

## ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO ÓLEO ESSENCIAL DE MELALEUCA (*Melaleuca alternifolia*) FRENTE A ISOLADOS DE *Campylobacter jejuni* ORIUNDOS DA CADEIA PRODUTIVA DE FRANGOS DE CORTE

GABRIELLY AMARAL CESPEDES FIORAVANTI<sup>1</sup>; NATALIE RAUBER  
KLEINÜBING<sup>2</sup>; ERIC HIROYOSHI OSSUGUI<sup>2</sup>; TASSIANA RAMIRES<sup>2</sup>;  
WLADIMIR PADILHA DA SILVA<sup>2</sup>; GRACIELA VOLZ LOPES<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – gabriellyacfioravanti@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – natalierk10@hotmail.com; eric.ossugui@gmail.com;  
tassianaramires@gmail.com; wladimir.padilha2011@gmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – gracielaavlupes@yahoo.com.br

### 1. INTRODUÇÃO

A campilobacteriose é a doença diarreica ocasionada por bactérias do gênero *Campylobacter*. Essa doença é a zoonose mais reportada no mundo todo (WHO, 2022), sendo responsável por 12.840 casos no ano de 2021, com uma taxa de notificação de 40,2 a cada 100.000 indivíduos na União Europeia (EFSA/ECDC, 2022). Dentro do gênero *Campylobacter*, *C. jejuni* destaca-se como a espécie mais associada a casos de campilobacteriose em humanos (SCZEPANSKA et al., 2015) sendo veiculada através do consumo de frango cru ou mal cozido e ou ainda, pela contaminação cruzada para alimentos que vão ser consumidos *in natura* (WHO, 2020). A campilobacteriose cursa com sintomas como diarreia, que pode ser sanguinolenta, vômitos, náuseas, dores abdominais, sendo normalmente autolimitante, com duração de em média seis dias, porém complicações podem ser observadas em alguns indivíduos, sendo necessário o uso de fármacos antimicrobianos (CDC, 2021; WHO, 2020).

A resistência a antimicrobianos é um dos principais problemas de saúde pública no mundo todo, considerada pela Organização Mundial da Saúde (WHO) um dos dez maiores problemas enfrentados pela humanidade, levando ao comprometimento do tratamento de diversas doenças infecciosas, sendo necessárias medidas urgentes para combater essa ameaça (WHO, 2022). Segundo o *Centers of Disease Control and Prevention* (CDC), a resistência em *Campylobacter* é considerada de nível sério, principalmente em relação aos antimicrobianos pertencentes à classe das fluorquinolonas e macrolídeos, levando a problemas na terapêutica da campilobacteriose (CDC, 2019). Devido a esse problema, a busca por novas substâncias com potencial antimicrobiano se faz necessária.

*Melaleuca alternifolia* é uma árvore pertencente à família *Myrtaceae*, nativa de países da Oceania e sul da Ásia. O seu óleo essencial está associado a aumento da imunidade intestinal devido a sua atividade antioxidante, atividade antiprotzoária (LAM et al., 2020) e antibacteriana frente a diversos patógenos como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* (ZHANG et al., 2018) e *Campylobacter* spp. (KUREKCI et al., 2013).

Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a atividade antibacteriana do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* frente a isolados de *C. jejuni* provenientes da cadeia produtiva de frangos de corte.

## 2. METODOLOGIA

Neste estudo foram utilizados quatro isolados de *C. jejuni* oriundos de cortes de frango, abatedouro e granja anteriormente identificados quanto ao seu perfil de resistência a antimicrobianos por KLEINÜBING et al. (2021). Para avaliar a atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* (Lazslo®) foram utilizadas as técnicas de disco-difusão em ágar e microdiluição em caldo.

Foram preparados inóculos bacterianos dos isolados de *C. jejuni* em solução salina 0,85% (Synth®) a partir de cultivos de 24 h em ágar Columbia (AC, Neogen®), acrescido de sangue equino lisado e desfibrinado, padronizados em espectrofotômetro a 0,01 em comprimento de onda de 625 nm. Para a técnica de disco-difusão em ágar, os inóculos foram semeados com auxílio de um swab esterilizado em placas contendo ágar Muller-Hinton (MH, Kasvi®) acrescido de sangue equino lisado e desfibrinado. Foram adicionados discos de papel filtro no centro das placas e, em seguida, 10 µL de óleo essencial de *Melaleuca* foram adicionados sobre os discos. As placas foram incubadas a 42 °C por 24 h, em ambiente de microaerofilia, (5% de O<sub>2</sub> e 10% de CO<sub>2</sub>, 85% de N<sub>2</sub>). Após a incubação, as zonas de inibição foram medidas e o resultado expresso em milímetros (mm).

Por meio da técnica de microdiluição em caldo, utilizando-se placas de cultivo celular com 24 cavidades, obteve-se a concentração inibitória mínima (CIM) do óleo essencial de *Melaleuca*. Em cada cavidade foram adicionados 500 µL de caldo nutriente nº 2 (CN2, Neogen®), acrescido de 10% de dimetilsulfóxido (Synth®) e do óleo em diferentes concentrações. Posteriormente, adicionou-se 500 µL de inóculo em cada cavidade. Para o controle positivo utilizou-se 500 µL de CN2 com 10% de DMSO e 500 µL de inóculo; para o controle negativo foi utilizado 1000 µL CN2 com 10% de DMSO. As placas foram incubadas a 42 °C por 24 h em ambiente de microaerofilia e a CIM do óleo de *Melaleuca* foi definida como a menor concentração capaz de inibir visivelmente a multiplicação do patógeno.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O óleo essencial de *Melaleuca* mostrou atividade antibacteriana frente a isolados de *C. jejuni* (Tabela 1). No teste de disco-difusão em ágar os diâmetros das zonas de inibição variaram de 25 a 39,5 mm. Conforme ROTA et al. (2008) as zonas de inibição com diâmetros superiores a 20 mm podem indicar uma forte atividade antimicrobiana, como observado em nosso estudo. Diâmetros menores foram observados por KUREKCI et al. (2013) ao avaliar a ação do óleo essencial de *Melaleuca* frente a *C. jejuni*, variando de 26,7 ±0,9 a 29,3±0,7 mm.

Em relação a CIM, houve uma variação entre os isolados com concentrações variando de 0,91 mg.mL<sup>-1</sup> (0,1%) até 1,81 mg.mL<sup>-1</sup>(0,2%). KUREKCI et al. (2013) ao avaliarem a ação antibacteriana do OE de *Melaleuca* encontraram valores de CIM de 0,001%, portanto menores que os observados em nosso estudo.

A ação do OE de *Melaleuca* frente a *E. coli*, patógeno Gram negativo assim como *C. jejuni*, foi avaliada por FERREIRA et al. (2023), que obtiveram CIM de 0,2 ± 0,1%, concentrações semelhantes às observadas no presente estudo para o isolado B. Também foi observada a ação antibacteriana do OE de *Melaleuca* contra o patógeno Gram positivo *S. aureus*, isolados de bovinos acometidos por mastite por FINHLER et al. (2020), onde a CIM obtida variou de 0,312% e a 2,5%. Os autores observaram que o OE de *Melaleuca alternifolia* demonstrou efeito bactericida contra os 24 isolados de *S. aureus* (FINHLER et al., 2020).

Tabela 1 - Atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* frente a isolados de *Campylobacter jejuni*.

Isolados de <i>C. jejuni</i>		Atividade antimicrobiana	
Identificação	Origem	DD (mm)	CIM (mg.mL <sup>-1</sup> )
A	Varejo - carcaça de frango	25	0,91 (0,1%)
B	Varejo - coxa de frango	39,5	1,81 (0,2%)
C	Abatedouro – swab de cloaca	36,5	0,91 (0,1%)
D	Granja – swab de cloaca	36	0,91 (0,1%)

DD: disco-difusão em ágar; CIM: concentração inibitória mínima; mm: milímetros; mg: miligramas; mL: mililitros.

Ao avaliar a composição do OE de *Melaleuca alternifolia*, BOROTOVÁ et al. (2022) verificaram que o composto majoritário encontrado foi o terpinen-4-ol, compondo 40,3% do OE. Ao avaliar a ação do terpinen-4-ol contra *Pseudomonas* spp., PAPADOPOULOS et al. (2006) encontraram resultados de CIM entre 2% e > 8%, portanto valores maiores que os observados em nosso estudo ao avaliar a ação antibacteriana do OE de *Melaleuca alternifolia*, o que pode estar relacionado com a interação entre os diversos componentes presentes no OE.

#### 4. CONCLUSÕES

O óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* demonstrou atividade antibacteriana frente a isolados de *Campylobacter jejuni*, provenientes da cadeia produtiva de frangos de corte, avaliados no presente estudo, tendo demonstrado sua ação inibitória em baixas concentrações.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CDC, CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Antibiotic resistance threats in the United States, 2019**: Centers for Disease Control and Prevention (U.S.), 2019. Disponível em: <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/82532>. Acesso em: 18 set. 2023.
- CDC, CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Campylobacter (Campylobacteriosis)**, 2021. Disponível em: <https://www.cdc.gov/campylobacter/index.html>. Acesso em: 15. set. 2023.
- EUCAST, EUROPEAN COMMITTEE ON ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING. **Antimicrobial susceptibility testing EUCAST disk diffusion method**. 2023. Disponível em: [https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\\_files/Disk\\_test\\_documents/2023\\_manuals/Manual\\_v\\_11.0\\_EUCAST\\_Disk\\_Test\\_2023.pdf](https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Disk_test_documents/2023_manuals/Manual_v_11.0_EUCAST_Disk_Test_2023.pdf). Acesso em: 15 set. 2023.
- FERREIRA, G. S.; DA SILVA, D. J.; SOUZA, A. G.; YUDICE, E. D. C.; DE CAMPOS, I. B.; COL, R. D.; MOURÃO, A.; MARTINHO, H. S.; ROSA, D. S. Eco-friendly and effective antimicrobial *Melaleuca alternifolia* essential oil Pickering emulsions stabilized with cellulose nanofibrils against bacteria and SARS-CoV-2. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 243, p. 125228, 2023.

FINHLER, S.; SUTHOVSKI, G.; PERIN, D. P.; STONIESKI, C.; BENVENÚ, D. M. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO ÓLEO ESSENCIAL DE MELALEUCA ALTERNIFOLIA (TEA TREE OIL) SOBRE AGENTES INFECCIOSOS ISOLADOS DE BOVINOS ACOMETIDOS POR MASTITE. **JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA**, v. 1, n. 10, 2020.

KUREKCI, C.; PADMANABHA, J.; BISHOP-HURLEY, S. L.; HASSAN, E.; AL JASSIM, R. A. M.; MCSWEENEY, C. S. Antimicrobial activity of essential oils and five terpenoid compounds against *Campylobacter jejuni* in pure and mixed culture experiments. **International Journal of Food Microbiology**, v. 166, n. 3, p. 450–457, 2013.

LAM, N. S.; LONG, X.; SU, X.; LU, F. Melaleuca alternifolia (tea tree) oil and its monoterpene constituents in treating protozoan and helminthic infections. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 130, p. 110624, 2020.

MONTEIRO, R. P. A. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais. 2015, 68 f. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Fernando Pessoa, Faculdade de Ciências da Saúde. 2015.

PAPADOPOULOS, C. J.; CARSON, C. F.; HAMMER, K. A.; RILEY, T. V. Susceptibility of pseudomonads to *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil and components. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 58, n. 2, p. 449–451, 2006.

WHO, WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Antimicrobial Resistance**. 2021. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>. Acesso em: 14 set. 2023.

WHO, WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Campylobacter**. 2020. Campylobacter. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/campylobacter>. Acesso em: 14 set. 2023.

ZHANG, X.; GUO, Y.; GUO, L.; JIANG, H.; JI, Q. In Vitro Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Activities of Melaleuca alternifolia Essential Oil. **BioMed Research International**, v. 2018, p. 1–8, 2018