



UNIVERSIDADE DE
COIMBRA

FACULDADE
DE
MEDICINA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL

MARIA INÊS MOURÃO BENITES DOS SANTOS BARRADAS

MELALEUCA ALTERNIFOLIA: EVIDÊNCIA CIENTÍFICA

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE PLANTAS MEDICINAIS NA PRÁTICA CLÍNICA

Trabalho realizado sob a orientação de:

PROF. DOUTOR CELSO PEREIRA

DR^a BEATRIZ TAVARES

MARÇO/2020

MELALEUCA ALTERNIFOLIA: EVIDÊNCIA CIENTÍFICA

Artigo de revisão

Trabalho final do 6^a ano do Mestrado Integrado em Medicina, com vista à
atribuição do grau de Mestre em Medicina

Aluna

Maria Inês Mourão Benites dos Santos Barradas

Aluna do 6^o ano do Mestrado Integrado em Medicina

Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal

ines.barradas476@gmail.com

Orientador

Prof. Doutor Celso Pereira

Professor Auxiliar Convidado da Unidade Curricular de Plantas Medicinais na Prática
Clínica, Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal –
Azinhaga de Santa Comba, 3000-354, Coimbra

Coorientadora

Dr.^a Beatriz Tavares

Imunoalergologia, Assistente Graduada do Serviço de Imunoalergologia, Centro
Hospitalar da Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal – Praceta Prof. Mota Pinto,
3000-075, Coimbra

ÍNDICE

Resumo	5
<i>Abstract</i>	7
Lista de Abreviaturas	9
I. Introdução	11
II. Material e Métodos	15
III. Resultados	17
1. Considerações farmacológicas gerais	17
2. Atividade antimicrobiana	22
2.1. Atividade antibacteriana	22
2.2. Atividade antifúngica	23
2.3. Atividade antiparasitária	24
2.4. Atividade antivírica	25
3. Atividade oncoprotetora	26
4. Atividade antioxidante	28
5. Aplicações clínicas	30
5.1. Patologia cutânea	30
5.1.1. <i>Acne vulgaris</i>	30
5.1.2. Dermatite seborreica	31
5.1.3. Dermatite atópica	32
5.1.4. <i>Tinea pedis</i> e onicomicose	32
5.1.5. Herpes	34
5.1.6. Verrugas	35
5.1.7. Molusco contagioso	36
5.1.8. Pediculose do couro cabeludo	37
5.1.9. Sarna	38
5.1.10. Soluções de continuidade cutânea e cicatrização	39
5.1.11. Demodicose	41
5.1.12. Hirsutismo	42
5.2. Patologia oral	43
5.2.1. Estomatite	43
5.2.2. Placa dentária e gengivite	44
5.3. Patologia ginecológica	45
5.4. Outras	46
5.4.1. Hemorróidas	46
5.4.2. Queratite por <i>Acanthamoeba</i>	46
IV. Discussão e Conclusão	49
V. Referências Bibliográficas	53

RESUMO

Melaleuca alternifolia, vulgarmente conhecida como árvore-do-chá, é uma planta nativa da Austrália que pertence à família *Myrtaceae*. Esta planta tem um longo uso ancestral e veio a ser objeto de monografia pela *European Medicines Agency*.

Este artigo tem por objetivo uma revisão crítica da literatura disponível referente às aplicações médicas da *Melaleuca alternifolia*. Para o efeito, procedeu-se à pesquisa criteriosa de artigos científicos e ensaios clínicos que atentem às oportunidades terapêuticas e eventuais novas linhas de investigação.

Serão descritos os diferentes constituintes químicos presentes neste óleo essencial, com destaque para os terpinenos, e os principais mecanismos farmacológicos. Globalmente, a aplicação tópica apresenta um bom perfil de segurança, embora possa ser necessária uma diluição aquosa ou noutra óleo veicular para minimizar potenciais efeitos adversos *minor*. A administração por via oral, particularmente em concentrações elevadas não está recomendada pelo risco de efeitos sistémicos musculares e neurológicos. Não estão reportadas interações farmacológicas em administração tópica, cutânea ou mucosa. Uma utilização continuada tem risco potencial de alergia de contacto por sensibilização celular.

O efeito antimicrobiológico da *Melaleuca alternifolia* tem sido profusamente reportado, particularmente para fungos (*Candida albicans* e *Trichophyton spp.*); bactérias gram positivas (*Streptococcus spp.* e *Staphylococcus aureus* incluindo estirpes *MRSA*), gram negativas (*E. coli* e *Klebsiella pneumoniae*); parasitas (*Pediculus humanus*, *Phthirus pubis*, *Leishmania spp.* e *Trypanosoma spp.*) e vírus (*Coxsackie B1*, *HSV-1*, *HSV-2* e *HPV*).

Neste contexto, este fitofármaco tem tido aplicação em inúmeras áreas clínicas.

Em patologia cutânea, salientam-se a eficácia terapêutica na acne, foliculite, no alívio sintomático de dermatites pruriginosas, diferentes tipos de dermofitoses e na pediculose. Em patologia oral a utilização tópica tem demonstrado evidência no controlo do biofilme e em processos infecciosos e inflamatórios. Na candidíase vulvovaginal tem sido observada eficácia clínica e é sustentado um potente efeito no biofilme cutâneo-mucoso com potenciais implicações em doentes com formas recorrentes e resistentes à terapêutica antifúngica. Face à eletividade para diferentes estirpes de *Staphylococcus*, este óleo essencial pode constituir uma oportunidade terapêutica na dermatite atópica.

Em investigação experimental tem sido evidenciada atividade antioxidativa e intervenção em inúmeros processos celulares com efeito oncoprotector, pelo que estes efeitos alargam o espectro potencial da *Melaleuca alternifolia*.

O número crescente de microrganismos multirresistentes fazem desta planta medicinal um alvo de interesse na investigação científica atual, propiciando a sua aplicação com base científica em algumas situações da prática clínica de forma racional e sustentada.

Palavras chave: óleo de árvore-do-chá, óleo de *Melaleuca*, terpineno-4-ol, antimicrobiano, *Candida albicans*.

ABSTRACT

Melaleuca alternifolia, commonly known as tea tree, is a plant native to Australia that belongs to the Myrtaceae family. This plant has a long ancestral use and came to be the subject of a monograph by the European Medicines Agency.

This article aims at a critical review of the available literature regarding the medical applications of Melaleuca alternifolia. To this end, a careful search for scientific articles and clinical trials was carried out, regarding therapeutic opportunities and possible new lines of investigation.

The main pharmacological mechanisms and the different chemical constituents present in this essential oil will be described, with emphasis on terpinenes. Overall, topical application has a good safety profile, although an aqueous dilution or other carrier oil may be necessary to minimize potential minor adverse effects. Oral administration, particularly in high concentrations, is not recommended due to the risk of systemic muscle and neurological effects. There are no topical, cutaneous or mucous pharmacological interactions reported. Continued use has a potential risk of contact allergy due to cellular sensitization.

The antimicrobial effect of Melaleuca alternifolia has been extensively reported, particularly for fungi (Candida albicans and Trichophyton spp.); gram positive bacteria (Streptococcus spp. and Staphylococcus aureus including MRSA strains), gram negative bacteria (E. coli and Klebsiella pneumoniae); parasites (Pediculus humanus, Phthirus pubis, Leishmania spp. and Trypanosoma spp.) and viruses (Coxsackie B1, HSV-1, HSV-2 and HPV). In this context, this phytopharmaceutical has numerous clinical applications.

In cutaneous pathology, we highlight the therapeutic efficacy in acne, folliculitis, in the symptomatic relief of pruritic dermatitis, in different types of dermatophytosis and in pediculosis. In oral pathology, topical use has shown evidence in the control of biofilm and in infectious and inflammatory processes. In vulvovaginal candidiasis, clinical efficacy has been observed and a potent effect on cutaneous-mucous biofilm has been sustained with potential implications in patients with recurrent forms or resistant to antifungal therapy. In view of the electivity for different strains of Staphylococcus, this essential oil can be a therapeutic opportunity in atopic dermatitis.

In experimental research, antioxidant activity and numerous cellular processes with oncoprotective effect have been evidenced. Therefore, these effects can potentially widen the spectrum of Melaleuca alternifolia.

The growing number of multidrug-resistant microorganisms turns this medicinal plant into a target of interest in current scientific research, enabling its rational and sustained clinical application.

Key words: *tea tree oil, Melaleuca oil, terpinene-4-ol, antimicrobial, Candida albicans.*

LISTA DE ABREVIATURAS

BAX – proteína X associada a BCL-2

BCL-2 – *B-cell lymphoma 2*

CD24 – *cluster of differentiation 24*

CMB – concentração mínima bactericida

CMI – concentração mínima inibitória

CMF – concentração mínima fungicida

ECHO - *Enteric cytopathic human orphan*

EMA – *European Medicines Agency*

EUA – Estados Unidos da América

HPV – vírus do papiloma humano

HSV-1 – vírus *Herpes simplex* tipo 1

HSV-2 – vírus *Herpes simplex* tipo 2

IC50 – 50% da concentração inibitória máxima

ISO – *International Organization for Standardization*

KRAS – *Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog*

MDR – resistente a múltiplas drogas

MRSA – *Staphylococcus aureus* resistente à metilina

MSSA – *Staphylococcus aureus* sensível à metilina

P-53 – proteína 53

PCR – reação em cadeia da polimerase

SNC – sistema nervoso central

TBARS - espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico

UFC – unidades formadoras de colónias

VIH – vírus da imunodeficiência humana

WHO – *World Health Organization*

I. INTRODUÇÃO



Figura 1: *Melaleuca alternifolia* (árvore)

Imagem obtida do *website* de acesso livre sem *copyright*, acedida a 03/12/2019.

(<https://pixabay.com/pt/photos/%C3%A1rvore-de-melaleuca-melaleuca-1121787/>)

Melaleuca alternifolia, vulgarmente conhecida como árvore-do-chá, é uma pequena árvore pertencente à família botânica *Myrtaceae*. Esta planta é nativa da Austrália, mais precisamente da região costeira de *New South Wales* e *Queensland*.

A Austrália é o principal país produtor de árvore-do-chá mas a China, a África-do-sul e o Vietname também cultivam e comercializam esta planta, embora em menor quantidade. [1] Acredita-se que os aborígenas *Bundjalung*, do leste da Austrália, tenham sido os primeiros a explorar os poderes curativos da árvore-do-chá há centenas de anos. Inalavam o óleo das folhas esmagadas para tratar a tosse e catarros respiratórios, aplicavam as folhas em feridas, abrasões e picadas de inseto e faziam infusões para o alívio da odinofagia.

No século XVIII, o capitão James Cook deu à planta o nome “árvore-do-chá” porque observou os aborígenas a preparar um chá curativo com folhas de *Melaleuca*. Mais tarde, Arthur Penfold publicou os primeiros relatos da atividade antimicrobiana do óleo de árvore-do-chá numa série de artigos publicados nas décadas de 1920 e 1930. Nestes estudos, o óleo foi classificado como 11 a 13 vezes mais ativo que o fenol (o antisséptico de referência na altura), sendo também mais seguro para aplicação tópica. Com estes estudos nasceu a indústria da árvore-do-chá.

O óleo de árvore-do-chá tornou-se um “remédio” doméstico muito popular na Austrália e foi parte essencial do *kit* de primeiros socorros de todos os soldados australianos durante a Segunda Guerra Mundial, o que aumentou ainda mais a sua popularidade um pouco por todo o mundo. Apesar disso, nas décadas de 1950 e 1960 a sua produção diminuiu com o desenvolvimento dos antibióticos, voltando o interesse a ressurgir apenas no início dos anos 70, com o aparecimento do mercado dos produtos naturais. Recentemente, o seu uso tem vindo a aumentar também devido à crescente resistência dos microrganismos aos antibióticos. [2]

A substância de interesse farmacológico nesta planta é o óleo obtido através da destilação das suas folhas e ramos terminais. Apresenta um amplo espectro antimicrobiano, particularmente contra fungos, bactérias gram positivas e gram negativas, parasitas e vírus. As suas propriedades anti-inflamatória e cicatrizante também são amplamente reconhecidas. [3] Os fitoconstituintes bioativos presentes no óleo, e que parecem ser os principais responsáveis pelas propriedades descritas, são os terpinenos, nomeadamente o terpineno-4-ol, o γ -terpineno e o α -terpineno.



Figura 2: *Melaleuca alternifolia* (folhas e ramos terminais)

Imagem obtida do *website* de acesso livre sem *copyright*, acedida a 03/12/2019.

(<https://pixabay.com/pt/photos/bottlebrush-branco-1120854/>)

Apesar da designação popular de “óleo de árvore-do-chá”, o termo “óleo de *Melaleuca*” é o nome cientificamente aprovado pela *Therapeutic Goods Administration of Australia*. [4]

O óleo de *Melaleuca* é comercializado sob a forma de óleo 100% puro ou em soluções com concentrações geralmente entre 2 e 5%. É formulado nos mais diversos veículos incluindo géis, cremes, pomadas e tinturas, podendo até ser encontrado em produtos de cosmética como sabonetes, champôs, bálsamos, dentífricos, soluções de higiene oral e desodorizantes. [1] [3]

A sua aplicação tópica apresenta um bom perfil de segurança e os seus efeitos adversos são considerados *minor*, ocasionais e autolimitados. [5] Embora raros, estão descritos casos de dermatite de contacto ao óleo e nestes casos o seu uso deve ser evitado. A administração por via oral, particularmente em concentrações elevadas, não está recomendada pelo risco de efeitos sistémicos musculares e neurológicos. Não é recomendado o uso de óleo de *Melaleuca* durante a gravidez ou amamentação nem em crianças, por falta de informação relativa à sua segurança nestes grupos populacionais. [4]

Numa monografia de 2013 pela *European Medicines Agency*, o óleo de *Melaleuca* é indicado para o tratamento de pequenas soluções de continuidade cutânea superficiais, reações inflamatórias resultantes de picada de inseto, furúnculos, acne ligeira, alívio do prurido na *Tinea pedis* e alívio sintomático de inflamações *minor* da mucosa oral. [4]

Nos últimos anos, tem surgido evidência crescente da potencialidade deste óleo também noutras áreas, como a ginecologia, oftalmologia, cirurgia, oncologia e em diversas patologias infecciosas.

A procura e a difusão do uso de plantas e suplementos denotam, nos dias de hoje, um crescimento exponencial. Assiste-se a um aumento na resistência da população ao uso de fármacos sintéticos e a uma crescente procura por alternativas terapêuticas relacionadas com o uso de plantas medicinais. Muitas vezes o seu uso é infundado e indiscriminado, pelo que é imperioso capacitar os profissionais de saúde com conhecimento na área das plantas medicinais, tornando-os capazes de esclarecer dúvidas dos utentes e oferecer alternativas eficazes e sustentadas cientificamente. Muitas vezes existem alternativas terapêuticas eficazes, em diversas situações da prática clínica, que podem ser aplicadas de uma forma racional e sustentada. Assim sendo, é evidente a importância do acesso dos profissionais de saúde a informação científica rigorosa relativamente aos benefícios da utilização de certos fitofármacos nas diversas áreas da medicina.

Desta forma, este artigo tem por objetivo fazer uma revisão crítica da literatura referente às potenciais aplicações médicas do óleo de *Melaleuca alternifolia*, incluindo ensaios *in vitro* e *in vivo* em algumas áreas, estudos clínicos, revisões sistemáticas e meta-análises dos principais estudos.

II. MATERIAL E MÉTODOS

Para a elaboração desta revisão bibliográfica, foi realizada uma pesquisa informática nas bases de dados *PubMed* e *Cochrane* e no *website* da *EMA*.

O objetivo desta revisão foi recolher bibliografia relativa às potenciais aplicações médicas da *Melaleuca alternifolia*. No *website* da *EMA*, pesquisou-se o termo "*Melaleuca alternifolia*", tendo sido recolhida a informação considerada relevante. Nas bases de dados, foi feita uma pesquisa geral de forma a investigar as suas possíveis aplicações farmacológicas, direcionando-se posteriormente a pesquisa para as áreas de ação *major*: atividade antimicrobiana, oncoprotetora e antioxidante e patologia cutânea, oral e ginecológica.

Como palavras-chave usaram-se termos MeSH representativos de cada área, conjugados com as palavras "tea tree oil", sendo a equação base: ("termo1"[MeSH] AND ("tea tree oil"[MeSH])). Nos termos compostos, utilizou-se: ("palavra1 palavra2"[MeSH] OR ("palavra1"[All Fields] AND "palavra2"[All Fields])) AND ("tea tree oil"[MeSH]). Os termos MeSH de cada área podem ser consultados na Tabela I.

Tabela I: Termos MeSH utilizados e respetiva área de aplicação

Área de Aplicação	Termos MeSH
Geral	Pharmacological applications Properties
Antimicrobiana	Antiparasitic agents Antiprotozoal agents Anti-infective agents Anthelmintics Antibacterial agents Antifungal agents Antiviral agentes
Oncoprotetora	Antineoplastics Anticarcinogenic agents Antitumor agents Anticancer agents Neoplasms
Dermatológica	Dermatologic agents Acne vulgaris

Tabela I: Termos MeSH utilizados e respectiva área de aplicação (continuação)

Dermatológica	Seborrheic Dermatitis <i>Tinea pedis</i> Onychomycosis <i>Herpes labialis</i> Warts Pediculosis Scabies Wound Healing
Oral	Oral Medicine Oral Mucositis Dental plaque
Ginecológica	Gynecologic Diseases Vulvovaginal Candidiasis Trichomonas Vaginitis Bacterial Vaginitis

Foram consultadas e incluídas referências bibliográficas de alguns dos artigos resultantes da pesquisa, quando consideradas pertinentes. Deu-se preferência aos artigos publicados entre 2009 e 2019. Contudo, artigos anteriores considerados relevantes foram também incluídos. Foram analisados artigos de revisão, ensaios clínicos e estudos *in vitro*, *in vivo* e *in silico*.

A revisão apenas abrangeu publicações relativas à área médica, farmacológica ou bioquímica, tendo sido excluídos artigos com caráter alternativo/complementar ou tradicional publicados nas seguintes revistas: Fitoterapia, J Nat Prod, Nat Prod Res, Pharmacogn Mag, J Ethnopharmacol, Hereditas, Complement Ther Med, Avicenna Journal of Medical Biotechnology, Journal of Phytomedicine, Journal of Alternative and Complementary Medicine, Planta Medica, Afr J Tradit Complement Altern, BMC Complementary and Alternative Medicine, Nat Med, Nat Prod Commun, American Journal of Chinese Medicine.

Um único revisor conduziu a pesquisa (decorrida entre agosto de 2019 e janeiro de 2020) da qual se selecionou a bibliografia pertinente de entre todos os resultados obtidos. No total, cerca de 450 artigos cumpriam as condições previamente descritas. Destes, selecionaram-se os artigos mais atuais e cientificamente relevantes, tendo sido excluídos dados repetidos. Restaram 72 artigos que são aqueles que constituem a bibliografia desta revisão.

III. RESULTADOS

1. Considerações Farmacológicas Gerais

O óleo de *Melaleuca* apresenta uma coloração transparente a amarela-clara e um odor forte, terebentinoso e canforado. Pode ser obtido através das plantas das espécies *M. alternifolia*, *M. linariifolia* e *M. dissitiflora*. No entanto, na prática, quase todo o óleo de *Melaleuca* comercializado é obtido através da *M. alternifolia*, uma vez que é a espécie que apresenta o crescimento mais rápido e, por isso, mais interessante do ponto de vista comercial. A percentagem de óleo essencial obtido através da destilação das folhas e dos ramos terminais da planta varia entre 1,0% e 1,8%. A composição química é extremamente variável, dependendo principalmente da biomassa utilizada (plantas selvagens ou cultivadas; apenas folhas ou folhas e ramos terminais), do quimiotipo (existem 6 quimiotipos diferentes) e do modo de preparação (destilação a vapor comercial ou hidrodistilação laboratorial com aparelho “tipo Clevenger”). [1]

A composição química do óleo de *Melaleuca* é definida pela *International Organization for Standardization (ISO)*, no documento *ISO 4730: 2017*, que especifica os níveis de 15 dos mais de 113 componentes encontrados no óleo de *Melaleuca* puro, bem como alguns parâmetros físicos. Para poder ser considerado óleo de *Melaleuca*, a substância deve apresentar os parâmetros descritos na Tabela II.

Tabela II: Requisitos para o óleo essencial de *Melaleuca*

Características	Requisitos	Métodos ISO
Aparência	Transparente, líquido móvel	--
Cor	Sem cor a amarela-clara	--
Odor	Característico	--
Densidade Relativa a 20°C	0,885 a 0,906	ISO 279
Índice Refrativo a 20°C	1,475 a 1,482	ISO 280
Rotação Ótica	Entre +7° e +°12	ISO 592
Miscibilidade em etanol 85% (fração volume) a 20°C	Não deve ser necessário usar mais que 2 volumes de etanol 85% (fração volume) para obter uma solução transparente com 1 volume de óleo essencial	ISO 875

Adaptado de: *ISO 4730: 2017. Essential oil of Melaleuca, terpinen-4-ol type (Tea Tree oil)*. [6]

Os componentes do óleo de *Melaleuca* estão descritos na Tabela III. Os principais componentes bioativos são os terpinenos (terpineno-4-ol, γ -terpineno e α -terpineno), que constituem mais de 50% do óleo e são o componente de maior interesse pela sua potente atividade antimicrobiana. Quando expostos à luz, calor ou humidade os terpinenos oxidam e formam p-cimeno. Consequentemente, a quantidade de terpinenos diminui enquanto a quantidade de p-cimeno aumenta. Desta forma, a concentração deste componente é considerada um bom indicador da degradação oxidativa do óleo. [4] De facto, a ISO estipula que o óleo de *Melaleuca* deve ter um componente mínimo de 35% de terpineno-4-ol e um conteúdo máximo de 8% de p-cimeno. [6]

Tabela III: Perfil Cromatográfico do óleo de *Melaleuca*

Componentes	Mínimo (%)	Máximo (%)
α -pineno	1,0	4,0
sabineno	vestígios*	3,5
α -terpineno	6,0	12,0
limoneno	0,5	1,5
p-cimeno	0,5	8,0
1,8-cineol	vestígios*	10,0
γ -terpineno	14,0	28,0
terpinoleno	1,5	5,0
terpineno-4-ol	35,0	48,0
α -terpineol	2,0	5,0
aromadendreno	0,2	3,0
ledeno	0,1	3,0
δ -cadineno	0,2	3,0
globulol	vestígios*	1,0
viridiflorol	vestígios*	1,0
*vestígios: <0,01%		

Adaptado de: ISO 4730: 2017. *Essential oil of Melaleuca, terpinen-4-ol type (Tea Tree oil)* [6]

Para além do p-cimeno, os processos de oxidação também conduzem à formação de peróxidos, endoperóxidos e epóxidos. Em termos físicos, ao longo do tempo, o óleo vai-se tornando verde-acastanhado, mais viscoso e com um odor semelhante a aguarrás, podendo até vir a formar cristais. [1]

Mecanismos farmacológicos

Vários estudos atestam a eficácia do óleo de *Melaleuca* na diversidade dos seus efeitos, mas poucos são os que investigam os mecanismos farmacológicos subjacentes. Apesar disso, foram publicados alguns trabalhos, listados na Tabela IV, que abordam os mecanismos envolvidos na sua atividade antibacteriana, antivírica, antifúngica e antitumoral.

Tabela IV: Mecanismos farmacológicos do óleo de *Melaleuca*

Efeito	Alvo	Referências Bibliográficas
Alterações na permeabilidade e na morfologia da membrana celular	<i>Staphylococcus aureus</i>	[7]
Interferência com a acidificação do compartimento intralisossomal, inibindo a descapsulação do vírus	Vírus <i>Influenza</i>	[8]
Interferência com a esporulação	Fungos filamentosos	[3]
Alteração da permeabilidade e fluidez da membrana celular	<i>Candida albicans</i>	[8]
Dano da parede celular, membrana citoplasmática, perda de citoplasma e dano dos organelos	<i>E.coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Candida albicans</i> e <i>Aspergillus niger</i>	[9]
Inibe os mecanismos de resistência à apoptose caspase-dependente	Células de melanoma humano M14	[10]
Interferência com o processo de migração e invasão	Células tumorais	[11]
Efeito citotóxico	Células humanas de carcinoma do pulmão, carcinoma da mama e carcinoma da próstata	[12]

Interações farmacológicas

De acordo com a *EMA* e com a *WHO*, até ao momento, não há registo de interações farmacológicas em administração tópica, cutânea ou mucosa. [4] [13]

Segurança e Efeitos adversos

A aplicação tópica do óleo de *Melaleuca* apresenta um bom perfil de segurança e os seus efeitos adversos são considerados *minor*, ocasionais e autolimitados. [5]

A maioria dos efeitos adversos do óleo de *Melaleuca* reportados na literatura é predominantemente cutânea. Também estão reportados alguns efeitos raros sistémicos após ingestão oral.

Exposição tópica

Globalmente, a aplicação tópica do óleo de *Melaleuca* apresenta um bom perfil de segurança e os efeitos adversos são considerados *minor*, ocasionais e autolimitados. [5] Os mais comuns são: ardor, prurido, sensação de queimadura, irritação, sensação de picada, eritema e edema. [4]

Embora raros, também existem relatos de casos de dermatite de contacto alérgica, que tende a ocorrer em indivíduos predispostos. Pensa-se que esta dermatite seja secundária ao contacto com os produtos de oxidação do óleo que se formam quando este é exposto ao oxigénio do ar, luz, humidade ou temperaturas elevadas, e não dos componentes do óleo intacto. [5] [1] O óleo oxidado é um alergénio três vezes mais potente que o óleo intacto. [14] Os principais sensibilizadores do óleo intacto parecem ser: terpinoleno, α -terpineno e limoneno. [1]

Embora as reações adversas cutâneas sejam consideradas pouco comuns (mesmo na aplicação do óleo essencial 100% puro), verificou-se que a sua incidência é maior nos casos em que é administrado óleo em concentrações mais elevadas. [15] Apesar dos efeitos adversos serem pouco frequentes, é possível evitá-los mediante a utilização de soluções tópicas com menores concentrações do óleo essencial, à exceção dos casos de dermatite de contacto alérgica, em que a aplicação tópica do óleo deve ser evitada. As manifestações dependem do local de aplicação, duração da exposição e da gravidade da resposta imunológica do indivíduo. [4]

Uma revisão dos estudos que avaliaram as reações cutâneas adversas ao óleo com recurso a testes de contacto revelou uma incidência máxima de 10,7% em indivíduos testados com óleo 100% puro e um mínimo de 0,9% em indivíduos testados com uma solução de concentração de 5% de óleo.[15] No entanto, é de notar que muitas substâncias descritas como óleo de *Melaleuca* não cumprem os parâmetros definidos pela ISO, sendo adulteradas com outros contaminantes. Logo, é possível

que nem todas as reações adversas que se atribui ao contacto com óleo de *Melaleuca* se devam ao mesmo.

Foi documentado um caso único de eritema multiforme secundário à aplicação tópica do óleo. [4] Foram reportadas mortes em coelhos após aplicação tópica de óleo de *Melaleuca* com dose letal de 2,23 ml/kg. Ora, num humano de 70 kg, seria necessário administrar 156,42 ml, que ultrapassa em mais de 10 vezes a quantidade de óleo necessário para cobrir toda a área cutânea, que é aproximadamente 10 ml. Desta forma, é altamente improvável que a administração tópica de óleo de *Melaleuca* seja fatal em humanos e não existe nenhum caso reportado na literatura até à data. [15]

Assim sendo, a aplicação tópica do óleo essencial de *Melaleuca*, diluído em solução aquosa ou nouro óleo veicular (por exemplo, óleo de *Rosa damascena*), é considerada segura. [4]

Exposição oral

A ingestão de óleo de *Melaleuca* tem efeitos tóxicos e não está recomendada. [5] É categorizado como um tóxico de grau 6 na Austrália pela *Drugs, Poisons and Controlled Substances Act 1981*. Neste, considera-se que os tóxicos de grau 6 apresentem perigo moderado. Desta forma, considera-se que o óleo de *Melaleuca* 100% puro deve ser embalado em frascos à prova de crianças e rotulados com um aviso que aconselhe a não ingestão do óleo.

Dados recentes do Relatório Anual da *American Association of Poison Control* reportam a ingestão de óleo de *Melaleuca* por 4597 indivíduos nos EUA. A maioria dos casos relatam ausência de efeitos adversos ou efeitos adversos *minor*. Há registo de um caso em que ocorreram efeitos adversos severos, não tendo ocorrido mortes. [16]

A ingestão de óleo de *Melaleuca* pode causar sintomas de depressão do SNC como ataxia, sonolência, desorientação e fraqueza muscular. Foi até reportado o caso de um indivíduo que entrou em estado comatoso após ingestão de 120 ml. Estes sintomas foram reversíveis após medidas de suporte em contexto hospitalar. [17]

Contra-indicações

Hipersensibilidade ao óleo de *Melaleuca* é contra-indicação para o seu uso. E, de acordo com a *Norwegian Food Safety Authority*, prévia hipersensibilidade à colofónia é contra-indicação para o uso de óleo de *Melaleuca*, uma vez que este apresenta reação-cruzada com colofónia.

Pela ausência de dados que suportem a segurança da exposição a óleo de *Melaleuca* nas crianças com menos de 12 anos, na gravidez e na amamentação, o uso desta substância não é recomendado, como medida de precaução. [4]

2. Atividade Antimicrobiana

2.1. Atividade Antibacteriana

Embora poucos sejam os estudos que comprovem a sua eficácia *in vivo*, muitos são os que demonstram a eficácia antibacteriana do óleo de *Melaleuca in vitro*. Vários trabalhos demonstram que a sua atividade antibacteriana se deve essencialmente a alterações na permeabilidade e na morfologia da parede e da membrana celular das bactérias, conduzindo a perda do citoplasma. [7] [9]

Em 1998 foram determinadas as CMI's de óleo para várias bactérias, nomeadamente: *Staphylococcus* coagulase-negativos (0,06-3%), *Staphylococcus aureus* (incluindo MRSA) (0,12-0,5%), *Streptococcus spp.* (0,03-0,12%), *Enterococos* resistentes à vancomicina (0,5-1%), *Acinetobacter baumannii* (0,06-1%), *Escherichia coli* (0,12-0,25%) e *Klebsiella pneumoniae* (0,12-0,5%). [17] A CMI para a *Pseudomonas aeruginosa* foi determinada posteriormente e varia entre 2 e 8%. [4]

Em 2016, demonstrou-se a eficácia de nanopartículas de óleo de *Melaleuca* contra biofilmes de *Pseudomonas aeruginosa* verificando-se que diminuem a proliferação dos biofilmes, diminuem a motilidade das bactérias e impedem a sua adesão às células epiteliais da mucosa jugal. [18] Outro estudo com nanopartículas de óleo de *Melaleuca* demonstrou uma eficácia contra biofilmes multibacterianos em próteses dentárias, comparável à clorexidrina, o antisséptico de referência no controlo dos biofilmes dentários. [19]

Comprovou-se a efetividade da *Melaleuca* contra duas estirpes multirresistentes de *Staphylococcus aureus*, uma situação com enormes implicações clínicas atuais. [20]

Num estudo recente foi testada a eficácia *in vitro* do óleo de *Melaleuca* contra *Staphylococcus aureus* (MRSA e MSSA), *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* (estirpes sensíveis e estirpes resistentes aos carbapenemes), *Acinetobacter baumannii* resistente a carbapenemes e *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenemes. A *Melaleuca* mostrou uma atividade bactericida potente contra todos os microrganismos testados e a sua administração conjunta com os antibióticos de referência para as diferentes entidades mostrou níveis elevados de sinergismo, mesmo com concentrações sub-inibitórias de antibiótico, particularmente no caso da

oxacilina contra *MRSA*. Esta atividade indica um possível papel adjuvante da *Melaleuca* no tratamento de infecções causadas por estes microrganismos. Um ensaio com vapores de óleo, também efetuado neste estudo, mostrou alta eficácia contra *Acinetobacter baumannii* resistente a carbapenemes, constituindo uma opção promissora para terapêutica local inalatória nos casos de pneumonia causada por este agente. [20]

A *Melaleuca* apresenta-se como promissor antimicrobiano e inibidor de virulência da *Listeria monocytogenes*, de acordo com um estudo de 2016 que demonstrou a eficácia do óleo de *Melaleuca* na redução da secreção dos fatores de virulência (listeriolisina O e p60) e da transcrição dos genes *hly* e *iap*, que estão envolvidos na síntese desses fatores. [21]

2.2. Atividade Antifúngica

Em 1998, foi pela primeira demonstrada a atividade antifúngica do óleo de *Melaleuca* contra os principais fungos causadores de doença, nomeadamente: *Candida albicans*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton tonsurans*, *Aspergillus niger*, *Penicillium species* e *Microsporum gypsum*. [22]

Vários estudos demonstram o papel do óleo de *Melaleuca* na inibição do crescimento dos fungos, afetando a sua esporulação, alterando a permeabilidade e fluidez da membrana celular e danificando a parede celular, o que conduz a perdas de citoplasma. [3] [23] Adicionalmente, também é capaz de penetrar nos organelos intracelulares, causando danos que ultimamente resultam em morte celular. [9]

Um estudo comparou a atividade *in vitro* da *Melaleuca* e de alguns imidazóis contra os fungos da espécie *Malassezia*. O cetoconazol foi o imidazol com maior atividade contra todas as espécies, seguindo-se o miconazol e o econazol, ambos com atividade semelhante. O óleo de *Melaleuca* mostrou eficácia contra todas as espécies de *Malassezia*, sendo que a *Malassezia furfur* foi a espécie menos suscetível aos imidazóis e a que apresentou menor CMF, ou seja, maior suscetibilidade ao óleo de *Melaleuca*. [24]

Em 2002, Hammer et al. determinaram a atividade da *Melaleuca alternifolia* para 106 dermatófitos e 78 fungos filamentosos. As CMI's para todos os fungos variaram entre 0,004% e 0,25% e as CMF's variaram entre <0,03% e 8,0%. Neste estudo também se comparou a suscetibilidade de espécies de *Aspergillus niger* com conídeos germinados e sem conídeos germinados, concluindo-se que as espécies com conídeos germinados eram mais suscetíveis à ação do óleo do que as espécies não

germinadas. As conclusões deste estudo demonstram que o óleo de *Melaleuca* apresenta não só atividade inibitória mas também fungicida. [25]

Na candidíase oral o óleo de *Melaleuca* demonstrou, em estudo comparativo a fluconazol, uma maior eficácia na eliminação fúngica. [26]

Em 2005 avaliou-se a atividade do fluconazol para 32 estirpes clínicas de *Candida albicans* resistentes ao fluconazol, após serem expostas a concentrações sub-letais de óleo de *Melaleuca* ou terpineno-4-ol. A exposição a este terpeno foi mais eficaz que a exposição ao óleo de *Melaleuca*, sendo que ambas aumentaram significativamente a atividade do fluconazol para as estirpes clínicas resistentes. Ao todo, 62,5% das espécies passaram a ser suscetíveis, 25,0% apresentaram suscetibilidade intermédia e 12,5% permaneceram resistentes. A CMI de fluconazol diminuiu de uma média de 244,0 µg/mL para uma média de 38,46 µg/mL e as CMF's diminuíram de uma média de 254,67 µg/mL para uma média de 66,62 µg/mL. Este estudo concluiu então que a combinação de óleo de *Melaleuca* ou dos seus componentes, como o terpineno-4-ol, a fármacos convencionais como o fluconazol, tem potencial para auxiliar no tratamento de infeções por *C.albicans*. [27]

Um estudo avaliou a eficácia do óleo de *Melaleuca* na onicomicose por *Trichophyton rubrum*. O estudo foi efetuado em 2 modelos *in vitro* diferentes: pó de unha e fragmentos de unha, ambos infetados por *T. rubrum*. Os modelos foram tratados com 3 formulações de óleo de *Melaleuca*: emulsão de óleo livre, nanoemulsões e nanocápsulas. No modelo de pó de unha procedeu-se à contagem de UFC de forma a verificar a eficácia das formulações, enquanto no modelo dos fragmentos se mediu o diâmetro das colónias formadas. No primeiro modelo obteve-se 1,0, 1,45 e 2,37 log UFC mL⁻¹ (nanocápsulas, nanoemulsões e emulsão, respetivamente) e no segundo modelo as áreas obtidas foram 2,88 ± 2,08 mm², 14,59 ± 2,01 mm², 40,98 ± 2,76 mm² e 38,72 ± 1,22 mm² (nanocápsulas, nanoemulsões, emulsões e unha não tratada, respetivamente). Este estudo revelou uma diminuição do crescimento do fungo, demonstrando a eficácia do óleo de *Melaleuca* na onicomicose por *T. rubrum*, especialmente a sua formulação em nanocápsulas. [28]

2.3. Atividade Antiparasitária

Muitos artigos científicos no passado consideraram anedótico o potencial antiparasitário do óleo de *Melaleuca*. A verdade é que a crescente procura por tratamentos alternativos na última década levou a um aumento do número de estudos que avaliam a eficácia deste óleo contra alguns dos parasitas mais comuns na prática

clínica, tais como: *Pediculus humanus capitis*, *Sarcoptes scabiei*, *Leishmania spp.*, *Trypanosoma spp.* e *Demodex*.

Num estudo foi avaliada a eficácia *in vitro* de algumas substâncias naturais, nomeadamente o azeite extra virgem, óleo de *Melaleuca*, sumo de limão e a ivermectina a 1% para o *Pediculus humanus capitis* e comparou-se a sua eficácia com uma solução contendo permetrina 0,6% e butóxido de piperonilo 2,4% (tratamento clássico da pediculose). O efeito foi avaliado por observação direta dos parasitas com microscópio eletrónico após 1 hora de exposição à substância. Registou-se uma mortalidade de 100% após exposição à ivermectina (um antiparasitário eletivo) e ao sumo de limão, 96,7% após exposição ao óleo de *Melaleuca* e 23,3% após exposição ao azeite. A exposição a permetrina e butóxido de piperonilo revelou uma mortalidade de apenas 93,3%. Assim, neste estudo, tanto o sumo de limão como o óleo de *Melaleuca* mostraram ter uma eficácia superior à do fármaco de referência da pediculose do couro cabeludo. [29]

Um estudo avaliou a toxicidade de 12 óleos essenciais e 8 terpenos para os tripomastigotas de *Trypanosoma brucei* e promastigotas de *Leishmania major*, assim como a sua seletividade para os parasitas relativamente às células humanas HL-60. Nenhum dos óleos essenciais mostrou toxicidade seletiva para os promastigotas de *L. major* e apenas 3 óleos essenciais (*Melissa officinalis*, *Thymus vulgaris* e *Melaleuca alternifolia*) mostraram toxicidade seletiva para os tripomastigotas. A toxicidade do óleo de *Melaleuca* mostrou ser 80 vezes mais seletiva para os tripomastigotas do que para as células humanas e a toxicidade do terpineno-4-ol mostrou ser 1000 vezes mais seletiva. Esta seletividade do terpineno-4-ol é equiparável à da suramina, que é o fármaco de referência no tratamento da tripanossomíase. Estes resultados espelham o potencial deste composto da *M.alternifolia* no tratamento desta doença. [30]

2.4. Atividade Antivírica

Num estudo de 2001, conduzido por Schnitzler et al., avaliou-se o efeito *in vitro* do óleo de *Melaleuca* e do óleo de eucalipto contra os vírus *HSV-1* e *HSV-2*. Numa primeira fase, os vírus foram expostos a várias concentrações de óleo de *Melaleuca* e posteriormente foram utilizados para infetar monocamadas de células. Após 4 dias comparou-se o número de placas formadas pelos vírus expostos ao óleo e pelos vírus-controlo (não expostos). A concentração de óleo de *Melaleuca* necessária para inibir a formação da placa em 50% (IC50) foi de 0,0009% e 0,0008% para *HSV-1* e *HSV-2*. Este estudo também demonstrou que a uma concentração de 0,003% o óleo de

Melaleuca era capaz de reduzir a titulação de *HSV-1* em 98,2% e de *HSV-2* em 93%. Para além disso, ao aplicar-se o óleo em diferentes etapas do ciclo replicativo dos vírus, demonstrou-se que o maior efeito antiviral ocorria em vírus livre, ou seja, antes da penetração do vírus na célula do hospedeiro. Assim, concluiu-se que o óleo de *Melaleuca* era capaz de exercer efeito antiviral direto no vírus *herpes simplex*. [5]

Outro estudo avaliou o efeito da *Melaleuca alternifolia* e dos seus principais componentes bioativos (terpineno-4-ol, α -terpineno, c-terpineno, p-cimeno, terpinoleno e α -terpineol) para uma diversidade de vírus: poliovírus tipo 1, *ECHO 9*, *Coxsackie B1*, adenovírus tipo 2, *HSV-1* e *HSV-2* e vírus *influenza*. O efeito anti-*influenza* foi avaliado através da medição da inibição da citopatogenicidade induzida pelo vírus. O efeito contra os restantes vírus foi medido pelo método de neutralização por redução de placa. Nenhum dos compostos se mostrou eficaz contra poliovírus 1, adenovírus 2, *ECHO 9*, *Coxsackie B1*, *HSV-1* ou *HSV-2*. No entanto, alguns dos componentes do óleo de *Melaleuca*, nomeadamente o terpineno-4-ol, o terpinoleno e o α -terpineol, mostraram inibir eficazmente a replicação do vírus *influenza A/PR/8*, subtipo H1N1. [31] Num estudo posterior, foram os mesmos autores que determinaram o mecanismo de ação responsável pela atividade anti-*influenza* da *Melaleuca*. Estes concluíram que se devia à sua capacidade de inibir as fases precoces do ciclo de replicação do vírus, interferindo com a acidificação do compartimento intralisossomal, o que impede a descapsulação do vírus. [8]

Na Austrália, um estudo pretendeu avaliar a eficácia *in vitro* e *in vivo* de uma combinação de monoterpenos derivados da *Melaleuca alternifolia* para o vírus do Nilo Ocidental, um emergente *Flavivirus* causador da Febre do Nilo. Do óleo de *Melaleuca*, procederam à remoção de cerca de 85% dos seus hidrocarbonetos lipofílicos, o que enriqueceu a formulação em alcoois, como o terpineno-4-ol. Esta formulação apresentou atividade antiviral *in vitro* por redução da carga viral e da percentagem de células infetadas. Também um ensaio *in vivo* em ratos mostrou que o tratamento com este composto alcoólico atrasa significativamente a morbilidade causada pela infeção, reduzindo a perda de peso e a carga viral cerebral. Estes resultados sugerem que a *Melaleuca* tem potencialidade como agente terapêutico na Febre do Nilo. [32]

3. Atividade Oncoprotetora

O efeito oncoprotetor da *Melaleuca* foi alvo de interesse recentemente, datando de 2004 o primeiro estudo que aborda o potencial antitumoral da planta, nomeadamente na inibição do crescimento de células de melanoma humano. Nesse estudo, Calcabrini et al. concluíram que o óleo de *Melaleuca* e o seu principal componente bioativo,

terpineno-4-ol, eram capazes de impedir o crescimento de células de melanoma M14, sendo ainda mais eficazes em variantes resistentes à quimioterapia com doxorrubicina, mostrando que a *Melaleuca* é capaz de ultrapassar a resistência à apoptose caspase-dependente exercida pelas células tumorais positivas para a glicoproteína-P. [10] Mais tarde, em 2011, outro estudo demonstrou que a *M.alternifolia* não só consegue ultrapassar as resistências das células de melanoma à apoptose mas também é capaz de interferir com o seu comportamento agressivo ao inibir a sinalização intracelular mediada pelo transportador *MDR*, interferindo com o processo de migração e invasão das células tumorais. A natureza lipofílica do óleo de *Melaleuca* permite-lhe penetrar nas camadas da pele, facto que, aliado à evidência experimental deste estudo, torna este composto um potencial fitofármaco para o tratamento do melanoma. [11]

Em recente publicação de 2019, Mohammed et al. estudou os efeitos citotóxicos do óleo de *Melaleuca* em duas linhas celulares humanas representativas de cancro de pele: melanoma maligno e carcinoma espinhocelular (CEC). Procurou-se também descrever o mecanismo molecular envolvido na indução de apoptose destas linhas celulares. Os resultados mostram que o óleo apresenta uma forte citotoxicidade para ambas as linhas celulares, com valores de IC50 de 0,038% para o melanoma e 0,024% para o CEC. Descreve-se que essa citotoxicidade resulta de uma apoptose induzida, o que é evidenciado pela observação de características morfológicas de apoptose, por resultados de coloração com anexina V/PI, pela ativação da caspase-3/7 e 9 e pela regulação positiva de genes pro-apoptóticos (p53 e BAX) e regulação negativa do gene antiapoptótico *BCL-2*. Além disso, a análise do ciclo celular também mostra que o óleo causa estagnação do ciclo celular na fase G2/M. Desta forma, sustenta-se que a *Melaleuca* é um indutor de apoptose eficaz nas linhas celulares de melanoma e CEC e que apresenta um papel quimiopreventivo potencialmente útil em formulações tópicas contra melanoma e carcinoma espinhocelular. [33]

Liu et al. demonstrou um potente efeito citotóxico *in vitro* da *Melaleuca* em células humanas de carcinoma do pulmão, carcinoma da mama e carcinoma da próstata. [12] Um estudo conduzido em Israel avaliou o efeito antitumoral do terpineno-4-ol em neoplasias colorretais, pancreáticas, prostáticas e gástricas. Para o efeito, administrou-se terpineno-4-ol de forma isolada e em combinação com outros agentes de quimioterapia (oxaliplatina, fluorouracilo, gemcitabina, tarceva), agentes biológicos (cetuximab) e anticorpos anti-*CD24* humanizados. Avaliou-se esse efeito tanto em culturas celulares como em modelos xenográficos murinos. Verificou-se que a administração isolada de terpineno-4-ol inibe o crescimento das células neoplásicas

colorretais, pancreáticas, prostáticas e gástricas de forma significativa e que o seu efeito é dose-dependente (inibição de 10% para concentração de 0,005% e inibição de 90% para concentração 0,1%). Este estudo também demonstrou um efeito sinérgico do terpineno-4-ol com os agentes quimioterápicos oxaliplatina (83%) e fluorouracilo (91%) na inibição da proliferação celular. Nas células de neoplasia colorretal mutada para o gene *KRAS*, a combinação do terpineno-4-ol com cetuximab resultou numa inibição do crescimento na ordem dos 80-90%. Determinou-se ainda que concentrações sub-tóxicas deste componente bioativo potenciam a atividade inibitória dos anticorpos anti-*CD24*, com uma inibição na ordem dos 90%. Foi observada uma redução do volume tumoral na ordem dos 40% após administração de terpineno-4-ol de forma isolada e de 63% quando administrado juntamente com cetuximab. Os autores deste estudo concluem assim que o terpineno-4-ol potencia significativamente o efeito dos agentes quimioterápicos e biológicos e defendem o seu potencial como fármaco oncológico que poderá ser usado isoladamente ou em combinação com outros tratamentos em diversos tipos de neoplasias. [34]

Um estudo publicado em 2018 investigou os possíveis mecanismos subjacentes à atividade antitumoral *in vitro* do óleo de *Melaleuca* contra as células neoplásicas de carcinoma da mama humano e murino. Avaliou também a sua toxicidade contra fibroblastos e células mononucleares do sangue periférico. O óleo de *Melaleuca* em altas concentrações ($\geq 600 \mu\text{g/mL}$) mostrou uma notável atividade antitumoral, diminuindo a viabilidade e a proliferação das células neoplásicas humanas e murinas. Em concentrações mais baixas ($300 \mu\text{g / mL}$) o óleo aumentou o número de células neoplásicas humanas nos estádios iniciais da apoptose, aumentou a proporção de genes *BAX/BCL-2*, diminuiu o seu crescimento celular e deteve as células na fase S do ciclo celular. Na mesma concentração, o óleo não mostrou citotoxicidade para as células mononucleares nem para os fibroblastos. Isto mostra uma toxicidade seletividade da substância para as células tumorais relativamente às células do tecido conjuntivo. Neste sentido, este estudo fornece novas perspectivas sobre o potencial uso tópico do óleo de *Melaleuca* no tratamento de úlceras e lesões cutâneas de carcinoma da mama com envolvimento cutâneo adjacente. [35]

4. Atividade Antioxidante

Data de 2004 o primeiro ensaio sobre a atividade antioxidante da *Melaleuca alternifolia*. Neste estudo procedeu-se a dois ensaios diferentes. Um primeiro ensaio com 2,2-difenil-1-picril-hidrazil, $10 \mu\text{l/ml}$ de óleo bruto em metanol que apresentou aproximadamente 80% de atividade de eliminação de radicais livres. E um segundo

ensaio com hexanal/ácido hexanóico, 200 µl/l de óleo bruto que exibiu 60% de atividade inibidora contra a oxidação do hexanal em ácido hexanóico por 30 dias. Foram separados do óleo bruto e identificados cromatograficamente os antioxidantes inerentes: α-terpineno, α-terpinoleno e γ-terpineno. As suas atividades antioxidantes diminuíram na seguinte ordem nos dois ensaios: α-terpineno > α-terpinoleno > γ-terpineno. Estes resultados comprovaram que a *Melaleuca* possui uma atividade antioxidante. [36]

Um estudo avaliou a ação antibacteriana e antioxidante do óleo de *Melaleuca*. Para estudar a atividade antioxidante procedeu-se a dois ensaios. Um ensaio com 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) que avalia as propriedades de eliminação de radicais hidroxilo e um ensaio com espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) que avalia a inibição da peroxidação lipídica. A vitamina C, vitamina E, quercetina (um fitoconstituente muito abundante na casca da maçã) e o ácido lipóico são quatro antioxidantes conhecidos e foram usados neste estudo como controlos positivos em ambos os ensaios. Os resultados do ensaio DPPH mostraram que o poder antioxidante diminuiu na ordem: quercetina > vitamina C > óleo de *Melaleuca* > vitamina E > ácido lipóico. No ensaio TBARS a inibição da peroxidação lipídica diminuiu na ordem: quercetina > vitamina E > óleo de *Melaleuca* > vitamina C > ácido α-lipóico. Os autores concluíram que o óleo de *M. alternifolia* exibe forte poder antioxidante apresentando capacidade de eliminar radicais livres e inibir a peroxidação lipídica. [37]

Um estudo avaliou o impacto da suplementação dietética com óleo de *Melaleuca* em *Rhamdia quelen*, um peixe de água doce, alimentado com dietas contaminadas com aflatoxinas, (um tipo de micotoxinas produzidas por fungos e que contaminam alimentos). Quatro grupos de peixes foram testados: dieta controlo; dieta contaminada com aflatoxinas; dieta controlo + 1 mL/kg de óleo de *Melaleuca* e dieta contaminada com aflatoxinas + 1 mL/kg de óleo de *Melaleuca*. No grupo alimentado com dieta contaminada com aflatoxinas houve uma mortalidade de 16,6%, os valores das enzimas antioxidantes apresentaram-se significativamente reduzidos e registou-se um aumento da peroxidação lipídica e do conteúdo de proteína carbonil no plasma e fígado. Além disso, as aflatoxinas também aumentaram significativamente os níveis de espécies reativas de oxigénio plasmáticas e hepáticas e diminuíram a capacidade antioxidante hepática contra os níveis de radical peróxido. Adicionalmente, a intoxicação também induziu hepatose nos peixes. A adição do suplemento de óleo de *Melaleuca* aos grupos que receberam aflatoxinas mostrou efeito protetor, impedindo a formação de espécies reativas de oxigénio, peroxidação lipídica e a formação de proteína carbonil, melhorando também o dano hepático associado às aflatoxinas. [38]

5. Aplicações Clínicas

5.1. Patologia Cutânea

5.1.1. *Acne vulgaris*

Atualmente, existem diversos produtos contendo óleo de *Melaleuca* disponíveis no mercado. Uma publicação recente, que utilizou uma técnica de colheita de dados *online*, identificou o óleo de *Melaleuca* como o segundo tratamento tópico mais popular nos EUA, superado apenas pelo peróxido de benzoílo. [39]

O tratamento médico recomendado para o tratamento da acne vulgar consiste na erradicação da bactéria *Propionibacterium acnes* com uma combinação de agentes antibacterianos: peróxido de benzoílo e antibióticos (nomeadamente a eritromicina). Porém, o aparecimento de estirpes resistentes a antibióticos é um problema emergente nos dias de hoje e que pode comprometer o tratamento desta patologia. Neste sentido, as reconhecidas propriedades anti-inflamatórias e antimicrobianas de amplo espectro do óleo de *Melaleuca* têm vindo a ser estudadas relativamente à sua aplicabilidade na área do tratamento da acne vulgar. [40]

Um ensaio clínico randomizado realizado em 60 indivíduos entre os 15 e os 25 anos demonstrou a eficácia de um gel de *Melaleuca* a 5% no tratamento da acne vulgar leve a moderada. Os indivíduos foram acompanhados a cada 15 dias por um período de 45 dias e as respostas ao tratamento foram avaliadas pela contagem total de lesões (CTL) e pelo índice de gravidade da acne (IGA). Demonstrou-se uma diferença significativa entre o gel de *Melaleuca* e o placebo. O gel mostrou-se 3,55 vezes e 5,75 vezes mais eficaz que o placebo na redução dos índices de CTL e IGA, respectivamente. [41]

Outro estudo de fase II demonstrou não só a eficácia, mas também a boa tolerabilidade e aceitabilidade do óleo de *Melaleuca* no tratamento da acne facial leve a moderada. Neste ensaio os participantes aplicaram um gel (200 mg/g) e um gel de limpeza (7 mg/g) no rosto, duas vezes ao dia, por um período de 12 semanas e foram avaliados às 4^a, 8^a e 12^a semanas. A eficácia foi determinada de acordo com o número total de lesões faciais da acne e com a pontuação da avaliação global do investigador (AGI). A tolerabilidade foi avaliada pela frequência de eventos adversos e pelo *score* médio de tolerabilidade determinado em cada consulta. A aceitabilidade do produto foi avaliada através de um questionário no final do período do estudo. Ao todo, 18 participantes foram inscritos, dos quais 14 completaram o estudo. A contagem total média de lesões no início do estudo foi de 23,7. Na 4^a semana foi de 17,2, na 8^a

semana foi de 15,1 e na 12ª semana foi de 10,7. A pontuação média da AGI foi de 2,4 no início do estudo. Na 4ª semana foi 2,2, na 8ª semana 2,0 e na 12ª semana 1,9. A contagem total de lesões e a pontuação média da AGI diminuíram de forma significativa ao longo do tempo. Não ocorreram eventos adversos graves, apenas eventos minor locais autolimitados como descamação e *secura cutânea*. [42]

Outro ensaio clínico randomizado comparou a eficácia e a tolerabilidade do gel de óleo de *Melaleuca* a 5% e do peróxido de benzoílo a 5% no tratamento da acne leve a moderada. Este estudo, que compreendeu uma população de 124 indivíduos, demonstrou que ambas as soluções tópicas diminuíam significativamente as lesões da acne inflamatórias (comedões abertos) e não inflamatórias (comedões fechados). E que após três meses de aplicação tópica, não havia diferenças na eficácia entre os dois tratamentos. As únicas diferenças entre as terapêuticas prenderam-se com o tempo de início do efeito, que foi maior na *Melaleuca* do que no peróxido de benzoílo, e com os efeitos adversos que foram menores nos indivíduos tratados com o óleo de *Melaleuca*. [40]

Darabi et al. (2005) compararam a aplicação tópica de gel de *Melaleuca* a 5% e de gel de eritromicina a 2% numa amostra de 60 indivíduos com acne leve a moderada. Os participantes aplicaram o produto duas vezes ao dia por 6 semanas e observou-se uma redução média do número de lesões de acne de 55% no grupo tratado com óleo de *Melaleuca* e 40% no grupo tratado com eritromicina. Observou-se regressão de mais de metade das lesões em 87,5% do grupo tratado com óleo de *Melaleuca* e em 53,8% do grupo tratado com eritromicina. A frequência de efeitos adversos não diferiu significativamente entre os grupos, apesar de ter havido um número significativamente maior de desistências do estudo no grupo da eritromicina, devido a eventos adversos. [39]

5.1.2. Dermatite Seborreica

A caspa é considerada uma forma de apresentação da dermatite seborreica uma vez que está relacionada com um crescimento excessivo do fungo *Melassezia furfur* no couro cabeludo. Sabe-se que o óleo de *Melaleuca* tem eficácia *in vitro* contra este agente patogénico. [24] Aliás, um ensaio clínico randomizado demonstrou a eficácia e a tolerabilidade do óleo de *Melaleuca* a 5% em indivíduos com caspa leve a moderada. Neste estudo, 126 indivíduos com idade superior a 14 anos, escolhidos aleatoriamente, aplicaram champô de óleo de *Melaleuca* a 5% ou placebo, diariamente durante 4 semanas. A avaliação da caspa foi efetuada com recurso a uma escala de gravidade e a *scores* de autoavaliação dos indivíduos quanto à descamação, prurido e

oleosidade. O grupo tratado com o champô de *Melaleuca* mostrou uma melhoria estatisticamente significativa (41%) na escala de gravidade, quando comparada com o grupo tratado com placebo (11%). Também foram observadas melhorias estatisticamente significativas nos componentes de prurido e oleosidade das autoavaliações dos indivíduos, mas não na componente descamativa. Não foram reportados quaisquer efeitos adversos. [43]

5.1.3. Dermatite atópica

A microbiota da pele tem uma importante função na manutenção da homeostase cutânea e na prevenção da proliferação de espécies patogénicas invasoras. Durante as exacerbações da dermatite atópica, a diversidade da microflora diminui, permitindo o crescimento de microrganismos invasores, como o *Staphylococcus aureus*, e a sobreinfecção das lesões eczematosas.

O óleo de *Melaleuca* é eficaz para o *S. aureus* na concentração de 0,5%. [4] A erradicação do *S. aureus* fora dos períodos de exacerbação da dermatite atópica, com recurso a agentes de limpeza e emolientes contendo óleo de *Melaleuca*, pode ser útil na prevenção das sobreinfecções cutâneas.

No fenótipo de dermatite atópica “*Head-neck-shoulder*” envolvendo as áreas cervicais e cintura escapular, a infestação e sensibilização alérgica mediada por IgE ao fungo *Malassezia furfur* apresenta enormes dificuldades de tratamento pois os imidazóis são pouco eficazes.

Curiosamente, num estudo que comparou a atividade *in vitro* da *Melaleuca* e de alguns imidazóis, o óleo de *Melaleuca* mostrou eficácia contra todas as espécies de *Malassezia*, particularmente contra a *Malassezia furfur*, que mostrou ser a espécie menos suscetível aos imidazóis e a mais suscetível ao óleo de *Melaleuca*. Esta particularidade demonstra o seu potencial como agente tópico alternativo aos imidazóis no combate a doenças cutâneas causadas pela *M. furfur*, como a dermatite seborreica ou formas particulares de dermatite atópica com infestação e sensibilização alérgica a este fungo. [24]

5.1.4. *Tinea pedis* e onicomicose

A *Tinea pedis* é uma infecção dermatofítica dos pés e dedos dos pés que afeta perto de 10% da população. É mais frequentemente causada por *Trichophyton rubrum*, *T. mentagrophytes* e *Epidermophyton floccosum* e parece estar relacionada com o uso de calçado oclusivo. O tratamento clássico inclui medidas destinadas a

reduzir a hiperidrose (pó talco e uso de sapatos abertos) e tratamentos antifúngicos tópicos incluindo tolnaftato, imidazóis e terbinafina. [44]

É conhecida a atividade antifúngica *in vitro* do óleo de *Melaleuca* contra alguns dos dermatófitos envolvidos nesta patologia, nomeadamente o *T. rubrum* (CMI de 1,0%) e o *T. Mentagrophytes*, (CMI de 0,3 a 0,4%). [44] Já foram conduzidos alguns estudos para demonstrar essa mesma eficácia mas em termos clínicos. Um deles avaliou a eficácia e a segurança do óleo de *Melaleuca* a concentrações de 25% e 50% no tratamento da *Tinea pedis*. Cerca de 158 indivíduos afetados receberam aleatoriamente tratamento com uma de três soluções: placebo, solução de óleo de *Melaleuca* misturado com etanol e polietilenoglicol em concentração de 25% ou a mesma solução mas a uma concentração de 50%. Os indivíduos aplicaram a solução 2 vezes ao dia nas áreas afetadas por 4 semanas e foram reavaliados às 2ª e 4ª semanas de tratamento. Observou-se uma resposta clínica significativa em 68% dos indivíduos tratados com a solução a 50% e em 72% do grupo tratado com a solução a 25%, comparativamente à resposta de 39% no grupo tratado com placebo. A cura micológica foi avaliada pela cultura das raspagens das unhas colhidas antes e após as 4 semanas de tratamento. A taxa de cura micológica foi de 64% no grupo tratado com a solução a 50% e de 55% no grupo tratado com a solução a 25%, já a taxa do grupo placebo foi de apenas 31%. Quatro indivíduos (3,8%) desenvolveram dermatite moderada a grave, que melhorou rapidamente com a interrupção do tratamento. [44]

Para além da *Tinea pedis*, o *T. rubrum* também é o principal agente causador de onicomicose, uma infecção fúngica da lâmina e do leito ungueal em que as unhas se encontram deformadas, descamativas e com uma coloração amarelada ou esbranquiçada.

Um estudo avaliou a eficácia antifúngica de uma emulsão (E), nanocápsulas (NC) e nanoemulsões (NE) de óleo de *Melaleuca* em dois modelos de onicomicose por *T. rubrum*. Utilizou-se como controlo unhas não tratadas. No primeiro modelo utilizou-se pó de unha infectado com *T. rubrum* e colocou-se numa placa de 96 poços onde se colocaram as diferentes soluções: E, NE e NC. Contabilizou-se as unidades formadoras de colónias (UFC) que foram 2,37, 1,45 e 1,0 log UFC mL (-1) na E, NE e NC, respectivamente. No segundo modelo utilizou-se fragmentos de unha infectados e tratou-se com as mesmas soluções. Mediu-se o diâmetro das colónias de fungos e as áreas obtidas foram, respetivamente, $2,88 \pm 2,08$ mm², $14,59 \pm 2,01$ mm², $40,98 \pm 2,76$ mm² e $38,72 \pm 1,22$ mm² para as NC, NE, E e unha não tratada. O estudo nestes

modelos demonstrou a capacidade destas formulações na redução do crescimento do *T. rubrum*, sendo a inclusão de óleo nas nanocápsulas a mais eficiente. [28]

Outro estudo comparou a eficácia e tolerabilidade da aplicação tópica de clotrimazol e de óleo de *Melaleuca* puro, no tratamento da onicomicose das unhas dos pés. Cerca de 117 pacientes com onicomicose subungueal distal receberam um tratamento tópico de clotrimazol a 1% (CT) ou óleo de *Melaleuca* puro (OM), duas vezes ao dia por 6 meses. Foram efetuados desbridamento e avaliação clínica aos 0, 1, 3 e 6 meses. Obtiveram-se culturas das unhas aos 0 e aos 6 meses. Após os 6 meses de tratamento, os grupos foram comparáveis tanto na taxa de negativização da cultura (CT=11%, OM=18%) como na avaliação clínica, havendo resolução parcial ou total em 61% dos indivíduos tratados com CT e 60% daqueles tratados com OM. Três meses depois do fim do tratamento, colheu-se a opinião subjetiva de cada participante e cerca de metade de cada grupo relatou melhoria ou resolução completa da onicomicose (CT=55%; OM=56%). Concluiu-se assim que a eficácia e a tolerabilidade do tratamento não diferiu significativamente entre os grupos, sugerindo que o óleo de *Melaleuca* puro é tão eficaz como um dos antifúngicos de referência no tratamento da onicomicose. [45]

5.1.5. Herpes

O herpes afeta entre 20 a 40% da população mundial sendo que alguns indivíduos sofrem de crises frequentes e recorrentes. Estas lesões vesiculares são causadas pelos vírus *HSV-1* e *HSV-2* que, após a primoinfeção, permanecem latentes nas terminações nervosas do nervo trigémino. A terapia sistémica com antivirais é capaz de suprimir e encurtar a duração das crises mas o custo elevado destes agentes limita a sua utilidade na prática clínica. O tratamento tópico com antivirais é frequente mas os estudos que avaliaram a eficácia deste tratamento produziram resultados inconsistentes. [46]

Em 2001, Schnitzler demonstrou que a *Melaleuca* apresenta um efeito direto *in vitro* contra os vírus *HSV-1* e *HSV-2*. [5] Face a esses dados, Carson conduziu um estudo que procurou avaliar a eficácia do óleo de *Melaleuca* tópico no tratamento do herpes labial recorrente (HLR), em indivíduos com idade entre 18 e 70 anos com história prévia de HLR. Os participantes apresentaram-se o mais rápido possível após o início de uma crise de herpes labial e receberam, de forma aleatória, um gel aquoso com óleo de *Melaleuca* a 6% ou um gel placebo. Os participantes aplicaram o gel 5 vezes ao dia e registaram num diário as aplicações do tratamento e os eventos adversos. Também foram avaliados diariamente por um clínico, altura em que se

colheram zaragatoas para detecção de *HSV* por *PCR* e cultura. Foram diariamente observados até ocorrer reepitelização e *PCR* negativa para *HSV* em 2 dias consecutivos. Os parâmetros avaliados foram: tempo de reepitelização, tempo até formação de crostas e tempo até vírus indetetável na zaragatoa. A duração de cada parâmetro foi medida a partir do momento em que o participante notou a sua lesão. O tempo médio de reepitelização após o tratamento com óleo de *Melaleuca* foi de 9 dias, comparativamente aos 12,5 dias do placebo. O óleo causou uma redução modesta na duração média da detecção do *HSV* por culturas, com 3 dias em comparação aos 4 dias do placebo. Apesar disso, não houve diferenças entre os tratamentos no que respeita à duração média da positividade da *PCR* (6 dias) e ao tempo médio até formação de crostas (4 dias). No entanto, apesar das diferenças entre os grupos não terem significância estatística, a redução do tempo de reepitelização observada no grupo tratado com o óleo foi semelhante às reduções relatadas noutras terapias antivíricas tópicas. Desta forma, o óleo de *Melaleuca* pode ser uma alternativa mais económica no tratamento do herpes labial. [46]

5.1.6. Verrugas

Como o óleo de *Melaleuca* apresenta alguma atividade antivírica, nomeadamente contra o herpes labial, tem crescido o interesse no estudo da eficácia deste agente noutras patologias cutâneas de etiologia vírica, nomeadamente as verrugas. Estas lesões cutâneas comuns afetam perto de 10% da população e ocorrem nas mãos ou nos pés, podendo também ser encontradas noutras áreas do corpo. Existem diferentes tipos de verrugas, no entanto, acredita-se que o VPH seja a principal etiologia.

Um artigo descreveu dois casos clínicos que demonstram a eficácia do óleo de *Melaleuca* no tratamento de verrugas cutâneas situadas em 2 locais anatómicos distintos. No primeiro caso, um adolescente de 14 anos apresentou-se com uma lesão cutânea superficial, áspera, irregular e não dolorosa no dorso da falange proximal do 5º dedo direito. Não apresentava outras lesões verrucosas apesar de ter antecedentes de verrugas recorrentes que costumava tratar com ácido salicílico (16,7%) e ácido láctico (16,7%). No segundo caso, uma criança de 9 anos apresentava uma lesão redonda com pequenos pontos pretos na superfície plantar do pé esquerdo que causava desconforto e dor à aplicação de pressão. Não apresentava outras verrugas e não tinha história de verrugas anterior. Ambas as crianças aplicaram óleo de *Melaleuca* a 100% topicamente na zona da lesão, 2 vezes ao dia, usando cotonetes estéreis. No primeiro caso, a verruga regrediu totalmente ao 10º dia de tratamento enquanto no segundo caso ocorreu ao fim de 20 dias. Neste segundo caso, a criança

não cumpriu perfeitamente o regime de tratamento, facto que pode ter interferido com a eficácia da terapêutica. Não foram reportadas reações adversas ao tratamento. [47]

5.1.7. Molusco Contagioso

O molusco contagioso é uma condição benigna de etiologia vírica (*Poxvírus*) comum na infância, mas que é cada vez mais observada no adulto como infeção sexualmente transmitida. Consiste em agrupamentos de pápulas rosadas, moles e umbilicadas localizadas na face, tronco, membros e flexuras (nas crianças) ou na área anogenital e face interna das coxas (nos adultos). A necessidade de tratamento do molusco contagioso é um tema controverso na Dermatologia. Como a condição geralmente é autolimitada, muitos profissionais defendem a resolução espontânea. No entanto, a regressão completa pode demorar vários meses e as pessoas frequentemente procuram tratamento por razões estéticas, para evitar o estigma social ou para evitar a transmissão. Embora muitos tratamentos tenham sido propostos para o molusco contagioso, nenhum demonstrou eficácia. Ainda assim, as opções de tratamento atuais incluem a remoção física das lesões, aplicação de agentes tópicos e tratamento sistémico. A remoção física é realizada com recurso à crioterapia com azoto líquido ou à curetagem, sendo o tratamento a *laser* também uma opção. Mais frequente que a remoção física é a aplicação diária de tratamentos tópicos à base de podofilotoxina, hidróxido de potássio, ácido salicílico, peróxido de benzoílo, tretinoína, imiquimod e cantaridina. Está descrito o tratamento oral com cimetidina em crianças que não toleram outros tratamentos e o uso cidofovir em imunodeprimidos, mas foi associado a nefrotoxicidade e neutropenia. [48]

O estudo do potencial da *Melaleuca* no tratamento do molusco contagioso foi feito em 53 crianças (idade média de 6,3 + 5,1 anos) tratadas de forma aleatória com uma de 3 formulações: uma combinação de óleo de *Melaleuca*, óleo de canola e iodo (OM-I), combinação de óleo de *Melaleuca* e óleo de canola nas mesmas proporções (OM) ou iodo isoladamente num veículo de óleo de canola, como controlo (I). O tratamento consistiu na aplicação tópica das soluções em cada lesão duas vezes ao dia por 30 dias ou até que todas as lesões tivessem desaparecido. Considerou-se sucesso terapêutico se as lesões desaparecessem completamente ou se fossem reduzidas em mais de 90%. Cerca de 48 crianças estavam disponíveis para acompanhamento ao fim dos 30 dias, tendo sido perdidas 2 crianças no grupo I e OM e 1 no grupo OM-I. Os melhores resultados foram mostrados no grupo OM-I: 11 crianças tiveram resolução total e 5 tiveram uma redução do número de lesões acima de 90%, com um total de 16 pacientes atendendo aos critérios de sucesso terapêutico do estudo. No grupo OM, 3

crianças preencheram os critérios e apenas 1 no grupo I. Os efeitos adversos limitaram-se a rubor em redor da base de algumas lesões, sem necessidade de descontinuar o tratamento. Os resultados deste estudo sugerem um uso sinérgico seguro de óleo de *Melaleuca* e iodo no tratamento de molusco contagioso. [4]

5.1.8. Pediculose do couro cabeludo

A atividade antiparasitária do óleo de *Melaleuca* tem sido alvo de interesse nos últimos anos, nomeadamente na pediculose e na sarna, que são infeções que se originam em cenários de grandes agrupamentos populacionais com baixas condições de higiene, como ocorre em ambientes de guerra ou em campos de refugiados, um problema bastante atual dado as vagas de refugiados na Europa. Estas afeções têm sido algo problemáticas devido à aquisição de resistências dos microrganismos face às terapêuticas convencionais. [49]

A pediculose do couro cabeludo é numa infestação de ectoparasitas hematófagos (*Pediculus humanus var. capitis*), com predomínio nas regiões occipital e retroauricular, que causa prurido intenso. A prevalência é maior nas crianças, suspeitando-se que cerca de 40% das crianças na escola primária estejam infestadas. Sabe-se que a disseminação global da pediculose, tanto em países desenvolvidos como em países em desenvolvimento, não é resultado de fatores socioeconómicos, mas sim do aumento das resistências. Aliás, no norte de Queensland, na Austrália, a resistência do *Pediculus* aos agentes terapêuticos, nomeadamente à permetrina, chegava aos 50% em 2000, atingindo os 80% em 2003. [50] Estes números determinaram uma procura por alternativas de tratamento sem resistências.

Foi assim que, em 2010, um grupo de investigadores australianos comparou a eficácia e a segurança de três pediculicidas tópicos: uma mistura de óleo de *Melaleuca* e óleo de lavanda (OM/OL), um produto com agentes oclusivos "asfíxiadores" do *Pediculus* (A) e um produto contendo inseticidas, nomeadamente piretrinas e butóxido de piperonilo (P/BP). O estudo foi efetuado em 123 crianças com pediculose ativa, com idades entre os 4 e os 12 anos. Os produtos foram aplicados de acordo com as instruções do fabricante: os produtos OM/OL e A foram aplicados 1 vez por semana durante três semanas e o produto P/BP foi aplicado 1 vez por semana durante duas semanas. Determinou-se a presença ou ausência de parasitas vivos um dia após a última aplicação do tratamento. A percentagem de crianças que ficou livre de parasitas com o produto OM/OL foi de 97,6% (41/42 crianças) e com o produto A foi de 97,6% (40/41 crianças). Estes resultados foram significativamente mais eficazes comparativamente ao produto P/BP em que a percentagem foi 25,0% (10/40 crianças).

Assim, a alta eficácia do produto OM/OL sugere o potencial do óleo de *Melaleuca*, usado de forma isolada ou em combinação com outros óleos essenciais, no tratamento da pediculose do couro cabeludo. [51] É importante realçar que a erradicação dos parasitas só é eficaz se os contactos próximos da pessoa tratada forem tratados simultaneamente.

A prevenção da transmissão dos parasitas torna-se essencial, tendo em conta o aumento das resistências aos agentes terapêuticos registado em vários países. Um estudo testou a eficácia preventiva do repelente químico N, N-dietil-3-metilbenzamida (DEET), comparativamente a alguns óleos essenciais (*Melaleuca alternifolia*, *Lavandula angustifolia*, *Mentha piperita*, *Cocos nucifera*, *Azadirachta indica*, *Cymbopogon nardus*, uma combinação de *Rosmarinus officinalis*, *Laurus nobilis*, *Cedrus atlantica*, *Pogostemon patchouli*, *Cananga odorata*, *Simmondsia chinensis* e *Prunus armeniaca*, uma combinação de *Melaleuca alternifolia*, *Lavandula angustifolia*, *Rosmarinus officinalis*, *Cymbopogon nardus* e *Azadirachta indica* e uma combinação de *Cocos nucifera*, *Azadirachta indica* e *Cymbopogon nardus*). Foi avaliada a eficácia como irritante, repelente e inibidor da transmissão. Concluiu-se que a transferência do *Pediculus* foi limitada apenas pela natureza escorregadia dos cabelos (maior nos cabelos mais oleosos) e que nenhum produto foi eficazmente irritante, à exceção do óleo de *Cocos nucifera*. A *Melaleuca* e a *Mentha piperita* foram os repelentes mais eficazes. No geral, concluiu-se que o óleo de *Melaleuca* foi o fitofármaco mais eficaz. [50]

5.1.9. Sarna

Globalmente, a sarna afeta mais de 130 milhões de pessoas e normalmente surge por surtos em instituições de saúde e comunidades vulneráveis, em campos de refugiados ou cenários de guerra. Estudos recentes alertam para o surgimento de resistências ao tratamento escabicida clássico (ivermectina oral e permetrina, benzoato de benzilo ou manipulado com enxofre tópicos), não estando previsto o desenvolvimento de novos fármacos devido a desinteresse económico. [49]

Em 2004, estudou-se a atividade da *Melaleuca alternifolia* para o *Sarcoptes scabiei* var *hominis*. Os parasitas foram obtidos de uma mulher de 20 anos diagnosticada com sarna crostosa. Cerca de 3 horas após a colheita, os parasitas foram expostos a 8 substâncias diferentes: óleo de *Melaleuca* a 5%, terpineno-4-ol a 2,1%, α -terpineol a 0,15%, 1,8-cineol a 0,1%, mistura (terpineno-4-ol + α -terpineol + 1,8-cineol), permetrina a 5% e ivermectina a 100 μ g/g. Utilizou-se como controlo uma pomada emulsificante composta por cera e parafina. Após 1 hora, a mortalidade dos parasitas

foi de 85% com terpineno-4-ol, 90% com a mistura dos 3 componentes, 60% com óleo de *Melaleuca*, 10% com a permetrina e ivermectina e 0% com α -terpineol, 1,8-cineole e pomada emulsificante. O óleo de *Melaleuca* e o terpineno-4-ol foram altamente eficazes na redução do tempo de sobrevivência dos parasitas *in vitro*, o que indica o potencial da *Melaleuca alternifolia* no tratamento da sarna. [52]

O óleo de *Melaleuca* foi utilizado, com sucesso, num hospital australiano como um medicamento tópico adjuvante no tratamento de sarna crostosa, incluindo casos que não responderam aos tratamentos clássicos. Os efeitos cumulativos acaricida, antibacteriano, antipruriginoso, antiinflamatório e cicatrizante da *Melaleuca* podem ter o potencial de tratar a sarna e as complicações bacterianas a ela associadas. [49] No entanto, os dados atuais são insuficientes para justificar uma recomendação ampla do seu uso no tratamento da sarna.

Porém, um estudo em curso propõe avaliar a eficácia do óleo de *Melaleuca* no tratamento da sarna pediátrica. O estudo compreenderá 200 crianças aborígenes australianas, com idades entre os 5 e os 16 anos. Serão divididas aleatoriamente em 2 grupos: controlo ativo (creme de permetrina a 5%) e tratamento (5% de gel de *Melaleuca*). O objetivo e o resultado primário do estudo é a cura clínica (resolução completa). Serão medidos outros resultados secundários como: alívio dos sintomas, taxa de recorrência, efeitos adversos, adesão ao regime de tratamento e tolerabilidade. [53]

5.1.10. Soluções de continuidade cutânea e cicatrização

Um estudo da Acta Cirúrgica Brasileira demonstrou o efeito bactericida *in vitro* do óleo de *Melaleuca* contra 2 estirpes multirresistentes de *Staphylococcus aureus*. Uma delas isolada a partir de uma úlcera localizada no pé de uma mulher de 36 anos resistente a: amoxicilina/ácido clavulânico, ampicilina/sulbactam, ceftriaxone, eritromicina, oxacilina, penicilina, tetraciclina e resistência intermédia à clindamicina. A estirpe isolada a partir de uma úlcera localizada no joelho de uma mulher de 57 anos resistente a: amoxicilina/ácido clavulânico, ampicilina/sulbactam, ceftriaxone, ciprofloxacina, clindamicina, eritromicina, levofloxacina, moxifloxacina, oxacilina, penicilina e synergid. Os valores de CMI e CMB obtidos foram, respetivamente, 0,1% e 0,4% para o *S. aureus* obtido do pé, e 0,2% e 0,4% da bactéria obtida do joelho. [54]

A erradicação dos microrganismos patogénicos é essencial para o sucesso da cicatrização pois uma infeção cutânea prolongada e não tratada pode potencialmente interromper o seu processo de cicatrização e levar ao desenvolvimento de uma úlcera crónica e, eventualmente, a amputações. Em alguns hospitais europeus,

nomeadamente no Reino Unido, é rotina erradicar o *MRSA* em doentes portadores, por forma a prevenir infeções hospitalares causadas por este agente e também diminuir o risco de transmissão a outros doentes internados. O tratamento convencional consiste num regime de antibióticos tópicos: pomada nasal de mupirocina a 2%, lavagem corporal com sabão contendo gluconato de clorexidina a 4% e aplicação de creme de sulfadiazina de prata a 1% nas soluções de continuidade cutânea.

Um grupo de investigadores ingleses comparou a eficácia deste regime e de um regime alternativo de óleo de *Melaleuca* na erradicação do *MRSA* em doentes portadores. Este novo regime incluiu a aplicação nasal de creme de óleo de *Melaleuca* a 10%, aplicação do mesmo creme em soluções de continuidade cutânea e lavagem do corpo com um gel de lavagem de óleo de *Melaleuca* a 5%. Ambos os regimes foram administrados durante cinco dias. Cerca de 114 indivíduos receberam o regime convencional e desses, 56 (49%) sofreram erradicação do *MRSA*. Cerca de 110 participantes receberam o regime de óleo de *Melaleuca* e 46 (41%) sofreram erradicação. Os produtos contendo óleo de *Melaleuca* foram eficazes, seguros e bem tolerados. Globalmente, não houve diferença estatisticamente significativa entre os dois regimes de tratamento. No entanto, observou-se que o creme de *Melaleuca* foi mais eficaz (47%) que a sulfadiazina de prata (31%) na erradicação do *MRSA* nas soluções de continuidade cutânea. Dado estes resultados, os investigadores sugerem que o óleo de *Melaleuca* seja considerado nos regimes hospitalares de erradicação de *MRSA*. [55]

Para além da assepsia cutânea, outros fatores como um sistema imunitário competente e uma perfusão tecidual adequada, são igualmente indispensáveis ao processo de cicatrização. Nesse sentido, um grupo de investigadores analisou o efeito direto de alguns antissépticos tópicos na microcirculação da pele intacta. Para isso, avaliaram a dinâmica da perfusão nos dedos da mão de 20 voluntários no momento antes e 10 minutos após serem imersos numa das seguintes soluções: dicloridrato de octenidina (0,1%), poliexanida (0,02%), óleo de *Melaleuca* (a 5%) e solução salina (controlo negativo). Os autores recorreram a um dispositivo de diagnóstico de luz laser e luz branca que determina, de forma não invasiva, o fluxo sanguíneo, a oxigenação da hemoglobina e a quantidade relativa de hemoglobina na microcirculação. Observou-se um aumento significativo do fluxo sanguíneo local após imersão em óleo de *Melaleuca* (+19,0%) e poliexanida (+12,4%), comparativamente ao controlo negativo (-25,6%). As alterações nos valores de oxigenação da hemoglobina e na quantidade relativa de hemoglobina não foram significativas. Desta forma, os autores

concluíram que o óleo de *Melaleuca* aumenta o fluxo sanguíneo cutâneo, propriedade que pode ser útil no tratamento de soluções de continuidade cutânea, particularmente nas que apresentam uma perfusão crítica. [56]

Outro estudo avaliou a eficácia da *Melaleuca* na erradicação do *MRSA* de úlceras crônicas e o seu efeito na cicatrização destas lesões. O estudo iniciou-se com 19 participantes mas destes, 7 foram mais tarde retirados do estudo após culturas demonstrarem que as suas lesões não estavam colonizadas por *MRSA* e 1 participante foi excluído por iniciar antibioterapia. Os restantes 11 participantes foram tratados com uma suspensão aquosa de óleo de *Melaleuca* a 3,3% aplicada como parte do regime de limpeza das lesões a cada troca de curativo, que foram realizadas 3 vezes por semana ou diariamente, conforme necessário após avaliação. O tratamento não erradicou o *MRSA* em nenhum participante mas 8 das 11 lesões iniciaram o processo de cicatrização e reduziram em tamanho, conforme medido por planimetria. Os autores sugerem que a lavagem das úlceras crônicas com uma solução aquosa de óleo de *Melaleuca* pode potencialmente promover a sua cicatrização. [57]

5.1.11. Demodicose

Os ácaros *Demodex* (*Demodex folliculorum* e *Demodex brevis*) são os ectoparasitas mais comuns na unidade pilossebácea da pele. A infestação por *Demodex* (demodicose) tem sido implicada em várias doenças da pele, incluindo a rosácea e a blefarite.

Um estudo procurou identificar o fitoconstituente do óleo de *Melaleuca* responsável pela eficácia *in vitro* contra os ácaros *Demodex*. Mediu-se o tempo de sobrevivência do *Demodex folliculorum* adulto exposto a 13 ingredientes do óleo de *Melaleuca* solúveis em óleo mineral. O terpineno-4-ol mostrou ser o terpeno mais potente seguindo-se o α -terpineol, 1,8-cineol e o sabineno. O terpineno-4-ol também se revelou mais potente que o óleo de *Melaleuca* em concentrações equivalentes, mostrando eficácia até em concentrações de 1%. Na segunda parte do estudo testou-se a eficácia *in vivo* do terpeno mais potente, que se revelou ser o terpineno-4-ol. Este foi administrado num indivíduo com blefarite por *Demodex*, que apresentou erradicação dos parasitas em 8 semanas de tratamento. [58]

Outro estudo demonstrou a eficácia da permetrina a 2,5% em combinação com gel tópico de óleo de *Melaleuca* no tratamento da rosácea. Cada indivíduo usou o tratamento num lado da face e placebo no outro, 2 vezes ao dia, por 12 semanas. Avaliaram-se as manifestações clínicas e a densidade de *Demodex* com recurso a

biópsias da superfície da pele, fotografias e scores clínicos, no início, às 2^a, 5^a, 8^a e 12^a semanas. Os efeitos do tratamento na densidade de ácaros foram estatisticamente significativos, observando-se melhoria significativa das pápulas, pústulas, eritema, ardor e ressecamento da pele no lado que recebeu o tratamento, relativamente ao lado tratado com placebo. A administração de permetrina a 2,5% com gel de *Melaleuca* demonstrou boa eficácia e segurança. [59]

Outro estudo avaliou o efeito terapêutico do óleo de *Melaleuca* em indivíduos com blefarite por *Demodex*. Cerca de 335 indivíduos com desconforto ocular foram avaliados quanto à infestação por *Demodex* ocular. Entre eles, os doentes infestados por *Demodex* foram randomizados para receber tratamento com óleo de *Melaleuca* (106 doentes) ou placebo (54 doentes) por 1 mês. Após o mês de tratamento, a contagem de *Demodex* foi reduzida de $4,0 \pm 2,5$ para $3,2 \pm 2,3$ no grupo tratado com óleo de *Melaleuca* e de $4,3 \pm 2,7$ para $4,2 \pm 2,5$ no grupo placebo. Além disso, o score de sintomas foi reduzido de $34,5 \pm 10,7$ para $24,1 \pm 11,9$ no grupo de tratamento e de $35,3 \pm 11,6$ para $27,5 \pm 12,8$ no grupo placebo. Em conclusão, os autores defendem que o tratamento com óleo de *Melaleuca* é eficaz na eliminação do *Demodex* ocular e na melhoria dos sintomas oculares. [60] Aliás, o tratamento de eleição atual é um dispositivo médico comercializado em vários países, em diferentes apresentações, mas não disponível em Portugal, cujo principal componente é o terpineno-4-ol, obtido do óleo de *Melaleuca*. [61]

5.1.12. Hirsutismo

O hirsutismo é a presença excessiva de pêlos terminais, em áreas dependentes de andrógenos. Alguns estudos mostram que os óleos de lavanda e de *Melaleuca* podem ter atividades antiandrogénicas. Nesse sentido, um grupo de investigadores avaliou o efeito dos óleos de lavanda e *Melaleuca* em doentes com hirsutismo idiopático ligeiro. Para isso conduziram um estudo randomizado numa amostra de 24 doentes do sexo feminino. Destas, 12 receberam um *spray* contendo óleos de lavanda e *Melaleuca* e as restantes receberam um *spray* placebo. Aplicaram-no duas vezes ao dia durante 3 meses nas áreas afetadas. A avaliação do hirsutismo foi realizada no início do estudo e após três meses de tratamento, pelo *score* de Ferriman-Gallwey e pela medição do diâmetro dos pêlos. O grupo de tratamento revelou uma diminuição estatisticamente significativa do *score* de Ferriman-Gallwey e do diâmetro capilar, enquanto nenhuma diferença nesses dois parâmetros foi observada no grupo placebo. Face aos resultados, os autores concluíram que os óleos de lavanda e *Melaleuca*, aplicados

localmente nas áreas afetadas, podem consistir uma terapêutica segura, económica, prática e eficaz na redução do hirsutismo idiopático ligeiro. [62]

5.2. Patologia Oral

5.2.1. Estomatite

Um estudo comparou a atividade *in vitro* do óleo de *Melaleuca* e do fluconazol na candidíase oral, quando integrados num gel de reparação gengival que se aplica sob as próteses dentárias. Para esse efeito, procedeu-se à mistura de cada uma dessas substâncias, a diversas concentrações, na preparação de um gel de reparação gengival que se aplica sob as próteses dentárias. Para além dos componentes em estudo, o dispositivo incluía ainda na sua composição: metacrilato de polietil, etanol, glicolato de ftalilbutil, ftalato de dibutil, parafina e óleo de *Mentha piperita*). Colocou-se cada gel em meios previamente colonizados com *C. albicans*. O estudo revelou uma eficácia semelhante entre o óleo de *Melaleuca* a 30% e o fluconazol a 5% após 24 horas de exposição. No entanto, ao 7º dia verificou-se uma recolonização do meio com fluconazol, enquanto a atividade antifúngica da *Melaleuca* se manteve. Com base nestes resultados, o estudo sugere a adição de óleo de *Melaleuca* no gel de reparação gengival como alternativa potencialmente superior ao fluconazol no combate à candidíase oral em doentes com próteses dentárias. [26]

Com base nesses resultados, um grupo de investigadores avaliou a eficácia do óleo de *Melaleuca* para a *Candida albicans* quando integrado na composição de um gel de reparação gengival. O estudo compreendeu 27 doentes que foram tratados por um período de 12 dias. Os doentes foram aleatoriamente tratados com o gel de *Melaleuca*, gel com nistatina ou gel inativo (controlo). O tratamento com gel contendo *M. alternifolia* provocou uma diminuição significativa da inflamação palatina e inibição do crescimento de *C. albicans*, comparativamente ao gel controlo. [63]

Outro estudo demonstrou a eficácia de soluções orais de óleo de *Melaleuca*, com e sem álcool, no tratamento da candidíase orofaríngea refratária ao fluconazol em doentes VIH positivos. O estudo incluiu 22 doentes que aplicaram o colutório durante 30-60 segundos 4 vezes ao dia por 4 semanas. Foram realizadas avaliações às 2, 4, 6 e 8 semanas, nas quais se procedeu a culturas quantitativas de *C. albicans* e ao registo dos sinais e sintomas de candidíase oral. Todas as leveduras obtidas em cultura apresentaram algum grau de resistência *in vitro* ao fluconazol. Na avaliação das 4 semanas (fim do tratamento), 15 dos 22 participantes (68%) melhoraram clinicamente e 18 (82%) apresentaram redução significativa da contagem de leveduras

nas culturas. Face a estes resultados, os autores concluíram que as soluções orais de *Melaleuca*, tanto as alcoólicas como as não alcoólicas, podem constituir uma alternativa no tratamento da candidíase orofaríngea refratária ao fluconazol, em doentes VIH positivos. [64]

5.2.2. Placa dentária e gengivite

Um estudo procurou demonstrar a eficácia de uma solução de higiene oral contendo óleo de *Melaleuca* no controlo da placa bacteriana e na inflamação das gengivas, fatores que estão na origem da gengivite. Para isso, 16 indivíduos com gengivite entre os 21 e os 37 anos, foram divididos aleatoriamente em 4 grupos consoante o princípio ativo da solução de higiene oral que deveriam utilizar no domicílio: óleo de *Melaleuca* a 1,5%, clorexidina a 0,12%, mistura de óleos essenciais (timol, mentol, eucaliptol, limoneno, fluoreto de sódio, zinco e xilitol) e placebo (água com corante). Nas avaliações clínicas (antes e 2 semanas após o tratamento) registou-se o *score* de placa bucal total, *score* de sangramento bucal total, índice gengival, descolorações, exame sumário da língua e alterações do paladar. A análise estatística revelou que os tratamentos com *Melaleuca*, mistura de óleos essenciais e clorexidina foram eficazes, sendo que a solução de *Melaleuca* proporcionou uma melhoria superior no índice gengival e no *score* de sangramento bucal total, tendo sido o menos eficaz no controlo da placa bacteriana. Face a estes resultados, os autores concluíram que as propriedades anti-inflamatórias da *Melaleuca alternifolia* podem ser um valioso complemento no tratamento da gengivite. [65] Outro estudo muito semelhante, conduzido por Soukoulis, obteve resultados muito semelhantes, com um gel de *Melaleuca* a 2.5% a diminuir significativamente o sangramento bucal total e o índice gengival em indivíduos com gengivite crónica. [66]

O objetivo de um outro estudo foi avaliar o efeito antimicrobiano e a análise sensorial de um gel de óleo de *Melaleuca*. Trinta e quatro voluntários, divididos em 2 grupos, foram avaliados por 4 semanas. Inicialmente, foram colhidas amostras de biofilme clínico (índice de placa) e saliva (contagem de bactérias), a partir das quais foram obtidos os valores iniciais de cada indivíduo. Durante 7 dias, o grupo 1 usou o gel de *Melaleuca* e o grupo 2 usou um dentífrico comum (controlo). Após 7 dias, procedeu-se ao cálculo do índice de placa, à contagem de bactérias e à análise sensorial (aparência, cor, odor, brilho, viscosidade e sensação de primeiro paladar). Os voluntários foram instruídos a retornar aos hábitos habituais de higiene oral por 15 dias. Depois disso, o grupo 1 iniciou o uso do dentífrico comum e o grupo 2 iniciou o gel de *Melaleuca*, tendo sido efetuados os mesmos procedimentos de avaliação da

primeira semana. Os resultados demonstraram que a *Melaleuca* foi significativamente mais eficaz na diminuição do biofilme dentário e do número de colónias de bactérias que o dentífrico controlo. Relativamente à análise sensorial, o dentífrico controlo apresentou melhores resultados que o gel de *Melaleuca*. Concluiu-se assim que o gel de *Melaleuca* é eficiente no controlo do biofilme dentário, sendo necessário melhorar o seu sabor. [67]

5.3. Patologia Ginecológica

Um grupo de investigadores comparou a atividade *in vivo* de dois constituintes bioativos óleo de *Melaleuca* (terpineno-4-ol e 1,8-cineol) em várias estirpes de *Candida*, incluindo resistentes aos imidazóis. Para o modelo experimental *in vivo* de infeção vaginal foram utilizados ratos ooforectomizados inoculados com estirpes de *C.albicans*, tanto sensíveis como resistentes aos imidazóis. O tratamento com terpineno-4-ol foi comparável ao tratamento padrão com fluconazol nas infeções por estirpes sensíveis aos imidazóis. Nas infeções por estirpes resistentes aos imidazóis este terpineno mostrou-se igualmente eficaz, sendo que em todos os casos a infeção foi resolvida pela terceira semana de tratamento, usando terpineno-4-ol a 1%. Os autores concluíram assim que este é o primeiro estudo *in vivo* a demonstrar o potencial terapêutico do terpineno-4-ol nas infeções vaginais por estirpes de *Candida* resistentes aos imidazóis, as principais armas terapêuticas no tratamento da candidíase vaginal. [68]

Um caso clínico publicado em 1990 mostra a atividade do óleo de *Melaleuca* na vaginose numa mulher de 40 anos que se apresentou assintomática, solicitando testes de rastreio de doenças sexualmente transmissíveis, após um relacionamento sexual casual três semanas antes. Ao exame objetivo observava-se uma secreção vaginal típica de vaginose anaeróbica (espumosa, homogénea), pH vaginal de 5 e teste das aminas positivo. A microscopia mostrava uma flora vaginal mista típica com ausência de morfotipos normais de lactobacilos (bacilos gram-positivos). As células epiteliais vaginais eram maduras e algumas estavam revestidas com bactérias, formando *clue-cells*, características de vaginose. Os testes para *Neisseria gonorrhoea*, *Chlamydia trachomatis*, *Candida spp* e *Trichomonas vaginalis* foram negativos. A doente recusou o tratamento convencional com metronidazol, referindo que se iria tratar com um medicamento à base de plantas. No domicílio, usou um pessário vaginal com 200 mg de óleo de *Melaleuca* por dia durante 5 dias. Um mês depois, regressou à consulta na mesma fase do ciclo menstrual e solicitou nova examinação. Ao exame objetivo, as secreções vaginais eram normais, o pH vaginal era entre 4-5 e o teste das aminas era

negativo. A microscopia mostrou uma flora bacteriana normal constituída exclusivamente por bacilos gram-positivos. [69]

5.4. Outras

5.4.1. Hemorróidas

Hemorróidas são protusões de mucosa suspensas no canal anal com um rico plexo vascular submucoso. A inflamação da mucosa é transversal e os sintomas clássicos compreendem a hemorragia, a protrusão e a dor anal, que são particularmente exacerbadas pela defecação. O tratamento conservador das hemorróidas é altamente desejável uma vez que a hemorroidectomia está associada a complicações e a difícil recuperação. Desta forma, o uso tópico de géis ou cremes com ação predominantemente lubrificante, procuram proteger a mucosa ano-retal e produzir um efeito suavizante na passagem das fezes. Nesse sentido, um grupo de investigadores avaliou o efeito de um dispositivo médico em gel (contendo ácido hialurónico, óleo de *Melaleuca* e *metil-sulfonil-metano*) no tratamento das hemorróidas. Um total de 36 doentes com hemorróidas (grau 1 a 3), divididos em 2 grupos, um deles tratado com o gel em estudo e o outro com um gel placebo, aplicaram o tratamento a cada 12 horas durante 14 dias, na dose de 1 a 1,5 g. A dor anal, dor durante a defecação, sangramento anal visível, prurido e irritação/inflamação foram registados antes e após o tratamento, tanto pelos investigadores como pelos doentes. O gel ativo provocou uma redução estatisticamente significativa de todos os sintomas, em comparação com o gel placebo. Estes resultados foram obtidos pela observação tanto pelos investigadores como pelos próprios doentes. Os resultados também indicaram uma boa tolerabilidade e segurança do dispositivo, dado que não se observaram efeitos adversos. Os autores concluíram assim que a aplicação tópica do dispositivo médico em gel contendo ácido hialurónico, óleo de *Melaleuca* e metil-sulfonil-metano é eficaz como parte do tratamento conservador das hemorróidas. [70]

5.4.2. Queratite por *Acanthamoeba*

As queratites por *Acanthamoeba* estão relacionadas com o uso de lentes de contacto. São geralmente crónicas e o seu tratamento é prolongado e pouco eficaz. A cronicidade desta infeção deve-se à presença de quistos que se alojam nas camadas mais profundas da córnea. A maioria dos tratamentos apresenta alta toxicidade e causa efeitos adversos indesejáveis. Nos casos mais graves pode haver necessidade de desbridamento cirúrgico da córnea podendo até resultar na enucleação do olho. Um grupo de investigadores demonstrou a eficácia *in vitro* do óleo de *Melaleuca* na

queratite por *Acanthamoeba*. Para esse efeito, simularam a queratite por *Acanthamoeba* recorrendo a um meio sólido não nutritivo de ágar colonizado por amebas e cistos, no qual se administrou diariamente 1 gota (25 µl) de óleo de *Melaleuca*, durante 5 dias. Este ensaio demonstrou 100% de eficácia contra *Acanthamoeba*, tanto trofozoítos como quistos, ao fim dos 5 dias. Este ensaio indica que o óleo de *Melaleuca* tem potencial para penetrar nos tecidos e destruir as amebas e os quistos, mesmo os que se alojam nas camadas mais profundas da córnea. Estes resultados revelam o potencial importante do óleo de *Melaleuca* no tratamento rápido e eficaz da queratite por *Acanthamoeba*. [71]

IV. DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

No contexto atual, a evolução da medicina e da ciência tem permitido desenvolver terapêuticas cada vez mais eficazes e com menores efeitos adversos. No entanto, a emergência de microrganismos multirresistentes tem constituído um grande desafio para o controlo das patologias infecciosas, suscitando a procura de substâncias alternativas devido à falência das terapias convencionais. Para além disso, a consciencialização sobre o corpo humano e sobre escolhas saudáveis tem aumentado exponencialmente, e com ela, o mercado de “produtos naturais”, orgânicos e suplementos.

Com isto, assiste-se a uma crescente oferta e conseqüente consumo deste tipo de produtos, muitas vezes sem supervisão médica e com conseqüências potencialmente deletérias para a saúde. Assim sendo, torna-se essencial produzir maior investigação científica na área das Plantas Mediciniais e uma devida regulamentação destes produtos e formulações. Paralelamente, é também necessário que a comunidade médica seja sensibilizada e informada acerca dos potenciais efeitos terapêuticos das plantas medicinais em certas patologias, com o objetivo de os aplicar de forma racional e sustentada nas várias áreas da prática clínica.

Utilizada empiricamente há séculos, a *Melaleuca alternifolia* e os seus fitoconstituintes são hoje investigados a vários níveis e vêem o seu potencial terapêutico expandido e sustentado em novas publicações científicas. Existem vantagens ao nível da sua acessibilidade, abundância, facilidade de processamento e bom perfil de segurança.

A biodisponibilidade e a estabilidade dos componentes do óleo de *Melaleuca* permanecem um desafio, dado que facilmente se podem degradar com a exposição ao ar, calor, luz e humidade. Muita da atual investigação centra-se na melhoria da sua estabilidade, no estudo de novos veículos adjuvantes e na utilização de novas formulações que maximizem a biodisponibilidade, como a incorporação em nanopartículas ou lisossomas, entre outras.

É interessante ter presente a própria evolução da investigação científica da *Melaleuca*, desde os estudos de Penfold no início do século XX até à atualidade. Além de se confirmarem os efeitos antimicrobianos para os quais era utilizada ancestralmente pelos aborígenas, a descoberta de novas áreas de atuação foi notável. O foco deixou de estar unicamente na atividade antimicrobiana e passou a englobar algumas áreas potenciais como a oncologia, dermatologia, ginecologia, cirurgia e oftalmologia.

A atividade antibacteriana, antifúngica, antivírica e antiparasitária tem sido amplamente demonstrada. À luz da informação atual, os seus efeitos cutâneos, especialmente na cicatrização e na *acne vulgaris*, bem como as suas propriedades antimicrobianas, particularmente na candidíase vaginal e na blefarite por *Demodex*, são as áreas em que a *Melaleuca* apresenta maior eficácia comprovada.

O número crescente de infecções hospitalares e o aparecimento de estirpes microbianas resistentes aos antibióticos têm contribuído para o aumento do tempo de internamento dos doentes, do número de complicações e, conseqüentemente, do custo dos tratamentos. As infecções cutâneas, em particular, consistem grande parte dos motivos de acesso aos cuidados de saúde. O amplo espectro de microrganismos suscetíveis ao óleo de *Melaleuca* confere-lhe forte potencial como antisséptico cutâneo. Além disso, os microrganismos invasores da pele parecem ter maior suscetibilidade à *Melaleuca*, relativamente aos da flora comensal. Este perfil de seletividade reforça o interesse da *Melaleuca* no tratamento de infecções da pele.

Na acne vulgar ligeira a moderada, mostrou reduzir significativamente o número de lesões com eficácia semelhante ao peróxido de benzoílo, tendo possivelmente menos efeitos adversos. Recomenda-se a sua diluição num óleo veicular neutro (como o óleo de *Rosa damascena*) numa concentração de 10%, a ser aplicado na área afetada 1 a 3 vezes ao dia. Também se pode proceder à sua mistura com água destilada morna na concentração de 1%, a ser aplicado na área afetada como emplastro.

No que respeita ao seu papel na cicatrização, o óleo de *Melaleuca* mostrou aumentar a perfusão cutânea local, diminuir o diâmetro das lesões e capacidade de erradicar microrganismos invasores de feridas infetadas. Para este efeito, é recomendado o uso deste óleo em pequenas soluções de continuidade cutânea. Deve preparar-se uma solução contendo 0,5% a 10% de óleo essencial, a ser aplicada 1 a 3 vezes por dia na área afetada.

O terpineno-4-ol, principal componente bioativo do óleo de *Melaleuca*, provou ser o tratamento mais eficaz na blefarite por *Demodex*, de tal forma que é a terapêutica de primeira linha segundo a Academia Americana de Oftalmologia. Existe um dispositivo médico que consiste em toalhetas impregnadas neste fitofármaco e que o doente utiliza para esfoliar a pálpebra diariamente. O tratamento é recomendado por pelo menos 6 semanas, por forma a cobrir dois ciclos de vida do *Demodex* e assim erradicar o parasita.

No caso das verrugas cutâneas, um estudo observou grande resposta à *Melaleuca*, tendo as lesões regredido completamente ao fim de 10 a 20 dias.

Estranhamente, apesar da elevada eficácia reportada, continua a ser o único estudo científico que avaliou a potencialidade terapêutica do óleo de *Melaleuca* no tratamento de verrugas cutâneas. Para além de estudos futuros que comprovem este efeito, teria também interesse avaliar a sua aplicabilidade em verrugas vaginais e anais.

Na candidíase vaginal crónica/recorrente, um dos motivos que torna estas infeções tão difíceis de tratar é a resistência dos microrganismos aos principais agentes terapêuticos: os imidazóis. Ora, o terpineno-4-ol apresenta forte potencial terapêutico nestes casos uma vez que é eficaz contra as estirpes de *Candida albicans* resistentes aos imidazóis.

A pneumonia é das principais causas de morte em todo o mundo. O tratamento clássico é feito por via sistémica. Porém, a administração pulmonar direta de medicamentos apresenta diversas vantagens, incluindo a prevenção do efeito de primeira passagem, início de ação mais rápido e uma ação mais prolongada. A *Melaleuca* apresenta eficácia contra *Klebsiella pneumoniae*, *C. albicans*, *S. aureus*, *A. baumannii*, *Listeria monocytogenes*, *Leishmania*, vírus influenza e vírus do Nilo Ocidental, que são agentes causadores de pneumonia grave. Naturalmente, a inalação do óleo essencial em solução total estará contraindicada pelo potencial risco de pneumonite lipídica. No entanto, a administração pulmonar direta do óleo é possível se for formulado em pó seco, nanopartículas ou lisossomas. Aliás, a administração de óleo de *Melaleuca* em pó seco por via inalatória em modelo murino revelou uma eficácia superior ao fluconazol e semelhante à penicilina. [72] São necessários futuros estudos experimentais em humanos que avaliem a atividade da *Melaleuca* nas pneumonias graves, particularmente quando é administrada neste tipo de formulações inaladas contendo terpineno-4-ol, a molécula farmacologicamente mais ativa.

O óleo de *Melaleuca* apresenta uma natureza lipofílica que lhe permite penetrar nas camadas mais profundas da pele. Este facto, aliado ao seu efeito antioxidante e à sua eficácia *in vitro* para células tumorais da pele, nomeadamente de melanoma e carcinoma espinhocelular, tornam este fitofármaco um potencial agente terapêutico para as principais neoplasias da pele. Ainda na área da oncologia, estudos *in vitro* demonstraram que o terpineno-4-ol potencia significativamente o efeito de agentes quimioterápicos e biológicos no tratamento de neoplasias colorretais, pancreáticas, prostáticas e gástricas. Sendo os tumores cutâneos e gastrointestinais dos tumores mais prevalentes na população mundial, é evidente a necessidade de transpôr esta eficácia observada *in vitro* em futuros estudos experimentais *in vivo*, especialmente em humanos.

Tendo em conta as aplicações clínicas supracitadas, está claro o potencial terapêutico desta planta. No entanto, os estudos com ensaios *in vivo* são insuficientes, especialmente os ensaios clínicos em humanos que avaliam a eficácia terapêutica, a segurança e a tolerabilidade do óleo de *Melaleuca*. Torna-se imperioso investir em estudos clínicos de base populacional, que transponham todo o potencial desta planta para a realidade clínica, dado que se trata de um óleo essencial, um produto de fácil produção e com custos reduzidos para os doentes.

De forma global, a evidência científica recolhida com esta revisão é muito promissora e recentra a *Melaleuca* como um potencial agente terapêutico. Contudo, é requerida mais investigação, de forma a usufruir das propriedades aqui evidenciadas na prática clínica.

V. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. de Groot AC, Schmidt E. Tea tree oil: contact allergy and chemical composition. *Contact Dermatitis*. 2016; 75(3):129-43.
2. Australian Tea Tree Industry Association (ATTIA). History of Tea Tree Oil. 2015 Site: https://teatree.org.au/teatree_about.php (acedido a 10/10/2019).
3. Carson CF, Hammer KA, Riley TVR. *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil: a Review of Antimicrobial and Other Medicinal Properties. *Clin Microbiol Rev* 2006; 19(1):50-62.
4. EMA/HMPC/320932/2012, Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC). Assessment report on *Melaleuca alternifolia* (Maiden and Betch) Cheel, *M. linariifolia* Smith, *M. dissitiflora* F. Mueller and/or other species of *Melaleuca aetheroleum*. *Comm Herb Med Prod* 2013; 44:73. (Acedido em 12/09/2019).
5. Hammer KA, Carson CF, Riley T V., Nielsen JB. A review of the toxicity of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil. *Food Chem Toxicol*. 2006; 44(5):616-25.
6. ISO 4730:2017 Essential oil of *Melaleuca*, terpinen-4-ol type (Tea Tree oil). International Organization for Standard. 2017.
7. Carson, CF; Mee, BJ; Riley TV. Mechanism of Action of *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil on *Staphylococcus aureus* Determined by Time-Kill, Lysis, Leakage, and Salt Tolerance Assays and Electron Microscopy. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002; 46(6): 1914-20.
8. Garozzo A, Timpanaro R, Stivala A, Bisignano G, Castro A. Activity of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on Influenza virus A/PR/8: Study on the mechanism of action. *Antiviral Res*. 2011;89(1):83-8.
9. Li WR, Li HL, Shi QS, Sun TL, Xie XB, Song B, et al. The dynamics and mechanism of the antimicrobial activity of tea tree oil against bacteria and fungi. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2016;100(20):8865-75.
10. Calcabrini A, Stringaro A, Toccaceli L, Meschini S, Marra M, Colone M, et al. Terpinen-4-ol, the Main Component of *Melaleuca Alternifolia* (Tea Tree) Oil Inhibits the in Vitro Growth of Human Melanoma Cells. *J Invest Dermatol*. 2004;122(2):349-60.
11. Ramadan MA, Shawkey AE, Rabeh MA, Abdellatif AO. Expression of P53, BAX, and BCL-2 in human malignant melanoma and squamous cell carcinoma cells after tea tree oil treatment in vitro. *Cytotechnology*. 2019;71(1):461-473.

12. Liu X, Zu Y, Fu Y, Yao L, Gu C, Wang W, et al. Antimicrobial activity and cytotoxicity towards cancer cells of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil. *Eur Food Res Technol*. 2009;229(2):247-53.
13. *Aetheroleum Melaleucae Alternifoliae*. In WHO monographs on selected medicinal plants, Volume 1. World Health Organization Geneva 1999. 172-9.
14. Carson CF, Riley T V. Safety, efficacy and provenance of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) oil. *Contact Dermatitis*. 2001;45(2):65-7.
15. Emma Toni Igras. Tea tree oil derived plasma polymer films: biocompatibility, antibiofilm effects and fundamental properties. In Master Thesis 2012. James Cook University; Townsville, Austrália. 1-385.
16. Gummin DD, Mowry JB, Spyker DA, Brooks DE, Osterthaler KM, Banner W. 2017 Annual Report of the American Association of Poison Control Centers' National Poison Data System (NPDS): 35th Annual Report. *Clin Toxicol (Phila)*. 2018;56(12):1213-415..
17. Carson CF, Riley TV., Cookson BD. Efficacy and safety of tea tree oil as a topical antimicrobial agent. *J Hosp Infect*. 1998;40(3):175–8.
18. Comin VM, Lopes LQS, Quatrin PM, de Souza ME, Bonez PC, Pintos FG, et al. Influence of *Melaleuca alternifolia* oil nanoparticles on aspects of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm. *Microb Pathog*. 2016;93:120-5.
19. de Souza ME, Clerici DJ, Verdi CM, Fleck G, Quatrin PM, Spat LE, et al. Antimicrobial activity of *Melaleuca alternifolia* nanoparticles in polymicrobial biofilm in situ. *Microb Pathog*. 2017;113:432-7.
20. Oliva A, Costantini S, De Angelis M, Garzoli S, Božović M, Mascellino MT, et al. High potency of *Melaleuca alternifolia* essential oil against multi-drug resistant gram-negative bacteria and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Molecules*. 2018;23(10):1-14.
21. Liu Z, Meng R, Zhao X, Shi C, Zhang X, Zhang Y, et al. Inhibition effect of tea tree oil on *Listeria monocytogenes* growth and exotoxin proteins listeriolysin O and p60 secretion. *Lett Appl Microbiol*. 2016;63(6):450-7.
22. Concha JM, Moore LS, Holloway WJ. Antifungal activity of *Melaleuca alternifolia* (tea-tree) oil against various pathogenic organisms. *J Am Podiatr Med Assoc*. 1998;88(10):489-92.

23. Hammer KA, Carson CF, Riley TV. Antifungal effects of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil and its components on *Candida albicans*, *Candida glabrata* and *Saccharomyces cerevisiae*. *J Antimicrob Chemother.* 2004;53(6):1081-5.
24. Hammer KA, Carson CF, Riley TV. In vitro activities of ketoconazole, econazole, miconazole, and *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil against *Malassezia* species. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000;44(2):467-9.
25. Hammer KA. In vitro activity of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil against dermatophytes and other filamentous fungi. *J Antimicrob Chemother.* 2002;50(2):195-9.
26. Sharma S, Hegde V. Comparative Evaluation of Antifungal Activity of *Melaleuca* Oil and Fluconazole when Incorporated in Tissue Conditioner: An In Vitro Study. *J Prosthodont.* 2014;23(5):367-73.
27. Mertas A, Garbusińska A, Szliszka E, Jureczko A, Kowalska M, Król W. The influence of tea tree oil (*Melaleuca alternifolia*) on fluconazole activity against fluconazole-resistant *Candida albicans* strains. *Biomed Res Int.* 2015; 2015:590470.
28. Flores FC, de Lima JA, Ribeiro RF, Alves SH, Rolim CMB, Beck RCR, et al. Antifungal Activity of Nanocapsule Suspensions Containing Tea Tree Oil on the Growth of *Trichophyton rubrum*. *Mycopathologia.* 2013;175(3-4):281-6.
29. El Akkad DMH, El-Gebaly NSM, Yousof HASA, Ismail MAM. Electron microscopic alterations in *Pediculus humanus capitis* exposed to some pediculicidal plant extracts. *Korean J Parasitol.* 2016;54(4):527-32.
30. Valdés AF, Martínez JM, Lizama RS, Vermeersch M, Cos P, Maes L. In vitro anti-microbial activity of the Cuban medicinal plants *Simarouba glauca* DC, *Melaleuca leucadendron* L and *Artemisia absinthium* L. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2008;103(6):615-8.
31. Garozzo A, Timpanaro R, Bisignano B, Furneri PM, Bisignano G, Castro A. In vitro antiviral activity of *Melaleuca alternifolia* essential oil. *Lett Appl Microbiol.* 2009;49(6):806-8.
32. Pliego Zamora A, Edmonds JH, Reynolds MJ, Khromykh AA, Ralph SJ. The in vitro and in vivo antiviral properties of combined monoterpene alcohols against West Nile virus infection. *Virology.* 2016;495:18–32.

33. Ramadan MA, Shawkey AE, Rabeh MA, Abdellatif AO. Expression of P53, BAX, and BCL-2 in human malignant melanoma and squamous cell carcinoma cells after tea tree oil treatment in vitro. *Cytotechnology*. 2019;71(1):461–73.
34. Shapira S, Pleban S, Kazanov D, Tirosh P, Arber N. Terpinen-4-ol: A novel and promising therapeutic agent for human gastrointestinal cancers. *PLoS One*. 2016;11(6):1–13.
35. Assmann CE, Cadoná FC, Bonadiman B da SR, Dornelles EB, Trevisan G, Cruz IBM da. Tea tree oil presents in vitro antitumor activity on breast cancer cells without cytotoxic effects on fibroblasts and on peripheral blood mononuclear cells. *Biomed Pharmacother*. 2018;103:1253-61.
36. Kim HJ, Chen F, Wu C, Wang X, Chung HY, Jin Z. Evaluation of Antioxidant Activity of Australian Tea Tree (*Melaleuca alternifolia*) Oil and Its Components. *J Agric Food Chem*. 2004;52(10):2849–54.
37. Zhang X, Guo Y, Guo L, Jiang H, Ji Q. In vitro evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of melaleuca alternifolia essential oil. *Biomed Res Int*. 2018;2018:2396109.
38. de Freitas Souza C, Baldissera MD, Descovi S, Zeppenfeld C, Eslava-Mocha PR, Gloria EM, et al. Melaleuca alternifolia essential oil abrogates hepatic oxidative damage in silver catfish (*Rhamdia quelen*) fed with an aflatoxin-contaminated diet. *Comp Biochem Physiol Part - C Toxicol Pharmacol*. 2019;221:10–20.
39. Hammer KA. Treatment of acne with tea tree oil (melaleuca) products: A review of efficacy, tolerability and potential modes of action. *Int J Antimicrob Agents*. 2015;45(2):106–10.
40. Pazyar N, Yaghoobi R, Bagherani N, Kazerouni A. A review of applications of tea tree oil in dermatology. *Int J Dermatol*. 2013;52(7):784-90.
41. Enshaieh S, Jooya A, Siadat AH, Iraj F. The efficacy of 5% topical tea tree oil gel in mild to moderate acne vulgaris: A randomized, double-blind placebo-controlled study. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2007;73(1):22-5.
42. Malhi HK, Tu J, Riley TV., Kumarasinghe SP, Hammer KA. Tea tree oil gel for mild to moderate acne; a 12 week uncontrolled, open-label phase II pilot study. *Australas J Dermatol*. 2017;58(3):205-10.
43. Satchell AC, Saurajen A, Bell C, Barnetson RSC. Treatment of dandruff with 5% tea tree oil shampoo. *J Am Acad Dermatol*. 2002;47(6):852-5.

44. Satchell AC, Saurajen A, Bell C, Barnetson RSC. Treatment of interdigital tinea pedis with 25% and 50% tea tree oil solution: A randomized, placebo-controlled, blinded study. *Australas J Dermatol.* 2002;43(3):175-8.
45. Buck DS, Nidorf DM, Addino JG. Comparison of two topical preparations for the treatment of onychomycosis: *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil and clotrimazole. *J Fam Pract.* 1994;38(6):601-5.
46. Carson CF. *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil gel (6%) for the treatment of recurrent herpes labialis. *J Antimicrob Chemother.* 2001;48(3):450-1.
47. Alsanad SM, Alkhamees OA. Tea Tree Oil (*Melaleuca alternifolia*)-An Efficient Treatment for Warts: Two Case Reports. *Int Arch Biomed Clin Res.* 2016;2(4):2-4.
48. Markum E, Baillie J. Combination of essential oil of *Melaleuca alternifolia* and iodine in the treatment of molluscum contagiosum in children. *J Drugs Dermatol.* 2012;11(3):349-54.
49. Thomas J, Carson CF, Peterson GM, Walton SF, Hammer KA, Naunton M, et al. Therapeutic potential of tea tree oil for scabies. *Am J Trop Med Hyg.* 2016;94(2):258-66.
50. Canyon DV, Speare R. A comparison of botanical and synthetic substances commonly used to prevent head lice (*Pediculus humanus var. capitis*) infestation. *Int J Dermatol.* 2007;46(4):422-6.
51. Barker SC, Altman PM. A randomised, assessor blind, parallel group comparative efficacy trial of three products for the treatment of head lice in children - melaleuca oil and lavender oil, pyrethrins and piperonyl butoxide, and a "suffocation" product. *BMC Dermatol.* 2010;10:6.
52. Walton SF, McKinnon M, Pizzutto S, Dougall A, Williams E, Currie BJ. Acaricidal activity of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil: In vitro sensitivity of *Sarcoptes scabiei var hominis* to terpinen-4-ol. *Arch Dermatol.* 2004;140(5):563-6.
53. Thomas J, Davey R, Peterson GM, Carson C, Walton SF, Spelman T, et al. Treatment of scabies using a tea tree oil-based gel formulation in Australian Aboriginal children: Protocol for a randomised controlled trial. *BMJ Open.* 2018;8(5):1-10.
54. Falci SPP, Teixeira MA, das Chagas PF, Martinez BB, Loyola ABAT, Ferreira LM, et al. Antimicrobial activity of *Melaleuca sp.* Oil against clinical isolates of antibiotics resistant *Staphylococcus Aureus*. *Acta Cir Bras.* 2015;30(7):491-6.

55. Dryden MS, Dailly S, Crouch M. A randomized, controlled trial of tea tree topical preparations versus a standard topical regimen for the clearance of MRSA colonization. *J Hosp Infect.* 2004;56(4):283-6.
56. Rothenberger J, Krauss S, Tschumi C, Rahmanian-Schwarz A, Schaller HE, Held M. The Effect of Polyhexanide, Octenidine Dihydrochloride, and Tea Tree Oil as Topical Antiseptic Agents on in Vivo Microcirculation of the Human Skin: A Noninvasive Quantitative Analysis. *Wounds.* 2016;28(10):341-6.
57. Edmondson M, Newall N, Carville K, Smith J, Riley T V., Carson CF. Uncontrolled, open-label, pilot study of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) oil solution in the decolonisation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* positive wounds and its influence on wound healing. *Int Wound J.* 2011;8(4):375–84.
58. Tighe S, Gao Y-Y, Tseng SCG. Terpinen-4-ol is the Most Active Ingredient of Tea Tree Oil to Kill Demodex Mites . *Transl Vis Sci Technol.* 2013;2(7):2.
59. Ebneyamin E, Mansouri P, Rajabi M, Qomi M, Asgharian R, Azizian Z. The efficacy and safety of permethrin 2.5% with tea tree oil gel on rosacea treatment: A double-blind, controlled clinical trial. *J Cosmet Dermatol.* 2019:1–6.
60. Koo H, Kim TH, Kim KW, Wee SW, Chun YS, Kim JC. Ocular surface discomfort and demodex: Effect of tea tree oil eyelid scrub in demodex blepharitis. *J Korean Med Sci.* 2012;27(12):1574-9.
61. Cheng AMS, Sheha H, Tseng SCG. Recent advances on ocular Demodex infestation. *Curr Opin Ophthalmol.* 2015;26(4):295-300.
62. Tirabassi G, Giovannini L, Paggi F, Panin G, Panin F, Papa R, et al. Possible efficacy of Lavender and Tea tree oils in the treatment of young women affected by mild idiopathic hirsutism. *J Endocrinol Invest.* 2013;36(1):50-4.
63. Catalán A, Pacheco JG, Martínez A, Mondaca MA. In vitro and in vivo activity of melaleuca alternifolia mixed with tissue conditioner on *Candida albicans*. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology.* 2008;105(3):327-32.
64. Vasquez JA, Zawawi AA. Efficacy of alcohol-based and alcohol-free melaleuca oral solution for the treatment of fluconazole-refractory oropharyngeal candidiasis in patients with AIDS. *HIV Clin Trials.* 2002;3(5):379–85.
65. Salvatori C, Barchi L, Guzzo F, Gargari M. A comparative study of antibacterial and anti-inflammatory effects of mouthrinse containing tea tree oil. *Oral Implantol (Rome).* 2017;10(1):59–70.

66. Soukoulis S, Hirsch R. The effects of a tea tree oil-containing gel on plaque and chronic gingivitis. *Aust Dent J.* 2004;49(2):78-83.
67. Santamaria M, Petermann KD, Vedovello SAS, Degan V, Lucato A, Franzini CM. Antimicrobial effect of *Melaleuca alternifolia* dental gel in orthodontic patients. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 2014;145(2):198-202.
68. Mondello F, De Bernardis F, Girolamo A, Cassone A, Salvatore G. In vivo activity of terpinen-4-ol, the main bioactive component of *Melaleuca alternifolia* Cheel (tea tree) oil against azole-susceptible and -resistant human pathogenic *Candida* species. *BMC Infect Dis.* 2006;6:1-8.
69. Blackwell AL. Tea tree oil and anaerobic (bacterial) vaginosis. *Lancet.* 1991;337:300.
70. Joksimovic N, Spasovski G, Joksimovic V, Andreevski V, Zuccari C, Omini CF. Efficacy and tolerability of hyaluronic acid, tea tree oil and methyl-sulfonyl-methane in a new gel medical device for treatment of haemorrhoids in a double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Updates Surg.* 2012;64(3):195-201.
71. Hadaś E, Derda M, Cholewiński M. Evaluation of the effectiveness of tea tree oil in treatment of *Acanthamoeba* infection. *Parasitol Res.* 2017;116(3):997-1001.
72. Li M, Zhu L, Zhang T, Liu B, Du L, Jin Y. Pulmonary delivery of tea tree oil- β cyclodextrin inclusion complexes for the treatment of fungal and bacterial pneumonia. *J Pharm Pharmacol.* 2017;69(11):1458-67.