

Efeito de uma solução hidratante/antisséptica de goma guar em óleo de melaleuca na região periorbitária de cães domésticos

Effect of a moisturizing/antiseptic solution of guar gum in tea tree oil in the periorbital region of domestic dogs

Efecto de una solución hidratante/antiséptica de goma guar en aceite de árbol de té en la región periorbitaria de perros domésticos

Recebido: 19/12/2022 | Revisado: 31/12/2022 | Aceitado: 02/01/2023 | Publicado: 11/01/2023

Rodolfo de Melo Nunes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1428-4502>
Universidade Federal do Ceará, Brasil
E-mail: rodolfo_k6@yahoo.com.br

Virginia Claudia Carneiro Girão-Carmona

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0676-8585>
Universidade Federal do Ceará, Brasil
E-mail: virginia.girao@ufc.br

Ana Carolina Matias Dinelly Pinto

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2411-6708>
Universidade Federal do Ceará, Brasil
E-mail: caroldinelly@hotmail.com

Francisco Ailton Castro da Rocha

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4370-3294>
Universidade Federal do Ceará, Brasil
E-mail: arocha@ufc.br

Resumo

Produtos destinados à assepsia de cães portadores de conjuntivite são utilizados na limpeza periorbitária para retirar secreção e excesso de lágrima. Habitualmente, utilizam-se produtos quimicamente modificados, buscando evitar irritação local ou rejeição dos animais à sua utilização. Um dos fatores limitantes é o odor, em face desse sentido ser muito aguçado em cães. Produtos de componentes naturais têm mais facilidade de aceitação pelos animais e devem ter ação antisséptica ampla, evitando irritação dos olhos além de reduzir proliferação microbiana e de ectoparasitas. Determinamos a tolerância de cães domésticos a uma solução de goma guar em óleo de melaleuca, compostos com ampla utilização em humanos e animais, com segurança documentada. Aplicamos solução de goma guar com melaleuca à 1% (Eyepet®) em 30 animais selecionados aleatoriamente, com supervisão de seus tutores. Todos os animais tiveram ótima tolerabilidade, sem qualquer sinal de irritação local ou toxicidade sistêmica. Ainda que o senso comum indicasse que a solução de goma guar-melaleuca seria bem tolerada, nossos resultados são relevantes por confirmar a segurança do uso dessa solução para a assepsia periorbitária de cães.

Palavras-chave: Goma guar; Melaleuca; Antissepsia.

Abstract

Conjunctivitis cleaners used to remove periorbital cleaners used to remove and remove cleaning products. Usually, chemically modified products are used, seeking their local preference or animal rejection. One of the limiting factors is odor, as this sense is very sharp in dogs. Natural component products are more easily handled by animals and more easily acted upon by natural, microbial and parasitic reduction eye products. We determined the tolerance of domestic animals to a solution of guar gum in tea tree oil, compounded with wide use in humans and animals, with documented safety. We applied the 1% tea tree guar gum solution (Eyepet®) in 30 randomly selected animals, under the supervision of their tutors. All animals had excellent tolerability, without any sign of good local tolerance or systemic toxicity. Although the common sense solution indicated that a solution of guar-melaleuca gum would be well tolerated, our results are relevant to guarantee the safety of the use of this common one for the periorbital asepsis of dogs.

Keywords: Guar gum; Tea tree; Antisepsis.

Resumen

Los productos destinados a la asepsia de perros con conjuntivitis se utilizan en la limpieza periorbitaria para eliminar las secreciones y el exceso de lágrimas. Habitualmente se utilizan productos químicamente modificados, buscando evitar la irritación local o el rechazo animal a su uso. Uno de los factores limitantes es el olfato, ya que este sentido es

muy agudo en los perros. Los productos con componentes naturales son más fácilmente aceptados por los animales y deben tener una amplia acción antiséptica, evitando la irritación de los ojos además de reducir la proliferación microbiana y de ectoparásitos. Determinamos la tolerancia de perros domésticos a una solución de goma guar en aceite de árbol de té, compuestos ampliamente utilizados en humanos y animales, con seguridad documentada. Se aplicó una solución al 1% de goma guar con árbol de té a 30 animales seleccionados al azar, bajo la supervisión de sus tutores. Todos los animales tuvieron una tolerabilidad excelente, sin ningún signo de irritación local o toxicidad sistémica. Aunque el sentido común indicaba que la solución de goma de árbol de té de guar sería bien tolerada, nuestros resultados son relevantes para confirmar la seguridad del uso de esta solución para la asepsia periorbitaria en perros.

Palabras clave: Goma guar; Melaleuca; Antisepsia.

1. Introdução

A goma guar (GG) é um importante polissacarídeo derivado do endosperma da semente da planta feijão guar ou cacho, cientificamente conhecida como *Cyamopsis tetragonolobus* (Sharma et al., 2018). Cultivada na Índia e no Paquistão, a GG hidrata tanto em água fria quanto em água quente, formando soluções viscosas. Devido ao seu baixo custo, fácil cultivo e excelentes propriedades reológicas, a GG e seus derivados são amplamente utilizados nas indústrias química, têxtil, alimentícia, cosmética e farmacêutica (Thombare et al., 2016; Mandal et al., 2022; Castro et al., 2016). Nestas últimas, formulações com GG têm uma forte tendência de formação de ligação de hidrogênio na água que a torna excelente espessante e estabilizante.

O óleo de Melaleuca (OM) tornou-se cada vez mais popular nas últimas décadas. Este óleo essencial foi descoberto na Austrália, mas agora está disponível em todo o mundo para a comercialização (Carson et al., 2006). Os principais usos do OM são como antissépticos, antioxidantes e anti-inflamatórios (Pazyar et al., 2013; Yasin et al., 2021). Em formulações dermatológicas, os estudos têm sugerido o uso do OM para o tratamento de acne vulgar, dermatite seborreica e gengivite crônica. Também a sua aplicação sobre a pele é capaz de acelerar o processo de cicatrização de feridas (Yasin et al., 2021).

A higienização da região periorbitária (RP) do cão diariamente é extremamente importante. Isso porque as secreções se acumulam e solidificam em volta dos olhos diante da falta de remoção delas cotidianamente. Além disso, elas podem contribuir para a proliferação dos microrganismos, o desenvolvimento de conjuntivite e até úlceras de córnea (Varandas et al., 2020; Hindley et al., 2016). Sendo assim, a remoção do acúmulo pode prevenir o aparecimento de infecções, inflamações e lesões em volta dos olhos.

Alguns tutores limpam com gaze ou algodão secos ou embebidos em solução fisiológica. Entretanto, gaze e algodão secos são irritantes. Também gaze ou algodão embebidos em solução fisiológica podem ser ainda mais irritantes, uma vez que fragmentos da gaze ou do algodão se soltam quando em solução. Outra limitação do uso da solução fisiológica é que ela não possui nenhum componente com atividade antisséptica e/ou anti-inflamatória. Além disso, a solução fisiológica é incapaz de remover de forma completa os compostos insolúveis em água que estão presentes na secreção, principalmente quando a secreção fica mais intensa e mucosa em quadro de alergias, conjuntivite e, até mesmo, inflamações da córnea (Williams et al., 2017).

Cães são frequentemente acometidos por conjuntivite, muitas vezes de natureza apenas irritativa (Gellatt et al., 2003). Sendo assim, o desenvolvimento de uma solução homogênea a partir da combinação de dois produtos naturais (GG e OM) com propriedades antissépticas e hidratante para a região periorbitária, ao nosso conhecimento inexistente para comercialização veterinária, deve ter tendência de boa aceitação pelos tutores dos animais, em face da grande chance de boa tolerabilidade, reduzindo o uso de substâncias quimicamente modificadas. Nosso objetivo foi determinar a tolerabilidade de uma solução de GG em OM à 1% para uso na assepsia periorbitária de cães.

2. Metodologia

2.1 Preparação de uma solução de goma guar 4% em óleo de melaleuca 1% (Eyepet®)

10L de uma solução-estoque de salina tampão fosfato (PBS 10x) foram preparados, dissolvendo-se 800 g de NaCl, 20 g de KCl, 144 g de Na₂HPO₄ e 24 g de KH₂PO₄ em 8 L de água destilada. Após a completa dissolução, o volume final da solução é levado a 10 L, adicionando-se água destilada. O pH da solução foi estabilizado em ~6.8, mas ao diluir ao valor de 1x, o pH chega a 7.4. Após diluição, o PBS 1x resultante tem concentração final de NaCl 137 mM, Fosfato 10 mM, KCl 2.7 mM, e um pH de 7.4.

2.2 Formulação empregada

Goma guar 40 mg + Óleo de Melaleuca 1mL +PBS 100 mL; pH=7.4 (Eyepet®) mantida à temperatura ambiente. Animais: Cães de qualquer raça, após aprovação de seus tutores, conforme termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), em anexo. Utilizamos 30 animais para teste da solução de goma guar em óleo de melaleuca 1% (GGM). Preparo dos animais: Os animais foram examinados e pesados por uma médica veterinária (VCCG) para assegurar suas condições de saúde. Aplicação: Foi utilizada gaze estéril umedecida na solução de GGM (Eyepet®) para limpeza da região periorbitária do olho esquerdo (ou do contralateral caso apresentasse mais secreção) para retirada de excesso de lágrima ou outra secreção oftálmica que o animal apresentasse, uma vez por dia, por 3 dias seguidos. O olho contralateral foi usado como grupo controle e não recebeu aplicação da solução GGM (Eyepet®). A manipulação dos animais e o protocolo para o estudo *in vivo* de toxicidade ocular foram adaptados a partir do estudo de Alves (2003).

2.3 Teste de tolerância ocular de dose única

Leitura: Foram realizadas 4 leituras 1, 6, 12 e 24 horas após o uso das soluções para observar as condições da conjuntiva dos animais bem como da região periorbitária registrando-se alterações e gradações de eventuais alterações na conjuntiva. Neste teste, um olho serve como alvo de tratamento e o outro como controle. As áreas em torno dos olhos, incluindo as pálpebras, conjuntiva, córnea e íris, também foram examinadas durante o ensaio.

2.4 Teste de tolerância ocular de dose repetida

Leitura: A tolerância de uso repetido foi avaliada conforme descrito acima pela aplicação nos 3 dias seguidos. Uma outra avaliação foi realizada 1 semana após a primeira aplicação. As áreas em torno dos olhos, incluindo as pálpebras, conjuntiva, córnea e íris, também são examinadas durante o ensaio. Avaliação dos Resultados: Etapa I - A – Determinação da quantificação da lesão ocular para cada animal, com base nas leituras após 1h, 24h e 48h, conforme abaixo: $Lxt = (Ax5) \times 5 + (Cx5) + [(D+E+F) \times 2]$, onde: **Lxt** = leitura de um animal em um intervalo de tempo (t); Parâmetros de lesão oftálmica (0-110): **A** = densidade de opacidade; **B** = área de opacidade; **C** = irite; **D** = hiperemia; **E** = quemose; **F** = secreção. **B** – Seleção da maior média aritmética entre as médias de 1, 24 e 48h ($ME_{1h}, ME_{6h}, ME_{12h}$) calculando-se a média de valor (ME_{max}) e faixa de confiança, utilizando a seguinte equação: $Fc = ME_{max} \pm 5$, onde: **Fc** = faixa de confiança; **ME_{max}** = média aritmética de maior valor entre os tempos de 1h, 6h e 12h. Conforme os resultados, faz-se a classificação conforme Tabela 1:

Tabela 1 - Classificação prévia do potencial de irritabilidade de um produto.

Classe	Faixa/EscORES (graduação das lesões)	Classificação
I	0,0 a 14,9	Produto não-irritante (NI)
II	15,0 a 24,9	Produto levemente irritante (IL)
III	25,0 a 49,9	Produto irritante moderado (IM)
IV	50,0 a 79,9	Produto irritante severo (IS)
V	80,0 a 110,0	Produto irritante máximo (IMax)

Fonte: Autores.

2.5 Teste de toxicidade sistêmica

Os animais foram monitorados por seus tutores e por um pesquisador logo após a administração, 15, 30 e 60 minutos e a cada 6 horas até 24h horas e diariamente até completar as 72 horas, para detectar quaisquer sinais de toxicidade e mudanças no comportamento, como alteração na respiração, piloereção, diarreia, salivação excessiva, hiperexcitabilidade, redução na locomoção, agressividade, reação a estímulos, perda de peso, ataxia e mortalidade. Durante esse período, os animais continuaram sob a guarda de seus tutores, com ração e água *ad libitum*, medindo-se seu peso corporal ao final de 3 dias, anotando-se o consumo de ração (g) e estimado o consumo de água diários. Foi feita uma avaliação final uma semana após a última aplicação, para registro de quaisquer sinais de toxicidade supracitados.

2.6 Análise Estatística

Para comparações múltiplas entre médias utilizou-se análise de variância (ANOVA), seguido do teste de Tukey ($P < 0,05$) e os resultados foram expressos como média \pm erro padrão. Os escores registrados nos dados toxicológicos foram expressos em mediana, utilizando-se o teste Mann-Whitney para comparação entre medianas, considerando-se $P < 0,05$ como significante.

3. Resultados

Foram avaliados 30 animais adultos, com 4 sendo considerados arbitrariamente como idosos por terem acima de 8 anos de idade. O grupo compreendeu 16 fêmeas e 14 machos de raças variadas, como ilustrado no Quadro 1.

Quadro 1 - Distribuição de cães avaliados para tolerabilidade da solução de GGM (Eyepet®).

Raça	N	Porte
Golden Retriever	1	Médio
Pastor Alemão	3	Grande
Pincher	2	Pequeno
Poodle	4	Pequeno
Pug	2	Pequeno
Rottweiler	12	Grande
SRD	6	Médio
Total	30	

Cães de diferentes raças foram avaliados para tolerabilidade local e sistêmica da solução de GGM. SRD, sem raça definida. Fonte: Autores.

Todos os animais apresentaram ótima tolerabilidade, não sendo observado qualquer sinal de irritabilidade local ou sinal de toxicidade sistêmica. O Quadro 2 ilustra o resultado da avaliação dos animais, não tendo sido observada qualquer alteração ocular. A solução de GGM (Eyepet®) não provocou nos olhos dos cães opacidade, irite, hiperemia, quemose ou

secreção. Além disso, as áreas em torno dos olhos, incluindo as pálpebras, conjuntiva, córnea e íris, também permaneceram íntegras. Conforme os escores de irritabilidade, o produto foi classificado como não irritante.

Esse resultado se repetiu em todos os animais. A inexistência de alterações impediu a aplicação de comparação estatística entre os grupos, uma vez que também não foram observadas quaisquer alterações no olho contra-lateral, utilizado como controle.

Quadro 2 - Avaliação da toxicidade ocular local da solução de GGM (Eyepet®).

Toxicidade local							
Sim (S) e Não (N)							
Tempo	60 min	6h	12h	18h	24h	48h	72h
Toxicidade ocular de dose única	N	N	N	N	N	-	-
Toxicidade ocular de dose repetida	N	N	N	N	N	N	N

Ficha ilustrativa da avaliação de uma cadela; SRD, sem raça definida. Fonte: Autores.

Após a administração de doses repetidas da solução de GGM, não foi observada alterações significativas no peso corporal, consumo de ração, urina, ingestão de água e locomoção no período de 3 dias, quando comparado ao dia antes da administração da solução de GGM (Eyepet®) (Quadro 3). Não foram observados sinais de toxicidade descritos previamente no checklist em nenhum dos cães que recebeu a solução de GGM, apresentando resultados negativos em todos os parâmetros característicos de toxicidade na avaliação clínica.

Quadro 3 - Avaliação da toxicidade sistêmica da solução de GGM diante de dose repetida.

Toxicidade local									
Sim (S) e Não (N)									
Tempo	15 min	30 min	60 min	6h	12h	18h	24h	48h	72h
Parâmetros Comportamentais									
Peso corporal	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Consumo de ração	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Urina	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Ingestão de água	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Alteração da locomoção	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Parâmetros sistêmicos									
Alteração da frequência respiratória	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Piloereção	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Diarréia	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Sialorréia	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Alteração do tônus muscular	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Hipnose	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Convulsão	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Sinais de Excitabilidade do SNC	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Contorção abdominal	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Ataxia	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Agressividade	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Óbito	N	N	N	N	N	N	N	N	N

Fonte: Autores.

4. Discussão

Nossos resultados mostraram excelente tolerabilidade da solução de GGM (Eyepet®) para realização de assepsia da RP de cães domésticos. Deve ser ressaltada que a escolha de animais de forma aleatória, sem escolha de idade, raça, sexo ou porte do animal teve o objetivo de avaliar de forma ampla a segurança e aplicabilidade prática da solução. A eliminação das secreções eventualmente existentes foi completa, demonstrando também a eficácia. Na aplicação, particularmente na forma repetida, os tutores puderam fazer diretamente, uma vez que relataram facilidade na execução e testemunharam a boa tolerabilidade dos animais. Tampouco houve qualquer relato de irritabilidade cutânea por parte dos tutores. Embora se possa ter *a priori* o conceito de que produtos naturais sejam normalmente tolerados, é necessário realizar testes com rigor técnico de avaliação para que se possa aumentar a segurança no uso desses produtos.

A grande margem de segurança do OM para uso cutâneo, particularmente na concentração de 1%, virtualmente elimina a chance de efeitos irritativos à pele dos animais, uma vez já haver estudos de segurança mesmo em preparações com soluções puras do óleo em coelhos, cobaias e humanos. Em revisão do assunto, foram relatados dados de segurança do uso do OM, mesmo sem diluição, e sua ação antibacteriana e antifúngica na concentração de 1%, o que motivou a escolha dessa concentração para a preparação desse estudo (Carson et al. 2006).

O uso da GG na indústria cosmética é classicamente seguro e compatível para formulações de uso externo como pastas de dente, creme de barbear, loções, xampus, emulsões, máscaras faciais e soluções de limpeza da pele (Thombare et al., 2016). Essa diversidade de aplicação se deve a várias características. Por exemplo, solubilidade em água fria, espessamento, espalhabilidade, formação de filme resistente a solventes, resistência a variação de pH, estabilidade, natureza não tóxica, segura e insuficiente penetração cutânea, mesmo em quantidade considerável dentro das formulações cosméticas (Thombare et al., 2016; Sharma et al., 2018).

Apesar de não haver relato de toxicidade ocular ou na RP diante de dose única ou múltiplas, resolveu-se investigar possíveis efeitos sistêmicos do produto. Como já era esperado, a combinação GG e OM à 1% (Eyepet®) aplicada a RP não provocou alterações comportamentais e, muito menos, sinais clínicos de toxicidade sistêmica nos cães. Conforme já descrito anteriormente, OM até mesmo puro foi seguro para coelhos, cobaias e humanos (de Souza Silveira et al., 2022; Carson et al., 2006; Lam et al., 2018). Quanto aos estudos toxicológicos da GG “in vitro” e “in vivo”, eles não revelaram efeitos genotóxicos (Zeiger et al., 1999) e/ou carcinogênicos (National Toxicology Program 1982), nem toxicidade sistêmica quando administrado por via oral em ratos (Mudgil et al., 2014) ou humanos (Alan et al., 1998).

5. Considerações Finais

Portanto, determinamos a eficácia e segurança local e sistêmica aguda de solução de GGM (Eyepet®) para uso na assepsia da região periorbitária de cães domésticos. Além disso, a solução desenvolvida representa inovação tecnológica e produto natural com provável amplo mercado, significando agregação de valor a produtos de origem natural. Embora em caráter especulativo, é mais do que razoável supor que a solução testada no presente estudo, que se mostrou eficaz e segura para limpeza (assepsia) externa em cães, seja passível de emprego para assepsia da pele de outros locais de cães, bem como para uso em outros animais.

Referências

- Alan, N.H., Meier, R., Rausch, T., Meyer-Wyss, B., Hildebrand, P., Schneider, H., Bachmann, C., Minder, E., Fowler, B., & Gyr, K. (1998). Effects of a partially hydrolyzed guar gum on intestinal absorption of carbohydrate, protein and fat: a double-blind controlled study in volunteers. *Clin Nutr.* 17(3):125-129.
- Alves, E.N. (2003). Red Blood Cell (RBC) – *Teste de hemólise: Uma alternativa ao Teste de Draize-Irritação Ocular na avaliação do poder tóxico de produtos cosméticos no Controle de Qualidade.*/ Tese (Mestrado). INCQS, Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, Rio de Janeiro, 2003. INCQS/ FIOCRUZ, xix. 89p. il. tab. graf.
- Carson, C.F., Hammer, K.A., & Riley, T.V. (2006) Melaleuca alternifolia (Tea Tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. *Clin Microbiol Rev.* 19(1), 50-62.
- Castro R. R., Silva, C. M., Nunes, R. M., Cunha, P. L., de Paula, R. C., Feitosa, J. P., Girão, V. C., Pompeu, M. M., Leite, J. A., & Rocha, F. A. (2016). Structural characteristics are crucial to the benefits of guar gum in experimental osteoarthritis. *Carbohydrate polymers.* 150, 392–399.
- Gelatt, K., Gilger, B., & Kern, T. (2013). *Vet Ophthalmol.* Ames: Wiley-Blackwell.
- de Souza Silveira, J., Brasil, C. L., Braga, C. Q., da Silva Moreira, Â., Franz, H. C., Zamboni, R., Sallis, E. S., Albano, A. P., Zambrano, C. G., Araujo, L. C., de Bona da Silva, C., Pötter, L., de Avila Botton, S., & Pereira, D. I. B. (2022). Melaleuca alternifolia formulations in the treatment of experimental pythiosis. *Brazilian journal of microbiology.* 53(2), 1011–1017.
- Hindley, K. E., Groth, A. D., King, M., Graham, K., & Billson, F. M. (2016). Bacterial isolates, antimicrobial susceptibility, and clinical characteristics of bacterial keratitis in dogs presenting to referral practice in Australia. *Veterinary ophthalmology.* 19(5), 418–426.
- Lam, N. S. K., Long, X. X., Griffin, R. C., Chen, M. K., & Doery, J. C. (2018). Can the tea tree oil (Australian native plant: Melaleuca alternifolia Cheel) be an alternative treatment for human demodicosis on skin?. *Parasitology.* 145(12), 1510–1520.
- Mandal, S., Hwang, S., & Shi, S. Q. (2022). Guar gum, a low-cost sustainable biopolymer, for wastewater treatment: A review. *International journal of biological macromolecules.* 226, 368–382.
- Mudgil, D., Barak, S., & Khatkar, B.S. (2014). Guar gum: processing, properties and food applications-A Review. *J Food Sci Technol.* 51(3), 409-418.

National Toxicology Program. (1982). Carcinogenesis Bioassay of Guar Gum (CAS No. 9000-30-0) in F344 Rats and B6C3F1 Mice (Feed Study). *Natl Toxicol Program Tech Rep Ser.* 229:111-114.

Pazyar, N., Yaghoobi, R., Bagherani, N., & Kazerouni, A. (2013). A review of applications of tea tree oil in dermatology. *International journal of dermatology.* 52(7), 784–790.

Sharma, G., Sharma, S., Kumar, A., Al-Muhtaseb, A. H., Naushad, M., Ghfar, A. A., Mola, G. T., & Stadler, F. J. (2018). Guar gum and its composites as potential materials for diverse applications: A review. *Carbohydrate polymers*, 199, 534–545.

Thombare, N., Jha, U., Mishra, S., & Siddiqui, M. Z. (2016). Guar gum as a promising starting material for diverse applications: A review. *International journal of biological macromolecules.* 88, 361–372.

Varandas, C., Cartaxeiro, C., Lourenço, A. M., Delgado, E., & Gil, S. (2020). Selected cytokine expression in dogs with allergic conjunctivitis: Correlation with disease activity. *Research in veterinary science.* 130, 33–40.

Williams, D. L., & Burg, P. (2017). Tear production and intraocular pressure in canine eyes with corneal ulceration. *Open veterinary journal.* 7(2), 117–125.

Yasin, M., Younis, A., Javed, T., Akram, A., Ahsan, M., Shabbir, R., Ali, M. M., Tahir, A., El-Ballat, E. M., Sheteiwy, M. S., Sammour, R. H., Hano, C., Alhumaydhi, F. A., & El-Esawi, M. A. (2021). River Tea Tree Oil: Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activities, and Potential Applications in Agriculture. *Plants (Basel, Switzerland).* 10(10), 2105.

Zeiger, E., Anderson, B., Haworth, S., Lawlor, T., Mortelman, K. (1992). Salmonella Mutagenicity Tests V. Results from the Testing of 311 Chemicals Environ. Molec. *Mutagen.* 19 (21), 2-141.