

KASSANDRA ELFRIDA PAULIELLO

**AÇÃO ANTI-HISTAMÍNICA DA
POMADA DE *MELALEUCA SP.***

Trabalho Final do Mestrado Profissional,
apresentado à Universidade do Vale do
Sapucaí, para obtenção do título de Mestre
em Ciências Aplicadas à Saúde.

POUSO ALEGRE - MG

2016

KASSANDRA ELFRIDA PAULIELLO

**AÇÃO ANTI-HISTAMÍNICA DA
POMADA DE *MELALEUCA SP.***

Trabalho Final do Mestrado Profissional,
apresentado à Universidade do Vale do
Sapucaí, para obtenção do título de Mestre
em Ciências Aplicadas à Saúde.

ORIENTADORA: Prof^ª. Dra. Adriana Rodrigues dos Anjos Mendonça

COORIENTADORA: Prof^ª. Dra. Diba Maria Sebba Tosta de Souza

POUSO ALEGRE - MG

2016

Pauliello, Kassandra Elfrida.

Ação anti-histamínica da Pomada de *Melaleuca sp.* /Kassandra Elfrida Pauliello. – Pouso Alegre: UNIVAS, 2016.
35 f.

Trabalho Final do Mestrado Profissional em Ciências Aplicadas à Saúde,
Universidade do Vale do Sapucaí.

Título em inglês: The antihistaminic action of the *Melaleuca sp.* ointment

Orientadora: Prof^a Dra. Adriana Rodrigues dos Anjos Mendonça.
Co-orientadora: Prof^a Dra. Diba Maria Sebba Tosta de Souza.

1. Fitoterapia. 2. Melaleuca. 3. Antagonistas dos receptores histamínicos.
4. Mordeduras e picadas. I.Título.

CDD: 615.321

UNIVERSIDADE DO VALE DO SAPUCAÍ

**MESTRADO PROFISSIONAL EM
CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE**

COORDENADOR: Prof. Dr. Taylor Brandão Schnaider

Linha de Atuação Científico-Tecnológica: Fitoterapia em Lesões Teciduais

À minha amada Família...

Em especial a minha Mãe...

Por participarem comigo de todos os momentos, ofereço agora, esta conquista.

AGRADECIMENTOS

A Deus que me iluminou, me fez forte e permitiu a realização deste sonho.

Agradeço em especial à **PROFESSORA DOUTORA ADRIANA RODRIGUES DOS ANJOS MENDONÇA**, PROFESSORA DO MESTRADO PROFISSIONAL EM CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DA UNIVAS, minha orientadora. Que como seu sobrenome foi um Anjo durante o caminho. Acreditou em minhas capacidades, compreendeu minhas dificuldades e me acompanhou em todos os momentos com dedicação e competência. Tenho muito a agradecer não só pela orientação e pela paciência nas correções, mas porque me ensinou o valor da persistência, disciplina e responsabilidade indispensáveis para a construção do meu projeto de vida.

À **PROFESSORA DOUTORA DIBA MARIA SEBBA TOSTA DE SOUZA**, PROFESSORA DO MESTRADO PROFISSIONAL EM CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DA UNIVAS pela disponibilidade e ajuda na coorientação deste trabalho.

Ao **PROFESSOR DOUTOR TAYLOR BRANDÃO SCHNAIDER** e **PROFESSORA DOUTORA DANIELA FRANCESCATO VEIGA**, COORDENADOR E COORDENADORA ADJUNTA DO MESTRADO PROFISSIONAL EM CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DA UNIVAS, pelo exemplo de amor a pesquisa.

Aos **PROFESSORES DOUTORES DO MESTRADO PROFISSIONAL EM CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DA UNIVAS** que contribuíram em minha formação pessoal e crescimento profissional.

Ao **PROFESSOR DOUTOR MARCOS MESQUITA FILHO**, PROFESSOR DO MESTRADO EM BIOÉTICA DA UNIVAS e **PROFESSORA DOUTORA YARA JULIANO** PROFESSORA DE BIOESTATÍSTICA DO MESTRADO PROFISSIONAL EM CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DA UNIVAS pelos valiosos ensinamentos prestados em Estatística.

Aos **PROFESSORES DOUTORES GERALDO MAGELA SALOMÉ, JOSÉ DIAS DA SILVA NETO** e **MANOEL ARAÚJO TEIXEIRA** DO MESTRADO PROFISSIONAL EM CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DA UNIVAS que contribuíram com sugestões e correções na Comissão Avaliadora do Exame de Qualificação.

À Família UNIVAS VIRTUAL: **PROFESSOR DOUTOR LUIZ ROBERTO MARTINS ROCHA** DIRETOR DE EDUCAÇÃO À DISTÂNCIA E ASSUNTOS ACADÊMICOS, **PROFESSOR MESTRE CLEBERSON DISESSA** PROFESSOR MEDIADOR E FORMADOR DA UNIVAS VIRTUAL, **PROFESSORA MESTRE JULIANA CHIARINI BALBINO FERNANDES** COORDENADORA DO ENSINO À

DISTANCIA DA UNIVAS VIRTUAL e colegas tutores pela acolhida, amizade e por todos os ensinamentos durante o período de Tutoria.

Ao **TÉCNICO DO LABORATÓRIO DE BOTÂNICA DA UNIVAS, JOSÉ DONIZETE DOS REIS** que foi o responsável pela extração do óleo e plantio das mudas.

À **FARMACÊUTICA, RACHEL ANDARE** que realizou a parceria com a UNIVAS e gentilmente cedeu as instalações e materiais para a manipulação da pomada.

Ao **BIÓLOGO, WAGNER JOSÉ DOS SANTOS** que me ensinou a executar o Programa *ImageJ*.

A todas as pessoas que com boa vontade participaram como voluntárias na pesquisa.

Aos queridos colegas de curso pelo companheirismo durante a caminhada.

Aos amigos Carol Brasil, João, Maiume e Wandré pelo carinho e apoio em todos os momentos.

À Sra. Nádia Maria dos Santos Pádua, Secretária Municipal de Saúde de Borda da Mata, MG, que muito me incentivou e ajudou concedendo a retirada de horas extras e férias para aplicação da pesquisa e confecção do trabalho.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente na realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

“Os sonhos são como uma bússola indicando os caminhos que seguiremos e as metas que queremos alcançar. São eles que nos impulsionam, nos fortalecem e nos permitem crescer.”

(Augusto Cury)

RESUMO

Contexto: O óleo de *Melaleuca* possui grandes propriedades medicinais. **Objetivo:** Desenvolver um produto a base de *Melaleuca sp.* e avaliar sua ação anti-histamínica. Comparar o efeito anti-histamínico e o efeito protetor do óleo e da pomada de *Melaleuca sp.*. Avaliar a intensidade do prurido nos pontos de sensibilização. **Método:** Realizada pesquisa em Pouso Alegre, MG, UNIVAS. Período de junho a setembro de 2016. Oitenta voluntários, faixa etária entre 21 e 60 anos, ambos os sexos e não apresentavam contraindicações ao Teste *Prick*. O antebraço esquerdo foi sensibilizado em quatro pontos. A: controle (+) histamina, B: controle (-) óleo de *Melaleuca sp.* C: histamina e após 2 minutos, secagem e aplicação do óleo de *Melaleuca sp.* D: óleo de *Melaleuca sp.* e após 2 minutos a aplicação de histamina. O antebraço direito foi sensibilizado em quatro pontos. A: controle (+) histamina; B: controle (-) pomada de *Melaleuca sp.* C: histamina e após 2 minutos, secagem e aplicação da pomada de *Melaleuca sp.* D: pomada de *Melaleuca sp.* e após 2 minutos, secagem e aplicação de histamina. Leitura realizada após 15 minutos. Áreas obtidas digitalizadas e analisadas pelo Programa *ImageJ*. O prurido foi avaliado através da Escala Análoga Visual. **Resultados:** Houve diferença significante nos antebraços esquerdo e direito entre os pontos A: controle (+) e C: efeito do óleo pós-picada (p: 0,000) e efeito pós-picada da pomada: (p: 0,003) respectivamente. **Conclusão:** O óleo de *Melaleuca sp.* 100% e a pomada de *Melaleuca sp.* 50% apresentaram ação anti-histamínica e não influenciaram na intensidade do prurido. Não houve efeito protetor do óleo e da pomada de *Melaleuca sp.*

Palavras-chave: Antagonistas dos receptores histamínicos. Fitoterapia. *Melaleuca*. Mordeduras e picadas.

ABSTRACT

Context: *The Melaleuca oil possesses great medicinal properties. Objective:* To develop a product based on *Melaleuca sp* and then evaluate its antihistaminic action. Also, the study is going to compare the antihistaminic and the protective effect of *Melaleuca sp*'s oil and ointment. Later, the intensity of the pruritus in sensible points is going to be evaluated.

Method: A research was done in Pouso Alegre, MG, at UNIVAS, in the period between June and September of 2016. 80 volunteers between 21 and 60 years old, from both genders, and who did not show any counter-indications to the Prick Test have participated in the research. The left forearm was sensitized in four points. A: control (+) histamine, B: control (-) *Melaleuca sp*. Oil. C: histamine and after two 2 minutes, drying and application of the *Melaleuca sp*. Oil. D: *Melaleuca sp*. Oil and after two minutes, application of histamine. The right forearm was sensitized in four points. A: control (+) histamine; B: control (-) *Melaleuca sp*. ointment. C: histamine and after two minutes, drying and application of the *Melaleuca sp*. ointment. D: *Melaleuca sp*. ointment and after two minutes, drying and application of histamine. The reading was done after 15 minutes. The digitalized areas obtained were analyzed by the software ImageJ. The pruritus was evaluated through the Analogous Visual Scale. **Results:** It has been detected a significant difference on the left and right forearms between the points A: control (+) and C: post-sting oil effect ($p: 0.000$) and post-bite ointment effect: ($p: 0.003$), respectively. **Conclusion:** The *Melaleuca sp*. oil 100% and the *Melaleuca sp* ointment 50% presented an antihistaminic effect and did not influence on the intensity of the pruritus. It was not detected a protective effect in both the oil and the ointment made from the *Melaleuca sp*.

Keywords: Antagonist of histaminic receptors. Phytotherapy. *Melaleuca*. Bites and stings.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%	Por cento- uma parte em cem partes
%A	Porcentagem da área normalizada a qual indica a distribuição relativa dos compostos na amostra
(-)	Negativo
(+)	Positivo
<	Menor
>	Maior
°C	Grau Celsius
AMDIS	<i>Automated Mass Spectral Deconvolution Mass & Identification</i>
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CAAE	Certificado de Apresentação para Apreciação Ética
CDD	Classificação Decimal de Dewey
cm	Centímetros
cm ²	Centímetro quadrado
CRF/MG	Conselho Regional de Farmácia de Minas Gerais
f.	Número de folhas
g	Gramas
HDC	Histidina descarboxilase
H1, H2	Receptores de Histamina
IgE	Imunoglobulina E
kg	Quilograma
mg	Miligrama
MG	Minas Gerais
mL	Mililitros
mm ²	Milímetros quadrados
n	Nº de elementos da amostra
p	Probabilidade de Significância
q.s.p.	Quantidade suficiente para
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
sp.	Abreviatura científica para espécie
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
tR	Tempo de retenção do composto na coluna em minutos
TTO	<i>Tea tree oil – Óleo da Árvore do Chá</i>
UNIVAS	Universidade do Vale do Sapucaí

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Comparação do efeito entre os pontos de aplicação antebraço esquerdo (Óleo de *Melaleuca sp.*) e antebraço direito (Pomada de *Melaleuca sp.*)..... 17
- Figura 2** – Comparação do grau de prurido entre os pontos de aplicação antebraço esquerdo (Óleo de *Melaleuca sp.*) e antebraço direito (Pomada de *Melaleuca sp.*)..... 19

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Descrição dos componentes da pomada de <i>Melaleuca sp.</i>	12
Tabela 2 - Faixa etária da população estudada	16
Tabela 3 - Áreas das pápulas em cm ² formadas nos pontos de aplicação	17
Tabela 4 - Média, Desvio Padrão e Valor de p dos pontos de aplicação em relação a intensidade de prurido	18
Tabela 5 - Analitos identificados no óleo de <i>Melaleuca sp.</i>	28

SUMÁRIO

1 CONTEXTO	1
1.1 Fitoterapia.....	1
1.2 Melaleuca	2
1.2.1 Usos medicinais e farmacologia.....	3
1.2.2 Precauções e reações adversas	3
1.3 Reações alérgicas	4
1.4 Reações a picadas de insetos	5
1.5 Urticária papular	6
1.5.1 Histologia/Fisiopatologia	6
1.5.2 Manifestações Clínicas.....	7
1.5.3 Diagnóstico	8
1.5.4 Tratamento	8
2 OBJETIVOS	10
2.1 Objetivo geral	10
2.2 Objetivos específicos	10
3 MÉTODOS	11
3.1 Tipo de estudo	11
3.2 Local de estudo	11
3.3 Amostra	11
3.4 Óleo de <i>Melaleuca sp.</i>	11
3.5 Pomada de <i>Melaleuca sp.</i>	12
3.5.1 Técnica de preparo.....	13
3.6 Procedimentos para coleta de dados	13
3.7 Aspectos éticos	15
3.8 Análise dos dados	15
4 RESULTADOS/PRODUTO	16
4.1 Caracterização da amostra	16
4.2 Comparação da aplicação e efeito do óleo e pomada de <i>Melaleuca sp.</i>	16
4.3 Mensuração do grau de prurido	18
5 APLICABILIDADE	20
6 CONCLUSÃO	23

7 IMPACTO SOCIAL	24
8 REFERÊNCIAS	25
ANEXOS	28
ANEXO A – Cromatografia gasosa do óleo de <i>Melaleuca sp.</i>	28
ANEXO B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	29
ANEXO C – Escala Análoga Visual para mensuração do grau de prurido	31
ANEXO D - Parecer Consubstanciado do CEP	33

1 CONTEXTO

1.1 Fitoterapia

Fitoterapia é a área de estudo que avalia a ação medicamentosa de princípios ativos provenientes de plantas, utilizadas no tratamento e prevenção de doenças. *Phyton*, em grego, quer dizer planta e *therapeia* vem do verbo *therapeuo*, que significa tratar, cuidar. Segundo a Portaria 971, de 03/05/2006, do Ministério da Saúde, a Fitoterapia é uma terapêutica caracterizada pelo uso de plantas medicinais em suas diferentes formas farmacêuticas, sem a utilização de substâncias ativas isoladas, ainda que de origem vegetal (PANIZZA, 2016).

Fitoterápico, de acordo com a Legislação Sanitária Brasileira, é produto obtido de matéria-prima ativa vegetal, com finalidade profilática, curativa ou paliativa, incluindo medicamento fitoterápico e produto tradicional fitoterápico, podendo ser simples, quando o ativo é proveniente de uma única espécie vegetal medicinal, ou composto, quando o ativo é proveniente de mais de uma espécie vegetal (Resolução nº 93 da ANVISA, de 12 de julho de 2016 - Altera a RDC nº 26, de 13 de maio de 2014) (PANIZZA, 2016).

Em países como o Brasil, esses aspectos revestem-se de singular importância por vários motivos. Um deles é a riqueza da flora, com mais de 100.000 espécies, onde apenas 8% das espécies vegetais foram estudadas em busca de compostos bioativos. O outro é que grande parcela da população não têm acesso a medicamentos, pelo fato de o Brasil ser extremamente dependente de importações de matérias-primas farmacêuticas. O Brasil importa aproximadamente 90% do que consome deste tipo de matéria-prima (PANIZZA, 2016).

A pesquisa e o desenvolvimento de fitoterápicos por todo o mundo têm por finalidade atender às necessidades das empresas na busca de inovações levando em conta: produtos modernos, renovação pela necessidade de lançamentos, desenvolvimentos que atendam os requisitos legais (controle de qualidade, segurança e eficácia) e aperfeiçoamento de produtos já existentes. O estudo de campo e os dados dos laboratórios permitem desenvolver terapias alternativas com bases científicas e etnofarmacológicas, validando o conhecimento popular relacionado a sistemas tradicionais da Medicina (PANIZZA, 2016).

1.2 Melaleuca

O gênero *Melaleuca* é pertencente à família *Myrtaceae* (OLIVEIRA *et al.*, 2011).

Geralmente apresenta folhas simples, coriáceas, agudas-lanceoladas e, algumas vezes, em formato de foice, 1 - 2,5 cm comprimento, com glândulas de óleo (MONTEIRO *et al.*, 2013). Este gênero é formado por diversas espécies destacando-se a *Melaleuca alternifolia* (VIEIRA *et al.*, 2004). É conhecida como “árvore de chá” *Tea tree* (OLIVEIRA *et al.*, 2011). As árvores podem atingir sete metros de altura, tem casca fina e folhas longas e pontiagudas que, quando partidas, emitem um aroma forte. Podem ser cortadas após 15 meses de cultivo e recortadas a cada ano, pois o crescimento é rápido (SIMÕES *et al.* 2002).

Nativa da Austrália e Ilhas do Oceano Índico. Florescendo principalmente em áreas de pântano, próximas de rios (OLIVEIRA *et al.*, 2011).

M. alternifolia pertence ao grupo de espécies de *M. linariifolia* Sm. (que abrange também *M. dissitiflora* F. Muell.; *M. linophylla* F. Muell.; *M. trichostachya* Lindl.), de ampla distribuição e ocorrência em vários climas. Os quimiotipos do terpinenol-4 ocorrem em espécies do grupo. Espécie cultivada no Brasil (MONTEIRO *et al.*, 2013).

O óleo da árvore é incolor ou de cor amarelo pálido e tem um odor picante terra (FAHLBUSCH *et al.*, 2003).

O óleo essencial de *Melaleuca* é obtido por destilação por arraste a vapor ou hidrodestilação das folhas, onde se tem os seguintes constituintes químicos: terpenos (cinenol, e cimeno): terpineol (terpinenol-4), sesquiterpenos e cineol onde estão relacionados com sua atividade antimicrobiana. O terpinenol-4 é o principal responsável por suas propriedades medicinais, principalmente antifúngicas e antibacterianas (GARCIA *et al.*, 2009).

Quimicamente os terpenos podem ser divididos em dois grandes grupos: os derivados terpênicos (mentol e citrionelol) e os derivados do fenilpropano (anetol e eugenol). As principais características farmacológicas dos terpenos estão relacionadas ao emprego como antissépticos, anti-inflamatórios e antipiréticos (LIMA JR, *et al.*, 2005).

O Comitê Australiano de Padronização estabeleceu que o óleo deva conter quantidades de cineol abaixo de 15% e de terpinenol-4 acima de 30% para que tenha eficácia mínima como antisséptico (SIMÕES *et al.*, 2002). Estudos sobre o teor, a composição química e atividade antimicrobiana do óleo essencial de *M. alternifolia* cultivada no Brasil, indicam que os óleos possuem as mesmas características qualitativas e quantitativas do óleo australiano (SILVA, 2001).

No sul de Minas Gerais, em Pouso Alegre é cultivada a *Melaleuca sp.* A exsicata foi depositada no Herbário do Laboratório de Botânica da Universidade do Vale do Sapucaí

(UNIVAS). O óleo foi extraído e analisado por Cromatografia gasosa (FALCI, 2015) (ANEXO A).

1.2.1 Usos medicinais e farmacologia

O principal produto da planta *Melaleuca* é o óleo essencial (TTO- *tea tree oil*), de grande importância medicinal por possuir comprovada ação bactericida e antifúngica contra diversos patógenos humanos, sendo utilizado em formulações tópicas (OLIVEIRA *et al.*, 2011).

Dentre as suas grandes propriedades, destacam seu poder bactericida, cicatrizante, expectorante, fungicida, anti-infeccioso, balsâmico, anti-inflamatório, antisséptico, antiviral, febrífugo, inseticida, imunoestimulante, diaforético, parasiticida e vulnerário (MALUF, 2009). No entanto, este óleo tem características terapêuticas interessantes contra determinadas patologias, como ação antiacne, onicomicoses, dermatite, eczema, dor de dente, mau hálito, dentre outros (GARCIA *et al.*, 2009).

Também pode ser incorporado em formulações como os sabonetes líquidos íntimos, onde busca a prevenção de doenças do trato genito-urinário feminino, como contra candidíase (GARCIA *et al.*, 2009). O óleo de *Melaleuca* tem ampla aplicabilidade nos produtos como desinfetantes, produtos capilares, higiene oral e pessoal, desodorantes, queimaduras, picadas de inseto, pós-sol, produtos veterinários, aromaterapia e flavorizantes (SOUZA e ANTUNES, 2009).

O uso tópico do óleo de *Melaleuca* é considerado seguro para a maioria dos adultos. É comumente indicado para infecções da pele, cortes e abrasões, furúnculos, herpes labial recorrente, infecções da boca e do nariz, dor de garganta e para infecções de ouvido como otite média e otite externa, aditivo para tratar a tosse, a congestão brônquica e a inflamação pulmonar (OLIVEIRA *et al.*, 2011).

1.2.2 Precauções e reações adversas

Não há relatos de perigos à saúde se administrado de forma terapêutica apropriada. No entanto, a dermatite de contato pode ocorrer. No uso pediátrico, o óleo não pode ser aplicado ao redor do nariz de bebês e crianças, pelo risco da ocorrência de edema de glote (MONTEIRO *et al.*, 2013).

1.3 Reações alérgicas

Reações alérgicas ou de hipersensibilidade apresentam antígenos que as causam, os quais normalmente são chamados de alérgenos. Vale lembrar que as reações de hipersensibilidade diferem das reações de imunidade protetora somente pelo fato de serem exageradas ou inapropriadas, e que causam danos ao hospedeiro (MENDONÇA *et al.*, 2014).

No início da década de 1960 as reações de hipersensibilidade foram divididas em quatro tipos (MENDONÇA *et al.*, 2014):

- Tipo I: Reações mediadas por IgE. Quando esses anticorpos IgE sofrem ligação cruzada por antígeno, os mastócitos e basófilos são induzidos a liberarem substâncias farmacologicamente ativas que levam a manifestações clínicas. Essas reações são rápidas e ocorrem dentro de minutos após o desafio, ou seja, a reexposição ao antígeno. Por isso a hipersensibilidade do tipo 1 também é chamada de hipersensibilidade imediata. Durante os últimos anos, o termo alergia também se tornou sinônimo para a hipersensibilidade do tipo 1.

- Tipo II: Reações citolíticas ou citotóxicas.

- Tipo III: Reações de complexos imunes.

- Tipo IV: Reações mediadas pela imunidade celular.

Por se tratar do tipo de hipersensibilidade ocorrida nas reações alérgicas tratadas no presente estudo, a hipersensibilidade do tipo 1 será abordada com maiores detalhes.

A sequência de eventos que participam do desenvolvimento da hipersensibilidade do tipo 1 pode ser dividida em várias fases: Fase da sensibilização (1), durante a qual a IgE é produzida em resposta ao antígeno e se liga a receptores específicos presentes em mastócitos e basófilos. Fase de ativação (2), em que a reexposição ao antígeno induz os mastócitos e basófilos a responderem através da liberação do conteúdo de seus grânulos e Fase efetora (3), em que ocorre uma resposta complexa, resultante dos efeitos das muitas substâncias farmacologicamente ativas liberadas pelos mastócitos e basófilos (MENDONÇA *et al.*, 2014).

A resposta ao desafio intradérmico é caracterizada pelo eritema e edema. Essa reação é a mais veloz de todas as reações de hipersensibilidade e chega ao auge dentro de 10 a 15 minutos; depois ela desaparece sem provocar danos (MENDONÇA *et al.*, 2014).

A histamina é sintetizada e liberada por diferentes células humanas, especialmente basófilos, mastócitos, plaquetas, neurônios histaminérgicos, linfócitos e células enterocromafínicas, sendo estocada em vesículas ou grânulos liberados sob estimulação. Pertence à classe das aminas biogênicas e é sintetizada a partir do aminoácido histidina, sob ação L-histidina descarboxilase (HDC). É um potente mediador de numerosas reações fisiológicas. Após a liberação, se liga rapidamente a várias células utilizando dois receptores,

H1 e H2. Anti-histamínicos bloqueiam os receptores do tipo H1. Receptores do tipo H2 necessitam de outras drogas (MENDONÇA *et al.*, 2014).

A inflamação induzida pela histamina na pele se manifesta por vermelhidão inicial, extravasamento plasmático, desenvolvimento de um vergão (edema de tecido) e um queimador (eritema com ampla disseminação). Esta reação é frequentemente acompanhada por prurido. Liberação local de substâncias vasoativas de nervos sensoriais, endotélio vascular e infiltração de células do sangue mediando essas mudanças na perfusão microvascular e permeabilidade. TTO pode afetar qualquer um destes mecanismos de formação de edema. A inflamação induzida pela histamina é frequentemente associada com reações de hipersensibilidade imediata, com a histamina liberada a partir de grânulos dos mastócitos (KOH *et al.*, 2002).

Alguns estudos *in vitro* e clínicos relataram respostas anti-inflamatórias indiretas com TTO tópico. Estas respostas anti-inflamatórias podem refletir o controle dos efeitos prejudiciais dos tecidos a uma forte resposta imune induzida por um organismo invasor. A resposta de hipersensibilidade imediata a alérgenos ou componentes de uma picada de inseto é uma condição que também é tratada com TTO (KOH *et al.*, 2002). Este estudo mostra que TTO não diluído aplicado à inflamação induzida por histamina pode reduzir o volume de vergão significativo. Este é o primeiro estudo que mostra TTO pode reduzir a inflamação induzida experimentalmente na pele humana e as respostas de hipersensibilidade a alérgenos de insetos. O mecanismo pelo qual os componentes ativos de TTO regulam a reabsorção de fluido é ainda desconhecido (KOH *et al.*, 2002).

1.4 Reações a picadas de insetos

Os insetos (*insectum* latim, que significa "cortar em seções") podem ser considerados como "cortado em" três seções, cabeça, tórax e abdômen. Mordida é uma ferida produzida pelas partes da boca de um animal. Alguns animais tem uma estrutura especial chamada picada através do qual eles infligem feridas e injetam veneno. Todos os insetos não mordem. Alguns insetos não-cortantes são besouros, gafanhotos, mariposas e borboletas, embora estes possam produzir reações cutâneas por outros meios, tais como reações alérgicas a suas partes do corpo, fezes, fluidos. Abelhas, vespas e formigas também não mordem, mas podem produzir reações dermatológicas por suas picadas (SINGH e MANN, 2013).

Reações devido a insetos da ordem *Diptera* são devidas a alérgenos na saliva do inseto e não devido a toxina. A saliva contém compostos ativos que inibem as respostas

imunes do corpo fazendo com que a coagulação, a formação de plaquetas, vasodilatação e atividades anti-inflamatórias sejam prejudicadas (SINGH e MANN, 2013).

Ocorrendo geralmente em crianças de 2 a 10 anos de idade, a urticária papular ocasionalmente acomete adolescentes e adultos. A sensibilização leva tempo, por isso, não é vista em recém-nascidos. A maior prevalência em crianças pode resultar de mecanismos imunes e / ou comportamentos que as predispõem ao contato com insetos. A maioria das crianças superam a doença provavelmente devido a dessensibilização por exposições repetidas. Não há predileções raciais ou de gênero (SINGH e MANN, 2013).

As reações a picada de inseto são comuns, mas as informações sobre a sua prevalência é limitada. Crianças menores de 14 anos no Ambulatório de Dermatologia em Pondicherry tinham prevalência de urticária papular de 5,3%. As crianças menores de 5 anos freqüentando Ambulatório em Calcutá tinham prevalência de urticária papular de 10,6%, com variação sazonal (estação chuvosa 16,7%, verão 6,7%, inverno 5,8%) (SINGH e MANN, 2013).

1.5 Urticária papular

Urticária papular corresponde a um termo utilizado há mais de 100 anos para descrever lesões cutâneas que se suspeitavam estar relacionadas com picadas de insetos. Outros termos podem ser utilizados para descrever a mesma entidade, incluindo prurigo estrófulo, *lichen urticária* e prurigo *simplex*, pretendendo o último traduzir a relativa benignidade desta afecção cutânea. Mais recentemente, foi sugerido que se utilizasse a terminologia hipersensibilidade induzida por picadas de inseto como o termo mais correto para designar esta patologia (MOREIRA *et al.*, 2014).

A urticária papular define-se como uma dermatose crônica e recidivante, caracterizada pela presença de lesões papulares e vesículas muito pruriginosas, resultantes de uma reação de hipersensibilidade a picadas de insetos. Geralmente, as lesões evoluem sem complicações para a cura em cerca de uma semana, mas ocasionalmente impetiginizam (MOREIRA *et al.*, 2014).

1.5.1 Histologia/Fisiopatologia

Os estádios imunológicos de resposta cutânea à picada de insetos dividem-se em cinco graus. Quando um indivíduo é picado por um inseto, sem exposição prévia, não desenvolve reação (Grau I). Algumas semanas após a exposição inicial, ao acontecerem novas picadas, verifica-se a ocorrência de reações cutâneas retardadas (Grau II), com aparecimento

de lesões cutâneas papulares e/ou vesiculares entre 18 a 24 horas após a picada e que persistem durante 10 a 14 dias. Se a exposição se mantiver, surgirão tanto reações imediatas como retardadas (Grau III). Cerca de 15 a 30 minutos após a picada verifica-se o aparecimento de lesões maculares que tendem a desaparecer até 4-5 horas (resposta imediata), sendo seguidas por pápulas no local de picada (resposta tardia). Com a exposição repetida aos insetos, a resposta retardada tende a diminuir, mantendo-se apenas uma reação imediata (Grau IV) que também acaba por desaparecer, quando se adquire tolerância e novamente não há reação significativa após picada do inseto (Grau V) (MOREIRA *et al.*, 2014).

Este modelo de sensibilização e posterior dessensibilização, com evolução por estádios, foi reproduzido prospectivamente por Peng and Simons ao estudarem um indivíduo saudável que foi sujeito a 100 picadas de insetos em cada duas semanas, durante um período de 10 meses. Nos casos de exposição natural às picadas de insetos, o estágio de tolerância (Grau V) pode demorar entre 2 a 20 anos até ser alcançado, dado que os doentes limitam a sua exposição às picadas, por receio dos efeitos indesejados das mesmas (MOREIRA *et al.*, 2014).

Todavia, atualmente a patogênese e os mecanismos imunológicos exatos relacionados com a urticária papular permanecem incertos. A evidência existente indica que as manifestações clínicas envolvem uma resposta imunológica complexa, sendo mediada por mais do que um mecanismo imunológico, envolvendo tanto reações de hipersensibilidade do tipo I, com formação de anticorpos IgE contra antígenos constituintes da saliva dos insetos, bem como reações de hipersensibilidade do tipo IV (MOREIRA *et al.*, 2014).

1.5.2 Manifestações Clínicas

As manifestações cutâneas da urticária papular incluem, numa fase inicial, a formação de pápulas eritematosas, algumas dolorosas, por vezes agrupadas com mais frequência nas regiões de pele expostas, particularmente nas superfícies extensoras dos membros e regiões de constrição pela roupa. As lesões cutâneas podem ter início em poucos minutos ou horas após a picada e apresentam uma evolução variável, com duração habitual de dias, mas algumas, particularmente as escoriadas ou as de aparecimento mais tardio, podem persistir semanas ou até meses, se não tratadas (MOREIRA *et al.*, 2014).

O prurido é um sintoma que frequentemente acompanha as lesões, podendo resultar (devido ao ato de coçar) em escoriações, infecção secundária e lesões residuais acrômicas ou hiperpigmentadas, particularmente em doentes de raça negra (MOREIRA *et al.*, 2014).

Tipicamente a distribuição das lesões é simétrica e em certos casos podem evoluir para a formação de vesículas ou bolhas (estrófulo bolhoso), por vezes com conteúdo hemorrágico e necrose em casos raros. A gravidade das manifestações parece relacionar-se com o tipo de inseto envolvido, sendo as lesões causadas por insetos em meio selvagem mais extensas e graves relativamente às causadas por insetos domésticos (MOREIRA *et al.*, 2014).

Observa-se em um mesmo doente a presença de um elevado número de lesões, principalmente nos membros e tronco/abdômen, que não é de todo provável que correspondam a igual número de picadas, pelo que, nestes casos, várias destas lesões constituem atingimento à distância do local da picada, ou seja, reações alérgicas sistêmicas, embora ligeiras (MOREIRA *et al.*, 2014).

Exacerbações da sintomatologia são frequentes, tendo sido especulado que estas poderão ocorrer de forma sazonal, sendo mais comuns na Primavera e Verão quando se atinge o pico da população de insetos e conseqüentemente há reexposição as suas picadas. Em vários casos tem-se verificado exacerbações perianuais e em determinados estudos foi até observada uma maior incidência de urticária popular nos meses de Outono e Inverno (MOREIRA *et al.*, 2014).

1.5.3 Diagnóstico

A história clínica e as características das lesões cutâneas são suficientes para o diagnóstico da urticária popular, sendo possível, em alguns casos, a identificação do inseto causal (MOREIRA *et al.*, 2014).

Podem também ser realizados exames complementares de diagnóstico para documentar a hipersensibilidade aos mosquitos; contudo, todos os exames que se encontram atualmente disponíveis apresentam limitada sensibilidade e especificidade (MOREIRA *et al.*, 2014).

1.5.4 Tratamento

O tratamento da urticária popular é dirigido aos seguintes aspectos: alívio sintomático, controle da reação de hipersensibilidade e erradicação/profilaxia da picada pelos agentes causais (MOREIRA *et al.*, 2014).

A base da terapêutica é diminuir a inflamação causada pela reação à saliva do inseto. Este objetivo consegue-se, logo após a picada, pela aplicação local de gelo e, nas fases seguintes, com a aplicação de corticosteroides tópicos cutâneos. A corticoterapia tópica de potência intermediária pode ser útil em lesões ligeiras de urticária popular, mas nas lesões

crônicas, especialmente em adultos, pode ser necessário o uso de um corticoide de elevada potência. Nas situações com maior gravidade com vesículas bolhosas pode ser necessário um período curto de 3-5 dias de corticoide oral 1mg/kg/dia (MOREIRA *et al.*, 2014).

É de referir que a terapêutica com anti-histamínicos orais não sedativos e com corticoides tópicos deva ser iniciada o mais precocemente possível (e mantida durante 3 a 5 dias), pois assim se poderá prevenir a evolução (MOREIRA *et al.*, 2014).

O uso de antibióticos apenas é necessário quando há infecção secundária, a qual pode ser tratada com antibióticos tópicos ou, em caso de infecções extensas, com recurso da antibioterapia sistêmica (MOREIRA *et al.*, 2014).

Vários estudos têm demonstrado benefício da imunoterapia específica com extratos de corpo total do mosquito em doentes com hipersensibilidade demonstrada. Contudo, a maioria destes estudos não são randomizados nem apresentam grupo controle, pelo que atualmente não é uma terapêutica recomendada (MOREIRA *et al.*, 2014).

Existem várias medidas profiláticas que podem ainda ser úteis, principalmente quando o agente causal é identificado (MOREIRA *et al.*, 2014).

Diante da necessidade de novos estudos e pesquisas sobre a importância medicinal e a aplicabilidade do óleo de *Melaleuca sp.* ainda pouco estudado, levando em consideração a fácil obtenção e pequeno custo, sugere-se avaliação da efetividade anti-histamínica deste óleo com vistas a oferecer um tratamento adequado à reações alérgicas e posterior desenvolvimento de uma nova formulação farmacêutica.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Desenvolver um produto a base de *Melaleuca sp.* e avaliar sua ação anti-histamínica.

2.2 Objetivos específicos

Comparar o efeito anti-histamínico e o efeito protetor do óleo de *Melaleuca sp.* a 100% e da pomada de *Melaleuca sp.* a 50%.

Avaliar a intensidade do prurido nos pontos de sensibilização nos antebraços dos participantes.

3 MÉTODOS

3.1 Tipo de estudo

Estudo clínico, analítico, observacional, transversal e controlado.

3.2 Local de estudo

A pesquisa foi realizada na cidade de Pouso Alegre, MG, na Universidade do Vale do Sapucaí, Unidade Fátima, no período de junho a setembro de 2016.

3.3 Amostra

A população do estudo foi composta por oitenta voluntários (alunos e funcionários) com faixa etária entre 18 e 60 anos, de ambos os sexos e que concordaram em participar da pesquisa e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE (ANEXO B).

Critérios de inclusão: indivíduos que assinaram o TCLE, com idade entre 18 e 60 anos e que não apresentaram contra-indicações ao Teste *Prick* (história de anafilaxia anterior, dermatite extensa, em uso de anti-histamínico) (MENDONÇA, *et al.*, 2014).

Critérios de não inclusão: Indivíduos que não assinaram o TCLE, menores de 18 anos e maiores de 60 anos que apresentaram contra-indicações ao Teste *Prick* (história de anafilaxia anterior, dermatite extensa, em uso de anti-histamínico).

Critérios de exclusão: indivíduos que tiveram reação negativa à histamina (6 voluntários). Ou que retirassem seu consentimento em qualquer fase do estudo.

3.4 Óleo de *Melaleuca sp.*

O óleo de *Melaleuca* foi obtido a partir de folhas retiradas de árvores de *Melaleuca sp.* da Universidade do Vale do Sapucaí – UNIVAS, Unidade Fátima, Pouso Alegre, MG e extraído através de hidrodestilação no Laboratório de Botânica da UNIVAS.

As folhas secaram à temperatura ambiente, em secador solar rústico, com cobertura de plástico transparente, durante seis dias. Das folhas secas, previamente preparadas através da retirada dos galhos e eliminação de resíduos foram utilizadas 150 g e inseridas em um balão volumétrico com 400 mL de água destilada. Em seguida, o balão foi adaptado ao

condensador e conectado ao sistema de refrigeração (água corrente à temperatura ambiente). A manta aquecedora foi ligada e regulada à temperatura de ebulição da água a 100°C até atingir a fervura, reduzindo-se posteriormente para 75°C, em mistura com a biomassa, dando início ao processo de extração por um período de 50 minutos.

Quando a mistura de água e folhas (biomassa) entrou em ebulição, os vapores de água e os voláteis foram conduzidos em direção ao condensador, onde foi realizada a troca de calor, condensando os vapores com a água de refrigeração. Nesta etapa, esta mistura de óleo e hidrolato (subproduto) foi resfriada e voltou para a fase líquida. A mistura atingiu o último estágio do processo, separando o óleo do hidrolato por meio das diferenças de polaridade e densidade destas substâncias através do funil de separação.

Para a determinação do rendimento do óleo essencial pesou-se o balão de 1000 mL (320 g) vazio em balança analítica e posteriormente o balão com as folhas (470 g). A cada extração de 150 g de folhas de *Melaleuca sp.* foram extraídos 6,5 mL de óleo.

Em seguida, o óleo foi transferido para um frasco de vidro âmbar e armazenado em local fresco sem a incidência direta da luz.

3.5 Pomada de *Melaleuca sp.*

A forma farmacêutica pomada consiste em forma farmacêutica semissólida, para aplicação na pele, que advém da solução ou dispersão de um ou mais princípios ativos em baixas proporções em uma base adequada usualmente não aquosa (ANVISA, 2011).

Foi realizada uma parceria com a Farmácia de Manipulação Biofarma de Pouso Alegre, MG que disponibilizou o espaço físico, instalações, equipamentos e materiais necessários para a manipulação da formulação.

A pomada à base de *Melaleuca sp.* foi manipulada pela Pesquisadora/Farmacêutica: Kassandra E. Pauliello CRF/MG: 22714. A formulação encontra-se detalhada na Tabela 1.

Tabela 1 - Descrição dos componentes da pomada de *Melaleuca sp.*

Componentes	Concentração
Óleo de <i>Melaleuca sp.</i>	50%
Vaselina	q.s.p. 100g

A vaselina é uma mistura purificada de hidrocarbonetos semissólidos, obtidos a partir de petróleo e totalmente ou quase totalmente descolorada. Tem propriedade emoliente,

suaviza e lubrifica a pele, exercendo assim ação protetora. É usada como veículo para inúmeros princípios ativos e como componentes de pomadas (BATISTUZZO, 2002).

3.5.1 Técnica de preparo

1. Cálculo dos componentes da formulação;
2. Pesagem dos componentes em balança analítica;
3. Transferência da vaselina para um gral e incorporação do óleo aos poucos até homogeneização dos componentes com o pistilo;
4. Espatulação até obtenção da viscosidade uniforme de pomada.

Constituindo em forma farmacêutica semissólida, para aplicação na pele onde o óleo de *Melaleuca sp.* na concentração de 50% foi incorporado em vaselina.

3.6 Procedimentos para coleta de dados

O Teste de Puntura (*Prick - Test*) é o mais seguro e de fácil execução, tem boa reprodutibilidade e é considerado o melhor para uso na prática clínica de alergia (MOTTA *et al.*, 2005). O teste cutâneo é muito importante para verificação de reações de hipersensibilidade mediadas por IgE, as quais são atribuídas a mediadores, dentre eles, a histamina. Por esse motivo, o método escolhido, se baseou neste teste, utilizado em humanos para comparar o efeito anti-histamínico do óleo de *Melaleuca sp.* e do óleo de *Melaleuca sp.* incorporado em pomada.

Cada indivíduo foi seu próprio controle (amostra pareada). E o local para o teste utilizado a face média ventral (volar) dos antebraços dos participantes. Inicialmente foi explicado todo o procedimento e os objetivos de sua realização. Os participantes concordaram em participar do estudo e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO B). Procedeu-se a antissepsia da pele com algodão embebido em álcool 70%. A região a ser aplicado o teste não poderia apresentar nenhum tipo de lesão tecidual. Após a limpeza, foi realizada a marcação dos pontos (A, B, C e D) com caneta hidrográfica nos antebraços esquerdo e direito. Cada ponto teve a distância de aproximadamente 2 cm em sequência pré-determinada.

Ponto A (controle positivo) aplicação de histamina na concentração de 10 mg/mL adquirida do Laboratório Alergotatina. Com o objetivo de simular uma reação alérgica à picada de inseto.

Ponto B (controle negativo) teve o objetivo de verificar se o óleo de *Melaleuca sp.* (antebraço esquerdo) e a pomada (antebraço direito) teriam efeito irritante sobre a pele.

O ponto C simulou o efeito anti-histamínico do óleo de *Melaleuca sp.* (antebraço esquerdo) e da pomada (antebraço direito) pós-picada de inseto. O óleo de *Melaleuca sp.* e a pomada foram aplicados 2 minutos após a aplicação da histamina.

O ponto D simulou o efeito anti-histamínico protetor do óleo de *Melaleuca sp.* (antebraço esquerdo) e da pomada (antebraço direito) para a picada de inseto. O óleo de *Melaleuca sp.* e a pomada foram aplicados 2 minutos antes da aplicação da histamina.

O antebraço esquerdo foi sensibilizado em quatro pontos (A, B, C e D). O ponto A: controle positivo (+) sensibilizado com uma gota de histamina podendo provocar vermelhidão, pápula (inchaço) e prurido, o ponto B: controle negativo (-) sensibilizado apenas com uma gota do óleo de *Melaleuca sp.* O ponto C foi sensibilizado com uma gota de histamina e após 2 minutos, secagem da histamina com guardanapo de papel e aplicação de uma gota do óleo de *Melaleuca sp.* O ponto D foi sensibilizado com uma gota do óleo de *Melaleuca sp.* e após 2 minutos a aplicação de uma gota de histamina.

O antebraço direito foi sensibilizado em quatro pontos (A, B, C e D). O ponto A: controle positivo (+) sensibilizado com uma gota de histamina podendo provocar vermelhidão, pápula (inchaço) e prurido; o ponto B: controle negativo (-) sensibilizado apenas com a pomada de *Melaleuca sp.* O ponto C foi sensibilizado com uma gota de histamina e após 2 minutos, secagem com guardanapo de papel e aplicação da pomada de *Melaleuca sp.* O ponto D foi sensibilizado com a pomada de *Melaleuca sp.* e após 2 minutos, secagem com guardanapo de papel e aplicação de uma gota de histamina.

A aplicação do óleo de *Melaleuca sp.* e da histamina foram realizadas com o conta gotas de cada frasco. E a pomada de *Melaleuca sp.* foi aplicada com espátula de madeira.

Foi utilizado um puntor (dispositivo plástico que limitou o grau de penetração na pele) e permitiu a penetração da histamina através da pele do participante para cada ponto. A leitura foi realizada após 15 minutos após a puntura. As pápulas obtidas foram delimitadas com uma caneta dermatográfica de ponta fina e cobertas por fita adesiva transparente, formando um molde das áreas. Estas áreas foram digitalizadas e analisadas pelo programa *ImageJ* que é um processador de imagens científicas disponível em ambiente virtual.

O prurido foi avaliado através da Escala Análoga Visual para mensuração do grau de intensidade em cada ponto nos antebraços dos participantes (ANEXO C).

Além de ser um sintoma importante, o prurido também é o principal mantenedor do ciclo vicioso da doença: prurido – coçadura – inflamação – prurido. A avaliação do prurido ainda não possui um instrumento padrão-ouro que avalie com confiança este sintoma na prática clínica e principalmente em pesquisas científicas. Para medir o prurido no Brasil, dispõe-se apenas da Escala Analógica Visual (escala numérica visual e verbal), um

instrumento limitado, por não medir exatamente como este sintoma interfere na qualidade de vida relacionada à saúde e nas atividades dos pacientes acometidos. Além disso, este tipo de escala sofre influência individual da gravidade do prurido, onde o pior prurido para um é diferente de outro paciente (BRUSCKY, 2015).

A Escala Análoga Visual foi constituída por uma linha de 10 cm, marcados os números de 0 a 10. E os participantes relatavam sua nota para o prurido. Sendo que de 0 a 3 foi considerado prurido leve, entre 4 e 8 prurido moderado e entre 9 e 10 prurido grave (WELTER *et al.*, 2008).

3.7 Aspectos éticos

Antes de iniciar qualquer procedimento, o presente estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade do Vale do Sapucaí e aprovado em 16/12/15. Sob o Parecer Consubstanciado: 1.372.740 (ANEXO D), CAAE: 50703515.1.0000.5102.

Realizado de acordo com os preceitos estabelecidos pela Resolução nº466/12 de 12/12/12 do Ministério da Saúde.

Cada paciente foi previamente esclarecido quanto aos objetivos do estudo e informado por escrito do caráter voluntário de sua participação na pesquisa, da liberdade de interrompê-la a qualquer momento; dos procedimentos a serem realizados e do uso confidencial das informações que foram colhidas. Concordaram em participar do estudo e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO B).

3.8 Análise dos dados

Os dados obtidos foram dispostos em tabelas do *Microsoft Office Excel 2007* e analisados quantitativamente. O programa utilizado para Análise Estatística foi o *PASW Statistics 18*.

Foram realizados procedimentos estatísticos descritivos e inferenciais. Os procedimentos descritivos para variáveis quantitativas através de medidas de tendência central (média e mediana) e por medidas de dispersão (desvio padrão). As variáveis qualitativas foram descritas por proporções. A análise inferencial foi conduzida para variáveis contínuas paramétricas pelos testes T pareado (para duas amostras). No caso de variáveis não-paramétricas foram utilizados os testes *Wilcoxon* e de *Friedman*. O nível de significância foi estabelecido em 5% ($p < 0,05$).

4 RESULTADOS/PRODUTO

4.1 Caracterização da amostra

Dos oitenta participantes, seis apresentaram reação negativa à histamina (controle positivo) no ponto A do antebraço direito e foram excluídos da amostra. Assim a amostra para o antebraço esquerdo foi de n: 80 e para o antebraço direito n: 74.

Em relação ao gênero, 49 eram do sexo feminino e 31 do sexo masculino. A idade foi dividida em faixas etárias, em quatro subgrupos: 21-29 anos, 30-39 anos, 40-49 anos e de 50-60 anos, com predomínio de adultos jovens (Tabela 2).

Tabela 2 - Faixa etária da população estudada

Faixa etária	Nº	%
21-29 anos	24	30,0
30-39 anos	20	25,0
40-49 anos	19	23,8
50-60 anos	17	21,3
Total	80	100,0

4.2 Comparação da aplicação e efeito do óleo e pomada de *Melaleuca sp.*

Na tabela 3 apresentam-se as áreas das pápulas em cm² formadas nos pontos de aplicação nos antebraços esquerdo e direito (média e desvio padrão). No antebraço esquerdo o ponto A: representa o controle positivo: histamina, o ponto B: representa o controle negativo: óleo de *Melaleuca sp.*, o ponto C: representa efeito pós-picada: histamina + óleo de *Melaleuca sp.* e o ponto D: representa efeito protetor: óleo de *Melaleuca sp.* + histamina. No antebraço direito o ponto A representa: controle positivo: histamina, o ponto B: representa o controle negativo: pomada de *Melaleuca sp.*, o ponto C representa: efeito pós-picada: histamina + pomada de *Melaleuca sp.* e o ponto D representa: efeito protetor: pomada de *Melaleuca sp.* + histamina.

Tabela 3 – Áreas das pápulas em cm² formadas nos pontos de aplicação

Pontos	Média	Desvio Padrão
Ponto A: Histamina (braço esquerdo)	0,52141	0,242856
Ponto B: Óleo de <i>Melaleuca sp.</i>	0,01406	0,050746
Ponto C: Histamina + Óleo de <i>Melaleuca sp.</i>	0,38973	0,213191
Ponto D: Óleo de <i>Melaleuca sp.</i> + Histamina	0,46591	0,208898
Ponto A: Histamina (braço direito)	0,48955	0,218298
Ponto B: Pomada de <i>Melaleuca sp.</i>	0,00605	0,31742
Ponto C: Histamina + Pomada de <i>Melaleuca sp.</i>	0,41566	0,200047
Ponto D: Pomada de <i>Melaleuca sp.</i> + Histamina	0,48496	0,245942

Verificou-se nos pontos B: controles negativos que o óleo de *Melaleuca sp.* (média: 0,01406) e a pomada de *Melaleuca sp.* (média: 0,00605) não causaram nenhum efeito irritante sobre a pele.

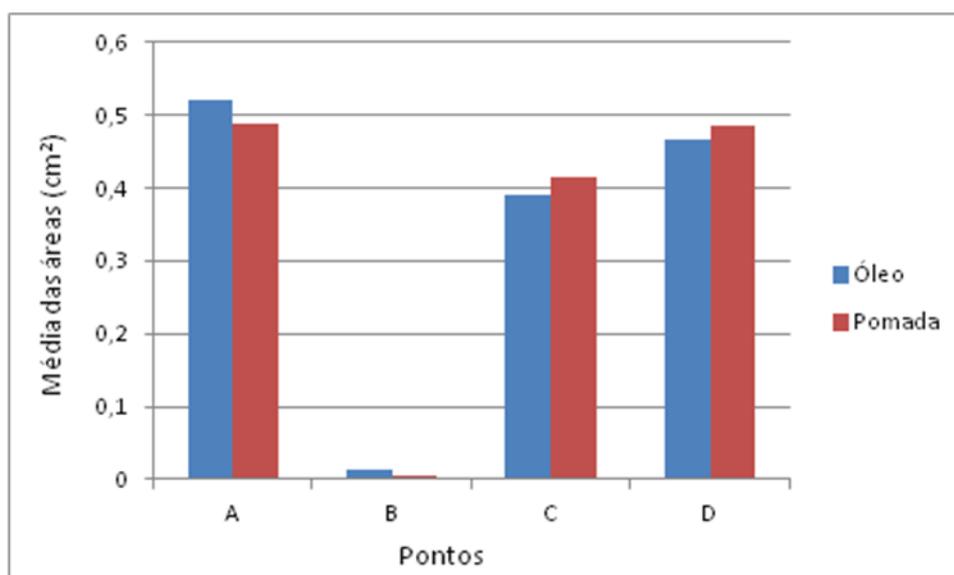


Figura 1 – Comparação do efeito entre os pontos de aplicação antebraço esquerdo (Óleo de *Melaleuca sp.*) e antebraço direito (Pomada de *Melaleuca sp.*)

Na figura 1 foram comparados os pontos de aplicação A, C e D nos antebraços dos participantes. No esquerdo foi aplicado o óleo de *Melaleuca sp.* a 100% e no direito foi aplicada a pomada de *Melaleuca sp.* a 50%.

Nos pontos A e C (braço esquerdo) houve uma diferença significativa entre o controle positivo: histamina e o efeito do óleo pós-picada (p: 0,000), comprovou-se o efeito anti-histamínico do óleo de *Melaleuca sp.* e sugerindo sua utilização pós-picada de inseto.

Nos pontos A e D (braço esquerdo) não houve diferença significativa entre o controle positivo: histamina e o efeito anti-histamínico protetor do óleo (p 0,057). Nos pontos C e D (braço esquerdo) foi realizada comparação entre o efeito pós-picada e protetor do óleo (p: 0,003) e houve diferença significativa. Demonstrou-se o efeito anti-histamínico do óleo de *Melaleuca sp.* pós-picada.

Nos pontos A e C (braço direito) houve diferença significativa entre o controle positivo: histamina e o efeito pós-picada da pomada (p: 0,003), comprovando o efeito anti-histamínico da pomada de *Melaleuca sp.* e sugerindo sua utilização pós-picada de inseto. Nos pontos A e D (braço direito) não houve diferença significativa entre o controle positivo: histamina e o efeito anti-histamínico protetor da pomada (p: 0,887). Nos pontos C e D (braço direito) comparou-se o efeito pós-picada e protetor da pomada (p: 0,017) e houve diferença significativa comprovando o efeito anti-histamínico da pomada de *Melaleuca sp.* pós-picada.

Comparando o ponto C (braço esquerdo) e o ponto C (braço direito) verificou-se que não houve diferença significativa no efeito pós picada entre óleo e pomada (p: 0,496). E comparando o ponto D (braço esquerdo) e ponto D (braço direito) não houve diferença significativa no efeito protetor entre óleo e pomada (p: 0,497).

4.3 Mensuração do grau de prurido

A mensuração do grau de intensidade de prurido em cada ponto de aplicação nos antebraços dos participantes foi avaliada através da Escala Análoga Visual (ANEXO C).

Na tabela 4 apresentam-se média, desvio padrão e valor de p dos pontos de aplicação nos antebraços esquerdo e direito em relação a intensidade de prurido.

Tabela 4 - Média, Desvio Padrão e Valor de p dos pontos de aplicação em relação a intensidade de prurido

Pontos	Média	Desvio Padrão	Valor de p
Ponto A: Histamina (braço esquerdo)	5.03	3.036	0.296
Ponto B: Óleo de <i>Melaleuca sp.</i>	0.28	0.900	0.000
Ponto C: Histamina + Óleo de <i>Melaleuca sp.</i>	4.72	3.069	0.281
Ponto D: Óleo de <i>Melaleuca sp.</i> + Histamina	4.50	3.174	0.149
Ponto A: Histamina (braço direito)	5.11	3.234	0.119
Ponto B: Pomada de <i>Melaleuca sp.</i>	0.34	1.262	0.000
Ponto C: Histamina + Pomada de <i>Melaleuca sp.</i>	4.61	3.184	0.252
Ponto D: Pomada de <i>Melaleuca sp.</i> + Histamina	4.41	3.329	0.289

Foi realizada a Análise Estatística descritiva e o Teste de *Friedman* para os antebraços esquerdo e direito. Os resultados demonstraram que a maioria dos participantes relataram prurido moderado na aplicação do óleo e pomada de *Melaleuca sp.*. Na comparação dos pontos dos antebraços esquerdo e direito não houve diferenças significantes (Figura 2).

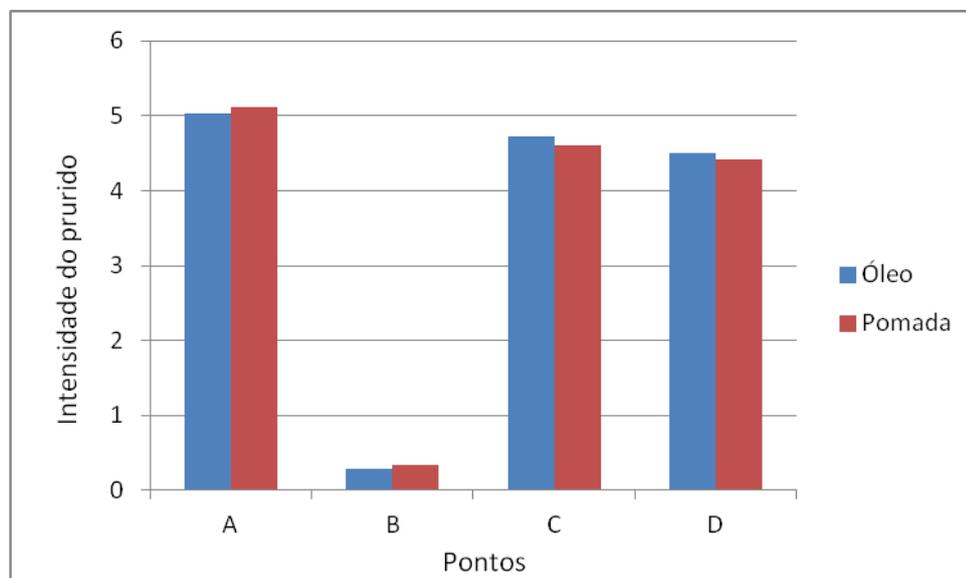


Figura 2 – Comparação do grau de prurido entre os pontos de aplicação antebraço esquerdo (Óleo de *Melaleuca sp.*) e antebraço direito (Pomada de *Melaleuca sp.*)

Verificou-se também nos pontos B: controles negativos que o óleo de *Melaleuca sp.* (p: 0,000) e a pomada de *Melaleuca sp.* (p: 0,000) não causaram prurido sobre a pele.

5 APLICABILIDADE

No presente estudo observaram-se diferenças estatísticas significantes entre os pontos A (controle positivo: histamina) e os pontos C que simularam o efeito anti-histamínico pós-picada de inseto do óleo de *Melaleuca sp.* a 100% (p: 0,000) (antebraço esquerdo) e da pomada de *Melaleuca sp.* a 50% (p: 0,003) (antebraço direito). O óleo e a pomada de *Melaleuca sp.* foram aplicados 2 minutos após a aplicação da histamina. Os pontos C apresentaram diminuição no tamanho da área da pápula formada em relação ao ponto A. Comprovou-se o efeito anti-histamínico do óleo e da pomada de *Melaleuca sp.* e sugeriu-se sua utilização pós-picada de inseto.

Foram realizadas também comparações entre os pontos C que simularam o efeito anti-histamínico pós-picada e os pontos D que simularam o efeito protetor do óleo de *Melaleuca sp.* a 100% (p: 0,003) (antebraço esquerdo) e da pomada de *Melaleuca sp.* a 50% (p: 0,017) (antebraço direito) e houve diferenças significantes. Comprovou-se o efeito anti-histamínico do óleo e da pomada de *Melaleuca sp.* pós-picada.

O efeito do óleo da árvore do chá aplicado topicamente (TTO) reduz o edema induzido por histamina nas orelhas de camundongos. A aplicação tópica de TTO, e, em particular, terpinenol-4, pode ser eficaz no controle do edema induzido por histamina frequentemente associada com reações alérgicas de Tipo I hipersensibilidades imediata (BRAND *et al.*, 2002).

A aplicação tópica de TTO 100% pode ter benefício terapêutico na hipersensibilidade de contato induzida por níquel em pele humana. O modo de ação do TTO requer investigação adicional (PEARCE *et al.*, 2005).

Quando aplicado 20 minutos após a injeção de histamina na pele do antebraço humano, o óleo da árvore do chá (TTO) reduz a resposta vascular cutânea em desenvolvimento (KHALIL *et al.*, 2004).

Verificou-se nos pontos B: controles negativos que o óleo de *Melaleuca sp.* a 100% (média: 0,01406) e a pomada de *Melaleuca sp.* a 50% (média: 0,00605) não causaram nenhuma irritação após a utilização tópica.

O uso tópico do óleo de *Melaleuca* é relativamente seguro e os efeitos adversos são ínfimos e ocasionais (HAMMER *et al.*, 2006).

Verificou-se também que o óleo de *Melaleuca sp.* a 100% (p: 0,000) e a pomada de *Melaleuca sp.* a 50% (p: 0,000) não causaram prurido sobre a pele através da avaliação. Utilizou-se a Escala Análoga Visual; em relação aos outros pontos de aplicação: pontos A, C e D não houve diminuição significativa do prurido.

É fundamental atenuar ou eliminar o prurido, visto ser o ato de coçar um dos fatores, não só de aumento da duração das lesões mas também o responsável por eventuais infecções secundárias e pela hiperpigmentação residual. Estudos controlados por placebo demonstraram que a utilização profilática de anti-histaminicos orais (cetirizina, ebastina) está associada à diminuição em 50 % das máculas causadas pela reação imediata após a picada por mosquitos e a um decréscimo em 70% do prurido acompanhante das picadas. A utilização de emolientes/hidratantes com ação anti-pruriginosa e cicatrizante adicional pode também ser útil em alguns doentes (MOREIRA *et al.*, 2014).

Em um estudo experimental sobre dermatite de contato e urticária, foi comparada a eficácia de agentes terapêuticos tópicos tradicionais e óleo da árvore do chá. Os efeitos de ictamol 10%, óxido de zinco 20%, cânfora 20%, levomentol 10%, óleo da árvore do chá 20 ou 50% e clobetasona 0,05% foram estudados nos seguintes modelos experimentais: dermatite de contato alérgica ao níquel, dermatite de contato irritativa de cloreto de benzalcônio, e em reações imediatas à histamina e ao ácido benzóico), respectivamente. O óleo da árvore do chá reduziu a dermatite de contato alérgica em 40,5% (p: 0,003), óxido de zinco em 17,4% (p: 0,04) e clobetasona em 23,5% (p: 0,01). O óxido de zinco reduziu o alargamento induzido por histamina em 18,5% (p: 0,01), ictamol em 19,2% (p: 0,02) e clobetasona em 44,1% (p: 0,02). O prurido induzido por histamina foi avaliado usando Escala Análoga Visual e também se manteve inalterado. Neste estudo, o autor afirma que o óleo da árvore do chá parece ser um agente anti-eczematoso mais eficaz do que o óxido de zinco e a clobetasona no tratamento tópico de reações de urticária (WALLENGREN, 2011).

O conhecimento popular tem trazido grande contribuição para divulgação do uso de plantas no tratamento de doenças. Nas últimas décadas tem aumentado o interesse por medicamentos alternativos, na maior parte deles provenientes de extratos naturais, desencadeando busca pela validação do uso destes medicamentos, visto os efeitos terapêuticos favoráveis *in vitro e in vivo* (OLIVEIRA *et al.*, 2011).

A medicina popular desperta o interesse de pesquisadores em estudos multidisciplinares que enriquecem o conhecimento a respeito do uso terapêutico de plantas medicinais (OLIVEIRA *et al.*, 2011).

As preparações à base do óleo essencial de Melaleuca obtido por destilação a vapor de folhagens são indicadas para tratamento de pequenas feridas superficiais e picadas de insetos. As formas farmacêuticas semissólidas são adequadas para uso cutâneo (EUROPEAN MEDICINES AGENCY, 2013).

Além de serem vetores de doenças infecciosas, insetos podem ser causa de desconforto por suas picadas. Algumas espécies de mosquitos podem causar irritação local, prurido, infecção secundária, celulite, dor e distúrbios de sono (STEFANI *et al.*, 2009).

Uma das reações à picadas de insetos é o prurido que ocorre na região das pápulas. Quando há sensibilização imunológica a essas picadas ocorre um quadro mais extenso chamado estrófulo (urticária papular) (RODRIGUES *et al.*, 2010).

Embora a prevalência exata da urticária papular seja desconhecida, é uma dermatose frequente (estima-se sua ocorrência em cerca de 10% da população) é característica de crianças, surgindo principalmente a partir dos 2 anos de idade, com desaparecimento espontâneo, na maioria dos casos, até aos 7-10 anos. No entanto, também pode afetar adolescentes e adultos e pode causar considerável impacto na qualidade de vida dos doentes afetados. O seu diagnóstico implica uma elevada suspeita clínica e é realizado com base na história clínica e identificação das lesões cutâneas características. Relativamente ao seu tratamento, este baseia-se principalmente no alívio sintomático, no controle da reação de hipersensibilidade e em medidas de erradicação e profilaxia das picadas pelos agentes causais. Neste contexto, os anti-histaminicos assumem um papel determinante, como os principais fármacos a serem utilizados (MOREIRA *et al.*, 2014).

Buscou-se estudar a planta medicinal *Melaleuca sp.* existente na região de Pouso Alegre, MG, com vistas a avaliar o efeito anti-histamínico do óleo de *Melaleuca sp.* e compará-lo ao da pomada de *Melaleuca sp.* e assim desenvolver um medicamento fitoterápico para o tratamento de pacientes portadores de alergias a picadas de insetos.

Diante das limitações encontradas durante a manipulação na incorporação do óleo de *Melaleuca sp.* e obtenção da estabilidade da forma farmacêutica. Levando em consideração crianças com hipersensibilidade a picadas de insetos e a informação da Agência Europeia de Medicamentos (EMA), 2013 que a utilização do óleo em crianças menores de 12 anos de idade não foi estabelecida devido à falta de dados adequados. Ressaltam-se as perspectivas futuras de estudos aprofundados sobre a absorção, toxicidade deste princípio ativo e tecnologia farmacêutica visando a obtenção de uma formulação estável e apropriada para uso tópico pediátrico.

6 CONCLUSÃO

O óleo de *Melaleuca sp.* a 100% e a pomada de *Melaleuca sp.* a 50% apresentaram ação anti-histamínica e não influenciaram na intensidade do prurido.

Não houve efeito protetor do óleo e da pomada de *Melaleuca sp.*

7 IMPACTO SOCIAL

Este estudo abordou a utilização de princípios ativos com ação anti-histamínica, provenientes de espécies ainda pouco exploradas. Gerando possibilidade de desenvolvimento de novos produtos. Considerando o conhecimento científico e a biodiversidade local.

Destaca-se a comprovação do efeito anti-histamínico do óleo de *Melaleuca sp.* a 100% e da pomada de *Melaleuca sp.* a 50%. As formulações em diferentes concentrações tiveram seu efeito comprovado. Sugere-se a utilização da formulação a 50% visto que a quantidade de óleo utilizada é menor e conseqüentemente o custo.

O acesso aos medicamentos é um componente essencial de inclusão social, a Fitoterapia representa uma alternativa medicamentosa segura e eficaz, além de ser economicamente viável e valorizar o saber popular.

A pomada de *Melaleuca sp.* constitui uma opção frente ao uso indiscriminado e prolongado de medicamentos corticoides tópicos amplamente utilizados no tratamento de alergias a picadas de insetos.

O monopólio comercial do óleo de Melaleuca é da Austrália. E o consumo está disperso principalmente na América do Norte e Europa. No Brasil tem-se observado que indústrias e casas de produtos naturais têm adquirido o produto importado e repassado agregando valores ao consumidor final. Porém, o Brasil tem condições de cultivar a Melaleuca, com extração do óleo essencial e comercialização a um custo menor, gerando empregos.

O Brasil precisa avançar no campo da Fitoterapia. Este avanço depende de uma forte campanha de esclarecimento público, que deve incluir a Equipe Multiprofissional de Saúde, para mostrar a segurança e eficácia das plantas medicinais de uso tradicional, como uma alternativa terapêutica.

É também importante um estudo mais aprofundado da composição e características terapêuticas do óleo de Melaleuca como fonte de matéria-prima ativa para elaboração de formulações que sejam aplicadas de formas variadas na área Farmacêutica e Cosmética. Fortalecendo a parceria entre Universidade e Indústrias Farmacêuticas visando a validação e viabilidade econômica para produção de medicamentos fitoterápicos e a geração de novas patentes.

Este estudo será disponibilizado em base de dados para consulta, apresentado em Eventos Científicos e posteriormente enviado para publicação.

8 REFERÊNCIAS

Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Formulário de fitoterápicos da farmacopéia brasileira. [Internet]. 2011. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/hotsite/farmacopeiabrasileira/conteudo/Formulario_de_Fitoterapicos_da_Farmacopeia_Brasileira.pdf

Batistuzzo JAO, Yukiko MI. Formulário médico farmacêutico. 2ª ed. São Paulo: Tecnopress; 2002.

Brand C, Townley SL, Finlay-Jones JJ, Hart HP. Tea tree oil reduces histamine-induced oedema in murine ears. *Inflamm Res*. [Internet]. 2002 Jun; 5(6): 283-290. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12088268>

Bruscky DMV. Adaptação transcultural e validação da escala de gravidade de prurido em crianças e adolescentes com dermatite atópica para português e cultura brasileira. [dissertação]. Recife: Universidade Federal de Pernambuco, Mestrado em Saúde da Criança e do Adolescente; 2015.

European Medicines Agency. Committee on Herbal Medicinal Products. Community herbal monograph on *Melaleuca alternifolia* (Maiden and Betch) Cheel, *M. linariifolia* Smith, *M. dissitiflora* F. Mueller and/or other species of *Melaleuca*, aetheroleum. 2013.

Fahlbusch KG, Hammerschmidt FJ, Panten J, Pickenhagen W, Schatkowski D, Bauer K, Garbe D, Surburg H. Flavors and fragrances ullmann's. encyclopedia of industrial chemistry. [Internet]. 2003. Disponível em: <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/r?dbs+hsdb:@term+@rn+68647-73-4>

Falci SPP. Óleo de *Melaleuca sp.* como agente antimicrobiano em feridas contaminadas por *Staphylococcus aureus* em ratas. [dissertação]. Pouso Alegre: Universidade do Vale do Sapucaí, Mestrado Profissional em Ciências Aplicadas à Saúde; 2015.

Garcia CC, Germano C, Osti NM, Chorilli M. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade físico-química de formulações de sabonete líquido íntimo acrescida de óleo de *Melaleuca*. *Rev. Bras. Fam.* [Internet]. 2009. 90(3): 236-240. Disponível em: http://www.rbfarma.org.br/files/pag_236a240_sabonete_liquido_intimo_253.pdf

Hammer KA, Carson CF, Riley TV, Nielsen JB. A review of the toxicity of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil. *Food Chem Toxicol*. [Internet]. 2006. Oct. 44(5): 616-25. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16243420>

Khalil Z, Pearce AL, Satkunanathan N, Storer E, Finlay-Jones JJ, Hart PH. Regulation of wheal and flare by tea tree oil: complementary human and rodent studies. *J Invest Dermatol*. [Internet]. 2004. Oct. 123(4): 683-690. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15373773>

Koh KJ, Pearce AL, Marshman G, Finlay-Jones JJ, Hart PH. Tea tree oil reduces histamine-induced skin inflammation. *British Journal of Dermatology*. [Internet]. 2002. Dec. 147(6): 1212-1217. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12452873>

- Lima JF Jr, Vieira LB, Leite MJVF, Lima KC. O uso de fitoterápicos e a saúde bucal. Rev Saúde em revista. 2005. 16: 11-17.
- Maluf S. Aromaterapia. São Paulo: [s.n.] 2009.
- Mendonça ARA, Paschoal GRM, Barbosa S, Santos WJ. Efeito anti-histamínico do óleo de Melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) em testes imunológicos em humanos [trabalho de conclusão de curso]. Pouso Alegre: Universidade do Vale do Sapucaí, Curso de Ciências Biológicas; 2014.
- Monteiro MHDA, Macedo HW, Silva AJr, Paumgarten FJR. Óleos essenciais terapêuticos obtidos de espécies de Melaleuca L. (Myrtaceae Juss.). Rev Fitos. [Internet]. 2013. 8(1): 19-32. Disponível em: <http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/viewFile/191/171>
- Moreira A, Rosmaninho I, Silva JPM. Urticária popular: revisão da literatura. Rev Port. Imunoalergologia [Internet]. 2014. Dez. 22(4): 279-287. Disponível em: http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0871-97212014000400004
- Motta AA, Kalil J, Barros MT. Testes Cutâneos. Rev Bras. Alergologia e Imunopatologia [Internet]. 2005. Maio. 28(2): 73-85. Disponível em: <http://www.asbai.org.br/revistas/Vol282/testescutaneos.pdf>
- Oliveira ACM, Fontana A, Negrini TC, Nogueira, MNM, Bedran TBL, Andrade CR, Spolidorio LC, Spolidorio DMP. Emprego do óleo de Melaleuca alternifolia Cheel (Myrtaceae) na odontologia: perspectivas quanto à utilização como antimicrobiano alternativo às doenças infecciosas de origem bucal. Rev Bras. Plantas. Med. [Internet] 2011.13(4):492-499. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722011000400015
- Panizza ST. Fitoterapia e terapias complementares: plantas medicinais e fitoterápicos [Internet]. 2016. Disponível em: <http://www.fitoterapia.com.br>
- Pearce G, Finlay-Jones JJ, Hart HP. Reduction of nickel-induced contact hypersensitivity reactions by topical tea tree oil in humans. Inflamm Res. [Internet]. 2005. Jan. 54(1): 22-30. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15723201>
- Rodrigues DA, Tomimori J, Floriano MC, Mendonça S. Atlas de Dermatologia em povos indígenas [Internet]. São Paulo: Editora Unifesp, 2010. Disponível em: <http://books.scielo.org>
- Silva SRS. Composição química, avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial e deficiência hídrica de Melaleuca alternifolia Cheel crescida no Brasil [Dissertação]. Universidade Federal de Viçosa; 2001.
- Simões RP, Groppo FC, Sartorato A, Del Fiol FS, Mattos Filho TR, Ramacciato JC, Rodrigues MVN. Efeito do óleo de Melaleuca alternifolia sobre a infecção estafilocócica. Rev Lecta. 2002. 20: 143-152. Disponível em: <http://portal.revistas.bvs.br/index.php?search=Lecta-USF&connector=ET&lang=pt>
- Singh S, Mann BK. Insect bite reactions. Indian J Dermatol Venereol Leprol. [Internet]. 2013. 79: 151-64. Disponível em: <http://portal.revistas.bvs.br/index.php?issn=0378-6323&lang=pt>

Souza VM, Antunes D. Ativos dermatológicos: guia de ativos dermatológicos utilizados na farmácia de manipulação para médicos e farmacêuticos. São Paulo: Pharmabooks; 2009.

Stefani GP, Pastorino AC, Castro APBM, Fomin ABF, Jacob CMA. Repelentes de insetos: recomendações para uso em crianças. Rev Paul. Pediatr. [Internet]. 2009. 27(1): 81-90. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rpp/v27n1/13.pdf>

Vieira TR, Barbosa LCA, Maltha CRA, Paula VF, Nascimento EA. Constituintes Químicos de *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae) [Internet]. Rev Quím. Nova. 2004. 27(4): 536-539. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40422004000400004&script=sci_abstract&tlng=pt

Wallengren J. Tea tree oil attenuates experimental contact dermatitis. Arch Dermatol Res. [Internet]. 2011; 303(5): 333-338. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20865268>

Welter EQ, Bonfá R, Petry W, Moreira LL, Weber MB. Relação entre grau de prurido e qualidade de vida de pacientes em hemodiálise. Anais Bras. Dermatologia. [Internet]. 2008. 83(2): 137-140. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/abd/v83n2/v83n02a06.pdf>

ANEXOS

ANEXO A – CROMATOGRAFIA GASOSA DO ÓLEO DE *MELALEUCA SP.*

Tabela 5 - Analitos identificados no óleo de *Melaleuca sp.*

Pico	tR	Nome do Composto	% A	Qualidade
1	8,88	Trimetil Bicclico Hepteno	3,39	97
2	10,20	Dimetil Metileno Bicclico Heptano	1,09	97
3	10,67	Mirceno	1,99	AMDIS
4	11,04	Metileno Metiletenil Cicloexano	0,15	76
5	11,44	Metil Metiletilideno Cicloexano	0,20	95
6	11,69	Tetrametil Benzeno	0,13	81
7	11,82	Limoneno	8,25	99
8	11,89	Eucaliptol	70,08	99
9	12,76	Terpineno	0,64	94
10	13,67	Isopropilideno Metil Bicclico Hexano	0,13	89
11	16,03	Terpineol (isômero)	0,22	AMDIS
12	16,33	Terpineol (isômero)	0,84	93
13	16,72	Terpineol (isômero)	7,89	87
14	22,76	Não determinado	0,15	-
15	23,02	Não determinado	0,13	-
16	23,51	Decahidro Trimetil Metileno Ciclopropazuleno	0,50	95
17	24,06	Aloaromadendreno	0,27	99
18	24,91	Octahidro Tetrametil Ciclopropazuleno	0,62	96
19	25,56	Hexahidro Dimetil Metil Etil Naftaleno	0,43	90
20	26,45	Não determinado	0,12	-
21	26,65	Não determinado	0,21	-
22	27,03	Globulol	0,82	98
23	27,23	Octahidro Dimetil Metil Etenil Azuleno	0,45	87
24	27,26	Não determinado	0,34	-
25	27,45	Eudesmol	0,29	AMDIS
26	27,92	Não determinado	0,32	-
27	28,03	Hexahidro Dimetil Metiletil Naftaleno	0,23	87

(Fonte: FALCI, 2015).

Pico: Número do pico pela ordem de eluição da coluna;

tR = Tempo de retenção do composto na coluna em minutos;

Nome do composto: Nome mais comum do composto identificado;

%A = Porcentagem de área normalizada a qual indica a distribuição relativa dos compostos na amostra;

Qualidade: é o índice de pesquisa na base de dados que reflete a similaridade do espectro de massas obtido com os registrados nas bibliotecas utilizadas. Foram adotados índices de qualidade >70.

ANEXO B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, Profa. Adriana Rodrigues dos Anjos Mendonça e a aluna Kassandra Elfrida Pauliello, sob minha orientação no Mestrado Profissional em Ciências Aplicadas à Saúde da Universidade do Vale do Sapucaí, estamos realizando uma pesquisa intitulada: “Ação anti-histamínica da Pomada de *Melaleuca sp.*” O estudo tem como objetivos: Desenvolver um produto a base de *Melaleuca sp.* e avaliar sua ação anti-histamínica. Comparar o efeito anti-histamínico e o efeito protetor do óleo de *Melaleuca sp.* a 100% e da pomada de *Melaleuca sp.* a 50%. Avaliar a intensidade do prurido nos pontos de sensibilização nos antebraços dos participantes.

Para isso, precisamos que V. Sa., concorde em participar de um Teste com nome Prick, onde seus antebraços serão adequadamente preparados para o procedimento. O antebraço esquerdo será sensibilizado em quatro pontos (A, B, C e D). O ponto A será o controle positivo (+) sensibilizando-se com uma gota de histamina que poderá provocar vermelhidão, pápula (inchaço) e prurido (coceira), o ponto B será o controle negativo (-) sensibilizando-se apenas com o óleo de *Melaleuca sp.* O ponto C será sensibilizado com uma gota de histamina e após 2 minutos a aplicação do óleo. O ponto D será sensibilizado com o óleo de *Melaleuca sp.* e após 2 minutos a aplicação de uma gota de histamina. O antebraço direito será sensibilizado em quatro pontos (A, B, C e D). O ponto A será o controle positivo (+) sensibilizando-se com uma gota de histamina que poderá provocar vermelhidão, pápula (inchaço) e prurido (coceira); o ponto B será o controle negativo (-) sensibilizando-se apenas com a pomada de *Melaleuca sp.*. O ponto C será sensibilizado com uma gota de histamina e após 2 minutos a aplicação da pomada. O ponto D será sensibilizado com a pomada de *Melaleuca sp.* e após 2 minutos a aplicação de uma gota de histamina.

A leitura do teste será realizada, em cada ponto, 15 minutos após a realização do procedimento. A sensibilização com histamina, nos quatro pontos será feita com uma lanceta especial, de nome “punter”.

Gostaríamos de deixar claro que as informações obtidas serão mantidas em sigilo e que V. Sa. não será identificado (a) pelo nome. Todas as suas informações ficarão sob nossa responsabilidade e trabalharemos com os dados de forma global, isto é, reunindo os dados de todas as pessoas que participarão do estudo.

É importante lembrar que a sua participação é estritamente voluntária e a qualquer momento sua desistência poderá ocorrer.

Este Termo de Consentimento é o documento que comprova a sua permissão. Precisamos da sua assinatura para oficializar o seu consentimento.

Declaro esclarecido e após ter compreendido as informações acima, concordo em participar da pesquisa e juntamente com a pesquisadora assinaremos em duas vias.

_____, _____ de _____ de 2016

Voluntário(a)

Pesquisador(a)

Para eventuais necessidades e retirar dúvidas V. Sa. poderá utilizar o telefone: (035) 3449 9271, que é o telefone do Comitê de Ética em Pesquisa da Univás, localizado à Av. Prof. Tuany Toledo, 470, Fátima I, com horário de atendimento de 2ª a 6ª feira das 8h às 17h.

Agradecemos, desde já, sua valiosa colaboração e colocamo-nos à disposição para outros esclarecimentos necessários.

Nome: Kassandra Elfrida Pauliello

Endereço: Rua Eduardo Amaral, 650 Bairro: Centro Cidade: Borda da Mata, M.G.

Telefone: (35) 34451333 e-mail: kpauliello@hotmail.com

ANEXO C – ESCALA ANÁLOGA VISUAL PARA MENSURAÇÃO DO GRAU DE PRURIDO

Projeto de pesquisa: Ação anti-histamínica da Pomada de *Melaleuca sp.*

Nome:

Idade:

Sexo: () Feminino () Masculino

Escala Análoga Visual para mensuração do grau de prurido:

Antebraço esquerdo

Pontos: A, B, C e D:



Por favor, assinale sua nota para o prurido:

Ponto A:



Ponto B:



Ponto C:



Ponto D:



Escala Análoga Visual para mensuração do grau de prurido:

Antebraço direito

Pontos: A, B, C e D:



Por favor, assinale sua nota para o prurido:

Ponto A:



Ponto B:



Ponto C:



Ponto D:



OBS:

ANEXO D - PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

FACULDADE DE CIÊNCIAS
MÉDICAS DR. JOSÉ ANTÔNIO
GARCIA COUTINHO -



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: PADRONIZAÇÃO DO GEL DE MELALEUCA PARA AÇÃO ANTI-HISTAMÍNICA

Pesquisador: Adriana Rodrigues dos Anjos Mendonça

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 50703515.1.0000.5102

Instituição Proponente: FUNDACAO DE ENSINO SUPERIOR DO VALE DO SAPUCAI

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.372.740

Apresentação do Projeto:

Há séculos os principais aliados dos profissionais da área da saúde no processo de cura são os remédios elaborados a partir do extrato de vegetais. Em especial o óleo essencial de Melaleuca que é conhecida como Tea Tree (árvore do chá) de espécie arbórea nativa da Austrália, possui grandes propriedades medicinais. O objetivo do trabalho é Padronizar o produto a base de Melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) e avaliar sua ação anti-histamínica. Será realizada uma pesquisa de campo na cidade de Pouso Alegre, MG, nos Campi da Universidade do Vale do Sapucaí, Unidades Central e Fátima. No período de novembro a dezembro de 2015. A população em estudo serão cem alunos ou funcionários com faixa etária acima de 18 anos, de ambos os sexos e

que concordem em participar da pesquisa e assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e que não apresentem contra-indicações ao Teste Prick (história de anafilaxia anterior, dermatite extensa, em uso de anti-histamínico). O Teste Prick será realizado nos participantes da pesquisa: O antebraço esquerdo será sensibilizado em três pontos (A, B e C). O ponto A será o controle positivo (+) sensibilizando-se com uma gota de histamina; o ponto B será o controle negativo (-) sensibilizando-se apenas com o Óleo de Melaleuca. O ponto C será sensibilizado com uma gota de histamina e em seguida a

Endereço: Avenida Prefeito Tuany Toledo, 470

Bairro: Campus Fátima I

CEP: 37.550-000

UF: MG

Município: POUSO ALEGRE

Telefone: (35)3449-2199

Fax: (35)3449-2300

E-mail: pesquisa@univas.edu.br

Continuação do Parecer: 1.372.740

aplicação do óleo instantaneamente. O antebraço direito será sensibilizado em três pontos (A, B e C). O ponto A será o

controle positivo (+) sensibilizando-se com uma gota de histamina; o ponto B será o controle negativo (-) sensibilizando-se apenas com o Óleo de Melaleuca incorporado em Gel. O ponto C será sensibilizado com uma gota de histamina e em seguida a aplicação do gel instantaneamente. A leitura será realizada após 15 minutos após a punção. A

presença de pápulas com diâmetro maior ou igual a 3 mm indicará teste positivo. Os procedimentos estatísticos descritivos para variáveis quantitativas serão apresentados através de medidas de tendência central e por medidas de dispersão. A análise inferencial será conduzida para variáveis contínuas paramétricas pelos testes T pareado e para amostras oriundas de mais de duas mensurações pela análise de variância (ANOVA) de valores repetidos. No caso de variáveis não paramétricas serão utilizados respectivamente os testes Wilcoxon ou de Friedman. A comparação de proporções será realizada pelo teste do Qui quadrado.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Padronizar o produto a base de Melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) e avaliar sua ação anti-histamínica.

Objetivo Secundário:

Comparar o efeito anti-histamínico do Óleo de Melaleuca e do Óleo de Melaleuca incorporado em gel

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Segundo os pesquisadores não há riscos para o sujeito. Visto que o Teste de Prick é realizado apenas na pele.

Benefícios:

Padronização de um gel que poderá ser usado na diminuição ou controle das reações alérgicas provocadas por picadas de inseto

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Tudo Ok.

Endereço: Avenida Prefeito Tuany Toledo, 470

Bairro: Campus Fátima I

CEP: 37.550-000

UF: MG

Município: POUSO ALEGRE

Telefone: (35)3449-2199

Fax: (35)3449-2300

E-mail: pesquisa@univas.edu.br

Continuação do Parecer: 1.372.740

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Tudo Ok.

Recomendações:

Nenhuma.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Nenhuma.

Considerações Finais a critério do CEP:

Os autores deverão apresentar ao CEP um relatório parcial e um final da pesquisa de acordo com o cronograma apresentado no projeto.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_618778.pdf	19/11/2015 15:55:08		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Melaleuca.doc	19/11/2015 15:54:48	Adriana Rodrigues dos Anjos Mendonça	Aceito
Folha de Rosto	Folha_rosto.pdf	30/10/2015 16:55:35	Kassandra Elfrida Pauliello	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_melaleuca.docx	30/10/2015 14:22:02	Adriana Rodrigues dos Anjos Mendonça	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

POUSO ALEGRE, 16 de Dezembro de 2015

Assinado por:
Ronaldo Júlio Baganha
(Coordenador)

Endereço: Avenida Prefeito Tuany Toledo, 470

Bairro: Campus Fátima I

CEP: 37.550-000

UF: MG

Município: POUSO ALEGRE

Telefone: (35)3449-2199

Fax: (35)3449-2300

E-mail: pesquisa@univas.edu.br