



RASTREIO DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Melaleuca alternifolia* CULTIVADA EM REALEZA- PR

ADRIANO FAVERO, PAULO HENRIQUE FIGUEIREDO, WAGNER LUIZ DA COSTA FREITAS, ANDRESSA FERANDIN ZANON, FAGNER LUIZ DA COSTA FREITAS

RESUMO

O presente estudo investiga a atividade antibacteriana e antifúngica do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* cultivada em Realeza-PR. A introdução destaca a crescente resistência a antibióticos e a necessidade urgente de novas abordagens terapêuticas, com ênfase no potencial dos óleos essenciais devido à sua baixa toxicidade e eficácia. O objetivo principal foi analisar a composição química do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* e avaliar suas propriedades antimicrobianas contra uma variedade de microrganismos. Os métodos incluíram o cultivo das plantas, extração do óleo por destilação a vapor, análise cromatográfica para caracterização química e testes de susceptibilidade antimicrobiana utilizando o método de disco-difusão. Os resultados mostraram que o óleo essencial possui uma composição rica em monoterpenos e sesquiterpenos, com destaque para o terpinen-4-ol, γ -terpineno e α -terpineno. Em testes de susceptibilidade, todas as cepas de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, bem como fungos leveduriformes, mostraram-se sensíveis ao óleo essencial, com variações na força de ação entre moderada e muito forte. Conclui-se que o óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* é eficaz na inibição do crescimento de uma ampla gama de microrganismos, sugerindo seu potencial como uma alternativa promissora para o desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos. Estudos futuros são recomendados para a caracterização detalhada dos componentes químicos responsáveis pelas atividades observadas e para a avaliação de sua eficácia em modelos in vivo.

1 INTRODUÇÃO

Mesmo após a descoberta dos antibióticos (ATBs), as infecções são um grande problema de saúde global. O seu uso incontrolado na prática médica humana, veterinária, industrial e agropecuária têm favorecido uma pressão seletiva e disseminação de microrganismos resistentes a medicamentos, representando um grande desafio terapêutico (Uddin *et al.*, 2021). As infecções resistentes e multirresistentes a ATBs, tem crescido muito nas últimas décadas, sendo associadas a grandes taxas de morbi-mortalidade e consequentemente um aumento nos custos de saúde, a OMS considerando um dos maiores problemas da saúde mundial (Turner *et al.*, 2019). A taxa de evolução de microrganismos resistentes a antibióticos é muito rápida, somado a dificuldade no desenvolvimento de novos compostos, faz que consideremos uma mudança de paradigma para os antibióticos atualmente disponíveis e busca de novos compostos visando inibir, diminuir ou reverter a resistência (Roope *et al.*, 2019). Essas limitações no tratamento de microrganismos resistentes levam a uma urgência na investigação de novas abordagens para aumentar a eficácia terapêutica (Theuretzbacher *et al.*, 2020).

A fitofarmacologia têm sido amplamente utilizadas empiricamente a muitos séculos, sendo reconhecida como importante fonte de agentes medicinais. Atualmente, o interesse por produtos naturais tem crescido devido sua disponibilidade, biodegradabilidade, baixa toxicidade e efeitos colaterais. Além de essas terapias poderem ser mais efetivas, com menores custos e gerando uma menor pressão seletiva nos microrganismos (Kalemba & Kunicka, 2003). Dentre os fitoterápicos, os óleos essenciais (OEs) tem obtido grande destaque

pelas suas propriedades biológicas que a ciência tem explorado e comprovado nos últimos anos. Os OEs são líquidos aromáticos e voláteis produzidos pelo metabolismo secundário das plantas. Podem ser extraídos de diferentes partes da planta como sementes, galhos, raízes, cascas, frutos, flores e folhas pelos processos de destilação a vapor ou hidrodestilação (Kalemba & Kunicka, 2003). São uma mistura complexa de compostos químicos com 2 ou 3 compostos majoritários representando 70-80%, com o restante presente em quantidades menores ou quantidades traços. A concentração dos compostos pode variar resultando em diferentes quimiotipos, dependendo da estação do ano, origem geográfica, variedade botânica, método de extração, genética vegetal e etc. Seus constituintes principais podem ser divididos em dois grupos devido a sua origem biossintética: os compostos aromáticos e alifáticos e os hidrocarbonetos terpenoides (terpenos e terpenóides). Dentre os terpenos, os monoterpenos e sesquiterpenos são responsáveis pela maioria das atividades biológicas. Essa diversidade de biomoléculas age na resistência e defesa das plantas, dessa forma, diversos OEs já demonstraram atividades biológicas como antioxidantes e antiinflamatórias. Além das atividades biocidas contra plantas, insetos, protozoários, vírus, fungos e bactérias (Kalemba & Kunicka, 2003). A atividade dos OEs, essa se deve principalmente a concentração e composição química, geralmente causada pela presença de componentes fenólicos e monoterpenos (Rammal *et al.*, 2024). O efeito antimicrobiano se dá por vários mecanismos combinados como a ruptura e permeabilização da membrana celular, inibição de atividade enzimática e envelhecimento de ATP e íons potássio. A utilização de diferentes mecanismos de ação e o fato de muitos componentes dos OEs, serem lipofílicos e afetarem a integridade, função e estrutura da membrana dificultam a aquisição de resistência (Hammer *et al.*, 2012).

A *Melaleuca alternifolia* é uma espécie arbórea pertencente à família Myrtaceae, sendo conhecida, popularmente, como árvore do chá. Através da destilação a vapor das folhas produz o óleo essencial de melaleuca (OEM), também conhecido como TTO (Tea Tree Oil). Consiste em uma diversidade de substâncias voláteis principalmente monoterpenos, sesquiterpenos e seus alcoois correspondentes, como terpinen-4-ol, γ - and α -terpineno, α -terpinenol e 1-8 cineol (DO BRASIL, 2024). O OEM é conhecido pela presença de elementos medicinais, com atividade antiinflamatória e antimicrobiana frente a diversas espécies de fungos e bactérias, sendo usado como antiséptico tópico em infecções superficiais (Carson *et al.*, 2006). Considerando o exposto, o presente estudo tem como objetivo analisar a composição química do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*, avaliar suas propriedades antibacterianas e antifúngicas frente a um extenso rol de microrganismos e relacionando sua atividade biológica a composição química.

2 MATERIAIS E METODOS

2.1- Cultivo, Extração do óleo essencial, Densidade Relativa e Análise Cromatográfica

O cultivo das mudas de *Melaleuca (Melaleuca alternifolia)* foi realizado nas Áreas Experimentais da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), Campus Realeza-PR/ Brasil. A extração do OE foi realizada por destilação por arraste a vapor. A densidade relativa dos OEs foi realizada conforme a metodologia ISO 279:1998. A caracterização química das amostras foi realizada por cromatografia de fase gasosa acoplada a espectrometria de massas.

2.2- Culturas e microrganismos e padronização do inóculo

Nesse trabalho foram utilizadas cepas padrão derivadas de culturas puras e isolados clínicos (IC) pertencentes Laboratório de Pesquisas NB2 da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), Campus Realeza, PR. As cepas de bactérias gram-positivas de *Staphylococcus aureus* (NP0038, NP0023, LB25923, B24, *Staphylococcus epidermidis* 0128, *Streptococcus pyogenes* NP0015, *Streptococcus agalactiae* (IC), *Streptococcus uberis* (IC),

Bacillus cereus (IC), *Enterococcus faecalis* (IC) e Gram-negativas *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Shigella flexneri* NP00122, *Klebsiella pneumoniae* BAA1705, *Escherichia coli* (NP0022, LB25922, ATCC 25922, *Isolado Clínico*), *Proteus mirabilis* (IC), *Serratia* sp.(IC), e *Morganella* sp.(IC). Além dos fungos leveduriformes *Cryptococcus gattii* 178, *Cryptococcus gattii* 179, *Candida tropicalis* (IC), *Candida glabrata* (IC) e *Candida parapsilosis* (IC). Os microrganismos precisam atingir fase de crescimento apropriado e um número especificado de células precisa ser usado (Kalembe & Kunicka, 2003). Para padronização, as culturas em caldo BHI (Brain Heart Infusion Broth) glicerinado a temperatura de -85°C, foram reativadas e enriquecidas em caldo BHI e padronizadas para turbidez equivalente 0,5 da escala de McFarland, correspondendo a $1,5 \times 10^8$ UFC/mL.

2.3- Determinação da susceptibilidade aos antimicrobianos

Também conhecido como antibiograma, foi realizado seguindo a metodologia desenvolvida por Kirby-Bauer e padronizado pelo Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Esse ensaio tem como conceito a difusão do composto teste em um disco. Trata-se de um método físico onde um microrganismo desafiado frente a uma substância biologicamente ativa em agar sólido. Quando o composto consegue conter o avanço do microrganismo, ocorre a formação de um halo de inibição em torno do disco, caracterizando a substância como antimicrobiana (Collins, 1976). O objetivo é fornecer resultados qualitativos e/ou semi-quantitativos caracterizando as cepas em suscetíveis, intermediárias ou resistentes (ANVISA, 2013). Resumindo, o inóculo padronizado com o microrganismo a ser desafiado foi semeado em toda extensão da placa contendo Agar Mueller-Hinton (AMH) para bactérias e Agar Saboraud Dextrose (ASD) para os fungos/leveduras. Discos brancos estéreis com 6 mm de diâmetro contendo 5µL do OEM ou OEC, assim como os discos de controle positivo e negativo, foram alocados no meio de cultura, respeitando distância adequada. Para fins de controle positivo e comparação de atividade, foram utilizados discos de antibiograma comerciais de Amoxicilina + Ac. Clavulânico 30 mcg (AMC30) e Clotrimazol 50 µg (CTR50) para os fungos; o controle negativo foi realizado com discos brancos estéreis contendo 10µL de água destilada estéril. A incubação foi realizada a 36°C/24h para bactérias e 25°C/48h para fungos. A leitura foi realizada por um paquímetro digital e comparada com valores padronizados nos manuais para indicação de forma qualitativa das cepas bacterianas interpretadas como: sensíveis (S) a dose padrão, um microrganismo é categorizado como sensível quando existe alta probabilidade de sucesso terapêutico na dosagem testada (halo de inibição > 8 mm); intermediárias (I), também considerado como sensível aumentando a exposição, quando há uma alta taxa de sucesso terapêutico com o aumento da dosagem (> 6 < 8 mm); ou resistentes (R) quando há grande possibilidade de falha no tratamento mesmo com aumento da dosagem (≤ 6 mm) (BrCast, 2024). Da mesma forma, os a atividade foi caracterizada de forma semi-quantitativa pela força de sua ação, como: Muito Forte (MF) (> 15 mm), Moderada (M) (10 - 15 mm), Fraca (F) (< 10 mm) ou Sem Ação (SA) de acordo com seus halos de inibição (Kacániová *et al.*, 2021). Os experimentos foram realizados em triplicata na forma de experimentos independentes (n=3). Os valores foram calculados na forma de média aritmética $\pm$ desvio-padrão.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição e concentração dos componentes dos OEs de plantas, mesmo quando do mesmo gênero ou espécie, embora regulado por genes, podem variar devido a vários fatores ecológicos como solo e clima. Também podem ocorrer variações na composição do OE devido método de extração ou pela mudança do material vegetal (Verma *et al.*, 2016)

Tabela 01 - Perfil Cromatográfico do OEM cultivado em Realeza/PR- Brasil e ISO 4730:2017.

Constituintes Químicos	OE de <i>Melaleuca</i> (<i>Melaleuca alternifolia</i>) Densidade Relativa: 0,890		ISO 4730:2017 Densidade Relativa: 0,885 - 0,906
		Concentração (%)	Concentração (%)
α -Pino		3,17	1,00-4,00
α -Terpineno		24,71 ↑	6,0-12,0
p-Cimeno		3,16	0,5-8,0
Limoneno		2,24 ↑	0,5-1,5
Eucaliptol (1-8 Cineol)		2,19	0-10
γ -Terpineno		21,81	14,0-28,0
Terpinen-4-ol		26,91 ↓	35,0-48,0
α -Terpineol		2,07	2,0-5,0
Aromandendreno		1,31	0,2-3,0
Viridifloreno		1,02	0,1-3,0
δ -Cadineno		1,30	0,2-3,0

Compostos encontrados em cromatografia do óleo essencial de *Melaleuca* (*Melaleuca alternifolia*), suas respectivas concentrações e comparação com as faixas de concentração indicados pela ISO 4730:2017, indicando quando a concentração de um composto está acima (↑) ou abaixo (↓) das concentrações preconizadas pela respectiva norma (compostos com concentrações não especificadas pela ISO ou dentro da norma, não possuem indicações).

Segundo a ISO 4730:2017 a densidade relativa do OEM deve figurar na faixa 0,885-0,906 e sua composição deve conter majoritariamente Terpinen-4-ol (35,0-48,0%), γ -Terpineno (14,0-28,0%) e α -Terpineno (6,0-12,0%) como compostos predominantes totalizando entre 70-80%. A densidade relativa encontrada foi 0,89 corroborando com a ISO e valores já descritos na literatura (Griffin *et al.*, 1999), os compostos majoritários encontrados no presente trabalho foram o Terpinen-4-ol (26,91%), α -Terpineno (24,71%) e γ -Terpineno (21,81%) correspondendo a 73,43% da concentração total do óleo. Em trabalho realizado por Zhang *et al.* (2018), encontrou valores de Terpinen-4-ol (31,1%) inferiores a ISO 4730:2017, além γ -Terpineno (25,3%) e α -Terpinene (12,7%) totalizando aproximadamente 70% da concentração. O teste de disco-difusão, usado para determinar o grau de sensibilidade e estimar o poder de ação de um composto sobre um microrganismo em uma determinada dose, além de ser utilizado na pesquisa biotecnológica/farmacêutica, também é muito útil para orientar a terapia antimicrobiana adequada na clínica, demonstrando o perfil de sensibilidade ou resistência do antimicrobiano testado (Katzung *et al.*, 2022). Todas as cepas Gram-positivas foram consideradas sensíveis ao OEM, com sua ação entre moderada e muito forte, os maiores halos foram em *S. aureus* NP0038 (20,23 mm) e *S. aureus* LB25923 (16,00mm). As cepas de bactérias Gram-negativas testadas, também se provaram sensíveis ao OEM, somente a *E. coli* LB25922 mostrou um perfil de sensibilidade Intermediário (I). As cepas com ação considerada muito forte (MF) foram *S. flexneri* NP 00122 (27,3mm) e o isolado clínico de *Morganella sp.* (30,73mm). As leveduras testadas também se demonstraram sensíveis (S) ao OEM, apresentando atividade Muito Forte (MF) ou moderada (M), com destaque para *C. gattii* 179 (19,97mm) e a *Candida tropicalis* (20,03mm). Todos os microrganismos e resultados estão descritos na **Tabela 02**.

Tabela 02 - Resultado teste de disco-difusão do OEM, perfil de sensibilidade e grau de

inibição.

Microrganismo	Óleo Essencial de Melaleuca (OEM)		
Bactérias Gram-positivas	Halo de Inibição (mm)	Interpretação	Ação
<i>S. aureus</i> NP0023	11,95±0,65	Sensível (S)	Moderada (M)
<i>S. aureus</i> LB25923	16,00±0,99	Sensível (S)	Muito Forte (MF)
<i>S. aureus</i> NP0038	20,23±10,86	Sensível (S)	Muito Forte (MF)
<i>S. aureus</i> B24	10,63±2,81	Sensível (S)	Moderada (M)
<i>B. cereus</i> (IC)	15,03±0,33	Sensível (S)	Muito Forte (MF)
<i>S. agalactiae</i> (IC)	12,3 ±0,082	Sensível (S)	Moderada (M)
<i>E. faecalis</i> IC	14,53±1,47	Sensível (S)	Moderada (M)
<i>S. uberis</i> (IC)	09,45±1,05	Sensível (S)	Moderada (M)
<i>S. epidermidis</i> 128	14,87±1,60	Sensível (S)	Moderada (M)
<i>S. pyogenes</i> NP 0015	14,93±4,14	Sensível (S)	Moderada (M)
Bactérias Gram-negativas			
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	13,47±1,31	Sensível (S)	Moderada (M)
<i>S. flexneri</i> NP 00122	27,30±5,07	Sensível (S)	Muito Forte (MF)
<i>P. mirabilis</i> (IC)	12,90±1,79	Sensível (S)	Moderada (M)
<i>K. pneumoniae</i> BAA1705	08,10±0,23	Sensível (S)	Fraca (F)
<i>Serratia</i> sp. (IC)	15,70±4,30	Sensível (S)	Muito Forte (MF)
<i>Morganella</i> sp. (IC)	30,73±12,1	Sensível (S)	Muito Forte (MF)
<i>E. coli</i> NP0022	09,53±1,01	Sensível (S)	Fraca (F)
<i>E. coli</i> ATCC25922	12,87±2,64	Sensível (S)	Moderada (M)
<i>E. coli</i> LB25922	07,80±0,71	Intermediário (I)	Fraca (F)
<i>E. coli</i> (IC)	14,40±3,18	Sensível (S)	Moderada (M)
Fungos leveduriformes			
<i>Candida tropicalis</i> (IC)	20,03±2,85	Sensível (S)	Muito Forte (MF)
<i>Candida glabrata</i> (IC)	15,50±0,99	Sensível (S)	Muito Forte (MF)
<i>Candida parapsilosis</i> (IC)	10,07±2,81	Sensível (S)	Moderada (M)
<i>C. gattii</i> 178	13,40±0,80	Sensível (S)	Moderada (M)
<i>C. gattii</i> 179	19,97±2,12	Sensível (S)	Muito Forte (MF)

Zona de inibição (em mm) incluindo o diâmetro do disco, de 6 mm. Os dados referem-se à média da triplicata ± desvio padrão. Perfil de Sensibilidade: Sensível(S) > 8 mm; Intermediário (I) > 6 < 8 mm; Resistente (R) ≤ 6 mm (BrCast, 2024). Graus de inibição: Sem Ação (SA) ≤ 6 mm; Fraca (F) < 10mm; Moderada (M) 10 - 15mm; Muito Forte (MF) > 15mm (Kacániová *et al.*, 2021).

Em ensaios de sensibilidade e força de ação, no presente trabalho, o OEM mostrou-se eficaz frente 100% das cepas bacterianas testadas, demonstrando seu amplo espectro de ação, característica da maioria dos OEs. Quanto a ação, 30% obteve uma ação muito forte (MF), 55% moderada (M) e 15% fraca (F). Quanto ao poder de ação, em Gram-positivas, o OEM (10,63 mm) apresentou atividade similar ao AMC30 (13,63 mm) frente ao *S. aureus* B24 e o *B. cereus* quando o halo de inibição do OEM foi de 15,03 mm e do AMC30 17,4 mm. Nas cepas Gram-negativas, houve potencial de ação similar entre OEM (27,3 mm) e AMC30 (27,7 mm) em *S. flexnerii* NP0122, entre o OEM (15,7 mm) e AMC30 (17,9 mm) em *Serratia* sp. e frente a cepa do gênero *Morganella* sp. o OEM apresentou um halo de inibição de 30,73 mm enquanto o AMC30 apresentou 31,13 mm. Avaliando a atividade antifúngica do OEM, observamos eficácia em 100% dos casos e apresentando uma atividade muito forte (MF) em 60% dos casos e moderada (M) nos outros 40%. Ao se comparar ao antifúngico, além de possuir atividade nas 3 cepas em que o CTR50 não obteve atividade antifúngica. O OEM (20,03 mm) obteve ação superior frente ao CTR50 (12,9 mm) em *C. tropicalis* e o mesmo acoteceu em *C. gattii* 179 em que o OEM apresentou um halo de 19,97 mm frente aos 12,9

mm do CTR50. Em ensaios de triagem antimicrobiana, o OEM (Terpineno-4-ol 31,11%, γ -Terpineno 25,3% e α -Terpineno 12,7%) inibiu fortemente o crescimento de *S. aureus* e *E. coli* (Zhang *et al.*, 2018) mesmo aconteceu em cepas de *S. aureus* com o OEM possuindo Terpineno-4-ol 38,6%, γ -Terpineno 21,7% e α -Terpineno 9,1% como compostos majoritários (Nikolic *et al.*, 2017). Em estudo de Iseppi *et al.*, (2023) o OEM (43,29% terpinen-4-ol e 20,16% γ -terpineno) apresentou forte atividade antibacteriana frente a três cepas de *S. aureus* MRSA e resistentes a oxacilina. Um efeito inibitório significativo do OEM também foi observado em *S. aureus*, *E. coli* e *Salmonella* (McMahon *et al.*, 2007). Carson *et al.*, (2006) mostraram efeito antifúngico espécie dependente contra dermatófitos, leveduras e fungos filamentosos. A eficácia do OEM frente a *C. albicans* oral em pacientes imunossuprimidos também foi testada e comprovada (De Medeiros *et al.*, 2024). Outro estudo com candidíase oral foi realizado, dessa vez *in vivo*, em camundongos imunocomprometidos e mostrou eficácia do OEM para *C. albicans* (De Campos *et al.*, 2014). A *C. albicans* também foi objeto de estudo de atividade antifúngica e antibiofilme, onde o OEM foi efetivo ao inibir o crescimento do fungo e a formação de biofilme (Tuan *et al.*, 2024). Grande variedade de fungos e bactérias em todo espectro de ação já foram testadas quanto a sua susceptibilidade ao OEM, o qual possui efeito antimicrobiano, mesmo em pequenas concentrações em grande maioria, corroborando com os resultados encontrados no presente ensaio (Carson *et al.*, 2006). Cox *et al.* (2001) avaliou os mecanismos de atividade antimicrobiana do OEM, constituído em grande parte por monoterpenos cíclicos, frente *S. aureus*, *E. coli* e *C. albicans*. Os autores concluíram que os efeitos inibitórios do OEM são consistentes com a partição dos constituintes monoterpênicos na membrana celular e o dano causado na membrana é diferente em cada tipo de microrganismo. Essa diferença na sensibilidade as substâncias ativas em bactérias Gram-positivas e Gram-negativas são devido as diferenças na estrutura da célula associada a parede celular ou camadas de contorno celular (Miceli *et al.*, 2011). O Terpinen-4-ol e o α -terpineol são os componentes antimicrobianos ativos mais estudados do OEM (Carson *et al.*, 1996). O Terpinen-4-ol, é o componente majoritário do óleo e a principal fonte de atividade antimicrobiana, onde demonstrou afetar a parede celular bacteriana, perda de material nuclear e inibição da respiração dependente de glicose (Carson *et al.*, 2002). Apesar de pacificado que o Terpinen-4-ol é uma das fontes principais de atividade antimicrobiana, é difícil atribuir uma atividade biológica a um ou dois únicos compostos dentro de uma mistura tão complexa. A efetividade antimicrobiana do OEM se dá pela interação sinérgica de diversos compostos, mesmo em concentrações vestigiais, assim como em outros OEs (Brun *et al.*, 2019). Os mecanismos antimicrobianos de diferentes agentes podem ser diferentes. Geralmente, um OE não possui apenas um mecanismo de ação, mas vários alvos coexistindo de forma paralela ou complementar. A função de barreira da parede celular microbiana reduz a sensibilidade dos microrganismos aos antimicrobianos. Compostos ativos dos OEs inibem a síntese completa da parede celular ou destroem a estrutura de peptidoglicanos da mesma a danificando ou deformando, matando a bactéria (Meychik *et al.*, 2011). As membranas celulares também desempenham um importante papel na manutenção das atividades normais dos microrganismos. Os OEs alteram a estrutura dessas membranas de diversas formas como com a interação com os fosfolípidos de membrana modificando a estrutura dos ácidos graxos ou inibindo a síntese do ergosterol pelos microrganismos, alterando a integralidade e/ou a permeabilidade da membrana celular pelos componentes lipofílicos e de natureza hidrofóbica dos OEs (Ju *et al.*, 2022). Essa interação facilita a sua penetração na célula bacteriana, alterando a orientação dos lipídeos da membrana, afetando o equilíbrio de íons inorgânicos e o pH celular. Nos fungos a atividade citotóxica, também é atribuída a natureza lipofílica dos OEs, que permite penetrar na membrana celular causando danos aos componentes celulares, levando a interação com os íons celulares, esgotamento de ATP, vazamento de íons cálcio, potássio e magnésio,

danificando as células e causando a lise celular (Mezher *et al.*, 2022). O risco de desenvolvimento de resistência pelo uso de OEs é baixo, visto que são mistura de diversos compostos antimicrobianos atuando por diversos mecanismos (Rahman *et al.*, 2009).

4-CONCLUSÃO

Os resultados encontrados no presente estudo deixam evidente que o OEM é capaz de inibir *in vitro* o crescimento do amplo rol de microrganismos testados compreendidos entre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e fungos leveduriformes, sendo uma fonte para futuras investigações na descoberta de novas substâncias ativas com atividade antimicrobiana. Com os resultados obtidos, podemos sugerir estudos posteriores de caracterização química dos óleos essenciais estudados, identificação dos componentes e grupamentos químicos responsáveis pelas respectivas atividades antimicrobianas.

REFÊRENCIAS

BALOUIRI, Mounyr; SADIKI, Moulay; IBNSOUDA, Saad Koraichi. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. **Journal of pharmaceutical analysis**, v. 6, n. 2, p. 71-79, 2016.

BRASIL. ANVISA Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 6 : Detecção e identificação de bactérias de importância médica Brasília: Anvisa, 2013.

BrCAST- EUCAST- Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing- BrCast. Tabelas de pontos de cortes para interpretação de CIMs e diâmetros de halos, disponível em <http://www.brcast.org>. 2024.

BROPHY, Joseph J. et al. Gas chromatographic quality control for oil of Melaleuca terpinen-4-ol type (Australian tea tree). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 37, n. 5, p. 1330-1335, 1989.

BRUN, Paola et al. In vitro antimicrobial activities of commercially available tea tree (Melaleuca alternifolia) essential oils. **Current microbiology**, v. 76, p. 108-116, 2019. <https://doi.org/10.1007/s00284-018-1594-x> CARSON, Christine F.; HAMMER, Katherine A.; RILEY, Thomas V. Melaleuca alternifolia (tea tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. **Clinical microbiology reviews**, v. 19, n. 1, 2006.

CARSON, Christine F.; MEE, Brian J.; RILEY, Thomas V. Mechanism of action of Melaleuca alternifolia (tea tree) oil on Staphylococcus aureus determined by time-kill, lysis, leakage, and salt tolerance assays and electron microscopy. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 46, n. 6, p. 1914-1920, 2002.

COX, Sean D. et al. Determining the antimicrobial actions of tea tree oil. **Molecules**, v. 6, n. 2, p. 87-91, 2001. DE MEDEIROS SILVA, Wagner Alex et al., Curative evaluation of Melaleuca alterinifolia oil in oral candidiasis in immunosuppressed patients **ARACÊ**, v. 6, 2024.

DO BRASIL, Flora. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Available at: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/Accessed>, v. 6, 2020. Acesso em: 24 de Setembro de 2024.

GRIFFIN, Shane G. et al. The role of structure and molecular properties of terpenoids in determining their antimicrobial activity. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 14, n. 5, p. 322-332, 1999.

HAMMER, KA 1; CARSON, C. F.; RILEY, T. V. Antifungal activity of the components of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil. **Journal of applied microbiology**, v. 95, n. 4, p. 853-860, 2003.

HAMMER, Katherine A.; et al., Effects of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) essential oil and the major monoterpene component terpinen-4-ol on the development of single-and multistep antibiotic resistance and antimicrobial susceptibility. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 56, n. 2, p. 909-915, 2012.

ISEPPI, Ramona et al. Effects of *Melaleuca alternifolia* Chell (Tea Tree) and *Eucalyptus globulus* Labill. essential oils on antibiotic-resistant bacterial biofilms. **Molecules**, v. 28, n. 4, p. 1671, 2023.

JU, Jian et al. Application of essential oil as a sustained release preparation in food packaging. **Trends in Food Science & Technology**, v. 92, p. 22-32, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.08.005>

JU, Jian et al. Synergistic interactions of plant essential oils with antimicrobial agents: A new antimicrobial therapy. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 62, n. 7, p. 1740-1751, 2022.

KAČÁNIOVÁ, Miroslava et al. Chemical composition, in vitro and in situ antimicrobial and antibiofilm activities of *Syzygium aromaticum* (Clove) essential oil. **Plants**, v. 10, n. 10, p. 2185, 2021.

KALEMBA, D. A. A. K.; KUNICKA, A. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. **Current medicinal chemistry**, v. 10, n. 10, p. 813-829, 2003. <https://doi.org/10.2174/0929867033457719>.

KATZUNG, Bertram G.; VANDERAH, Todd W. **Farmacologia básica e clínica**. Artmed Editora, 2022. MEYCHIK, N. R. et al. Barrier function of the cell wall during uptake of nickel ions. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 58, p. 409-414, 2011. [doi:10.1134/S1021443711030137](https://doi.org/10.1134/S1021443711030137).

MEZHER, Malak; EL HAJJ, Rana; KHALIL, Mahmoud. Investigating the antimicrobial activity of essential oils against pathogens isolated from sewage sludge of southern Lebanese villages. **Germes**, v. 12, 2022.

MICELI, Natalizia et al. Phenolic composition and biological activities of *Juniperus drupacea* Labill. berries from Turkey. **Food and chemical toxicology**, v. 49, n. 10, p. 2600-2608, 2011.

RAHMAN, Atiqur; KANG, Sun Chul. Inhibition of foodborne pathogens and spoiling bacteria by essential oil and extracts of *Erigeron ramosus* (Walt.) BSP. **Journal of Food Safety**, v. 29, n. 2, p. 176-189, 2009.

RAMMAL, Marwa et al. *Cymbopogon winterianus* (Java Citronella Plant): A Multi-Faceted

Approach for Food Preservation, Insecticidal Effects, and Bread Application. **Foods**, v. 13, n. 5, p. 803, 2024.

ROOPE, Laurence SJ et al. The challenge of antimicrobial resistance: what economics can contribute. **Science**, v. 364, n. 6435, p. eaau4679, 2019.

THEURETZBACHER, Ursula et al. The global preclinical antibacterial pipeline. **Nature Reviews Microbiology**, v. 18, n. 5, p. 275-285, 2020. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0288-0>.

TUAN, Dang Anh et al. Antifungal Efficacy and Biofilm Inhibition of *Candida albicans* by Tea Tree Oil (*Melaleuca alternifolia*) in Vietnam: A Comprehensive Study. 2024.DOI:10.20944/preprints202409. 0422.v2

HAMMER, Katherine A. et al., Thomas V. Susceptibility of transient and commensal skin flora to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). **American Journal of Infection Control**, v. 24, n. 3, p. 186-189, 1996. UDDIN, Tanvir Mahtab et al. Antibiotic resistance in microbes: History, mechanisms, therapeutic strategies and future prospects. **Journal of infection and public health**, v. 14, n. 12, p. 1750-1766, 2021.

VERMA, Ram S. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of Java citronella essential oil extracted by different methods. **Journal of Essential Oil Research**, v. 32, n. 5, p. 449-455, 2020

VERMA, Sajendra K. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of bergamot-mint (*Mentha citrata* Ehrh.) essential oils isolated from the herbage and aqueous distillate using different methods. **Industrial Crops and Products**, v. 91, p. 152-160, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.07.005>.

YIN, H. W. Yield and composition variation of essential oil from leaves of different *Cinnamomum osmophloeum* Kanehira clones in Taiwan. **QJ Chin For**, v. 24, p. 83-104, 1991.

ZHANG, Xiaofeng et al. In vitro evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of *Melaleuca alternifolia* essential oil. **BioMed research international**, v. 2018, n. 1, p. 2396109, 2018