

UNILEÃO
CENTRO UNIVERSITÁRIO LEÃO SAMPAIO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

ÁLIFE DIÊGO LIMA SILVA

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODULADORA DO ÓLEO ESSENCIAL DE
***Allium sativum L.* (Alho)**

Juazeiro do Norte – CE

2018

ÁLIFE DIÊGO LIMA SILVA

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODULATÓRIA DO ÓLEO ESSENCIAL DE
Allium ativum L. (Alho)**

Artigo Científico apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Biomedicina do Centro Universitário Leão Sampaio, em cumprimento às exigências para a obtenção do grau de bacharel em Biomedicina.

Orientador: Prof^a. Esp. Livia Maria Garcia Leandro

Juazeiro do Norte – CE
2018

ÁLIFE DIÊGO LIMA SILVA

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODULATÓRIA DO ÓLEO ESSENCIAL DE
Allium ativum L. (Alho)**

Artigo Científico apresentado à Coordenação do
Curso de Graduação em Biomedicina do Centro
Universitário Leão Sampaio, em cumprimento
às exigências para a obtenção do grau de
bacharel em Biomedicina.

Orientadora: Prof^a. Esp. Lívia Maria Garcia
Leandro

Data de aprovação: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Esp. Lívia Maria Garcia Leandro
Orientadora

Prof^a. Esp. Rakel Olinda Macedo da Silva
Examinador 1

Prof^o. Esp. Cícero Roberto Nascimento Saraiva
Examinador 2

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODULADORA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Allium sativum* L. (Alho)

Álfe Diêgo Lima Silva¹, Livia Maria Garcia Leandro²

RESUMO

O presente estudo tem como objetivo avaliar a atividade antibacteriana e moduladora do óleo essencial de *Allium sativum* L. (OEAs) associado às luzes de LED. O óleo essencial foi obtido pela metodologia de hidrodestilação e a atividade antibacteriana e moduladora foi executada pelo método de contato gasoso com o uso de luz de LED amarela, azul e vermelha junto com os antibióticos amicacina, ciprofloxacina, gentamicina, norfloxacina, oxaciclina e penicilina. Os testes foram feitos em triplicata e submetidos à análise estatística ANOVA com teste de significância para $p < 0,05$. Para a atividade antibacteriana não houve inibição do crescimento das cepas testadas e para as combinações OEAs + antibiótico + luzes de LED (modulação da resistência antibacteriana) diante de linhagens multirresistentes de *Escherichia coli* 27 e *Staphylococcus aureus* 358 o melhor desempenho se mostrou com os antibióticos ciprofloxacina e norfloxacina, respectivamente. Esses resultados tornam-se importantes na colaboração com futuras pesquisas para novas formas de tratamento de doenças provocadas por bactérias multirresistentes.

Palavras-chave: *Allium sativum* L. Atividade antibacteriana. Luzes de LED. Produtos naturais.

ANTIBACTERIAL AND MODULATOR ACTIVITY OF THE ESSENTIAL OIL OF *Allium sativum* L. (Garlic)

ABSTRACT

The present study aims to evaluate the antibacterial and modulatory activity of the essential oil of *Allium sativum* L. (OEAs) associated with LED lights. The essential oil was obtained by the hydrodistillation method and the antibacterial and modulating activity was performed by the gaseous contact method with the use of yellow, blue and red LED light along with the test were done in triplicate and submitted to ANOVA statistical analysis with significance test for $p < 0.05$. For the antibacterial activity, there was no inhibition of the growth of the tested strains and for the OEAs + antibiotic + LED (antibacterial resistance modulation) combinations against multiresistant strains of *Escherichia coli* 27 and *Staphylococcus aureus* 358 the best performance was shown with the antibiotics ciprofloxacin and norfloxacin, respectively. These results become important in collaboration with future research into new forms of treatment of diseases caused by multiresistant bacteria.

Key words: *Allium sativum* L. Antibacterial activity. LED lights. Natural products.

1 Discente do curso de Biomedicina do Centro Universitário doutor Leão Sampaio

2 Professora Especialista em microbiologia do Centro Universitário Doutor Leão Sampaio - UNILEÃO

1 INTRODUÇÃO

As plantas medicinais tem um grande papel na saúde mundial e sua utilização iniciou-se há milhares de anos por pessoas de todas as partes do planeta a fim de tratar as mais diversas enfermidades. A população que faz uso destas as vê como forma alternativa ou complementar aos medicamentos feitos pela indústria, que apesar de se modernizar com o passar dos tempos, observa a continuidade no uso de plantas como solução para as mais variadas patologias (VEIGA-JUNIOR, 2008).

O alho (*Allium sativum* L.) é uma das mais antigas plantas cultivadas pelo homem, iniciado pelas culturas egípcias e indianas há mais de 5000 anos. E para o Brasil é a quarta hortaliça mais importante, visto que a maioria das regiões do país realiza seu cultivo (LUCINI, 2008). Sendo assim, a utilização de plantas para fins medicinais torna-se uma alternativa de tratamento para diversas doenças, uma vez que o acesso a estas é facilitado tanto pelo custo como por sua abrangência no mundo inteiro.

Para a Organização Mundial da Saúde (2010), a resistência bacteriana, em especial no ambiente hospitalar, é vista como um grande problema de saúde uma vez que não se trata de uma prática recente, cabendo aos países monitorar e implantar providências para um melhor entendimento das infecções, além de destinar suas ações às medidas de controle e diagnóstico.

Neste cenário a fototerapia ou terapia luminosa é vista como uma importante aliada no tratamento de diversas patologias, em especial aquelas que acometem a pele, sendo considerada uma das modalidades terapêuticas mais antigas para este fim. A energia que provem da emissão de luz por aparelhos de LED atua diretamente sobre as células, em especial na permeabilidade da membrana celular. Essa luz é trabalhada com comprimentos de onda que variam entre 415 nm e 940 nm, correspondendo à luz azul e infravermelha, respectivamente (MEYER et al., 2010).

Existe uma tendência atual em usar agentes terapêuticos para agirem de forma positiva na reparação dessas doenças, destacando-se o uso de fonte luminosa e indicando a necessidade de avaliar a sua eficácia, mesmo tendo conhecimento de vantagens como a aceleração do processo de cicatrização de feridas, atenuando o aspecto das lesões e reduzindo o risco de infecção (BAROLETE, 2008).

Diante desta perspectiva, o presente estudo se propôs a avaliar, *in vitro*, a atividade antibacteriana e moduladora do óleo essencial de *Allium sativum* L.(alho), frente a linhagens multirresistentes de cepas bacterianas: *Escherichia coli* 27 e *Staphylococcus aureus* 358 submetidas às luzes amarela, azul e vermelha emitidas por aparelhos LED.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL VEGETAL

As amostras de *Allium sativum* L., serão coletadas no município de Porteiras, Ceará, Brasil. Foram identificadas e uma exsicata da espécie foi depositada no Herbário Dárdano de Andrade Lima da Universidade Regional do Cariri - URCA.

2.2 MATERIAL BACTERIANO

Foram utilizadas as linhagens multiresistentes de isolados clínicos *Escherichia coli* 27 e *Staphylococcus aureus* 358. As linhagens foram mantidas em *Agar Infusion Heart* (HIA) e para a realização dos testes as linhagens foram suspensas em tubo de ensaio com água destilada para obtenção de uma suspensão com turvação equivalente a 0,5 da escala de McFarland (1 x 10 a oitava UFC/ml).

2.3 EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Allium sativum* L.

A extração do óleo essencial de *Allium sativum* L. foi realizada pelo método de hidrodestilação utilizando o aparelho tipo *Clevenger*, onde os bulbos do alho serão colocados em um balão de vidro de cinco litros juntamente com dois litros e meio de água destilada, permanecendo em ebulição por duas horas. Foi adicionado o sulfato de sódio anidro ao óleo essencial obtido e armazenado sob-refrigeração de menos 4º Célcus para conservação até a realização das análises (MATOS, 1997).

2.4 IDENTIFICAÇÃO DOS COMPONENTES QUÍMICOS

As análises da composição química dos óleos essenciais obtidos foram realizadas por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG/EM) em aparelhos *Shimadzu*. A identificação dos componentes será realizada pela comparação de seus espectros de massa com os padrões relatados na literatura (ADAMS, 2001).

2. 5 APARELHO DE LED

O aparelho utilizado durante o procedimento experimental foi *Light Emithing Diodes-LED* que é um diodo emissor de luz da marca NEW Estética, o qual possui os espectros de luz amarela, azul e vermelha, permitindo também a combinação destas cores. As luzes utilizadas foram a amarela com comprimento de onda pré-determinado pelo aparelho de 590nm, luz azul 415nm e luz vermelha de 620nm.

2. 6 TESTE DE AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODULADORA POR CONTATO GASOSO

Para realização da semeadura dos microrganismos foram utilizadas placas de petri contendo *Brain Heart Infusion* (BHI) Ágar. Discos de papel filtro semelhantes aos de antibiograma foram colocados no centro de cada placa sobre semeio do tipo tapete e 10 µl do óleo essencial na concentração de 100% foram colocados nas tampas das placas para a determinação dos halos de inibição após incubação de 37° C por 24 horas. Os testes foram realizados e triplicata e para determinação dos halos foi usada uma régua milimétrica.

A realização da atividade moduladora por contato gasoso em placas de petri contendo BHI se deu através da metodologia modificada por Inouye; Takizawa; Yamaguchi (2001). Foram utilizados discos de antibióticos: Amicacina, Gentamicina, Oxacilina, Norfloxacin, Ciprofloxacina e Penicilina. As placas foram invertidas com acréscimo de 10 µl do óleo essencial na concentração de 100% nas tampas permitindo que a partir da volatilização ocorra a interação com os discos e outras placas foram preparadas sem o óleo essencial para posterior comparação. Os testes foram realizados em triplicata e a determinação dos halos de inibição foi feita com auxílio de uma régua milimétrica após incubação em estufa por 24 horas à 37°C.

2. 7 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE MODULADORA COM EXPOSIÇÃO AO LED

A mesma metodologia referente ao teste de avaliação da atividade antibacteriana e moduladora por contato gasoso foi realizada neste teste. As placas foram subdivididas em 4 grupos, onde o primeiro foi submetido à luz de *LED* azul, o segundo grupo à luz de *LED* vermelha, o terceiro foi exposto à luz de *LED* amarela durante vinte minutos cada placa e o quarto grupo não foi submetido às luzes de *LED*. Essas placas foram incubadas a 37°C por 24

horas. Esses testes foram todos realizados em triplicata seguido da determinação dos halos de inibição.

2. 8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram expressos em média aritmética, desvio padrão e avaliados estatisticamente por meio da análise de variância (ANOVA) seguido pelo pos-test *Bonferrini* utilizando o software *GraphPad Prism*, onde as diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

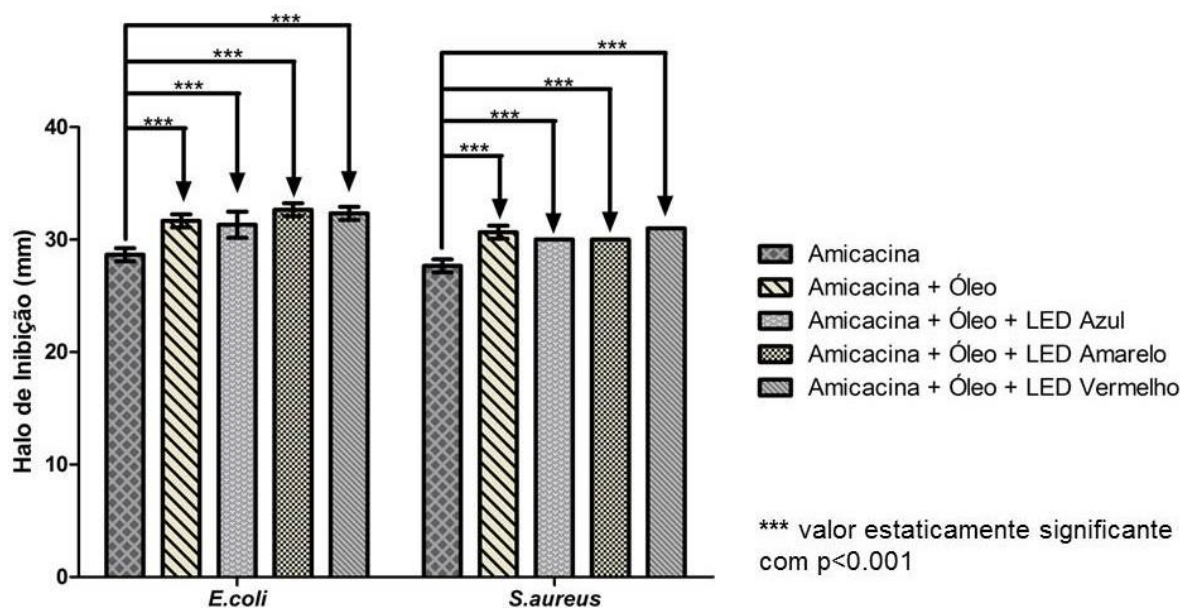
Tem sido amplamente estudada a atividade antibacteriana dos óleos essenciais sobre uma série de microrganismos (LÓPEZ et al., 2005). Após a realização dos testes para a determinação dos halos formados foi verificado que não houve inibição do crescimento das cepas bacterianas testadas (*Escherichia coli* 27 e *Staphylococcus aureus* 358). Assim através da avaliação da atividade antibacteriana, observou-se que o óleo essencial de alho não apresentou atividade considerável sobre esses microrganismos.

Sendo assim, a atividade antibacteriana dos produtos naturais depende de vários fatores como a composição química da planta, seu processamento, condições de estocagem e tipo de microrganismo em estudo (BERTINI et al., 2005). Como também a atividade antibacteriana do óleo essencial de alho está diretamente relacionada a metodologia empregada nos testes.

Para os testes de modulação, o óleo essencial de alho promoveu halos de inibição de 20 a 42 mm, correspondendo a 94,5% dos halos formados. Os resultados expressos no gráfico a seguir referem-se a testes de disco difusão onde foram utilizados 6 antibióticos em conjunto com o óleo essencial de alho submetidos a exposição de luzes amarela, azul e vermelha de aparelhos LED.

Os gráficos 1 e 2 representam os resultados da modulação dos antibióticos Amicacina e Ciprofloxacina, respectivamente, associados ao óleo essencial de alho e submetidos a luzes de LED. O gráfico 1 mostrou que o óleo essencial de alho apresentou atividade moduladora nas duas cepas testadas: *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (ALENCAR et al., 2015).

GRÁFICO 1: Modulação do antibiótico Amicacina associado ao óleo essencial de alho combinado com luzes de LED amarela, azul e vermelha.

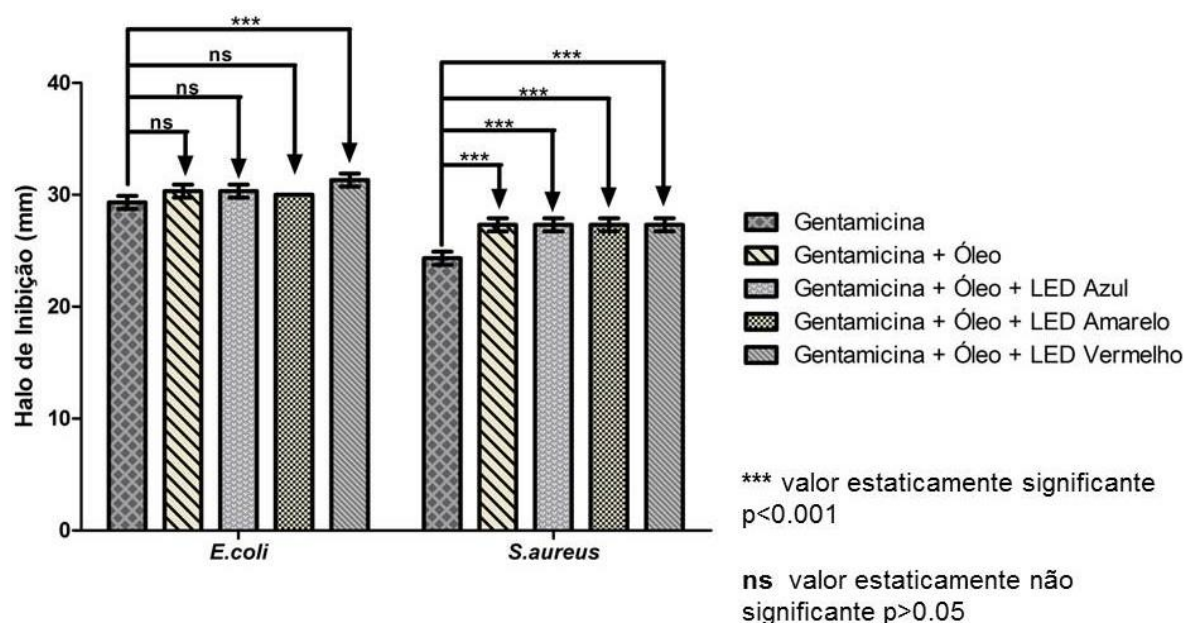


Foi observada sensibilidade ao antibiótico amicacina nas duas cepas testadas, tendo assim a mesma significância (***) para ambas. Dessa forma passa-se a creditar que o efeito antibacteriano relaciona-se, em especial, a modificação na integridade e permeabilidade da membrana celular das bactérias (MARINO et al., 2001).

Para as combinações realizadas com o antibiótico Amicacina diante da bactéria *Escherichia coli* foi um discreto aumento no halo de inibição quando o mesmo foi associado ao óleo essencial de alho e exposto a luz de LED amarelo indicando efeito sinérgico. Resultados semelhantes foram encontrados em testes realizados com a bactéria *Staphylococcus aureus* associando antibiótico e óleo essencial e quando estes foram combinados com a luz de LED vermelho.

Para a literatura, quando testado frente bactérias Gram positivas os produtos de origem vegetal apresentam atividade de modulação mais intensa que diante de bactérias Gram negativas. Porém, no presente estudo foi constatado que houve modulação para os dois tipos bacterianos. Dessa forma as características de modulação relacionam-se aos constituintes fitoquímicos contidos no óleo essencial mediante peculiaridades da parede celular das bactérias (OLIVEIRA et al., 2007).

GRÁFICO 2: Modulação do antibiótico Gentamicina associado ao óleo essencial de alho combinado com luzes de LED amarela, azul e vermelha.

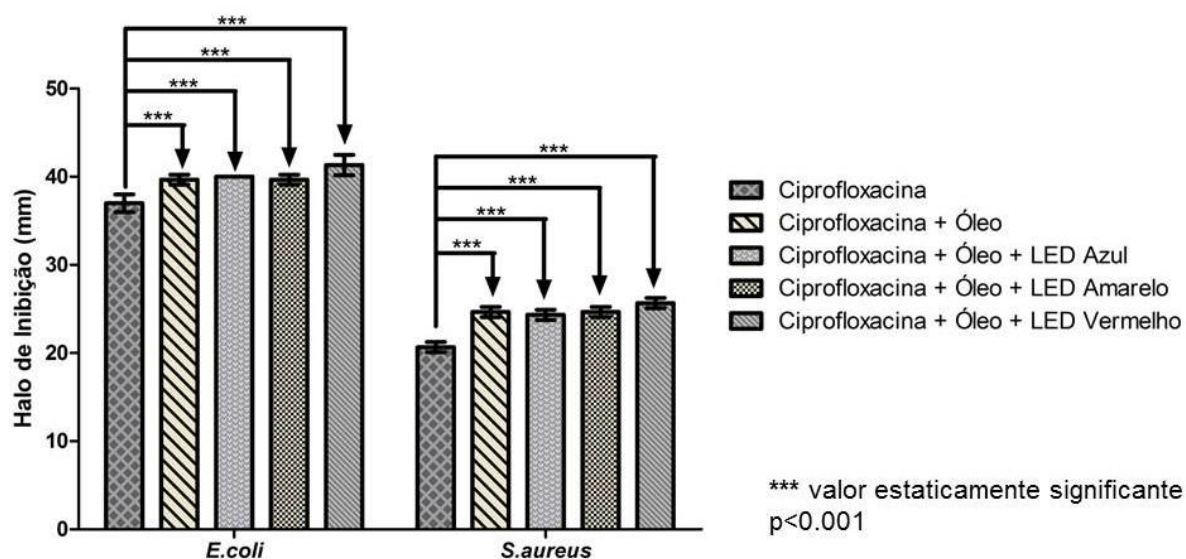


Os testes com antibiótico Gentamicina não apresentaram resultados estatisticamente significantes para a bactéria *Escherichia coli* quando submetidos as luzes de LED amarela e azul. O halo de inibição formado após exposição ao LED azul gerou resultados iguais aos testes feitos utilizando apenas o antibiótico associado ao óleo essencial (30 mm para ambos). Quando testado frente à bactéria *Staphylococcus aureus* os resultados se mostraram estatisticamente significantes e não se alterou de acordo com as luzes de LED utilizadas quando comparado à associação antibiótico e óleo essencial.

Diferente dos resultados dos dois primeiros testes referentes à bactéria *E. coli* onde não foi verificada a modulação com as luzes amarela e azul dos aparelhos LED, a luz de cor vermelha mostrou valores estatisticamente significantes. A luz de LED vermelha possui comprimento de onda de 620 nm e por ser uma tecnologia relativamente nova seus efeitos terapêuticos ainda encontra-se em fase de investigação a respeito de seus reais resultados (MEYER, 2010).

A associação de antibióticos com produtos de origem vegetal vem sendo aplicadas com a finalidade de combater a propagação de bactérias patogênicas com resistência aos aminoglicosídeos, cujas combinações alteram o efeito dos antibióticos potencializando a atividade dos mesmos ou revertendo a resistência (COUTINHO et al., 2008).

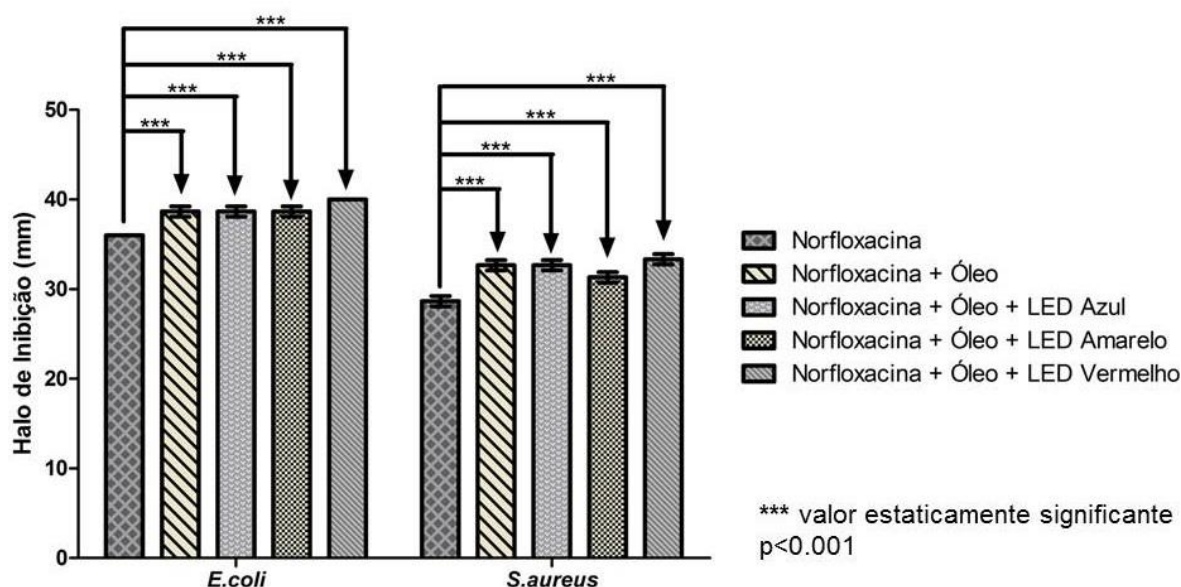
GRÁFICO 3: Modulação do antibiótico Ciprofloxacina associado ao óleo essencial de alho combinado com luzes de LED amarela, azul e vermelha.



Os testes com o antibiótico Ciprofloxacina aliado ao óleo essencial e submetidos as luzes de LED, gerou resultados iguais para as duas cepas bacterianas em escala de significância (***). O óleo essencial é uma mistura complexa, o que torna difícil a adaptação microbiana e este quando usado como agente antimicrobiano proporciona uma menor resistência por parte dos patógenos (DAFERERA et al., 2003).

A modulação da resistência bacteriana através da fototerapia, ou seja, o uso de fontes luminosas acontece devido alterações bioquímicas na membrana celular, causando a sua dissolução ao inibir a respiração celular quando afeta a mitocôndria, além de impedir o processo de divisão e ativando enzimas responsáveis pelo aumento da permeabilidade, bem como o metabolismo celular (GREBENOVA et al., 2003).

GRÁFICO 4: Modulação do antibiótico Norfloxacin associado ao óleo essencial de alho combinado com luzes de LED amarela, azul e vermelha.

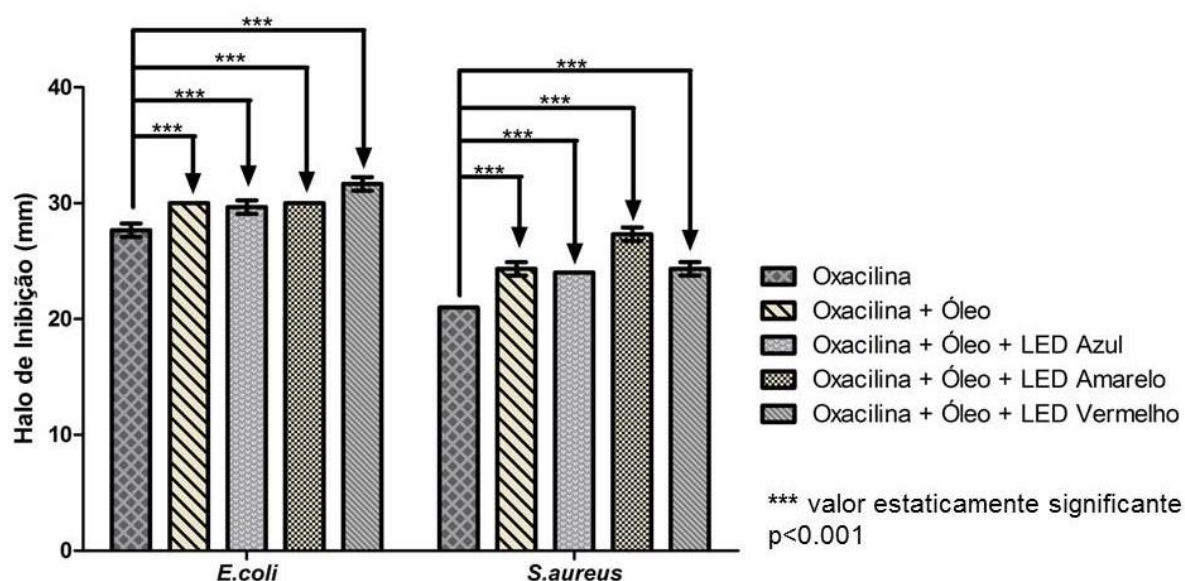


. Para a modulação usando o antibiótico Norfloxacin, todas as combinações mostraram-se sinérgicas frente às bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, exceto quando o antibiótico foi submetido a luz de LED amarela testado com a bactéria *S. aureus*.

Segundo Madigan et al (2004) as bactérias Gram-positivas como *Staphylococcus aureus*, em geral apresentam uma sensibilidade maior aos antibióticos que as bactérias Gram-negativas, como *Escherichia coli*, que apresentam resistência maior devido à complexidade de sua membrana plasmática, cuja função é atuar como barreira à difusão dos componentes hidrofóbicos dos óleos essenciais. Dessa forma, os óleos essenciais possuem maior atividade frente às bactérias gram-positivas (NAILK et al., 2010).

Porém quando associado o antibiótico com o óleo essencial de alho, este apresentou aumento do halo de inibição se comparado ao antibiótico usado sozinho. E para a modulação com luzes de LED, o melhor desempenho aconteceu quando ocorreu a associação entre antibiótico e óleo essencial sob a luz de LED vermelha para as duas cepas testadas.

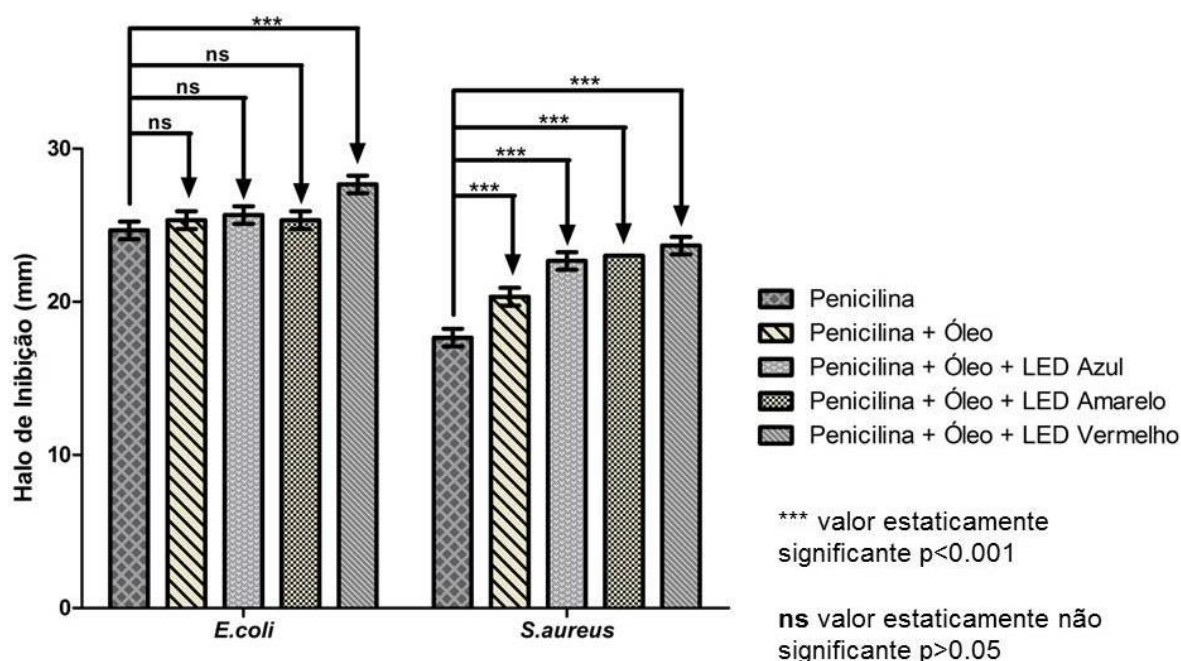
GRÁFICO 5: Modulação do antibiótico Oxacilina associado ao óleo essencial de alho combinado com luzes de LED amarela, azul e vermelha.



Frente *S. aureus*, as combinações do antibiótico Oxacilina aliada a luz de LED amarela mostrou o aumento do halo de inibição. Essa associação entre antibiótico, óleo essencial e luz de LED amarela indica efeito de sinergismo. Para os testes com a bactéria *E. coli* a melhor associação ocorreu entre o antibiótico Oxacilina e óleo essencial quando exposto a luzes de LED vermelha se comparado as demais luzes testadas.

Dessa forma entende-se que o aumento do halo de inibição promovido pela luz de LED vermelha, está relacionado à sua capacidade de penetração profunda, ajudando o antibiótico a agir dentro da célula bacteriana. A luz de LED vermelha além da capacidade de penetração profunda nos tecidos também porta de características anti-inflamatórias, influenciando a liberação de citosinas por macrófagos e outras células (PASCOAL; ISMAEL, 2010).

GRÁFICO 6: Modulação do antibiótico penicilina associado ao óleo essencial de alho combinado com luzes de LED amarela, azul e vermelha.



A combinação Penicilina mais LED de cores amarela, azul e vermelha não apresentou resultados significantes quando testado com a bactéria *E. coli*. Por sua vez, os dados referentes ao teste com *S. aureus* mostraram sinergismos para todas as associações do antibiótico junto com o óleo essencial e as luzes amarela, azul e vermelha dos aparelhos LED, aumentando o halo de inibição frente às cepas multirresistentes dessa bactéria.

Os resultados que apresentaram valores estaticamente não significantes justificam-se pela estrutura das bactérias Gram-negativas, cuja membrana externa apresenta a forma de envelope, dificultando assim a ação de produtos naturais e outras drogas antimicrobianas (HOLLEY; PATEL, 2005).

De acordo com estudo realizado por Rodrigues et al (2012), os óleos essenciais influenciam de forma positiva a atividade de antibióticos, podendo ser utilizado como auxiliar na antibioticoterapia diante de patógenos bacterianos do trato respiratório. Esse estudo também evidenciou que os óleos essenciais melhoraram a ação de antibióticos como Penicilina para as cepas testadas, indicando efeito sinérgico.

4 CONCLUSÃO

Demonstrou-se com base nos resultados obtidos nesse estudo que o óleo essencial de *Allium sativum L.* quando associado a antibióticos e luzes de LED possui efeito de modulação

da resistência bacteriana. Dessa forma, esses resultados tem sua importância na colaboração com outras pesquisas relacionadas ao uso de fototerapia e óleo essencial de plantas no controle de infecções provocadas por bactérias multirresistentes.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy. **Carol Stream, Illinois: Allured Publishing Corporation**, 2001.
- ALENCAR, C. B. et al. Efeito modulador do extrato de plantas medicinais do gênero *Spondias* sobre a resistência de cepas de *Staphylococcus aureus* à Eritromicina. **Revista de ciências farmacêuticas básicas e aplicada**, v. 36, p. 111-116, 2015.
- BAROLETE, D. Light-emitting diodes (led) in dermatology. **Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery**, v.27, p. 227-238, 2008.
- BERTINI, L.M. et al. Perfil de sensibilidade de bactérias frente a óleos essenciais de algumas plantas do nordeste do Brasil. **Revista Infarma**, v.17, n.314, p.80-3, 2005.
- COUTINHO, H. D. M. et al. A atividade antiestafilocócica in vitro de *Hyptis martiusii* Benth contra estirpes de *Staphylococcus aureus* resistentes à metilicina MRSA. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n.1, p. 670-75, 2008.
- DAFERERA, D. J., et al. The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. And *Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis*. **Crop protection**, v.22, n. 1, p. 39-44, 2003.
- GREBENOVA, D. et al. Mitochondrial and endoplasmic reticulum stress- induced apoptotic pathways are activated by 5-aminolevulinic acid-based photodynamic therapy in HL60 leukemia cells. **J Photochem Photobiol B: Biology**, v. 69, p. 71-85, 2003.
- HOLLEY, R.A.; PATEL, D. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. **Food and Nutrition Sciences**. v. 22, n. 4, p. 273-292, 2005.
- INOUE, S.; TAKIZAWA, T.; YAMAGUCHI, H. Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 47, 565-573, 2001.
- LÓPEZ, P. et al. Solid- and vapor-phase antimicrobial activities of six essential oils: Susceptibility of selected foodborne bacterial and fungal strains. **Journal of Agricultural and food chemistry**, v. 53, n. 17, p. 6939-6946, 2005.
- LUCINI, M. A. Alho roxo no Brasil: um pouco da história dos números desse nobre. **Revista Nosso Alho**, v. 1, n. 1, 2008.

MADINGAN, M. T. et al. **Microbiologia de Brock**. 10 ed. São Paulo: Prentice Hall, 2004.

MARINO, M. et al. Impedance measurements to study of essential oils from Lamiaceae and compositae. **International Journal of food Microbiology**, v. 67, n. 3, p. 187-195, 2001.

MATOS, F. J. A. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. 2ª Ed. – Fortaleza: Edições UFC, 1997.

MEYER, P. F. D. et al. Avaliação dos efeitos do LED na cicatrização de feridas cutâneas em ratos Wistar. **Fisioterapia Brasil**, v. 11, n. 6, 2010.

NAIK, M.I, et al. Antibacterial activity of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) oil against some selected pathogenic bacterias. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 1, n.1, p 535-538, 2010.

OLIVEIRA, G.F. et al. Antimicrobial activity of *Syzygium cumini* (Myrtaceae) leaves extract. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.38, p.381-384, 2007.

OMS - ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Adverte sobre doenças resistentes a medicamentos, 2010. Disponível em: <http://unicrio.org.br/oms-adverte-sobre-doencas-resistentes-a-medicamentos/> Acesso em 28 de outubro, 2017.

PASCHOAL, F. M.; ISMAEL, A. P. P. B. A ação da luz no tratamento da acne vulgar. **Surg Cosmet Dermatol**, v.2, n. 2, p. 117-23. 2010.

RODRIGUES, F. F. G. et al. Composição Química, atividades antibacterianas e antifúngicas de óleo essencial de *Cordia verbenácea* DC folhas. **Pharmacognosy Research**, v.4. n. 3, p. 161-165, 2012.

VEIGA-JUNIOR V. F. Estudo do consumo de plantas medicinais na Região Centro-Norte do Estado do Rio de Janeiro: aceitação pelos profissionais de saúde e modo de uso pela população. **Rev Bras Farmacogn** v.18, p. 308-313, 2008.