



## ANÁLISE DO EFEITO BACTERICIDA DO ÓLEO DE MELALEUCA EM BACTÉRIAS CAUSADORAS DE INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO: UM ESTUDO EXPERIMENTAL

*Analysis of the bactericidal effect of trea oil on bacteria that cause urinary tract infections: an experimental study*

**Julia dos**

**Santos Fragnani\***

Universidade do Extremo Sul  
Catarinense, Criciúma, SC,  
Brasil.

juliadsfragnani@gmail.com



**Clarice Costa Custódio**

Universidade do Extremo Sul  
Catarinense, Criciúma, SC,  
Brasil.

claricecostacustodio@unescc.net



\*Autor correspondente

**RESUMO:** As infecções do trato urinário constantemente afetam a vida dos indivíduos, principalmente das mulheres. Desta forma, torna-se necessário métodos eficientes para o combate dos patógenos causadores de infecção urinária, sendo o mais prevalente, os antibióticos. No entanto, a resistência das bactérias a esses medicamentos tem se tornado recorrentes, resultando em um problema de saúde pública, tornando-se necessário o desenvolvimento de novas abordagens para o tratamento de infecções causadas por bactérias. Assim, os óleos essenciais vêm ganhando destaque, visto que alguns desses, como o óleo de *Melaleuca alternifolia* Cheel, possuem potencial para inibir o crescimento de bactérias. Com isso, este estudo explora os efeitos bactericidas do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel em bactérias que causam infecção do trato urinário, como a *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, a partir da observação e análise dos halos de inibição presentes em placas de Mueller Hinton, avaliando a presença ou ausência da resistência bacteriana a olho nu. Nos locais que apresentaram sensibilidade, as pesquisadoras mediram o tamanho do halo de inibição do crescimento. Em suma, este estudo apresentou resultados positivos a respeito do efeito bactericida do óleo essencial, principalmente quando se trata da bactéria gram-positiva. Contudo, se faz necessário mais pesquisas acerca deste assunto com a utilização de mais tipos de bactérias e óleos essenciais e das suas respectivas concentrações.

**PALAVRAS-CHAVE:** Infecções do trato urinário; *Escherichia coli*; *Staphylococcus aureus*; óleo essencial; *Melaleuca alternifolia*.

**ABSTRACT:** Urinary tract infections constantly affect the lives of individuals, especially women. Therefore, efficient methods are necessary to combat pathogens that cause urinary infections, the most prevalent of which are antibiotics. However, bacterial resistance to these drugs has become recurrent, resulting in a public health problem, making it necessary to develop new approaches to treat infections caused by bacteria. Thus, essential oils have been gaining prominence, as some of them, such as *Melaleuca alternifolia* Cheel oil, have the potential to inhibit the growth of bacteria. Therefore, this study explores the bactericidal effects of *Melaleuca alternifolia* Cheel essential oil on bacteria that cause urinary tract infections, such as *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, based on the observation and analysis of the inhibition halos present in Mueller Hinton plates, evaluating the presence or absence of bacterial resistance with the naked eye. In places that showed sensitivity, the researchers measured the size of the growth inhibition halo. In short, this study presented positive results regarding the bactericidal effect of the essential oil, especially when it comes to gram-positive bacteria. However, more research is needed on this subject with the use of more types of bacteria and essential oils and their respective concentrations.

**KEYWORDS:** Urinary tract infections; *Escherichia coli*; *Staphylococcus aureus*; essential oil; *Melaleuca alternifolia*.

DOI: <https://doi.org/10.18616/inova.v16i2.9617>

Recebido: 28/02/2025

Aprovado: 05/08/2025



## INTRODUÇÃO

O sistema urinário é composto pelos rins, ureteres, bexiga e uretra, cada um desses constituintes apresenta anatomia distinta e exerce funções fundamentais para o indivíduo, como a coleta, transporte, armazenamento e excreção da urina formada<sup>1,2</sup>. Ademais, este sistema dispõe de bactérias que compõem a microbiota geniturinária, no entanto, pode ocorrer o desenvolvimento de microrganismos que causam infecção<sup>3</sup>.

As infecções do trato urinário (ITU) podem se apresentar de diversas formas, como por exemplo, a pielonefrite (infecção renal), cistite (infecção na bexiga), prostatite (infecção na próstata), e ITU associada à cateter<sup>4</sup>. As infecções urinárias podem ser categorizadas de duas formas, como em relação à posição, na qual a ITU baixa se relaciona a bexiga e a ITU alta ao rim. Acerca da aparição de fatores complicadores, na ITU complicada se tem alterações referentes ao funcionamento e estruturas do sistema urinário, podendo ser obtidas nos hospitais, além da presença de alta frequência de organismos resistentes. Já na infecção do trato urinário, que não possui fatores complicadores (ITU não complicada), a causa principal é a bactéria *Escherichia coli* (*E. coli*)<sup>5</sup>.

As ITUs são identificadas como umas das doenças causadoras de infecção mais frequentes no mundo<sup>6</sup>. No Brasil, de 35 a 45% das infecções obtidas em hospitais são por ITU associadas a cateter<sup>7</sup>. Ademais, mulheres adultas apresentam 50 vezes mais chances de desenvolverem ITU do que homens, esse fato ocorre em virtude de a uretra feminina ser menor e por sua proximidade com o ânus<sup>8</sup>. Estima-se que quase metade das mulheres irão ter pelo menos um episódio de ITU na vida<sup>9</sup>.

Apesar das diversas formas que as infecções das vias urinárias podem se apresentar, a pielonefrite e a cistite são as mais recorrentes nos atendimentos clínicos. Esta última exhibe sintomas como irritação vaginal, frequência e dor ao urinar, além de poder apresentar hematúria<sup>10</sup>. Já na pielonefrite pode aparecer dor nas costas e febre<sup>11</sup>.

A compreensão do mecanismo que os microrganismos utilizam para causar as ITUs se desenvolve de forma complexa<sup>12</sup>. Portanto, pela alta prevalência de infecções urinárias em um nível mundial é de suma importância abranger os estudos a respeito dos sistemas de patogenicidade das bactérias<sup>6,13</sup>.

**Fragnani e Custódio**

Dessa forma, sabe-se que os uropatógenos utilizam os sistemas de sinalização de dois componentes, formado através de um regulador de resposta e um sensor de histidina quinase, os quais são mecanismos minuciosamente ajustados, que fazem com que as bactérias se moldem a diferentes condições ambientais, para sobreviver dentro do uroepitélio e facilitar o crescimento pela extensão do trato urinário<sup>12, 14</sup>. A capacidade da bactéria de aderir ao epitélio do trato urinário é um importante fator para o início e desenvolvimento das ITUs<sup>15</sup>.

Em sua maioria, os agentes infecciosos do trato urinário provêm do trato intestinal e migram para a região periuretral, avançando para a bexiga e causando uma bacteriúria, podendo ser sintomática ou não. Subsequentemente, os microrganismos podem agravar a infecção, em virtude dos fatores de virulência da bactéria, os quais os possibilitam resistir às respostas defensivas do sistema do ser humano<sup>15</sup>.

As ITUs constantemente são causadas pelas bactérias *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Enterococcus faecalis* e *Staphylococcus saprophyticus*<sup>16</sup>. Todavia, bactérias como *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) e *Pseudomonas spp.* podem estar presentes nas infecções do trato urinário<sup>17</sup>. Nas ITUs existe um domínio da bactéria *E. coli* em 80% dos casos<sup>18</sup>. Adicionalmente, de acordo com o levantamento de dados referente a prevalência de ITU e suas causas, realizada em um laboratório do estado de Goiás, daqueles que apresentaram infecção de urina, 56% dos casos são da bactéria *E. coli*, e em sequência o *S. aureus* com 16% das ocorrências<sup>19</sup>.

A *E. coli* é categorizada como uma bactéria bacilo gram-negativa que reside na porção final do sistema digestivo humano<sup>20</sup>. A linhagem mais comum de *E. coli* nociva extra intestinal encontrada em pacientes portadores de infecção do trato urinário é a *E. coli* uropatogênica. Esta pode infectar a uretra feminina por meio do material fecal, uma vez que o intestino atua com seu reservatório sem sofrer distúrbios<sup>21</sup>.

O *S. aureus* é caracterizado por ser um coco gram-positivo, uma bactéria que apresenta a capacidade de causar infecção do trato urinário ao adentrar no tecido renal através da adesão ao uroepitélio e produção do biofilme<sup>22</sup>. Este biofilme possui grande impacto no aumento da resistência a antibióticos<sup>23</sup>.

**Fragrani e Custódio**

As ITUs são extremamente comuns no cotidiano da população, dessa forma, acabam por se tornar uma das causas mais corriqueiras para a utilização de antibióticos como método de tratamento<sup>24</sup>. Estima-se que as infecções do trato urinário ostentam 25% das prescrições de antibióticos no mundo<sup>25</sup>.

Segundo Ching *et al.* (2020) as infecções do trato urinário são um enorme desafio para a saúde pública, em virtude do aparecimento de resistência a antibióticos entre as bactérias<sup>26</sup>. Este fato é um perigo para a saúde dos indivíduos, principalmente para aqueles que desenvolvem infecções recorrentes do trato urinário, pois quando não tratado de maneira eficaz, podem ocorrer lesões irreparáveis<sup>26</sup>.

De acordo com Chu e Lowder (2018), os antibióticos mais utilizados para o combate da infecção urinária são: fosfomicina, sulfametoxanol-trimetoprima (TMP-SMX) e nitrofurantoína<sup>27</sup>. Sendo o TMP-SMX o tratamento padrão para as ITUs agudas não complicadas<sup>28</sup>. No entanto, há um aumento da resistência para os antibióticos sulfametoxanol-trimetoprima, betalactâmicos e flurquinolonas devido ao tratamento excessivo<sup>27</sup>.

A resistência bacteriana promove o crescimento das taxas de morbidade e de óbitos dos indivíduos, tornando-se um grande problema para os custos de saúde, sendo necessárias novas abordagens terapêuticas<sup>13</sup>. Os antibióticos causam efeitos diversos, como a eliminação da microbiota natural além de causar toxicidade em virtude do abuso ou uso errôneo<sup>29,30</sup>.

Outrossim, os antibióticos possuem efeitos fora do alvo, principalmente em locais do eixo microbiota-intestino-cérebro, gerando impactos positivos ou negativos, havendo como implicações negativas reações adversas, como depressão e ansiedade<sup>31</sup>. Estes antimicrobianos causam efeitos negativos na microbiota intestinal, sendo capazes de induzir a disbiose e gerar a síndrome do intestino irritável após infecção<sup>32</sup>.

Existem métodos bastante utilizados na rotina laboratorial, como por exemplo, o ágar Mueller Hinton (MH), um meio utilizado para desenvolver um teste em que o pesquisador consegue avaliar a resistência das bactérias a determinados antibióticos<sup>33</sup>. Ademais, o ágar MH é um meio de cultura amplamente utilizado pelos pesquisadores para a realização de testes de resistência antimicrobiana por difusão em disco<sup>34</sup>. Estes testes de suscetibilidade antimicrobiana são utilizados para avaliar quais antibióticos o paciente pode utilizar, ou seja, o antibiótico que

**Fragrani e Custódio**

possui potencial de inibir o crescimento da bactéria<sup>35</sup>. No entanto, percebe-se o aumento da resistência bacteriana aos antibióticos<sup>26</sup>.

Logo, em razão da resistência a antibióticos e seus efeitos adversos, como o impacto na saúde mental, prejuízo da microbiota natural, além de possível toxicidade, é de extrema importância novos métodos para o combate das bactérias causadoras de infecção urinária<sup>13, 31, 32</sup>.

Nas últimas décadas, os estudos acerca da medicina complementar e alternativa têm sido gradativamente difundidos por vários países do mundo<sup>36</sup>. A utilização da medicina complementar alternativa, atualmente, é apropriada ao Sistema Único de Saúde (SUS) mediante a Portaria nº 971<sup>37</sup>. Dentre as práticas realizadas por essa prática alternativa existe a aromaterapia. Ela engloba os óleos essenciais, e é reconhecida também pela Organização Mundial da Saúde como uma terapia complementar<sup>38</sup>.

A aromaterapia que pertence às Práticas Integrativas e Complementares (PICS) esta expandindo cada vez mais no mundo, tornando-se popular nas diversas áreas da saúde<sup>36</sup>. As PICS, assim como a aromaterapia, possuem como propósito a melhora do bem-estar físico, emocional e mental dos indivíduos por meio de suas práticas alternativas<sup>38</sup>.

Os óleos essenciais são substâncias voláteis, produzidas de forma natural a partir de partes distintas de plantas<sup>39</sup>. De acordo com Nazzaro *et al.* (2013), os óleos de essências naturais possuem potencial de inibição do crescimento de fungos e bactérias, por conta de constituintes que agem contra a membrana e citoplasma dos micro-organismos<sup>40</sup>.

Na terapia complementar com utilização de óleos essenciais, têm-se a *Melaleuca alternifolia* *Cheel* ou óleo da árvore de chá (TTO), que vem se tornando um importante antibacteriano natural, visto que nas fases estacionária e exponencial do crescimento da *E. coli*, ele impulsiona a autólise<sup>41</sup>. Segundo Cox *et al.* (2001), o TTO como antibacteriano para o combate a cepa *E. coli* AG100, em concentrações mínimas inibitórias e bactericidas, impede a respiração e eleva a permeabilidade da membrana plasmática<sup>42</sup>.

O TTO é um óleo essencial de origem australiana, produzido a partir da destilação a vapor de suas folhas e ramos terminais<sup>36</sup>. Este óleo possui propriedades antibacterianas, antifúngicas, antivirais e anti-inflamatória<sup>43,44,45,46</sup>. Seu rendimento é de em média de 1 a 2% do peso da substância vegetal úmida<sup>36</sup>.

**Fragñani e Custódio**

Para o uso do óleo de *Melaleuca alternifolia* Cheel, é necessário sua diluição, uma vez que a utilização em excesso ou concentração acima de 5% pode causar efeitos adversos, como reações alérgicas<sup>47</sup>. No tratamento de ITU pode ser realizado o banho de assento com o óleo de *Melaleuca alternifolia* Cheel, este, possui concentrações ou gotas máximas permitidas para sua aplicação, no caso do banho de assento se tem cinco gotas em um litro de água como quantidade máxima autorizada<sup>48</sup>.

Em razão do grande problema de saúde pública que a resistência bacteriana está desenvolvendo, de fato, se faz necessário novas abordagens terapêuticas<sup>13</sup>. E a presença de compostos antibacterianos nos óleos essenciais ocasiona novas oportunidades para a área da saúde, incluindo biomedicina<sup>49</sup>.

Desta forma, percebe-se a necessidade de desenvolver novas abordagens para tratamentos de infecções causadas por bactérias em razão da alta incidência e prevalência de infecções do trato urinário no mundo, principalmente na população feminina. Além disso, em razão do grande número de infecções, há um aumento exponencial do desenvolvimento de resistência aos antibióticos, o que prejudica não somente o tratamento das ITU, mas também de outras patologias causadas por bactérias geradas pelo uso excessivo de antibióticos. Desta forma, o presente estudo se destaca como mais uma forma de melhorar o bem-estar da população, auxiliando este grave problema de saúde pública e evitando o desenvolvimento de resistência aos antibióticos.

Sendo assim, o objetivo geral deste estudo é analisar o efeito bactericida do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel nas bactérias *E. coli* e *S. aureus* causadoras de infecções do trato urinário. Adicionalmente, tem-se como objetivos específicos observar os halos de inibição do crescimento das bactérias *E. coli* e *S. aureus* nas placas de Mueller Hinton, testar a dosagem bactericida prescrita pela literatura do óleo de *Melaleuca alternifolia* Cheel em seres humanos adultos e examinar se a diluição dos óleos essenciais observados nos testes para a inibição do crescimento das respectivas bactérias condiz com as concentrações indicadas na literatura para o tratamento de seres humanos.

## **MÉTODOS**

### **Aspectos éticos**

O presente estudo é de caráter experimental qualiquantitativo, com o objetivo de analisar o efeito bactericida do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel em bactérias causadoras de infecções urinárias, como a *E. coli* e *S. aureus*. O experimento foi realizado em um laboratório disponibilizado pela Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC), após aceite da universidade (ANEXO 1).

As pesquisadoras deste estudo experimental seguiram os aspectos éticos da resolução n.º 466 de 12 de dezembro de 2012 do Conselho Nacional de Saúde (CNS) que define os aspectos éticos empregados para as pesquisas. Em razão disso, não foi divulgada a marca do óleo essencial utilizado.

### **Materiais**

No âmbito deste estudo, as cepas de bactérias foram inoculadas em diferentes meios de culturas para promover o crescimento bacteriano. Desta forma, foram utilizados os meios:

Ágar Cled que se caracteriza por ser um meio de cultura diferencial e não seletivo, no qual crescem bactérias gram-positivas e gram-negativas, e possui a característica de diferenciar bactérias fermentadoras e não fermentadoras de lactose<sup>50</sup>. Em contrapartida, o ágar MacConkey é um meio de cultura seletivo e diferencial que tem como objetivo o crescimento apenas de bactérias gram-negativas, além de diferenciar as bactérias em fermentadoras ou não de lactose<sup>50</sup>.

O ágar Mueller Hinton é um meio de cultura microbiológico que se baseia na distribuição de discos de papel filtro na placa já semeada com as bactérias de análise para avaliações de sensibilidade a antimicrobianos. Neste estudo os discos foram impregnados com óleo essencial. É um teste qualitativo que leva em consideração a formação dos halos ou não, e no caso da formação, o seu tamanho na respectiva placa, para avaliação da presença de resistência ou sensibilidade das bactérias ao óleo essencial<sup>50</sup>.

### **Procedimento experimental**

**Fragrani e Custódio**

O procedimento iniciou em março de 2024 e foi concluído neste mesmo semestre. Inicialmente foram avaliados os controles microbiológicos da higienização dos materiais e o registro de limpeza, além da verificação da temperatura do ambiente e umidade do ar. As pesquisadoras estavam devidamente paramentadas com os equipamentos de proteção individual (EPIs). No dia da cultura foi colocada na estufa uma placa de Cled e uma MacConkey sem nenhum cultivo junto com as placas de Cled e MacConkey semeadas com as cepas das bactérias, para garantir que a mesma não estivesse contaminada.

Foi realizada a semeadura das cepas de *E. coli* e *S. aureus* em placas distintas de Cled e MacConkey, as quais estavam em temperatura ambiente, com a utilização da alça bacteriológica devidamente esterilizada no Bico de Bunsen. As placas de cultura apropriadamente identificadas foram colocadas na estufa em temperatura regulada de  $35\pm 2^{\circ}\text{C}$  e permaneceram pelas próximas 24 horas.

Após 24 horas, as pesquisadoras retornaram ao laboratório seguindo todos os preparos de biossegurança, e foi realizada a suspensão da colônia de *E. coli* em solução salina que foi comparada com a Escala *Mcfarland*, ou seja, avaliando a concentração por meio da turbidez<sup>51</sup>.

Logo após, ocorreu o teste de sensibilidade, o qual foi efetuado em placas de Mueller Hinton e realizado em duplicata para confirmação dos resultados. A impregnação das bactérias foi realizada com swab estéril em temperatura ambiente de forma suave e abrangendo toda a superfície por meio da técnica de semeadura por esgotamento.

Após a secagem do meio, foram dispostos na placa de MH com a utilização de uma pinça esterilizada, discos inoculados com óleo essencial nas concentrações de 0,5%, 1%, 2,5%, 5% e o óleo puro (sem a presença do óleo carreador), sendo 5% a concentração máxima recomendada nas várias modalidades de uso para evitar reações alérgicas. As diluições foram realizadas com óleo de girassol, visto que o óleo essencial não se diluiria em água, ademais, é o método aplicado em tratamentos. Em seguida, as placas foram colocadas na estufa a  $35\pm 2^{\circ}\text{C}$  por 24 horas.

A escolha das concentrações se deu pelo fato de serem as diluições usualmente apresentadas na literatura. A diluição de 0,5% é utilizada para cuidados com o rosto, além de ser a menor quantidade usada, de acordo com a literatura. A diluição de 1% é empregada para produtos de

**Fragnani e Custódio**

corpo e é a quantidade máxima permitida para o uso em gestantes. Já a diluição de 2,5% é aplicada para massagens e estética corporal e a diluição de 5% é utilizada no corpo<sup>48</sup>. Foram avaliadas todas estas diluições presentes na literatura apesar de elas não serem de finalidade de combate às ITUs, pois o intuito foi avaliar se possuíam potencial bactericida.

No mesmo dia, foi realizado o mesmo procedimento com a bactéria *S. aureus*, no qual as pesquisadoras suspenderam esta colônia em solução salina, que foi comparada com a Escala *Mcfarland* 0,5. Em seguida, foi realizado o teste de sensibilidade em placas de Mueller Hinton novamente em duplicata. A impregnação das bactérias nas placas de MH foi realizada com swab estéril em temperatura ambiente de forma suave e abrangendo toda a superfície. Após a secagem, os discos inoculados com o óleo essencial nas concentrações de 0,5%, 1%, 2,5%, 5% e puro foram dispostos na placa de MH com a utilização de uma pinça esterilizada. Em seguida, as placas foram colocadas na estufa a  $35\pm 2^{\circ}\text{C}$  por 24 horas.

Estas abordagens buscaram avaliar a presença ou ausência da resistência bacteriana a olho nu. Nos locais que apresentaram sensibilidade, as pesquisadoras mediram o tamanho do halo de inibição do crescimento. Por fim, foi realizada a análise estatística dos resultados obtidos a partir dos procedimentos anteriores.

### **Análise estatística**

Para os dados qualitativos, ou seja, acerca da resistência ou sensibilidade das bactérias ao óleo essencial, foi realizada apenas de forma descritiva. Já a análise dos dados quantitativos (tamanho dos halos) foi efetuada com média e desvio padrão, considerando as duplicatas da mesma bactéria, além da comparação entre bactérias.

### **Avaliação dos riscos de viés**

No presente estudo, foram explorados os possíveis vieses que podem se manifestar, além da prevenção para manter a integridade e confiabilidade dos resultados da pesquisa. Dentro dos possíveis vieses, destacam-se o manuseio/manipulação das amostras, contaminação cruzada (dos materiais, estufa e pesquisadoras), o controle do processo e a existência do dado ao acaso.

**Fragnani e Custódio**

Para reduzir o risco de viés, as pesquisadoras foram previamente treinadas nos quesitos citados. Para a prevenção da contaminação cruzada foram utilizadas novas cepas, foram verificados os controles microbiológicos da estufa, além da realização da lavagem correta das mãos e uso de EPIs. Ademais, com o propósito de controle do processo, foi regulada a temperatura e umidade do ar. Por fim, em razão da possibilidade do dado ao acaso, o experimento foi realizado em duplicata.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O uso exacerbado e errôneo dos antibióticos tornou-se um grande problema de saúde pública, visto que tem resultado no desenvolvimento da resistência bacteriana<sup>26</sup>. Esta resistência estimula o crescimento dos números de morbidades e óbitos dos indivíduos, sendo assim, indispensável a pesquisa de novas abordagens terapêuticas<sup>13</sup>.

Nos últimos tempos a medicina complementar alternativa tem utilizado muito os óleos essenciais como terapia complementar, como o óleo de *Melaleuca alternifolia* Cheel, o qual tem se tornado bastante popular, principalmente devido suas propriedades antimicrobianas<sup>36</sup>. De acordo com Nguyen *et al.*, (2023), o *terpinen-4-ol*, principal componente do óleo de *Melaleuca alternifolia* Cheel, é o maior responsável pela atividade bactericida cuja ação é por meio de um mecanismo de ruptura de membrana da bactéria<sup>52</sup>. Para a realização de um estudo que evidencie o efeito bactericida do óleo essencial em bactérias, se faz necessário uma gestão de qualidade eficaz.

O controle de qualidade é uma tarefa de extrema importância em laboratórios, visto que é uma atividade que assegura um resultado de qualidade nos testes realizados no local<sup>53</sup>. Em relação aos riscos de viés, o controle microbiológico da higienização dos materiais e o registro de limpeza estavam adequados, e a temperatura do ambiente e umidade do ar também estavam dentro dos padrões. Adicionalmente, a placa de Cled e MacConkey sem nenhum cultivo que foi colocada na estufa junto com as placas semeadas com as cepas das bactérias no dia da cultura garantiu que não ocorreu contaminação. O ambiente se comprovou controlado e próprio para a realização da pesquisa.

**Fragnani e Custódio**

As diluições utilizadas neste estudo experimental foram aplicadas de acordo com uma tabela de diluição de óleos essenciais preexistentes e escolhidos com fundamentos específicos. A diluição de 0,5% é a menor aplicada na literatura e pode ser usada para cuidados com o rosto. A diluição de 1% é o máximo permitido para gestantes e seu uso é em produtos para corpo inteiro. A diluição de 2,5% pode ser utilizada para massagens e estética corporal. Já a diluição de 5% é utilizada no corpo. O óleo essencial tem como máximo de uso 5 gotas (diluído em água), para fins como banho de assento. No entanto, não é permitido o uso de óleos essenciais puro na pele, visto que existe o risco de reações adversas<sup>48</sup>. Apesar de não ser recomendado o uso do óleo essencial puro, avaliamos neste estudo para fins de comparação. Além disso, as respectivas diluições foram avaliadas nesse estudo mesmo não sendo específicas para o tratamento de ITUs, pois o objetivo foi analisar a presença de efeito bactericida do óleo de *Melaleuca alternifolia* Cheel.

O teste de suscetibilidade antimicrobiana (TSA) é utilizado para avaliar a capacidade dos antibióticos em inibir o crescimento de bactérias em método de difusão em disco. O resultado é observado pelo diâmetro da zona de inibição do crescimento da bactéria ao redor dos discos de difusão<sup>35</sup>.

Foram observadas nas placas impregnadas com a bactéria gram-negativa (*E. coli*) a resistência bacteriana ao óleo de *Melaleuca alternifolia* Cheel nas diluições de 0,5%, 1%, 2,5% e 5%. Contudo, nos dois discos inoculados com o óleo puro, verificou-se a presença do halo de inibição de crescimento (presença da sensibilidade bacteriana) com a média de 11 milímetros (mm) e um desvio padrão de 1,4 milímetros. Os resultados referentes ao tamanho dos halos de inibição do crescimento da bactéria *E. coli* em óleo de *Melaleuca alternifolia* Cheel estão dispostos na tabela 1.

**Tabela 1.** Resultados do tamanho dos halos em milímetros da bactéria *E. coli* nas placas de MH

Diluições	Placa I	Placa II	Média	Desvio Padrão
0,5%	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
1%	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
2,5%	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
5%	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
Puro	12 mm	10 mm	11 mm	1,4 mm

Fonte: Autora (2024).

Nos resultados obtidos nesta análise, a bactéria *E. coli* apresentou sensibilidade apenas nos discos inoculados com óleo puro, enquanto nos discos com óleo diluído exibiu resistência. Este dado pode estar relacionado pelo fato de as bactérias gram-negativas serem mais complexas, pois possuem uma camada a mais em sua constituição, a membrana externa<sup>39</sup>. Trombetta *et al.*, (2005) confirma essa ideia, ao publicarem que as bactérias gram-negativas têm a tendência de apresentarem maior resistência aos óleos essenciais por possuírem uma membrana externa<sup>54</sup>. A mesma, é constituída por lipopolissacarídeos, cuja estrutura cria uma barreira hidrofílica, proporcionando maior proteção contra elementos hidrofóbicos, como os óleos essenciais.

De acordo com Matuschek *et al.*, (2014), baseado no Comitê Europeu de Avaliação de Susceptibilidade Antimicrobiana (2013) versão 3.0, o diâmetro da zona de inibição do crescimento da bactéria *E. coli* contra 13 tipos de antibióticos varia de 17 a 35 milímetros<sup>55</sup>. Este dado evidencia que o tamanho do halo encontrado para a bactéria *E. coli* deste estudo, apesar de existente, é menor quando comparado com os antibióticos. Esta ocorrência, pode estar ligada ao fato de as bactérias gram-negativas apresentarem maior resistência aos óleos essenciais, em virtude de sua composição<sup>54</sup>.

Contudo, nas placas com a bactéria gram-positiva (*S. aureus*), observou-se sensibilidade bacteriana em todas as diluições realizadas e no óleo puro. Na diluição de 0,5% do óleo de *Melaleuca alternifolia* Cheel o halo de inibição de crescimento apresentou uma média de 20,5

Fragnani e Custódio

milímetros com desvio padrão de 0,7 milímetros. Na diluição de 1% verificou-se um halo com a média de 20 milímetros com desvio padrão de 0 milímetros. Em 2,5% de diluição houve a presença de um halo com a média de 19 milímetros e desvio padrão de 1,4 milímetros. Já na diluição de 5% apresentou-se um halo com a média de 20 milímetros e desvio padrão de 1,4 milímetros. Por fim, nos discos inoculados com óleo puro a média do tamanho do halo foi de 15,5 milímetros com desvio padrão de 0,7 milímetros. Os resultados referentes ao tamanho dos halos de inibição do crescimento da bactéria *S. aureus* em óleo de *Melaleuca alternifolia* Cheel estão dispostos na tabela 2.

**Tabela 2.** Resultados do tamanho dos halos em milímetros da bactéria *S. aureus* nas placas de MH

Diluições	Placa I	Placa II	Média	Desvio Padrão
0,5%	21 mm	20 mm	20,5 mm	0,7 mm
1%	20 mm	20 mm	20 mm	0,0 mm
2,5%	20 mm	18 mm	19 mm	1,4 mm
5%	21 mm	19 mm	20 mm	1,4 mm
Puro	16 mm	15 mm	15,5 mm	0,7 mm

Fonte: Autora (2024).

Segundo Burt (2004), os estudos realizados apontam que as bactérias gram-positivas de fato apresentam maior sensibilidade aos óleos essenciais<sup>56</sup>. Diversos antibióticos eficientes agem contra bactérias inibindo a síntese do peptidoglicano, estrutura extremamente abundante em bactérias gram-positivas<sup>57</sup>. Dessa maneira, pode-se considerar que alguns óleos essenciais usem deste mesmo princípio, razão pela qual a bactéria *S. aureus* obteve resultados promissores em relação a sensibilidade ao óleo em todas as diluições e no puro. De acordo com estudos realizados, as bactérias gram-positivas de fato, apresentam maior sensibilidade aos óleos essenciais, visto que estas bactérias possuem em sua parede celular regiões lipofílicas, a qual favorece a interação com os constituintes hidrofóbicos dos óleos essenciais<sup>42,56</sup>. Existe um

**Fraggani e Custódio**

pressuposto de que a maior sensibilidade das bactérias gram-positivas se deve ao fato de os óleos essenciais terem compostos hidrofóbicos, uma vez que estas bactérias possuem uma estrutura que favorece a interação com estes compostos, enquanto as bactérias gram-negativas possuem uma membrana externa mais impermeável aos compostos hidrofóbicos<sup>58</sup>.

Em um estudo realizado com o propósito de avaliar a atividade antimicrobiana dos antibióticos vancomicina e netilmicina e do óleo de *Melaleuca alternifolia* Cheel contra cepas de *S. aureus* aplicando o teste de difusão em disco, obteve como resultado um halo de inibição de 22,37 e 24,45 milímetros para os respectivos antibióticos, e 12,65 milímetros para o óleo de *Melaleuca alternifolia* Cheel<sup>59</sup>. Ao comparar estes dados com o resultado desta pesquisa, observa-se que os halos dos discos inoculados com o óleo diluído (19 a 20,5 milímetros) se assemelham com o halo dos antibióticos, enquanto os halos dos discos com óleo puro (média de 15,5 milímetros) também são similares com o encontrado no artigo citado.

No entanto, neste experimento há um destaque nas placas que continham a bactéria *S. aureus*, uma vez que os halos de inibição de crescimentos nos discos que continham os óleos diluídos tiveram resultados maiores do que nos discos com óleo puro. Desta forma, existe a hipótese de que o óleo carreador utilizado para diluição de óleos essenciais pode conter uma ação antibacteriana, neste caso foi usado o óleo vegetal de girassol como óleo carreador. De acordo com Poljsak *et al.*, (2020), os óleos vegetais exibem efeitos promissores em cicatrizações de feridas na pele, devido às suas ações antioxidante, antiinflamatória e antimicrobiana<sup>60</sup>. Além do mais, um estudo acerca do efeito antimicrobiano da combinação de óleos essenciais com óleos carreadores concluiu que, em alguns casos, esta união pode aumentar a ação antimicrobiana do composto<sup>61</sup>.

## **CONCLUSÃO**

O aumento da resistência aos antibióticos cresce cada vez mais, tornando-se um grave problema de saúde pública, sendo assim, este estudo é uma forma de tentar mudar este cenário. O presente exibiu resultados positivos a respeito do efeito bactericida do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel nas bactérias *E. coli* e *S. aureus*, expondo sensibilidade bacteriana nas placas de MH, principalmente quando se trata da bactéria gram-positiva. A sensibilidade ao óleo essencial se deu por meio da observação do surgimento dos halos de inibição de crescimento

**Fragnani e Custódio**

das bactérias. As dosagens testadas foram selecionadas de acordo com o prescrito na literatura em seres humanos adultos, mesmo não sendo específicas para o tratamento de infecções urinárias, visto que o objetivo era analisar a presença de ação bactericida do óleo essencial. Na bactéria *E. coli*, a sensibilidade bacteriana se apresentou apenas nos discos inoculados puro, exibindo resistência às diluições do óleo indicadas na literatura para os diversos tratamentos em seres humanos. Todavia, verificou-se maior destaque nas placas impregnadas com a bactéria gram-positiva, uma vez que todas as diluições realizadas e o óleo puro mostraram sensibilidade bacteriana. Deste modo, é coerente que se utilize este óleo em tratamento de infecção urinária baixa por meio de banho de assento, no entanto precisaria de mais estudos, incluindo em humanos para conhecer sua verdadeira eficácia.

Dessa forma, os resultados deste trabalho sugerem um potencial efetivo da ação bactericida do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel. No entanto, apesar da presença dos halos de inibição de crescimento bacteriano em óleo puro, se faz necessário análises mais amplas referentes ao sinergismo entre o óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel e o óleo vegetal de girassol. Se reforça a necessidade de mais pesquisas acerca deste assunto com a utilização de mais variedades de bactérias e óleos, além da utilização de mais placas para um resultado mais preciso de média e desvio padrão. O presente estudo se destaca como uma forma de melhorar o bem-estar da população ao auxiliar o grave problema de saúde pública. Sendo assim, esperamos que este estudo colabore para estudos futuros na área da saúde, visto os problemas relacionados à resistência bacteriana a antibióticos.

## **REFERÊNCIAS**

1. Hickling DR, Sun TT, Wu XR. Anatomy and Physiology of the Urinary Tract: Relation to Host Defense and Microbial Infection. *Microbiol Spectr.* 2015 Jul 2;3(4):3.4.21.
2. Fowler CJ, Griffiths D, De Groat WC. The neural control of micturition. *Nat Rev Neurosci.* 2008 Jun;9(6):453–466.
3. Stapleton AE. The Vaginal Microbiota and Urinary Tract Infection. *Microbiol Spectr.* 2016 Dez 23;4(6):4.6.37.
4. Gupta K, Grigoryan L, Trautner B. Urinary Tract Infection. *Ann Intern Med.* 2017 Out 3;167(7):ITC49.
5. Roriz-Filho JS, et al. Infecção do trato urinário. *Rev USP.* 2010 Abr;0(0):1-8. (Nota: Reduzido para "et al." por conter mais de 6 autores).

## Análise do efeito bactericida do óleo de melaleuca em bactérias causadoras de infecções do trato urinário: um estudo experimental

Fragrani e Custódio

6. Asadi Karam MR, Habibi M, Bouzari S. Urinary tract infection: Pathogenicity, antibiotic resistance and development of effective vaccines Against Uropathogenic Escherichia coli. *Mol Immunol.* 2019 Abr; 108:56–67.
7. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Nota técnica GVIMS/GGTES/ANVISA nº02/2021 – critérios diagnósticos das infecções relacionadas à assistência à saúde [Internet]. Brasília: ANVISA; 2021 [citado 2023 set 2]. Disponível em: <https://ameci.org.br/criterios-diagnosticos-das-infeccoes-relacionadas-a-assistencia-a-saude-2021/>
8. Masson P, et al. Meta-analyses in Prevention and Treatment of Urinary Tract Infections. *Infect Dis Clin North Am.* 2009 Jun;23(2):355–385. (Nota: Reduzido para "et al." por conter mais de 6 autores).
9. Foxman B. Epidemiology of Urinary Tract Infections: Incidence, Morbidity, and Economic Costs. *Am J Med.* 2002;113 Suppl 1A:5S-13S.
10. Kolman KB. Cystitis and Pyelonephritis. *Prim Care.* 2019 Jun;46(2):191–202.
11. Pietrucha-Dilanchian P, Hooton TM. Diagnosis, Treatment, and Prevention of Urinary Tract Infection. *Microbiol Spectr.* 2016 Dez 23;4(6):4.6.35.
12. De Gaetano GV, et al. In Vivo Role of Two-Component Regulatory Systems in Models of Urinary Tract Infections. *Pathogens.* 2013 Jan 10;12(1):119. (Nota: Reduzido para "et al." por conter mais de 6 autores).
13. McLellan LK, Hunstad DA. Urinary Tract Infection: Pathogenesis and Outlook. *Trends Mol Med.* 2016 Nov;22(11):946–957.
14. Stock AM, Robinson VL, Goudreau PN. Two-Component Signal Transduction. *Annu Rev Biochem.* 2000;69:183-215.
15. Reid G, Sobel JD. Bacterial Adherence in the Pathogenesis of Urinary Tract Infection: A Review. *Clin Infect Dis.* 1987 maio 1;9(3):470–487.
16. Zhou Y, et al. Urinary Tract Infections Caused by Uropathogenic Escherichia coli: Mechanisms of Infection and Treatment Options. *Int J Mol Sci.* 2023 Jun 23;24(13):10537. (Nota: Reduzido para "et al." por conter mais de 6 autores).
17. De Cueto M. Diagnóstico microbiológico de la infección del tracto urinario. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2005 Dez;23 Suppl 4:9–14.
18. Ronald A. The etiology of urinary tract infection: Traditional and emerging pathogens. *Dis Mon.* 2003 Fev;49(2):71–82.
19. Santos ACE, et al. Investigação e suscetibilidade bacteriana de infecções do trato urinário em pacientes de ambos os sexos. *Rev Recifaqui.* 2021;3(11). (Nota: Reduzido para "et al." por conter mais de 6 autores).
20. Jang J, et al. Environmental Escherichia coli: ecology and public health implications- a review. *J Appl Microbiol.* 2017 Set;123(3):570–581. (Nota: Reduzido para "et al." por conter mais de 6 autores).
21. Guglietta A. Recurrent urinary tract infections in women: risk factors, etiology, pathogenesis and prophylaxis. *Future Microbiol.* 2017 Mar;12(3):239–246.
22. Archer NK, et al. Staphylococcus aureus biofilms: Properties, regulation, and roles in human disease. *Virulence.* 2011 Set;2(5):445–459. (Nota: Reduzido para "et al." por conter mais de 6 autores).
23. Idrees M, et al. Staphylococcus aureus Biofilm: Morphology, Genetics, Pathogenesis and Treatment Strategies. *Int J Environ Res Public Health.* 2021 Jul 16;18(14):7602. (Nota: Reduzido para "et al." por conter mais de 6 autores).
24. Sihra N, et al. Non antibiotic prevention and management of recurrent urinary tract infection. *Nat Rev Urol.* 2018 Dez;15(12):750–776. (Nota: Reduzido para "et al." por conter mais de 6 autores).

**Fragrani e Custódio**

25. Venturini S, et al. The Management of Recurrent Urinary Tract Infection: Non-Antibiotic Bundle Treatment. *Probiotics Antimicrob Proteins*. 2023 Ago 16. (Nota: Reduzido para "et al." por conter mais de 6 autores).
26. Ching C, et al. Innate immunity and urinary tract infection. *Pediatr Nephrol*. 2020 Jul;35(7):1183–1192. (Nota: Reduzido para "et al." por conter mais de 6 autores).
27. Chu CM, Lowder JL. Diagnosis and treatment of urinary tract infections across age groups. *Am J Obstet Gynecol*. 2018 Jul;219(1):40–51.
28. Nicolle LE. Urinary Tract Infection: Traditional Pharmacologic Therapies. *Am J Med*. 2002;113 Suppl 1A:35S-44S.
29. Rogawski ET, et al. Use of antibiotics in children younger than two years in eight countries: a prospective cohort study. *Bull World Health Organ*. 2017 Jan 1;95(1):49–61. (Nota: Reduzido para "et al." por conter mais de 6 autores).
30. Solomkin JS, et al. Diagnosis and Management of Complicated Intra-abdominal Infection in Adults and Children: Guidelines by the Surgical Infection Society and the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2010 Jan 15;50(2):133–164. (Nota: Reduzido para "et al." por conter mais de 6 autores).
31. Dinan K, Dinan T. Antibiotics and mental health: The good, the bad and the ugly. *J Intern Med*. 2022 Dez;292(6):858–869.
32. Karakan T, et al. Gut-Brain-Microbiota Axis: Antibiotics and Functional Gastrointestinal Disorders. *Nutrients*. 2021 Jan 27;13(2):389. (Nota: Reduzido para "et al." por conter mais de 6 autores).
33. Huemer M, et al. Antibiotic resistance and persistence—Implications for human health and treatment perspectives. *EMBO Rep*. 2020 Dez 3;21(12):e51034. (Nota: Reduzido para "et al." por conter mais de 6 autores).
34. Åhman J, Matuschek E, Kahlmeter G. EUCAST evaluation of 21 brands of Mueller–Hinton dehydrated media for disc diffusion testing. *Clin Microbiol Infect*. 2020 Out;26(10):1412.e1-1412.e5.
35. Courvalin P, Leclercq R, Rice LB. *Antibiogram*. 3rd ed. Washington (DC): ASM Press; 2010.
36. Carson CF, Hammer KA, Riley TV. Melaleuca alternifolia (Tea Tree) Oil: a Review of Antimicrobial and Other Medicinal Properties. *Clin Microbiol Rev*. 2006 Jan;19(1):50–62.
37. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria nº 971 de 3 de maio de 2006. Aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde [Internet]. Brasília: Diário Oficial da União; 2006 [citado 2023 set 2]. Disponível em: [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2006/prt0971\\_03\\_05\\_2006.html](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2006/prt0971_03_05_2006.html)
38. Gnatta JR, et al. Aromatherapy and nursing: historical and theoretical conception. *Rev Esc Enferm USP*. 2016 Fev;50(1):127–133. (Nota: Reduzido para "et al." por conter mais de 6 autores).
39. Ramsey JT, et al. Essential Oils and Health. *Yale J Biol Med*. 2020 Jun 29;93(2):291-305. PMID: PMC7309671. (Nota: Reduzido para "et al." por conter mais de 6 autores).
40. Nazzaro F, et al. Effect of Essential Oils on Pathogenic Bacteria. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2013 Nov 25;6(12):1451–1474. (Nota: Reduzido para "et al." por conter mais de 6 autores).
41. Gustafson JE, et al. Effects of tea tree oil on Escherichia coli. *Lett Appl Microbiol*. 1998 Mar;26(3):194–198.
42. Cox SD, et al. The mode of antimicrobial action of the essential oil of Melaleuca alternifolia (tea tree oil). *J Appl Microbiol*. 2001 Jan;88(1):170–175. (Nota: Reduzido para "et al." por conter mais de 6 autores).
43. Hart PH, et al. Terpinen-4-ol, the main component of the essential oil of Melaleuca alternifolia (tea tree oil), suppresses inflammatory mediator production by activated human monocytes. *Inflamm Res*. 2000 Nov;49(11):619–626. (Nota: Reduzido para "et al." por conter mais de 6 autores).

**Fragrani e Custódio**

44. Hammer KA. Antifungal effects of Melaleuca alternifolia (tea tree) oil and its components on Candida albicans, Candida glabrata and Saccharomyces cerevisiae. J Antimicrob Chemother. 2004 Apr 29;53(6):1081–1085.
45. Kotan R, Kordali S, Cakir A. Screening of Antibacterial Activities of Twenty-One Oxygenated Monoterpenes. Z Naturforsch C J Biosci. 2007 Ago 1;62(7–8):507–513.
46. Astani A, Reichling J, Schnitzler P. Comparative study on the antiviral activity of selected monoterpenes derived from essential oils. Phytother Res. 2010 maio;24(5):673–679.
47. De Groot AC, Schmidt E. Tea tree oil: contact allergy and chemical composition. Contact Dermatitis. 2016 Set;75(3):129–143.
48. Petry D. Formação em aromaterapia integrativa: Livro 3. São Paulo: [Editora desconhecida]; c2019.
49. Swamy MK, Akhtar MS, Sinniah UR. Antimicrobial Properties of Plant Essential Oils Against Human Pathogens and Their Mode of Action: An Updated Review. Evid Based Complement Alternat Med. 2016;2016:1–21.
50. Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST). Tabelas de Pontos de Corte Para Interpretação de CIMs e Diâmetros de Halos: V1 [Internet]. Brasil: BrCAST; 2022 [citado 2023 set 2]. Disponível em: <http://brcast.org.br/>
51. Isenberg HD. Padrões McFarland. Manual de procedimentos de microbiologia clínica. Vol. 2. 2. ed. Washington (DC): ASM Press; p. 5.14.11–5.14.14.
52. Nguyen L, et al. Tea Tree Essential Oil Kills Escherichia coli and Staphylococcus epidermidis Persisters. Biomolecules. 2023 Set 18;13(9):1404. (Nota: Reduzido para "et al." por conter mais de 6 autores).
53. Van Rossum HH. Technical quality assurance and quality control for medical laboratories: a review and proposal of a new concept to obtain integrated and validated QA/QC plans. Crit Rev Clin Lab Sci. 2022 Nov 17;59(8):586–600.
54. Trombetta D, et al. Mechanisms of Antibacterial Action of Three Monoterpenes. Antimicrob Agents Chemother. 2005 Jun;49(6):2474–2478. (Nota: Reduzido para "et al." por conter mais de 6 autores).
55. Matuschek E, Brown DFJ, Kahlmeter G. Development of the EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method and its implementation in routine microbiology laboratories. Clin Microbiol Infect. 2014 Abr;20(4):O255–O266.
56. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods— a review. Int J Food Microbiol. 2004 Ago;94(3):223–253.
57. Silver LL. Viable screening targets related to the bacterial cell wall. Ann N Y Acad Sci. 2013 Jan;1277(1):29–53.
58. Plésiat P, Nikaido H. Outer membranes of Gram-negative bacteria are permeable to steroid probes. Mol Microbiol. 1992 maio;6(10):1323–1333.
59. Fernández-Engroba J, et al. Evaluación in vitro de múltiples agentes antibacterianos para el tratamiento de la blefaritis anterior crónica estafilocócica. Arch Soc Esp Oftalmol. 2023 Jun;98(6):338–343. (Nota: Reduzido para "et al." por conter mais de 6 autores).
60. Poljšak N, Kreft S, Kočevar Glavač N. Vegetable butters and oils in skin wound healing: Scientific evidence for new opportunities in dermatology. Phytother Res. 2020 Fev;34(2):254–269.
61. Orchard A, et al. The Influence of Carrier Oils on the Antimicrobial Activity and Cytotoxicity of Essential Oils. Evid Based Complement Alternat Med. 2019 Jan 14;2019:1–24. (Nota: Reduzido para "et al." por conter mais de 6 autores).