

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CURSO DE BACHARELADO EM ODONTOLOGIA**

LORENA THAYS RODRIGUES SAMPAIO

**POTENCIAL ANTIMICROBIANO E ANTIADERENTE DO ÓLEO ESSENCIAL DE
Melaleuca alternifolia CONTRA CEPA DE *Staphylococcus saprophyticus***

PATOS-PB

2022

LORENA THAYS RODRIGUES SAMPAIO

**POTENCIAL ANTIMICROBIANO E ANTIADERENTE DO ÓLEO ESSENCIAL DE
Melaleuca alternifolia CONTRA CEPA DE *Staphylococcus saprophyticus***

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado à Coordenação do Curso de Odontologia da Universidade Federal de Campina Grande, como parte dos requisitos para obtenção do título Bacharel em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Abrahão Alves de Oliveira Filho

PATOS-PB

2022

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECÁRIA SEVERINA SUELI
DA SILVA OLIVEIRA CRB-15/225

S192a Sampaio, Lorena Thays Rodrigues.

Potencial antimicrobiano e antiaderente do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* contra cepa de *Staphylococcus saprophyticus* / Lorena Thays Rodrigues Sampaio. – Patos, 2022.

42 f. : il. color.

Monografia (Bacharelado em Odontologia) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2022.

"Orientação: Prof. Dr. Abrahão Alves de Oliveira Filho".

Referências.

1. Odontologia. 2. Fitoterapia. 3. Antibacteriano – Óleo Essencial de *Melaleuca*. I. Oliveira Filho, Abrahão Alves de. II. Título.

CDU 616.314(043)

LORENA THAYS RODRIGUES SAMPAIO

POTENCIAL ANTIMICROBIANO E ANTIADERENTE DO ÓLEO ESSENCIAL DE

Melaleuca alternifolia* CONTRA CEPA DE *Staphylococcus saprophyticus

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado à Coordenação do Curso de Odontologia da Universidade Federal de Campina Grande, como parte dos requisitos para obtenção do título Bacharel em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Abrahão Alves de Oliveira Filho

Aprovado em: 10/02/2022

BANCA EXAMINADORA

Abrahão Alves de Oliveira

Prof^o. Dr. Abrahão Alves de Oliveira Filho - Orientador
Universidade Federal De Campina Grande – UFCG

Maria Angélica Sátyro Gomes Alves

Prof^a. Dra. Maria Angélica Sátyro Gomes Alves – 1^o membro
Universidade Federal De Campina Grande - UFCG

Gymenna Maria Tenório Guênes

Prof^a. Dra. Gymenna Maria Tenório Guênes - 2^o membro
Universidade Federal De Campina Grande - UFCG

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus, por ser meu refúgio e fortaleza durante todo o tempo. Durante minha graduação passei por momentos difíceis, os quais sem a graça divina eu não teria continuado. Sou grata a Ele pela força concedida a mim, por nunca ter me abandonado e, principalmente, por ter iluminado o meu caminho e guiado os meus passos para que eu pudesse chegar a esse momento tão almejado.

Agradeço a minha mãe, Maria da Conceição, pelo seu apoio em todos os sentidos durante toda a minha vida e, especialmente, durante a minha graduação. Sem seu esforço árduo eu não teria conseguido. Sua luta me proporcionou tudo de necessário a minha formação. Passamos por muitos momentos de dificuldades durante esse período, que por vezes pensei que o melhor fosse desistir, mas a senhora tomou à frente de tudo e os enfrentou por mim. À senhora, toda minha conquista até aqui e daqui adiante.

Ao meu irmão, Lucas Henrique, que foi meu ombro amigo durante todos esses anos. Suas conversas foram um ponto de alívio em todos os momentos de tensões. Nossa união à distância me ajudou em situações de estresse durante esse tempo e foi meu combustível para conseguir seguindo com calma.

Aos meus familiares, em especial meu pai, Leôncio Sampaio e minha tia, Maria de Fátima por toda ajuda e apoio incessantes. Sem vocês eu não teria chegado até aqui. E aos demais parentes, tios e tias, primos e primas, que torceram e vibraram por mim.

A Maria Andreza, amiga de longa data, por todas as conversas, desabafos e incentivos. Muito obrigada por se fazer sempre presente quando mais precisei conversar e por todo o companheirismo, que me fez sentir melhor em diversos momentos.

A Ayra Raissa, uma das primeiras pessoas que me tornei amiga na universidade, minha dupla de graduação e mais adiante, de morada. Obrigada por dividir comigo tantos momentos de alegria e por compartilhar desabafos que nos fizeram crescer. Hoje sou uma pessoa mais forte por sua causa.

A Alexandra Garcia e Tayná Marques, colegas de turma e companheiras de todos os momentos desde o início do curso. Obrigada por todo o suporte e lealdade, por cada conversa construtiva e palavra de apoio.

A Natércia Medeiros e André Higor, colegas de turma e parceiros de estudo, principalmente no início do curso, nos períodos mais desgastantes e cansativos da graduação. Obrigada por cada troca de conhecimento e momentos de descontração, que tornaram esta caminhada menos exaustiva.

Aos demais colegas de turma mais próximos, Débora Castro, Luciano Vale, Yuri Trindade, Luiza Queiroz, Jéssica Holanda e Aryelly Bezerra. Sou grata por todas as vivências no decorrer do curso, por toda parceria na vida acadêmica e fora dela. Crescemos juntos.

A toda turma XVI do curso de odontologia da Universidade Federal de Campina Grande, a cada um que cedeu por si pelo conjunto. Agradeço a cada um que em algum momento me estendeu a mão no decorrer do curso. Foram tantas situações difíceis que passamos juntos, que nos unimos cada vez mais.

A LAFBIM – UFCG, Liga Acadêmica de Fitoterapia, Bioquímica e Microbiologia. Foi um grande privilégio ter feito parte desse projeto tão enriquecedor de conhecimento. Muito obrigada ao professor Abraão pelo trabalho de excelência à frente dessa Liga e a todos os seus integrantes pela vontade de ensinar e aprender. Vocês despertaram em mim o desejo pela pesquisa, o que com certeza me fez crescer na vida acadêmica e como futura profissional. Sou imensamente grata a todos.

A LAC – UFCG, Liga Acadêmica de Cirurgia, a qual tive o prazer de fazer parte. A cirurgia sempre foi uma das áreas que mais me despertou interesse na odontologia e ter esse contato mais íntimo na graduação foi um diferencial. Obrigada a todos os ligantes pelo compartilhamento de experiências e conhecimentos. Um obrigado especial ao professor Julierme Rocha por conduzir com maestria esse projeto, por ter me acolhido e por cada técnica operatória ensinada.

A Cleiton Lucena, cirurgião dentista bucomaxilofacial, que me supervisionou em estágio extracurricular no CEO (Centro de Especialidades Odontológicas). Obrigada pelos ensinamentos repassados e por ter possibilitado que eu exercitasse um pouco da minha prática clínica de cirurgia.

A Abraão Alves de Oliveira Filho, meu professor orientador e exemplo de profissional que eu almejo me tornar. Obrigada por sempre ter sido solícito comigo ao ter me acolhido como orientanda desde o primeiro momento e pela calma e paciência que teve comigo ao ensinar e conduzir os experimentos no laboratório. Sou grata por ter feito parte da LAFBIM, projeto o qual pude ter a oportunidade de conhecer suas experiências como pesquisador e sua iniciativa constante de orientar a todos nós ligantes na nossa vida acadêmica e como futuros profissionais. Sua responsabilidade e amor pelo que faz encantam a todos.

A todos os professores do curso de odontologia da Universidade Federal de Campina Grande, em especial a Abraão Alves de Oliveira Filho, Maria Angélica Sátyro Gomes Alves, Gymenna Maria Tenório Guênes, Julierme Ferreira Rocha, Elizandra Silva da Penha, João

Nilton Lopes de Sousa e Tassia Cristina de Almeida Pinto Sarmiento. Agradeço por tudo que me foi ensinado e pela excelência e responsabilidade em transmitir os conteúdos e conduzir às práticas clínicas. Sou grata por todo suporte e qualidade de ensino que vocês puderam proporcionar. Meu eterno obrigada.

RESUMO

Introdução: Dentro da cavidade oral são encontrados diversos microrganismos e quando há alteração na variedade, ou na sua proporção populacional, ocorre uma disbiose, favorecendo a ocorrência de doenças. Atualmente, tem aumentado a conscientização sobre as infecções nosocomiais e a espécie *Staphylococcus saprophyticus* vem demonstrando uma problemática em ensaios clínicos por estar associada a essas infecções. No entanto, os profissionais de odontologia têm pouca consciência sobre o seu controle, aumentando o risco de infecções no consultório odontológico. Na área odontológica, os produtos naturais vêm sendo bastante estudados devido à busca por produtos com maior atividade farmacológica. Nesse sentido, a *Melaleuca alternifolia*, planta nativa da Austrália, se apresenta como de grande importância medicinal por sua comprovada ação bactericida e antifúngica contra vários patógenos humanos. Seu óleo essencial tem ação inibitória frente à propagação de bactérias, incluindo aquelas resistentes a antibióticos e presentes em infecções hospitalares. **Objetivo:** Avaliar a atividade antimicrobiana e antiaderente do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* contra a cepa clínica de *Staphylococcus saprophyticus*. **Metodologia:** o potencial antibacteriano foi avaliado com a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* contra a cepa clínica de *Staphylococcus saprophyticus* SA45, utilizando a metodologia da microdiluição em placa de 96 orifícios em meio de Mueller Hinton Caldo (MHC). A CIM para o óleo foi definida como a menor concentração capaz de inibir visualmente o crescimento bacteriano verificado nos orifícios quando comparado com o crescimento controle. Em seguida foi avaliada a atividade bactericida, por meio da Concentração Bactericida Mínima (CBM) do óleo frente à cepa estudada. A CBM foi definida como a menor concentração do óleo essencial que resultou em inibição visível do crescimento do microrganismo. A determinação da Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA) foi realizada utilizando a técnica de tubos inclinados ao vidro, na presença de 5% de sacarose usando-se concentrações correspondentes ao óleo essencial puro até a diluição 1:1024. Foi considerada a CIMA a menor concentração do óleo essencial capaz de impedir a aderência do biofilme formado no tubo de vidro. Todos os experimentos foram realizados em duplicata. **Resultados:** observou-se que o óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* possui uma forte atividade antibacteriana, classificado pela CIM contra a cepa de *Staphylococcus saprophyticus*. A CBM de 512 demonstrou que este óleo atua como bactericida para a mesma cepa. Quanto à CIMA, foi observado um valor de 1:4, sendo igual ao Digluconato de Clorexidina 0,12%. **Conclusão:** Concluiu-se que o óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* possui forte atividade antibacteriana, comportando-se como bactericida contra a cepa clínica de *Staphylococcus saprophyticus*.

Palavras-chaves: Antibacteriano; fitoterapia; odontologia.

ABSTRACT

Introduction: Several microorganisms are found inside the oral cavity and when there is a change in the variety, or in its population proportion, dysbiosis occurs, favoring the occurrence of diseases. Currently, awareness of nosocomial infections has increased and the species *Staphylococcus saprophyticus* has been showing a problem in clinical trials because it is associated with these infections. However, dental professionals have little awareness of its control, increasing the risk of infections in the dental office. In dentistry, natural products have been extensively studied due to the search for products with greater pharmacological activity. In this sense, *Melaleuca alternifolia*, a plant native to Australia, presents itself as of great medicinal importance for its proven bactericidal and antifungal action against several human pathogens. Its essential oil has an inhibitory action against the spread of bacteria, including those resistant to antibiotics and present in hospital infections. **Objective:** To evaluate the antimicrobial and non-adherent activity of *Melaleuca alternifolia* essential oil against the clinical strain of *Staphylococcus saprophyticus*. **Methodology:** the antibacterial potential was evaluated by determining the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of *Melaleuca alternifolia* essential oil against the clinical strain of *Staphylococcus saprophyticus* SA45, using the microdilution methodology in a 96-well plate in Mueller Hinton Broth (MHC) medium.). The MIC for the oil was defined as the lowest concentration capable of visually inhibiting bacterial growth verified in the holes when compared to the control growth. Then, the bactericidal activity was evaluated, through the Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of the oil against the studied strain. CBM was defined as the lowest concentration of essential oil that resulted in visible inhibition of microorganism growth. The determination of the Minimum Inhibitory Concentration of Adherence (MICA) was carried out using the technique of inclined tubes to the glass, in the presence of 5% of sucrose using concentrations corresponding to the pure essential oil until the dilution 1:1024. CIMA was considered the lowest concentration of essential oil capable of preventing the adhesion of the biofilm formed in the glass tube. All experiments were performed in duplicate. **Results:** it was observed that the essential oil of *Melaleuca alternifolia* has a strong antibacterial activity, classified by the CIM against the strain of *Staphylococcus saprophyticus*. The CBM of 512 showed that this oil acts as a bactericide for the same strain. As for CIMA, a value of 1:4 was observed, being equal to 0.12% Chlorhexidine Digluconate. **Conclusion:** It was concluded that the essential oil of *Melaleuca alternifolia* has strong antibacterial activity, behaving as a bactericide against the clinical strain of *Staphylococcus saprophyticus*.

Keywords: Antibacterial; dentistry; phytotherapy.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Concentração inibitória mínima (CIM) em $\mu\text{g/mL}$ do óleo essencial de <i>Melaleuca alternifolia</i>	34
Tabela 2. Concentração Bactericida Mínima (CBM) em $\mu\text{g/mL}$ do óleo essencial de <i>Melaleuca alternifolia</i>	35
Tabela 3. Concentração Inibitória Mínima de Aderência em $\mu\text{g/mL}$ do óleo essencial de <i>Melaleuca alternifolia</i> e do digluconato de Clorexidina 0,12%	36

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Colonização bacteriana oral	17
Figura 2: <i>Staphylococcus saprophyticus</i> em meio Chapman-manitol com disco de novobocina	18
Figura 3: Distribuição dos estudantes quanto ao interesse na inclusão de plantas medicinais e fitoterapia na graduação em Saúde	20
Figura 4: Árvore do chá.....	22
Figura 5: Flor da árvore do chá.....	22
Figura 6: Perfil cromatográfico do óleo essencial de melaleuca	23
Figura 7: Estrutura química do Terpinen-4-ol	24

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	16
	2.1 Bactérias na odontologia	16
	2.2 <i>Staphylococcus saprophyticus</i>	17
	2.3 Fitoterapia na odontologia	19
	2.4 <i>Melaleuca alternifolia</i>	21
	REFERÊNCIAS	26
	ARTIGO	29
3	CONSIDERAÇÕES FINAIS	40
	ANEXO 1	41

1 INTRODUÇÃO

Dentro da cavidade oral são encontrados diversos microrganismos como bactérias, arqueas, fungos, protozoários e vírus, de modo que cada um exerce um papel específico e interagem entre si e com o hospedeiro, tanto na saúde como na doença (SAMPAIO-MAIA *et al.*, 2016). A placa bacteriana, também chamada de biofilme é uma comunidade cooperativa, bem organizada, de bactérias aderidas a uma superfície úmida e aglomerada por matriz de polissacarídeos (TEIXEIRA; BUENO; CORTÊS, 2010).

Os gêneros de bactérias de maior prevalência na boca são *Streptococcus*, *Actinomyces*, *Veillonella*, *Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Treponema*, *Neisseria*, *Haemophilis*, *Lactobacillus*, *Staphylococcus*, dentre outros. Quando há alteração na variedade, ou na proporção populacional dessa microbiota, ocorre uma disbiose, o que favorece a ocorrência de doenças (GERMANO *et al.*, 2018). Dentre as espécies do gênero *Staphylococcus*, a *Staphylococcus aureus* é bastante enfatizada por estar relacionada a infecções purulentas e suas disseminações aos espaços faciais. Entretanto, a espécie *Staphylococcus saprophyticus* vem demonstrando uma problemática em ensaios clínicos por estar associada a infecções hospitalares, com potencial risco em dispositivos invasivos e em grupos com baixa imunidade (CHOI; LEE, 2020).

Atualmente, tem aumentado a conscientização sobre as infecções nosocomiais, o que tem voltado a atenção para os problemas dos sistemas de controle de infecção hospitalar, sendo cada vez mais importante a avaliação de indicadores de qualidade clínica. As doenças infecciosas que apresentam risco de infecção cruzada no consultório odontológico incluem hepatite C, tuberculose, herpes, infecções orais e do trato respiratório superior. No entanto, os profissionais de odontologia têm pouca consciência sobre o controle desse problema e devido a esse conhecimento reduzido, o risco de contaminação no consultório odontológico aumenta ainda mais. Além disso, pesquisas sobre contaminação bacteriana interna e investigação de bactérias causadoras de doenças infecciosas nos atendimentos odontológicos são escassas (YUN; KIM, 2015).

O ambiente e os equipamentos odontológicos se tornam contaminados em decorrência da possibilidade de exposição a secreções e/ou sangue. Dessa forma, o uso de equipamentos de proteção individual por parte dos profissionais de saúde é uma conduta eficiente para prevenção da contaminação. Além disso, a esterilização de instrumentais e a desinfecção de

superfícies é imprescindível, uma vez que grande parte dos microrganismos presentes nos consultórios odontológicos vem do meio externo (GENZ *et al.*, 2017).

Genz *et al.* (2017) realizou um estudo sobre a contaminação das superfícies de consultório odontológico nas instalações do curso de odontologia de uma universidade em Santa Cruz do Sul, Vale do Rio Pardo, RS, o qual identificou a contaminação majoritariamente por estafilococos coagulase-negativos (80%). O *Staphylococcus saprophyticus* é um dos membros desse grupo, que é comumente responsável por 5% a 10% das infecções do trato urinário, sendo a segunda causa mais frequente dessas infecções, especialmente em mulheres sexualmente ativas (HASHEMZADEH *et al.*, 2020).

Nos últimos tempos, tem-se observado a evolução da resistência bacteriana, o que está gerando um grave problema de saúde pública decorrente do uso indiscriminado de antibióticos, o que torna importante gerar estratégias que contribuam para diminuí-la (CÁRDENAS; MERCHÁN; LOPEZ, 2019). Na área odontológica, pesquisas com produtos naturais têm aumentado nos últimos anos devido à busca por produtos com maior atividade farmacológica (FRANCISCO, 2010).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), aproximadamente 80% da população mundial utilizam a medicina alternativa, destacando-se os medicamentos fitoterápicos, para suprir a ausência de atendimento médico primário, principalmente em países da África (OLIVEIRA *et al.*, 2011).

Dentre os produtos naturais de importância terapêutica, destacam-se os óleos essenciais, que são líquidos oleosos aromáticos retirados de extratos vegetais, cuja atividade antimicrobiana é devida a vários terpenoides e compostos fenólicos pequenos (HAMMER; CARSON; RILEY, 2012). Esses compostos são produtos do metabolismo secundário das plantas. Vários óleos essenciais possuem diferentes propriedades biológicas, como atividades anti-inflamatórias, sedativas, digestivas, antimicrobianas, antivirais ou antioxidantes, sendo amplamente utilizados para fins inseticidas, medicinais e cosméticos (LOOSE; PILGER; WAGENLEHNER, 2020).

A *Melaleuca alternifolia*, planta nativa da Austrália, popularmente conhecida como árvore do chá, tem como principal produto o óleo essencial (TTO – tea tree oil), apresenta grande importância medicinal, pois possui comprovada ação bactericida e antifúngica contra vários patógenos humanos (OLIVEIRA *et al.*, 2011). Jesus; Ellensohn; Barin (2007) relataram que o óleo de *Melaleuca* tem dentre muitas aplicações a de desinfecção de ambientes, destacando que o que o torna um excelente antisséptico é a dificuldade que os microrganismos encontram

de modificar seu sistema enzimático para criar resistência a ele, devido a sua composição química complexa.

O óleo essencial de melaleuca tem ação inibitória frente à propagação de bactérias, inclusive as que são resistentes a antibióticos, como a *Pseudomonas aeruginosa*, presente em infecções hospitalares. Ademais, também é eficaz contra bactérias isoladas encontradas na superfície da pele, como os estafilococos (SILVA; MEJIA, 2011).

Desse modo, o objetivo do presente trabalho é avaliar a atividade antimicrobiana e antiaderente do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* contra a cepa clínica de *Staphylococcus saprophyticus*.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

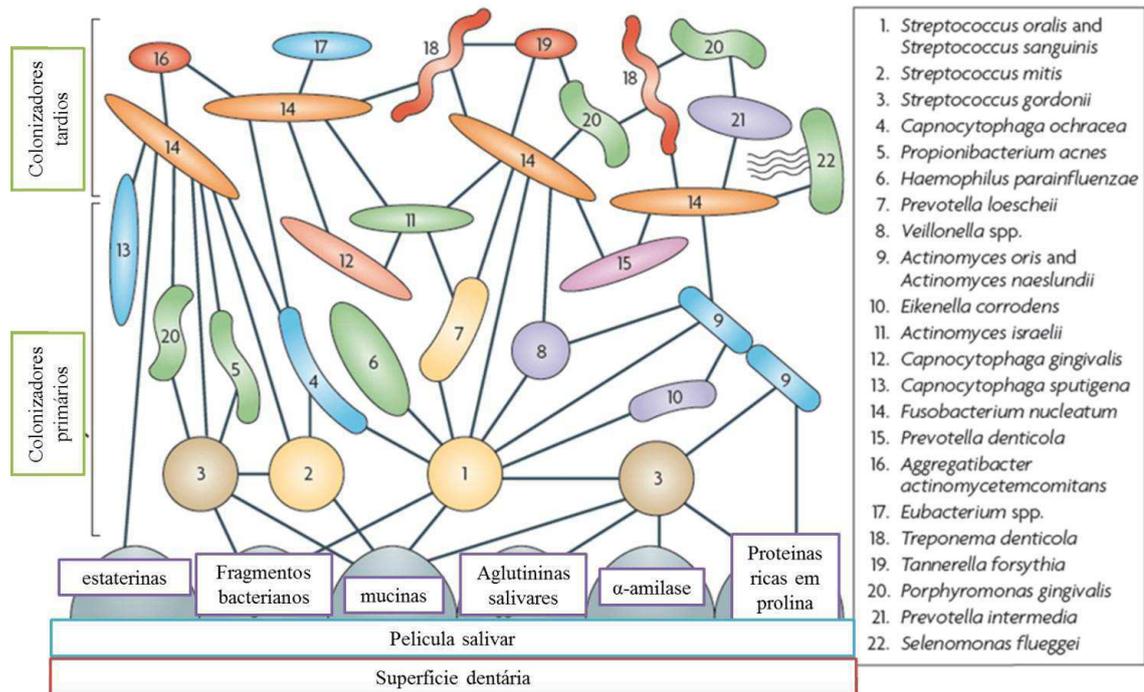
2.1 Bactérias na odontologia

As bactérias são seres procariontes, ou seja, desprovidos de membrana nuclear (carioteca) e não possuem todas as estruturas internas das células eucariontes, sendo mais simples em todos os aspectos, com exceção do seu envoltório celular (NOGUEIRA; MIGUEL, 2009). Esses microrganismos variam em tamanho entre 0,2 e 5 μm , sendo os menores organismos capazes de existir fora de um hospedeiro e apresentam uma parede celular, localizada externamente à membrana citoplasmática, a qual é composta por peptidoglicanos, estrutura responsável pelo suporte e manutenção da célula bacteriana (LEVINSON, 2016).

As bactérias podem ser classificadas quanto a sua patogenicidade em comensais, as quais habitam a microbiota normal humana, e em patogênicas, as quais são responsáveis por desencadear infecções bacterianas (LEVINSON, 2016). Essas infecções podem ser classificadas de acordo com a extensão em que o organismo do hospedeiro é afetado, podendo ser locais ou generalizadas, nesse caso representadas pela septicemia ou bacteremia, o que pode desencadear doenças como a coqueluche, pneumonia, infecções do trato urinário e endocardites (TORTORA; FUNKE; CASE, 2016).

No âmbito odontológico, a cavidade oral é colonizada por milhares de microrganismos, envolvendo uma grande diversidade de espécies, que estabelecem uma relação harmônica com o sistema imune do hospedeiro, de modo que havendo um desequilíbrio na flora bacteriana do indivíduo ou ocorrendo incorporação de um microrganismo externo, desenvolve-se um quadro de infecção (OLIVEIRA *et al.*, 2011). As infecções que atingem os espaços da cabeça e pescoço são processos disseminativos através dos espaços fasciais desta região e podem ser divididas em infecções superficiais ou profundas, sendo a maior parte destas infecções associada a focos de origem dentária, causadas por lesões de cárie ou pericoronarite (CONTE NETO, 2009).

Figura 1: Colonização bacteriana oral



Fonte: Lemos (2016, p.11)

Entretanto, a preocupação sobre as infecções nasocomiais tem aumentado e, em particular, no ambiente odontológico pode haver perfuração dos tecidos bucais causada por instrumentos cortantes contaminados, de modo que o contato dessas bactérias com o sangue e saliva do paciente podem levar a uma infecção. Além disso, essas bactérias circulam o ambiente podendo contaminar também a equipe odontológica (YUN; KIM, 2015). Nesse sentido, o estudo realizado por Yun; Kim (2015), analisou amostras retiradas de superfícies das cadeiras odontológicas, refletores e cuspeiras de 19 hospitais odontológicos e 28 clínicas localizadas em Gyeonggi-do e Incheon, na Coreia do Sul. Como resultado, os níveis de contaminação bacteriana das superfícies foram mais altos nas cuspeiras e os valores foram estatisticamente maior nos hospitais odontológicos do que nas clínicas. Dentre os Gram-positivos, as bactérias mais numerosas foram *Micrococcus luteus*, *Bacillus pumilus* e *Staphylococcus aureus*; ficando claro, portanto, a necessidade do estabelecimento de planos específicos de prevenção dessas infecções.

2.2 *Staphylococcus saprophyticus*

Staphylococcus saprophyticus é um coco Gram-positivo, coagulase negativo, não hemolítico, comumente responsável por infecções não complicadas do trato urinário (ITUs),

particularmente em mulheres jovens sexualmente ativas. Menos frequentemente, é responsável por complicações, incluindo pielonefrite aguda, uretrite, epididimite e prostatite (EHLERS; MERRILL *et al.*, 2021). Os estafilococos coagulase negativos (CoNS) têm a capacidade de aderir e colonizar dispositivos médicos residentes e produzir biofilme causando infecções nosocomiais, as quais são frequentemente resistentes a vários antibióticos. Desse modo, essas características tornam as infecções por CoNS difíceis de tratar e erradicar (MONSEN *et al.*, 2011).

Staphylococcus saprophyticus é frequentemente encontrado na flora bacteriana normal de humanos, podendo estar presente no trato gastrointestinal, vagina e períneo. O *S. saprophyticus* também faz parte do intestino e da flora retal de porcos e bovinos, sendo um contaminante frequente de carne e produtos alimentícios fermentados. Além disso, esse microrganismo também foi encontrado em ambientes aquáticos poluídos (LAWAL *et al.*, 2021).

Figura 2: *Staphylococcus saprophyticus* em meio Chapman-manitol com disco de novobiocina



Fonte: Flickr (2011)

Na área odontológica, a infecção se dá por aerossóis, por meio do uso de instrumentos rotatórios ou respingos. Dentre as doenças infecciosas possíveis de adquirir no ambiente odontológico são o vírus da imunodeficiência humana (HIV), tuberculose, herpes simples tipo

1 e 2, varicela zoster, vírus da influenza e hepatite B. Além dessas doenças, algumas infecções podem ser produzidas por *Streptococcus spp*, *Staphylococcus spp*, *Pseudomonas* e *C. albicans* (ROJAS, 2019).

No estudo realizado por Malta *et al.* (2016), o qual avaliou a contaminação microbiológica nas radiologias digitais em clínica odontológica de instituição pública, verificou-se que na avaliação do crescimento de *Staphylococcus* e *Streptococcus* no sistema de raio X digital intraoral, todas as colônias testadas foram positivas para catalase, não havendo nenhum crescimento de *Streptococcus* e enterobactérias. No entanto, em relação ao perfil de suscetibilidade à novobiocina, 23,81% foram resistentes e identificadas como *Staphylococcus saprophyticus*, enquanto 76,19% foram sensíveis e identificadas como *Staphylococcus epidermidis*.

Estudos têm mostrado que embora apresentem grande importância na escovação dentária, as escovas de dente também são um importante meio para o desenvolvimento de bactérias. As cerdas das escovas dentais são um local ideal para o aparecimento de microrganismos patogênicos presentes no meio no qual as escovas são armazenadas (TRUJILLO, 2018). Foi nesse sentido que Trujillo (2018) realizou um estudo com o objetivo de avaliar a contaminação microbiana de escovas de dente armazenadas no banheiro e dormitório dos alunos de odontologia da Universidade de Huánuco em 2017. Como resultado, as bactérias que foram identificadas nas escovas armazenadas no dormitório foram *Staphylococcus aureus* com 35%, *Haemophilus Influenzae* com 25%, *Staphylococcus coagulase negativo* 20%, *Escherichea coli* 15% e *Staphylococcus saprophyticus* 5%. Já as bactérias mais encontradas nas escovas de dente armazenadas no banheiro foram a *Escherichea coli* com 35%, *Enterococcus faecalis* com 30%, *Staphylococcus aureus* 20%, *Enterobacter aureoginosa* 10% e *Enterobacter S.p.* 5%.

2.3 Fitoterapia na odontologia

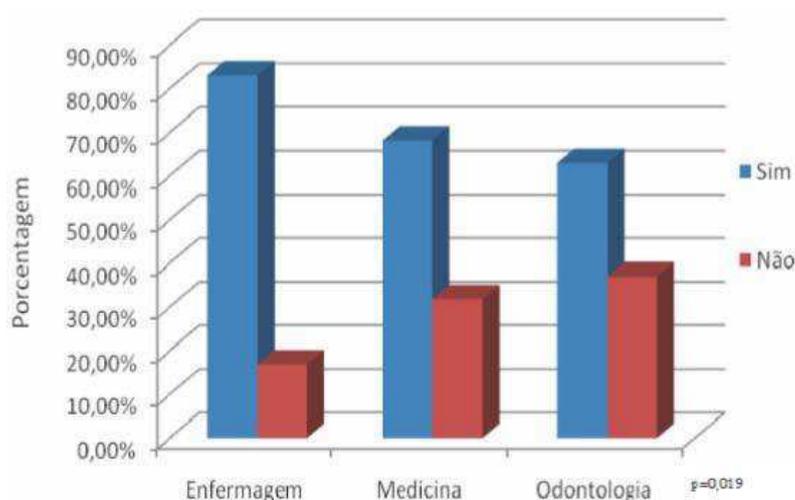
A Fitoterapia é a ciência que estuda o emprego das plantas ou suas partes no tratamento de doenças que acometem a espécie humana. Ao longo da história, as plantas têm sido utilizadas para tratamento de diversas enfermidades, o que contribuiu para melhoria da qualidade de vida e aumento das chances de sobrevivência do homem, bem como para a perpetuação do hábito de utilização das plantas com finalidade terapêutica. No entanto, por falta de embasamento científico, no início do século XX, o uso de plantas medicinais foi substituído pelos medicamentos alopáticos. Na década de 70, o estudo científico das plantas

medicinais foi incentivado pela Organização Mundial da Saúde (OMS), porém somente a partir dos anos 80 e 90, que ocorreu um aumento expressivo no mercado mundial de medicamentos fitoterápicos, principalmente nos países industrializados (ALELUIA *et al.*, 2015).

Os compostos fitoterápicos podem ser utilizados nas mais diversas fórmulas, como cápsulas, comprimidos, géis, pomadas, soluções aquosas, soluções hidro alcoólicas e infusões (chás). Nos últimos tempos, para tratar, prevenir ou minimizar os sintomas de diversas patologias bucais, a busca e o interesse por terapias naturais na odontologia tem aumentado. O uso de fitoterápicos na área odontológica apresenta uma série de vantagens, que inclui custo acessível, fácil manuseio, grande quantidade de matéria prima disponível, além de menos efeitos colaterais se comparados a medicamentos não fitoterápicos (MOTA *et al.*, 2018).

No entanto um estudo feito por Feitosa *et al.* (2016), avaliou a inserção do conteúdo de plantas medicinais e fitoterapia na graduação dos cursos de enfermagem, medicina e odontologia e, verificou-se que na enfermagem o percentual de alunos interessados foi maior, correspondendo a 83,1%, quando comparado aos dos alunos de Medicina (68,2%) e Odontologia (63,0%).

Figura 3: Distribuição dos estudantes quanto ao interesse na inclusão de plantas medicinais e fitoterapia na graduação em Saúde



Fonte: Feitosa *et al.* (2016, p. 199)

Os antimicrobianos são um importante fator seletivo para o desenvolvimento de resistência bacteriana e o seu uso inadequado aumenta o surgimento e a manutenção de resistência a drogas. Já que o interesse por plantas com propriedades medicamentosas tem

evoluído consideravelmente em nível global, os produtos naturais têm-se mostrado como uma alternativa terapêutica eficaz (PALMEIRA *et al.*, 2010). Estudos mostram que diferentes espécies vegetais podem ser usadas nos casos de abscessos bucais, apresentando ação bactericida e bacteriostática sobre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas que compõem o biofilme dental (MACHADO; OLIVEIRA, 2014).

Os líquidos aromáticos oleosos obtidos de material vegetal como flores, brotos, sementes, folhas, galhos, cascas, madeira, frutos e raízes, são chamados de óleos essenciais e têm sido descritos como antibacterianos, antifúngicos, antivirais, antioxidantes e inseticidas. As aplicações de mais destaque destes óleos têm sido na conservação de alimentos, na aromaterapia e na indústria de perfumaria. Porém, como o desenvolvimento de patógenos com resistência aos antibióticos é uma das ameaças mais severas ao tratamento bem sucedido de doenças microbianas, a utilização de óleos essenciais tem sido ampliada em virtude da busca por substâncias alternativas no controle de microrganismos resistentes (GEROMINI *et al.*, 2012).

Os óleos essenciais vegetais das famílias Myrtaceae, Lauraceae, Lamiaceae e Asteraceae, são uma classe de importantes metabólitos secundários voláteis das plantas, a qual apresenta dois constituintes principais, os terpenos e os compostos aromáticos. Além dos potenciais farmacêuticos e terapêuticos, sabe-se que os óleos essenciais possuem atividades antioxidantes, antimicrobianas e inseticidas (LIAO *et al.*, 2016).

As plantas medicinais são utilizadas pela população decorrente da crença de que os medicamentos de extratos naturais apresentam menor probabilidade de causar efeitos colaterais e são mais eficazes que os medicamentos alopáticos, além de serem mais baratos. Porém, assim como os medicamentos sintéticos, os fitoterápicos também produzem efeitos colaterais e possuem contraindicações. Portanto, para serem usados com segurança, é necessário conhecer seus princípios ativos, sua procedência e os aspectos relacionados à qualidade da planta (FRANCISCO, 2010).

2.4 *Melaleuca alternifolia*

Melaleuca alternifolia é uma planta nativa da Austrália encontrada em regiões pantanosas, podendo crescer até 6m de altura. Seu óleo essencial, também chamado de “óleo de árvore do chá” (Tea tree oil - TTO) é extremamente volátil (SILVA *et al.*, 2019). Pertencente à família Myrtaceae, é descrita como uma espécie de matagal encontrada principalmente na América do

Sul, oeste da Índia e Austrália, onde é conhecida como árvore do chá e tem sido usada na medicina popular. Algumas atividades biológicas de *M. alternifolia* incluem ação antibacteriana, antiviral e antifúngica (FELIPE *et al.*, 2018).

Figura 4: Árvore do chá



Fonte: Useful Temperate Plants (2016)

Figura 5: Flor da árvore do chá



Fonte: Useful Temperate Plants (2016)

Nos últimos anos, grandes plantações de *Melaleuca alternifolia* foram desenvolvidas para atender à crescente demanda por seus óleos essenciais serem ricos em monoterpenos. São encontrados seis quimiotipos diferentes de óleos essenciais de *M. alternifolia*, variando em níveis relativos de 1,8-cineol, terpinen-4-ol e terpinoleno. Entre eles, há um alto nível do quimiotipo terpinen-4-ol, o qual possui atividades antioxidantes e bactericidas de amplo espectro (LIAO *et al.*, 2016).

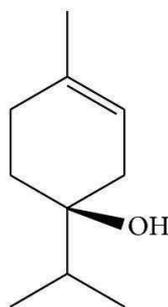
A árvore do chá é uma pequena árvore mirtácea com glândulas sub-dérmicas de óleo foliar contendo um óleo essencial rico em monoterpenos. O óleo da árvore do chá possui atividades antifúngica e antibacteriana amplas, sendo incorporado a muitos produtos cosméticos (WEBB *et al.*, 2013). Geralmente, esse óleo é uma mistura complexa de monoterpenos e terpenóides e aproximadamente 100 outras substâncias. Entre essas substâncias, o terpinen-4-ol é o principal composto, pois corresponde a cerca de 30% da composição do TTO e é considerado o ingrediente ativo responsável pelas propriedades terapêuticas do óleo essencial (FELIPE *et al.*, 2018).

Figura 6: Perfil cromatográfico do óleo essencial de melaleuca

<i>Component</i>	<i>% Composition</i>	<i>ISO standard range (%)</i> ¹⁸
Terpinen-4-ol	40.3	30–48
γ -Terpinene	19.7	10–28
α -Terpinene	8.6	5–13
1,8-Cineole (eucalyptol)	3.2	Traces–15
Terpinolene	3.2	1.5–5
α -Terpineol	3.1	1.5–8
α -Pinene	2.4	1–6
<i>p</i> -Cymene	2.4	0.5–8
Aromadendrene	1.6	Trace–3
δ -Cadinene	1.2	Trace–3
Limonene	1.0	0.5–1.5
Globulol	0.5	Trace–1
Sabinene	0.1	Trace–3.5
Viridiflolol	0.4	Trace–1

ISO, International Organization for Standardization.

Figura 7: Estrutura química do Terpinen-4-ol



Fonte: Nóbrega *et al.* (2014, p. 2)

O terpinen-4-ol apresenta excelente poder antisséptico, fazendo deste óleo um potente ativo contra uma larga faixa de microrganismos, bem como a sua boa penetração e não irritação quando aplicado pela via tópica e mucosa. Além disso, possui a capacidade de se misturar à secreção sebácea e penetrar na epiderme (JESUS; ELLENSOHN; BARIN, 2007). No estudo realizado por Jesus; Ellensohn; Barin (2007), o qual analisou oito amostras do óleo essencial de *Melaleuca* produzido no Brasil, observou-se que quando há diminuição no teor de 4-terpineol, há um aumento nos teores de α -terpineno e γ -terpineno, indicando que os parâmetros do óleo em questão estão de acordo com o padrão de qualidade da International Standart Organization (ISO, 1996), o que coloca o óleo produzido no Brasil entre os melhores do mundo.

Atualmente, o TTO vem sendo empregado em formulações cosméticas por apresentar propriedades biológicas e se comportar como conservante natural, podendo ser incorporado dentre outros a cremes, loções, sabonetes, xampus antissépticos e produtos para a higienização da pele. Além disso, este composto também é utilizado para o tratamento de uma variedade de irritações da pele, como a acne, tinea, picadas de insetos e queimaduras (SILVA; MEJIA, 2011).

Segundo Tibiriçá *et al.* (2020), os óleos e extratos vegetais têm há muito tempo sido aplicados na medicina popular, inclusive na produção de antissépticos tópicos. Desse modo, seu estudo teve como objetivo demonstrar, por meio de teste *in vitro*, a concentração inibitória mínima (CIM) do óleo essencial de melaleuca frente aos seguintes microrganismos: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Candida albicans* no desenvolvimento da formulação de um creme mucocutâneo. Como resultado, os microrganismos demonstraram sensibilidade frente ao óleo de melaleuca, de modo que o *Staphylococcus aureus* demonstrou

maior resistência, sendo necessário dobrar a dosagem. Sendo assim, os resultados mostraram que o óleo em questão teve atividade antimicrobiana frente aos microrganismos estudados, além de sua incorporação ter se mostrado promissora para o desenvolvimento de formas farmacêuticas semissólidas como possível nova alternativa terapêutica.

REFERÊNCIAS

- ALELUIA, Camila de M. *et al.* Fitoterápicos na Odontologia. **Rev. Odontol. Univ. Cid. São Paulo**, v. 27, n.2, p. 126-134, 2015.
- CÁRDENAS, Lorena Liseth; MERCHÁN, Maritza Angarita; LÓPEZ, Diana Paola. New antibiotics against bacterial resistance. **Infectio**. v. 23, n.4, p. 382-387, 2019.
- CHOI, Jung-ok; LEE, Yu-Hee. Effect of Sanitizers and Disinfectants in Staphylococcus Saprophyticus. **Medico-legal Update**, v. 20, n.1, p. 2064-2068, 2020.
- CONTE NETO, Nicolau *et al.* Infecções bacterianas da cabeça e pescoço: estudo retrospectivo. **Revista Odonto**, v. 17, n. 34, p. 42-48, 2009.
- EHLERS, S.; MERRILL, S.A. Staphylococcus Saprophyticus. **StatPearls Publishing**, 2021.
- FEITOSA, M.H.H. *et al.* Inserção do Conteúdo Fitoterapia em Cursos da Área de Saúde. **Revista Brasileira de Educação Médica**, v. 40, n.2, p. 199, 2016.
- FELIPE, Lorena de O. *et al.* Lactoferrin, chitosan and *Melaleuca alternifolia*—natural products that show promise in candidiasis treatment. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 49, n. 2, p. 212-219, 2018.
- FRANCISCO, K.S.F. Fitoterapia: uma opção para o tratamento odontológico. **Revista saúde – UNG – SER**, v. 4, n.1, p. 18-24, 2010.
- GENZ, T.B. *et al.* Eficácia antibacteriana de agentes de limpeza na desinfecção de superfícies de consultórios odontológicos. **RFO, Passo Fundo**, v. 22, n.2, p. 162-166, 2017.
- GERMANO, Victória E. *et al.* Microrganismos habitantes da cavidade oral e sua relação com patologias orais e sistêmicas: Revisão de literatura. **Revista de Ciências da Saúde Nova Esperança**, v.16, n.2, p. 91-99, 2018.
- GEROMINI, Kássia Vanessa N. *et al.* Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de plantas medicinais. **Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR**, v. 15, n. 2, p. 127-131, 2012.
- HAMMER, Katherine A.; CARSON, Christine F.; RILEY, Thomas V. 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.
- HASHEMZADEH, M. *et al.* Study of biofilm formation, structure and antibiotic resistance in Staphylococcus saprophyticus strains causing urinary tract infection in women in Ahvaz, Iran. **Elsevier Ltd, NMNI**, v. 39, p. 1-8, 2020.
- JESUS, E.R de; ELLENZOHN, R.M.; BARIN, C.S. Óleo essencial de Melaleuca Alternifolia: otimização do método analítico. **UNOPAR Cient., Ciênc. Exatas. Tecnol.**, v.6, p. 67-72, 2007.

- LAWAL, O.U. *et al.* Foodborne Origin and Local and Global Spread of *Staphylococcus saprophyticus* Causing Human Urinary Tract Infections. **Emerging Infectious Diseases**, v. 27, n.3, p. 880-893, 2021.
- LEMOS, André Filipe P. **O papel da Porphyromonas gingivalis nas doenças da cavidade oral e sua relação com doenças sistêmicas**. 2016. Dissertação (Mestrado em medicina dentária) – Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, 2014.
- LEVINSON Warren. **Microbiologia médica e imunologia**. 13. Ed. Porto Alegre: AMGH, 2016.
- LIAO, Min *et al.* Insecticidal Activity of Melaleuca alternifolia Essential Oil and RNA-Seq Analysis of Sitophilus zeamais Transcriptome in Response to Oil Fumigation. **PLOS ONE**, v. 11, n. 12, p. 1-19, 2016.
- LOOSE, Maria; PILGER, Emmelie; WAGENLEHNER, Florian. Anti-Bacterial Effects of Essential Oils against Uropathogenic Bacteria. **Antibiotics**, v. 9, n.6, p. 358, 2020.
- MACHADO, A.C.; OLIVEIRA, R.C. Medicamentos Fitoterápicos na odontologia: evidências e perspectivas sobre o uso da aroeira-do-sertão (*Myracrodruon urundeuva* Allemão). **Rev. Bras. Pl. Med**, v. 16, n. 2, p. 283-289, 2014.
- MALTA, C.P. *et al.* Microbiological contamination in digital radiography: evaluation at the radiology clinic of an educational institution. **Researchgate**, v. 29, n.3, p. 239-247, 2016.
- MONSEN, T. *et al.* Coagulase-negative staphylococci: update on the molecular epidemiology and clinical presentation, with a focus on Staphylococcus epidermidis and Staphylococcus saprophyticus. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v.31, p. 7-20, 2011.
- MOTA, Isabelly Bárbara de O. *et al.* Fitoterapia na odontologia: Levantamento dos principais produtos fitoterápicos usados para a saúde bucal. **Revista Psicologia e Saúde em Debate**, v. 4, n. suppl1, p. 71-71, 2018.
- NÓBREGA, Franklin F.F. *et al.* Monoterpenoid Terpinen-4-ol exhibits anticonvulsant activity in behavioural and electrophysiological studies. **Hindawi Publishing Corporation**, p. 1-9, 2014.
- NOGUEIRA, Joseli Maria da R.; MIGUEL, Lucieny de F.S. Bacteriologia. In: MOLINARO, Etelcia M.; CAPUTO, Luzia Fátima G.; AMENDOEIRA, Maria Regina R. (org.). **Conceitos e métodos para a Formação de profissionais em laboratórios de saúde**. Rio de Janeiro: EPSJV/Fiocruz, 2009. v.4, cap.3, p.221-397, 2009.
- OLIVEIRA, A.C.M. *et al.* 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**, v. 13, n.4, p. 492-499, 2011.
- OLIVEIRA, Isabelle L.M. de *et al.* Antimicrobianos de uso odontológico: informação para uma boa prática. **Odontol. Clín.-Cient. (Online)**, v.10, n.3, p. 217-220, 2011.

PALMEIRA, Josman D. *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana in vit ro e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de extratos hidroalcolico de angico sobre cepas de *Staphylococcus aureus*. **RBAC**, v. 42, n. 1, p. 33-37, 2010.

ROJAS, K.E.T. Nivel de Contaminación Microbiológica en Equipos Radiológicos de Uso Odontológico. Universidad Nacional de Chimborazo. **Proyecto de investigación para optar el título de Odontóloga**, 2019.

SAMPAIO-MAIA, B. *et al.* The Oral Microbiome in Health and Its Implication in Oral and Systemic Diseases. **Advances in Applied Microbiology**, v. 97, p. 171-210, 2016.

SILVA, Lusinauva, L. da *et al.* Atividades terapêuticas do óleo essencial de melaleuca (*melaleuca alternifolia*) Uma revisão de literatura. **Brazilian Journal of health Review**, v. 2, n. 6, p. 6011-6021, 2019.

SILVA, P.A.A.; MEJIA, D.P.M. Atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* (*tea tree*) para uso como coadjuvante em antissépticos. **Pós-graduação em Estética e Cosmetologia, Faculdade Ávila** p. 1-13, 2011.

TEIXEIRA, Karina Imaculada R.; BUENO, Audrey Cristina; CORTÉS, Maria E. Processos Físico-Químicos no Biofilme Dentário Relacionados à Produção da Cárie. **Química Nova na Escola**, v. 32, n. 3, p. 145-150, 2010.

THOMSEN, Per S. *et al.* Survey of the antimicrobial activity of commercially available australian tea tree (*Melaleuca alternifolia*) essential oil products in vitro. **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v. 17, n. 9, p. 835-841, 2011.

TIBIRIÇÁ, C.L. *et al.* Atividade antimicrobiana do óleo essencial de Melaleuca e sua incorporação em um creme mucocutâneo. **Revista Fitos**, v. 14, n.1, p. 26-37, 2020.

TORTORA, Gerard J.; FUNKE, Berdell R.; CASE, Christine L. **Microbiologia**. 12. Ed. São Paulo: Artmed, 2016.

TRUJILLO, Y.M. Grado de Contaminación Microbiana de los Cepillos dentales guardados en el baño y dormitorio de los Estudiantes de Odontología de La Universidad de Huánuco 2017. **Tesis para optar el título profesional de cirujiano dentista**, 2018.

WEBB, Hamish *et al.* The Yield of Essential Oils in *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae) Is Regulated through Transcript Abundance of Genes in the MEP Pathway. **PLOS ONE**, v. 8, n. 3, p. 1-8, 2013.

YUN, Kyoung-Ok; KIM, Hye-Young. A Study Regarding Bacterial Contamination of Surfaces in Dental Offices. **KJCLS**, v. 47, n.4, p. 279-285, 2015.

ARTIGO

Avaliação da atividade antimicrobiana e antiaderente do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* contra cepa de *Staphylococcus saprophyticus*

RESUMO

Introdução: Atualmente, tem aumentado a conscientização sobre as infecções nosocomiais e a espécie *Staphylococcus saprophyticus* vem demonstrando uma problemática em ensaios clínicos por estar associada a essas infecções. Na área odontológica, os produtos naturais vêm sendo bastante estudados devido à busca por produtos com maior atividade farmacológica. Nesse sentido, a *Melaleuca alternifolia*, planta nativa da Austrália, se apresenta como de grande importância medicinal por sua comprovada ação bactericida e antifúngica contra vários patógenos humanos. Seu óleo essencial tem ação inibitória frente à propagação de bactérias, incluindo aquelas resistentes a antibióticos e presentes em infecções hospitalares. **Objetivo:** avaliar a atividade antimicrobiana e antiaderente do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* contra a cepa clínica de *Staphylococcus saprophyticus*. **Metodologia:** Os ensaios foram realizados utilizando as técnicas de microdiluição em caldo em placas de 96 poços para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) e técnica de tubos inclinados para determinação da Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA) ao vidro, na presença de 5% de sacarose. **Resultados:** observou-se que o óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* possui uma forte atividade antibacteriana, classificado pela CIM contra a cepa de *Staphylococcus saprophyticus*. A CBM de 512 demonstrou que este óleo atua como bactericida para a mesma cepa. Quanto à CIMA, foi observado um valor de 1:4, sendo igual ao Digluconato de Clorexidina 0,12%. **Conclusão:** O óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* possui forte atividade bacteriana, comportando-se como bactericida contra a cepa clínica de *Staphylococcus saprophyticus*.

Palavras-chaves: Antibacteriano, fitoterapia, odontologia.

ABSTRACT

Introduction: Currently, awareness of nosocomial infections has increased and the species *Staphylococcus saprophyticus* has shown a problem in clinical trials because it is associated with these infections. In dentistry, natural products have been extensively studied due to the search for products with greater pharmacological activity. In this sense, *Melaleuca alternifolia*, a plant native to Australia, presents itself as of great medicinal importance for its proven bactericidal and antifungal action against several human pathogens. Its essential oil has an inhibitory action against the spread of bacteria, including those resistant to antibiotics and present in hospital infections. **Objective:** to evaluate the antimicrobial and non-adherent activity of *Melaleuca alternifolia* essential oil against the clinical strain of *Staphylococcus*

saprophyticus. **Methodology:** The assays were performed using broth microdilution techniques in 96-well plates to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) and inclined tube technique to determine the Minimum Inhibitory Adherence Concentration (MIC) to glass in the presence of 5% sucrose.

Results: it was observed that the essential oil of *Melaleuca alternifolia* has a strong antibacterial activity, classified by the CIM against the strain of *Staphylococcus saprophyticus*. The CBM of 512 showed that this oil acts as a bactericide for the same strain. As for CIMA, a value of 1:4 was observed, being equal to 0.12% Chlorhexidine Digluconate.

Conclusion: *Melaleuca alternifolia* essential oil has strong bacterial activity, behaving as a bactericide against the clinical strain of *Staphylococcus saprophyticus*.

Keywords: Antibacterial; dentistry; phytotherapy.

INTRODUÇÃO

Dentro da cavidade oral são encontrados diversos microrganismos como bactérias, arqueas, fungos, protozoários e vírus, de modo que cada um exerce um papel específico e interagem entre si e com o hospedeiro, tanto na saúde como na doença (SAMPAIO-MAIA *et al.*, 2016). A placa bacteriana, também chamada de biofilme é uma comunidade cooperativa, bem organizada, de bactérias aderidas a uma superfície úmida e aglomerada por matriz de polissacarídeos (TEIXEIRA; BUENO; CORTÊS, 2010).

Os gêneros de bactérias de maior prevalência na boca são *Streptococcus*, *Actinomyces*, *Veillonella*, *Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Treponema*, *Neisseria*, *Haemophilis*, *Lactobacillus*, *Staphylococcus*, dentre outros. Quando há alteração na variedade, ou na proporção populacional dessa microbiota, ocorre uma disbiose, o que favorece a ocorrência de doenças (GERMANO *et al.*, 2018). Dentre as espécies do gênero *Staphylococcus*, a *Staphylococcus aureus* é bastante enfatizada por estar relacionada a infecções purulentas e suas disseminações aos espaços faciais. Entretanto, a espécie *Staphylococcus saprophyticus* vem demonstrando uma problemática em ensaios clínicos por estar associada a infecções hospitalares, com potencial risco em dispositivos invasivos e em grupos com baixa imunidade (CHOI; LEE, 2020).

Atualmente, tem aumentado a conscientização sobre as infecções nosocomiais, o que tem voltado a atenção para os problemas dos sistemas de controle de infecção hospitalar, sendo cada vez mais importante a avaliação de indicadores de qualidade clínica. As doenças infecciosas que apresentam risco de infecção cruzada no consultório odontológico incluem hepatite C, tuberculose, herpes, infecções orais e do trato respiratório superior. No entanto, os

profissionais de odontologia têm pouca consciência sobre o controle desse problema e devido a esse conhecimento reduzido, o risco de contaminação no consultório odontológico aumenta ainda mais. Além disso, pesquisas sobre contaminação bacteriana interna e investigação de bactérias causadoras de doenças infecciosas nos atendimentos odontológicos são escassas (YUN; KIM, 2015).

O ambiente e os equipamentos odontológicos se tornam contaminados em decorrência da possibilidade de exposição a secreções e/ou sangue. Dessa forma, o uso de equipamentos de proteção individual por parte dos profissionais de saúde é uma conduta eficiente para prevenção da contaminação. Além disso, a esterilização de instrumentais e a desinfecção de superfícies é imprescindível, uma vez que grande parte dos microrganismos presentes nos consultórios odontológicos vem do meio externo (GENZ *et al.*, 2017).

Genz *et al.* (2017) realizou um estudo sobre a contaminação das superfícies de consultório odontológico nas instalações do curso de odontologia de uma universidade em Santa Cruz do Sul, Vale do Rio Pardo, RS, o qual identificou a contaminação majoritariamente por estafilococos coagulase-negativos (80%). O *Staphylococcus saprophyticus* é um dos membros desse grupo, que é comumente responsável por 5% a 10% das infecções do trato urinário, sendo a segunda causa mais frequente dessas infecções, especialmente em mulheres sexualmente ativas (HASHEMZADEH *et al.*, 2020).

Nos últimos tempos, tem-se observado a evolução da resistência bacteriana, o que está gerando um grave problema de saúde pública decorrente do uso indiscriminado de antibióticos, o que torna importante gerar estratégias que contribuam para diminuí-la (CÁRDENAS; MERCHÁN; LOPEZ, 2019). Na área odontológica, pesquisas com produtos naturais têm aumentado nos últimos anos devido à busca por produtos com maior atividade farmacológica (FRANCISCO, 2010).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), aproximadamente 80% da população mundial utilizam a medicina alternativa, destacando-se os medicamentos fitoterápicos, para suprir a ausência de atendimento médico primário, principalmente em países da África (OLIVEIRA *et al.*, 2011).

Dentre os produtos naturais de importância terapêutica, destacam-se os óleos essenciais, que são líquidos oleosos aromáticos retirados de extratos vegetais, cuja atividade antimicrobiana é devida a vários terpenoides e compostos fenólicos pequenos (HAMMER; CARSON; RILEY, 2012). Esses compostos são produtos do metabolismo secundário das plantas. Vários óleos essenciais possuem diferentes propriedades biológicas, como atividades anti-inflamatórias, sedativas, digestivas, antimicrobianas, antivirais ou antioxidantes, sendo

amplamente utilizados para fins inseticidas, medicinais e cosméticos (LOOSE; PILGER; WAGENLEHNER, 2020).

A *Melaleuca alternifolia*, planta nativa da Austrália, popularmente conhecida como árvore do chá, tem como principal produto o óleo essencial (TTO – tea tree oil), apresenta grande importância medicinal, pois possui comprovada ação bactericida e antifúngica contra vários patógenos humanos (OLIVEIRA *et al.*, 2011). Jesus; Ellensohn; Barin (2007) relataram que o óleo de *Melaleuca* tem dentre muitas aplicações a de desinfecção de ambientes, destacando que o que o torna um excelente antisséptico é a dificuldade que os microrganismos encontram de modificar seu sistema enzimático para criar resistência a ele, devido a sua composição química complexa.

O óleo essencial de melaleuca tem ação inibitória frente à propagação de bactérias, inclusive as que são resistentes a antibióticos, como a *Pseudomonas aeruginosa*, presente em infecções hospitalares. Ademais, também é eficaz contra bactérias isoladas encontradas na superfície da pele, como os estafilococos (SILVA; MEJIA, 2011).

Desse modo, o objetivo do presente trabalho é avaliar a atividade antimicrobiana e antiaderente do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* contra a cepa clínica de *Staphylococcus saprophyticus*.

METODOLOGIA

Microrganismo

Foi utilizada a cepa de bactéria clínica *Staphylococcus saprophyticus* SA45, que foi mantida em Agar Muller-Hinton (MH) a 4°C. Os inóculos foram obtidos a partir de culturas *overnight* em MH a 37°C e diluídas em salina estéril para obter concentração final de aproximadamente $1,5 \times 10^8$ unidades formadoras de colônias por ml (UFC/ml), ajustado pela turvação comparando-se com o tubo 0,5 da escala McFarland. (BONA *et al.*, 2014).

Meios de Cultura

Os meios de cultura utilizados nos ensaios para avaliação da atividade antimicrobiana foram o meio líquido Muller Hinton e o meio sólido ágar Muller Hinton. O meio de cultura foi adquirido na Difco® e preparado de acordo com as instruções do fabricante.

Determinação da CIM (Concentração Inibitória Mínima)

A CIM foi determinada utilizando a técnica de microdiluição em placa de 96 poços com fundo em “U”. Em uma placa de 96 cavidades, foram adicionados 100 µl caldo Mueller Hinton, duplamente concentrado, e 100 µl do óleo essencial de melaleuca, nas concentrações de 1024 a 16 µg/ml. A determinação da CIM foi conduzida com 10 µl do microrganismo em cada cavidade, aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/ml. O penúltimo contendo 200 µl do caldo foi inoculado com a suspensão de microrganismo, sendo o controle do crescimento, e o último poço recebeu apenas 200 µl do caldo, sendo o controle negativo. O ensaio foi realizado em duplicata. As placas foram incubadas a 35°C durante 24 horas. Após o tempo de incubação adequado dos ensaios com as bactérias, foi realizada a primeira leitura dos resultados. Em seguida, foram adicionados 20 µl de solução de resazurina sódica (SIGMA), em água destilada esterilizada na concentração de 0,01 % (p/v), reconhecido como indicador colorimétrico de óxido-redução para bactérias. A leitura se procedeu, visualmente, pela ausência ou presença de crescimento do microrganismo pela formação de aglomerado de células (botão). E também pela observação da mudança da coloração da solução, de azul para rosa, indicando crescimento do mesmo. Foi feita uma nova incubação a 37 °C. A CIM foi determinada como a menor concentração do óleo essencial que inibiu o crescimento visível do microrganismo e também pela observação da mudança da coloração da solução, de azul para rosa, indicando crescimento do microrganismo (PALOMINO et al, 2002; OSTROSKY et al, 2008, CLSI 2012; BONA et al, 2014).

Determinação da CBM (Concentração Bactericida Mínima)

Após a leitura dos resultados, foram feitos inóculos (10 µl) de três diluições a partir da CIM para o meio de caldo Mueller-Hinton (100 µl/cavidade) em placa de microdiluição esterilizada para a determinação da CBM. Após a incubação a 37 °C por 24 horas foi adicionado 20 µl de resazurina. Os ensaios foram incubados a temperatura de 37°C por mais 24 horas para confirmação da concentração capaz de inibir o crescimento total das espécies bacterianas, verificado por uma não mudança da coloração do corante indicador (NCUBE et al., 2008; GUERRA et al., 2012).

Determinação da CIMA

A Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA) do óleo essencial de melaleuca foi determinada na presença de sacarose a 5%, de acordo com Albuquerque et al (2010) com modificações, usando-se concentrações correspondentes ao composto até a diluição 1:1024. A partir do crescimento bacteriano, a cepa de *Staphylococcus saprophyticus* foi cultivada a 37°C em caldo Mueller Hinton (DIFCO, Michigan, Estados Unidos), depois foram distribuídos 0,9 ml do subcultivo em tubos de ensaio e, em seguida, adicionado 0,1 ml da solução correspondente às diluições do óleo essencial. A incubação foi feita a 37°C por 24 horas com tubos inclinados a 30°. A leitura foi realizada por meio da observação visual da aderência da bactéria às paredes do tubo, após a agitação desse. O ensaio foi realizado em duplicata. O mesmo procedimento foi realizado para o controle positivo, o digluconato de clorexidina a 0,12% (Periogard®, Colgate-Palmolive Company, Nova York, EUA). Foi considerada a CIMA a menor concentração do agente em contato com sacarose que impediu a aderência ao tubo de vidro.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados encontrados acerca da atividade antibacteriana do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* contra as cepas *Staphylococcus saprophyticus* encontram-se descritos nas tabelas 1 e 2. Analisando esse resultado, observa-se que o óleo essencial foi capaz de inibir o crescimento da cepa SA45, com valor de CIM de 512 µg/ml e valor e CBM também de 512 µg/ml.

Tabela 1. Concentração inibitória mínima (CIM) em µg/ml do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*

<i>Melaleuca alternifolia</i>	
	<i>S. saprophyticus</i> SA45
1024 µg/mL	+
512 µg/mL	+
256 µg/mL	-
128 µg/mL	-
64 µg/mL	-

Legenda: (+) Inibiu o crescimento bacteriano (-) Não inibiu o crescimento bacteriano

Tabela 2. Concentração Bactericida Mínima (CBM) em $\mu\text{g/ml}$ do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*

<i>Melaleuca alternifolia</i>	
	<i>S. saprophyticus</i> SA45
1024 $\mu\text{g/mL}$	+
512 $\mu\text{g/mL}$	+
256 $\mu\text{g/mL}$	-
128 $\mu\text{g/mL}$	-
64 $\mu\text{g/mL}$	-

Legenda: (+) Inibiu o crescimento bacteriano (-) Não inibiu o crescimento bacteriano

A atividade antimicrobiana considerada forte para óleos essenciais apresenta valor da CIM de até 500 $\mu\text{g/mL}$, moderada para valores da CIM de 600 a 1500 $\mu\text{g/mL}$ e fraca para CIM acima de 1500 $\mu\text{g/mL}$ (SARTORATTO et al., 2004). Sendo assim, os resultados desse estudo mostram que a atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* apresentou uma forte inibição contra a cepa testada, apresentando uma CIM de 512 $\mu\text{g/mL}$.

Para ser considerado bactericida ou bacteriostático, o composto deve possuir CBM, respectivamente, igual ou duas vezes maior que a CIM ou a CBM ser maior que duas vezes a CIM (HAFIDH et al., 2011). De acordo com os resultados obtidos, a *Melaleuca alternifolia* apresenta um potencial bactericida frente à cepa de *S. saprophyticus*, sendo encontrada uma CBM de 512 $\mu\text{g/mL}$.

O trabalho de Silva; Mejia (2011) se propôs a realizar uma revisão sobre a busca crescente por compostos antissépticos naturais devido às constantes adaptações dos microrganismos aos produtos comumente empregados no seu combate, tanto na superfície da pele como em ambientes contaminados. Desse modo, foram expostos estudos que comprovaram o potencial antimicrobiano do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*, contra diversos microrganismos patógenos humanos, apontando que este óleo é um potente agente antisséptico, frente aos resultados positivos em inibir parcial ou totalmente microrganismos Gram-positivos como *Pseudomonas aeruginosa* e os estafilococos, incluindo *S. Saprophyticus*, espécie analisada no presente estudo.

Ao analisar os resultados apresentados no estudo de Prestes *et al.* (2014), o qual avaliou a utilização do óleo essencial de melaleuca como coadjuvante no tratamento endodôntico, empregando-o em associação ao hidróxido de cálcio, percebeu-se que o óleo essencial apresentou inibição satisfatória frente à *Cândida albicans* e também ao *Enterococcus faecalis*, principais microrganismos envolvidos em infecções secundárias do sistema de canais radiculares e lesões perirradiculares.

O trabalho de Gioppo; Zancanaro; Bellaver (2019) analisou o potencial antibacteriano do óleo essencial de melaleuca frente a isolados multirresistentes causadores de infecções hospitalares, sendo eles as bactérias *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*. Como resultado, as emulsões do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* inibiram o crescimento dessas bactérias, sendo que a cepa hospitalar de *Escherichia coli* produtora de ESBL mostrou-se a cepa mais sensível, o que permite descrever o potencial antibacteriano do óleo. Dessa forma, percebe-se que todos esses trabalhos corroboram o presente estudo comprovando o potencial antibacteriano do óleo essencial de melaleuca.

A atividade antiaderente é observada nos valores da tabela 3, em que tanto o óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*, quanto o Digluconato de clorexidina obtiveram um valor de CIMA igual a 1:4.

Tabela 3. Concentração Inibitória Mínima de Aderência em µg/ml do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* e do digluconato de Clorexidina 0,12%

<i>Melaleuca alternifolia</i>											
µg/ml	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024
	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Digluconato de Clorexidina 0,12%											
µg/ml	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024
	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-

Legenda: (+) Inibiu a aderência ao tudo (-) Não inibiu a aderência ao tubo.

Considerada como padrão-ouro para o tratamento de doenças bucais, a clorexidina geralmente é mais eficaz contra microrganismos Gram-positivos, incluindo os estreptococos do grupo *mutans*. Porém, a frequente utilização deste antimicrobiano não é aconselhável devido aos efeitos colaterais locais, como a descoloração de dentes, restaurações e próteses, ulceração da mucosa oral e alteração da percepção gustativa (OLIVEIRA *et al.*, 2011). Em concordância com esse estudo, o óleo essencial de melaleuca pode se mostrar uma alternativa

a este agente, uma vez que apresentou a mesma capacidade antiaderente frente à cepa de *Staphylococcus saprophyticus*.

O estudo realizado por Ramalho et al (2020) analisou a atividade antiaderente dos óleos essenciais de *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus citriodora* contra cepas de *Klebsiella pneumoniae*, ficando evidente que o óleo essencial de *Eucalyptus globulus* apresenta boa eficiência contra a formação do biofilme por esta espécie bacteriana, demonstrando resultado equivalente ao controle digluconato de clorexidina 0,12%, inibindo a formação do biofilme na concentração 1:8. Ou seja, a menor concentração do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* capaz de inibir a adesão da bactéria à parede do tubo foi de 1:8.

CONCLUSÃO

Ao realizar esse trabalho observou-se que o óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* apresentou atividade antimicrobiana satisfatória, sendo considerado bactericida para cepa de *Staphylococcus saprophyticus*, além de uma atividade inibitória mínima de aderência *in vitro* satisfatória sobre esse patógeno comum em infecções nasocomiais, apresentando-se como alternativa terapêutica para as infecções decorrentes de contaminação no ambiente e instrumentais odontológicos. Entretanto, os trabalhos que relacionam esse potencial antimicrobiano e antiaderente da *Melaleuca alternifolia* com *Staphylococcus saprophyticus* são escassos, necessitando de mais estudos para destacar sua eficácia.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, A. C. L.; PEREIRA, M. D. S. V.; PEREIRA, J. V.; PEREIRA, L. F.; SILVA, D. F.; MACEDO-COSTA, M. R. Efeito antiaderente do extrato da *Matricaria recutita* Linn. Sobre microorganismos do biofilme dental. **Rev Odontol UNESP**, v. 39, n. 1, p. 21-5, 2010.
- BONA, E.A.M. et al. Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (cim) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. **Arq. Inst. Biol., São Paulo**, v. 81, n.3, p. 218-225, 2014.
- CÁRDENAS, Lorena Liseth; MERCHÁN, Maritza Angarita; LÓPEZ, Diana Paola. New antibiotics against bacterial resistance. **Infectio**. v. 23, n.4, p, 382-387, 2019.
- CHOI, Jung-ok; LEE, Yu-Hee. Effect of Sanitizers and Disinfectants in *Staphylococcus Saprophyticus*. **Medico-legal Update**, v. 20, n.1, p. 2064-2068, 2020.

- FRANCISCO, K.S.F. Fitoterapia: uma opção para o tratamento odontológico. **Revista saúde – UNG – SER**, v. 4, n.1, p. 18-24, 2010.
- GENZ, T.B. *et al.* Eficácia antibacteriana de agentes de limpeza na desinfecção de superfícies de consultórios odontológicos. **RFO, Passo Fundo**, v. 22, n.2, p. 162-166, 2017.
- GERMANO, Victória E. *et al.* Microrganismos habitantes da cavidade oral e sua relação com patologias orais e sistêmicas: Revisão de literatura. **Revista de Ciências da Saúde Nova Esperança**, v.16, n.2, p. 91-99, 2018.
- GIOPPO, A.; ZANCANARO, V.; BELLAVAR, E.H. Atividade antibacteriana do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* frente a isolados multirresistentes produtores de ESBL e KPC causadores de infecções hospitalares. **Biotemas**, v. 32, n.3, p. 35-42, 2019.
- GUERRA, F. Q. S.; MENDES, J. M.; OLIVEIRA, W.; COSTA, J.; COUTINHO, H. D. M.; LIMA, E. O. Chemical composition and antimicrobial activity of *Cinnamomum zeylanicum* Blume essential oil on multi-drug resistant *Acinetobacter* spp. strains. **Biofar**, v. 8, n.1, p. 62-70, 2012.
- HAFIDH, R. R.; ABDULAMIR, A. S.; VERN, L. S.; BAKAR, F. A.; ABAS, F.; JAHANSHIRI, F.; SEKAWI, Z. Inhibition of growth of highly resistant bacterial and fungal pathogens by a natural product. **The open microbiology journal**, v. 5, p. 96, 2011.
- HAMMER, Katherine A.; CARSON, Christine F.; RILEY, Thomas V. 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.
- HASHEMZADEH, M. *et al.* Study of biofilm formation, structure and antibiotic resistance in *Staphylococcus saprophyticus* strains causing urinary tract infection in women in Ahvaz, Iran. **Elsevier Ltd, NMNI**, v. 39, p. 1-8, 2020.
- JESUS, E.R de; ELLENZOHN, R.M.; BARIN, C.S. Óleo essencial de *Melaleuca Alternifolia*: otimização do método analítico. **UNOPAR Cient., Ciênc. Exatas. Tecnol.**, v.6, p. 67-72, 2007.
- LOOSE, Maria; PILGER, Emmelie; WAGENLEHNER, Florian. Anti-Bacterial Effects of Essential Oils against Uropathogenic Bacteria. **Antibiotics**, v. 9, n.6, p. 358, 2020.
- NCUBE, N. S.; AFOLAYAN, A. J.; OKOH, A. I. Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: current methods and future trends. **African journal of biotechnology**, v. 7, n. 12, 2008.
- OLIVEIRA, A.C.M. *et al.* 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**, v. 13, n.4, p. 492-499, 2011.
- PRESTES, Thaysa Sabryna *et al.* Atividade antimicrobiana do óleo de malaleuca associado ao hidróxido de cálcio. *In* MOSTRA INTERNA DE TRABALHOS DE INICIAÇÃO

CIENTÍFICA, 7., 2014, Maringá. **Anais** [...]. Maringá, 2014. Disponível em: http://www.cesumar.br/prppge/pesquisa/mostras/sete_mostra/thaysa_sabryna_prestes.pdf. Acesso em: 08 out. 2021.

RAMALHO, M.A.S. et al. Atividade antiaderente dos óleos essenciais de *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus citriodora* contra cepas de *Klebsiella pneumoniae*. **Research, Society and Development**, v. 9, n.7, 2020.

SAMPAIO-MAIA, B. *et al.* The Oral Microbiome in Health and Its Implication in Oral and Systemic Diseases. **Advances in Applied Microbiology**, v. 97, p. 171-210, 2016.

SARTORATTO, A.; MACHADO, A. L. M.; DELARMELENA, C.; FIGUEIRA, G. M.; DUARTE, M. C. T.; REHDER, V. L. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, n. 4, p. 275-280, 2004.

SILVA, P.A.A.; MEJIA, D.P.M. Atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* (*tea tree*) para uso como coadjuvante em antissépticos. **Pós-graduação em Estética e Cosmetologia, Faculdade Ávila** p. 1-13, 2011.

TEIXEIRA, Karina Imaculada R.; BUENO, Audrey Cristina; CORTÉS, Maria E. Processos Físico-Químicos no Biofilme Dentário Relacionados à Produção da Cárie. **Química Nova na Escola**, v. 32, n. 3, p. 145-150, 2010.

YUN, Kyoung-Ok; KIM, Hye-Young. A Study Regarding Bacterial Contamination of Surfaces in Dental Offices. **KJCLS**, v. 47, n.4, p. 279-285, 2015.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Na área odontológica, os produtos naturais vêm sendo estudados devido à busca por produtos com maior atividade farmacológica. A *Melaleuca alternifolia* apresenta comprovada ação bactericida e antifúngica contra vários patógenos humanos. O óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* apresentou ação antimicrobiana significativa, sendo considerado bactericida para a cepa clínica de *Staphylococcus saprophyticus* SA45, além de uma satisfatória atividade inibitória mínima da aderência *in vitro* sobre esse microrganismo, apresentando-se como opção terapêutica para as infecções de superfícies no ambiente e nos instrumentais odontológicos. No entanto, não há trabalhos que relacionam esse patógeno com o potencial antimicrobiano e antiaderente da *Melaleuca alternifolia*, necessitando de mais estudos que destaquem sua eficácia.

ANEXO 1

Padrões de publicação

A Revista Colombiana de Ciências Químico-Farmacêuticas é editada pelo Departamento de Farmácia da Universidade Nacional da Colômbia (sede de Bogotá), com periodicidade trimestral e tem como objetivo publicar artigos originais sobre diversos temas relacionados às ciências farmacêuticas, como recursos naturais, assistência, avaliação clínica e pré-clínica, e as relacionadas à indústria farmacêutica, saúde e medicamentos.

Além de artigos completos, a revista aceita resenhas temáticas, comunicações técnicas curtas e cartas ao editor. As contribuições podem ser enviadas em espanhol, português ou inglês, em fonte Times New Roman, tamanho 12, para o e-mail da revista rcciquifa_fcbog@unal.edu.co

Os manuscritos devem ter espaço duplo, incluindo tabelas, com margem mínima de 2,5 cm em todos os lados. Não são permitidas notas de rodapé.

Todos os manuscritos devem incluir:

-Título, centralizado e minúsculo.

-Autor(es), itálico, à esquerda, incluindo endereço postal completo, e-mail e fax.

-Resumo e Resúmen. No início do manuscrito e com título centralizado. Os autores devem incluir um resumo estruturado. Esta é uma breve descrição (menos de 250 palavras) dos objetivos, métodos, metodologia, resultados e conclusões de cada artigo.

-Palavras-chave (abaixo do Resúmen) e Palabras-clave (abaixo do Resúmen). Três a seis palavras em minúsculas, exceto a primeira, e separadas por vírgulas e espaços. De preferência retirado do Index Medicus (<http://www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.htm>).

Os artigos serão divididos nas seguintes seções: introdução, metodologia, resultados e discussão, agradecimentos, conflito de interesses e referências. Os títulos devem ser separados por dois espaços na parte superior e inferior, centralizados e em negrito. Os detalhes sobre a metodologia experimental utilizada devem ser claros o suficiente para repetir a experimentação.

As tabelas devem ter algarismos arábicos de acordo com a ordem de aparecimento no texto. O título deve ir na parte superior e as notas na parte inferior. Os símbolos das unidades utilizadas devem ser anotados nos cabeçalhos das colunas. As fotografias, gráficos, desenhos e diagramas são denominados "figuras" e devem ser numerados em arábico de acordo com a ordem em que aparecem no texto. O título deve ficar abaixo das figuras.

Os artigos relacionados à experimentação com animais devem obedecer integralmente às diretrizes éticas descritas pela Organização Mundial da Saúde. Os extratos ou frações avaliados *in vitro* ou *in vivo* devem ser definidos quimicamente, pelo menos em termos de classe de constituinte. O material vegetal deve ser classificado botanicamente.

As abreviações de pesos e medidas serão aquelas indicadas pela Farmacopeia dos Estados Unidos em sua edição oficial ou unidades SI.

Os dados espectroscópicos devem ser apresentados da seguinte forma:

UV λ max (solvente e) nm (log ϵ). Ex: UV λ max (MeOH) 275 (log ϵ 2,94).

IR ν max (média) cm^{-1} . Ex.: IR ν Max (KBr) 1740, 1720 cm^{-1} .

MS m/z (% de intensidade relativa). Ex: em m/z (%): 340 (M+, 100), 295 (10), 134 (26) ...

^1H NMR (solvente, frequência de gravação) δ ppm (integração, multiplicidade, J em Hz, atribuição). Ex.: ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) 3,84 (1H, d, J = 10,3Hz, H-30).

^{13}C NMR (solvente, frequência de gravação) δ ppm (multiplicidade, atribuição). Ex.: ^{13}C NMR (CDCl_3 , 600 MHz) 16,60 (t, C-12).

As abreviaturas usadas para descrever a multiplicidade de sinais em RMN são: s = singuleto, d = duplete, t = tripleto, m = multiplete, dd = duplete de dupletos, ddd = duplo de duplete de dupletos.

As abreviaturas para os solventes e reagentes mais comumente usados são: EtOH = etanol, MeOH = metanol, CHCl_3 = clorofórmio, C_6H_6 = benzeno, AcOEt = acetato de etila, EP = éter de petróleo, Me_2CO = acetona, DMSO = dimetilsulfóxido, AcOH = ácido acético.

Será evitado o uso excessivo de tabelas e figuras que serão numeradas e que serão anexadas em folhas separadas com suas respectivas descrições.

As referências serão citadas no texto com sua respectiva numeração. Apenas teses e livros ou artigos publicados podem ser citados. Devem incluir: autor(es), título da publicação, ano, volume e páginas, da seguinte forma:

Periódicos : iniciais do nome completo e sobrenome de todos os autores, título completo do artigo, nome abreviado ou nome completo do periódico, dependendo se aparece no Chemical Abstract ou em índices equivalentes. A referência é citada em itálico, volume em negrito, página inicial e ano entre parênteses. Ex.: 1. HP Baden, LA Goldsmith, B. Fleming, Um estudo comparativo de tecidos queratinizados, *Bioch. Biophys. Minutos*, 322, 269 (1973).

Comunicações pessoais: iniciais do nome, sobrenome completo e instituição, seguidas das palavras comunicação pessoal e o ano. Ex.: 2. AJM Leeuwenberg, Agricultural University, Wageningen, Holanda, comunicação pessoal, 1984.

Livros: iniciais do nome completo e sobrenome dos autores, título do livro entre aspas, editora, cidade, ano, volume e página. Ex.: 3. DR Morris, "The Biochemistry of Disease", Morris e Marton Eds., Londres, 1981, Vol. 8, p. 223.

Capítulos de livros escritos por vários autores: iniciais do nome completo e sobrenome do autor, título do capítulo, seguido da palavra In:, título do livro entre aspas, editora, editora, cidade, ano, volume, páginas . Ex.: 4. AD Elbein, RJ Molyneux, A química e bioquímica de indolizidina simples e alcaloides polihidroxilados relacionados. Em: *Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives*, Ed. por SW Pelletier, Wiley, Nova York, 1987, Vol. 5, pp. 1-54.

Tese: Autores, título seguido do nome da tese, instituição, ano, páginas. Ex.: 5. F. Salcedo, *Contribuição ao estudo das cinchonas colombianas*, tese de graduação, Universidad del Valle, 1983, pp. 14-16.

Referências da Internet: inicial completa do nome e sobrenome do autor, título do documento, endereço URL e data de revisão. Ex.: 6. Lipídeos. Banco de dados de transição de fase termotrópica de lipídios. Universidade Estadual de Ohio. URL: <http://www.lipidat.chemistry.ohio-state.edu>, acessado em setembro de 2001.

A correspondência deverá ser enviada para o seguinte endereço:

Comitê editorial

Revista Colombiana de Ciências Químico-Farmacêuticas Departamento de Farmácia
Faculdade de Ciências

Universidade Nacional da Colômbia

Cra. 30 No. 45-03

Fax: 57-1-3165060

Bogotá Colômbia

E-mail: rccquifa_fcbo@unal.edu.co

Endereço web:

<https://revistas.unal.edu.co/index.php/rccquifa>