



## ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO ÓLEO DE MELALEUCA ASSOCIADO AO HIDRÓXIDO DE CÁLCIO

Thaysa Sabryna Prestes<sup>1</sup>; Vanessa Jardini Sargent<sup>1</sup>, Marcia Esmeralda Bis Franzoni Arruda<sup>2</sup>, Fausto Rodrigo Victorino<sup>3</sup>

**RESUMO:** Objetivo: avaliar a atividade antimicrobiana, in vitro, do óleo de *Melaleuca alternifolia* (tea tree) em associação com o Hidróxido de cálcio contra os microorganismos comprados pré-cultivados: *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans*, para uso como curativo de demora. Metodologia: realizamos um antibiograma, através do teste de difusão em Ágar, a fim de avaliar a susceptibilidade dos microorganismos citados. Foi utilizado um antimicrobiano padrão de acordo com a sensibilidade de cada grupo de microorganismos: para *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterococcus faecalis*, foi utilizado cloranfenicol e para *Candida albicans*, solução de fluconazol 2%. Em outro momento, foi manipulada uma pasta com a associação entre o óleo de *Melaleuca alternifolia* (TTO) e o hidróxido de cálcio P.A. Em novas placas de Petri contendo os meios de cultura e os inócuos, foram confeccionados dois poços de 6 mm de diâmetro, nos quais em um foi preenchido com a pasta de Hidróxido de Cálcio e óleo de Melaleuca e o outro, com uma pasta formada de hidróxido de cálcio e propilenoglicol (medicação padrão utilizada no tratamento endodôntico). O halo de inibição foi mensurado em milímetros de diâmetro, empregando-se uma régua milimetrada transparente. Para análise dos resultados, os mesmos foram submetidos ao teste de Análise de Variância ANOVA com índice de significância de 5%.

**PALAVRAS-CHAVE:** Medicação intracanal; Óleo de Melaleuca; Hidróxido de Cálcio.

### 1 INTRODUÇÃO

A infecção dos canais radiculares ocorre devido à capacidade de microorganismos colonizar os túbulos dentinários e as ramificações do canal principal, dentre os quais bactérias Gram positivas, Gram negativas, aeróbias facultativas ou anaeróbias estritas, além de fungos e vírus (BARBOSA et.al,1997). Os microorganismos mais comumente encontrados nesses casos são leveduras como *Candida albicans* e a bactéria anaeróbia facultativa Gram-positiva *Enterococcus faecalis*, sobretudo no que se refere às infecções secundárias e ao desenvolvimento de lesões perirradiculares (CARSON et.al, 2006; CAVALCANTI et.al, 2011; COX et.al, 2000).

O hidróxido de cálcio é amplamente utilizado como curativo de demora por suas excelentes propriedades biológicas e antimicrobianas (GOMES, et.al, 2003). Entretanto, tal medicação parece incapaz de descontaminar túbulos dentinários contaminados com *E. faecalis* (HAMMER et.al, 2008) e espécies de *Candida albicans* (LOPES, SIQUEIRA,2004). Assim, alternativas devem ser buscadas para otimizar a ação do hidróxido de cálcio na desinfecção dos canais radiculares (MONDELO et.al, 2003; OLIVA et.al, 2003). Atualmente, o óleo de *Melaleuca* é empregado como agente antimicrobiano ou preventivo, e sua indicação vai desde a utilização em lesões, queimaduras, picadas de

<sup>1</sup> Acadêmicas do Curso de Odontologia do Centro Universitário de Maringá – UNICESUMAR, Maringá - Paraná. Programa de Bolsas de Iniciação Científica da UniCesumar (PROBIC). thaysa\_prestes@hotmail.com, vanessasargent@gmail.com

<sup>2</sup> Coorientadora, Docente do Curso de Odontologia do Centro Universitário de Maringá – UNICESUMAR. marciafranzoni@bol.com.br

<sup>3</sup> Orientador, Professor Doutor do Curso de Odontologia do Centro Universitário de Maringá – UNICESUMAR. fausto.victorino@unicesumar.edu.br



inseto, gel para espinhas, cremes vaginais, cremes para a pele e até dentifrícios (SIQUEIRA 2000).

Assim, o objetivo do presente estudo foi analisar a atividade antimicrobiana do óleo de *Melaleuca alternifolia* (tea tree) contra as bactérias *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans* e avaliar a atividade antimicrobiana do óleo de *Melaleuca alternifolia* (tea tree) em associação com o Hidróxido de cálcio para uso como curativo de demora no tratamento endodôntico.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O teste de susceptibilidade dos microorganismos foi realizado por meio do teste de difusão em Ágar. Utilizando placas de Petri 90X20, preparou-se o meio de cultura Ágar Muller Hinton para inocular a *Pseudomonas aeruginosa* e o *Enterococcus faecalis* e para a *Candida albicans*, foram preparadas placas com o meio Ágar Sabouraud, com volume suficiente para atingir uma espessura de 5 cm. Após a solidificação dos meios, 0,1ml das suspensões microbianas foram semeadas em cada placa, com auxílio do Swab. Em um primeiro momento, em cada placa de petri foram depositados dois discos de papel de filtro estéreis (com 4mm de diâmetro): um impregnado com 0,2ml do óleo de *Melaleuca* e outro impregnado com 0,2ml do antimicrobiano padrão de acordo com a sensibilidade de cada grupo de microorganismos: para *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterococcus faecalis* foi utilizado cloranfenicol e para *Candida albicans*, solução de Fluconazol a 2%. Os discos foram dispostos equidistantes para evitar a coalescência dos halos de inibição. Posteriormente, em novas placas de petri foram confeccionados 2 poços no Ágar em cada placa, utilizando-se um perfurador estéril para couro de 4mm de diâmetro, de forma a padronizar o diâmetro da perfuração. Simultaneamente, foi preparada uma pasta com 0,36g de hidróxido de cálcio P.A e 8 gotas do propilenoglicol, medicação padrão utilizada no tratamento endodôntico. E preparamos outra pasta com a mesma quantidade de hidróxido de cálcio P.A e com 8 gotas do óleo de *Melaleuca*, formando uma quantidade suficiente para preencher cada pocinho. Com uma espátula de inserção, os poços foram preenchidos com as respectivas pastas. As placas foram incubadas a 37°C por 48 horas. Transcorrido o tempo, as placas de petri foram analisadas, sendo medidos, em milímetros, os halos de inibição do crescimento microbiano formados no Ágar. O resultado foi determinado pela média aritmética dos halos de inibição. Para análise dos resultados os mesmos foram submetidos ao teste de Análise de Variância ANOVA seguido do Teste de Tukey com índice de significância de 5%.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO PARCIAL

Os dados parciais obtidos referentes à média do diâmetro dos halos de inibição de crescimento bacteriano e fúngico frente ao óleo de *Melaleuca*, estão compilados em forma de tabelas. A princípio os experimentos foram feitos com 10 placas de petri para cada microorganismo (*Candida albicans* e *Enterococcus faecalis*).

Com relação à média dos diâmetros dos halos de inibição para a *Candida albicans* exposta na tabela 1, a presente pesquisa obteve um maior halo de inibição para o óleo de *Melaleuca* puro. Com a associação do óleo de *Melaleuca* + Cimento de Hidróxido de Cálcio, houve uma diminuição do diâmetro do halo de inibição, porém permanecendo um halo significativo, comparado com a medicação padrão (Cimento de Hidróxido de Cálcio + propilenoglicol). Conforme observado por COX et.al (2000) e citado por OLIVEIRA (2011),



o óleo de Melaleuca se mostra eficaz para *C. albicans*, devido à capacidade de romper a barreira de permeabilidade da membrana dos microorganismos impedindo a respiração. Esta característica também foi observada por HAMMER et.al (2004), os quais também constataram alterações nas propriedades da membrana da *C. albicans*, sendo uma explicação para o desenvolvimento do halo de inibição da metodologia em questão. Concordância também foi observada PARCKER (2006), onde o óleo de Melaleuca apresentou atividade fungistática contra a *C. albicans*.

**Tabela 1** – Média dos diâmetros dos halos de inibição do Fluconazol, TTO, Propilenoglicol + Ca(OH)<sub>2</sub> e TTO + Ca(OH)<sub>2</sub> quando aplicados em *Candida albicans*.

	Fluconazol (Padrão)	TTO	Propilenoglicol + Ca(OH) <sub>2</sub>	TTO + Ca(OH) <sub>2</sub>
<b>Média</b>	15,5*	8,4	4,8	6,4
<b>Desvio Padrão</b>	1,11	5,71	2,08	2,43
<b>Erro</b>	0,50	2,55	0,93	1,08

\*Diferença significativa estatisticamente, p<0,05.

Ao analisar os resultados apresentados na tabela 2, referentes ao *Enterococcus faecalis*, percebeu-se que o óleo de Melaleuca apresentou inibição frente à bactéria em questão, corroborando com o resultado obtido por CAVALCANTI et.al (2011) e MAY et.al (2000). Quando associado com o Cimento de Hidróxido de Cálcio, também ocorreu uma inibição, considerada satisfatória comparada com a associação padrão. Outros estudos têm demonstrado a atividade antimicrobiana do óleo de *Melaleuca* contra diversos tipos de microorganismos da cavidade bucal, porém, são poucos os estudos que incluíram o *E. faecalis*, dificultando a comparação dos resultados encontrados no presente estudo.

**Tabela 2** – Média dos diâmetros dos halos de inibição do Cloranfenicol, TTO, Propilenoglicol + Ca(OH)<sub>2</sub> e TTO + Ca(OH)<sub>2</sub> quando aplicados em *Enterococcus faecalis*.

	Cloranfenicol	TTO	Propilenoglicol + Ca(OH) <sub>2</sub>	TTO + Ca(OH) <sub>2</sub>
<b>Média</b>	10,0*	5,4	4,4	4,2
<b>Desvio Padrão</b>	0,0	1,55	0,89	0,44
<b>Erro</b>	0,0	0,69	0,40	0,20

\* Diferença significativa estatisticamente, p<0,05.

A tabela 3 apresenta uma comparação dos halos de inibição entre a *C. albicans* e o *E. faecalis*. Embora a diferença entre os halos de inibição dos dois grupos não seja estatisticamente significativa, observou-se que a *Candida albicans* apresentou-se ligeiramente mais sensível ao óleo de Melaleuca, tanto puro quanto ao associado ao Cimento de Hidróxido de Cálcio, quando comparada com o *E. faecalis*, que apresentou um menor halo de inibição, resultado também encontrado por HAMMER et.al (2008) e citado por OLIVEIRA (2011).



**Tabela 3** – Média dos diâmetros dos halos de inibição do TTO, Propilenoglicol + Ca(OH)<sub>2</sub> e TTO + Ca(OH)<sub>2</sub> quando aplicados em *Candida albicans* e *Enterococcus faecalis*

	TTO		Propilenoglicol + Ca(OH) <sub>2</sub>		TTO + Ca(OH) <sub>2</sub>	
	<i>C. albicans</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>C. albicans</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>C. albicans</i>	<i>E. faecalis</i>
<b>Média</b>	8,4	5,4	4,8	4,4	6,4	4,2
<b>Desvio Padrão</b>	5,71	1,55	2,08	0,89	2,43	0,44
<b>Erro</b>	2,55	0,69	0,93	0,40	1,08	0,20

\*Não houve diferença significativa entre os grupos, p>0,05.

#### 4 CONCLUSÃO PARCIAL

O óleo de Melaleuca apresentou resultado satisfatório contra a *Candida albicans* e *Enterococcus faecalis*, que são microorganismos envolvidos em infecções endodônticas. Assim, o TTO revela-se como uma boa opção fitoterápica, sugerindo sua aplicação como coadjuvante no tratamento endodôntico.

#### REFERÊNCIAS

BARBOSA, C.A.M.; GONÇALVES, R.B.; SIQUEIRA JR, J.F.; UZEDA, M. Evaluation of the antibacterial activities of calcium hydroxide, chlorhexidine, and camphorated paramonochlorophenol as intracanal medicament. **A clinical and laboratory study. Journal of Endodontics**, 1997. Vol.23, n.5, pp. 297-300.

CARSON, C.F.; HAMMER, K.A.; RILEY, T.V. Melaleuca alternifolia (tea tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. **Clinical Microbiology Reviews**, 2006, vol.19, n1, pp. 50-62.

CAVALCANTI, Y W; PÉREZ, ALAL; XAVIER, Gabriela DR; ALMEIDA, LFD. Efeito inibitório dos óleos essenciais sobre microorganismos do canal radicular. **Revista de Odontologia da Unesp**. 2011, vol.40, n.5, pp. 208-214.

COX, SD; MANN, C.M; MARKHAM, J.L; BELL, H.C; GUSTAFSON, J.E, WARMINGTON, J.R; WYLLIE, S.G.. The mode of antimicrobial action of the essential oil Melaleuca alternifolia (tea tree oil). **Journal of Applied Microbiology**.2000, vol. 88, pp. 170-5.

GOMES, BPFA, SOUZA, SFC, FERRAZ, CCR, TEIXEIRA, FB, ZAIA, AA, VALDRIGHI, L.; SOUZA-FILHO, F.J. Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* in bovine root dentine in vitro. **Internacional Endodontic Journal**., v.36, n.4, p.267-275, 2003.

HAMMER, K.A.; CARSON, C.F.; RILEY, T.V. Frequencies of resistance to Melaleuca alternifolia (tea tree) oil and rifampicin in *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus*



epidermidis and *Enterococcus faecalis*. **International Journal of Antimicrobial Agents**. 2008, vol 32, p. 170-3.

HAMMER, K.A.; CARSON, C.F.; RILEY, T.V. Antifungal effects of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil and its components on *Candida albicans*, *Candida glabrata* and *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal Antimicrobial Chemotherapy**. 2004, Vol.53, p. 1081-1085.

LOPES, H.P.; SIQUEIRA, J.F. Jr. **Endodontia: Biologia e técnica**. 2ª. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan: Medsi, 2004, v.1, p.965.

MAY, J; CHAN, C.H; KING, A; WILLIAMS, L.; FRENCH, G.L. Times-Kill studies of tea tree oil on clinical isolates. **Journal Antimicrobial Chemotherapy**. 2000, vol, 35, p. 639-643.

MONDELLO F, BERNARDIS DF, GIROLAMO A, SALVATORE G, CASSONE A. In vitro and in vivo activity of tea tree oil against azole-susceptible and-resistant human pathogenic yeasts. **Journal Antimicrobial Chemotherapy**. 2003, vol 5, p. 1223-1129.

OLIVA, B. et al. Antimycotic activity of *Melaleuca alternifolia* essential oil and its major components. **Letters in Applied Microbiology**. 2003, vol 37, p.185-7.

OLIVEIRA, ACM; FONTANA, A.; NEGRINE, T.C.; NOGUEIRA, M.N.M; BEDRAN, T.B.L; ANDRADE, C.R; SPOLIDORIO, L.C.; SPOLIDORIO, D.M.P. Emprego do óleo de *Melaleuca alternifolia* Cheel (Myrtaceae) na odontologia: perspectivas quanto à utilização como antimicrobiano alternativo às doenças infecciosas de origem bucal. **Rev. Bras. Plantas med.** 2011, vol.13, n.4, pp. 492-499.

PARCKER, Janaina F.; LUZ, Marisa M.S. Método para avaliação e pesquisa da atividade antimicrobiana de produtos de origem natural. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 2007, vol. 17, n.1, p. 102-107.

SIQUEIRA, JF JR, ROÇAS, IN, CARDOSO, CC, MACEDO, SB, LOPES, HP. Efeitos antibacterianos de um novo medicamento - o óleo ozonizado - comparados às pastas de hidróxido de cálcio. **Revista Brasileira de Odontologia**. 2000: 57 (4).

SIQUEIRA JR, JOSÉ F. JR.; UZEDA, M. Intracanal medicaments: evaluation of the antibacterial effects of chlorhexidine, metronidazole, and calcium hydroxide associated with three vehicles. **Journal of Endodontics**. 1997: 23 (3): 167-169.