

Efectividad de *Melaleuca alternifolia* (tea tree) y *Commiphora myrrha* (mirra), como irrigantes en la terapia periodontal no quirúrgica.

Courrech-Martin Ma. Elena*, Oliver-Parra Rogelio**, Gómez-López Víctor Manuel***

Resumen

Objetivos: El objetivo de este estudio fue evaluar la efectividad clínica como irrigante de la solución estéril con *Melaleuca alternifolia* comparada con solución estéril con *Commiphora myrrha* en la terapia periodontal no quirúrgica, en pacientes con periodontitis crónica. **Material y Métodos:** Ochocientos treinta órganos dentarios de treinta pacientes diagnosticados con periodontitis crónica moderada a severa generalizada, no alérgicos a aceites esenciales, fueron aleatoriamente asignados a dos grupos para tratamiento de curetaje cerrado con solución estéril con tea tree ó mirra usados como irrigantes. Se registraron medidas basales, al mes, 3 y 6 meses de sangrado al sondeo, profundidad al sondeo, inserción clínica de encía y movilidad dental. Se utilizó la prueba U Mann Withney para movilidad y t Student para las variables restantes, todas con un alfa de .05. **Resultados:** En todas las variables estudiadas no se identificaron diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los períodos entre los 2 grupos de estudio. ($p \leq .05$). Ambos irrigantes presentaron mejoría clínica en ganancia de encía insertada, disminución de movilidad, profundidad al sondeo y de sangrado principalmente al mes del procedimiento. **Conclusiones:** No hubo diferencia en la efectividad clínica de ambas soluciones, las dos son efectivas para reducir los parámetros periodontales.

Palabras clave: EOS, tea tree, mirra, periodontitis crónica, terapia periodontal no quirúrgica.

Abstract

Objectives: The aim of this study was to evaluate the clinical effectiveness as final irrigant sterile *Melaleuca alternifolia* solution compared to sterile *Commiphora myrrha* solution in the non-surgical periodontal therapy in patients with chronic periodontitis. **Method:** Eight hundred and thirty dental organs from thirty patients diagnosed with moderate to severe chronic periodontitis generalized, non-allergic to essential oils, were randomly assigned to two treatment groups for closed curettage with sterile *Melaleuca alternifolia* solution or sterile *Commiphora myrrha* solution as irrigants. Measures were recorded at baseline and at 1, 3 and 6 months of bleeding on probing, probing depth, clinical attachment level and tooth mobility. Was used the U Mann Withney test for mobility and t student for the remaining variables, all set with an alpha of .05. **Results:** In all studied variables were not statistically significant differences in any of the periods between the 2 study groups. ($p \leq .05$). Both irrigants showed clinical improvement in gain attached gingiva, decreased mobility, probing depth and bleeding on probing mainly at the 1 month after the procedure. **Conclusions:** There was no difference in the clinical effectiveness of both solutions, the two are effective in reducing periodontal parameters.

Keywords: EOS, tea tree, myrrh, chronic periodontitis, Non- Surgical periodontal therapy.

*Endodoncista y Periodoncista, Tampico, Tamaulipas

**Jefe de Investigación de la Universidad Autónoma de Tamaulipas.

*** Departamento de Investigación. Escuela de Medicina "Dr. José Sierra Flores" Universidad del Noreste. Tampico, Tamaulipas.

Correspondencia: Ma. Elena Courrech Martin . e-mail: courrech_elena@yahoo.com

Recibido: Enero 2014 Aceptado: Junio 2014

Introducción

En nuestro país, la enfermedad periodontal afecta al 50 por ciento de la población adolescente, joven y adulta, 5 de cada 10 personas la padecen.¹ La enfermedad periodontal es una grave infección bacteriana que destruye las fibras de inserción y el hueso de soporte que mantienen los dientes en la boca,² para tratar esta enfermedad se han empleado diversos métodos entre los cuales se incluye la terapia periodontal no quirúrgica, que conduce a una mejoría en la calidad de vida del paciente,³ pues elimina y previene la recurrencia de los depósitos bacterianos localizados en las superficies dentarias supragingivales y subgingivales.² El

raspado y alisado radicular son efectivos para reducir los parámetros clínicos de la enfermedad periodontal, mas no son 100% efectivos para reducir los microorganismos patógenos, sin embargo cuando se combina con la irrigación subgingival durante o después del curetaje cerrado, por la reducción de bacterias patógenas, hay beneficios clínicos adicionales, como reducción de la profundidad de bolsa, ganancia adicional en el nivel de inserción clínica y mayor disminución en la inflamación.⁴

El control mecánico de placa supragingival es indispensable para prevenir la reaparición de

patógenos periodontales y el restablecimiento de una biopelícula en los sitios tratados.^{5,6} La reevaluación de los tejidos después del raspado, alisado radicular y curetaje es como mínimo a las dos semanas, y la reparación continua hasta por 6 meses o un año.⁷

Hasta la fecha, la clorhexidina al 0.12% ha sido el estándar de oro como irrigante en curetaje cerrado, sin embargo aún no se ha encontrado al irrigante ideal. En este esfuerzo se han utilizado varios irrigantes en la terapia periodontal no quirúrgica, desde chips de clorhexidina,⁸ clorhexidina 0.12%,⁹ dosis subantimicrobianas de doxicilina,¹⁰ yodopovidona^{11,12} e hipoclorito de sodio^{13,14} y más.

Un tratamiento con antiséptico o antibiótico local o sistémico adecuadamente seleccionado puede proporcionar al tratamiento periodontal un irrigante coadyuvante generalmente eficaz, de bajo riesgo y asequible.¹⁵ La irrigación subgingival de los antisépticos realizada por un profesional debe ser preferido a los antibióticos por el riesgo de resistencia bacteriana.^{16,17}

La aplicación local de aceites esenciales ha tenido usos en el ámbito médico en el tratamiento de otitis,¹⁸ y en el sector odontológico,^{19,20} y se ha propuesto como desinfectante.²¹ El tea tree ha tenido múltiples usos en el sector odontológico, como irrigante en tratamiento de conductos,^{22,23} enjuagues bucales²⁴ y aplicación tópica.

El aceite esencial de tea tree (*Melaleuca alternifolia*) obtenido por destilación de vapor de las hojas de *Melaleuca alternifolia* es conocido como aceite de árbol de té (TTO) o aceite de *Melaleuca*. TTO contiene aproximadamente 100 terpenos y sus alcoholes relacionados tienen su mecanismo de acción contra la membrana citoplásmica,²⁵ también se ha descrito de sus propiedades lipofílicas por lo que tiene una rápida absorción y difusión en el epitelio gingival.²⁶

Se ha descrito su seguridad y eficacia.²⁷ TTO tiene propiedades antibacterianas,²⁸⁻³⁰ antifúngicos,²⁹ antiviral,³¹ esporicida,³² y antiinflamatorias.²⁸ Se ha usado en afecciones de la piel, los ensayos clínicos han demostrado que TTO puede ser

eficaz en el tratamiento del acné,³³ y la candidiasis oral,^{29,34} y en la descolonización de portadores de *Staphylococcus aureus* resistentes a la metilicina.³⁵

Se ha reportado la actividad antimicrobiana in vitro contra *P. gingivalis*,²⁸ contra *E. faecalis* y *C. albicans*,²⁹ contra *S. aureus* y *E. coli*,^{30,36} contra *P. aeruginosa*,³⁷ contra *S. epidermidis* su relativo poco impacto para crear susceptibilidad a resistencia antibiótica,³⁸ también se reportó su inocuidad en fibroblastos humanos,³⁹ se ha reportado in vitro su actividad inhibitoria de crecimiento en células humanas de melanoma⁴⁰ y la eficacia in vivo de TTO, cualidades por las que se piensa pueda ser un irrigante periodontal.

La mirra (*Commiphora myrrha*) ha sido utilizada desde tiempos inmemoriales, sin embargo, hay poca literatura que ilustre este hecho; se han realizado estudios con aceite de mirra para ver los efectos de esta sobre células epiteliales y fibroblastos gingivales humanos,⁴¹ se ha utilizado ampliamente en pastas dentales como tratamiento alterno en enfermedades periodontales; y dado que la enfermedad periodontal (Periodontitis crónica) está caracterizada por inflamación, que a su vez destruye los tejidos afectados, pudiera ser útil como irrigante después de haber retirado el agente etiológico, por medio de curetaje cerrado, reducir la carga bacteriana, ayudar a desinflamar el área intervenida y lograr con esto un equilibrio celular mejorando el estado periodontal induciendo a la cicatrización y reparación del sitio dañado.⁴²

No existen reportes del uso de solución estéril de tea tree y mirra como irrigantes en curetaje cerrado en pacientes con periodontitis crónica.

Debido a la necesidad de nuevos modelos de estudio con irrigantes que pudieran ser útiles en la mayoría de los pacientes, y a su vez con pocos o nulos efectos secundarios, se realizó este estudio cuyo objetivo fue evaluar la efectividad clínica entre la solución estéril de tea tree y la de mirra usadas como irrigantes en la terapia periodontal no quirúrgica, en pacientes con periodontitis crónica.

Materiales y Métodos

Este estudio fue un experimento clínico, comparativo, aleatorio y doble ciego que incluyó pacientes de ambos sexos, no alérgicos a aceites esenciales, en un rango de edad de 20-71 años, aparentemente sanos ó con enfermedad sistémicamente controlados, diagnosticados con Periodontitis crónica moderada y avanzada generalizada, con profundidad al sondeo de 3-4mm de pérdida de inserción clínica en adelante. Se seleccionaron pacientes que acudieron a la clínica del autor del estudio, en un período comprendido del mes de Junio a Septiembre del 2012, se les realizó la historia clínica, exámen radiográfico, exámenes de laboratorio y otorgaron su consentimiento informado. Se asignaron aleatoriamente a los grupos A (tea tree) y B (mirra) por medio de un generador de números aleatorios por computadora.

Cada paciente recibió un irrigante diferente, y la doble ceguedad del estudio se cumplió, pues ni el paciente ni el operador conocían que irrigante se utilizaba pues la jeringa estuvo cubierta con cinta.

Procedimiento clínico

Se obtuvieron los datos del periodontograma de la historia clínica; en el paciente se realizaron mediciones clínicas basales que incluyeron profundidad al sondeo, sangrado al sondeo, encía queratinizada para obtener la medida de inserción clínica existente, con la Sonda Periodontal codificada Carolina del Norte 15 mm (UNC 15) Marca Hu-Friedy® USA, graduada en mm, así como el registro de movilidad dentaria, datos que se vaciaron en la hoja de recolección de datos.

Se realizó la Fase I del tratamiento periodontal, los pacientes recibieron un Programa de Higiene Oral personalizado, técnica de cepillado, uso de hilo dental sin cera, y se les pidió evitar cualquier uso de enjuague bucal o ingesta de antibióticos durante 6 meses. Se realizó el detartraje con el equipo de ultrasonido (Modelo Varios 350® NSK, Japan), en una sesión.

En la siguiente cita, se anestesió al paciente con jeringacarpule Marca 35 Hu-Friedy®, USA, cartuchos de lidocaína con epinefrina al 2% Zeico®, México y aguja corta calibre 30 Kendall

Monoject®. Luego se realizó el curetaje cerrado, raspado y alisado radicular en toda la boca con Curetas Gracey 3-4, 5-6, 7-8, 9-10, 11-12 y 13-14 Marca HuFriedy® USA, adecuadas al órgano dentario a tratar, irrigando durante el procedimiento y al final alrededor de cada diente por goteo, con una de las soluciones colocada en una jeringa hipodérmica estéril (B D Plastipak®) México, cubierta con adhesivo para el cegamiento, con 5 ml de la solución experimental Grupo A tea tree (*Melaleuca alternifolia*) 365™ Every Day Value 100% puro tea tree aceite, Whole Food Markets Austin Tx, Grupo B aceite de mirra (*Commiphora myrrha*) Aura Cacia® distributed de Frontier Natural Products Co OpNorway, IA; para cada diente durante 5 minutos.

Se aplicó presión con gasa estéril en la encía circundante de cada órgano dentario intervenido después de 5 min de depósito del irrigante, y se le pidió al paciente que no se enjuagara, cepillara, tomara agua o ingiriese alimento por al menos una hora. A cada paciente se le pidió regresar al mes, tres meses y sexto mes posterior al procedimiento para registrar las mediciones clínicas postoperatorias en la hoja de recolección de datos.

En todas las citas postoperatorias a las que los pacientes regresaron, se les cuestionó si habían usado algún medicamento, enjuague, fumado o realizado alguna actividad que interfiriera con la calidad de los datos en el estudio.

Se realizaron las pruebas de hipótesis y estimación de parámetros para las 4 variables con la prueba de Kolmogorov Smirnov para observar el comportamiento de los datos con el programa SPSS®18. Todas las pruebas estadísticas se manejaron con un alfa de 0.05. En la movilidad dentaria, no se demostró normalidad de datos, por lo que se utilizó una prueba no paramétrica U Mann-Wilcoxon bilateral para el análisis intergrupos. En las variables restantes: encía insertada, profundidad al sondeo y sangrado al sondeo, se demostró normalidad de datos, por lo que se utilizó la t de student para su análisis estadístico.

Resultados

Movilidad: No se identificaron diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los períodos entre los 2 grupos de estudio ($p \leq .05$). Ambos grupos comenzaron de una manera similar y tuvieron un comportamiento bastante parecido a través de los diferentes períodos de tiempo en el que se evaluó. (Figura1)

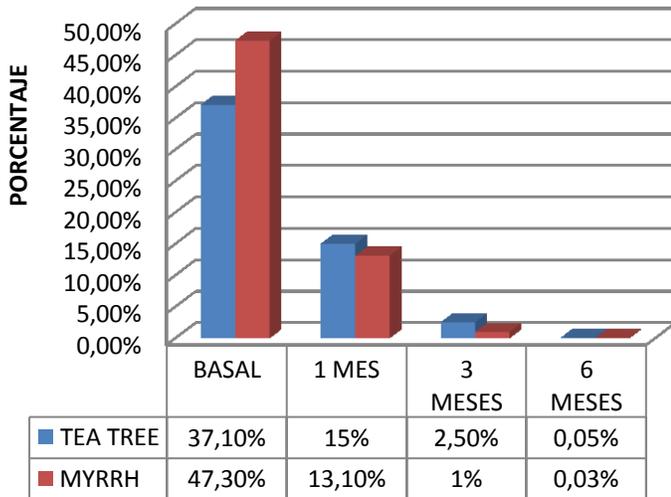


Figura 1. Movilidad total para ambos grupos, expresada en porcentaje.

Encía insertada, profundidad al sondeo y sangrado al sondeo. Se evaluaron las tres variables restantes con la prueba de t de Student, no hubo significancia estadística en ninguna de ellas ($p \leq .05$), las figuras 2, 3 y 4 muestran la reducción clínica de los parámetros periodontales evaluados, mostrando comportamiento similar en todas y en cada uno de los períodos de tiempo en que fueron evaluadas.

Discusión

En este estudio se presentan los efectos del uso de dos diferentes soluciones no reportadas como irrigantes en terapia periodontal no quirúrgica. De acuerdo al planteamiento de la hipótesis, no hay diferencia en los resultados obtenidos entre los dos grupos, ya que mostraron resultados similares en los parámetros periodontales evaluados y en la evolución de ellos a través del tiempo. Se pudo demostrar que la solución estéril de tea tree y

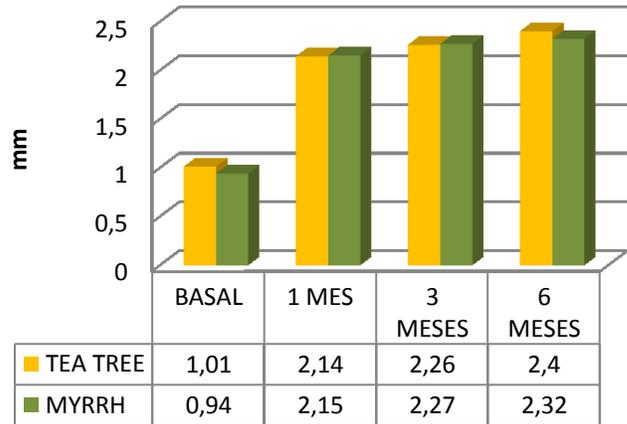


Figura 2. Encía insertada total para ambos grupos, expresada en milímetros.

mirra son igual de efectivas en la terapia periodontal no quirúrgica y son una excelente opción como irrigantes y que su acción es útil para reducir los parámetros periodontales.

Los resultados clínicos de este estudio muestran concordancia con los resultados reportados en la literatura^{8-10,12} en cuanto a profundidad al sondeo, inserción clínica gingival y sangrado al sondeo. En nuestro estudio encontramos mejoría en profundidad al sondeo entre 1.11 y 1.15 mm para bolsas periodontales con una profundidad al sondeo basal de 4 a 6 ó más mm.

En cuanto a inserción clínica hubo una ganancia de esta entre 1.38 mm contra 0.1 mm que se presentó de manera general en la medición basal. En el grupo de tea tree hubo una reducción del sangrado al sondeo del 88.25% y 100% en la medición basal contra 1 mes y 3 meses respectivamente.

El grupo de Mirra mostro una reducción al sangrado al sondeo del 95.43% a 1 mes, y en los siguientes una disminución del 100 %, hecho que indica que en salud no hay inflamación y por lo tanto el sangrado al sondeo fue eliminado en su totalidad.

En un estudio doble ciego, Soukolis y cols.²⁶ compararon el uso de gel a manera de dentífrico cepillado en los dientes por 2 minutos, emplearon gel de tea tree al 2.5%, gel de clorhexidina, y un placebo. Se hicieron mediciones basales, a 4 semanas y a 8 semanas del índice gingival, el

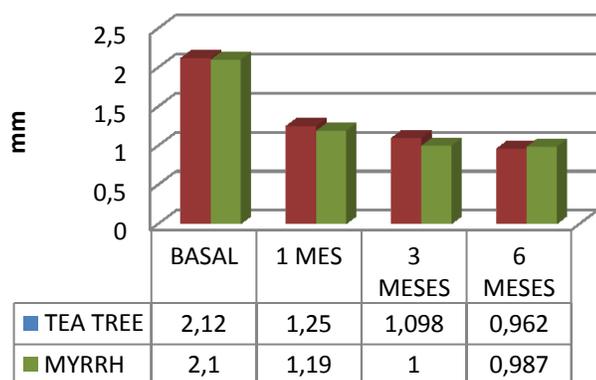


Figura 3. Profundidad al sondeo total para ambos grupos, expresada en milímetros.

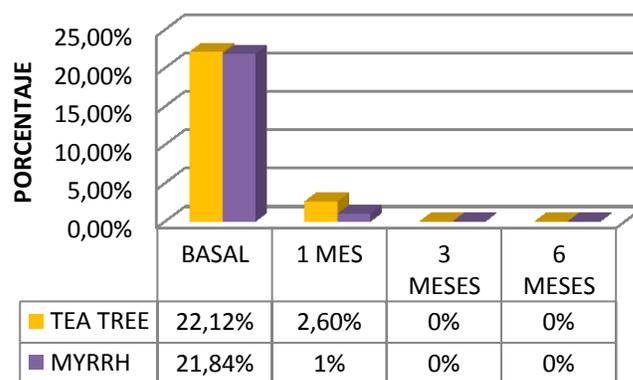


Figura 4. Sangrado al sondeo total para ambos grupos, expresada en porcentaje

índice de sangrado y el índice de placa. Los resultados indicaron que el grupo que contenía el gel de tea tree fue el que obtuvo mejores resultados en cuanto a reducción del índice de sangrado a las 4 y 8 semanas, lo que concuerda con nuestro estudio a las 4 semanas. Acorde a nuestro estudio, Krück y cols.⁹ utilizaron yodo povidona en terapia periodontal no quirúrgica en una sola cita suministrada subgingivalmente durante la terapia con una jeringa con 5 ml de solución y concluyeron no haber observado diferencias estadísticas entre ambos grupos.

Hernández y cols.¹⁴ en un estudio con terapia periodontal no quirúrgica y quimioterapéuticos, irrigados subgingivalmente observaron reducción en todos los parámetros periodontales, lo que es acorde a este estudio, y se concluyó que el control exclusivo de antisépticos no sustituye al desbridamiento mecánico subgingival, sino que son complementarios. Ambos irrigantes presentaron mejoría clínica en ganancia de encía insertada, disminución de movilidad, profundidad al sondeo y de sangrado en los períodos estudiados. No hubo diferencia en la efectividad clínica de ambas soluciones, las dos son efectivas para reducir los parámetros periodontales.

Referencias bibliográficas

- Carranza F, Newman M, Takei H, Klokkevoold P. Periodontología Clínica. 10th ed. México: Mc Graw Hill; 2006:722-842.
- Fabrizi S, Barbieri PG, Vignoletti F, Bascones MA. Tratamiento quirúrgico vs terapia periodontal básica: estudios longitudinales en Periodoncia clínica. *Av Periodon Implantol*. 2007;19 (2):161.
- D'Avila G, Carvalho L, Feres-Filho E, Feres M, Leaño A. Oral Health Impacts on Daily Living Related to Four Different Treatment Protocols for Chronic Periodontitis. *J Periodontol* 2005; 76 (10):1751-7.
- Stabholz A, Nicholas AA, Zimmerman GJ, Wikesjö UM. Clinical and antimicrobial effects of a single episode of subgingival irrigation with tetracycline HCL or chlorhexidine in deep periodontal pockets. *J Clin Periodontol* 1998;25(10):794-800.
- Mombelli A. Periodontitis as an infectious disease: specific features and their implications. Review article. *Oral Dis* 2003;9(1):6-10.
- Marsh PD. Plaque as a biofilm: pharmacological principles of drug delivery and action in the sub and supragingival environment. Review article. *Oral Dis* 2003;9(1):16-22.
- Segelnick S, Weinberg M. Reevaluation of Initial Therapy: When Is the Appropriate Time?. *J Periodontol* 2006;77(9):1598-601.
- Rodrigues I, Machion L, Casati M. Clinical Evaluation of the Use of Locally Delivered Chlorhexidine in Periodontal Maintenance Therapy. *J Periodontol* 2007;78(4):624-8.
- Krück C, Eick S, Knöfler GU, Purschwitz RE, Jentsch HF. Clinical and Microbiologic Result 12 Months After Scaling and Root Planning with Different Irrigation Solutions in Patients with Moderate Chronic Periodontitis: A Pilot Randomized Trial. *J Periodontol* 2012;83(3):312-20.
- Tüter G, Serdar M, Kurtis B, Walker S, Atak A, Toyman U, Pinar S Aykan T. Effects of Scaling and Root Planing and Subantimicrobial Dose Doxycycline on Gingival Crevicular Fluid Levels of Matrix Metalloproteinase-8, -13 and Serum Levels of HsCRP in Patients With Chronic Periodontitis. *J Periodontol* 2010;81(8):1132-9.
- Hoang T, Jorgensen MG, Keim RG, Pattison AM, Slots J. Povidone-iodine as a periodontal pocket disinfectant. *J Periodont Res*. 2003; 38 (3):311-7.
- Sahrmann P, Puhon MA, Attin T, Schmidlin PR. Systematic review on the effect of rinsing with povidone-iodine during nonsurgical periodontal therapy. *J Periodon Res*. 2010; 45 (2): 153-64.

- 13 Slots J. Selection of antimicrobial agents in periodontal therapy. *J Periodont Res.* 2002; (37):389–98.
- 14 Hernández M, Tudón T, Guerrero A, Torres B. Estudio clínico comparativo en la eficacia del uso de Triclosán vs Clorhexidina en pacientes adultos con enfermedad periodontal activa. *Oral Dis.* 2012; 13 (40):826-30.
- 15 Trombelli L, Tatakis D. Periodontal diseases: current and future indications for local antimicrobial therapy. Review article. *Oral Dis.* 2003; 9(1):11–5.
- 16 Etienne D. Locally delivered antimicrobials for the treatment of chronic periodontitis. Review article. *Oral Dis.* 2003;9 (1):45–50.
- 17 Addy M, Martin MV. Systemic antimicrobials in the treatment of chronic periodontal diseases: a dilemma. Review Article. *Oral Dis.* 2003;9 (1):38–44.
- 18 Machado NR, Santos Ferraz RH, Mendonca A, Lima S, Seabra FA, Gomes R J, Mateus L, Ferraz V, Barros L. Acaricide effect of the *Melaleuca alternifolia* essential oil on *Otodectes cynotis*. *R. bras. Ci. Vet.* 2010;19(3):144-8.
- 19 Oliveira A, Fontana A, Negrini T, Nogueira M, Bedran T, Spolidorio L, Spolidorio D, Andrade C. 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. Pl. Med., Botucatu* 2011;13(4):492-9. Portuguese.
- 20 Juiz P, Alves R, Barros T. Uso de produtos naturais como coadjuvante no tratamento da doença periodontal. *Braz J Pharmacogn* 2010;20(1):134-9. Portuguese.
- 21 Mickiene R, Bakutis B, Baliukoniene V. Antimicrobial activity of two essential oils. *Ann Agric Environ Med* 2011;18(1):139–44.
- 22 Sadr L, Raouf K, Heady R, Yazdani D. The effect of German chamomile (*Marticanarecutita* L.) extract and tea tree (*Melaleuca alternifolia* L.) oil used as irrigants on removal of smear layer: a scanning electron microscopy study. *Int Endod J.* 2006; 39(3):190-5.
- 23 Sushma J, Prashant J. Newer Root Canal Irrigants in Horizon: A Review. *Int J Dent.* 2011:1- 9.
- 24 Claffey N. Essential oil mouthwashes: a key component in oral Health management. *J Clin Periodontol.* 2003;30(5):22-4.
- 25 Carson C, Mee B, Riley T. Mechanism of Action of *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil on *Staphylococcus aureus* Determined by Time-Kill, Lysis, Leakage, and Salt Tolerance Assays and Electron Microscopy. *J American Society for Microbiology. Antimicrob Agents Chemother.* 2002;46 (6):1914–20.
- 26 Soukalis S, Hirsch R. The effects of a tea tree oil-containing gel on plaque and chronic gingivitis. *Aust Dent J* 2004;49(2):78-83.
- 27 Carson C, Riley T. Safety, efficacy and provenance of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) oil. Review article. *Contact Dermatitis* 2001;45:65–7.
- 28 Moreira FT, Signoreti GT, Morini CC, Groppo F, Nobre FG, Cortelli J, Cogo K. Evaluation of *Melaleuca alternifolia* activity on growth and gene expression of *Porphyromonas gingivalis*. *Braz J Periodontol* 2012; 22(1):80-6.
- 29 Cavalcanti Y, Perez A, Xavier G, Almeida L. Efeito inibitório de óleos essenciais sobre microrganismos do canal radicular. *Rev Odontol UNESP, Araraquara* 2011;40(5):208-14. Portuguese.
- 30 Pereira A, Cardoso M, De Abreu R, De Moraes A, De Lima GG. Chemical characterization and inhibitory effect of essential oils on the growth of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Ciênc. agrotec., Lavras.* 2008;32(3):887-93.
- 31 Costa ACBP, Teodoro GR, Ferreira TM, Silva FS, Maria A, Khouri S. Antifungal activity of *Melaleuca alternifolia* essential oil on yeasts isolated from HIV positive pregnant women with oral candidiasis. *Rev Inst Adolfo Lutz* 2010;69(3):403-7.
- 32 Lawrence H, Palombo E. Activity of essential oils against *Bacillus subtilis* Spores. *J. Microbio. Biotechnol* 2009;19(12):1590-5.
- 33 Kanlayavattanukul M, Lourith N. Therapeutic agents and herbs in topical application for acne Treatment. Review Article. *Int J Cosmet Sc.* 2011;33(4): 289–97.
- 34 Ninomiya K, Maruyama N, Inoue S, Ishibashi H, Takizawa T, Oshima H, Abe S. The Essential Oil of *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree Oil) and Its Main Component, Terpinen-4-ol Protect Mice from Experimental Oral Candidiasis. *Biol. Pharm. Bull.* 2012;35(6): 861–65.
- 35 Lang G, Buchbauer G. A review on recent research results (2008–2010) on essential oils as antimicrobials and antifungals. A review. *Flavour Fragr J.* 2012; 27(1):13–39.
- 36 Budzynska A, Wieckowska-Szakiel M, Sadowska B, Kalembe D, Alska B. Antibiofilm Activity of Selected Plant Essential Oils and their Major Components. *Pol J Microbiol.* 2011; 60(1):35–41.
- 37 Papadopoulos Ch, Carson C, Hammer K, Riley T. Susceptibility of pseudomonads to *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil and components. *J Antimicrob Chemother* 2006, 58(2):449–51.
- 38 Hammer K, Carson C, Riley T. Effects of *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Essential Oil and the Major Monoterpene Component Terpinen-4-ol on the Development of Single- and Multistep Antibiotic Resistance and Antimicrobial Susceptibility. *J American Society for Microbiology. Antimicrob Agents Chemother.* 2012; 56(2):909–15.
- 39 Loughlin R, Gilmore BF, McCarron P, Tunney M. Comparison of the cidal activity of tea tree oil and terpinen-4-ol against clinical bacterial skin isolates and human fibroblast cells. *The Society for Applied Microbiology, Lett Appl Microbiol.* 2008; 46(4):428–33.
- 40 Calcabrini A, Stringaro A, Toccaceli L, Meschini S, Marra M, Colone M, Salvatore G. Terpinen-4-ol, The Main Component of *Melaleuca Alternifolia* (Tea Tree) Oil Inhibits the In Vitro Growth of Human Melanoma Cells. *J Invest Dermatol.* 2004;122:349–60.
- 41 Tipton DA, Lyle B, Babich H, Dabbous MKH. In vitro cytotoxic and anti-inflammatory effects of myrrh oil on human gingival fibroblasts and epithelial cells. *Toxicol In Vitro.* 2003;17 (3):301-10.
- 42 Gomez FR, González MR, Ceballos SA, Tamez GR, Rodriguez PC, Monreal CE, De la Garza RMA. Antimicrobial and Antiinflammatory Potential of the Swedish Herbs Extract. *Eur J Med Plants.* 2011;1(4):107-17.