

UNILEÃO  
CENTRO UNIVERSITÁRIO LEÃO SAMPAIO  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

YANKA EMILLE LIMA SILVA DE ALMEIDA

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODULADORA DO ÓLEO ESSENCIAL DAS  
FOLHAS DE *Rosmarinus officinalis* (Alecrim) EM ASSOCIAÇÃO COM O LED AZUL**

Juazeiro do Norte – CE

2019

YANKA EMILLE LIMA SILVA DE ALMEIDA

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODULADORA DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Rosmarinus officinalis* (Alecrim) EM ASSOCIAÇÃO COM O LED AZUL**

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<sup>ª</sup>. Msc. Rakel Olinda Macedo da Silva.

Juazeiro do Norte– CE

2019

YANKA EMILLE LIMA SILVA DE ALMEIDA

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODULADORA DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Rosmarinus officinalis* (Alecrim) EM ASSOCIAÇÃO COM O LED AZUL**

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<sup>a</sup>. Msc. Rakel Olinda Macedo da Silva.

**Data de aprovação:** \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

**Prof<sup>a</sup>. Msc. Rakel Olinda Macedo da Silva**  
**Orientador**

---

**Prof<sup>a</sup>. Msc. Maria Karollyna do Nascimento Silva Leandro**  
**Examinador 1**

---

**Prof<sup>a</sup>. Esp. Lívia Maria Garcia Leandro**  
**Examinador 2**

Dedico esse trabalho ao meu marido **Kleilton Almeida**.

## **ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODULADORA DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Rosmarinus officinalis* (Alecrim) EM ASSOCIAÇÃO COM O LED AZUL**

Yanka Emille Lima Silva de Almeida<sup>1</sup>; Rakel Olinda Macedo da Silva<sup>2</sup>

### **RESUMO**

O presente estudo teve como objetivo avaliar a ação antibacteriana e moduladora do óleo essencial das folhas de *Rosmarinus officinalis* (Alecrim) associados a luz de LED azul. A extração do óleo essencial das folhas frescas de *Rosmarinus officinalis* foi realizada pelo método de hidrodestilação. A atividade frente *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, e o potencial modulador dos óleos em combinações com os antibióticos aminoglicosídeos (amicacina e gentamicina) e a luz de LED foi realizado através da metodologia de microdiluição. A avaliação da atividade antibacteriana frente as bactérias de linhagens padrão (*Escherichia coli* ATCC 25922 e *Staphylococcus aureus* ATCC 259230 e multirresistentes (*Escherichia coli* 06 e *Staphylococcus aureus* 10), onde foram testadas para determinação da concentração inibitória mínima (CIM), o efeito antibacteriano associado aos aminoglicosídeos e da luz de LED azul também foi determinado. Foi possível observar que o óleo não teve efeito antibacteriano para as cepas analisadas, já na atividade modulatória pode se observar que quando junto com os antibióticos testados teve efeito significativo frente às bactérias multirresistentes de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Entretanto, é necessário que sejam feitos estudos mais aprofundados com o *Rosmarinus officinalis* utilizando outros tipos bactérias e outros de antibióticos a fim de potencializar seus efeitos.

**Palavra- chave:** Antibacteriana, *Escherichia coli*, LED azul, Modulação, *Rosmarinus officinalis*, *Staphylococcus aureus*.

### **ANTIBACTERIAL AND MODULATOR ACTIVITY OF THE ESSENTIAL OIL OF THE LEAVES OF *Rosmarinus officinalis* (Rosemary) IN ASSOCIATION WITH THE BLUE LED**

### **ABSTRACT**

The present study aimed to evaluate the antibacterial and modulatory action of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* (Alecrim) leaves associated with blue LED light. The extraction of the essential oil from fresh leaves of *Rosmarinus officinalis* was carried out by the hydrodistillation method. The activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, and the potential modulator of the oils in combination with aminoglycoside antibiotics (amikacin and gentamicin) and LED light was performed through the microdilution methodology. The evaluation of the antibacterial activity against bacteria of standard strains (*Escherichia coli* ATCC 25922 and *Staphylococcus aureus* ATCC 259230 and multiresistants (*Escherichia coli* 06 and *Staphylococcus aureus* 10), where they were tested for minimum inhibitory concentration (MIC), The associated antibacterial effect aminoglycosides and the blue LED light was also determined. It was possible to observe that the oil did not have an antibacterial effect for the analyzed strains; in the modulatory activity it can be observed that when, together with the antibiotics tested, it had a significant effect against the multiresistant bacteria of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. However, further studies with *Rosmarinus officinalis* using other types of bacteria and other types of antibiotics are needed to potentiate their effects.

**Key words:** Antibacterial, *Escherichia coli*, Blue LED, Modulation, *Rosmarinus officinalis*, *Staphylococcus aureus*.

## 1 INTRODUÇÃO

A resistência à antimicrobianos está diretamente ligada ao abuso e uso indevido destes agentes terapêuticos. O surgimento de bactérias multiresistentes é um grande problema de saúde pública, elas se reproduzem rapidamente e são a causa de infecções difíceis de tratar devido às suas opções limitadas de tratamento (LAZOVSKI et al., 2018; SPELLBERG et al., 2008).

Microrganismos do gênero *Staphylococcus* são cocos Gram positivos e podem causar diversas infecções piogênicas em humanos e animais. *Escherichia coli* é um bacilo Gram negativo, anaeróbio facultativo e pertencente à família Enterobacteriaceae. (ALENCAR et al., 2015; DE PINHO et al., 2012; NATARO; KAPER, 1998).

O uso de plantas medicinais no tratamento de varias patologias tem despertado bastante interesse na realização de estudos com objetivo de isolar compostos com ação antibacteriana, buscando amenizar a resistência a antibióticos, procurando também um possível sinergismo existente na associação com os mesmos. Por isso os óleos essenciais de produtos naturais apresentam-se bastante promissores, em consequência ao seu alto potencial antibacteriano e modulador dessa resistência bacteriana (CIRINO, 2014; SILVA et al 2012).

O alecrim (*Rosmarinus officinalis*, Lamiaceae) é uma erva que cresce na bacia do Mediterrâneo. É cultivada em todo o mundo e têm sido amplamente utilizados na indústria alimentícia por causa da sua alta atividade antioxidante inerente. Além disso, tem sido usado como uma erva medicinal, devido a atividades significativas contra muitas doenças. Nesse sentido, as principais propriedades biológicas que foram atribuídas a esta planta são principalmente hepatoprotetoras, antimicrobianas, antitrombóticas, antidiabéticas, diuréticas, anti-inflamatórias, antioxidante e anticancerígena (PEREZ-FONS; GARZÓN; MICOL, 2009).

Uma outra alternativa para o tratamento de infecções é o LED (*Light Emitting Diode*) que são diodos de semicondutores que recebem uma corrente elétrica levando a emissão de luz. Estudos mostram que a luz de LED leva a uma redução no número de bactérias presentes em feridas. O mesmo produz uma potência de irradiação absolutamente segura, vem sendo um recurso bastante promissor, pois se mostra muito eficaz na atuação antibacteriana

(YAMADA; DA SILVA; SCASNI, 2017; ZHANG, 2013; MOREIRA, 2009; MEYER, et al., 2010).

A associação de produtos naturais, como óleos essenciais, com equipamento fototerápico pode representar uma nova alternativa para o combate das bactérias multirresistentes (MATIAS, 2018). Tendo em vista isso, o objetivo deste estudo foi avaliar a ação antibacteriana e moduladora do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* (OERo) associados a luz de LED azul frente as cepas bacterianas padrões e multirresistentes de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

## 2 METODOLOGIA

### 2.1 TIPO DE ESTUDO E COLETA DO MATERIAL VEGETAL

Este trabalho trata-se de um estudo experimental de caráter quantitativo, no qual, as folhas de *Rosmarinus officinalis* foram coletadas no município de Juazeiro do Norte, Ceará, Brasil, município com clima Tropical Quente Semi-árido Brando no mês de março de 2019.

### 2.2 EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Rosmarinus officinalis*

A extração do óleo essencial das folhas frescas de *Rosmarinus officinalis* foi realizada pelo método de hidrodestilação utilizando o aparelho tipo Clevenger, onde as folhas foram trituradas e colocadas em um balão de vidro de 5,0 L juntamente com de 2,5 L de água destilada, permanecendo em ebulição por 2 horas. Foi adicionado sulfato de sódio anidro (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) aos óleos essenciais obtido e estes foram armazenados sob refrigeração (-4 °C) para conservação até a realização das análises (MATOS et al., 1999).

### 2.3 ANTIBIÓTICOS, MEIOS DE CULTURA E MICRORGANISMOS

Os antibióticos líquidos gentamicina e amicacina foram obtidos de LaborClin, Brasil. Os meios de cultura Agar infusão de coração (HIA) e *Brain Heart Infusion* (BHI) foram adquiridos de HIMEDIA.

Os microrganismos utilizados nos testes foram obtidos através do Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular (LMBM) da Universidade Regional do Cariri (URCA).

Foram utilizadas linhagens padrão e resistentes das bactérias: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* 06 e *Staphylococcus aureus* 10.

#### 2.4 PREPARO DAS SUBSTÂNCIAS

Foram pesadas 10 mg (10.000 µg) do óleo a ser testado e colocado em eppendorfs individualizado, diluído em 0,5 mL de DMSO. Essa primeira solução foi colocada em um tubo falcon e acrescentado mais 9,265 mL de água, perfazendo um total de 9,765 mL de solução com concentração de 1024 µg/mL. Essa solução foi utilizada para os testes de CIM e modulação. Os antibióticos utilizados no teste foram amicacina e gentamicina na concentração inicial de 1024 µg/mL.

#### 2.5 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA E MODULAÇÃO POR MICRODILUIÇÃO

As culturas de bactérias foram semeadas em Placas de Petri contendo HIA e colocadas na estufa a 37°C para crescimento por 24 horas. Após esse período, foram coletadas amostras de cada cultura microbiana e diluído em tubos de ensaio identificados, em triplicata. Após esse procedimento, foi comparada a turbidez da solução com o tubo 0,5 da escala de McFarland.

Para avaliar a atividade antibacteriana foram adicionados 100 µl da solução final dos inóculos em cada poço da placa de microdiluição, e em seguida foi feita a microdiluição seriada com a solução de 100 µL do óleo, por coluna, variando nas concentrações de 512 µg/mL no primeiro poço a 0,5 µg/mL no último poço. As microdiluições foram realizadas em triplicata. As placas foram levadas à estufa por 24 horas a 37 °C. A revelação da CIM bacteriana foi feita utilizando-se a adição de 25 µL de resazurina em cada poço e observação ocular após 1 hora (NCCLS, 2003).

Para verificar a modulação do efeito antibacteriano foram utilizados antibióticos gentamicina e amicacina frente às cepas testadas, através do método proposto por Coutinho et al. (2008). Foram preparados tubos *eppendorf* contendo cada um deles as substâncias em volume correspondente a concentração sub-inibitória (CIM/8), quantidade de BHI 10 % variável de acordo com o volume da concentração sub-inibitória e 150 µL da suspensão bacteriana (correspondente a 10% da solução). Para o controle foram preparados tubos *eppendorf* com 1,5 mL de solução contendo 1.350 µL de BHI (10 %) e 150 µL de suspensão de microrganismos. A placa foi preenchida no sentido numérico adicionando-se 100 µL desta

solução em cada poço. Em seguida, foi feita a microdiluição seriada com 100 µL do antibiótico, As placas foram levadas à estufa por 24 horas a 37 °C e a revelação do resultado foi feita através da resazurina.

## 2.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE MODULADORA COM EXPOSIÇÃO À LUZ DE LED AZUL

O aparelho utilizado durante o procedimento experimental com LED foi o *Light Emithing Diodes- LED*, da marca NEW Estética®. Foi utilizada a luz azul com um comprimento de onda pré-determinado pelo aparelho de 415nm.

Para a realização destes testes, inicialmente foram utilizadas as mesmas metodologias referentes ao teste de avaliação da atividade antibacteriana e moduladora por contato direto. Após isso, as placas foram subdivididas em dois grupos, onde o primeiro foi submetido à luz de LED azul durante dez minutos e o segundo não foi submetido à luz de LED. As placas foram incubadas a 37 °C, durante 24h. Os testes foram realizados em triplicata e para determinação da CIM foi utilizada a resazurina sódica (PEREIRA et al., 2017)

## 2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados através do programa estatístico *Graph Pad Prism 5.0* e através de um teste ANOVA de duas vias, utilizando a média geométrica das triplicatas como dado central e o desvio padrão da média. Em seguida foi feito um teste de Bonferroni *post hoc* (onde  $p < 0,05$  é considerado significativo).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Ao realizar o teste de Concentração Inibitória Mínima (CIM) do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* frente as linhagens padrão e multirresistente de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* foram obtidos resultados  $\geq 1024\mu\text{g/ml}$ , apresentando uma atividade antibacteriana não relevante clinicamente.

Segundo Hussain et al. (2010) o óleo essencial (OE) das folhas de *R. officinalis* exibiu variada atividade antibacteriana para *Staphylococcus aureus* (CIM  $0.30 \pm 0.01 \text{ mg/mL}^{-1}$ ) e *Escherichia coli* (CIM  $1.52 \pm 0.04 \text{ mg/mL}^{-1}$ ), e os resultados do ensaio de difusão em disco seguido de resazurina modificada, indicou que o óleo essencial testado apresentou maior

atividade antibacteriana contra bactérias Gram-positivas do que contra as Gram-negativo, tendo em vista esses resultados, destacaram que o óleo pode ser usado para a preservação de alimentos processados, bem como terapias farmacêuticas e naturais para o tratamento de doenças infecciosas em seres humanos e plantas.

Esses resultados foram divergentes do presente estudo porque os componentes de óleos essenciais podem ter sido afetados pela época de coleta e espaçamento entre as plantas (MARCO, 2007).

O estudo de Fu et al. (2007) mostrou que nos resultados da atividade antibacteriana o óleo essencial de alecrim exerceu alta suscetibilidade e atividade antibacteriana significativa contra *Propionibacterium acnes*, com diâmetro de inibição de  $18,0 \pm 1,0$  mm. Ambos MIC e Concentração Bacteriana Mínima (MBC) foram de 0,56 mg/mL.

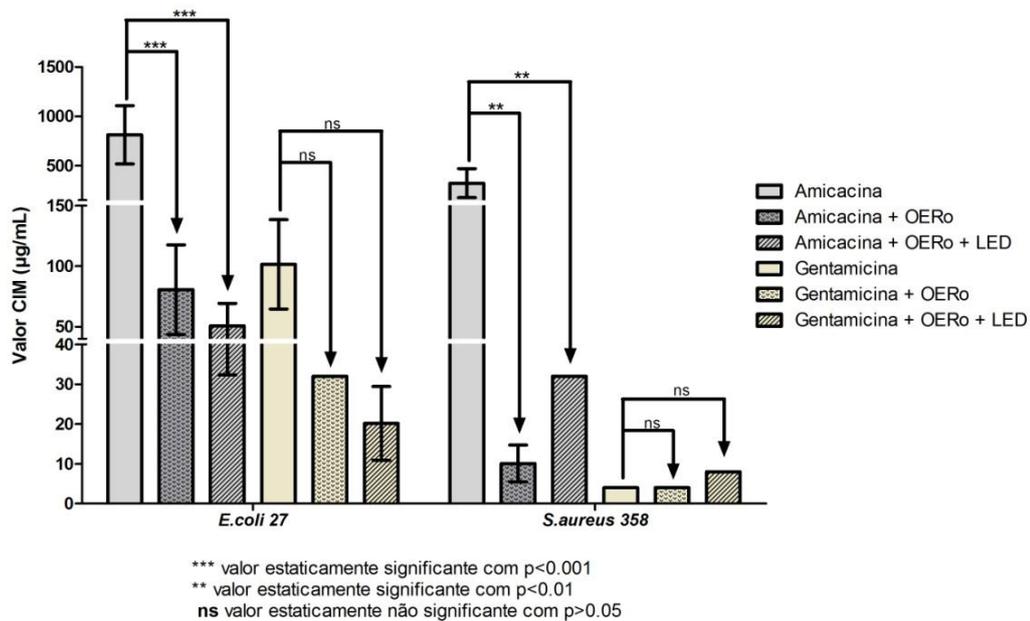
Jarrar; Abu-Hijleh; Adwan (2010) observaram que interpretações da atividade do extrato das folhas secas de alecrim combinado com cefuroxima produziu um notável atividade sinérgica contra os 5 isolados de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) testados e os resultados da difusão de disco puderam suportar e ampliar descobertas que o alecrim contém numerosos compostos ativos e alguns deles têm sido freqüentemente usado na medicina popular por suas propriedades antimicrobianas.

Já no estudo de Santurio et al. (2011) o óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* (OERo) não mostraram nenhuma atividade antibacteriana contra *Escherichia coli*.

Nos ensaios de modulação, onde foram associados antibióticos + óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* (OERo) + Luz LED, observou-se interações sinérgicas. Quando analisado as combinações do OERO + amicacina e o OERO + amicacina + luz de LED azul, observa-se que reduziu a CIM dos antibióticos em comparação aos controles, indicando um efeito sinérgico, onde a utilização da luz de LED frente as cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* ocorreram um sinergismo. Entretanto com relação ao antibiótico gentamicina, não houve resultado significativo (**Gráfico 1**).

O OERo não apresentou atividade antibacteriana significativa, no entanto nos ensaios de modulação foi possível observar efeito sinérgico em associação ao óleo e a luz de LED azul. Nascimento et al. (2000) analisaram o extrato da folha do *R. officinalis* associado a antibióticos que mostrou atividade antibacteriana sinérgica contra bactérias resistentes a antibióticos, onde teve zona de inibição de  $\geq 7$  mm em associação com Cloranfenicol, Ampicilina e Tetraciclina frente a *Bacillus subtilis* e *Candida albicans*.

**Gráfico 1:** Concentração inibitória mínima do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* (OERo) em associação com antibióticos e luz azul de LED frente as cepas multiresistentes de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.



FONTE: Dados da pesquisa

Com relação a exposição das luzes de LED azul, os resultados demonstraram interferência com o antibiótico, reduzindo a CIM da amicacina frente *E. coli* quando comparado a ação do óleo na ausência dessa luz. Um estudo realizado por Pereira et al. (2017) mostra que o óleo essencial da *Eugenia jambolana* em associação a luz de LED interferem com a ação de antibióticos, assim como foi observado no presente estudo.

#### 4 CONCLUSÃO

Nas últimas décadas, os óleos essenciais vêm sendo cada vez mais procurados pelos fabricantes de alimentos, cosméticos e produtos farmacêuticos, daí a importância de se conduzir estudos sobre óleos essenciais.

Os resultados apresentados neste estudo destacam o potencial do óleo de alecrim como aliado no combate a resistência bacteriana a antibióticos. O efeito sinérgico da associação dos antibiótico com o óleo essencial contra bactérias resistentes leva a novas escolhas para o tratamento de doenças infecciosas. Este efeito permite o uso do respectivo antibiótico quando este não é mais eficaz por si só durante o tratamento terapêutico.

A luz de LED azul teve uma ação promissora junto com o óleo essencial de *Rosmarinus officinalis*, onde teve uma melhora na eficácia da amicacina frente as bactérias multirresistentes. Tendo em vista esses resultados, é necessário a realização de outros estudos relacionados ao LED junto com produtos naturais, afim de elucidar seus efeitos frente as bactérias resistentes

Dessa forma, esses achados representam resultados promissores na busca de novas terapias para resistência a antibióticos, pois esses resultados juntamente com os de alguns pesquisadores mostraram os efeitos modulatórios de óleos essenciais em associação com as luzes LED.

## REFERÊNCIAS

- ALENCAR, L. 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 Básica e Aplicada**, v. 36, n. 1, p. 111-116, 2015
- CIRINO, I. C. S. et al. **Modulação da resistência a drogas por óleos essenciais em linhagens de *Staphylococcus aureus***. 2014. Dissertação (Mestrado em Biologia celular e molecular) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2014.
- COUTINHO, H. D. M. et al. In vitro anti-staphylococcal activity of *Hyptis martiusii* Benth against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: MRSA strains. **Rev. bras. farmacogn.**, v. 18, supl. p. 670-675, 2008.
- DE PINHO, L. et al. Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoolicos das folhas de alecrim-pimenta, aroeira, barbatimão, erva baleeira e do farelo da casca de pequi. **Ciência Rural**, v. 42, n. 2, 2012.
- FU, Y. et al. Investigation of antibacterial activity of rosemary essential oil against *Propionibacterium acnes* with atomic force microscopy. **Planta medica**, v. 73, n. 12, p. 1275-1280, 2007.
- HUSSAIN, A. I. et al. *Rosmarinus officinalis* essential oil: antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 41, n. 4, p. 1070-1078, 2010.
- LAZOVSKI, J. et al. Estrategia de control de la resistencia bacteriana a los antimicrobianos en Argentina. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 41, n. 1, p. 88, 2018.
- JARRAR, N.; ABU-HIJLEH, A.; ADWAN, K. Antibacterial activity of *Rosmarinus officinalis* L. alone and in combination with cefuroxime against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 3, n. 2, p. 121-123, 2010.
- MARCO, C. A. et al. Características do óleo essencial de capim-citronela em função de espaçamento, altura e época de corte. **Horticultura Brasileira**, v. 25, n. 03, p.429-32, 2007.

MATIAS, E. F. F. Avaliação da atividade antibacteriana e moduladora do óleo essencial de *Cordia verbenacea* dc. associado às luzes de LED. **Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia**, v. 5, n. 14, p. 07-14, 2018.

MATOS, F. J. D. A. et al. Essential oil of *Mentha x villosa* Huds. from Northeastern Brazil. **Journal of Essential Oil Research**, v. 11, n. 1, 1999.

MEYER, P. F. et al. Avaliação dos efeitos do LED na cicatrização de feridas cutâneas em ratos Wistar. **Fisioterapia Brasil**, v.11, n. 6. p. 428-432, 2010.

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

NASCIMENTO, G. G. F. et al. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. **Brazilian journal of microbiology**, v. 31, n. 4, p. 247-256, 2000.

NATARO, J. P.; KAPER, J. B. Diarrheagenic *Escherichia coli*. **Clinical microbiology reviews**, v. 11, n. 1, p. 142-201, 1998.

NCCLS. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically**; Approved Standard—Sixth Edition. NCCLS document M7-A6 (ISBN 1-56238-486-4). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003.

PEREIRA, N. L. F. et al. Antibacterial activity and antibiotic modulating potential of the essential oil obtained from *Eugenia jambolana* in association with led lights. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 174, n. 1, p. 144-149, 2017.

PEREZ-FONS, L.; GARZÓN, M. T.; MICOL, V. Relationship between the antioxidant capacity and effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) polyphenols on membrane phospholipid order. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 1, p. 161-171, 2009.

SANTURIO, D. F. et al. **Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de condimentos sobre *Escherichia coli* isoladas de suínos, aves e bovinos**. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciência e tecnologia dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2011.

SILVA, M.S.P et al. Study bioprospecting of medicinal plant extracts of the semiarid Northeast: Contribution to the control of oral microorganisms. **Evid-Based Comp Alt Med**. 2012;

SPELLBERG, B. et al. The epidemic of antibiotic-resistant infections: a call to action for the medical community from the Infectious Diseases Society of America. **Clinical infectious diseases**, v. 46, n. 2, p. 155-164, 2008.

YAMADA, F. R.; DA SILVA, M. M.; SCASNI, K. R. O uso do LED para o tratamento da acne. **Surgical & Cosmetic Dermatology**, v. 9, n. 4, p. 316-323, 2017.

ZHANG, Y. et al. Antimicrobial blue light therapy for multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infection in a mouse burn model: implications for prophylaxis and treatment of combat-related wound infections. **The Journal of infectious diseases**, v. 209, n. 12, p. 1963-1971, 2013.