

UNILEÃO
CENTRO UNIVERSITÁRIO LEÃO SAMPAIO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

ANA CAROLINA DOS SANTOS SOUSA

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODULADORA DO ÓLEO ESSENCIAL DE
Calendula officinallis ISOLADO E EM ASSOCIAÇÃO AO LED AZUL**

Juazeiro do Norte – CE
2022

ANA CAROLINA DOS SANTOS SOUSA

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODULADORA DO ÓLEO ESSENCIAL DE
Calendula officinallis ISOLADO E EM ASSOCIAÇÃO AO LED AZUL**

Trabalho de Conclusão de Curso – 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. Me. Rakel Olinda Macedo da Silva

Coorientador: Maria Hellena Garcia Novais

Juazeiro do Norte – CE
2022

ANA CAROLINA DOS SANTOS SOUSA

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODULADORA DO *Calendula officinallis*
ISOLADO E EM ASSOCIAÇÃO A LED AZUL**

Trabalho de Conclusão de Curso – 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. Me. Rakel Olinda Macedo da Silva

Coorientador: Maria Hellena Garcia Novais

Data de aprovação: ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Prof(a): Me. Rakel Olinda Macedo da Silva

Orientador

Prof(a): Dra. Maria Karollyna Do Nascimento da Silva Leandro

Examinador 1

Prof(a): Me. Dárcio Luiz de Sousa Júnior

Examinador 2

Dedico esse trabalho aos meus avôs.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus; pela conquista que é essa graduação na minha vida;
Agradeço ao meu irmão, que mesmo não estando mais presente aqui nesse plano sei que está sempre torcendo por mim;

Agradeço a todos os que me apoiaram, em especial aos meus avôs que me criaram desde pequeninha e me ensinaram tudo que sei e que sou hoje;

Agradeço também a todos os amigos e colegas de curso que tornaram esses dias mais felizes;
Agradeço aos professores e colaboradores da UNILEÃO, que transmitiram tanto aprendizado ao longo de todo o curso, além de apoio e princípios fundamentais para a formação não só profissional mais pessoal;

Agradeço as técnicas de laboratório da Leão, que me deram todo o suporte para a realização dos testes, Luzia, Karol e Amanda obrigada.

Agradeço a minha orientadora por toda a paciência, e a minha banca maravilhosa pela disponibilidade;

Agradeço a minha coorientadora Helena, por todo o suporte, por me apoiar e me incentivar, você foi um anjo que Deus colocou em minha vida nessa fase tão complicada que é o fim da graduação;

Agradeço aos meus amigos Breno e Samara por fazer meus dias de KARIRI TUR mais alegre, por todas as fofocas e principalmente por saber que sempre posso contar com vocês;

Agradeço a minha amiga Leila, chegamos ao fim, somos as sobreviventes, obrigada por tudo;

Agradeço a mim mesma por ter conseguido chegar até aqui mesmo com todos os surtos e toda a ansiedade nessa reta final;

Agradeço por fim, mas não menos importante ao grande amor estrela cruzada da minha vida, obrigada por me aguentar surtando a cada momento da realização desse trabalho e ao longo dessa graduação, obrigado por me ajudar a estudar e assistir a minha apresentação quinze vezes seguidas, obrigado por estar sempre comigo, eu amo você.

Obrigada a todos!!

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODULADORA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Calendula officinallis* ISOLADO E EM ASSOCIAÇÃO AO LED AZUL

Ana Carolina dos Santos Sousa¹, Maria Hellena Garcia Novais² Raket Olinda Macedo da Silva³

RESUMO

As infecções bacterianas são uma das principais causas de mortalidade em todo mundo e está associada principalmente a capacidade dos microrganismos de desenvolver mecanismos de resistência aos fármacos já existentes. Por esse motivo se torna de vital importância a realização de estudos que busquem novos meios de tratar essas infecções. Essa pesquisa teve como objetivo avaliar o potencial antibacteriano e modulador do óleo essencial de *Calendula officinallis* obtido da loja Laszo, frente a cepas de bactérias resistentes como *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. O efeito antibacteriano do óleo essencial de *C. Officinallis* frente à *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* e a determinação da concentração inibitória mínima foram analisados por meio da técnica de contato direto com microdiluição em caldo assim como sua atividade moduladora associada a luz de LED azul frente a essas cepas, associando aos antibióticos aminoglicosídeos gentamicina e amicacina. Os resultados obtidos demonstram a ausência de ação antibacteriana do óleo testado frente a *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Bem como não apresentam ação moduladora quando associado aos antibióticos amiglicosídeos gentamicina e amicacina, por meio do método de microdiluição em caldo. No entanto isso não exclui a possibilidade de o mesmo prestar ação antibacteriana e moduladora quando utilizando-se novas metodologias, demonstrando assim a importância da realização de novos estudos que abordem as ações do óleo.

Palavras chaves: Plantas medicinais. Doenças bacterianas. Efeito dos Fármacos. Óleo essencial. Óleos volatéis.

ANTIBACTERIAL AND MODULATING ACTIVITY OF *Calendula officinallis* ESSENTIAL OIL ISOLATED AND IN ASSOCIATION A BLUE LED LIGHT

Ana Carolina dos Santos Sousa¹, Maria Hellena Garcia Novais², Raket Olinda Macedo da Silva³

¹Discente do curso de Biomedicina. carolzinhapeterson@gmail.com. Centro Universitário Leão Sampaio.

²Mestranda em Químicas Biológicas. marlenna1516@gmail.com. Universidade Regional do Cariri.

³Docente do curso de Biomedicina. rakelolinda@leaosampaio.edu.br. Centro Universitário Leão Sampaio

ABSTRACT

Bacterial infections are one of the main causes of mortality worldwide and are mainly associated with the ability of microorganisms to develop mechanisms of resistance to existing drugs. For this reason, it is vitally important to carry out studies that seek new ways to treat these infections. This research aimed to evaluate the antibacterial and modulator potential of the essential oil of *Calendula officinalis* abtido from the Laszo store, against resistant strains of bacteria such as *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The antibacterial effect of the essential oil of *C. Officinalis* against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* and the determination of the minimum inhibitory concentration were analyzed using the technique of direct contact with microdilution in broth as well as its modulating activity associated with blue LED light against these strains, associating the aminoglycoside antibiotics gentamicin and amikacin. The results obtained demonstrate the absence of antibacterial action of the tested oil against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. They also show no modulating action when associated with the amyglycoside antibiotics gentamicin and amikacin, using the broth microdilution method. However, this does not exclude the possibility of it providing antibacterial and modulating action when using new methodologies, thus demonstrating the importance of carrying out new studies that address the actions of the oil.

Keywords: Medicinal plants. Bacterial Diseases Effect of Drugs. Oil essential. volatile oils

1 INTRODUÇÃO

As infecções bacterianas são uma das principais causas de mortalidade em todo o mundo. O uso indiscriminado e incorreto dos antibióticos sem prescrição médica e a automedicação vem se tornando algo rotineiro, trazendo consigo consequências principalmente na resistência bacteriana. Visto que a bactéria produz um meio de se proteger da ação do antibiótico, o que impede a eficácia do tratamento e prolonga a cura do paciente (ASHWLAYAN et al., 2018, RODRIGUES et al., 2018).

Diante a recente pandemia viral causada pelo vírus SARs COV₂, os relatos de aumento de mecanismos de resistência adquiridos por bactérias têm se tornado comuns. O tratamento inadequado efetuado por profissionais da saúde inicialmente leigos de como tratar a doença, como também por pessoas comuns para tentar aumentar sua imunidade e muitas vezes influenciados por notícias falsa obtidas nos meios de comunicação, proporcionou as bactérias o ambiente propício para o desenvolvimento de novas formas de se defender dos fármacos (LEAL et al., 2021, TEIXEIRA et al., 2019).

Segundo SIMÕES (2016), os microrganismos mais isolados em infecções são *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*. De acordo com Ashwlayan., et al (2018) *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, são os principais microrganismos isolados em culturas de pacientes com sinais e sintomas de infecção por bactérias que apresentam resistência aos antibióticos usados no tratamento.

Com o crescente desenvolvimento de novos mecanismos adquiridos pelos microrganismos, se torna imprescindível associar o conhecimento já existente a novas fontes, e ainda mais necessário utilizar o conhecimento milenar sobre as plantas medicinais. Estudos científicos que visam associar fármacos existentes a substâncias que possam ajudar a diminuir ou inibir a resistência bacteriana vem se tornando cada vez mais necessários e importantes. (FERREIRA et al., 2022).

Inovar na associação entre plantas medicinais que são as principais fontes de fitoterápicos e terapias convencionais já utilizadas podem trazer benefícios ao tratamento de microrganismo resistentes. Assim como também associar esses estudos a luz de LED, já utilizada em outros estudos e descrita na literatura com resultados positivos, sendo capazes de inibir ou até mesmo matar as cepas desses microrganismos (NICOLAU et al., 2022, SILVA et al., 2020).

Calêndula officinallis, também conhecida como calêndula ou margarida de folha dobrada, é uma planta de porte herbáceo médio e que se adapta melhor em climas frios. Tem

sua flor usada para produzir óleos e extratos que são associados a estudos e tratamentos de feridas, sendo relatada na literatura com bons resultados em tratamentos de feridas, ação cicatrizante, antibacteriana e antifúngica (BRASIL., 2021).

A fototerapia vem se tornando um forte recurso terapêutico. O LED (Diodos emissores de luz) Principalmente o LED Azul, que tem ação antibacteriana comprovada, são os principais mecanismos que vêm sendo associados a terapias medicamentosas, com objetivo de potencializar a ação dos fármacos ou da substância moduladora utilizada obtendo resultados positivos em muitos desses estudos científicos. Usado principalmente na área estética, mas que vem ganhando espaço em outros campos de pesquisa e tratamentos (BARROS et al., 2021, SANTOS et al., 2021).

A associação de plantas medicinais de conhecimento popular a antibióticos pode trazer benefícios a população em geral. Por esse motivo, estudos que associam essa técnica aos fármacos desenvolvidos por meio de pesquisas científicas podem ajudar a aumentar a capacidade desses medicamentos. Associar *Calendula officinalis* e sua ação antibacteriana em estudos e associar seu potencial antibacteriano a luz de LED pode ajudar a reduzir fatores de resistência adquiridos pelas bactérias usadas neste estudo e consequentemente ajudar no desenvolvimento de novos fármacos.

O estudo descrito buscou avaliar a atividade antibacteriana e moduladora do óleo essencial *Calendula officinalis* isolada em associação a luz de LED azul, assim como o potencial modulador do óleo essencial em combinação com antibióticos aminoglicosídeos e a luz de LED através da metodologia de microdiluição em caldo.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 OBTENÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Calendula officinalis*

O óleo essencial foi comprado da loja Laszo, com a seguinte composição química: Óleo essencial < 4%, Carotenoides <2%, Faradiol Estér < 25% Resinas, triterpenos e outros.

Obtido via CO₂ hiper crítico, este óleo consiste em um extrato 100% de pura flor de calêndula. Além do óleo essencial, que é rico em faradiol e ésteres, agrega também carotenóides, (xantinas, calendulina, caroteno, licopeno, zeaxantina etc), flavonóides, ácido oleanóico, saponinas, mucilagens, resinas, princípios amargos, polissacarídeos, ácido salicílico, vitaminas e minerais, sendo um produto de altíssima concentração de princípios ativos. O "TO" (Calêndula CO₂-TO) significa que é uma extração "TOTAL" da planta, ou seja, todos os princípios ativos foram isolados e mantidos neste CO₂.

2.2 MATERIAIS

Os antibióticos Amicacina e Gentamicina foram obtidos de LaborClin, Brasil. Os meios de cultura foram adquiridos de HIMEDIA, Índia e o Dimetilsulfóxido (DMSO) de Merck, Alemanha. O aparelho utilizado durante o procedimento experimental foi o *Light Emithing Diodes- LED*, que é um diodo emissor de luz, da marca NEW Estética®, o qual possui os espectros de luz vermelha, azul e amarela, permitindo também a combinação destas cores.

2.3 MICRORGANISMOS

Foram utilizadas as linhagens bacterianas padrões (*Escherichia coli* ATCC 25923 e *Staphylococcus aureus* ATCC 10536) e multirresistentes (*Escherichia coli* 27 e *Staphylococcus aureus* 358). Todas as linhagens permaneceram em *Agar infusão de coração* (HIA).

2.4 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM)

A determinação da CIM foi realizada através da técnica de microdiluição em caldo utilizando placas esterilizadas com 96 poços com diluições em série 1:1 Preenchidas no sentido de A a H sendo o poço H o poço controle (NCCLS, 2003) Culturas microbianas das cepas padrões mantidas em estoque sob refrigeração foram repicadas em caldo de infusão de cérebro e coração (BHI) e incubadas a 35°C durante 24 h. Após esse período, procedeu-se a padronização do inóculo, que consistiu na preparação de uma suspensão em BHI, cuja turvação fosse similar ao tubo 0,5 da escala McFarland (1×10^8 UFC/mL), da qual foi retirado 100 µL e adicionado em cada poço da placa acrescido de diferentes concentrações do óleo essencial.

A solução teste foi preparada utilizando 10 mg do óleo essencial solubilizado em 1 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) obtendo uma concentração inicial de 10 mg/mL. A partir desta concentração, realizaram-se diluições em água destilada estéril para obter uma solução estoque de 1024 µg/mL. A partir da concentração inicial de 100 µL diluída obtendo-se as concentrações finais das amostras no meio de cultura foram 512, 256, 128, 64, 32, 16 e 8 µg/mL.

Os testes foram realizados em triplicata. As placas foram incubadas a 35 ± 2 °C, durante 24 h. Após esse período, as placas foram reveladas com corante específico, a resazurina. Esta solução foi preparada em água destilada estéril na concentração de 0,01% (p/v). Após o período de incubação, 20 µg/mL da solução indicadora foi acrescentada nas placas em cada cavidade e após uma hora em temperatura ambiente foi realizada a leitura do teste. Esta é determinada

através da coloração do meio de cultura que ocorre devido a mudança de PH, sendo considerada positiva para os poços que não apresentaram crescimento microbiano, ou seja, permaneceram com a coloração azul e negativa os que obtiveram coloração vermelha (SALVAT *et al.*, 2001).

O controle negativo do teste foi realizado com os meios de cultura contendo o inóculo. A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi definida como a menor concentração capaz de inibir completamente o crescimento microbiano, nos poços de microdiluição conforme detectado macroscopicamente.

2.5 DETERMINAÇÃO DA MODULAÇÃO DOS AMINOGLICOSÍDEOS

A realização da atividade moduladora dos antibióticos foi feita com os aminoglicosídeos (gentamicina e amicacina) a partir da utilização das cepas de bactérias multirresistentes onde a concentração inicial correspondeu a 1024 µg/mL. Os antibióticos foram diluídos em um volume de 100 µL seriadamente nos poços contendo o meio de cultura *Brain Heart InfusionBroth* – BHI a 10% e a suspensão com o inóculo da cepa multirresistente, com o óleo essencial na concentração subinibitória (CIM/8) (COUTINHO *et al.*, 2010). As placas foram incubadas por 24 horas 35 ± 2 °C. Após a incubação foi utilizado a resazurina sódica para evidenciar a atividade moduladora das triplicatas.

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. As placas foram expostas a luz de LED Azul por 20 minutos e em seguida incubadas a 37 °C, durante 24h. Os testes foram realizados em duplicata e para determinação da CIM foi utilizada a resazurina sódica.

2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram expressos em média geométrica \pm desvio padrão, avaliados estatisticamente através da análise de variância (ANOVA) seguido pelo pos-test *Bonferroni* utilizando o software *GraphPad Prism 7*, as diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a realização dos testes descritos na metodologia do presente estudo, foi observado que o óleo essencial de *Calendula officinallis*, não apresenta ação direta, por meio do método de microdiluição em caldo com concentração inibitória mínima de ≥ 1024 .

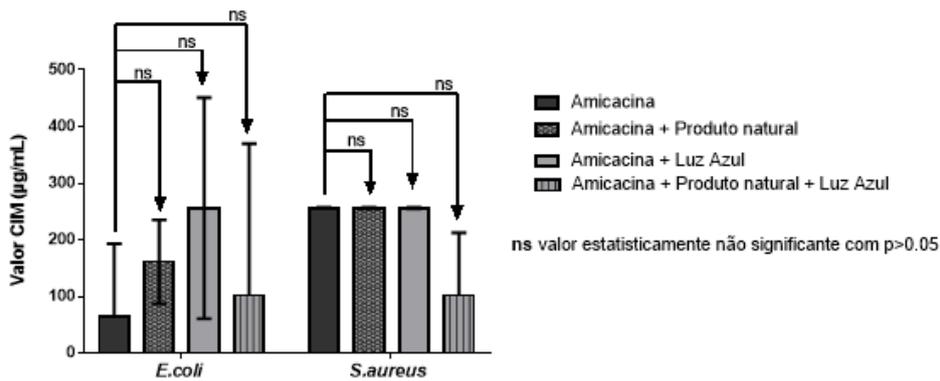
A ausência de atividade antibacteriana também pode ser associada a diversos fatores, O cultivo, como por exemplo o modo de colheita e época do ano em que a planta foi cultivada. de acordo com Borella et al. (2014) os compostos químicos da calêndula são influenciados pelo seu cultivo e pelos compostos utilizados para sua remoção, tanto em extratos hidroetanólicos como em extratos glicólicos.

No estudo de Cepeda et al. (2020) o extrato hidroetanólico de Calêndula foi capaz de apresentar atividade antibacteriana quando utilizado frente a cepas de *Candida albicans* ATCC 14053, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 e *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, mostrando que a metodologia utilizada também pode influenciar nos resultados obtidos.

Segundo Pinheiro et al. (2012) cujo estudo avaliou a ação do extrato de Calêndula frente a cepas de *Streptococcus mutans* principal causador da cárie dentária, o extrato extraído de forma pura das flores da planta foi capaz de inibir o crescimento bacteriano. Demonstrando que o fato de ter sido usado óleo essencial no presente estudo pode ter influenciado nos resultados obtidos.

Esse óleo também não apresentou ação de modulação no crescimento bacteriano, quando realizado a análise estatística das triplicatas, mesmo quando associado aos antibióticos aminoglicosídeos amicacina e gentamicina. Conforme demonstrado nos gráficos 1 e 2.

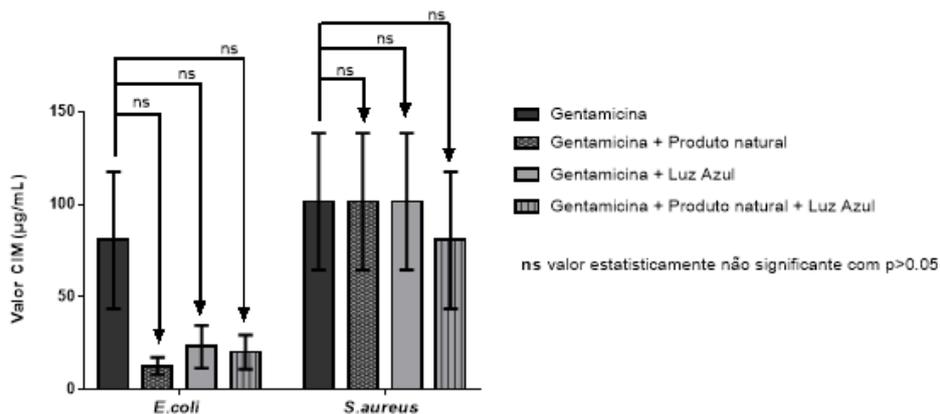
Gráfico 1: atividade e moduladora do óleo essencial de *Calendula officinallis* em associação a luz de led azul em associação ao antibiótico amicacina frente a cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.



Fonte: Própria do autor.

O uso do antibiótico amicacina não apresentou resultado quando associado ao óleo essencial, isso pode se dá ao fato de que segundo Diogenes. (2020) o antibiótico amicacina pode apresentar instabilidade em sua ação quando a sua CIM não é conhecida frente a bactéria utilizada em casos de estudos científicos, e até mesmo quando usado em tratamentos ou em associações, principalmente devido ao fato da duração do uso da amicacina e a dificuldade de atingir o alvo terapêutico.

Gráfico 2: Atividade moduladora do óleo essencial de *Calendula officinallis* em associação a luz de led azul em associação a Gentamicina na presença e ausência do óleo essencial, frente a cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.



Fonte: Própria do autor.

O antibiótico gentamicina pertence ao grupo dos aminoglicosídeos que são comumente ativos contra *Staphylococcus aureus* e bactérias Gram negativas, como as cepas utilizadas no

estudo em questão. Porém não apresentou ação contra esses gêneros quando associado ao óleo essencial, pois de acordo com o estudo de Freitas et al. (2021) bactérias como *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* podem apresentar uma resistência maior a gentamicina. Tendo em vista que são bactérias que adquirem mecanismos de resistência com muita facilidade, que podem vir a ser difíceis de tratar levando a necessidade do uso de antibióticos mais eficazes.

Quanto aos compostos químicos encontrados no óleo, o estudo de Silva et al. (2020), demonstra que os flavonoides presentes na composição do óleo, é um dos principais compostos encontrado nos fitoterápicos que podem ajudar na inibição dos mecanismos de resistência bacterianas aumentando a CIM (concentração inibitória mínima) quando usados em associação a antibióticos.

As saponinas triterpênicas também presentes no óleo essencial utilizado, são substâncias derivadas do óleo oleânico que segundo Souza et al. (2011) apresentam propriedades detergentes, adstringente, anti-inflamatório, antimicrobiano e cicatrizante. Pertencente ao grupo de heterosídeos semelhantes aos glicosídeos, assim chamadas por saponificar (transformar substâncias gordurosas em sabão) substâncias lipossolúveis.

Os componentes químicos de importância para estudos fitoterápicos encontrados nessa espécie são os saponinas triterpênicas, tendo como base o ácido oleanólico e flavonoides, incluindo astragalina, hiperosídeo, isoquercitrina e rutina. Outros constituintes incluem sesquiterpenos e triterpenos (BRASIL, 2021). Todos esses compostos podem sofrer alterações significativas em sua função devido ao modo de cultivo e colheita.

O modo de extração do óleo essencial também pode ser um dos contribuintes para o resultado obtido tendo em vista que o mesmo pode influenciar de forma intensa na obtenção dos compostos e no seu efeito. Pois segundo Ferreira et al. (2022) as atividades farmacológicas das plantas estão diretamente ligadas aos teores de metabolitos presentes nas mesmas e esses metabolitos podem ser alterados de acordo com a forma com a qual forem extraídos.

De acordo com Cirino. (2014) as interações entre os compostos do óleo essencial e os produtos utilizados no teste são de grande relevância, pois os mesmos podem ser responsáveis pelo aumento ou diminuição do efeito modulador da substância. Levando em consideração o fato de que segundo Ashwlayan et al. (2018) e Fiorentino et al. (2022) a Calêndula possui ainda compostos que não são bem explorados, e têm um potencial de uso abrangente como ação e uso como agentes anti-inflamatórios, antivirais, atividades antiprotozoárias e antineoplásicas.

Utilizada na farmacologia por sua riqueza em metabolitos de composição relevante para fármacos e produtos de cuidado com a pele, também associada a indústria de alimentos e cosméticos. Tendo ainda compostos que não são bem explorados, as espécies de calêndula têm um potencial de uso abrangente. (ASHWLAYAN et al., 2018; FIORENTINO et al., 2022).

A planta estudada possui compostos inexplorados que podem ter vindo a interferir no resultado do presente estudo. Seu uso abrangente como em alimentos e em produtos de cuidado com a pele representam a variedade de utilidades da planta em questão, por esse motivo a realização de novos estudos para a avaliação de sua capacidade.

4 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos nesse trabalho mostram que o óleo essencial de *Calendula officinalis* não apresenta atividade antibacteriana frente as cepas testadas. Bem como não apresenta ação de modulação quando associado aos antibióticos aminoglicosídeos amicacina e gentamicina, por meio do método de microdiluição em caldo. No entanto isso não exclui a possibilidade da existência de tais atribuições ao mesmo. Tendo em vista que se testado frente a diferentes metodologias e novas cepas bacterianas como demonstrado em outros trabalhos o óleo possa a vir apresentar atividade bacteriana e moduladora, deixando claro a necessidade de se utilizar diferentes metodologias e cepas bacterianas para abordar as demais propriedades do óleo.

REFERÊNCIAS

ASHWLAYAN, V. D. et al. Therapeutic Potential of *Calêndula officinalis*. **Pharmacy & Pharmacology International Journal**. v. 6, n. 2, 2018.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Informações Sistematizadas da Relação Nacional de Plantas medicinais de interesse ao sus**. Brasília, 2021.

BARROS N.M et al. Fototerapia. **ABD Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 96 n. 4, 2021.

BORELLA, J.C et al. Avaliação comparativa da composição Química de drogas vegetais e extrato de *calendula officinalis* L. (Asteraceae) cultivada com variação a adubação e na cobertura do solo. **Visão Acadêmica**. v. 15, n. 1, 2014.

CEPEDA R. R et al. Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *Calendula officinalis* L. **Revista ION**. v. 34 n.1, 2020.

CIRINO, I. C. S. **Modulação da resistência a drogas por óleos essenciais em linhagens de *Staphylococcus aureus***. Dissertação (Mestrado em Biologia molecular) Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2014.

COUTINHO, H. D. M. et al. Avaliação comparativa da modulação de antibióticos, frente às cepas bacterianas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*. **Revista Ciência e Saúde**. v. 13, n. 3, 2015.

DIOGENES R. **Impacto da concentração inibitória mínima de amicacina no tratamento de infecções por enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos**. (Pós-graduação em ciências médicas) Universidade Federal do rio grande do Sul. Porto Alegre, 2020.

FERREIRA, E. E. et al. A importância do uso de fitoterápicos como prática alternativa ou complementar na atenção básica: revisão da literatura. **Pesquisa, Society e Development**. v. 11, n. 1, 2022.

FREITAS A. C. S. et al. Infecções sanguíneas em ambiente hospitalar e a resistência bacteriana. **Unesc em revisa** v.1 n.5. 2021

FIorentino, M. et al. *Calendula arvensis* (Vaill.) L.: A Systematic Plant Analysis of the Polar Extracts from Its Organs by UHPLC-HRMS. **Foods**. n. 11, v. 247, 2021 Disponível em: [Calendula arvensis \(Vaill.\) L.: A Systematic Plant Analysis of the Polar Extracts from Its Organs by UHPLC-HRMS - PubMed \(nih.gov\)](#) Acessado em: 25/03/2022, as 12:29hrs.

LEAL W.S et al. Análise da automedicação durante a pandemia do novo coronavírus: Um olhar sobre a azitromicina. **REASERevista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**. v.7. n.8, 2021.

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.

NICOLAU G. S et al. Atividade bacteriana e moduladora de α -*Pineno* associado ao parêlo de luz de LED. **Revista Univap**. v. 28, n. 57, 2022.

PINHEIRO M. A et al. Efeito antimicrobio de tinturas de produtos naturais sobre bactérias da cárie dentária. **Revista Brasileira em Promoção da Saúde**. v. 25 n. 2, 2012.

RODRIGUES, T. S Resistência Bacteriana á Antibióticos na Unidade de Terapia Intensiva: Revisão Integrativa. **Revista Prevenção Infecção e Saúde**. v. 4, n. 1, 2018 Disponível em: <http://www.ojs.ufpi.br/index.php/nupcis/article/view/6892> Acessado em: 02/03/2022 as 20:30hrs.

SILVA A.D et al., Atividade antimicrobiana de Flavonoides: Uma revisão de literatura. **Revista interdisciplinar em Ciências da saúde e biológicas**. v. 4 n.1, 2020.

SILVA, F. T. et al. Levantamento de plantas medicinais no município de Caravelas, BA, Brasil. **Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento**. v. 7 n. 6, 2020.

SOUZA G. H. B. et al. **Farmacognosia coletânea científica**. Ouro Preto Editora Ufop, 2011.

SIMÕES, C. M. S. B. **Infeções Hospitalares Bacterianas no Século XXI**. 2016. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2016.

SANTOS V.R.S et al. Potencial antibacteriano do óleo essencial de Lippia alba Mill. associado a luzes de LED. **Infarma**, v. 33. n. 1, 2021.

TEIXEIRA, A. R. et al. Resistência Bacteriana Relacionada ao Uso Indiscriminado de Antibióticos. **Revista Saúde em Foco**. v. 1, n.11, 2019.

