

UNILEÃO
CENTRO UNIVERSITÁRIO LEÃO SAMPAIO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

ANA LETICIA VIDAL MADEIRO DE LUCENA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODULATÓRIA DO ÓLEO
ESSENCIAL DO BOTÃO FLORAL DE *Cordia verbanacea* ASSOCIADO À LUZ DE
LED**

Juazeiro do Norte – CE
2018

ANA LETÍCIA VIDAL MADEIRO DE LUCENA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODULATÓRIA DO ÓLEO
ESSENCIAL DO BOTÃO FLORAL DE *Cordia verbanacea* ASSOCIADO À LUZ DE
LED**

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: Dr. Edinardo Fagner Ferreira
Matias

Juazeiro do Norte – CE
2018

ANA LETÍCIA VIDAL MADEIRO DE LUCENA

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
ANTIBACTERIANA E MODULATÓRIA DO ÓLEO ESSENCIAL DO BOTÃO
FLORAL DE *Cordia verbanacea* ASSOCIADO À LUZ DE LED**

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: Dr. Edinardo Fagner Ferreira
Matias

Data de aprovação: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Edinardo Fagner Ferreira Matias
Orientador

Prof. Esp. Cícero Roberto Nascimento Saraiva
Examinador 1

Profa. Ma. Tassia Thaís Al Yafawi
Examinador 2

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODULATÓRIA DO ÓLEO ESSENCIAL DO BOTÃO FLORAL DE *Cordia verbanacea* ASSOCIADO À LUZ DE LED

LUCENA, Ana Letícia Vidal Madeiro¹, MATIAS, Edinardo Fagner Ferreira²

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade antibacteriana e modulatória do óleo essencial do botão floral de *Cordia verbanacea* (OEBFCv) associado à luz de LED. A obtenção do óleo essencial se deu através de um processo de hidrodestilação. Os testes antibacterianos e modulatórios foram realizados pelo método de microdiluição com determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), utilizando o OEBFCv, luzes de LED e antibióticos da classe dos aminoglicosídeos frente a culturas bacterianas padrão e resistente. Os testes para avaliação da atividade antibacteriana do OEBFCv apresentaram $CIM \geq 512$ µg/mL, indicando potencial antibacteriano clinicamente irrelevante. Entretanto, os resultados da modulação da resistência bacteriana, quando combinado OEBFCv, LED e aminoglicosídeos frente linhagens bacterianas resistentes, apresentaram efeitos sinérgicos para *E. coli* quando feita a associação das LED amarela e azul com Amicacina e Gentamicina, sendo que para Gentamicina a não exposição ao LED também resultou em sinergismo. Para *S. aureus* houve atividade sinérgica na combinação da Amicacina e da luz amarela de LED, enquanto que para a gentamicina todas as combinações obtiveram esse efeito. Os resultados foram expressos pela média geométrica e desvio padrão sendo submetidos à análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste de significância Bonferroni, considerando diferença significativa para quando $p < 0,001$. Portanto, os dados apresentados neste estudo contribuem para a elucidação do potencial biológico referente à atividade antibacteriana e moduladora da resistência a antibióticos, além disso, a partir deles, novas pesquisas promissoras podem ser desenvolvidas visando encontrar uma nova forma de tratar patologias causadas por bactérias multirresistentes com o uso de derivados de *Cordia* combinado com a fototerapia.

Palavras-chave: *Cordia verbanacea*. Atividade antibacteriana. Light Emitting Diode (LED).

¹ Discente em Biomedicina, lettycia_bessa@hotmail.com, Centro Universitário Leão Sampaio- UNILEÃO

² Docente Doutor, ednardo@leaosampaio.edu.br, Centro Universitário Leão Sampaio-UNILEÃO

EVALUATION OF THE ANTIBACTERIAL AND MODULATORY ACTIVITY OF THE ESSENTIAL OIL OF THE FLORAL BUTTON OF *Cordia verbanacea* ASSOCIATED WITH LED LIGHT

LUCENA, Ana Letícia Vidal Madeiro³, MATIAS, Edinardo Fagner Ferreira⁴

ABSTRACT

The present study aimed to evaluate the antibacterial and modulatory activity of the essential oil of floral bud *Cordia verbanacea* (OEBFCv) associated with LED light. The essence of the essential is given through the hydrodistillation process. Antibacterial tests and modulates were supplied using by microdilution method with determined the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) OEBFCv, LED lamps and aminoglycoside class antibiotics against a standard and resistant bacterial culture. The tests for evaluation of the antibacterial activity of OEBFCvestre CIM $\geq$ 512 μ g/mL indicated a clinically irrelevant antibacterial potential. However, the results of bacterial modulation when combining OEBFCv, LED and aminoglycosides in resistant bacterial strains could be caused by *E. coli* when an association with LED yellow and blue with ampicillin and gentamicin was performed, whereas for gentamicin a LED exposure also resulted in synergism. For the *S. aureus* there was a synergistic movement in the combination of light and yellow LED light, whereas for a gentamicin all combinations obtained this effect. The results were analyzed by the geometry series along the analysis of variance (ANOVA), followed by the Bonferroni significance test, and the variation was significant when $p < 0.001$. Therefore, the data compared in this topic contributed to the elucidation of the biological potential for the antibacterial and modulatory activity of antibiotic resistance, in addition, from, promising new research may come from finding a new way of treating pathologies caused by bacteria with the use of derivatives of *Cordia* associated with a phototherapy.

Key words: *Cordia verbanacea*. Antibacterial activity. Light Emitting Diode (LED).

³ Discente em Biomedicina, lettycia_bessa@hotmail.com, Centro Universitário Leão Sampaio- UNILEÃO

⁴ Docente Doutor, ednardo@leaosampaio.edu.br, Centro Universitário Leão Sampaio-UNILEÃO

1 INTRODUÇÃO

Cordia verbenacea DC, conhecida popularmente como “erva baleeira”, pertence à Família Boraginaceae e é uma das espécies estudadas a fim de extrair produtos capazes de originar novos fitoterápicos a partir de seus compostos, levando em consideração que na medicina popular *Cordia verbenacea* é usada com ações de anti-inflamatório, analgésico, antirreumático, hemostático e é utilizada empiricamente no tratamento de tumores, úlceras e infecções bacterianas (ALVES et al., 2014; MATIAS et al., 2010a; MATIAS et al., 2010b; VENTRELA et al., 2008).

Ademais, com o desenvolvimento e disseminação de microrganismos resistentes, diversos produtos naturais estão sob avaliação no intuito de descobrir novos agentes antimicrobianos que possam atuar no combate desses microrganismos ou que possuam a capacidade de modificar a atividade do antimicrobiano. A modulação e reversão da resistência são mecanismos esperados para esse fim (PENHA et al., 2011; TINTINO et al., 2015).

Segundo Moreira (2009) o Light Emithing Diodes- LED é um recurso fototerápico bastante difundido no tratamento de lesões dermatológicas. Esta tecnologia consiste em um diodo emissor de luz, capaz de gerar uma potência de irradiação extremamente segura, com pouco uso de energia, vida útil extensa, intensidade baixa e boa potência.

A eletrotermofototerapia é um tipo de terapia física que faz uso da corrente elétrica, do calor e da luz como agentes terapêuticos. Os efeitos biológicos dependem do comprimento de onda, dose, intensidade, tempo de irradiação, modo contínuo ou pulsado da onda e padrão de pulso. Também é considerado o intervalo entre os tratamentos e o número total de sessões realizadas. No que se diz respeito à segurança, o LED é seguro, não é térmico, tóxico ou invasivo, não existindo na literatura relatos de qualquer efeito colateral (AGNE, 2013; BAROLET, 2008).

A pesquisa por novas alternativas de tratamento para infecções bacterianas tornaram-se importantes em razão do alto custo das drogas disponíveis no mercado e que sejam tão ou mais eficazes contra a possibilidade de resistência bacteriana do que as opções atuais. Diante disso, o presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade antibacteriana e moduladora do óleo essencial do botão floral de *Cordia verbenacea* associado à luz de LED.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 TIPO DE ESTUDO

O presente trabalho foi realizado a partir de um estudo experimental, de caráter qualitativo e quantitativo.

2.2 SELEÇÃO, COLETA E IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

Os botões florais *Cordia verbenacea* DC. foram coletadas na área da Chapada do Araripe no município de Crato, Ceará, Brasil. O material vegetal foi identificado e preparado uma exsiccata da espécie que foi depositada no Herbário Prisco Bezerra da Universidade Federal do Ceará (UFC) gerando número de registro 044171.

2.3 ÓLEO ESSENCIAL

2.3.1 Extração do óleo essencial

Amostras dos botões florais frescos foram submetidas ao processo de hidrodestilação, durante duas horas em um aparelho do tipo Clevenger (MATOS, 1999). O óleo essencial obtido foi recolhido e, em seguida, retirado à umidade com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4), e mantido refrigerado a $< 4^\circ \text{C}$, até ser analisado.

2.4 TESTES ANTIBACTERIANOS

2.4.1 Preparo da solução inicial e das soluções de teste.

No preparo da solução inicial, o óleo essencial foi solubilizado em dimetilsulfóxido (DMSO), sendo observadas as seguintes proporções: 10mg de óleo solubilizados em 1mL DMSO, obtendo uma concentração inicial de 10 mg/mL. Em seguida, esta solução foi diluída em água destilada atingindo concentração de óleo de 1024 $\mu\text{g/mL}$ e reduzindo a concentração de DMSO para 10% e a partir desta, efetuou-se diluições seriadas de 1:2, onde DMSO apresentou concentrações $< 5\%$, não manifestando interferência na atividade antibacteriana avaliada.

2.5 MICRORGANISMOS

Os microrganismos utilizados nos testes estão descritos na Tabela 1, indicando seus respectivos perfis de resistência.

Tabela 1. Origem bacteriana e perfil de resistência a antibióticos

Bactéria	Origem	Perfil de Resistência
<i>Staphylococcus aureus</i> SA358	Ferida Cirúrgica	Oxa, Gen, Tob, Ami, Can, Neo, Para, But, Sis, Net
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	INCQS	Ausência de resistência
<i>Escherichia coli</i> EC27	Ferida Cirúrgica	Ast, Ax, Amp, Ami, Amox, Ca, Cfc, Cf, Caz, Cip, Clo, Im, Can, Szt, Tet, Tob
<i>Escherichia coli</i> ATCC10536	INCQS	Ausência de resistência

INCQS – Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde; Ast - Aztreonan; Ax - Amoxicillina; Amp – Ampicillina; Ami - Amicacina; Amox – Amoxicillina; Ca - Cefadroxil; Cfc - cefaclor; Cf - Cefalotina; Caz - Ceftazidima; Clo – Clorafenicol; Can - Canamicina; Szt – sulfametrim; Tet - Tetraciclina; Tob - Tobramicina; Oxa - Oxacillina; Gen - Gentamicina; Neo - Neomicina; Para - paramomicina; But - Butirosina; Sis – Sisomicina; Net – Netilmicina.

2.6 MEIOS DE CULTURA

Foram utilizados nos ensaios biológicos os seguintes meios de cultura: *Heart Infusion Agar* - HIA (Difco Laboratories Ltda.), *Brain Heart Infusion* – BHI (concentração indicada pelo fabricante é 10%). Todos os meios de cultura foram preparados segundo as especificações do fabricante e esterilizados em autoclave de vapor quente.

2.6.1 Preparo e padronização de inóculos bacterianos

Culturas de bactérias ficaram mantidas a 4°C em *Heart Infusion Agar* - HIA. Antes dos testes, as linhagens foram repassadas para o meio HIA e incubadas a 35°C por 24 horas. As linhagens bacterianas passaram por ativação e inoculação em *Brain Heart Infusion* - BHI na concentração recomendada pelo fabricante, e incubação nas mesmas condições citadas anteriormente. Suspensões com crescimento bacteriano foram diluídas em BHI em concentração de 10% até a obtenção de 10^5 céls/mL (JAVADPOUR et al., 1996).

2.7 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM) DO ÓLEO ESSENCIAL DOS BOTÕES FLORAIS DE *Cordia verbenacea* E EXPOSIÇÃO ÀS LUZES DE LED.

Os ensaios para determinação da CIM do óleo essencial foram efetuados utilizando-se do Método de Microdiluição em Caldo, com concentrações variando de 512 a 8 µg/mL.

2.7.1 Execução e leitura dos ensaios

Em cada cavidade com 100 µL do meio de cultura, uma amostra de suspensão bacteriana foi diluída na proporção 1:10. Controles negativos com o meio de cultura, controles positivos (meio + inóculo) e controles de inibição utilizando a solução teste em concentrações de 512 a 8 µg/mL estiveram incluídos nos ensaios. As placas de microdiluição contendo *S. aureus* e *E. coli* foram divididas em 4 grupos, e receberam a denominação de grupo 1 (controle - placas que acompanharam todo o processo experimental sem sofrer exposição à luz utilizada para confirmar a viabilidade das colônias bacterianas), grupo 2 (vermelho – placas que foram expostas a luz vermelha do aparelho de LED), grupo 3 (azul – placas que foram expostas a luz azul do aparelho de LED), grupo 4 (amarelo – placas que foram expostas à luz amarela do aparelho de LED). Cada placa recebeu irradiação por um período de dez minutos com luz azul, amarela e vermelha. As placas preenchidas foram incubadas a 35°C por 24 horas. Para evidenciar a CIM das soluções frente às linhagens bacterianas após a incubação 20 µL da solução indicadora de resazurina sódica foram adicionadas em cada cavidade e as placas passaram por um período de 1 hora em temperatura ambiente para então ser feita a leitura dos resultados. A mudança de coloração azul para rosa devido à redução da resazurina indica o crescimento bacteriano, auxiliando a visualização da CIM, definida como a menor concentração capaz de inibir o crescimento bacteriano, evidenciado pela cor azul inalterada. Os ensaios foram realizados em triplicata (JAVADPOUR et al., 1996; KORELO et al., 2013; MANN; MARKHAM, 1998; PALOMINO et al., 2002).

2.8 AVALIAÇÃO DA INTERFERÊNCIA DO ÓLEO ESSENCIAL SOBRE A RESISTÊNCIA AOS ANTIBIÓTICOS E EXPOSIÇÃO ÀS LUZES DE LED.

Para avaliar o óleo essencial como modulador da resistência bacteriana, a CIM de antibióticos pertencentes à classe de aminoglicosídeos foi avaliada na presença e na ausência do óleo em placas de microdiluição estéreis. Os antibióticos foram avaliados nas concentrações variando de 1024 a 0,5µg/mL.

2.8.1 Execução e leitura dos ensaios

A atividade moduladora dos antibióticos foi realizada com a classe dos aminoglicosídeos onde a concentração inicial correspondeu a 1.024 µg/mL a partir da utilização das cepas bacterianas multirresistentes. Os antibióticos foram diluídos em um volume de 100 µL seriadamente nos poços contendo o meio de cultura BHI e a suspensão com o inóculo da cepa multirresistente, com o produto natural na concentração subinibitória (CIM/8) (COUTINHO et al., 2010). As placas de microdiluição também foram divididas em 4 grupos, e receberam a denominação de grupo 1, grupo 2, grupo 3, grupo 4, como já descrito na última sessão, sendo também expostas a cada luz de LED por 10 minutos (KORELO et al., 2013).

As placas foram incubadas por 24 horas 35 ± 2 °C. Após a incubação a atividade moduladora foi evidenciada pelo uso da solução indicadora de resasurina sódica, onde a mudança da coloração azul para rosa indica o crescimento bacteriano, enquanto que a cor azul inalterada indica a inibição do crescimento bacteriano. Todos os testes foram realizados em triplicatas e posteriormente submetidos à análise estatística.

2.9 EQUIPAMENTO DE LED

O aparelho utilizado durante o procedimento experimental foi um Diodo emissor de luz e LED, da marca Dermaled®. A unidade possui os espectros de luz vermelha, azul e amarela, permitindo também a combinação dessas cores. Cada placa recebeu irradiação por um período de dez minutos com luz azul, amarela e vermelha.

2.10 MODELO ESTATÍSTICO PARA ANÁLISE DA MODULAÇÃO DA RESISTÊNCIA BACTERIANA À AMINOGLICOSÍDEOS

Os resultados da CIM obtidos em triplicata nos testes de modulação da resistência bacteriana foram tabulados em planilha utilizando *Software Microsoft Excel*® 2010. Na análise estatística, os dados foram expressos pela média geométrica e desvio padrão sendo submetidos à análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste de significância Bonferroni, considerando diferença significativa para quando $p < 0,001$, utilizando o software *GraphPad Prisma* 5.0.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os testes para avaliar a atividade antibacteriana, bem como a atividade modulatória do óleo essencial do botão floral de *Cordia verbenacea* (OEBFCv) combinado a luz de LED foram realizados pelo método de microdiluição frente as cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Nesses, a Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi ≥ 512 , indicando, por sua vez, não apresentar potencial antibacteriano de importância clínica.

Entretanto, outros estudos realizados com o óleo essencial das partes aéreas de *Cordia verbenacea* demonstraram bons resultados no controle microbiano de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas pelo método de difusão em Ágar, uma das espécies em questão que teve seu crescimento inibido foi a Gram-positiva *S. aureus* (CARVALHO et al., 2004).

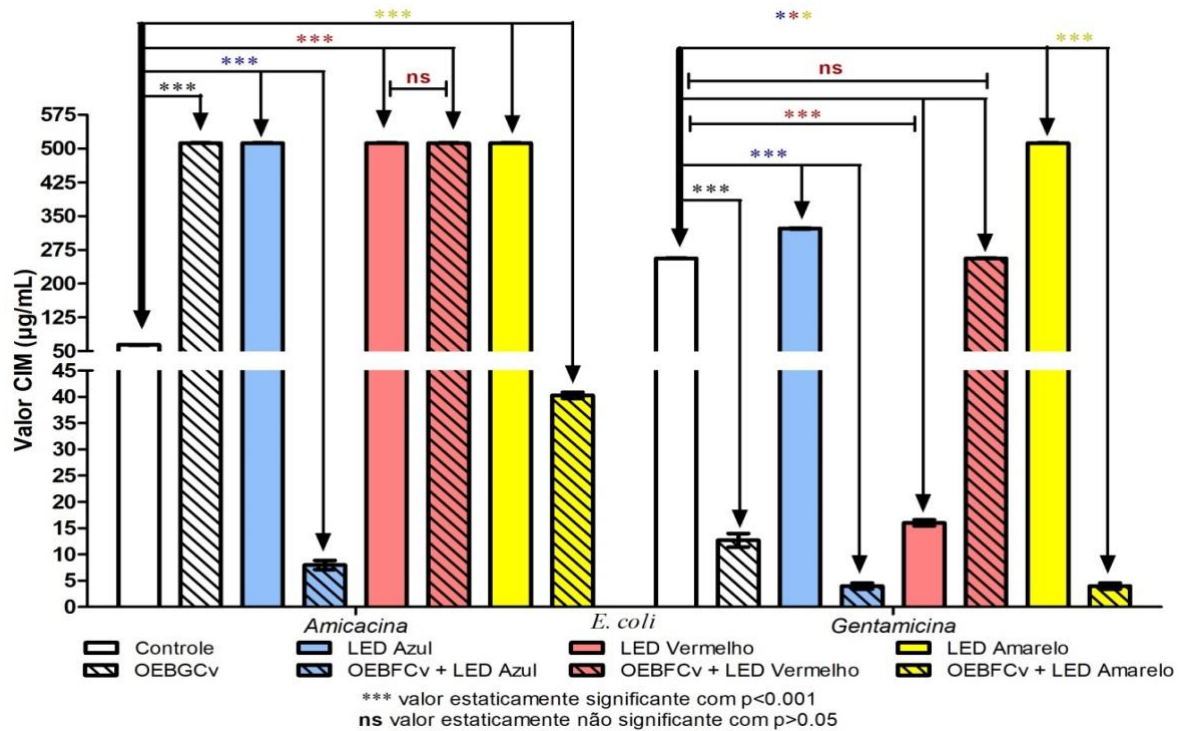
A divergência desses resultados torna-se justificável uma vez que a atividade antimicrobiana de um produto natural está diretamente ligada a uma série de fatores, como: composição química da planta, o processamento pelo qual o material foi submetido, condições de estocagem, tipos de microrganismos em estudo e a metodologia de escolha do pesquisador (BERTINI et al., 2005).

Já os testes de modulação da resistência bacteriana utilizando o OEBFCv em associação com às luzes do aparelho de LED e antibióticos da classe dos aminoglicosídeos demonstraram resultados sigérgicos, antagônicos e indiferentes.

O gráfico 1 representa os resultados da modulação com a Amicacina e Gentamicina em combinação com o OEBFCv e às luzes de LED frente a bactéria *E. coli*. Onde para Amicacina houve efeito antagônico quando se fez a junção do OEBFCv com o antibiótico em questão sem exposição a qualquer tipo de luz e com exposição a luz vermelha de LED, no entanto, essa mesma combinação quando associada as luzes azuis e amarelas revelaram efeito

sinérgico. Frente à mesma bactéria a Gentamicina evidenciou resultados sinérgicos nas placas que não sofreram exposição ao LED e nas que foram expostas às luzes azuis e amarelas, porém a exposição à luz vermelha decorreu em antagonismo.

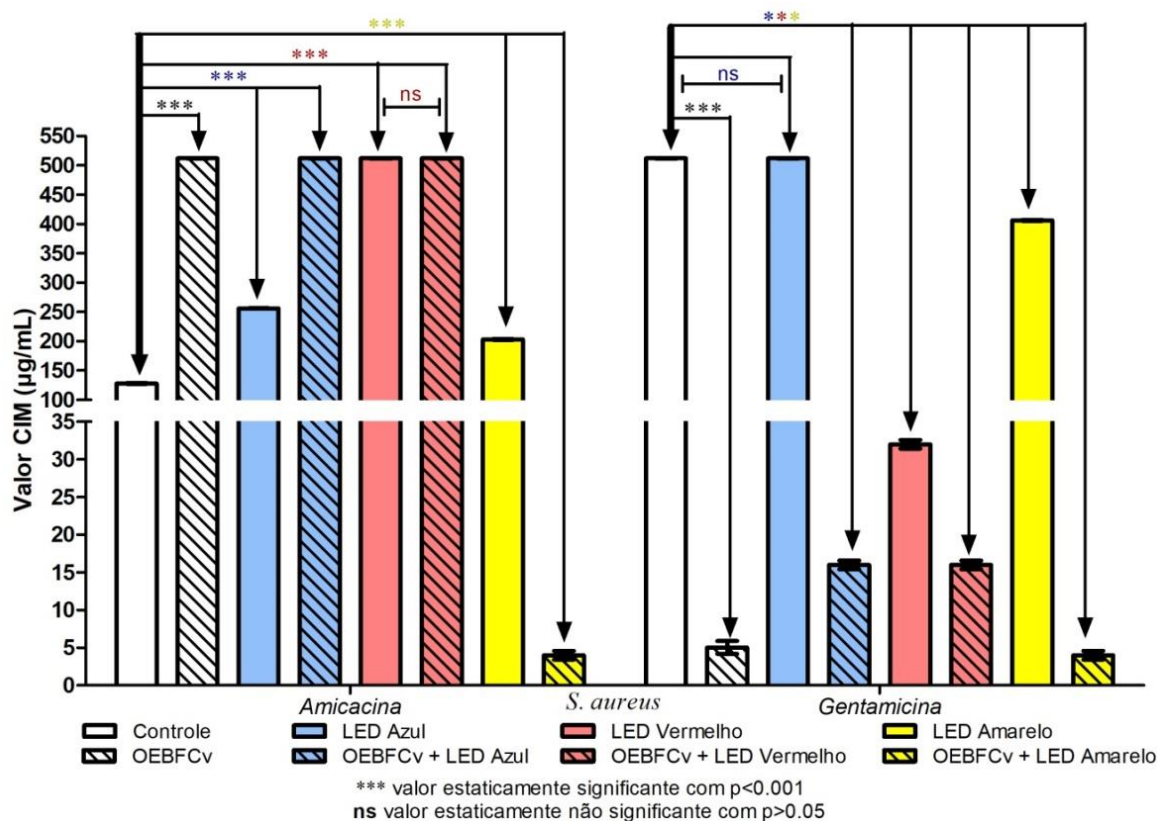
Gráfico 1: Representação da atividade moduladora do OEBFCv combinado à aminoglicosídeos e luzes de LED frente *E. coli*.



Fonte: autor (2018)

O gráfico 2 mostra os resultados da modulação dos mesmos antibióticos em junção com o OEBFCv frente a bactéria *S. aureus*. A combinação com a Amicacina apresentou efeito sinérgico apenas quando exposta as luzes amarelas, sendo antagônica e indiferente nas outras combinações. No entanto, para a Gentamicina todas as combinações revelaram efeitos sinérgicos.

Gráfico 2: Representação da atividade moduladora do OEBFCv combinado à aminoglicosídeos e luzes de LED frente *S. aureus*.



Fonte: autor (2018).

Muitas espécies tiveram sua atividade antibacteriana direta testada, bem como seu potencial de agir como moduladores da resistência, visto que algumas dessas possuem capacidade de agir contra muitas espécies de bactérias ou até mesmo de agir alterando o efeito de um antibiótico específico, seja potencializando o seu efeito ou revertendo à resistência bacteriana (COUTINHO et al., 2009; COUTINHO et al., 2008).

A atividade antibacteriana de *C. verbenacea* foi determinada para bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, bem como a sua capacidade de modificar a ação de alguns antibióticos. Estas ações devem-se ao fato da presença de compostos de baixa polaridade como taninos, flavonoides e terpenos. Esses compostos são encontrados em maiores quantidades nas frações ou nos extratos apolares (MATIAS et al., 2010a).

No trabalho realizado por Rodrigues et al. (2012) indicou que o óleo essencial de *C. verbenacea* pode ser empregado em combinação com a antibioticoterapia contra bactérias patogênicas do trato respiratório, pois possui a capacidade de tornar mais forte o efeito do fármaco. No estudo foi revelado que a ação do óleo essencial em questão teve ação sinérgica na atividade moduladora com os aminoglicosídeos.

Os resultados obtidos da modulação frente a *E. coli* irrelevantes clinicamente podem ocorrer pela estrutura da bactéria Gram negativa que por possuir uma membrana externa dificulta a penetração e efeito de produtos naturais e outras substâncias antimicrobianas (HOLLEY; PATEL, 2005). Entretanto, no presente estudo, também foi possível observar resultados significantes para esta mesma bactéria na modulação com os antibióticos Amicacina e Gentamicina, indicando por sua vez, que a metodologia empregada foi capaz de modular a resistência das bactérias Gram negativas.

A utilização do aparelho de LED na área de dermatofuncional no tratamento de patologias que acometem a pele é amplamente disseminada, em especial, os espectros de luz vermelho e azul, que são utilizados com o intuito de curar infecções cutâneas e acelerar a cicatrização. Embora os mecanismos de ação desta terapia ainda não tenham sido esclarecidos, sabe-se que a luz azul do LED potencializa o efeito de drogas e substâncias, decorrente do efeito bactericida causado pela indução do estresse oxidativo, podendo ser uma alternativa para o controle da atividade bacteriana (FEITOSA, 2015; PEREIRA et al, 2017).

Grebenova et al. (2003) avança que o resultado do tratamento com fototerapia pode ocorrer devido alterações bioquímicas na membrana celular, inibição da respiração celular quando afeta a mitocôndria e da divisão celular, além de poder inativar enzimas responsáveis pela permeabilidade e metabolismo celular.

Estudos realizados por Paschoal e Ismael (2010) relataram que a luz vermelha do aparelho de LED por possuir capacidade de penetração mais profunda nos tecidos, desempenha atividades anti-inflamatórias por influenciar na inibição de citocinas por macrófagos e outras células. O efeito sinérgico dessa luz obtido nesse trabalho pode justificar-se pela capacidade que esta tem de penetrar mais profundamente nos tecidos, fazendo com que o antibiótico possa atuar melhor na destruição das células bacterianas.

4 CONCLUSÃO

Os dados obtidos nesse estudo contribuíram para a elucidação do potencial antibacteriano e modulador da *Cordia verbenacea* e, além disso, a partir deles novas pesquisas promissoras podem ser desenvolvidas visando encontrar uma nova forma de tratar patologias causadas por bactérias multirresistentes com o uso de produtos naturais obtidos desta espécie vegetal em combinação com a fototerapia, acarretando, consequentemente, em melhorias para a saúde coletiva.

REFERÊNCIAS

- AGNE, J.E. **Eletrotermofototerapia**. 2 ed. Santa Maria-RS, 2013.
- ALVES, E.F. et al. Avaliação da atividade antibacteriana e modulatória da fração hexânica do extrato hexânico de *Cordia verbenacea* DC. **Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia**. v. 2, n. 5, 2014.
- BAROLET, Daniel. Light-emitting diodes (LEDs) in dermatology. **Seminars in cutaneous medicine and surgery**, v. 27 n. 4, 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, 2005.
- CARVALHO, J. P. M. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Cordia verbenacea* DC. **Journal of ethnopharmacology**, v. 95, n. 2, 2004.
- COUTINHO, H. D. M. et al. A atividade anti-estafilocócica in vitro de *Hyptis martiusii* Benth contra estirpes de *Staphylococcus aureus* resistentes à metilicina MRSA. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 1, 2008.
- COUTINHO, H. D. M. et al. Terapia à base de plantas associada à antibioticoterapia: potencialização da atividade antibiótica contra *Staphylococcus aureus* resistente à metilicina por *Turnera ulmifolia* L. **Complemento BMC Altern**. V. 9, n.13, 2009.
- FEITOSA C. P. A. et al. **Avaliação in vitro do potencial bactericida do LED**. Monografia (Curso de Biomedicina) - Faculdade Leão Sampaio, Juazeiro do Norte, 2015.
- 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, n.2, 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, 2005.
- JAVADPOUR, M. M. et al. De novo antimicrobial peptides with low mammalian cell toxicity. **Journal of medicinal chemistry**, v. 39, n. 16, 1996.
- KORELO, R. I. G. et al. Gerador de alta frequência como recurso para tratamento de úlceras por pressão: estudo piloto. **Fisioterapia em Movimento**, v. 26, n. 4, 2013.
- MANN, C.; MARKHAM, J. A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils. **Journal of Applied Microbiology**, v. 84, n. 4, 1998.
- MATIAS E. F. F. et al. Enhancement of Antibiotic Activity by *Cordia verbenacea* DC. **Acta Farmaceutica Bonaerense** v.29, n.6, 2010a.
- MATIAS E. F. F. et al. Atividade antibacteriana In vitro de *Croton campestris* A., *Ocimum gratissimum* L. e *Cordia verbenacea* DC. **Revista Brasileira de Biociências**, v.8, n. 3, 2010b.

MATOS, F.J.A. 1997. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. 2ª Ed. – Fortaleza: Edições UFC. 1999.

MOREIRA, M. C. **Utilização de conversores eletrônicos que alimentam LEDs de alto brilho na aplicação em tecido humano e sua interação terapêutica**. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Santa Maria (UFSM-RS), 2009.

PALOMINO, J. C. et al. Resazurin microtiter assay plate: simple and inexpensive method for detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 46, n. 8, 2002.

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

PENHA, D. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de *Mikania glomerata* e da própolis utilizados no laboratório de fitoterápicos da fai. **Revista OMNIA Saúde**, v.5, n.1, 2011.

PEREIRA, Nara LF et al. In vitro evaluation of the antibacterial potential and modification of antibiotic activity of the *Eugenia uniflora* L. essential oil in association with led lights. **Microbial Pathogenesis**, v. 110, n.1, 2017.

RODRIGUES, F. F.G. et al. Composição Química, Atividades Antibacterianas e Antifúngicas de Óleo Essencial de *Cordia verbenacea* DC Folhas. **Pharmacognosy Research**, v. 4. n. 3, 2012.

TINTINO, S. R. et al. Actividade antimicrobiana e efeito combiando sobre drogas antifungicas y antibacterianas do fruto de *Morinda citrifolia* L. **Acta Biológica Colombiana**, v. 20, n. 3, 2015.

VENTRELLA M. C. et al. Morphology and histochemistry of glandular trichomes of *Cordia verbenacea* DC. (*Boraginaceae*) leaves. **Revista Brasileira de Botanica** v.31, n.3, 2008.