BACTERIÓFAGOS COMO ALTERNATIVA AO USO DE ANTIMICROBIANOS NO TRATAMENTO DA MASTITE BOVINA: REVISÃO DE LITERATURA

Caroline Santos de Souza, Caio Matias de Oliveira, Gustavo Henrique Alves Ramos, Joana Rocha Uliana, Marivan da Conceição Monteiro, Felipe Berbari Neto, Dirlei Molinari Donatele.

Universidade Federal do Espírito Santo/Departamento de Medicina Veterinária, Alto Universitário, s/nº, Guararema - 29.500-000 - Alegre-ES, Brasil, carol028santos@gmail.com, caio.m.oliveira@edu.ufes.br, ghalvesramos@gmail.com, joanauliana@gmail.com, marivandaconceicaomonteiro3@gmail.com, felipe.berbari@ufes.br, dirlei.donatele@ufes.br.

Resumo
Em razão da disseminação da resistência antimicrobiana causada pelo uso indiscriminado de antibióticos, a fagoterapia, a utilização de vírus que infectam especificamente as bactérias, tem sido investigada como estratégia para o controle de agentes bacterianos associados à mastite bovina. Este estudo teve como objetivo revisar as evidências disponíveis sobre a utilização de bacteriófagos nessa enfermidade. A revisão analisou estudos sobre a atividade de bacteriófagos isolados e de coquetéis fágicos contra diferentes agentes etiológicos, reunindo avaliações laboratoriais e modelos experimentais. Os resultados indicaram atividade contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, incluindo cepas resistentes aos antimicrobianos, com redução da carga bacteriana e de parâmetros inflamatórios em diferentes condições experimentais. Portanto, o uso de bacteriófagos surge como uma ferramenta promissora para enfrentar a mastite, mas o avanço do tratamento depende de novos estudos para consolidar sua aplicação prática na rotina veterinária.
Palavras-chave: Fagoterapia. Fagos. Antibióticos. Resistência Antimicrobiana.

Área do Conhecimento: Ciências da Saúde - Medicina Veterinária.

Introdução

A mastite bovina é uma das principais enfermidades que afeta a bovinocultura leiteira, causando expressivos prejuízos econômicos em decorrência da redução da produção de leite, da piora da sua qualidade e do consequente descarte do produto (Cheng; Han, 2020).

A mastite caracteriza-se pela inflamação da glândula mamária, frequentemente decorrente de infecções bacterianas. Alguns dos principais agentes etiológicos envolvidos incluem *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Streptococcus agalactiae* (*S. agalactiae*) e *Escherichia coli* (*E. coli*). Atualmente o tratamento da infecção baseia-se na utilização de antibióticos, todavia, o uso indiscriminado desses medicamentos tem contribuído para a emergência de bactérias multirresistentes, reduzindo a eficácia terapêutica e aumentando a preocupação acerca da resistência aos antimicrobianos (Cheng; Han, 2020). Além dos impactos na saúde animal, a resistência representa um importante desafio para a saúde pública dentro da abordagem *One Health* considerando os potenciais riscos à saúde humana e à possibilidade de resíduos nas carcaças e no leite dos animais (Ferreira; Voss, 2024).

A terapia com a utilização de bacteriófagos tem despertado crescente interesse como estratégia promissora para o tratamento da mastite bovina. Os bacteriófagos são vírus capazes de infectar bactérias e após a replicação no seu interior, causar a lise celular (Domínguez Navarrete, 2020). Esses microrganismos possuem elevada especificidade para as células bacterianas, preservando as células do hospedeiro e causando impacto mínimo sobre o microbioma (Nale; McEwan, 2023).

O presente trabalho tem como objetivo realizar uma revisão de literatura sobre a fagoterapia como alternativa ao uso de antimicrobianos no tratamento da mastite bovina, abordando sua eficácia, mecanismo de ação, vantagens, limitações e perspectivas futuras para o controle da doença e para o enfrentamento da resistência bacteriana.

Metodologia

Este estudo caracteriza-se como uma revisão narrativa de literatura. A pesquisa foi realizada por meio de bases de dados como PubMed, SciELO, Google Acadêmico, Biblioteca Digital Brasileira de Teses e Dissertações (BDTD), NCBI Bookshelf e complementada por artigos publicados de acesso aberto. Os termos procurados incluíram "Bacteriófagos", "Terapia Fágica", "Mastite Bovina", "Resistência Antimicrobiana" e "Saúde Única". Foram selecionados exclusivamente artigos publicados entre 2016 e 2026. Como critérios de inclusão foram considerados artigos originais, artigos de revisão e documentos científicos relacionados ao tema proposto, publicados em português, inglês ou espanhol.

Resultados

Os estudos selecionados apresentam resultados relacionados à utilização de bacteriófagos contra diferentes agentes da mastite bovina, principalmente *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. As investigações incluíram ensaios *in vitro*, avaliações em leite, modelos murinos e estudos realizados em bovinos. A Tabela 1 apresenta evidências científicas a respeito da fagoterapia relacionada ao tratamento de mastite utilizadas neste trabalho de revisão.

Tabela 1 - Síntese das evidências científicas sobre a eficácia da fagoterapia no tratamento da mastite bovina.

Autor (Ano)	Efeitos observados
Breyne *et al.* (2017)	Eficácia e segurança no controle da infecção intramamária em modelo murino.
Iwano *et al.* (2018)	Redução da proliferação de *S. aureus* e atenuação da resposta inflamatória tecidual em modelo murino.
Titze *et al.* (2020)	Suscetibilidade *in vitro* de aproximadamente dois terços das cepas de *S. aureus* a pelo menos um fago do coquetel.
Guo *et al.* (2021)	Redução da carga bacteriana e de parâmetros inflamatórios em modelo bovino de mastite induzida.
Brouillette *et al.* (2023)	Atividade bactericida dose-dependente *in vitro* e estabilidade térmica em leite.
Królikowska *et al.* (2024)	Inibição do biofilme de *S. aureus in vitro* e redução da carga bacteriana em leite
Banar *et al.* (2025)	Redução da carga bacteriana e de citocinas pró-inflamatórias em modelo murino.
Krömker *et al.* (2026)	Aumento na taxa de cura bacteriológica em vacas naturalmente infectadas e tratadas via intramamária; sem alteração na contagem de células somáticas.

Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Os estudos analisados demonstraram que a fagoterapia utiliza predominantemente bacteriófagos líticos, devido à capacidade desses vírus de promover a lise das bactérias-alvo (Loponte *et al*., 2021). A especificidade dos fagos foi observada nos diferentes tipos de atividade apresentados contra isolados bacterianos da mastite bovina. A variação na suscetibilidade entre os isolados levou à utilização de combinações de diferentes fagos como estratégia para ampliar a cobertura bacteriana (Titze *et al*., 2020).

Na pesquisa direcionada a *Staphylococcus aureus*, Iwano *et al*. (2018) investigaram bacteriófagos isolados de bovinos com mastite, incluindo os fagos ΦSA012 e ΦSA039. Ao avaliar o potencial terapêutico do fago ΦSA012 em um modelo murino de mastite, os autores observaram redução da carga bacteriana de *S. aureus* acompanhada de menor resposta inflamatória tecidual.

A investigação de coquetéis contra formas resistentes de *S. aureus* também foi aprofundada por Banar *et al*. (2025) que caracterizaram dois novos bacteriófagos líticos, SW21 e SW25, a combinação ampliou a atividade contra o patógeno e em modelo murino reduziu significativamente a carga bacteriana, além disso o estudo também apresentou diminuição na concentração de citocinas pró-inflamatórias na glândula mamária, como o fator de necrose tumoral alfa (TNF-α) e a interleucina-1 beta (IL-1β).

A utilização de combinações de fagos foi investigada por Breyne *et al*. (2017) em modelo murino de mastite, demonstrando potencial da abordagem para o controle da infecção. Em estudo posterior, Titze *et al*. (2020) avaliaram três fagos contra 92 isolados de *S. aureus* provenientes de casos clínicos e subclínicos de mastite bovina, observando que aproximadamente dois terços dos isolados foram suscetíveis a pelo menos um dos fagos avaliados.

Brouillette *et al*. (2023) avaliaram um coquetel contendo os fagos SAML-4, SAML-12, SAML-150, SAML-229 e SATA-8505, que apresentou atividade bactericida *in vitro* de forma dose-dependente. O coquetel também demonstrou estabilidade em leite em diferentes condições de temperatura durante os períodos avaliados, se mantendo estável por até uma semana a 4ºC.

Entre os patógenos Gram-negativos, Guo *et al*. (2021) investigaram os bacteriófagos líticos SYGD1, SYGE1 e SYGMH1 contra *Escherichia coli*. Em vacas com mastite experimentalmente induzida por uma cepa de *E. coli* resistente a antimicrobianos, a preparação fágica promoveu redução da carga bacteriana e dos parâmetros inflamatórios avaliados, além da redução de contagem de células somáticas (CCS).

O desenvolvimento de preparações contendo múltiplos fagos foi investigado também especificamente por Królikowska *et al*. (2024). Os autores desenvolveram uma solução anti-mastite composta por fagos selecionados contra *E. coli* e *S. aureus*, submetidos a caracterização genômica e bioinformática, incluindo sequenciamento, anotação funcional, análise de proteínas estruturais e identificação de proteínas de ligação ao receptor (RBPs), permitindo identificar os receptores bacterianos e classificar as bactérias. O coquetel apresentou atividade em modelo de leite e também foi investigado quanto à atividade relacionada a biofilmes.

Mais recentemente, Krömker *et al*. (2026) avaliaram, em vacas leiteiras naturalmente infectadas por *S. aureus*, a eficácia de um coquetel de bacteriófagos administrado por via intramamária. O tratamento foi associado a uma maior taxa de cura bacteriológica em comparação ao grupo controle, enquanto não foram observadas diferenças significativas na contagem de células somáticas.

Discussão

Os estudos analisados indicam que a fagoterapia apresenta potencial para o controle de diferentes bactérias associadas à mastite bovina, com resultados experimentais contra patógenos Gram-positivos e Gram-negativos. A variedade de agentes e modelos avaliados demonstra a amplitude das possibilidades de aplicação dessa estratégia, embora as evidências disponíveis ainda apresentem diferenças importantes quanto aos métodos e condições experimentais (Nale; McEwan, 2023).

A especificidade dos bacteriófagos constitui uma característica relevante para sua utilização terapêutica, uma vez que sua ação é direcionada às bactérias suscetíveis (Nale; McEwan, 2023). Entretanto, os diferentes perfis de suscetibilidade observados entre isolados de *S. aureus* demonstram que o tratamento com um único fago pode apresentar atividade limitada frente à diversidade de cepas envolvidas na mastite bovina, incluindo isolados resistentes (Titze *et al*., 2020).

A utilização de multifagos representa uma estratégia para ampliar a cobertura bacteriana e reduzir as limitações relacionadas ao espectro de hospedeiros dos fagos. Os resultados obtidos por Królikowska *et al*. (2024) demonstram que a combinação de fagos com diferentes especificidades pode ampliar a cobertura da preparação frente às cepas avaliadas, reforçando o potencial dos coquetéis.

A atividade observada contra bactérias resistentes aos antimicrobianos reforça o interesse da fagoterapia como alternativa diante da crescente limitação dos tratamentos convencionais. Guo *et al*. (2021) demonstraram a aplicação de bacteriófagos contra *E. coli* resistente a antimicrobianos em modelo de mastite, evidenciando a possibilidade de utilização dessa abordagem contra infecções causadas por cepas com resistência aos tratamentos convencionais.

Os resultados também são relevantes no caso de *S. aureus*, pois Banar *et al.* (2025) observaram atividade de fagos líticos contra cepas resistentes e redução da infecção em modelo murino. Além disso, segundo Królikowska *et al*. (2024), fagos líticos possuem enzimas capazes de degradar a matriz polimérica extracelular de biofilmes, atuando sobre uma estrutura que pode comprometer a eficácia da antibioticoterapia convencional. Isso responde diretamente à abordagem *One Health* ao reduzir o uso de antibióticos criticamente importantes para a saúde humana e diminuir o risco de resíduos químicos no leite e na carne, sugerindo dessa forma que a fagoterapia pode representar uma estratégia complementar aos antimicrobianos.

A variabilidade de susceptibilidade entre isolados representa um desafio para a extrapolação dos resultados obtidos experimentalmente. A concentração de estudos direcionados a *S. aureus* demonstra a relevância desse patógeno para o desenvolvimento de estratégias alternativas de controle da mastite bovina. Iwano *et al*. (2018), por exemplo, observaram redução da proliferação bacteriana e da resposta inflamatória em modelo murino, indicando que a ação dos fagos pode ultrapassar os resultados obtidos exclusivamente em testes *in vitro*. Entretanto, os diferentes resultados encontrados entre isolados por

Titze *et al*. (2020) demonstram que a eficácia não pode ser considerada uniforme para todas as cepas de *S. aureus*. Dessa forma, a eficácia da fagoterapia depende não apenas da atividade do fago mas também da compatibilidade entre fago e isolado bacteriano.

A comparação entre estudos *in vitro*, avaliações realizadas em leite, modelos murinos e estudos em bovinos deve ser realizada com cautela, pois as condições experimentais podem influenciar a atividade observada. Trabalhos pioneiros em camundongos, como o de Breyne *et al*. (2017), destacam que os modelos murinos são essenciais para uma triagem inicial rápida e segura da eficácia e segurança biológica de novos tratamentos. Na mesma linha, Brouillette *et al.* (2023) evidenciaram a eficácia terapêutica do coquetel fágico StaphLyse™ no combate à infecção intramamária por *S. aureus* em camundongos, além de demonstrarem a estabilidade dos fagos no leite, reforçando a utilidade de modelos experimentais antes do avanço para ensaios em bovinos.

A avaliação de Królikowska *et al*. (2024) em leite e biofilmes também demonstra a importância de utilizar condições que se aproximem progressivamente do ambiente encontrado durante a mastite. Assim, resultados obtidos em modelos laboratoriais e experimentais devem ser interpretados de forma complementar na avaliação da fagoterapia, uma vez que cada modelo permite a investigação de diferentes aspectos da atividade dos fagos.

Em bovinos naturalmente infectados por *S. aureus*, Krömker *et al*. (2026) observaram maior taxa de cura bacteriológica em vacas tratadas com multifagos administrados por via intramamária. Entretanto, a ausência de diferença significativa na contagem de células somáticas demonstra que diferentes indicadores de resposta ao tratamento podem apresentar comportamentos distintos. Esse achado evidencia a necessidade de avaliações que considerem simultaneamente parâmetros microbiológicos, inflamatórios e clínicos durante a investigação da eficácia da fagoterapia. Embora a eliminação do patógeno represente um resultado favorável, a resolução da resposta inflamatória pode não ocorrer concomitantemente. Nesse sentido, os resultados em bovinos contrastam com aqueles observados em modelos murinos por Iwano *et al*. (2018), Banar *et al*. (2025) e Guo *et al*. (2021), nos quais foram relatadas reduções dos parâmetros inflamatórios.

A seleção dos bacteriófagos representa uma etapa determinante para o desenvolvimento de preparações terapêuticas eficazes. Królikowska *et al*. (2024) demonstraram a utilização de análises genômicas e bioinformáticas na caracterização dos fagos selecionados, incluindo a investigação de proteínas relacionadas à interação com as bactérias hospedeiras. A caracterização das proteínas de ligação ao receptor (RBPs) pode contribuir para a identificação dos receptores reconhecidos pelos fagos e fornecer informações para a seleção e combinação de fagos com diferentes especificidades. Nesse sentido, o conhecimento das características dos fagos favorece o desenvolvimento racional de coquetéis com maior abrangência e potencial para dificultar a seleção de bactérias resistentes. Além da identificação de atividade contra o patógeno, a caracterização dos fagos é necessária para avaliar características relevantes à segurança e a adequação para uso terapêutico como destacado por Loponte *et al*. (2021).

Apesar dos resultados favoráveis identificados, a utilização da fagoterapia para mastite bovina ainda apresenta limitações relacionadas à especificidade dos fagos, à variação entre isolados bacterianos e à necessidade de desenvolvimento de preparações com cobertura adequada (Nale; McEwan, 2023). A ampliação dos estudos em animais naturalmente infectados também permanece necessária para determinar protocolos de aplicação mais próximos das condições encontradas na prática veterinária. Nesse contexto, o desenvolvimento de coquetéis racionalmente selecionados e a realização de estudos clínicos em bovinos podem contribuir para o avanço da fagoterapia como alternativa ou complemento aos antimicrobianos, acelerando a cura clínica e reduzindo a inflamação concomitantemente.

As evidências clínicas ainda são mais limitadas do que as experimentais, como demonstrado pela quantidade de estudos *in vitro* e em modelos animais em comparação aos trabalhos realizados diretamente em rebanhos leiteiros (Krömker *et al*., 2026). Por isso, estudos sobre as características dos fagos que resultem em soluções clínicas são desejados, como o interesse em formulações que melhorem o tempo de retenção intramamária dos fagos entre as ordenhas.

Conclusão

Os estudos analisados indicam que a fagoterapia apresenta grande potencial para o controle de bactérias associadas à mastite bovina. Entretanto, a especificidade dos fagos e a variabilidade de suscetibilidade entre os isolados bacterianos representam desafios para sua aplicação, destacando a

importância da seleção adequada dos fagos e do desenvolvimento de coquetéis. Embora os resultados experimentais *in vitro* e em modelos de camundongo sejam muito promissores, os resultados obtidos diretamente em vacas leiteiras em condições reais de produção ainda são limitados. Dessa forma, estudos clínicos são necessários para estabelecer a eficácia e os protocolos de utilização da fagoterapia no controle da mastite bovina.

Referências

BANAR, M.; KAMYAB, H.; TORKASHVAND, N.; ZAHRAEI SALEHI, T.; SEPEHRIZADEH, Z.; SHAHVERDI, A. R.; POURMAND, M. R.; YAZDI, M. H. A novel broad-spectrum bacteriophage cocktail against methicillin-resistant Staphylococcus aureus: Isolation, characterization, and therapeutic potential in a mastitis mouse model. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 20, n. 1, art. e0316157, p. 1-18, 2025. DOI: 10.1371/journal.pone.0316157. Disponível em: https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0316157. Acesso em: 19 ago. 2026.

BREYNE, K.; HONAKER, R. W.; HOBBS, Z.; RICHTER, M.; ŻACZEK, M.; SPANGLER, T.; STEENBRUGGE, J.; LU, R.; KINKHABWALA, A.; MARCHON, B.; MEYER, E.; MOKRES, L. Efficacy and Safety of a Bovine-Associated Staphylococcus aureus Phage Cocktail in a Murine Model of Mastitis. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 8, art. 2348, p. 1-13, 2017. DOI: 10.3389/fmicb.2017.02348. Disponível em: https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2017.02348/full. Acesso em: 19 ago. 2026.

BROUILLETTE, E.; MILLETTE, G.; CHAMBERLAND, S.; ROY, J.-P.; STER, C.; KIROS, T.; HICKEY, S.; HITTLE, L.; WOOLSTON, J.; MALOUIN, F. Effective Treatment of Staphylococcus aureus Intramammary Infection in a Murine Model Using the Bacteriophage Cocktail StaphLyse™. **Viruses**, Basel, v. 15, n. 4, art. 887, p. 1-15, 2023. DOI: 10.3390/v15040887. Disponível em: https://www.mdpi.com/1999-4915/15/4/887. Acesso em: 19 ago. 2026.

CHENG, W. N.; HAN, S. G. Bovine mastitis: risk factors, therapeutic strategies, and alternative treatments—A review. **Animal Bioscience**, Seoul, v. 33, n. 11, p. 1699–1713, 2020. DOI: 10.5713/ajas.20.0156. Disponível em: https://www.animbiosci.org/journal/view.php?doi=10.5713/ajas.20.0156. Acesso em: 4 ago. 2026

DOMÍNGUEZ NAVARRETE, N. Bacteriófagos. **Revista de la Facultad de Medicina Humana**, Lima, v. 20, n. 1, p. 164–165, jan. 2020. DOI: 10.25176/RFMH.v20i1.2558. Disponível em: https://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2308-05312020000100164&lng=es&nrm=iso&tlng=es. Acesso em: 4 ago. 2026.

FERREIRA, C. S.; VOSS, E. S. **Resíduos de antibióticos em carne e leite de origem bovina no Brasil e seu impacto para a saúde única**. 2024. 50 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Medicina Veterinária) – Centro de Ciências Agrárias, Unidade Viçosa, Universidade Federal de Alagoas, Viçosa, 2024. Disponível em: https://www.repositorio.ufal.br/jspui/handle/123456789/17399. Acesso em: 4 ago. 2026.

GUO, M.; GAO, Y.; XUE, Y.; LIU, Y.; ZENG, X.; CHENG, Y.; MA, J.; WANG, H.; SUN, J.; WANG, Z.; YAN, Y. Bacteriophage Cocktails Protect Dairy Cows Against Mastitis Caused By Drug Resistant Escherichia coli Infection. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, Lausanne, v. 11, art. 690377, p. 1-13, 2021. DOI: 10.3389/fcimb.2021.690377. Disponível em: https://www.frontiersin.org/journals/cellular-and-infection-microbiology/articles/10.3389/fcimb.2021.690377/full. Acesso em: 19 ago. 2026.

IWANO, H.; INOUE, Y.; TAKASAGO, T.; KOBAYASHI, H.; FURUSAWA, T.; TANIGUCHI, K.; FUJIKI, J.; YOKOTA, H.; USUI, M.; TANJI, Y.; HAGIWARA, K.; HIGUCHI, H.; TAMURA, Y. Bacteriophage ΦSA012 Has a Broad Host Range against Staphylococcus aureus and Effective Lytic Capacity in a Mouse Mastitis Model. **Biology**, Basel, v. 7, n. 1, art. 8, p. 1-13, 2018. DOI: 10.3390/biology7010008. Disponível em: https://www.mdpi.com/2079-7737/7/1/8. Acesso em: 19 ago. 2026.

KRÓLIKOWSKA, D.; SZYMAŃSKA, M.; KRZYŻANIAK, M.; GUZIŃSKI, A.; MATUSIAK, R.; KAJDANEK, A.; KACZOREK-ŁUKOWSKA, E.; MASZEWSKA, A.; WÓJCIK, E. A.; DASTYCH, J. A New Approach for Phage Cocktail Design in the Example of Anti-Mastitis Solution. **Pathogens**, Basel, v. 13, n. 10, art. 839, p. 1-15, 2024. DOI: 10.3390/pathogens13100839. Disponível em: https://www.mdpi.com/2076-0817/13/10/839. Acesso em: 19 ago. 2026.

KRÖMKER, V.; LEIMBACH, S.; TELLEN, A.; WENTE, N.; SCHMIDT, J.; LEHNHERR, H.; NANKEMANN, F. Randomized, Negative-Controlled Pilot Study on the Treatment of Intramammary Staphylococcus aureus Infections in Dairy Cows with a Bacteriophage Cocktail. **Antibiotics**, Basel, v. 15, n. 1, art. 32, p. 1-13, 2026. DOI: 10.3390/antibiotics15010032. Disponível em: https://www.mdpi.com/2079-6382/15/1/32. Acesso em: 19 ago. 2026.

LOPONTE, R.; PAGNINI, U.; IOVANE, G.; PISANELLI, G. Phage Therapy in Veterinary Medicine. **Antibiotics**, Basel, v. 10, n. 4, art. 421, p. 1-22, 2021. DOI: 10.3390/antibiotics10040421. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33920369/. Acesso em: 21 ago. 2026.

NALE, J. Y.; MCEWAN, N. R. Bacteriophage Therapy to Control Bovine Mastitis: A Review. **Antibiotics**, Basel, v. 12, n. 8, art. 1307, 2023. DOI: 10.3390/antibiotics12081307. Disponível em: https://www.mdpi.com/2079-6382/12/8/1307. Acesso em: 4 ago. 2026.

TITZE, I.; LEHNHERR, T.; LEHNHERR, H.; KRÖMKER, V. Efficacy of Bacteriophages Against Staphylococcus aureus Isolates from Bovine Mastitis. **Pharmaceuticals**, Basel, v. 13, n. 3, art. 35, p. 1-15, 2020. DOI: 10.3390/ph13030035. Disponível em: https://www.mdpi.com/1424-8247/13/3/35. Acesso em: 19 ago. 2026.