBL) e presença do gene *mecA* em *Staphylococcus* spp., com 36,2% dos isolados classificados como multirresistentes (Fazoli *et al.*, 2023).

No contexto internacional, em um estudo onde foi apontado que até 90% dos médicos veterinários tratam mastite apenas com base nos sinais clínicos, recorrendo principalmente a penicilinas, estreptomicina, gentamicina e enrofloxacina, o que reforça a prevalência elevada da doença e o risco de seleção de resistência (Muloi *et al.*, 2025). Esses achados demonstram que, embora antibióticos sejam ferramentas fundamentais no controle da mastite, a prevalência de isolados resistentes é alta, destacando a necessidade de protocolos terapêuticos mais criteriosos e de medidas de prevenção para reduzir a dependência antimicrobiana. Nesse contexto, os óleos essenciais vêm ganhando destaque por suas propriedades antimicrobianas, anti-inflamatórias e calmantes. Estudos apontam sua eficácia frente a cepas bacterianas resistentes, como *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* (Pacheco *et al.*, 2024).

Deste modo, a fitoterapia surge como alternativa promissora na medicina veterinária, oferecendo terapêuticas complementares que reduzem impactos ambientais e promovem a saúde e bem-estar animal (Mendes; Ferreira, 2024).

## **1.2 Revisão da Literatura**

### **1.2.1 Mastite**

A mastite é um processo inflamatório da glândula mamária que causa um dos maiores impactos econômicos na indústria leiteira global, contribuindo significativamente para perdas por redução de produção de leite, aumento de custos de tratamento, descarte de leite e descarte de animais do rebanho. Estudos recentes estimam que as perdas totais associadas a mastite clínica e subclínica, chegam a aproximadamente US\$ 65 bilhões por ano em escala mundial (Rasmussen *et al.*, 2024). A doença é causada por uma variedade de microrganismos. Entre elas, o gênero *Staphylococcus* é um dos principais agentes etiológicos (Silva *et al.*, 2017), entretanto pode ser originada também por outros microrganismos como bactérias, fungos e algas (Carvalho *et al.*, 2017).

A doença é classificada em mastite clínica, com sinais inflamatórios visíveis no úbere e no leite, e mastite subclínica, que não apresenta sintomas óbvios (Alves *et al.*, 2021). A mastite subclínica é de maior importância epidemiológica, sendo responsável por 90% a 95% das ocorrências em rebanhos bovinos leiteiros, e se dissemina silenciosamente (Alves *et al.*, 2021).

No cenário mundial, estima-se que a mastite acometa milhões de vacas leiteiras anualmente, gerando expressivos prejuízos econômicos para o setor. Avaliações recentes indicam que as perdas globais relacionadas à doença podem ultrapassar US\$ 30 bilhões por

ano, principalmente em decorrência da redução da produção leiteira, descarte de leite contaminado, custos com tratamento e substituição de animais (FORBES, 2025).

Além disso, análises econômicas globais apontam a mastite clínica e subclínica entre as enfermidades de maior impacto financeiro na pecuária leiteira, contribuindo significativamente para os elevados custos associados às doenças de bovinos leiteiros em diferentes regiões do mundo (RASMUSSEN *et al.*, 2024). Diante desse cenário, programas internacionais têm priorizado estratégias preventivas, diagnóstico precoce e melhorias no manejo sanitário como medidas fundamentais para reduzir a incidência da enfermidade e promover maior sustentabilidade na produção leiteira (STANEK; ŻÓLKIEWSKI; JANUŚ, 2024).

No estado do Paraná, a mastite bovina apresenta elevada prevalência tanto na forma clínica quanto subclínica. Em rebanhos da região centro-oriental, foram observadas taxas de 53,29% de mastite clínica e 38,77% de subclínica em 12.714 amostras analisadas (Munhoz, 2023). Já em propriedades da agricultura familiar em Realeza, a prevalência foi menor, com 3,27% de mastite clínica e 25,82% de subclínica (Pontes *et al.*, 2023). Esses dados demonstram que, apesar das variações regionais, a mastite permanece um importante desafio sanitário e econômico para a bovinocultura leiteira paranaense.

Um estudo em Altônia, no Paraná, encontrou uma prevalência de 21,8% de mastite subclínica (Oliveira *et al.*, 2013). Além disso, a presença de bactérias multirresistentes em gado de leite em Iporã levanta um alerta sobre a importância do uso responsável de antimicrobianos (Pozza *et al.*, 2021).

O desenvolvimento da mastite depende da interação entre o agente patogênico, o ambiente e a resistência do animal (Kurosawa *et al.*, 2020). A doença altera a composição do leite, elevando as proteínas séricas e reduzindo a caseína, a lactose e a gordura. A mastite subclínica, em particular, aumenta a permeabilidade vascular e eleva a Contagem de Células Somáticas (CCS) (Della Libera *et al.*, 2011; Alves *et al.*, 2021). A doença pode ser de origem ambiental, causada por patógenos do ambiente, ou contagiosa, transmitida entre os animais.

### **1.2.2 Principais Agentes Etiológicos da Mastite Contagiosa e Ambiental**

A mastite contagiosa é causada por microrganismos adaptados ao ambiente mamário, sendo transmitida principalmente de vaca para vaca durante a ordenha (Freu *et al.*, 2022). O principal agente envolvido é *Staphylococcus aureus*, bactéria Gram-positiva de formato esférico, frequentemente organizada em cachos, anaeróbia facultativa e não formadora de esporos. Pode ser encontrada na pele, mucosas e trato respiratório de animais e humanos, sendo

responsável por infecções supurativas que variam de lesões cutâneas simples a quadros sistêmicos graves (Trabulsi, 2015).

Estudos moleculares realizados em rebanhos do sudeste do Brasil demonstraram elevada similaridade genotípica entre cepas de *S. aureus*, muitas apresentando resistência a antimicrobianos, especialmente aos  $\beta$ -lactâmicos, além de forte capacidade de formação de biofilme — fator determinante para sua persistência no úbere e dificuldade de tratamento (Freu et al., 2022). Essa resistência terapêutica torna o controle do agente um grande desafio sanitário (Dos Santos et al., 2017).

Outro importante agente contagioso é *Streptococcus agalactiae*, microrganismo que habita principalmente o interior do úbere e é transmitido durante a ordenha (Zimmermann; Araújo, 2017). Trata-se de cocos Gram-positivos organizados em cadeias, pertencentes ao gênero *Streptococcus*. Embora algumas espécies façam parte da microbiota normal, podem atuar como patógenos oportunistas (Trabulsi, 2015).

Esse agente apresenta preocupação adicional devido à resistência intrínseca a diversos antimicrobianos e à capacidade de adquirir novos mecanismos de resistência. Entretanto, diferentemente de *S. aureus*, uma vez erradicado do rebanho, tende a não reaparecer, exceto quando há introdução de animais infectados (Zimmermann; Araújo, 2017).

A mastite ambiental está associada a microrganismos presentes no solo, fezes, água e cama dos animais, que infectam o úbere principalmente durante o período de descanso ou na ordenha. Dentre esses agentes, destaca-se *Streptococcus uberis*, cuja prevalência tem aumentado progressivamente em nível nacional e internacional (Stempler; Muñoz; Lucas, 2022). Esse patógeno está frequentemente relacionado a falhas no manejo higiênico e condições ambientais inadequadas.

Entre as enterobactérias, *Escherichia coli* é um dos principais agentes de mastite clínica ambiental. Estudos conduzidos no Brasil identificaram positividade de aproximadamente 6,07% em amostras de leite de vacas com mastite clínica, evidenciando sua relevância epidemiológica (Orsi et al., 2023). Esse microrganismo está amplamente distribuído no ambiente, especialmente em fezes e água contaminada.

Outras enterobactérias importantes incluem *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter spp.* e *Serratia marcescens*. Esses patógenos podem estar presentes em vacas, bezerros e no ambiente de ordenha, atuando como reservatórios de genes de virulência e resistência a múltiplos antimicrobianos (Silva et al., 2019). Infecções por esses agentes geralmente estão associadas a condições ambientais úmidas e manejo inadequado.

Além dos agentes citados, também são frequentemente isolados em casos de mastite ambiental estafilococos coagulase-negativos, *Streptococcus dysgalactiae*, *Pseudomonas spp.* e *Serratia spp.*, especialmente em propriedades com higiene deficiente ou excesso de umidade (Carvalho et al., 2020). Embora muitas vezes associados a quadros menos graves, esses patógenos contribuem significativamente para mastite subclínica e aumento da contagem de células somáticas.

A presença de bactérias dos gêneros *Staphylococcus* e *Streptococcus* em humanos, animais e no ambiente reforça a importância do conceito de Saúde Única (One Health). A resistência antimicrobiana desenvolvida por esses microrganismos pode ser compartilhada entre espécies, aumentando o risco de falhas terapêuticas tanto na medicina veterinária quanto na humana. Dessa forma, torna-se essencial a implementação de estratégias integradas de monitoramento, prevenção e controle, considerando a inter-relação entre saúde animal, saúde humana e meio ambiente (O'Neill, 2016).

### 1.2.3 Resistência Antimicrobiana na Mastite

A resistência antimicrobiana ocorre quando os microrganismos desenvolvem mecanismos que lhes permitem sobreviver e multiplicar-se mesmo na presença de antimicrobianos que anteriormente eram eficazes na sua eliminação. Esse fenômeno vem se tornando um problema crescente na medicina veterinária, especialmente em doenças como a mastite bovina, em que o uso frequente de antimicrobianos sem diagnóstico adequado contribui para o desenvolvimento de microrganismos resistentes (Costa, 2017).

Os microrganismos podem apresentar resistência de forma natural (resistência intrínseca) ou podem adquiri-la com o tempo, por meio de mutações ou troca de material genético entre bactérias, como acontece por plasmídeos. A resistência antimicrobiana entre os principais agentes causadores de mastite bovina, como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Streptococcus agalactiae*, tem aumentado ao longo dos anos, com altos índices de resistência e multidroga especialmente em *E. coli* e *S. aureus*, o que evidencia a complexidade da resistência e a necessidade de estratégias específicas de manejo e uso prudente de antimicrobianos no controle da doença (Moradi et al., 2025).

Os mecanismos de resistência antimicrobiana são diversos e incluem a produção de enzimas que inativam antibióticos, como as beta-lactamases, que hidrolisam o anel  $\beta$ -lactâmico essencial para a ação desses fármacos. Outra forma de resistência ocorre pela alteração do alvo de ação do medicamento, como no caso dos estafilococos resistentes à meticilina: o gene *mecA*

codifica uma proteína de ligação à penicilina (PBP2a) com baixa afinidade pelos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos, tornando esses medicamentos ineficazes. Além disso, muitas bactérias reduzem a entrada dos antibióticos na célula ou os expulsam por meio de bombas de efluxo, o que diminui a concentração intracelular do fármaco e compromete o tratamento (Lade, Kim, 2023).

Outros grupos como as fluoroquinolonas, que incluem a enrofloxacina e danofloxacina, embora ainda eficazes em muitos casos, já apresentam registros de resistência, especialmente em bactérias ambientais como *Pseudomonas* spp. A resistência nesses casos geralmente está ligada a mutações nas enzimas DNA girase e topoisomerase IV, reduzindo a ligação do antibiótico aos seus alvos e favorecendo a sobrevivência bacteriana (Arefin et al., 2025).

O CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) traz diretrizes específicas para a medicina veterinária no documento CLSI VET01-A5, e nele constam critérios interpretativos para mastite bovina com foco em antimicrobianos como pirlimicina, ceftiofur e penicilina + novobiocina. Para outros antibióticos, os pontos de corte usados em antibiogramas costumam ser baseados em dados de outras doenças ou espécies, o que pode comprometer a precisão da interpretação se não houver atenção (CLSI, 2018).

As bactérias podem apresentar resistência natural ou resistência adquirida aos antibióticos. A resistência natural ocorre quando a bactéria já possui, de forma intrínseca, mecanismos que a tornam insensível a determinado antimicrobiano, enquanto a resistência adquirida surge por meio de mutações genéticas ou pela aquisição de genes de resistência.

O uso de um agente antimicrobiano, por si só, não induz diretamente a resistência, mas atua selecionando as bactérias que já apresentam maior capacidade de sobrevivência dentro da população bacteriana. Assim, a resistência pode se estabelecer a partir de uma única mutação ou da exposição a um único antibiótico, uma vez que é improvável que uma bactéria desenvolva simultaneamente resistência a vários agentes antimicrobianos diferentes (Muteeb *et al.*, 2023).

Essa resistência antimicrobiana dificulta o tratamento eficaz da mastite, favorecendo infecções crônicas e acarretando perdas econômicas substanciais na produção leiteira. Diante desse cenário, o uso racional de antibióticos torna-se indispensável para preservar a eficácia terapêutica. O diagnóstico correto, por meio de isolamento bacteriano e testes de susceptibilidade, como o teste de difusão em disco (antibiograma), possibilita a seleção do antimicrobiano mais adequado e diminui o risco de falhas terapêuticas. Estudos demonstram que protocolos de antibiograma e vigilância da resistência são essenciais para orientar tratamentos mais eficazes e preservar opções terapêuticas (Abdi *et al.*, 2021).

#### 1.2.4 Uso de Óleos Essenciais e Produtos Bioativos no Controle da Mastite Bovina

O uso de óleos essenciais e outros produtos naturais tem ganhado destaque como alternativa ou complemento aos antimicrobianos convencionais no tratamento da mastite bovina, especialmente diante do avanço da resistência antimicrobiana. Diversos estudos recentes demonstram que compostos bioativos de origem vegetal apresentam atividade antimicrobiana contra os principais agentes etiológicos da mastite, como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* e bactérias ambientais. Óleos essenciais extraídos de plantas aromáticas, como *Tetradenia riparia*, *Melaleuca alternifolia* e *Origanum vulgare*, têm sido amplamente investigados devido à sua capacidade de inibir o crescimento bacteriano, reduzir a formação de biofilmes e potencializar a ação de antibióticos convencionais, conforme representado na Tabela 1.

Estudos conduzidos no Brasil evidenciam resultados promissores. Laginestra *et al.* (2024) observaram atividade antimicrobiana significativa do óleo essencial de *Tetradenia riparia* frente a isolados bacterianos de mastite bovina, enquanto Micketen (2024) demonstrou que o óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* foi capaz de inibir o crescimento de microrganismos associados à mastite, apresentando concentrações inibitórias mínimas entre 0,1% e 2%. De forma semelhante, Bento *et al.* (2024) relataram eficácia antimicrobiana do óleo de melaleuca contra *Streptococcus agalactiae*, reforçando o potencial desse fitoterápico no controle de patógenos contagiosos da glândula mamária (Tabela 1).

Além da ação direta sobre os microrganismos, alguns óleos essenciais apresentam efeito sinérgico quando associados a antibióticos. Vianna *et al.* (2023), ao avaliarem o óleo essencial de *Eugenia uniflora* (pitanga), observaram que, embora não tenha ocorrido inibição isolada do crescimento bacteriano, houve potencialização da ação de antimicrobianos frente a *S. aureus* e *S. agalactiae*. Esse achado é particularmente relevante, pois sugere que produtos naturais podem contribuir para a redução das doses de antibióticos utilizadas, minimizando riscos de resíduos no leite e a seleção de cepas resistentes (Tabela 1)

Outros estudos também destacam a eficácia de óleos essenciais ricos em compostos fenólicos, como carvacrol e timol. Borges *et al.* (2024) demonstraram elevada atividade antimicrobiana de óleos essenciais de cravo, tomilho e patchouli contra isolados de mastite bovina. Da mesma forma, Albuquerque (2017) identificou forte atividade antibacteriana e antibiofilme do óleo essencial de coentro frente a *S. aureus* isolado de mastite, enquanto estudos com formulações fitoterápicas à base de orégano indicaram redução significativa da contagem de células somáticas e da carga bacteriana total em vacas com mastite subclínica

A Tabela 1 foi organizada com base em uma revisão narrativa da literatura científica, reunindo estudos que investigaram o uso de óleos essenciais, extratos vegetais ou produtos bioativos no controle da mastite bovina. Os critérios de organização incluíram: identificação botânica da planta (nome científico e popular), tipo de material biológico utilizado (óleo essencial ou extrato), parte da planta empregada, objetivo do estudo, amostra biológica analisada, principais resultados obtidos, local de realização da pesquisa e referência bibliográfica. Essa estrutura permite uma visão comparativa clara entre os estudos, facilitando a análise da diversidade de espécies vegetais, metodologias empregadas e eficácia antimicrobiana observada.

**Tabela 1** - Estudos científicos sobre alinhado ao uso de produtos bioativos no tratamento da mastite bovina.

Nome Científico (Nome Popular)	Material Biológica da Planta	Parte da Planta	Objetivo da Pesquisa	Amostra Biológico Utilizado	Resultados da Pesquisa	Local onde foi realizado a Pesquisa	Referência
<i>Eugenia uniflora</i> (pitanga)	Óleo Essencial	Folhas	Avaliar potencial antimicrobiano contra microrganismos causadores de mastite bovina	Leite de vacas com mastite; <i>S. aureus</i> , <i>S. agalactiae</i>	Não inibiu crescimento bacteriano, mas potencializou ação de antibióticos	Santo Ângelo, RS, Brasil	Vianna <i>et al.</i> , 2023
<i>Tetradenia riparia</i> (falsa - mirra)	Óleo Essencial	Folhas	Avaliar atividade antimicrobiana contra bactérias causadoras de mastite em bovinos	Isolados bacterianos de mastite bovina	Demonstrou atividade antimicrobiana significativa	Umuarama, PR, Brasil	Laginestra <i>et al.</i> , 2024
<i>Melaleuca alternifolia</i> (Melaleuca)	Óleo Essencial	Folhas	Estudar ação antibacteriana no controle de	Linhagens de referência e isolados de leite	Inibiu crescimento	Ponta Grossa, PR, Brasil	Micketen, 2024

microrganismos causadores da mastite bovina de vacas com mastite bacteriano; CIM entre 0,1% e 2%

Coentro	Óleo Essencial	Diversas	Avaliar atividade antibacteriana e antibiofilme de óleos essenciais sobre <i>S. aureus</i>	Estirpes de <i>S. aureus</i> isoladas de mastite bovina	Coentro foi o mais ativo (CIM de 0,15 mg/mL)	Viçosa, MG, Brasil	Albuquerque, 2017
<i>S. aromaticum</i> , <i>T. vulgaris</i> , <i>P. cablin</i> (Cravo, Tomilho, Patchouli)	Óleo Essencial	Flores, Folhas	Estudar atividades antimicrobianas de óleos essenciais e suas associações	Isolados bacterianos de mastite bovina	Cravo, Tomilho, tiveram Atividade antimicrobiana significativa	Brasil	Borges <i>et al.</i> , 2024
<i>Melaleuca alternifolia</i> (Melaleuca)	Óleo Essencial	Folhas	Avaliar atividade antimicrobiana contra <i>Streptococcus agalactiae</i>	Isolados de <i>S. agalactiae</i>	Eficácia antimicrobiana contra os isolados	Alfenas, MG, Brasil	Bento <i>et al.</i> , 2024

<i>O.vulgare, T.vulgaris, C.zeylanicumL.graveolens</i> (Orégano, Tomilho, Canela, Lípia)	Óleo Essencial	Folhas, Casca	Avaliar suscetibilidade de <i>Staphylococcus</i> spp.	Isolados de mastite bovina e caprina	Carvacrol com forte atividade antimicrobiana	Santa Maria, RS, Brasil	Dal Pozzo, 2010
<i>L. pacari, Hymenaea sp., S. adstringens</i> (Pacari, Jatobá, Barbatimão)	Extrato da planta	Casca, Folhas	Avaliar sensibilidade de bactérias causadoras de mastite bovina	Isolados de <i>S. aureus, Enterobacter</i> spp., <i>E. coli</i>	Atividade antimicrobiana em <i>S. adstringens</i> e <i>L. pacari</i>	Jataí, GO, Brasil	Silveira <i>et al.</i> , 2023
<i>Origanum vulgare</i> (Orégano)	Óleo Essencial	Folhas	Avaliar eficácia de gel fitoterápico no tratamento da mastite	Vacas com mastite subclínica; CCS e CBT	Redução significativa da CCS e CBT	Espírito Santo, Brasil	IFES, 2021
Orégano e tomilho	Óleo Essencial	Folhas, Casca	Avaliar atividade antimicrobiana frente a <i>Staphylococcus</i> spp.	Isolados de mastite caprina	Orégano e tomilho com alta atividade antimicrobiana	Brasil	Santurio <i>et al.</i> , 2007

---

### 1.2.5 *Cymbopogon winterianus*

O gênero *Cymbopogon*, pertencente à família Gramineae, compreende cerca de 180 tipos de plantas, abrangendo espécies, subespécies, variedades e subvariedades. Trata-se de plantas perenes, caracterizadas por folhas longas e densas, adaptadas a diferentes condições climáticas (Zahra; Hartati; Fidrianny, 2020). Entre as espécies de maior relevância econômica destaca-se a *Cymbopogon winterianus* (Figura 1), conhecida popularmente como citronela, amplamente utilizada na produção de óleos essenciais com aplicações terapêuticas, medicinais e industriais.

A citronela (*Cymbopogon winterianus*) é uma planta herbácea perene, originária da Ásia tropical e amplamente cultivada em regiões tropicais e subtropicais devido à produção de óleo essencial com aroma intenso. Ela forma touceiras densas com folhas lineares, adaptando-se bem a solos férteis e bem drenados, sendo amplamente empregada na indústria de fragrâncias, cosméticos e em produtos repelentes naturais. (Rammal *et al.*, 2024).

A citronela é reconhecida por sua rica composição fitoquímica, com destaque para compostos como citronelal, geraniol, limoneno e citrionelol, responsáveis por grande parte de suas propriedades biológicas (Venkatesha e Kiran, 2023). Estudos apontam que o óleo essencial extraído das folhas apresenta, em média, 33,9% de citronelal, 16,4% de geraniol e 8,97% de citrionelol, além de outros terpenos de relevância farmacológica. Tais compostos conferem atividades analgésicas, anti-inflamatórias, antimicrobianas, antioxidantes e repelentes de insetos (Wentz *et al.*, 2024).

Além disso, pesquisas recentes demonstram que os constituintes da citronela podem atuar como alternativas naturais aos antimicrobianos sintéticos, a resistência bacteriana, e um problema crescente na medicina humana e veterinária (Rockenbach; Tiburski Neto, 2021; Scherer *et al.*, 2009).

O óleo essencial de citronela é produzido por células secretoras presentes principalmente nas folhas e caules, sendo extraído, em geral, por destilação a vapor. Sua composição varia conforme as condições de cultivo, época de colheita e método de extração, mas mantém como principais marcadores químicos o citronelal e o geraniol (Venkatesha e Kiran, 2023). Estes compostos são amplamente utilizados na indústria de cosméticos, perfumaria e na formulação de repelentes naturais, além de aplicações medicinais e veterinárias. Estudos como o de Rathore *et al.*, (2023) evidenciaram o potencial antimicrobiano, do óleo essencial de citronela destacando que, no ensaio de microdiluição em caldo apresentotou o óleo essencial de citronela foi o mais ativo contra a maioria das bactérias testadas, com valores de CIM de 0,075

e 0,31 mg/mL, o óleo apresentou inibição significativas contra bactérias Gram-positivas como *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* e *Bacillus subtilis*, sendo a ação contra *S. aureus* (Silveira et al., 2012).

Assim, *Cymbopogon winterianus* se sobressai não apenas por seu tradicional uso como repelente, mas também como fonte de compostos bioativos de interesse terapêutico, industrial e agrícola, reforçando sua importância econômica e científica.



**Figura 1:** *Cymbopogon winterianus* (Citronela).

(Fonte: H. M. Jardins, 2025)

### 1.2.6 *Tetradenia Riparia*

*Tetradenia riparia* (Figura 2), pertencente à família Lamiaceae, é um arbusto lenhoso aromático originário da África Austral e amplamente cultivado como planta ornamental e medicinal no Brasil. Apresenta crescimento rápido, podendo atingir até 80 cm por ano, com altura variando entre 1,5 m e 3 m. Suas folhas são opostas, aromáticas ao serem esmagadas, liberando odor semelhante a gengibre ou incenso. A espécie é dióica, possuindo inflorescências masculinas e femininas em plantas separadas, que florescem geralmente durante o inverno subtropical. Seus ramos são suculentos e glandulares, formando feixes densos de folhas, com preferência por solos bem drenados e exposição a pleno sol ou meia-sombra (NCBI, 2021; Cjmgrowers, 2021; Gazim et al., 2020).

O óleo essencial de *T. riparia* é obtido principalmente das folhas, botões florais e caules, apresentando rendimento médio que varia entre 0,17% e 0,26%. Essa produtividade pode ser influenciada por fatores como parte da planta utilizada e a estação do ano, refletindo a variabilidade química característica da espécie (Cella *et al.*, 2023).

Originária da África, *T. riparia* se adaptou a diferentes condições edafoclimáticas, sendo amplamente cultivada no Brasil em regiões de clima subtropical. Pode ser encontrada em áreas ornamentais, jardins medicinais e cultivos comerciais voltados à extração de óleo essencial, preferindo ambientes bem iluminados, mas tolerando também condições de meia-sombra (NCBI, 2021; Gazim *et al.*, 2020).

A planta apresenta elevada adaptabilidade e resistência, características que favorecem seu cultivo e utilização. Seu crescimento é rápido e vigoroso, tolerando diferentes tipos de solo, desde que bem drenados. É resistente às variações climáticas subtropicais e mantém a produção de óleo essencial mesmo com oscilações ambientais, embora a composição química apresente variações sazonais e morfológicas (Gazim *et al.*, 2020).

Do ponto de vista fitoquímico, o óleo essencial de *T. riparia* é caracterizado pela presença predominante de terpenos, em especial os sesquiterpenos oxigenados, como  $\alpha$ -cadinol, 14-hydroxy-9-epi-caryophyllene e caliculona, além de monoterpenos como a fenchona. A proporção desses compostos varia conforme a parte da planta: botões florais apresentam cerca de 43,6% de sesquiterpenos oxigenados, folhas 26,4% e caules aproximadamente 53,7%. Também estão presentes flavonoides e diterpenos, responsáveis por importantes propriedades farmacológicas (Gazim *et al.*, 2020).

A atividade antimicrobiana da espécie também é significativa, com efeito inibitório contra fungos como *Aspergillus* e *Rhizopus*, e contra bactérias de importância bucal como *Streptococcus mutans*, com concentrações mínimas inibitórias (CIM) de apenas 31,2  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (Laginestra *et al.*, 2024).

Outras propriedades relevantes incluem sua ação antioxidante e antiviral (Santos *et al.*, 2024). Ensaio *in vitro* demonstraram inibição da oxidação em sistemas modelo e atividade antiviral contra o vírus HSV-1, com baixo índice de citotoxicidade e alta seletividade, reforçando seu potencial para o desenvolvimento de fitoterápicos antivirais e protetores celulares (Santos *et al.*, 2024). Além disso, sua composição rica em flavonoides e terpenoides confere à planta versatilidade terapêutica, sendo uma alternativa natural promissora a compostos sintéticos (Gazim *et al.*, 2020; Santos *et al.*, 2024).



**Figura 2:** *Tetradenia Riparia* (Mirra).

(Fonte: Jardim Cor, 2016).

### **1.2.7 Considerações Finais**

A mastite bovina permanece como um dos principais desafios sanitários e econômicos da pecuária leiteira, especialmente devido à crescente resistência antimicrobiana dos agentes etiológicos envolvidos. Nesse contexto, os óleos essenciais e outros produtos de origem vegetal têm se mostrado alternativas promissoras, apresentando atividade antimicrobiana relevante contra patógenos associados à mastite. Os estudos analisados demonstram que esses compostos naturais podem contribuir para a redução do uso indiscriminado ou até mesmo auxiliar a ação dos antimicrobianos convencionais, minimizando riscos de resíduos no leite e a seleção de cepas resistentes. Contudo, apesar dos resultados positivos, ainda são necessários mais estudos padronizados, especialmente *in vivo*, para validar sua eficácia, segurança e viabilidade de aplicação prática na rotina da bovinocultura leiteira.

### 1.3 Referências

ABDI, R. D. *et al.*, Antimicrobial resistance of major bacterial pathogens from dairy cows with high somatic cell count and clinical mastitis. **Animals**, v. 11, n. 1, p. 131, 2021.

ALBUQUERQUE, R. D. C. *et al.* Atividade antibacteriana e antibiofilme de óleos essenciais sobre *Staphylococcus aureus* isolados de mastite bovina. **Ciência Rural**, v. 47, n. 5, e20160780, 2017.

ALVES, T.; MOREIRA, M. A. Mastite bovina: tratamento convencional e ação de compostos extraídos de plantas. **Uniciências**, v. 25, n. 1, p. 20–25, 2021.

AREFIN, M. S., MITU, M. J., YASMIN, S. Y., NURJAHAN, A., MOBIN, M., NAHAR, S., *et al.*, Mutational alterations in the QRDR regions associated with fluoroquinolone resistance in *Pseudomonas aeruginosa* of clinical origin from Savar, Dhaka. **PLoS ONE**, 20(2): e0302352, 2025.

BENTO, M. M. S. *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* frente a *Streptococcus agalactiae*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 26, n. 1, p. 90–98, 2024.

BORGES, A. *et al.* Atividade antimicrobiana de óleos essenciais e suas associações contra bactérias isoladas de mastite bovina. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 45, n. 1, p. 101–110, 2024.

CARVALHO, F. H. de *et al.* Mastite bovina por *Prototheca zopfii* na região Oeste do Paraná: relato de caso. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 20, n. 4, p. 233–236, out./dez. 2017.

CARVALHO, T. S. *et al.* Micro-organismos isolados de mastite bovina e em leite cru no Brasil: revisão. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 18, n. 1, p. 1–12, 2020.

CELLA, W.; RAHAL, I. L.; SILVA, G. C. C. *et al.* Activity of essential oils from leaves, flower buds and stems of *Tetradenia riparia* on *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* larvae. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 32, n. 1, e013522, 2023.

CJMGROWERS. *Tetradenia riparia* (ginger bush). **C.J.M. Growers**, 2021.

**CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute.** Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals: VET01-A5. Wayne, PA: CLSI, 2018.

COSTA, A. C. Farmacologia dos antimicrobianos: conceitos, tipos e mecanismos de resistência microbiana. In: PALERMO-NETO, J.; TITZE-DE-ALMEIDA, R. (orgs.). **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**, 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 211–235, 2017.

DAL POZZO, A. *et al.* Atividade antimicrobiana de óleos essenciais frente a isolados de mastite bovina e caprina. **Veterinária em Foco**, v. 8, n. 1, p. 65–72, 2010.

DELLA LIBERA, A. M. M. *et al.* Avaliação de indicadores inflamatórios no diagnóstico da mastite bovina. **Arquivo Instituto Biológico**, São Paulo, v. 78, n. 2, p. 297–300, 2011.

DOS SANTOS, W. B. R. *et al.* Mastite bovina: uma revisão. **Colloquium Agrariae**, v. 13, n. especial, p. 301–314, jan./jun. 2017.

EMBRAPA. Mastite bovina prejudica qualidade de leite. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**, 2013.

EMBRAPA GADO DE LEITE. Anuário Leite 2025. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite; **Texto Comunicação Corporativa**, 128 p, 2025.

FAZOLI, K. G. Z. *et al.* Resistance profile of bovine mastitis isolates, presence of the mecA gene and identification of ESBL producing strains from small rural dairy properties. **Animals**, v. 13, n. 7, p. 1147, 2023.

FREU, G. B. *et al.* Antimicrobial resistance and molecular characterization of *Staphylococcus aureus* recovered from cows with clinical mastitis in dairy herds from Southeastern Brazil. **Antibiotics (Basel, Switzerland)**, v. 11, n. 4, p. 424, 2022.

GAZIM, Z. C. *et al.* Chemical composition of the essential oil of *Tetradenia riparia* (Hochst.) Codd cultivated in Southern Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 80, n. 3, p. 640–647, 2020.

GUARDABASSI, L.; JENSEN, L. B.; KRUSE, H. Guide to antimicrobial use in animals. **Oxford: Blackwell Publishing**, 2004.

HALASA, T. *et al.* Economic effects of bovine mastitis and mastitis management: A review. **Veterinary Quarterly**, v. 29, n. 1, p. 18–31, 2007.

HOGVEEN, H.; LAM, T. J. G. M.; ESSERS, A. J. A. Economic aspects of mastitis: New developments. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 59, n. 1, p. 16–23, 2011.

HM JARDINS – FLORICULTURA E JARDINAGEM. Citronela. 2025.

INSTITUTO FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO – IFES. Uso de gel fitoterápico à base de *Origanum vulgare* no tratamento da mastite subclínica. **Boletim Técnico IFES**, v. 4, p. 1–8, 2021.

JARDIM COR. *Tetradenia riparia*. São Paulo: **Jardim Cor**, 31 ago. 2016.

KUROSAWA, L. S. *et al.* Perfil de susceptibilidade antimicrobiana de *Staphylococcus* spp. associados à mastite bovina. **Pubvet**, v. 14, n. 5, p. 1–6, 2020.

LADE, H.; KIM, J.-S. Molecular Determinants of  $\beta$ -Lactam Resistance in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): An Updated Review. **Antibiotics** 12, 1362, 2023.

LAGINESTRA, L. F. *et al.* Atividade antimicrobiana de extratos de *Tetradenia riparia* sobre bactérias de mastite bovina. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 18, n. 1, p. 45–52, 2024.

LEITE-RIBEIRO, A. C. *et al.* Prevalence and risk factors associated with subclinical mastitis and high somatic cell count in Brazilian dairy herds. **Tropical Animal Health and Production**, v. 53, 2021.

MENDES, L. F.; FERREIRA, A. P. Uso de plantas medicinais como carrapaticidas naturais no sul do Brasil. **Revista de Ciências Veterinárias**, v. 43, n. 1, p. 88–96, 2024.

MICKETEN, L. G. Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* frente a bactérias causadoras de mastite. *Revista Saúde e Desenvolvimento*, v. 20, n. 2, p. 90–98, 2024.

MICKETEN, J. R. Atividade antibacteriana do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* sobre microrganismos associados à mastite bovina. **Revista de Microbiologia Veterinária**, Ponta Grossa, PR, 2024.

MORADI A, BIDARIAN B, MOHAMMADIAN F, AKBARIAN F, KALATEH RAHMANI H, TASHAKKORI N, KHORAMIAN B. Trends in Antimicrobial Resistance of Major Mastitis-Causing Pathogens: A Nine-Year Study. **Vet Med Sci**. Jul;11(4):e70417, 2025.

MUNHOZ, C. F. Prevalência de agentes causadores de mastite em rebanhos leiteiros da região de Castro, Paraná. 2023. **Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Paraná**, Curitiba, 2023.

MULOI, D. M. *et al.* Treatment strategies and antibiotic usage practices in mastitis management in Kenyan smallholder dairy farms. **BMC Veterinary Research**, v. 21, p. 212, 2025.

MUTEEB, G., REHMAN, M. T., SHAHWAN, M., & AATIF, M. Origin of Antibiotics and Antibiotic Resistance, and Their Impacts on Drug Development: A Narrative Review. **Pharmaceuticals**, 16(11), 1615, 2023.

NCBI – NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. *Tetradenia riparia* (Hochst.) Codd: a review on botany, traditional uses, phytochemistry and pharmacology. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 270, 2021.

O'NEILL, J. Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations. London: **HM Government; Wellcome Trust**, 2016.

OLIVEIRA, J. L. P. de *et al.* Fatores de risco para mastite e qualidade do leite no município de Altônia – PR. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 16, n. 1, p. 61–72, jan./jun. 2013.

ORSI, G. S. *et al.* Virulence factors and antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolated from clinical bovine mastitis in Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 43, e07215, 2023.

PACHECO, I. C. P. de O. *et al.* Protocolo de monitorização terapêutica da vancomicina em adultos admitidos em hospital universitário: parte 1. **Ciências Biológicas e da Saúde: Integrando Saberes em Diferentes Contextos**, v. 6, p. 187–204, 2024.

PONTES, A. C. *et al.* Aspectos epidemiológicos da mastite bovina em propriedades da agricultura familiar, Realeza – PR. In: Seminário de Ensino, Pesquisa e Extensão – SEPE, 2023, Realeza. Anais [...]. **Universidade Federal da Fronteira Sul**, 2023.

POZZA, M. S. S. *et al.* Prevalência de mastite em um rebanho bovino no Noroeste do Paraná e a susceptibilidade das bactérias isoladas aos antimicrobianos. Atena Editora, 2021.

RAMMAL, M.; BADRAN, A.; HAIDAR, C.; SABBAH, A.; BECHELANY, M.; AWADA, M.; HASSAN, KH; EL-DAKDOUKI, M.; RAAD, MT. *Cymbopogon winterianus* (planta de citronela de Java): uma abordagem multifacetada para a conservação de alimentos, efeitos inseticidas e aplicação em panificação. **Foods** 13 , 803, 2024.

RASMUSSEN, P., BARKEMA, H., OSEI, P. P., TAYLOR, J., SHAW, A., CONRADY, B., CHATERS, G., MUNOZ-GÓMEZ, V., HALL, D. C., APENTENG, O. O., RUSHTON, J., &

TORGERSON, P. R. Global losses due to dairy cattle diseases: A comorbidity-adjusted economic analysis. **Journal of Dairy Science**, v.107 n. 9, p. 6945-6970, 2024.

ROCKENBACH, J. B.; TIBURSKI NETO, A. Atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* (citronela) em extrações por coletas circadianas e sazonais. **II Circuito Regional de Pesquisa, Inovação e Desenvolvimento**, 2021.

SANTOS, J. de S.; GAZIM, Z. C.; RODRIGUES, R. P. J. *et al.* Antioxidant, antiproliferative and antiviral activities and chemical composition of essential oils and crude extracts of *Tetradenia riparia*. **Pharmaceuticals**, v. 17, n. 7, 888, 2024.

SANTURIO, J. M. *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana de óleos essenciais frente a isolados de mastite caprina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 2, p. 234–240, 2007.

SCHERER, R. *et al.* Composição e atividades antioxidante e antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo-da-índia, citronela e palmarosa. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 11, n. 4, p. 442–449, 2009.

SILVA, A. C.; SILVA, F. F.; BETT, V. A. Prevalência de mastites em vacas leiteiras do município de Carlinda (MT). **Pubvet – Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 11, n. 8, p. 761–766, 2017.

SILVEIRA, M. C. *et al.* Avaliação da sensibilidade de bactérias isoladas de mastite bovina frente a extratos vegetais. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 46, n. 2, p. 201–209, 2023.

SILVEIRA, S. M. *et al.* Composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de *Cymbopogon winterianus*, *Eucalyptus paniculata* e *Lavandula angustifolia*. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, n. 3, p. 471–480, 2012.

SOUZA, A. P. de; SILVA, J. R.; FERREIRA, C. L. L. F. Impacto da mastite na qualidade do leite e estratégias de controle. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 75, n. 4, p. 271–280, 2020.

SOUZA, M. M. S. *et al.* Antimicrobial therapy approaches in the mastitis control driven by one health insights. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v. 46, e002624, 2024.

STEMPLER, R.; MUÑOZ, V.; LUCAS, M. R. *Streptococcus uberis*: un patógeno relevante en mastitis bovina. **Revista Argentina de Microbiología**, v. 54, n. 2, p. 113–125, 2022.

SANTURIO, J. M.; *et al.* Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de orégano e tomilho frente a *Staphylococcus* spp. isolados de mastite caprina. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, 2007.

SILVEIRA, S. M.; *et al.* Atividade antimicrobiana de extratos vegetais de *Lafoensia pacari*, *Hymenaea* sp. e *Stryphnodendron adstringens* sobre bactérias causadoras de mastite bovina. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Jataí, GO, 2023.

VIANNA, F. C.; *et al.* Avaliação do potencial antimicrobiano do óleo essencial de *Eugenia uniflora* associado a antibióticos no controle da mastite bovina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Santo Ângelo, RS, 2023.

#### **1.4 Objetivo**

Avaliar a ação antibacteriana dos óleos essenciais *Tetradenia riparia* (mirra) e *Cymbopogon winterianus* (citronela) e frente a isolados oxacilina resistentes de *Staphylococcus* spp. e com presença do gene *mecA* obtidos de amostras de leite, mão de ordenhador e equipamentos de ordenha provenientes de propriedades com infecção mastítica no rebanho bovino

## **CAPÍTULO 2**

### **ARTIGO**

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Cymbopogon winterianus* e *Tetradenia riparia* FRENTE A ISOLADOS DE *Staphylococcus* OXACILINA-RESISTENTES E COM PRESENÇA DO GENE *mecA* DE MASTITE BOVINA**

Artigo editado de acordo com as normas de publicação da Research in Veterinary Science.

## RESUMO

A mastite bovina é uma importante infecção da pecuária leiteira, responsável por prejuízos econômicos e redução da qualidade do leite, sendo agravada pela crescente resistência antimicrobiana, o que impulsiona a busca por alternativas terapêuticas naturais. Neste contexto, os óleos essenciais de plantas medicinais representam uma estratégia promissora. O objetivo deste trabalho foi avaliar a ação antibacteriana dos óleos essenciais de *Tetradenia riparia* (mirra) e *Cymbopogon winterianus* (citronela) frente a isolados de *Staphylococcus spp.* resistentes à oxacilina e portadores do gene *mecA*, obtidos de leite mastítico, mãos de ordenhadores e equipamentos de ordenha. Os óleos foram obtidos por hidrodestilação em aparelho de Clevenger. A atividade antibacteriana foi determinada por microdiluição em caldo, com determinação da concentração inibitória mínima (CIM). A composição química foi analisada por CG/MS e índices de retenção. O óleo essencial de *C. winterianus* apresentou CIM entre 0,3 e 0,6 mg/mL, enquanto *T. riparia* variou de 0,07 a 5 mg/mL, com maior atividade observada no óleo dos botões florais. Observou-se maior sensibilidade nos isolados provenientes das mãos dos ordenhadores. Entre os compostos identificados destacam-se citronelal, citronelol e geraniol em *C. winterianus*, e fenchona e  $\alpha$ -cadinol em *T. riparia*. Os resultados evidenciam o potencial dos óleos essenciais, especialmente de *T. riparia*, como alternativa no controle de estafilococos multirresistentes associados à mastite bovina, contribuindo para estratégias terapêuticas mais sustentáveis.

**Palavras-chave:** Citronela; Mirra; Mastite bovina; Óleos essenciais; Resistência bacteriana; *Staphylococcus spp.*

## ABSTRACT

Bovine mastitis is a major disease in dairy production, responsible for significant economic losses and reduced milk quality, further aggravated by increasing antimicrobial resistance, which drives the search for alternative therapeutic approaches. In this context, essential oils from medicinal plants have emerged as promising candidates. The aim of this study was to evaluate the antibacterial activity of essential oils from *Tetradenia riparia* (myrrh) and *Cymbopogon winterianus* (citronella) against oxacillin-resistant *Staphylococcus spp.* isolates carrying the *mecA* gene, obtained from mastitic milk, milkers' hands, and milking equipment. Essential oils were extracted by hydrodistillation using a Clevenger apparatus. Antibacterial activity was determined by the broth microdilution method, establishing the minimum inhibitory concentration (MIC). Chemical composition was analyzed by GC/MS and retention indices. The essential oil of *C. winterianus* showed MIC values ranging from 0.3 to 0.6 mg/mL, whereas *T. riparia* ranged from 0.07 to 5 mg/mL, with the highest activity observed for the flower bud oil. Greater susceptibility was observed among isolates from milkers' hands. Major compounds identified included citronellal, citronellol, and geraniol in *C. winterianus*, and fenchone and  $\alpha$ -cadinol in *T. riparia*. These findings highlight the potential of essential oils, particularly *T. riparia*, as natural alternatives for controlling multidrug-resistant staphylococci associated with bovine mastitis, contributing to more sustainable therapeutic strategies in dairy production.

**Keywords:** Citronella; Myrrh; Bovine mastitis; Essential oils; Bacterial resistance; *Staphylococcus spp.*

## 2.1 Introdução

A mastite bovina é uma inflamação da glândula mamária, geralmente de origem infecciosa, que compromete diretamente a produtividade e a qualidade do leite. Essa enfermidade pode se apresentar de forma clínica, com alterações no aspecto do leite, dor e inchaço, ou de forma subclínica, quando não há sintomas visíveis, mas ocorre aumento da contagem de células somáticas e queda na qualidade do leite (EMBRAPA, 2013; Souza et al., 2020).

Entre os agentes etiológicos, os microrganismos do grupo *Staphylococcus* spp. merecem destaque, pois muitas cepas apresentam baixa taxa de cura devido à capacidade de formar biofilmes intramamários, o que dificulta a penetração de antibióticos e favorece a persistência da infecção. Além disso, isolados de *Staphylococcus aureus* associados à mastite bovina têm demonstrado altos níveis de resistência a múltiplas classes de antimicrobianos, incluindo  $\beta$ -lactâmicos, tetraciclina e outros fármacos de uso comum, com a possibilidade da presença de cepas portadoras de genes de resistência como *mecA* e outras variantes que representam um desafio crescente no manejo sanitário dos rebanhos (RYCHSHANOVA et al., 2022).

O tratamento da mastite é tradicionalmente realizado por meio da administração de antimicrobianos, aplicados por via intramamária ou sistêmica, conforme a gravidade do quadro clínico. Entretanto, o uso frequente e, em alguns casos, indiscriminado desses fármacos na bovinocultura leiteira tem contribuído para o aumento da resistência antimicrobiana (RAM) e este cenário compromete a eficácia terapêutica, favorece a persistência das infecções e amplia o risco de disseminação de microrganismos resistentes no ambiente produtivo. Além disso, a presença de resíduos de antibióticos no leite e em seus derivados representa uma preocupação relevante para a saúde pública, tanto pelo potencial de reações adversas quanto pela seleção de bactérias resistentes na microbiota humana (CHENG et al., 2019; WHO, 2023)

A fitoterapia veterinária também desponta como ferramenta importante no tratamento de algumas enfermidades, reduzindo o impacto ambiental e a dependência de químicos sintéticos, mas seu uso deve ser respaldado por evidências científicas e orientação profissional (SILVA et al., 2023; MENDES & FERREIRA, 2024; KHAN et al., 2023). Nesse cenário, as terapias complementares têm se mostrado alternativas promissoras. O uso de óleos essenciais de plantas medicinais vem ganhando espaço pela sua ação antimicrobiana, anti-inflamatória e até calmante, atuando frente a microrganismos resistentes, como *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* (Pacheco et al., 2023)

Popularmente conhecidas, a citronela e a mirra apresentam importante atividade antimicrobiana. O óleo essencial de citronela demonstrou efeito frente a *Staphylococcus aureus*, com CIM em torno de 0,5 mg/mL, associado ao geraniol como principal composto ativo (Moreira et al., 2019). Já a mirra apresentou ação bactericida superior a 99,9% frente a *S. aureus* (Mansour et al., 2020; Ahmed; El-Naga, 2021).

Esses dados corroboram os resultados do presente estudo, no qual os óleos essenciais avaliados também demonstraram atividade relevante contra *Staphylococcus spp.* resistentes, com valores de CIM considerados ativos. A importância desses achados está no fato de que *Staphylococcus*, especialmente *S. aureus*, é um dos principais agentes da mastite bovina e frequentemente apresenta resistência a antimicrobianos, tornando esses compostos naturais potenciais alternativas terapêuticas. Assim seu objetivo foi de avaliar a ação antibacteriana dos óleos essenciais *Tetradenia riparia* (mirra) e *Cymbopogon winterianus* (citronela) e frente a isolados oxacilina resistentes de *Staphylococcus spp.* e com presença do gene *mecA* obtidos de amostras de leite, mão de ordenhador e equipamentos de ordenha provenientes de propriedades com infecção mastítica no rebanho bovino.

## 2.2 Material e métodos

### 2.2.1 Origem das amostras

As amostras utilizadas nesta pesquisa foram selecionadas a partir do projeto de pesquisa intitulado “Perfil de resistência de isolados de mastite bovina, presença do gene *mecA* e identificação de cepas produtoras de ESBL ( $\beta$ -lactamases de Espectro Estendido) em pequenas propriedades rurais leiteiras”, desenvolvido por Fazoli et al. (2023).

Foram selecionadas dez amostras previamente identificadas como *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* coagulase negativa e *Staphylococcus* coagulase positiva não aureus, todas com perfil de oxacilina resistentes e com a presença do gene *mecA*, provenientes de leite mastítico, mãos de ordenhadores e insufladores de cinco pequenas propriedades leiteiras, não tecnificadas das cidades de Jussara, Tapejara e Juranda na região Noroeste do estado do Paraná.

Para a avaliação de resistência a oxacilina das amostras foi realizado o método de difusão em disco em ágar que é um dos testes fenotípicos mais amplamente empregados em laboratórios clínicos por sua simplicidade, baixo custo e padronização internacional, sendo recomendado pelas principais diretrizes de microbiologia clínica para testes de suscetibilidade antimicrobiana (CLSI, 2024).

As amostras foram conservadas em BHI ( Brain heart infusion) com glicerol mantidas a  $-80$  °C. Essa metodologia é considerada padrão em laboratórios de microbiologia para manutenção de coleções microbianas (Madigan et al., 2021). Após o descongelamento das amostras elas foram colocadas em caldo BHI por 24 horas e colocadas para crescer em estufa a  $36^{\circ}\text{C}$ , em seguida elas foram semeadas com método de esgotamento em placas de agar sangue e colocadas em estufa por 24 horas a  $36^{\circ}\text{C}$ , após o crescimento elas novamente semeadas em placas de manitol e incubadas novamente por mesmo tempo e temperatura.

### **2.2.2 Coleta e extração do óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* e *Tetradenia riparia*.**

O material vegetal foi coletado no Horto Medicinal da Universidade Paranaense, campus Umuarama nas coordenadas S23° 46.225', W53° 16.730', e altitude de 391 metros. As espécies *Cymbopogon winterianus* e *Tetradenia riparia* foram identificadas e um exemplar encontra-se depositado no Herbário da Universidade Paranaense sob o nº 314 e 2502, respectivamente. As espécies encontram-se registradas no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN) sob o nº ABD29CF e AC437FA, respectivamente.

A extração do óleo essencial das folhas de *C. winterianus* e das folhas e botões florais de *T. riparia* foram realizadas por hidrodestilação em aparelho de Clevenger modificado, utilizando 100 g de material fresco em água purificada durante 3 h. Os óleos foram retirados e filtrados com sulfato de sódio anidro e acondicionado em frascos âmbar, sob refrigeração a 4 °C.

### **2.2.3 Identificação química dos óleos essenciais de *Cymbopogon winterianus* e *Tetradenia riparia*.**

A identificação química do OE de *C. winterianus* foi realizada em um cromatógrafo em fase gasosa (Agilent 7890 B) acoplado à espectrometria de massa (Agilent 5977 A), equipado com uma coluna analítica HP-5MS UI 5% (30 m x 0.25 mm x 0.25 µm) com temperatura inicial da coluna em 80 °C, seguindo de aquecimento de 4 °C/min até 260 °C. O gás carreador foi o hélio com fluxo de 1 mL/min com vazão de pressão de 9.38 psi. A temperatura do injetor foi de 220 °C; o volume de injeção de 2 µL; a injeção ocorreu no modo splitless. A linha de transferência foi mantida a 280°C e a fonte de ionização e quadrupolo a 230 °C e 150 °C, respectivamente. O espectrômetro de massas (EM) foi operado a 70 eV utilizando o sistema de

detecção EM no modo “scan”, na faixa de razão massa/carga ( $m/z$ ) de 40-500, com “solvent delay” de 3 min. Os compostos foram identificados comparando seus espectros de massas com os espectros de massas da biblioteca NIST 11.0 libraries e na comparação dos seus índices de retenção (IR) obtidos por uma série homóloga do padrão de *n*-alcanos (C7 - C28) (Adams, 2017).

A identificação química dos óleos essenciais das folhas e botões florais de *T. riparia* foi realizada por Cromatografia Gasosa (CG) (Agilent 7890B) acoplada a Espectrometria de Massas (EM) (Agilent 5977AMSD) e HP5-MSUI - Agilent sílica capilar fundida (30×250  $\mu\text{m}$  × 0,25  $\mu\text{m}$ ; Agilent Technologies), com temperatura inicial do forno de (80 °C/1 min.), seguido por aumento para (185 °C a 2 °C/min.) e mantido por (1 min.), seguido por um aumento para (275 °C a 9° C/min.) e mantido por (2 min.) Finalmente aumentar para (300 °C a 25 min.) e mantido durante (1min.). O hélio foi utilizado como gás carreador na velocidade linear de (1 mL/min. até 300 °C) e liberação de pressão de (56 kPa). A temperatura do injetor foi de (280 °C); o volume de injeção foi de (1  $\mu\text{L}$ ); a injeção ocorreu no modo split (2:1). As temperaturas da linha de transferência, fonte iônica e quadrupolo foram (280, 230 e 150 °C), respectivamente. O sistema de detecção (EM) foi utilizado no modo “scan”, na taxa de massa/carga/carga ( $m/z$ ) de 40-600, com “delay de solvente” de (3 min.). Os compostos bioativos foram identificados comparando os espectros de massa encontrados em bibliotecas (NIST 11.0) e comparando os Índices de Retenção (RI) obtidos por uma série homóloga de padrão *n*-alcanos (C7-C28) (Adams, 2017).

#### **2.2.4 Ensaio da atividade antibacteriana - *Cymbopogon winterianus* e *Tetradenia riparia***

A atividade antibacteriana dos óleos essenciais de *C. winterianus* e *T. riparia* foram avaliados por meio do método de microdiluição em caldo, conforme as recomendações do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2018), com o objetivo de determinar a concentração inibitória mínima (CIM) frente aos isolados bacterianos testados.

Para o preparo do inóculo, colônias frescas foram suspensas em meio BHI e ajustadas à turbidez correspondente à escala 0,5 de McFarland, sendo posteriormente diluídas até a concentração final de  $1 \times 10^6$  UFC/mL. As soluções-mãe dos óleos essenciais foram diluídas seriadamente em caldo Mueller-Hinton, obtendo-se concentrações variando de 20 mg/mL a 0,15 mg/mL.

Em microplacas estéreis de 96 poços, foram distribuídos 100  $\mu$ L das diluições em triplicata, aos quais adicionaram-se 5  $\mu$ L da suspensão bacteriana padronizada. Como controles experimentais, foram utilizados o positivo (bactéria sem antimicrobiano), o negativo (meio de cultura estéril) e o de solvente. As placas foram incubadas a 37 °C por 24 horas.

Após o período de incubação, a leitura foi realizada por inspeção visual. A CIM foi definida como a menor concentração do óleo essencial que inibiu completamente o crescimento bacteriano visível. A CIM, obtida nos testes de suscetibilidade dos isolados de *Staphylococcus* spp. frente aos óleos essenciais extraídos das folhas e botões florais de *T. riparia* foi confirmada por meio de ensaio colorimétrico de viabilidade microbiana, baseado na adição de 10  $\mu$ L da solução de cloreto de 2-(4-iodofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-fenil tetrazólio. A alteração de cor, indicativa de atividade metabólica bacteriana, foi comparada ao controle positivo constituído pela cepa padrão *Staphylococcus aureus* (ATCC 2921) e a partir dela foi realizado o cálculo CIM<sub>50%</sub> (CIM capaz de inibir 50% dos isolados testados) e CIM<sub>90%</sub> (CIM capaz de inibir 90% dos isolados testados).

### **2.3 Resultados**

Os resultados da identificação química dos óleos essenciais de *C. winterianus* e *T. riparia* encontram-se discriminados nas Tabelas 1, 2 e 3.

O óleo essencial de *T. riparia* (mirra) apresentou composição química formado principalmente por sesquiterpenos e compostos oxigenados. Entre os constituintes majoritários

identificados destacam-se  $\alpha$ -cadinol, fenchona, 14-hydroxy-9-epi-caryophyllene, óxido de cariofileno,  $\gamma$ -elemene e  $\beta$ -cadineno estes compostos frequentemente associados a atividades biológicas como propriedades antimicrobianas e anti-inflamatórias.

Já o óleo essencial de citronela é caracterizado pela predominância de monoterpenos oxigenados, sendo os principais constituintes citronelal, geraniol e citronelol, que representam a maior fração da composição química do óleo. Esses compostos são amplamente reconhecidos por suas propriedades repelentes, antimicrobianas.

O óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* (citronela) apresentou atividade inibitória com pouca variações frente aos isolados de *Staphylococcus* spp., com concentrações inibitórias mínimas (CIM) variando de 0,3 mg/mL a 0,6 mg/mL (Tabela 4). O óleo obtido das folhas de *Tetradenia riparia* (mirra) apresentou CIM entre 0,15 mg/mL e 2,5 mg/mL. A menor CIM (0,15 mg/mL) sugere elevada atividade antimicrobiana frente a alguns isolados, enquanto a variação até 2,5 mg/mL (Tabela 4) indica que certos isolados podem apresentar resistência relativa, mas ainda assim são sensíveis ao óleo.

O óleo do botão floral de *Tetradenia riparia* (mirra) mostrou CIM variando de 0,07 mg/mL a 5 mg/mL. O valor mínimo (0,07 mg/mL) evidencia forte efeito inibitório em alguns isolados, enquanto a faixa máxima (5 mg/mL) (Tabela 4) indica que outros isolados podem necessitar de maior concentração para inibição. Isso sugere que o botão floral pode apresentar maior potência antimicrobiana em comparação às folhas, mas com maior variabilidade entre os isolados. Esses valores indicam que mesmo em baixas concentrações, o óleo foi capaz de inibir o crescimento bacteriano, demonstrando potencial como alternativa natural para controle de estafilococos multirresistentes.

No caso do óleo das folhas de *T. riparia*, os microrganismos com o gene *mecA* apresentaram valores de CIM menores do que as amostras que não continha o respectivo gene.

Isso indica que eles foram mais sensíveis ao extrato foliar, ou seja, mais facilmente inibidos por ele.

## 2.4 Discussão

Os critérios propostos por Ahmad, Van Vuuren e Viljoen (2014), observa-se que os três óleos essenciais avaliados apresentaram, de modo geral, atividade antimicrobiana expressiva frente a *Staphylococcus* spp. associados à mastite bovina, ainda que com diferenças importantes entre si.

Em contrapartida, o óleo essencial de *Tetradenia riparia* obtido das folhas apresentou maior variabilidade nos valores de CIM (0,15–2,5 mg/mL). Embora a maior parte dos resultados ainda se enquadre como atividade notavelmente ativa, valores próximos ao limite superior indicam redução relativa da eficácia em alguns isolados, o que pode refletir diferenças na sensibilidade bacteriana ou na composição química do óleo.

De forma semelhante, porém ainda mais pronunciada, o óleo essencial de *Tetradenia riparia* proveniente do botão floral demonstrou ampla variação na atividade (0,07–5 mg/mL). Apesar de a maioria dos isolados apresentar elevada sensibilidade, incluindo valores bastante baixos que indicam forte atividade antimicrobiana, a ocorrência de valores elevados em isolados específicos evidencia uma resposta menos uniforme, com presença pontual de baixa eficácia.

Ainda no presente trabalho, o óleo essencial de *Tetradenia riparia* obtido das folhas apresentou atividade inibitória frente aos isolados de *Staphylococcus* spp. provenientes de mastite bovina, com concentrações inibitórias mínimas (CIM) variando entre 0,15 mg/mL e 2,5 mg/mL, enquanto o óleo obtido do botão floral apresentou valores entre 0,07 mg/mL e 5 mg/mL (tabela 4).

Esses resultados podem estar relacionados à presença de compostos monoterpênicos e sesquiterpênicos bioativos presentes no óleo essencial da espécie. Entre esses compostos, destaca-se a fenchona, que apresenta atividade antimicrobiana já descrita na literatura. Estudos demonstram que a fenchona possui efeito inibitório frente a diferentes microrganismos, atuando principalmente por meio da interação com a membrana celular bacteriana, causando alterações estruturais e comprometendo funções metabólicas essenciais da bactéria (Silva et al., 2019).

Além disso, outro composto frequentemente associado à atividade antimicrobiana de óleos essenciais é o  $\beta$ -cariofileno, um sesquiterpeno com propriedades antibacterianas descritas contra diversas bactérias Gram-positivas, incluindo espécies do gênero *Staphylococcus*. A presença desses compostos pode contribuir para a atividade antimicrobiana observada no óleo essencial de *T. riparia*, justificando os baixos valores de CIM encontrados neste estudo. Dessa forma, a ação combinada de metabólitos como a fenchona e o  $\beta$ -cariofileno pode ter potencializado o efeito antibacteriano do óleo essencial, explicando a capacidade inibitória observada (0,07 a 5 mg/mL) frente aos isolados bacterianos de mastite bovina.

Os resultados apresentados na Tabela 4 indicam que o óleo essencial de *Tetradenia riparia*, especialmente aquele obtido a partir do botão floral, apresentou maior eficácia frente aos isolados de *Staphylococcus* spp. provenientes das mãos dos ordenhadores. Em seguida, observou-se boa atividade frente aos isolados coletados do insuflador da ordenhadeira. Por outro lado, os isolados oriundos de leite mastítico apresentaram maiores concentrações inibitórias, indicando menor sensibilidade ao óleo essencial.

Esse comportamento sugere que os microrganismos presentes nas mãos e superfícies de ordenha podem estar menos adaptados a ambientes altamente seletivos quando comparados aos isolados intramamários. Estudos recentes corroboram esses achados, indicando que óleos essenciais ricos em sesquiterpenos oxigenados, como  $\alpha$ -cadinol e derivados do cariofileno,

apresentam elevada atividade antimicrobiana principalmente frente a estafilococos ambientais e de contato humano-animal (Gazim et al., 2020; Laginestra et al., 2024).

Em comparação com outros estudos, os valores de CIM obtidos neste trabalho corroboram com aqueles descritos na literatura, porém algumas diferenças metodológicas e microbiológicas devem ser consideradas, como no estudo de Laginestra et al. (2024) que também demonstrou atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Tetradenia riparia* frente a bactérias associadas à mastite bovina, reforçando o potencial da espécie. No entanto, diferentemente do presente estudo, que utilizou isolados de campo resistentes provenientes de leite mastítico, mãos de ordenhadores e equipamentos de ordenha, estudos como o de Gazim et al. (2010) avaliaram principalmente cepas padrão de *Staphylococcus aureus*, que tendem a apresentar maior sensibilidade aos compostos antimicrobianos. Isso explica, em parte, os menores valores de CIM reportados na literatura (0,03 a 0,25 mg/mL), enquanto no presente estudo foram observadas faixas mais amplas e, em alguns casos, maiores concentrações inibitórias.

Adicionalmente, destaca-se como diferencial do presente estudo a avaliação de isolados multirresistentes adaptados ao ambiente intramamário, frequentemente associados à formação de biofilmes e à maior tolerância aos antimicrobianos, condição que pode justificar valores de concentração inibitória mínima (CIM) superiores aos observados em estudos conduzidos com cepas laboratoriais. Soma-se a esse aspecto a inclusão de isolados provenientes de distintas origens epidemiológicas (animal, humana e ambiental) o que possibilita uma abordagem mais abrangente e alinhada à realidade da bovinocultura leiteira. Assim, embora os resultados estejam em consonância com a literatura científica, o presente trabalho apresenta elevada relevância aplicada, por refletir condições reais de campo e os desafios contemporâneos relacionados à resistência antimicrobiana na mastite bovina.

Outro aspecto relevante é a metodologia empregada nos ensaios de sensibilidade antimicrobiana, já que variações no método de microdiluição, no tipo de inóculo, na concentração do óleo, no tempo de incubação e no uso de solubilizantes podem impactar diretamente os valores obtidos (Ojha et al., 2022). Além disso, a origem dos isolados bacterianos pode exercer influência sobre a resposta antimicrobiana, isolados de campo, como os avaliados no presente estudo, tendem a ser mais resistentes que cepas padrão (ATCC), devido à exposição prévia a antimicrobianos e à adaptação ao ambiente hospitalar ou de produção leiteira, onde há uso frequente de diferentes antibióticos no manejo de mastites e outras infecções bacterianas bovinas (Costa et al., 2021).

O óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* (citronela) destacou-se por apresentar valores de CIM consistentemente baixos (0,3–0,6 mg/mL), enquadrando-se integralmente na categoria de atividade notavelmente ativa. Esse padrão homogêneo sugere maior estabilidade e previsibilidade de ação, indicando elevado potencial terapêutico frente aos isolados testados.

Os resultados obtidos para o óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* (CIM50% = 0,51 mg/mL; CIM90% = 0,56 mg/mL) (Tabela 5) demonstraram elevada eficácia antimicrobiana frente aos isolados testados. Essa atividade pode ser atribuída à presença de monoterpenos majoritários como citronelal, citronelol, geraniol e limoneno, compostos frequentemente encontrados na composição química do óleo essencial de citronela. Entre esses constituintes, o geraniol tem sido amplamente descrito na literatura como um importante composto bioativo com propriedades antimicrobianas, antioxidantes e anti-inflamatórias, contribuindo para o potencial terapêutico de diferentes óleos essenciais (Lei et al., 2019).

O mecanismo de ação desses compostos está relacionado principalmente à sua capacidade de interagir com a membrana celular dos microrganismos, promovendo alterações na permeabilidade e desorganização estrutural da membrana, o que pode levar ao

extravasamento de componentes intracelulares e à morte celular bacteriana. Dessa forma, a presença de geraniol associada a outros monoterpenos presentes no óleo essencial, como citronelal, citronelol e limoneno, pode atuar de maneira sinérgica, justificando os baixos valores de concentração inibitória mínima observados neste estudo e reforçando o potencial do óleo essencial de *C. winterianus* como fonte natural de compostos com atividade antibacteriana (Lei et al., 2019)

Costa et al. (2021), em estudo conduzido também no município de Realeza (PR, Brasil) em um estudo, observaram valores mais elevados (CIM50% = 26,78 mg/mL; CIM90% = 157,79 mg/mL) frente a *Staphylococcus aureus* isolados de otite canina. Essa diferença pode estar relacionada à origem dos isolados (devido à variabilidade genética e à adaptação ambiental dos isolados de campo, enquanto as cepas ATCC são padronizadas e mantidas em condições controladas), variações na composição química do óleo e diferenças metodológicas entre os ensaios laboratoriais, entretanto, mesmo com as diferenças, ambos os estudos confirmaram o potencial antimicrobiano da citronela como alternativa natural de controle bacteriano.

O óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* também apresentou atividade antibacteriana relevante frente aos isolados avaliados, com sensibilidade observada nos quatro isolados provenientes das mãos dos ordenhadores, seguida pelos três isolados do insuflador, e menor frente aos três isolados de leite mastítico, conforme evidenciado na Tabela 4. Esse padrão está de acordo com estudos recentes que demonstram que os principais constituintes da citronela, como citronelal, geraniol e citronelol, apresentam maior ação frente a bactérias Gram-positivas de origem ambiental e superficial (Venkatesha & Kiran, 2023; Rammal et al., 2024). Trabalhos recentes indicam que isolados intramamários tendem a apresentar maior tolerância a compostos naturais devido à formação de biofilmes e à pressão seletiva causada pelo uso recorrente de antimicrobianos no tratamento da mastite (Freu et al., 2022; Moradi et al., 2025).

Segundo Freu et al. (2022), microrganismos associados à mastite, como *Staphylococcus aureus*, têm alta capacidade de formar biofilmes no tecido mamário, o que dificulta a penetração de agentes antimicrobianos e reduz sua eficácia.

Além disso, conforme descrito por Moradi et al. (2025), a exposição frequente a antimicrobianos durante o tratamento da mastite exerce pressão seletiva, favorecendo a sobrevivência de cepas mais tolerantes.

De maneira geral, os três óleos essenciais demonstraram atividade antimicrobiana relevante frente a isolados de *Staphylococcus* spp. oxacilina resistente e com presença do gene *mecA*, sendo que a citronela apresentou atividade consistentemente notável, enquanto os óleos de *T. riparia* (folhas e botões florais) apresentaram atividade predominantemente notável, porém com maior variabilidade entre os isolados bacterianos. Esses resultados reforçam o potencial dos óleos essenciais como alternativas naturais promissoras no controle de patógenos associados à mastite bovina.

## 2.5 Conclusão

Os óleos essenciais de *Tetradenia riparia* (mirra) e *Cymbopogon winterianus* (citronela) demonstraram atividade antibacteriana frente a isolados oxacilina-resistentes de *Staphylococcus* spp. portadores do gene *mecA*, provenientes de leite mastítico, mãos de ordenhadores e equipamentos de ordenha, atendendo plenamente ao objetivo proposto neste estudo. A presença do gene *mecA* entre os isolados reforça o cenário atual de disseminação de estafilococos resistentes aos  $\beta$ -lactâmicos na cadeia produtiva do leite, evidenciando um importante desafio sanitário e terapêutico na mastite bovina.

Entre os tratamentos avaliados, o óleo essencial de *T. riparia* destacou-se pela maior eficácia antimicrobiana, apresentando valores de concentração inibitória mínima (CIM) entre 0,07 e 5 mg/mL, especialmente quando obtido de estruturas específicas da planta, enquanto *C.*

*winterianus* apresentou CIM variando de 0,3 a 0,6 mg/mL. A atividade observada relaciona-se à presença de compostos bioativos identificados na composição química dos óleos essenciais, com destaque para fenchona e  $\alpha$ -cadinol em *T. riparia*, associados à desestabilização da membrana bacteriana, e citronelal, citronelol e geraniol em *C. winterianus*, reconhecidos por sua ação antimicrobiana.

Os achados evidenciam que óleos essenciais constituem alternativas naturais promissoras no enfrentamento de patógenos multirresistentes portadores do gene *mecA*, podendo atuar como ferramentas complementares no controle da mastite bovina. Do ponto de vista prático, sua aplicação pode contribuir para a redução da carga bacteriana intramamária, diminuir a dependência de antimicrobianos convencionais e favorecer estratégias de manejo sanitário mais sustentáveis, com impacto direto na saúde do rebanho, na qualidade do leite e na sustentabilidade da bovinocultura leiteira.

### **Agradecimentos**

A UNIPAR pelo financiamento desta pesquisa, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos.

### **2.6 Referencias**

Adams, R.P., 2017. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy. Allured Publishing, Waco, 804 p.

Ahmad, A., Van Vuuren, S., Viljoen, A., 2014. Unravelling the complex antimicrobial interactions of essential oils: the case of *Thymus vulgaris* (thyme). *Molecules* 19, 2896–2910.

Ahmed, A.A., El-Naga, R.N., 2021. Chemical composition and antimicrobial activity of *Commiphora myrrha* extracts. *Egyptian Journal of Chemistry* 64, 4963–4973.

Aiemsraad, J., et al., 2023. Antibacterial efficacy of essential oil spray formulation for post-milking disinfection in dairy cows. *Veterinary World* 16, 1552–1561.

Aouadhi, C., et al., 2024. Antibacterial effect of eight essential oils against bacteria implicated in bovine mastitis and characterization of the primary action mode of *Thymus capitatus* essential oil. *Antibiotics* 13, 237.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2018. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals: VET01-A5. CLSI, Wayne.

Costa, L.A., et al., 2021. Antimicrobial activity of *Cymbopogon winterianus* essential oil against *Staphylococcus aureus* isolates from canine otitis. *Revista da Universidade Federal de Lavras*.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), 2013. Mastite bovina prejudica qualidade do leite. EMBRAPA, Brasília.

Efendi, D., et al., 2021. Relationship between agroclimatic variables, soil and leaf nutritional status with productivity and essential oil composition of kaffir lime leaves (*Citrus hystrix* DC). *Metabolites* 11, 260.

Fazoli, K.G.Z., et al., 2023. Resistance profile of bovine mastitis isolates, presence of the *mecA* gene and identification of ESBL producing strains from small rural dairy properties. *Animals* 13, 1147.

Galgano, M., et al., 2022. Antimicrobial activity of essential oils evaluated in vitro against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Antibiotics* 11, 979.

Gazim, Z.C., et al., 2010. Seasonal variation, chemical composition, and analgesic and antimicrobial activities of the essential oil from leaves of *Tetradenia riparia* (Hochst.) Codd in southern Brazil. *Molecules* 15, 5509–5524.

Khan, M., et al., 2023. Safety and efficacy of herbal medicine in veterinary practice. *Journal of Ethnopharmacology* 305, 116116.

Laginestra, B.F.A., et al., 2024. Antimicrobial activity of *Tetradenia riparia* essential oil in the control of bacteria associated with bovine mastitis. *Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR*.

Leite, D.P., et al., 2023. Occurrence of antimicrobial-resistant *Staphylococcus aureus* in a Brazilian veterinary hospital environment. *Brazilian Journal of Microbiology* 54, 2393–2401.

Lei, Y., Fu, P., Jun, X., Cheng, P., 2019. Pharmacological properties of geraniol: a review. *Planta Medica* 85, 48–55.

Madigan, M.T., et al., 2021. *Brock biology of microorganisms*, 16th ed. Pearson, New York.

Mansour, R.B., et al., 2020. Antibacterial and antibiofilm activities of *Commiphora myrrha* essential oil against resistant clinical strains. *BMC Complementary Medicine and Therapies* 20, 328.

Martini, M.C.A., et al., 2021. Antimicrobial activity of essential oils against positive coagulase *Staphylococcus* isolated from external canine otitis cases. *Agrarian Academy Journal* 4, 43–52.

Mendes, L.F., Ferreira, A.P., 2024. Use of medicinal plants as natural acaricides in southern Brazil. *Revista Ciência Veterinária* 43, 88–96.

Moreira, I.C., et al., 2019. Antimicrobial activity of citronella (*Cymbopogon nardus*) essential oil and its major compound geraniol against *Staphylococcus aureus*. *Molecules* 24, 1717.

Ojha, P.K., et al., 2022. Comparative evaluation of commercial and laboratory-distilled essential oils of *Boswellia carteri*: chemical variations and authenticity assessment. *Journal of Essential Oil Research* 34, 481–492.

Ojha, P.K., et al., 2022. Comparison of volatile constituents present in commercial and laboratory-distilled frankincense (*Boswellia carteri*) essential oils for authentication. *Plants* 11, 2134.

Pacheco, D.S., et al., 2023. Antimicrobial activity of essential oils against multidrug-resistant bacteria in veterinary medicine. *Veterinary World* 16, 1023–1032.

Santos, E.S., et al., 2015. Antimicrobial activity of *Tetradenia riparia* essential oil against cariogenic bacteria. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 87, 1–10.

Silva, R.M., et al., 2023. Veterinary phytotherapy: perspectives and challenges in animal production. *Arquivos de Ciências Veterinárias* 31, 56–64.

Souza, A.P., Silva, J.R., Ferreira, C.L.L.F., 2020. Impact of mastitis on milk quality and control strategies. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes* 75, 271–280.

World Health Organization (WHO), 2023. Global antimicrobial resistance and use surveillance system (GLASS) report 2023. WHO, Geneva.

**Tabela 1.** Composição química e porcentagem relativa (%) do óleo essencial das folhas de *Tetradena riparia* (Mirra) e botão floral *Tetradenia riparia* (Mirra).

N°	TR	Composto	FM	Botão floral	Folhas
1	5.604	Fenchone	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	6,06	15,79
2	6.840	Camphor	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	-	3,25
3	14.362	Caryophyllene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	4,96	7,78
4	16.486	β-Himachalene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	2,08	-
5	16.580	Bicyclogermacrene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	4,14	-
6	16.581	γ-Elemene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	-	5,02
7	17.239	α-Cadinene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	4,26	-
8	17.346	Nerolidol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	2,57	-
9	17.347	β-Cadinene, (-)-	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	-	6,28
10	18.817	Germacrene D-4-ol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	5,65	4,01
11	20.640	tau.-Cadinol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	3,56	-
12	20.642	Tau-Muurolol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	-	4,59
13	21.038	Caryophyllene oxide	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	4,37	4,68
14	21.412	α-Cadinol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	13,72	16,67
15	22.053	14- hydroxy- 9- epi caryophyllene	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	11,28	11,69
16	29.464	Abieta-8(14),9(11),12-triene	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub>	1,29	1,95
17	29.476	6- epi- Shiyobunol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	18,28	
18	29.537	9β,13β- epoxi - 7- abietadiene	C <sub>20</sub> H <sub>34</sub> O	7,06	9,96
19	31.027	Manoyl oxide	C <sub>20</sub> H <sub>34</sub> O	0,64	0,38
20	33.859	6-7 dehrdroroleanone	C <sub>20</sub> H <sub>32</sub> O	10,07	7,94
<b>Total identificado</b>					
		Monoterpenos oxigenados		6,06	19,04
		Sesquiterpenos		15,44	19,08
		Sesquiterpenos oxigenados		41,15	41,64
		Diterpenos		1,29	1,95
		Diterpenos oxigenados		36,05	18,28

Legenda: Compostos não identificados e/ou que não apresentaram área relativa  $\geq 2\%$  foram excluídos. Os compostos encontram-se listados de acordo com a ordem de eluição em coluna HP-5 MS; A identificação foi realizada a partir da comparação com o espectro de massa das bibliotecas NIST 11.0; área relativa (%): porcentagem da área ocupado pelos compostos no cromatograma; TR: tempo de retenção; FM: fórmula molecular.

Fonte: Elaboração dos autores.

**Tabela 2.** Composição química e porcentagem relativa (%) do óleo essencial das folhas de *Cymbopogon winterianus* (Citronela).

Picos	Fórmula molecular	TR	Composto	%
1	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	8.486	D-Limonene	2,13
2	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	10.339	Linalool	0,73
3	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	11.465	Isopulegol	0,58
4	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	11.613	Citronelal	47,97
5	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O	13.464	Citronelol	10,90
6	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	14.102	Geraniol	20,44
7	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	14.407	β-Citral	0,59
8	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	16.134	2,6-Octadiene, 2,6-dimethyl- 2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, acetate, (Z)-	3,88 5,03
9	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	16.816		
10	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	18.996	Germacrene D	2,50
11	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	19.816	δ-cadinene	2,13
12	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	20.993	Germacrene D-4-ol	2,37
13	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	21.608	n.i	0,34
14	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	23.608	n.i	0,43

Legenda: Compostos não identificados e/ou que não apresentaram área relativa  $\geq 2\%$  foram excluídos. Os compostos encontram-se listados de acordo com a ordem de eluição em coluna HP-5 MS; A identificação foi realizada a partir da comparação com o espectro de massa das bibliotecas NIST 11.0; área relativa (%): porcentagem da área ocupado pelos compostos no cromatograma; TR: tempo de retenção; FM: fórmula molecular.

Fonte: Elaboração dos autores.

**Tabela 3** - Atividade inibitória do Óleo Essencial de *Cymbopogon winterianus* (Citronela) e *Tetradenia riparia* (Folha e Botão Floral) (mg/mL), frente a isolados de *Staphylococcus* spp. oriundas de amostras de mão de ordenhador, leite mastítico e o insuflador de ordenhadeira de cinco pequenas propriedades leiteiras, não tecnificadas da região Noroeste do estado do Paraná.

Amostras	Isolados de <i>Staphylococcus</i> spp.	Bactéria	Gene <i>Mec A</i>	<i>Cymbopogon winterianus</i> OE (mg/mL)	<i>Tetradenia riparia</i> (Folha) OE (mg/mL)	<i>Tetradenia riparia</i> (Botão Floral) OE (mg/mL)
1	Mão de Ordenhador	<i>S. aureus</i>	P	0,6	2,5	0,6
2	Mão de Ordenhador	<i>S. aureus</i>	P	0,6	1,25	0,15
3	Mão de Ordenhador	CONS	P	0,6	0,15	0,15
4	Mão de Ordenhador	CONS	P	0,6	1,25	0,6
5	Leite	<i>S. aureus</i>	P	0,6	2,5	0,15
6	Leite	CONS	P	0,6	0,3	0,6
7	Leite	CONS	P	0,3	0,3	0,07
8	Insuflador	<i>S. aureus</i>	P	0,6	0,3	0,07
9	Insuflador	<i>S. aureus</i>	P	0,3	2,5	5
10	Insuflador	CONS	P	0,3	0,3	0,07
11	ATCC 2921	<i>S. aureus</i>	-	0,6	0,6	0,3

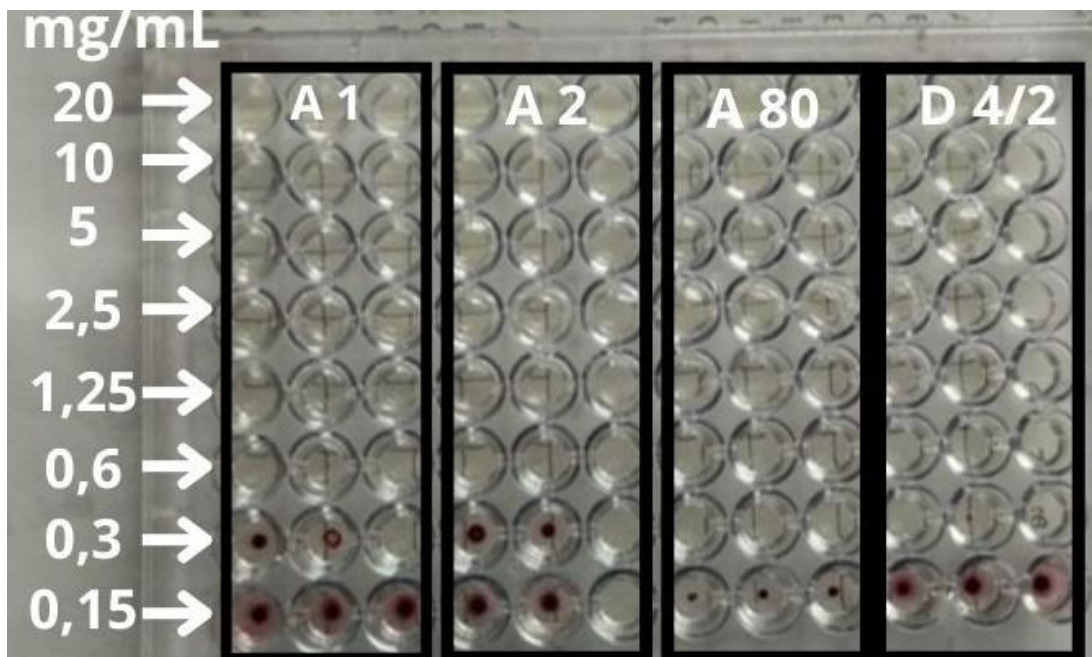
**Legenda:** P – presente, A – ausente.

**Tabela 4 :** Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM<sub>50%</sub> e CIM<sub>90%</sub>) de óleos essenciais de *Cymbopogon winterianus* (citronela) e *Tetradenia riparia* (mirra) Folha e Botão floral.

Amostra/Teste	CIM <sub>50%</sub> (mg/mL)	CIM <sub>90%</sub> (mg/mL)
<i>Cymbopogon winterianus</i>	0,51	0,56
<i>Tetradenia riparia</i> (Folha)	0,3	2,08
<i>Tetradenia riparia</i> (Botão)	0,12	0,6

Fonte: Elaboração dos autores.

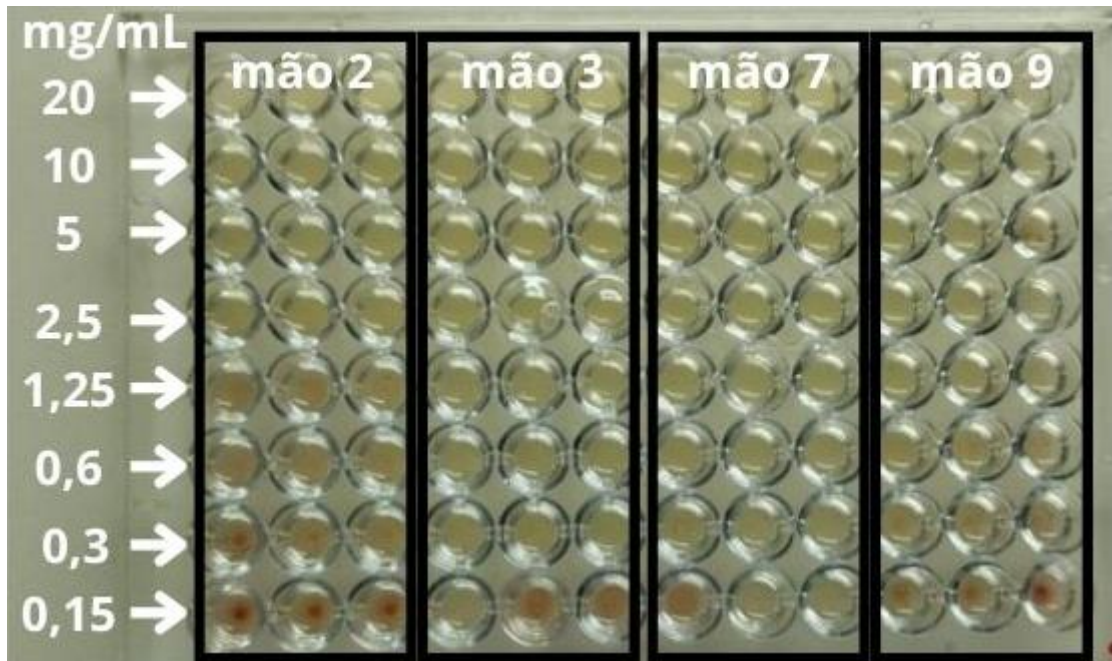
**Figura 1:** Determinação da concentração inibitória mínima do óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* utilizando a técnica de microdiluição em caldo e revelação pelo corante tetrazólio.



**Legenda:** A - Microdiluição com *Cymbopogon winterianus* (citronela) em amostras de leite mastico, mão de ordenhador e insuflador, com revelador de tetrazólio onde A1 - leite, A2 - Leite, A80 - Leite, D4/2 - Insuflador, mg - miligramas , mL - mililitros.

Fonte: Elaboração dos autores.

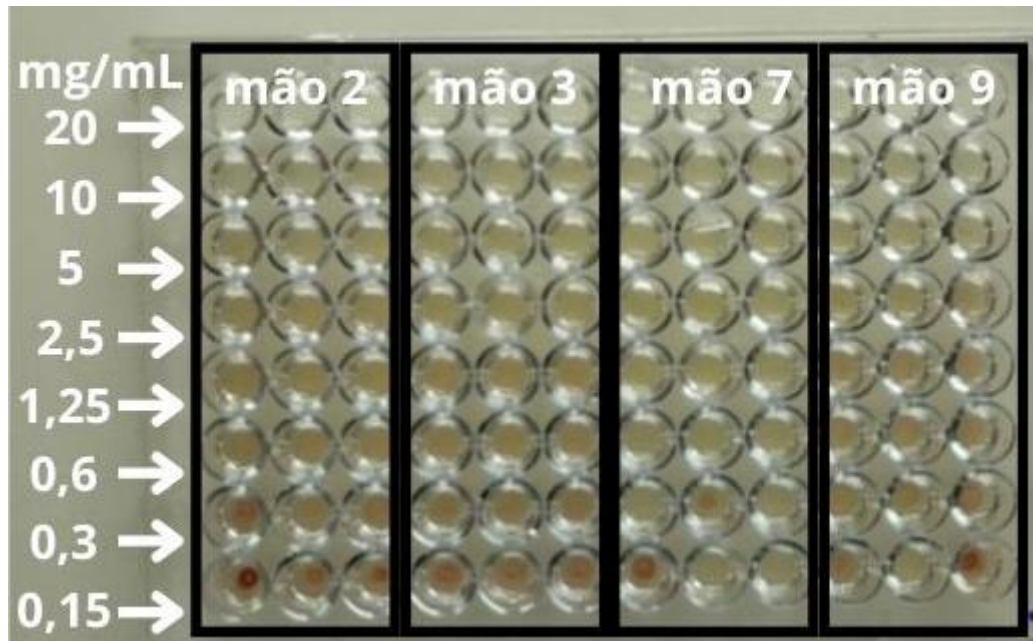
**Figura 2:** Determinação da concentração inibitória mínima do óleo essencial de *Tetradenia riparia* (mirra – botão floral) utilizando a técnica de microdiluição em caldo e revelação pelo corante tetrazólio.



**Legenda:** Microdiluição com *Tetradenia Riparia* (mirra, botão floral) em amostras de leite mastico, mão de ordenhador e insuflador, com revelador de tetrazólio, mão 2 - mão de ordenhador, mão 3 - mão de ordenhador, mão 7 - mão de ordenhador, mão 9 - mão de ordenhador mg - miligramas, mL - mililitros.

Fonte: Elaboração dos autores.

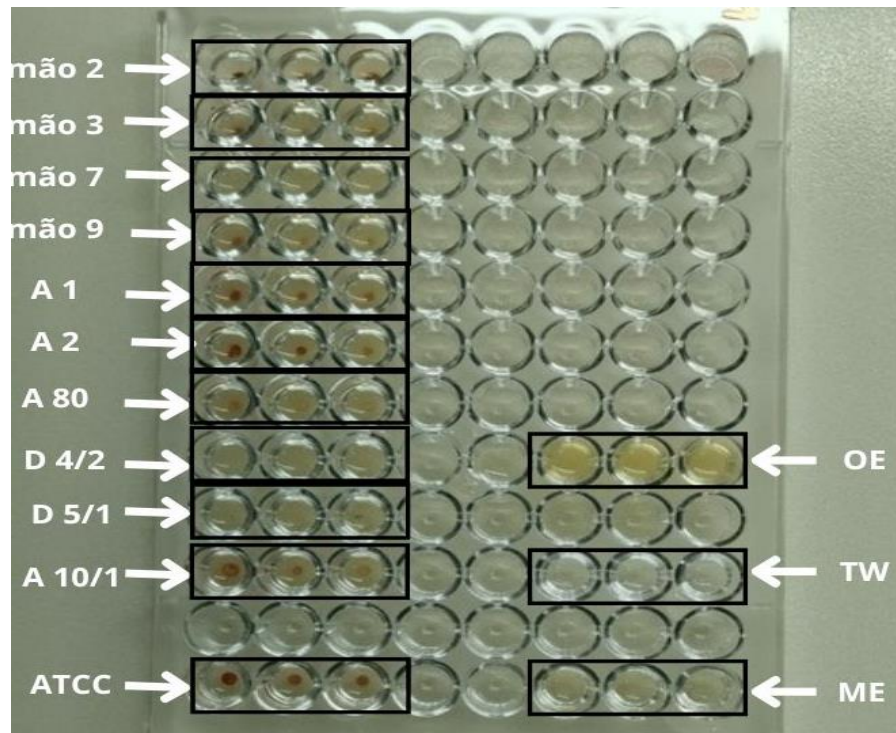
**Figura 3:** Determinação da concentração inibitória mínima do óleo essencial de *Tetradenia riparia* (mirra – folhas) utilizando a técnica de microdiluição em caldo e revelação pelo corante tetrazólio



**Legenda:** Microdiluição com *Tetradenia Riparia* (mirra, folha) em amostras de leite mástico, mão de ordenhador e insuflador, com revelador de tetrazólio, mão 2 - mão de ordenhador, mão 3 - mão de ordenhador, mão 7 - mão de ordenhador, mão 9 - mão de ordenhador mg - miligramas, mL - mililitros.

Fonte: Elaboração dos autores.

**Figura 4:** Ensaio controle de microdiluição utilizando isolados provenientes de leite mastítico, mãos de ordenhadores e equipamentos de ordenha de pequenas propriedades leiteiras não tecnificadas da região Noroeste do Paraná. utilizando a técnica de microdiluição em caldo e revelação pelo corante tetrazólio



**Legenda:** Placa controle do crescimento das amostras isoladas sem tratamento, ou seja, sem a adição de óleo essencial, controle do óleo essencial com a presença do OE - óleo essencial, TW - tween, ME - meio de cultura; mão 2, mão 3, mão 7, mão 9 - mão de ordenhador; A1, A2, A80 - leite mastítico; D 4/2, D 5/1, A 10/1 - Insuflador.

Fonte: Elaboração dos autores.

### 3. CONCLUSÃO

No presente trabalho ficou constatado o potencial antibacteriano dos óleos essenciais de *Cymbopogon winterianus* (Citronela) e *Tetradenia riparia* (Mirra) frente os isolados bacterianos de *Staphylococcus* spp. oxacilina-resistentes, uma vez que o óleo essencial de *C. winterianus* apresentou concentrações inibitórias mínimas variando entre 0,3 e 0,6 mg/mL, enquanto *T. riparia* demonstrou maior atividade antibacteriana, especialmente no óleo do botão floral, com valores de CIM entre 0,07 e 5 mg/mL, seguido pelo óleo das folhas, com CIM entre 0,15 e 2,5 mg/mL. A partir dos resultados encontrados da *C. winterianus* (Citronela) e *T. riparia* (Mirra) com alternativas fitoterápicas no enfrentamento da resistência antimicrobiana.

Os óleos essenciais de *Cymbopogon winterianus* (citronela) e *Tetradenia riparia* (mirra) apresentaram atividade antibacteriana frente a isolados oxacilina-resistentes de *Staphylococcus* spp. provenientes de leite mastítico, mãos de ordenhadores e equipamentos de ordenha, atendendo ao objetivo proposto neste estudo. O óleo essencial de *T. riparia* destacou-se por apresentar maior eficácia antimicrobiana, com valores de CIM variando entre 0,07 e 5 mg/mL, especialmente quando obtido de partes específicas da planta, enquanto *C. winterianus* apresentou CIM entre 0,3 e 0,6 mg/mL.

Essa atividade está diretamente relacionada à composição química dos óleos essenciais, nos quais predominam monoterpenos e sesquiterpenos como principais moléculas bioativas. No óleo essencial de *C. winterianus*, destacam-se citronelal, citronelol e geraniol, compostos reconhecidos por sua ação antimicrobiana. Já em *T. riparia*, tanto no botão floral quanto nas folhas, foram identificados compostos como fenchona e  $\alpha$ -cadinol, associados à ação sobre a membrana bacteriana.

Dessa forma, a presença dessas moléculas contribui significativamente para a atividade antibacteriana observada, sugerindo que a incorporação desses óleos essenciais em produtos de manejo sanitário pode ser uma estratégia eficaz. Além disso, sua utilização representa uma alternativa natural e sustentável, com potencial para atuar de forma complementar aos antibióticos convencionais no controle de patógenos relevantes para a Saúde Única.

4 APENDICE

APENDICE A – Cartilha Como Identificar os Primeiros Sinais de Mastite no Rebanho.

# Como Identificar os Primeiros Sinais de Mastite no Rebanho



**Autores:** Halison Murilo da Silva Oliveira  
Ma. Kariny Aparecida Jardim Rubio  
Me. Henrique Susumu Tanaka  
Dra. Francieli Gesleine Capote Bonato  
Caroline Domingues  
Gabriela Fernanda Tozati  
Me. Jorge Fernandes de Azevedo  
Dra. Isabela Carvalho dos Santos  
Vera Lucia da Silva Santana  
Prof. Dra. Lidiane Nunes Barbosa  
Prof. Dra. Daniela Dib Gonçalves

Umuarama - 2025

Diretoria Executiva  
Artur Nappo Dalla Libera

Gerência de Comunicação e Marketing  
Hilton Osório Torres

Gerência Geral de Extensão Acadêmica  
Profa. Dra. Ana Carolina Soares Fraga Zaze

#### Organizadores

Halison Murilo da Silva Oliveira  
Ma. Kariny Aparecida Jardim Rubio  
Me. Henrique Susumu Tanaka  
Dra. Francieli Gesleine Capote Bonato  
Caroline Domingues  
Gabriela Fernanda Tozati  
Me. Jorge Fernandes de Azevedo  
Dra. Isabela Carvalho dos Santos  
Vera Lucia da Silva Santana  
Prof. Dra. Lidiane Nunes Barbosa  
Prof. Dra. Daniela Dib Gonçalves

#### Comissão Científica

Halison Murilo da Silva Oliveira  
Dra. Isabela Carvalho dos Santos  
Prof. Dra. Lidiane Nunes Barbosa  
Prof. Dra. Daniela Dib Gonçalves

Projeto Gráfico e Diagramação  
Halison Murilo da Silva Oliveira

#### Ficha Catalográfica

I19 Como identificar os primeiros sinais de mastite no rebanho /  
Halison Murilo da Silva Oliveira (organizador). –  
Umuarama : Universidade Paranaense - UNIPAR, 2025.  
E-book.

ISBN 978-65-84914-84-1

1. Mastite no rebanho. I. Oliveira, Halison Murilo da Silva.  
II. Universidade Paranaense – UNIPAR. III. Título.

(21 ed) CDD: 636.214

Bibliotecária Responsável Regiane Luiza Campaneli CRB 9/2194

# Introdução

- **A mastite é uma das doenças mais comuns e prejudiciais na pecuária leiteira.**
- **Trata-se de uma inflamação da glândula mamária que compromete diretamente a qualidade e a quantidade do leite produzido.**
- **O diagnóstico precoce é essencial para minimizar perdas econômicas e, garantir o bem-estar animal e preservar a saúde do consumidor.**



## O que é a mastite?

**Mastite é uma inflamação nas glândulas mamárias das vacas, causada geralmente por bactérias, podendo ocorrer de forma clínica (com sinais visíveis) ou subclínica (sem sinais aparentes, mas detectável por exames laboratoriais).**



## Principais sinais clínicos

**Para identificar precocemente a mastite, observe diariamente os seguintes sinais:**

- **Alterações no leite:** presença de grumos, pus, sangue, leite aquoso ou com coloração anormal.
- **Alterações no úbere:** inchaço, calor, dor ao toque, vermelhidão ou endurecimento de um ou mais quartos mamários.
- **Alterações no comportamento:** vaca relutante na ordenha, diminuição do apetite, queda na produção leiteira e aparência apática.



**Detecção da mastite subclínica  
Pode passar despercebida,  
por isso é importante:**

- **Realizar o teste da caneca telada antes da ordenha, observando qualquer alteração no jato inicial.**
- **Utilizar o CMT (California Mastitis Test) semanalmente para monitorar a contagem de células somáticas (CCS).**
- **Analisar regularmente amostras de leite para contagem bacteriana e CCS.**



## **Boas práticas para prevenção**

- **Higienização correta dos tetos antes e depois da ordenha.**
- **Manutenção da limpeza das instalações e dos equipamentos.**
- **Uso de produtos de pré e pós-dipping.**
- **Treinamento contínuo dos ordenhadores.**
- **Isolamento e tratamento imediato dos animais doentes.**
- **Sequência ou ordem de ordenha de vacas saudáveis, vacas com a doença subclínicas e as vacas com a doença clínica**



## Importância da ação rápida

**Ao identificar qualquer sinal de mastite, é fundamental:**

- **Notificar o produtor rural o responsável técnico, e ou Médico veterinário.**
- **Seguir rigorosamente o protocolo de tratamento indicado.**
- **Registrar os casos e acompanhar a recuperação do animal.**



## **Consulte sempre um Médico Veterinário**

**O acompanhamento profissional garante um plano eficaz de controle e prevenção da mastite, protegendo tanto os animais quanto a qualidade do leite produzido.**



# Referências

BRASIL. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RISPOA). Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017. Disponível em: [https://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_Ato20152018/2017/Decreto/D9013.htm](https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato20152018/2017/Decreto/D9013.htm).

Cartilha elaborada utilizando o software Canva Pro. Disponível em: <https://www.canva.com/>

**Agradecimentos:**

**CAPES  
UNIPAR**





[www.unipar.br](http://www.unipar.br)

**5 ANEXOS**

## ANEXO 1 – Revisão de Literatura - Normas da Revista da Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR

### Diretrizes para Autores

*As submissões que não estiverem em conformidade com as Diretrizes para autores, serão devolvidas aos autores para devidas adequações.*

### TAXA DE PUBLICAÇÃO:

R\$300,00

Depósito em nome de:

UNIPAR - Sociedade Empresarial Ltda.

CNPJ: 75.517.151.0001-10

### Banco Itaú

Agência: 0997

Conta corrente: 00602-8

**Chave PIX:** 75.517.151.0001-10

**Obs.:** O pagamento só deverá ser realizado após a aprovação do conselho editorial informando que o trabalho está apto para ser publicado.

- Posteriormente O comprovante de pagamento deverá ser digitalizado e anexado no sistema como documento suplementar.

- Encaminhar via e-mail para: [arqvet@unipar.br](mailto:arqvet@unipar.br), com o ID do seu artigo e título do artigo como o assunto do e-mail e anexar o comprovante de pagamento e artigo em Word com as

correções solicitadas pelo corpo editorial.

No ato de submissão, o autor responsável pela submissão deve encaminhar também a Declaração de Autoria e Cessão de Direitos Autorais devidamente preenchida e assinada por todos os autores envolvidos.

**Declaração de autoria e cessão de direitos autorais:**

[Download Declaração.docx.](#)

**Template:**

[Download Template.docx](#)

**Normas de submissão de artigos para a Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**

**OBJETIVOS**

A **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR** é um periódico científico editado pela Universidade Paranaense, Umuarama, Paraná, Brasil, destinado a publicar trabalhos de pesquisa inéditos, que representem contribuição significativa para o conhecimento científico nas áreas de Ciências Agrárias, Ciências Biológicas, Medicina Veterinária, Zootecnia, Agronomia e Zoologia.

- **Quantidade máxima de autores** (8 autores);
- **Quantidade máxima de páginas** (20 páginas, incluindo referências);

Serão aceitos artigos para publicação nas seguintes categorias:

**ARTIGO ORIGINAL** (originado de trabalho experimental ou pesquisa de campo) deverá conter:

Título (Title e Título), Resumo com no máximo 250 palavras (Abstract e Resumen) e Palavras-chave (Keywords e Palabras clave); 2. Introdução; 3. Material e Métodos; 4. Resultados (este item pode conter, além de texto, tabelas, quadros e figuras); 5. Discussão ou Resultados e Discussão; 6. Conclusão; 7. Referências.

**ARTIGO DE REVISÃO** (levantamento bibliográfico com análise crítica sobre um assunto específico) deverá conter:

Título (Title e Título), Resumo com no máximo 250 palavras (Abstract e Resumen) e

Palavras-chave (Keywords e Palabras clave); 2. Introdução; 3. Desenvolvimento; 4. Considerações Finais; 5. Referências.

**RELATO DE CASO** (apresentação de um caso ou resultado não planejado relevante, seguindo metodologia científica) deverá conter:

Título (Title e Título), Resumo com no máximo 250 palavras (Abstract e Resumen) e Palavras-chave (Keywords e Palabras clave); 2. Introdução; 3. Relato de Caso; 4. Discussão; 5. Conclusão; 6. Referências.

**NOTA PRÉVIA** (atividade ou opinião apresentado de forma sucinta para garantir originalidade e autoria) deverá conter:

Título (Title e Título), Resumo com no máximo 250 palavras (Abstract e Resumen) e Palavras-chave (Keywords e Palabras clave); 2. Introdução; 3. Comentários; 4. Referências.

**COMUNICAÇÕES RÁPIDAS (SHORT COMMUNICATION)** (uma forma concisa, mas com descrição completa de uma pesquisa pontual ou em andamento, sendo que o total de páginas não deverá exceder 10. Deverá conter:

Título (Title e Título), Resumo com no máximo 150 palavras (Abstract e Resumen) e Palavras-chave (Keywords e Palabras clave); 2. Introdução; 3. Material e Métodos; 4. Resultados; 5. Discussão; (ou Resultados e Discussão); 6. Conclusão; 7. Referências.

**RESUMO DE TESE OU DISSERTAÇÃO** deverá conter:

Título (Title e Título), Resumo com no máximo 250 palavras (Abstract e Resumen) e Palavras-chave (Keywords e Palabras clave);

**RESENHA** (de publicações nacionais recentes ou publicações estrangeiras) deverá conter:

Título (Title e Título), 2. Texto, 3. Referência completa da obra.

**NOTA TÉCNICA** (Refere-se às informações sobre técnica utilizadas e que apresentam resultados práticos. Deve conter os tópicos: Título (Português, Inglês e Espanhol); Palavras-chave; Keywords; Palabras clave; texto

#### **I - NORMAS PARA SUBMISSÃO:**

- Os artigos devem ser digitados em fonte Times New Roman, tamanho 12, espaço duplo, em papel tamanho A4 e margens de 2,5 cm conforme (**Template**)

- Os artigos deverão ser enviados por meio do *Open Journal Systems* –

OJS (<https://www.revistas.unipar.br/index.php/veterinaria/about/submissions>).

- Os autores assumem a responsabilidade pelas informações e pelos dados apresentados no manuscrito. Os trabalhos publicados passam a ser propriedade da Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR, ficando sua reprodução, total ou parcial, sujeita a autorização expressa do Conselho Editorial da revista. Os originais não serão devolvidos aos autores.
- As opiniões emitidas pelos autores dos artigos são de sua exclusiva responsabilidade.
- Trabalhos que envolvam experimentação animal deverão ser acompanhados do Certificado do Comitê de Ética da Instituição onde foi realizado.
- Os nomes dos autores deverão ser relacionados por extenso abaixo do título, os dados dos autores enviados, abaixo do título, conforme modelo: Nome completo, graduação mais alta, instituição (máximo duas, caso tenha mais de um vínculo), e-mail, ORCID (não obrigatório).
- Os originais serão submetidos à aprovação de consultores de cada área, sem a identificação de autoria. O processo de seleção de artigos envolve avaliação de especialistas do Conselho de Consultores e do Conselho Editorial, que deverá selecionar os títulos a serem publicados, reservando-se o direito de avaliar cada artigo, sugerir modificações para aprimorar o conteúdo, adotar modificações para aperfeiçoar a estrutura, clareza e redação do texto, bem como recusar artigo.
- Recomenda-se que 30% das referências sejam dos últimos cinco anos.
- A partir do dia 25 de março de 2019, os artigos submetidos e posteriormente aceitos para publicação serão publicados preferencialmente após tradução (para artigos na língua portuguesa) ou revisão (para artigos em inglês) por empresas credenciadas pela Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da Unipar e obrigatoriamente terão que apresentar o certificado de tradução pelas mesmas para seguir com a tramitação do artigo após o aceite.
- Empresas credenciadas: Bridge textos técnicos/Paulo Boschcov – [bridge.textecn@gmail.com](mailto:bridge.textecn@gmail.com), [atendimento@bridgetextos.com.br](mailto:atendimento@bridgetextos.com.br); Pontual traduções/ Maxel Gonçalves: [max@pontualtraducoes.com.br](mailto:max@pontualtraducoes.com.br); MVR Translation Services – Maud Rugeroni – [tradutoramvr@gmail.com](mailto:tradutoramvr@gmail.com)

## **II - CITAÇÕES (segundo a norma NBR 10520 jul. 2023)**

As citações dos autores no texto deverão ser feitas segundo a norma NBR 10520, da seguinte forma:

- a) Citação de um autor. Ex. Segundo Araújo (2005),... ou.... (ARAÚJO, 2005).

- b) Citação de dois autores. Ex. Segundo Khammar e Amirat (1996) ou (KHAMMAR; AMIRAT, 1996).
- c) Citação de 3 autores: Ex. Silva, Souza e Medeiros (1999) ou (SILVA; SOUZA; MEDEIROS, 1999).
- d) Citação de uma citação - utilizar somente quando for impossível o acesso ao documento original. No texto deve ser indicado o sobrenome do autor do documento original, seguido da expressão “*apud*”. Exemplos: Souza *apud* Silva *et al.* (1998) ou (SOUZA *apud* SILVA *et al.*, 1998).
- e) Mais de três autores: deve ser utilizada “*et al.*”, seguido do ano. Ex. Gonçalves *et al.* (2005) ou (GONÇALVES *et al.*, 2005).
- f) Internet – devem ser citados o autor e o ano. Ex. BRASIL, 2001.

### III - MATERIAL DE PESQUISA

Os materiais usados nos procedimentos relatados no artigo devem ser listados em nota de rodapé, informando o local de aquisição.

Exemplo:

---

<sup>1</sup> Ketalar, Ache Laboratórios Farmacêuticos, Guarulhos - SP.

<sup>2</sup> Acepran 1,0%, Univet, Indústria Veterinária, São Paulo - SP.

<sup>3</sup> Sulfato de Atropina 0,5 mg. Geyer Medicamentos, Porto Alegre - RS.

### FIGURAS, TABELAS E QUADROS

- a) Gráficos, desenhos e fotografias deverão ser citados como Figuras e numerados consecutivamente em algarismos arábicos (exemplo: Figura 2), na parte superior, juntamente com a legenda.
- b) Todas as figuras devem apresentar resolução mínima de 300dpi, com extensão “jpg”.
- c) Tabelas ou quadros deverão ser encabeçados pelo título e representados pela palavra Tabela ou Quadro, seguida do número em algarismos arábicos (exemplo: Tabela 3). Tabelas e quadros devem ser digitados em espaço 1, não excedendo uma página.

### IV - REFERÊNCIAS / LITERATURE CITED / BIBLIOGRAFIA

As REFERÊNCIAS deverão estar em ordem alfabética, e todos os autores citados no texto

deverão ser listados. As referências deverão ser efetuadas conforme os exemplos abaixo, baseados nas Normas ABNT NBR 6023 nov. 2018. Sempre que existirem dúvidas, estas Normas deverão ser consultadas. Para trabalhos com até três autores, citar o nome de todos. Acima de três, citar o primeiro, seguido da expressão *et al.*

The LITERATURE CITED should be presented in alphabetical order, according to the following examples.

La bibliografía debe ser presentada en orden alfabético, según los ejemplos siguientes.

**Artigos em periódicos / Articles in Journals / Artículos en periódicos:**

DA SILVA, A. V.; LANGONI, H. Kinetics of serum antibody in *Rattus norvegicus* experimentally infected with genetically distinct strains of *Toxoplasma gondii* bradyzoites. **Veterinária e Zootecnia**, Botucatu, v. 12, n. 1, p. 69-76, 2005.

GONÇALVES, G. F. *et al* (agora em *itálico*). Fluxometria eco-power-doppler da artéria oftálmica externa em gatos (*Felis catus*, LINNAEUS, 1758). **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, Umuarama, v. 8, n. 2, p. 117-124, 2005.

PACHALY, J. R. Efeitos farmacológicos do cloridrato de cetamina em medicina veterinária. **Revista do Setor de Ciências Agrárias**, Curitiba, v. 13, n. 1/2, p. 151-156, mar./jun. 1994.

**Teses, dissertações e monografias / Thesis, dissertations and monographies / Tesis, disertaciones y monografías**

CIFFONI, E. M. G. **Cálculo de parâmetros fenotípicos e genotípicos para características de produção e reprodução de um rebanho caprino da raça Saanen, no Estado do Paraná**. Curitiba, 1994. 120 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

MARTINS, L. A. **Participação de subpopulações de linfócitos, macrófagos e citocinas na infecção experimental por *Mannheimia granulomatis***. Botucatu, 2002. 115 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária – Clínica Veterinária ) - Universidade Estadual Paulista.

**Circulares, mementos, bulas, etc. / Letters, mementos, prescriptions, etc. / Circulares, apuntes, bulas, etc.**

NOVAES, A. P. **Contenção farmacológica de animais com dardos**. São Carlos, 1982. Circular Técnica, n. 1, EMBRAPA, 58 p. p. 5.

TYLENOL: paracetamol. Nilton Azevedo. São José dos Campos: CILAG Farmacêutica, 1998. Bula de remédio.

**Anais ou resumos de congressos e outros eventos científicos / Annals or summaries from congresses and other scientific events / Anales o resúmenes de congresos y otros eventos científicos.**

DE SOUZA, L. *et al.* Estudo dos agentes etiológicos de otite externa em cães e sua sensibilidade a antimicrobianos. *In: CONGRESSO ESTADUAL DE MEDICINA VETERINÁRIA*, 17., 2006, Gramado. **Anais[...]** Porto Alegre: Sovergs, CD-ROM.

KHAMMAR, F.; AMIRAT, Z. Annual reproductive cycles in the endocrine activity of testis and ovary in some Algerian breeds of sheep and goats. *In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION*, 13, 1996, Sydney. **Proceedings...** Sydney: ISAR, 1996. v.2, p. 1-22.

PACHALY, J. R. Chemical restraint and anesthesia in the paca (Agouti paca - RODENTIA). *In: WORLD VETERINARY CONGRESS*, 24., 1991, Rio de Janeiro. **Abstracts...** Rio de Janeiro: SBMV, 1991. p. 196.

**Livro / Books / Libro**

CARTELLI, R. *et al.* **Uso de antibióticos na odontologia veterinária.** *In: FERREIRA, F. M.* Antibioticoterapia em pequenos animais. São Paulo: Ícone, 1997. p. 103-107.

FIALHO, S. A. G. **Anestesiologia veterinária.** São Paulo: Nobel, 1985. 208 p.

FOWLER, M. E. **Restraint.** *In: \_\_\_\_\_.* Zoo & wild animal medicine. 2. ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1986. p. 38-50.

**Eletrônicas ON LINE / ONLINE / Electrónicas ON LINE**

BRASIL, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Lista de grupos de pesquisa. Disponível em: <http://www.cnpq.com.br/CNPQ/pesquisa.htm>. Acesso em: 14 jun. 2001.

**Política de Privacidade**

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou à terceiros.

## ANEXO 2 – Artigo Científico - Normas da Revista da Research in Veterinary Science

## Research in Veterinary Science

Influência do artigo 0.393

Índice de Hirsch 37

Fator de impacto 1.33

ISSN	0034-5288
Abreviação do periódico	Res Vet Sci
Área temática	Anaesthesia, Anatomy, Avian Disease, Bacteriology, Behavior, Biochemistry, Cardiology, Clinical Chemistry, Cytogenetics, Cytology, Dermatology, Endocrinology, Epidemiology, Ethology, Genetics, Haematology, Histochemistry, Histology, Immunology, Microbiology, Molecular Biology, Mycology, Neurology, Nutrition, Ophthalmology, Parasitology, Pathology, Pharmacokinetics, Pharmacology, Physiology, Surgery, Toxicology, Urology, Virology, Welfare
Editora	W. B. Saunders Co., Ltd.
Idioma	English
Editor-chefe	F. Pasquall
País	United Kingdom
Alcance do periódico	International
Submissão para vários periódicos	Not Allowed

### Serviços de Tradução

Para os autores e pesquisadores que encontram na língua inglesa um limitador para se alcançar a projeção internacional de seu estudo/pesquisa, nós garantiremos que seu manuscrito esteja propriamente escrito na língua estrangeira, além de estar pronto para ser submetido a periódicos competitivos. Três profissionais estarão envolvidos para garantir que seu estudo atinja os resultados desejados por você perante a comunidade acadêmica-científica mundial.

[Saiba Mais](#)

### Serviços de Revisão

O objetivo de nossos serviços de Revisão de inglês é o aprimoramento da redação do seu texto, para que o artigo seja claro e fácil de ser entendido pelo examinador da

ANEXO 3 - Registro no Herbário do Centro Nacional de Recursos Genéticos (CENARGEM)

–. *Cymbopogon winterianus*.

*Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor está catalogada no herbário do Centro Nacional de Recursos Genéticos (CENARGEM), pertencente à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), em Brasília/DF, sob o número de registro 122593.

*Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor, possui registro no herbário do Centro Nacional de Recursos Genéticos (CENARGEM), da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), sob o número 122593 e foi cadastrada no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen), sob o número ABD29CF.

ANEXO 4 - Registro no Herbário do Centro Nacional de Recursos Genéticos (CENARGEM)  
– *Tetradenia Riparia*



**Ministério do Meio Ambiente**  
**CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO**  
**SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO**  
**Comprovante de Cadastro de Acesso**  
**Cadastro nº AC437FA**

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético/CTA, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro: **AC437FA**  
Usuário: **Aline Cristiane Cechinel Assing Batista**  
CPF/CNPJ: **059.588.489-09**  
Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético/CTA**  
Finalidade do Acesso: **Pesquisa**

**Espécie**

**Tetradenia riparia**

**Fonte do CTA**

**CTA de origem não identificável**

Título da Atividade: **Ação antibacteriana de óleo essencial de Tetradenia riparia em isolados resistentes de Staphylococcus spp**

**Equipe**

<b>Aline Cristiane Cechinel Assing Batista</b>	<b>INDEPENDENTE</b>
<b>Daniela Dib Goncalves</b>	<b>UNIPAR</b>

Data do Cadastro: **09/07/2025 18:43:45**

Situação do Cadastro: **Concluído**

Conselho de Gestão do Patrimônio Genético  
Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em **18:44** de **09/07/2025**.



SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO  
DO PATRIMÔNIO GENÉTICO  
E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL  
ASSOCIADO - **SISGEN**

## ANEXO 5 - Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos (CEPEH)

UNIVERSIDADE PARANAENSE  
- UNIPAR



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** Identificação e avaliação do perfil de resistência de microrganismos causadores de mastite bovina presentes em leite, mão dos ordenhadores e equipamentos de ordenha.

**Pesquisador:** Daniela Dib Gonçalves

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 51418221.1.0000.0109

**Instituição Proponente:** Universidade Paranaense

**Patrocinador Principal:** ASSOCIACAO PARANAENSE DE ENSINO E CULTURA

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 5.010.389

**Apresentação do Projeto:**

Identificação e avaliação do perfil de resistência de microrganismos causadores de mastite bovina presentes em leite, mão dos ordenhadores e equipamentos de ordenha.

**Objetivo da Pesquisa:**

Objetivo Primário:

Identificação de bactérias e avaliação do perfil de resistência antibacteriana de amostras de leite mastítico, mão de ordenhadores e equipamentos de ordenha de pequenas propriedades rurais dos municípios de Juranda, Boa Esperança e Tapejara, estado do Paraná, Brasil.

Objetivo Secundário:

1. Isolar e identificar os microrganismos presentes no leite, superfície dos tetos, mãos dos ordenhadores e equipamentos de ordenha; 2. Avaliar o perfil de resistência dos microrganismos isolados do leite, superfície dos tetos, mão de ordenhadores e equipamento de ordenha; 3. Pesquisar a presença de *S. aureus* nos microrganismos isolados; 4. Pesquisar a presença do gene *mecA* nos microrganismos isolados; 5. Comparar os microrganismos encontrados no leite e na superfície dos tetos com os das mãos dos ordenhadores e equipamento de ordenha por meio do perfil clonal; 6. Conhecer a epidemiologia da infecção mastítica nas propriedades em questão; 7. Realizar ações de educação em saúde para os produtores rurais como entrevista e elaboração de cartilha informativa

**Endereço:** Praça Mascarenhas de Moraes, 8482

**Bairro:** Umuarama

**CEP:** 87.502-210

**UF:** PR

**Município:** UMUARAMA

**Telefone:** (44)3621-2849

**Fax:** (44)9127-7860

**E-mail:** cepeh@unipar.br

UNIVERSIDADE PARANAENSE  
- UNIPAR



Continuação do Parecer: 5.010.389

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

**Riscos:**

Nenhum para os ordenhadores, visto que será realizado apenas um swab de mão sendo este realizado com movimentos rotatórios e delicados.

**Benefícios:**

Com os resultados deste projeto será possível estabelecer medidas preventivas no rebanho bovino e também medidas preventivas quanto a saúde dos ordenhadores a partir dos microrganismos isolados.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

A pesquisa se apresenta de forma conclusiva e pode ser executada, uma vez que os pesquisadores contemplaram todos os requisitos éticos para a sua realização.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

TCLE - Este documento contém as informações para o bom entendimento e anuência dos participantes da pesquisa, devendo ser elaborado em duas vias, sendo uma retida pelo sujeito da pesquisa e a outra arquivada pelo pesquisador.

TERMO DE ANUÊNCIA INSTITUCIONAL - Este documento se apresenta de forma satisfatória (nome completo, função e carimbo) com a autorização pelo responsável da Instituição onde a pesquisa será realizada.

FOLHA DE ROSTO - Informações prestadas compatíveis com as do protocolo apresentado.

**Recomendações:**

De acordo com a Resolução 466/12 – III - Dos aspectos éticos da pesquisa envolvendo seres humanos – III.1 – A eticidade da pesquisa implica em:

i) Prever procedimentos que assegurem a confidencialidade e a privacidade, a proteção da imagem e a não estigmatização dos participantes da pesquisa, garantindo a não utilização das informações em prejuízo das pessoas e/ou das comunidades, inclusive em termos de autoestima, de prestígio e/ou de aspectos econômico-financeiros;

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Prezado Pesquisador, vosso projeto possui relevância e foi aprovado.

**Endereço:** Praça Mascarenhas de Moraes, 8482  
**Bairro:** Umuarama **CEP:** 87.502-210  
**UF:** PR **Município:** UMUARAMA  
**Telefone:** (44)3621-2849 **Fax:** (44)9127-7860 **E-mail:** cepeh@unipar.br

UNIVERSIDADE PARANAENSE  
- UNIPAR



Continuação do Parecer: 5.010.389

Recomenda-se, no entanto, considerar a possibilidade de quebra de confidencialidade e lesão ao direito à privacidade dos participantes da pesquisa.

At.

CEPEH

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Aprovado.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1816691.pdf	27/08/2021 13:34:56		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	apendice1fichapropriedadeautorizacao.pdf	27/08/2021 13:31:37	Daniela Dib Gonçalves	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	apendice3questionarioordenhadortcle.pdf	27/08/2021 13:31:23	Daniela Dib Gonçalves	Aceito
Folha de Rosto	folharostroassinada.pdf	27/08/2021 13:30:56	Daniela Dib Gonçalves	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto3107.pdf	27/08/2021 13:30:48	Daniela Dib Gonçalves	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Endereço:** Praça Mascarenhas de Moraes, 8482  
**Bairro:** Umuarama **CEP:** 87.502-210  
**UF:** PR **Município:** UMUARAMA  
**Telefone:** (44)3621-2849 **Fax:** (44)9127-7860 **E-mail:** cepeh@unipar.br

UNIVERSIDADE PARANAENSE  
- UNIPAR



Continuação do Parecer: 5.010.389

UMUARAMA, 30 de Setembro de 2021

---

**Assinado por:**  
**RICARDO MUCIATO MARTINS**  
**(Coordenador(a))**

**Endereço:** Praça Mascarenhas de Moraes, 8482  
**Bairro:** Umuarama **CEP:** 87.502-210  
**UF:** PR **Município:** UMUARAMA  
**Telefone:** (44)3621-2849 **Fax:** (44)9127-7860 **E-mail:** cepeh@unipar.br

## ANEXO 6 - Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Experimentação Animal (CEPEEA)

**UNIVERSIDADE PARANAENSE - UNIPAR**

Reconhecida pela Portaria - MEC Nº 1580, DE 09/11/93 - D.O.U. 10/11/93

**Mantenedora: Associação Paranaense de Ensino e Cultura - APEC****COORDENADORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO - COPG**

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ENVOLVENDO EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CEPEEA)

**CERTIFICADO**

Certificamos que o projeto intitulado "IDENTIFICAÇÃO E AVALIAÇÃO DO PERFIL DE RESISTÊNCIA DE MICRORGANISMOS CAUSADORES DE MASTITE BOVINA PRESENTES EM LEITE, MÃO DOS ORDENHADORES E EQUIPAMENTOS DE ORDENHA", protocolo 39271/2022, sob a responsabilidade de DANIELA DIB GONCALVES, - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº. 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), tendo sido aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Universidade Paranaense - UNIPAR em reunião realizada em 07/02/2022.

We hereby certify that the project "IDENTIFICAÇÃO E AVALIAÇÃO DO PERFIL DE RESISTÊNCIA DE MICRORGANISMOS CAUSADORES DE MASTITE BOVINA PRESENTES EM LEITE, MÃO DOS ORDENHADORES E EQUIPAMENTOS DE ORDENHA", protocol n.39271/2022, under the responsibility of DANIELA DIB GONCALVES – involving production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (with the exception of Man), for scientific or teaching purposes – complies with Law n. 11.794, published on October 8, 2008, by Decree n. 6.899 of July 15, 2009, and with norms published by the Brazilian Council for the Control of Animal Experiments (CONCEA), and approved by the COMMITTEE FOR ETHICS IN THE USE OF ANIMALS (CEUA) of UNIPAR - Universidade Paranaense at the meeting held on 02/07/2022.

UMUARAMA - PR, 07/08/2022.

Salviano Tramontin Beletini  
Presidente CEPEEA/UNIPAR

Registro Nº:39271

Lucilene do Nascimento Castilho Monteiro  
Secretária CEPEEA/UNIPAR

**UNIVERSIDADE PARANAENSE - UNIPAR**

Reconhecida pela Portaria - MEC Nº 1580, DE 09/11/93 - D.O.U. 10/11/93

**Mantenedora: Associação Paranaense de Ensino e Cultura - APEC****COORDENADORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO - COPG**

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ENVOLVENDO EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CEPEEA)

Vigência do Projeto / Duration of the Project	Fevereiro a Novembro de 2022
Espécie/Linhagem / Species/Pedigree	Bovino / Holandeses e Mestiço
Nº de animais / N. of animals	180
Peso/Idade / Weight/Age	500kg / acima de 2 anos
Sexo / Sex	Não Definido / Undefined
Origem / Origin	Fazenda