Submissão: 27/05/2024
Publicação: 14/08/2024
DOI:

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *MELALEUCA ALTERNIFOLIA* NO TRATAMENTO DE INFECÇÃO BACTERIANA INDUZIDA POR *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* EM *DROSOPHILA MELANOGASTER*

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF MELALEUCA ALTERNIFOLIA ESSENTIAL OIL IN THE TREATMENT OF BACTERIAL INFECTION INDUCED BY KLEBSIELLA PNEUMONIAE IN DROSOPHILA MELANOGASTER

Stifani Machado Araujo Borstmann[1]
Andrieli Adaiana Kunzler[2]
Bruna Andréia Pinheiro Canteiro[2]

RESUMO: A administração de antibióticos revolucionou a história da medicina, no entanto seu uso inadequado favoreceu o surgimento de superbactérias que expressam diferentes mecanismos de resistência aos antimicrobianos. A *Klebsiella pneumoniae* possui multirresistência a vários antimicrobianos, contribuindo para a elevação de casos de óbitos por infecção hospitalar. Sendo assim, os óleos essenciais representam uma alternativa considerável, pois são bem descritos por sua atividade antimicrobiana. Portanto, o objetivo desse trabalho foi avaliar a eficácia do óleo essencial Tea Tree (*Melaleuca alternifolia*) como potencial antimicrobiano para o tratamento de infecção bacteriana induzida por *Klebsiella pneumoniae* (KPC) em um modelo de infecção *in vivo* em *Drosophila melanogaster*. Foram realizados testes *in vitro* como o disco difusão, bem como testes *in vivo* utilizando 8 grupos com 20 moscas individuais em cada: 1) Controle; 2) Dimetilsulfóxido (DMSO); 3) Cloranfenicol; 4) KPC; 5) DMSO + KPC; 6) Cloranfenicol + KPC; 7) Tea tree 0,15g/ml; 8) Tea tree 0,15g/ml + KPC. Após 24 horas de exposição foram realizadas as análises de sobrevivência, campo aberto e contagem de unidades formadoras de colônias por mosca. Como resultados, o óleo essencial Tea Tree demonstrou potencial ação antimicrobiana em um modelo de infecção bacteriana induzida por KPC em *Drosophila melanogaster*.

Palavras-chave: Antibacterianos. Compostos naturais. Moscas.

ABSTRACT: The administration of antibiotics revolutionized the history of medicine; however, their improper use has favored the emergence of superbugs that exhibit different mechanisms of resistance to antimicrobials. *Klebsiella pneumoniae* possesses multi-resistance to various antimicrobials, contributing to the rise in death

[1]Graduada em Nutrição pela Universidade Federal do Pampa, Mestre e Doutora em Bioquímica pela Universidade Federal do Pampa e Pós Doutora pela Universidade Federal do Pampa. Atualmente é docente no curso de Nutrição e Biomedicina no Centro Universitário de Cascavel (Univel).

[2]Graduada em Biomedicina pelo Centro Universitário de Cascavel (Univel).

cases due to hospital infections. Therefore, essential oils represent a considerable alternative, as they are well described for their antimicrobial activity. Thus, the objective of this study was to evaluate the efficacy of Tea Tree essential oil (*Melaleuca alternifolia*) as a potential antimicrobial for the treatment of bacterial infection induced by *Klebsiella pneumoniae* (KPC) in an *in vivo* infection model in *Drosophila melanogaster*. *In vitro* tests such as disk diffusion were performed, as well as in vivo tests using 8 groups with 20 individual flies each: 1) Control; 2) Dimethyl sulfoxide (DMSO); 3) Chloramphenicol; 4) KPC; 5) DMSO + KPC; 6) Chloramphenicol + KPC; 7) Tea Tree 0.15g/ml; 8) Tea Tree 0.15g/ml + KPC. After 24 hours of exposure, survival analyses, open field tests, and colony-forming unit counts per fly were performed. As a result, Tea Tree essential oil demonstrated potential antimicrobial action in a KPC-induced bacterial infection model in *Drosophila melanogaster*.

Keywords: Antibacterials. Natural compounds. Flies.

1 INTRODUÇÃO

A resistência bacteriana é uma das maiores preocupações de saúde pública e cresce de forma significativa, sobretudo em ambientes hospitalares (SOARES; GARCIA, 2020). Essa resistência é consequência da administração excessiva e/ou do mal uso de antibióticos na grande parcela da população, levando ao desenvolvimento de microrganismos resistentes, como é o caso de superbactérias como *a Klebsiella pneumoniae* que possui genes capazes de expressar diversos mecanismos de resistência em relação aos antimicrobianos (PAULA et al., 2016).

A *Klebsiella pneumoniae* pertence à família das *Enterobacteriaceae*, é um bacilo gram-negativo de grande importância em infecções hospitalares, a qual produz uma enzima conhecida como carbapenemase, capaz de inativar muitos agentes antimicrobianos, dentre eles estão os beta-lactâmicos de espectro estendido e os antibióticos de último recurso como os carbapenêmicos (SILVA, 2016). Sendo assim, avaliações de novas alternativas para redução da patogenicidade de bactérias resistentes aos medicamentos ganham cada vez mais destaque, principalmente em estudos envolvendo propriedades antimicrobianas de extratos de plantas e óleos essenciais (RIBEIRO, 2013).

Os óleos essenciais possuem compostos ativos que estimulam reações metabólicas, contribuindo para o tratamento de várias doenças (SAIGG; SILVA, 2009). A grande maioria dos óleos essenciais apresentam baixa toxicidade e baixo custo financeiro, despertando desta forma, grande interesse como potencial antimicrobiano (SOUZA et al., 2021). Muitos óleos essenciais possuem características bactericidas, como o óleo Tea Tree (*Melaleuca alternifolia*) que pertence à família *Myrtaceae*, o qual destaca-se como uma alternativa válida para o tratamento contra bactérias gram-negativas, como a *Klebsiella pneumoniae* (GIOPPO; ZANCANARO; BELLAVER; 2019).

O uso de modelos animais mamíferos para estudar a patogenicidade de bactérias possuem limitações logísticas e éticas, portanto, modelos de invertebrados, incluindo *Drosophila melanogaster* foram inseridos como alternativas promissoras para estudo da patogênese da infecção bacteriana, além disso, possuem um sistema de resposta humoral e celular conservado e atuam no combate a infecções bacterianas (LEMAITRE; HOFFMANN, 2007; PINHEIRO et al., 2024). As reações celulares envolvidas na resposta imune inata de artrópodes como a *Drosophila*, compreende a fagocitose, nodulação, encapsulação e síntese de peptídeos

antimicrobianos através do corpo gorduroso, essa encapsulação elimina principalmente bactérias gram-negativas da hemocele através da degranulação, coagulação da hemolinfa e a formação de cápsula (ALVES, 2018).
Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi realizar a avaliação do potencial antimicrobiano do óleo essencial de Tea Tree em um modelo de infecção bacteriana induzida por *Klebsiella pneumoniae* em *Drosophila melanogaster*.

2 METODOLOGIA

2.1 Cultura microbiana e preparo do inóculo

Utilizou-se a cepa de bactéria Gram-negativa *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 3904 R^{++}), proveniente do Laboratório de Microbiologia do Centro Universitário UNIVEL, Cascavel/PR. Para realização do estudo da atividade antibacteriana, a cepa de *Klebsiella pneumoniae* foi cultivada em caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) e inoculada em placa de ágar MacConkey, seguindo a técnica de estriamento. Este cultivo foi levado para a estufa em temperatura de 37°C por 24 horas para o crescimento do microrganismo. Após a incubação, foi realizado o controle de turbidez, utilizando um inóculo bacteriano de aproximadamente 1,5 x 10^8 UFC/mL padronizado de acordo com a turbidez da escala 0,5 de McFarland (CLEELAND; SQUIRES, 1991).

2.2 Antimicrobianos

O óleo essencial de Tea Tree foi adquirido da indústria Phytoterapica® (São Paulo/SP). Para os cálculos de concentração considerou-se a densidade do óleo essencial igual a 0,9 g/mL, conforme laudo técnico obtido pelo fornecedor Phytoterapica® (densidade 0,885-0,906 g/mL). Para a realização dos ensaios clínicos, a substância foi solubilizada em dimetilsulfóxido (DMSO). O cloranfenicol foi utilizado como antimicrobiano controle positivo, para execução dos testes (Magistral Ltda– Brasil).

2.3 Ensaios *in vitro*

2.3.1 Teste de disco-difusão (KIRBY-BAUER)

Para o teste de disco-difusão, as placas contendo ágar Mueller Hinton foram inoculadas com *Klebsiella pneumoniae,* nestas foram adicionados discos estéreis de papel filtro com diâmetro de 6 milímetros, que receberam alíquotas de 40 µL de óleo essencial Tea tree na concentração final 0,9g/ml, diluído em DMSO. Para o controle positivo foi utilizado 40 µL de Cloranfenicol e para controle negativo 40 µL de DMSO. Após as placas foram incubadas a 36°C por 24 horas. Os halos do crescimento bacteriano foram mensurados em milímetros (mm), com o auxílio de um paquímetro. No teste de disco-difusão, foram classificados de acordo com o descrito pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2020). Onde “R” é considerado Resistente < 8 mm, “I” é considerado Intermediária 16 mm e “S” Sensível > 32mm.

2.4 Ensaios *in vivo*

2.4.1 Estoque e Cultura de *Drosophila melanogaster*

A *Drosophila melanogaster* (cepa *Harwich*) do tipo selvagem, foram obtidas do Laboratório Experimental da Universidade União Educacional de Cascavel-UNIVEL, Cascavel/PR. As moscas foram criadas em uma dieta padrão de laboratório contendo farinha de milho, fermento, leite em pó, sal, açúcar, gérmen de trigo, fibra de trigo e Nipagin® como antifúngico em temperatura e umidade constantes (24ºC e 60% umidade relativa) e sob um ciclo de 12 horas escuro/12 horas claro.

Para iniciarmos o processo de obtenção de uma microbiota inerte na mosca, separou-se 15 moscas machos adultos e 25 fêmeas virgens, totalizando 40 moscas na proporção 3:5 (macho : fêmea), sendo estas consideradas as progenitoras (F0), estas foram deixadas acasalarem por 72 horas, e após seus ovos foram coletados, lavados em solução hiperclorada a 1% e colocados em meio estéril na dieta de ágar-maçã (1 litro de água deionizada, 30 gramas de ágar, 33 gramas de sacarose, 330 mL de suco de maçã, 7 mL de antifúngico Nipagin®) com adição de uma pasta de fermento para estimular o desenvolvimento da pupa (PINHEIRO et al., 2024). Ainda se adicionou um algodão esterilizado embebido em água para fornecer umidade. Por último, essas foram incubadas por 24 horas a 25°C em um ciclo de 12 horas claro e 12 horas escuro até a eclosão dos ovos da progênie (F1).

2.4.2 Protocolo experimental

Para exposição *in vivo* as moscas F1 de ambos os sexos, recém eclodidas com a microbiota inerte, foram submetidas ao teste de sobrevivência e, portanto, para os tratamentos prosseguiu-se com a concentração que causou menor letalidade de Tea tree sendo 0,15g/ml. Sendo assim as moscas foram divididas em 8 grupos com o total de 20 moscas em cada, sendo os grupos: 1) Controle (Sacarose 1%); 2) Controle negativo (DMSO); 3) Controle positivo (Cloranfenicol); 4) *Klebsiella pneumoniae*; 5) Tea tree 0,15g/ml; 6) Tea tree 0,15g/ml + *Klebsiella pneumoniae*; 7) DMSO + *Klebsiella pneumoniae* e 8) Cloranfenicol + *Klebsiella pneumoniae* (Figura 1).

Figura 1 - Protocolo experimental



Fonte: Os autores (2024).

2.4.3 Protocolo de Infecção de *Drosophila melanogaster*

As moscas adultas da geração F1 foram expostas a infecção oral por *Klebsiella pneumoniae*, seguindo o protocolo adaptado descrito por Jothy et al. (2018) com adaptações de Pinheiro et al. (2024) para garantir a infecção oral, as moscas (F1) foram deixadas em jejum por 4 horas antes da exposição bacteriana. Inicialmente foi preparado um tubo falcon contendo 1 mL de ágar padrão (1 litro de água deionizada, 20 gramas de ágar, 84 gramas de açúcar mascavo, 7 mL de agente antifúngico Nipagin®), e após sua secagem adicionou-se sobre o ágar um disco de papel filtro esterilizado com 10µL de cultura de *Klebsiella pneumoniae*. Para os grupos com óleo essencial Tea Tree, adicionou-se individualmente a cultura bacteriana e óleo essencial de Tea tree diluído em DMSO na concentração final de 0,15g/ml. Nos grupos controles, a cultura bacteriana foi exposta a 10 µL de cloranfenicol, 10 µL de DMSO e 10 µL de sacarose a 1% sobre o disco de papel filtro. Cinco moscas foram adicionadas de forma individual a cada frasco de cada grupo e deixadas para se alimentar por 24 horas. Após esse período, as moscas foram removidas do meio e suas superfícies foram esterilizadas, lavando-as em 100 µL de álcool 70% com duração de 20 a 30 segundos. Após o processo de limpeza com o álcool, adicionou-se 100 µL de água deionizada de 20 a 30 segundos para remover o excesso de álcool.

Por fim, realizou-se a homogeneização de cada mosca de forma individual em 100 µL de Tampão fosfato-salino (PBS) gelado em um tubo de 1,5 mL. Em seguida, foram pipetados 100 µL deste homogenato e foi espalhado com uma alça Drigalsky, em uma placa contendo ágar Padrão de Contagem (PCA) e incubadas a 36°C por 24 horas para contagem do número de Unidades Formadoras de Colônias (CFUs) por *Drosophila melanogaster.*

2.4.4 Taxa de sobrevivência durante a Infecção por *Klebsiella pneumoniae*

A taxa de sobrevivência das moscas foi avaliada através da contagem do número de moscas vivas até o final do período experimental (24 horas). Cerca de 20 moscas por grupo foram incluídas nos dados de sobrevivência e o número total de moscas representa a soma de oito grupos experimentais (ARAUJO et al., 2015).

2.4.5 Teste de campo aberto

Após o período de 24 horas, foi realizado o teste locomotor e exploratório com cada grupo, de acordo com o método adaptado de Hirth, (2010). Neste teste 15 moscas de cada grupo foram mantidas em uma placa de Petri dividida em quadrados medindo um centímetro cada. Todos os testes foram filmados com a câmera do aparelho celular A50. A atividade exploratória e movimentação das moscas foram avaliadas contabilizando o número de quadrados cruzados/explorados por cada mosca durante um período de 60 segundos. O número total de moscas (120 moscas) representa a soma de quatro experimentos independentes.

2.5 Análise estatística

Os dados obtidos foram vinculados ao programa Microsoft Excel para cálculo de média e desvio padrão (DP). Para o cálculo da normalidade dos dados foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk, para homogeneidade o teste de Bartlett. Dados normais e homogêneos foram avaliados por ANOVA de uma via, seguida do *post hoc* de Tukey.

A taxa de sobrevivência (%) foi determinada pela curva de Kaplan-Meier e a significância estatística pelo teste de long-rank Mantel-Cox. Os valores foram considerados significativos quando p<0,05, usando o Programa GraphPad Prism7.

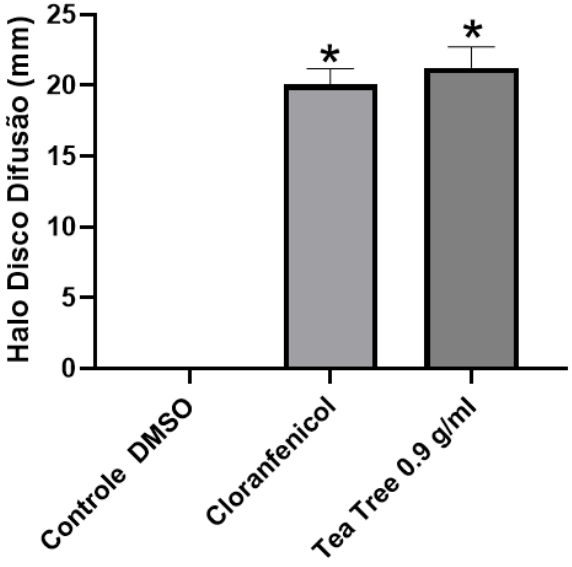
3 RESULTADOS

3.1 Análises *in vitro*

3.1.1 Óleos essenciais possuem ação antimicrobiana sobre o teste de Disco-difusão

Ao avaliarmos os halos de inibição formados, obtivemos como resultado um aumento da sensibilidade nos grupos de cloranfenicol e Tea Tree 0,9 g/ml. A análise *post hoc* mostrou diferença estatística entre os grupos Tea Tree 0,9 g/ml e Cloranfenicol sozinhos (Figura 2). O teste ANOVA de uma via mostrou interação significativa entre os grupos [$F_{(2,6)}$= 384.0, P = 0.0001].

Figura 2- Óleo essencial Tea Tree em teste de Disco Difusão, frente a *Klebsiella pneumoniae.*



Legenda: *Diferença significativa em relação ao grupo Cloranfenicol.

Na tabela 3, observamos a leitura dos halos de inibição do teste de disco-difusão onde os valores foram classificados como R (Resistente), I (Intermediária) e S (Sensível), de acordo com o descrito pelo CLSI, (2020). Sendo assim, o óleo essencial Tea tree é categorizado como indutor de uma proteção intermediária contra *Klebsiella pneumoniae*.

Tabela 3- Resultados do diâmetro do halo de inibição (mm) no teste de antibiograma.

Tratamento	**Diâmetro do halo de inibição (mm)**			
	Padrão Observado			**Diagnóstico**
Tea Tree 0,9g/ml	21,25			**I**
Cloranfenicol	20,11			**I**
DMSO	0			**-**
	R	**I**	**S**	
Padrão CLSI	≤ 8	16	≥32	

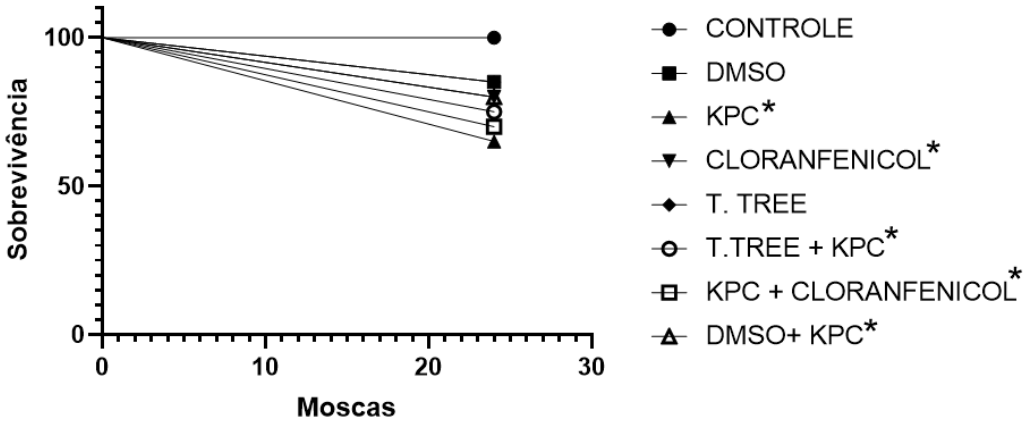
Legenda: *R – Resistente; S – Sensível; I – Intermediária, *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), Dimetilsulfóxido (DMSO).

3.2 Análises *in vivo*

3.2.1 Avaliação do efeito do óleo essencial Tea Tree em modelo de infecção oral por *Klebsiella pneumoniae* na taxa de sobrevivência de *Drosophila melanogaster*

Ao analisarmos a taxa de sobrevivência das moscas após 24 horas, podemos observar que houve diferença entre os grupos quando comparados ao grupo controle ($p<0,05$), (Figura 4).

Figura 4- Avaliação do efeito do óleo essencial Tea Tree em modelo de infecção oral por *Klebsiella pneumoniae* na taxa de sobrevivência de *Drosophila melanogaster*.

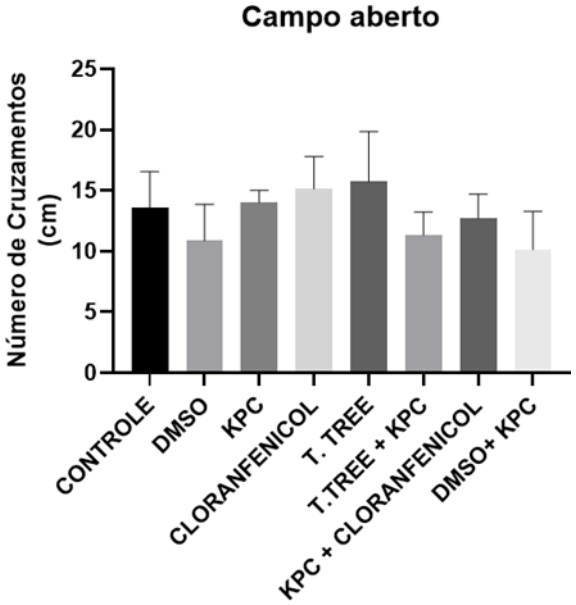


Legenda: *Diferença significativa em relação ao grupo controle. DMSO (Dimetilsulfóxido); KPC (*Klebsiella pneumoniae*); T.Tree (Tea Tree).

3.2.2 Avaliação do efeito do óleo essencial Tea Tree em modelo de infecção oral por *Klebsiella pneumoniae* sobre o comportamento locomotor e exploratório de *Drosophila melanogaster*

A análise *post-hoc* mostrou que as habilidades locomotoras e exploratórias foram semelhantes em todos os grupos experimentais, portanto não havendo diferenças estatísticas entre eles (Figura 5). O teste ANOVA de uma via não mostrou interação significativa entre os grupos [$F_{(7,24)}$= 2.212, P = 0.0695].

Figura 5 - Efeito do óleo essencial Tea Tree em modelo de infecção oral por *Klebsiella pneumoniae* no comportamento exploratório de *Drosophila melanogaster* durante 24 horas.

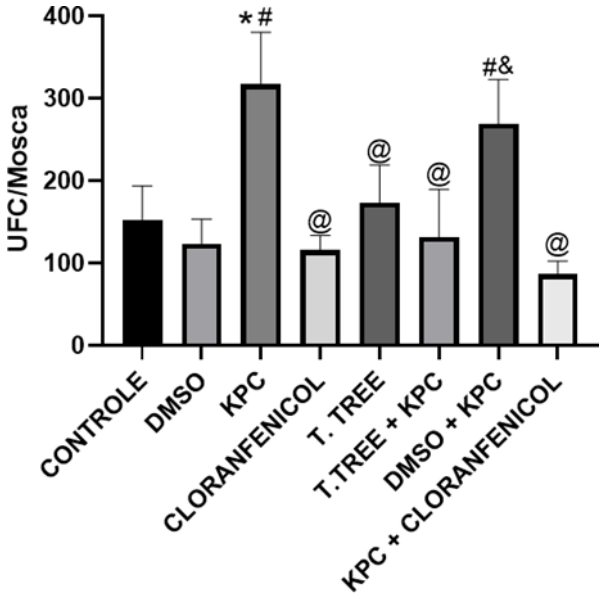


Legenda: DMSO (Dimetilsulfóxido); KPC (*Klebsiella pneumoniae*); T.Tree (Tea Tree).

3.2.3 Efeito antimicrobiano do óleo essencial Tea Tree em modelo de infecção oral por *Klebsiella pneumoniae* em *Drosophila melanogaster*

Para confirmar que *Klebsiella pneumoniae* poderia multiplicar-se em um modelo *in vivo* e invertebrado, expusemos a *Drosophila melanogaster* adulta com sua microbiota inerte, à infecção oral por *Klebsiella pneumoniae,* e ao tratamento com óleo essencial Tea tree 0,15 g/ml por um período de 24 horas. Após esse período realizamos a semeadura do homogenato de amostra em placas de petri para confirmar a contaminação, identificando assim o crescimento de colônias no grupo *Klebsiella pneumoniae*, bem como identificamos um potencial antimicrobiano do óleo essencial Tea Tree nas moscas expostas ao tratamento. A análise estatística revelou interações significativas entre os grupos [$F_{(7,16)}$=9.90, p=0,0001], (Figura 6).

Figura 6 - Número de Unidades Formadoras de colônias por mosca em modelo de infecção oral por *Klebsiella pneumoniae* em *Drosophila melanogaster* e tratamento com óleo essencial Tea tree.



Legenda: *Diferença significativa em relação ao grupo controle. @Diferença significativa em relação ao grupo KPC. #Diferença significativa em relação ao grupo DMSO. &Diferença significativa em relação ao grupo KPC+Cloranfenicol. UFC (Unidades formadoras de colônias); DMSO (Dimetilsulfóxido); KPC (*Klebsiella pneumoniae*); T.Tree (Tea Tree).

4 DISCUSSÃO

Avaliamos o potencial antimicrobiano do óleo essencial de Tea Tree em um modelo de infecção bacteriana induzida por *Klebsiella pneumoniae* em *Drosophila melanogaster*, sendo assim, obtivemos a confirmação de que a bactéria *Klebsiella pneumoniae* pode crescer em moscas adultas com microbiota estéril, e que o óleo essencial de Tea Tree apresenta efeitos promissores, com potencial ação antimicrobiana, especialmente em concentrações elevadas. Estudos anteriores revelam que o principal composto presente no óleo essencial de Tea tree, responsável pela proteção contra cepas de bactérias, é o terpinen-4-ol que atua como regulador da atividade antibacteriana e antifúngica, com indução do dano a parede celular e consequentemente a totalidade da fisiologia bacteriana é afetada (SILVA et al., 2019; OLIVEIRA et al., 2011).

O teste de disco-difusão é um método prático e de fácil realização considerado a melhor metodologia aplicada para avaliar a eficácia de óleos essenciais (TAKARADA; NASCIMENTO, 2004). Em seu estudo Ogbaini et al. (2015), avaliaram a atividade do óleo essencial de Tea tree em cepas multirresistentes de *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* através do teste de disco-difusão, assim sendo, observado que os microrganismos avaliados foram classificados com sensibilidade ao óleo, com halos medindo entre 10 e 36 mm. Neste trabalho o óleo de Tea Tree foi indutor de uma proteção intermediária contra a exposição a *Klebsiella pneumoniae*, com formação de halos de inibição superiores a 20 mm de diâmetro. Esse resultado demostra um potencial antimicrobiano, com ação nos sítios alvos, sendo possível também administrar uma dose superior a inicial, além disso, os halos intermediários são classificados como respostas mais baixas comparados à isolados suscetíveis, sendo que esta faixa neutra evita que fatores não controláveis gerem grandes interferências nas interpretações dos resultados, como a toxicidade que ocorre principalmente em compostos naturais, como os óleos essenciais (CLSI, 2020). Ainda, utilizamos o antimicrobiano cloranfenicol como controle positivo, este demonstrou um halo de inibição intermediário contra a bactéria *Klebsiella pneumoniae*, como no

estudo de Ferronatto et al. (2007), ao expor as bactérias *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeroginosa e Staphylococcus aureus*, a este antibiótico.

Como podemos ver nos resultados *in vivo*, foi observado que a exposição de *Drosophila melanogaster* ao óleo de Tea Tree sozinho, apresentou nesra concentração baixa toxicidade nas moscas, sendo fundamental para a continuidade das avaliações, corroborando com um estudo realizado por Hofling et al. (2019) no qual o óleo Tea Tree não apresentou toxicidade sobre as larvas *Galleria mellonella*. Segundo Siddique et al. (2020), o óleo essencial de Tea tree possui propriedades antioxidantes, indicando claramente que este fator pode ser responsável pela supressão dos radicais livres ou pelo aumento da regulação das defesas antioxidantes, protegendo a sobrevida e o comportamento locomotor das moscas infectadas com *Klebsiella pneumoniae* (ARAUJO et al., 2015; OLIVEIRA, 2011; TEIXEIRA et al., 2010).

No estudo de Bonorino, (2021) este induziu um quadro de pneumosepse pela bactéria *Klebsiella pneumoniae* em camundongos no período de 7, 14 e 30 dias, esta infecção causou alterações comportamentais do tipo ansioso nesses animais, entretanto não foi possível identificar o que provocou esse processo de ansiedade. Em outro estudo Teixeira et al. (2010), utilizou a bactéria *Escherichia coli* para contaminar camundongos por um período de oito dias, estes observaram que a bactéria afetou o sistema locomotor destes animais, apresentando dificuldade na locomoção.

As bactérias gram-negativas como a *Klebsiella pneumoniae*, dispõem de uma camada externa em sua membrana, que permite estabelecer uma camada hidrofílica por terem em sua composição moléculas de lipopolissacarídeos, essa barreira que a membrana externa possui, tem função de agir como uma proteção contra a entrada de macromoléculas e de compostos hidrofóbicos (Helander et al., 1998). Ainda segundo Valeriano et al. (2010), os óleos essenciais podem apresentar em sua composição, substâncias que auxiliam em sua entrada na camada de lipopolissacarídeos da parede celular bacteriana e desta forma ocorre seu rompimento, sendo assim ao realizarmos a contagem do número de unidades formadoras de colônias por mosca, identificamos que o grupo exposto ao tratamento com o óleo Tea tree apresentou um resultado satisfatório através da inibição do crescimento de colônias quando comparado ao grupo *Klebsiella pneumoniae* isolado, demostrando o seu potencial antimicrobiano. Em seu trabalho Carson et al. (2006) relatam que o constituinte, terpinem-4-ol é o responsável pelo efeito antimicrobiano presente no óleo essencial de Tea Tree, pois causa a perda da membrana celular, interferindo assim na fisiologia bacteriana.

5 CONCLUSÃO

Portanto, conclui-se que o óleo essencial Tea Tree pode ser considerado um alvo potencial para estudos como medicamento antimicrobiano, pois apresentou ação antimicrobiana em modelo de infecção bacteriana induzida por *Klebsiella pneumoniae* em *Drosophila melanogaster*. No entanto, para aprofundar nossa compreensão dessa interação, são necessários estudos adicionais em modelos *in vivo*, para validação e otimização do uso desse óleo essencial como abordagem terapêutica contra infecções bacterianas.

REFERÊNCIAS

ALVES, F. M. **Perfil proteico e de hemócitos da hemolinfa de larvas de *Musca domestica* infectadas com conídios ou blastoporos de *Metarhizium robertsii***. 2018. 54f. Dissertação. Universidade Federal de Goiás, 2018.

ARAUJO, S.M.; DE PAULA M.T.; POETINI, M.R et al. Effectiveness of γ-oryzanol in reducing neuromotor deficits, dopamine depletion and oxidative stress in a *Drosophila melanogaster* model of Parkinson's disease induced by rotenone. **Neurotoxicology**. v.51, p.96-105, 2015.

BONORINO, K.C. **Pneumosepse induzida por *Klebsiella pneumoniae* em camundongos: caracterização comportamental e perfil neuroinflamatório.** 2021. 120f. Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Neurociências, Florianópolis, 2021.

CARSON CF, Hammer KA, Riley TV. *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. **Clinical microbiology reviews**, v. 19, n. 1, p. 50 - 62, 2006.

CLEELAND, R.; SQUIRES, E. Evaluation of new antimicrobials in vitro and in experimental animal infections. In: LORIAN, V. M. D. **Antibiotics in Laboratory Medicine**. New York: Williams & Wilkins, p. 739-788, 1991.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**. 30th ed. CLSI supplement M100 (ISBN 978-1-68440-066-9 [Print]; ISBN 978-1-68440-067-6 [Electronic]). Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087 USA, 2020.

FERRONATTO, R. et al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais produzidos por *Baccharis dracunculifolia* D.C. e *Baccharis uncinella* D.C. (*Asteraceae*). **Revista brasileira de farmacognosia**. v.17, p.224–230, 2007.

GASPARETTO, I. F. Atividade antimicrobiana in vitro de probióticos em Klebsiella pneumoniae produtora de carbapenemase, *Escherichia coli, Salmonella enteritidis e Shigella flexneri*. 2020. 53 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas, Campinas, SP, 2020.

GIOPPO, A.; ZANCANARO, V.; BELLAVER, E.H. Atividade antibacteriana do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* frente a isolados multirresistentes produtores de ESBL e KPC causadores de infecções hospitalares. Biotemas, v. 32, n. 3, p. 35-42, 2019.

HELANDER, I.M. et al. Characterization of the action of selected essential oil components on Gram-negative bacteria. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.46 n.9, p. 3590–3595, 1998.

HIRTH, F. *Drosophila melanogaster* in the study of human neurodegeneration. **CNS Neurol Disord Drug Targets**, v. 9, n. 4, p. 504-523, 2010.

HOFLING, J.F. et al. Avaliação da toxicidade *in vitro vivo* de *Melaleuca alternifolia*. **Revista dos Trabalhos de Iniciação Científica da UNICAMP, Campinas**, SP, n. 26, 2019.

JOTHY, J. A. S.; PRAKASH, A.; RADHAKRISHNAN, B.; MONTEITH, K. M.; VALE, P. F. Oral bacterial infection and shedding in *Drosophila melanogaster*. **Vis Exp**, v.135, p.57676, 2018.

LEMAITRE, B.; HOFFMANN, J. The host defense of *Drosophila melanogaster*. **Annu Rev Immunol**. v. 25, p. 697-743, 2007.

OGBAINI, E. E.; SCHUSTER, H.; WAZE, J.; KALU, E.I. *In vitro* antimicrobial activity of commercially available *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) oil on some selected clinical pathogens. **British Journal of Pharmaceutical Research**, v. 5, n. 3, p. 202-208, 2015.

OLIVEIRA, A. C. M., et al. Use of *Melaleuca alternifolia* Cheel (*Myrtaceae*) oil in dentistry: perspectives on its use as alternative antimicrobial to infectious diseases of oral origin. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 13, p. 492-499, 2011.

PAULA, V.G.; QUINTANILHA, L.V.; COUTINHO e SILVA, F.A et al. Enterobactérias produtoras de carbapenemase: prevenção da disseminação de superbactérias em UTI's. **Universitas: Ciências da Saúde**, v. 14, n. 2, p. 175-185, 2016.

PINHEIRO, F.C.; BORTOLOTTO, V.C.; ARAUJO, S.M. et al. Antimicrobial Effect of *Diphenyl Ditelluride* $(PhTe)_2$ in a Model of Infection by *Escherichia coli* in *Drosophila melanogaster*. **Indian J Microbiol**, 2024.

RIBEIRO, D. S. **Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*) frente a bactérias isoladas de alimentos: estudos in vitro e em matriz alimentícia**. 2013. 102f. Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Ciências de Alimentos (PGALI), 2013.

SAIGG, N. L.; SILVA, M. C. Efeitos da utilização do chá verde na saúde humana. **Univer**, v. 7, n. 1, p. 69-89, 2009.

SIDDIQUE, S. et al. Chemical compostion, antibacterial and antioxidant of essential oils from leaves of three Melaleuca species of *Parkistani flora*. **Arab Journal of Chemistry**. v.13, p. 67-74, 2020.

SILVA, D.A. **Avaliação das alterações comportamentais e bioquímicas induzidas por uma dieta hiperglicídica em *Drosophila melanogaster***. 2022. 21f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Nutrição) - Universidade Federal do Pampa, Itaqui, 2016.

SILVA, L. L.; ALMEIDA, R. D.; VERÍCIMO, M. A.; MACEDO, H. W. D.; CASTRO, H. C. Atividades terapêuticas do óleo essencial de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*).

Uma revisão de literatura. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 2, n. 6, p. 6011-6021, 2019.

SOARES, I. C.; GARCIA, P. C. Resistência bacteriana: a relação entre o consumo indiscriminado de antibióticos e o surgimento de superbactérias. **Revista Brasileira de Microbiologia**, v. 51, n. 8, 2020.

SOUZA, E.R.L, et al. Lavandula híbrida grosso contra cepas de *Klebsiella pneumoniae*. **Archives of Health Investigation**.10(6):906-912, 2021.

TAKARADA, K.; KIMIZUKA, R.; TAKAHASHI, N.; HONMA, K.; OKUDA, K.; KATO T. A comparison of the antibacterial efficacies of essential oils against oral pathogens. **Oral Microbiology and Immunology**, v. 19, n. 1, p. 61-64, 2004.

TEIXEIRA, J.P; SILVA, N; FONSECA, L.M. Efeito protetor das frações proteicas do soro de leite em camundongos Balb/C infectados por *Escherichia coli* O157: H7. **Arquivo Brasileiro De Medicina Veterinária E Zootecnia**, v. 62, p.821–826, 2010.
VALERIANO, C. et al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais em bactérias patogênicas de origem alimentar. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 14, 57-67, 2012.