

UNILEÃO

CENTRO UNIVERSITÁRIO LEÃO SAMPAIO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

ARTHUR FERREIRA FELIPE

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODULADORA POR CONTATO GASOSO DO
2- ALLYLPHENOL EM ASSOCIAÇÃO AO LED AZUL**

Juazeiro do Norte – CE

2022

ARTHUR FERREIRA FELIPE

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODULADORA POR CONTATO GASOSO
DO 2- ALLYLPHENOL EM ASSOCIAÇÃO AO LED AZUL**

Trabalho de Conclusão de Curso – Artigo Científico à Coordenação do Curso de Graduação em Biomedicina do Centro Universitário Leão Sampaio, como requisito parcial para obtenção do grau de bacharel em Biomedicina.

Orientador: Prof. Me Rakel Olinda Macedo da Silva

Co-Orientador: Maria Hellena Garcia Novais

Juazeiro do Norte– CE

2022

ARTHUR FERREIRA FELIPE

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODULADORA POR CONTATO GASOSO DO
2- ALLYLPHENOL EM ASSOCIAÇÃO AO LED AZUL**

Trabalho de Conclusão de Curso – Artigo Científico à Coordenação do Curso de Graduação em Biomedicina do Centro Universitário Leão Sampaio, como requisito parcial para obtenção do grau de bacharel em Biomedicina.

Orientador: Prof. Me Rakel Olinda Macedo da Silva

Co-Orientador: Maria Hellena Garcia Novais

Data de aprovação: ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Prof(a): Esp. Rakel Olinda Macedo da Silva
Orientador

Prof(a): Ma. Maria Karollyna do Nascimento Silva Leandro
Examinador 1

Prof(a): Ma. Tássia Thais Al Yawafi
Examinador 2

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por está comigo durante todo o processo de TCC e graduação, pois sem ele nada disso teria acontecido.

Agradecer a mim mesmo por ser forte e finalizar a graduação, mesmo querendo desistir direto.

Agradecer a minha família pelo carinho e apoio.

Agradecer a todos meus amigos e colegas que estão comigo e passaram por mim durante todo o período de graduação (o diamante arcaico está sendo lapidado). Em especial a Ana Flávia, Camila Mororo, Guilherme Otoni e Guaciara Tamires e ao grupinho dos desvirtuados nas pessoas de Walisson, José Victor, Sayonara, Sabrina, Nayane, Bruna, Janieli.

Agradecer a todos os professores que forem essenciais para o profissional a qual me tornei.

Agradecer a Cristiane e Samara pela ajuda nos testes práticos do TCC. Agradecer a Breno Lucca, Ana Carolina e Luan Matheus por se disponibilizar durante os testes aos quais estavam presentes no laboratório.

Agradecer a professora Karol Maria pelo auxílio nos gráficos.

Agradecer a Rakel Olinda minha orientadora que me auxiliou bastante no processo de confecção e conclusão do TCC.

Obrigado a todos.

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODULADORA POR CONTATO GASOSO DO 2- ALLYLPHENOL EM ASSOCIAÇÃO AO LED AZUL

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito antimicrobiano e modulador do 2-Allyphenol associado ao aparelho de LED azul. Trata-se de um estudo de modelo experimental, de caráter quantitativo. Foi obtido o 2-Allyphenol de Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, E.U.A. Para realização dos testes foram utilizadas as linhagens bacterianas padrão e resistentes de *Escherichia coli* (ATCC 25923 e 27) e *Staphylococcus aureus*(ATCC10536 e 358) e os discos de antibióticos amicacina 30µg, gentamicina 10µg, ciprofloxacina 5µg, norfloxacina 10µg. A técnica de contato gasoso foi utilizada para avaliação antibacteriana e moduladora. O 2-Allyphenol apresentou ótimos resultados quanto a ação bactericida onde apresentou grande halos que era o objetivo do experimento, e com isso forneceu informações quanto a sua capacidade moduladora e antimicrobiana em associação ao led azul, observando a sua reversão a resistência bacteriana. Os resultados obtidos no presente estudo demonstram importante ação bacteriana e moduladora do 2- allylphenol frente as bactérias em análises. A alta intensidade de inibição está correlacionada as concentrações usadas, podendo vir a contribuir para o bem da saúde humana nesse aspecto de estudo. Estes resultados merecem atenção, sendo assim importante o desenvolvimento de novas pesquisas científicas relacionadas a essa substância isolada.

Palavras-chave: Antimicrobiano. Modulação. 2-Allyphenol. Ledterapia . Luz azul

1 Discente do curso de Biomedicina. arthur-ferreirafelipe@hotmail.com Centro Universitário Leão Sampaio.

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

EVALUATION OF THE ANTIBACTERIAL AND MODULATING ACTIVITY BY GASEOUS CONTACT OF 2- ALLYLPHENOL IN ASSOCIATION WITH BLUE LED

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the antimicrobial and modulating effect of 2-Allyphenol associated with the blue LED device. This is a study of an experimental model, of a quantitative nature. 2-Allyphenol was obtained from Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA To carry out the tests, standard and resistant bacterial strains of *Escherichia coli* (ATCC 25923 and 27) and *Staphylococcus aureus* (ATCC 10536 and 358) and disks of antibiotics amikacin 30µg, gentamicin 10µg, ciprofloxacin 5µg, norfloxacin 10µg were used. The gaseous contact technique was used for antibacterial and modulating evaluation. The 2-Allyphenol showed excellent results regarding the bactericidal action, where it presented large halos, which was the objective of the experiment, and thus provided information regarding its modulating and antimicrobial capacity in association with the blue

led, observing its reversal to bacterial resistance. The results obtained in the present study demonstrate an important bacterial and modulating action of 2-allylphenol against the bacteria under analysis. The high intensity of inhibition is correlated with the concentrations used, and may contribute to the good of human health in this aspect of the study. These results deserve attention, therefore, it is important to develop new scientific research related to this isolated substance.

Keywords: Antimicrobial. Modulation. 2-Allylphenol. Ledtherapy. Blue light.

1 INTRODUÇÃO

A resistência bacteriana se tornou um grande problema de saúde coletiva, pois os antibióticos usados no combate das infecções podem gerar mecanismos de defesa, tornando ineficaz o tratamento ao paciente. O desenvolvimento dessa resistência ocorre principalmente em decorrência de terapias realizadas em ambiente hospitalar, além do uso desordenado de antibióticos pela população (MENEZES, 2016; MORAES; ARAÚJO; BRAGA, 2016).

A covid-19 é uma doença que cresceu rapidamente em todo o mundo e acarretou no aumento dessa resistência bacteriana, pois vários testes com terapias alternativas foram realizados, contribuindo para o aumento do uso inadequado de antibióticos, como a azitromicina. Assim, voltou a ser frisado a atenção para o uso descontrolado desses medicamentos (FREIRES; JUNIOR, 2022).

Escherichia. coli e *Stahylococcus aureus* são bactérias pertencente a microbiota normal, já bastante conhecidas, que vem apresentando grande resistência aos antimicrobianos e com isso novas técnicas de tratamento para seu combate vêm sendo pesquisadas. *E. coli* pode ser causa de infecções urinárias e *S. aureus* pode causar patologias simples como furúnculo e espinhas até casos mais graves como pneumonia e meningite (COUTINHO et al., 2015).

As plantas e ervas se tornaram uns dos maiores contribuintes para saúde humana, pensando nos fins medicinais que poderiam ser obtidos. Com isso, novas pesquisas são constantemente realizadas na tentativa de combater essas bactérias resistentes. Desta forma, foi visto que algumas espécies de plantas apresentavam metabólitos secundários em quantidade significativa para possíveis tratamentos, se atentando a um uso controlado e consciente de todos efeitos colaterais que é possível acontecer. (SHARMA et al., 2013; SOUZA et al., 2017).

O 2-Allyphenol é conhecido como um composto chamado também de fenilpropanóide e um alto potencial contra fungos e com isso pode auxiliar em tratamento contra dores e inflamações, e ajuda contra o estresse oxidativo, , neste trabalho foram feitos testes e estudos com bactérias já que tem poucos estudos publicados a cerca desse tema, com um potencial investigativo de sua ação, e com isso foi visto sua efetividade. (ARAGÃO NETO et al., 2019).

Por outro lado, a luz de LED azul apresenta efeitos farmacológicos e estéticos a depender do caso, junto a substâncias naturais pode provocar uma ação antibacteriana, tratando e até curando infeções. Assim a sua combinação com antibióticos acarreta um efeito mais desejado antes comparado apenas ao uso de antibiótico sem LED, na ausência de plantas medicinais (MATIAS et al., 2017).

Atualmente, existem vários estudos acerca da associação de métodos alternativos para auxiliar no tratamento com o uso dessas luzes, que tem várias propriedades as quais o tratamento convencional nem sempre se mostram eficazes. Dessa maneira é importante o desenvolvimento de técnicas que associam a substância isolada de plantas medicinais, junto a antibióticos e o LED, como forma de potencializar o combate a graves infecções.

Assim, este estudo teve como objetivo avaliar o efeito antibacteriano e modulador do 2-Allylphenol associado a luz azul do aparelho de LED frente a *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, combinado com antibióticos aminoglicosídeos e quinolonas.

2 METODOLOGIA

2.1 TIPO DE ESTUDO

Trata-se de uma pesquisa de caráter experimental de abordagem quantitativa para avaliação da atividade antimicrobiana e moduladora do 2-allylphenol através da metodologia de contato gasoso, onde foram vistos halos relativamente positivos para esse tipo de estudo com isso trazendo sucesso para a pesquisa.

2.2 OBTENÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

O 2-Allylphenol foi obtido de Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, E.U.A.

2.3 ANTIBIÓTICOS, MEIOS DE CULTURA, APARELHO DE LED

Os discos de antibióticos amicacina 30µg, gentamicina 10µg, ciprofloxacina 5µg, norfloxacina 10µg foram obtidos de LaborClin, Brasil. Os meios de cultura Agar infusão de coração (HIA) e Ágar Mueller Hinton (MH) foram adquiridos de HIMEDIA, Índia. O aparelho utilizado durante o procedimento experimental foi o Light Emitting 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.

2.4 MICRORGANISMOS

Foi utilizadas as linhagens bacterianas padrão de *Escherichia coli* ATCC 25923, e *Staphylococcus aureus* ATCC 10536 cedidas pelo Instituto Oswaldo Cruz e as linhagens multirresistentes de isolados clínicos *Escherichia coli* 27 e *Staphylococcus aureus* 358. Todas as linhagens foram mantidas em Agar infusão de coração (HIA). Para realização dos testes, as linhagens foram suspendidas em tubo de ensaio com água destilada para obter uma suspensão com turvação equivalente a 0,5 da escala de McFarland (1×10^8 UFC/mL).

2.5 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA POR CONTATO GASOSO

Para a realização do processo de semeadura dos microrganismos serão utilizadas placas de petri contendo Ágar Mueller Hinton (MH), através da técnica de semeio em tapete. O 2-Allylphenol, foi diluído em água destilada, no entanto, também será utilizada sua concentração de 100%. Discos de papéis filtro análogos aos usados em testes de sensibilidade a antimicrobianos (TSA) foi colocado no centro de cada placa sobre o semeio. Sobre o interior das tampas das placas e foi adicionado 10 µL do produto a ser testado, em seguida estas serão incubadas em estufa a 37°C durante um período de 24 horas. A determinação dos halos de inibição obedecerá a contagem exibida na superfície de uma régua milimetrada.

Todos os testes foram realizados em triplicata .

2.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA MODULADORA POR CONTATO GASOSO

O ensaio para avaliação da atividade moduladora foi realizado de acordo com o método do contato gasoso modificado por (INOUE; TAKIZAWA; YAMAGUCHI, 2001). Durante a realização do processo de semeadura dos microrganismos foram utilizadas placas de petri contendo Ágar Mueller Hinton (MH), através da técnica de semeio em tapete. Na base das placas contendo o inóculo bacteriano serão adicionados os discos de antibióticos amicacina 30µg, gentamicina 10µg, ciprofloxacina 5µg, norfloxacina 10µg. Sobre o interior das tampas das placas foi adicionado 10 µL do produto a ser testado puro para o crescimento bacteriano nos testes de atividade antibacteriana para que, assim, através da volatilização da substância haja a interação com os discos de antibióticos anteriormente alocados. Outras placas contendo os discos de fármacos, mas sem o 2-Allylphenol foram também preparadas e após essa etapa, e todas elas serão incubadas a 37°C durante um período de 24h. A determinação dos halos de inibição obedecerá a contagem exibida na superfície de uma régua milimetrada, sendo

analisados na presença e/ou ausência do produto testado para que seja categorizado o sinergismo ou antagonismo.

Todos os testes foram realizados em triplicata .

2.7 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 gasoso. Após isso, as placas foram submetidas à luz de LED azul durante vinte minutos. As placas foram incubadas a 37 °C, durante 24h (PEREIRA et al.,2017).

Todos os testes foram realizados em triplicata e para controle foram utilizadas placas somente com o tensoativo DMSO.

2.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados serão expressos em média aritmética \pm desvio padrão, avaliados estatisticamente através da análise de variância (ANOVA) seguido pelo pos-test Bonferroni utilizando o software GraphPad Prism 7.0 ., as diferenças serão consideradas significativas quando p for menor que 0,05.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da atividade antibacteriana do 2- allylphenol foram bastante expressivos frente às bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* padrões e multirresistentes. Houve o aparecimento de halos de inibição bacteriana com ou sem a exposição ao LED azul, como observado na **tabela 1**.



Tabela 1: Resultados da atividade antibacteriana do composto isolado 2- allylphenol isolado e em associação a luz de LED Azul.

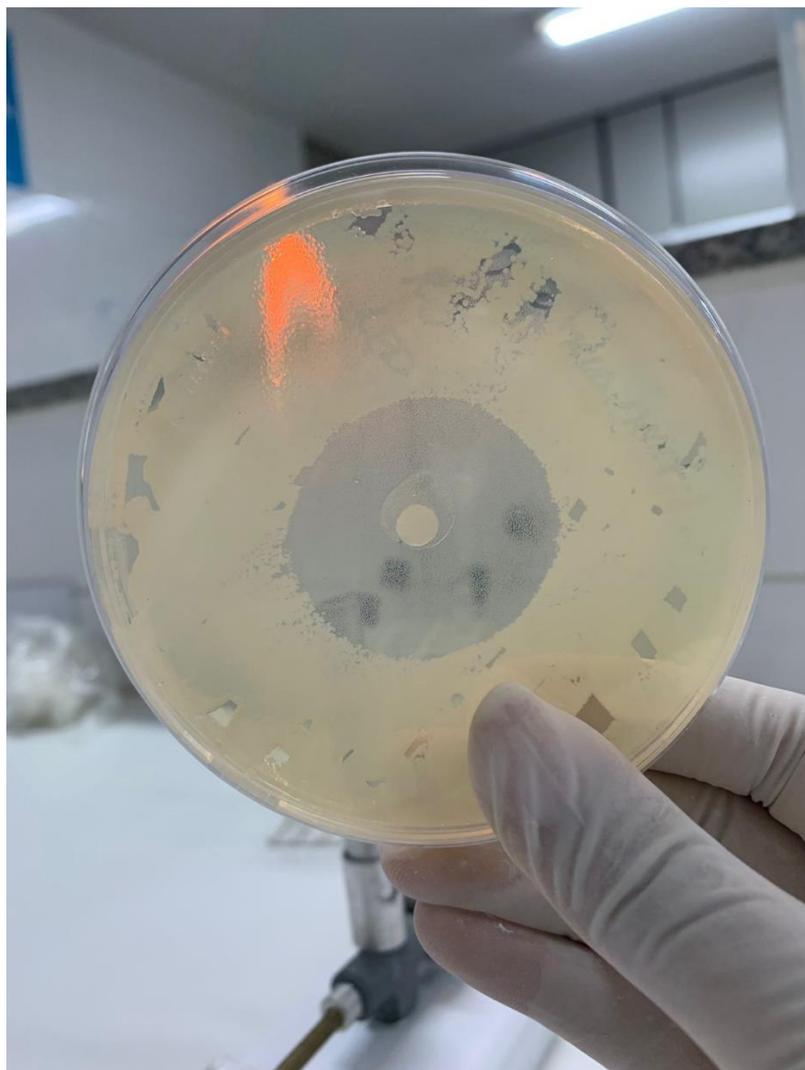
Bactérias	Tamanho do halo (mm)	Tamanho do halo (mm) associado a luz de LED azul
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25923	45	45
<i>Escherichia coli</i> 27	34	34
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 10536	42	40
<i>Staphylococcus aureus</i> 358	38	35

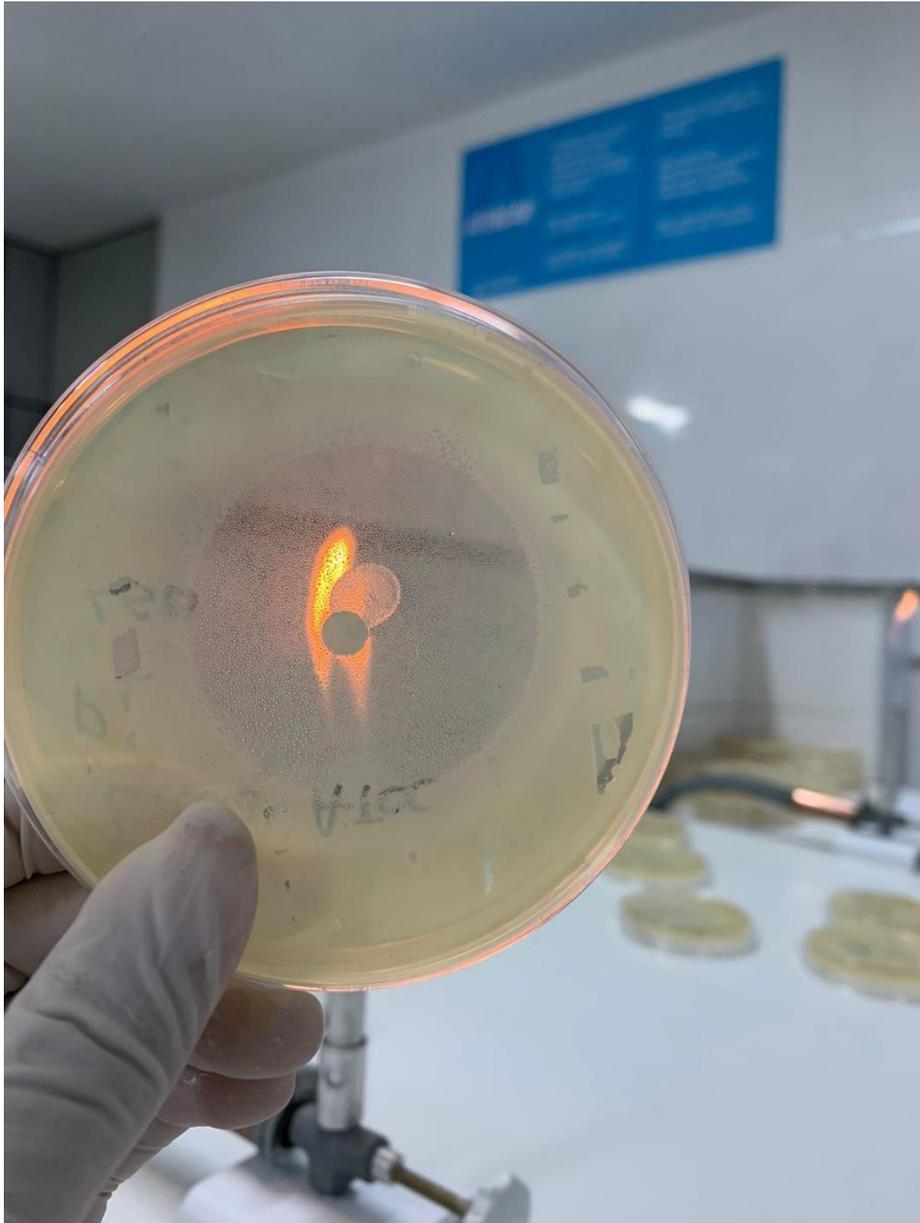
Fonte: própria do Autor

Os resultados mostram que o composto isolado apresentou atividade antibacteriana sem interferência significativa da Luz AZUL, e assim observando efeito intrínseco do material sendo esta uma pesquisa inovadora, já que não são encontrados resultados do 2- allylphenol semelhantes na literatura . No estudo de José, Chaves e Wiest (2015), utilizando extratos de *Ipomoea batatas* L, ricos em polifenóis, foi observado atividade antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Escherichia coli* ATCC 11229 pela metodologia de microdiuição em tubos, corroborando com os resultados demonstrados na **tabela 1**.

Apesar de suas atividades antibacterianas não serem conhecidas, o 2-Allylphenol faz parte de um grupo de fenóis e é um fenilpropanóide que tem ações fungicidas testadas e comprovados no estudo de Assis (2016) .

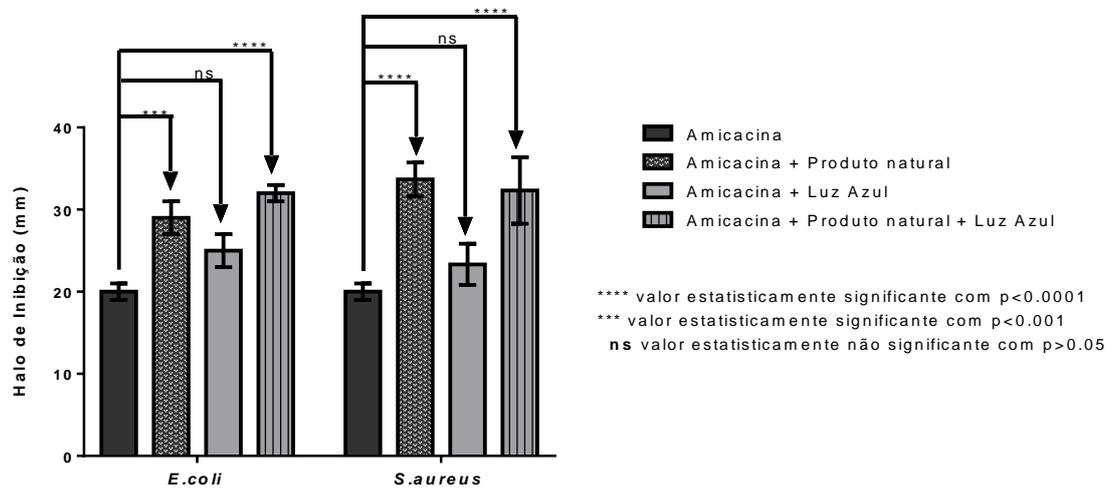
As plantas tem componentes isolados e majoritarios os quais é importante frisar e com isso são utilizados para fabricação de novos fitoterápicos devido ser algo natural, e é apresentando grande potencial contra bactérias. É significativo esclarecer sobre substâncias isoladas na composição de plantas medicinais (CARVALHO et al., 2017).





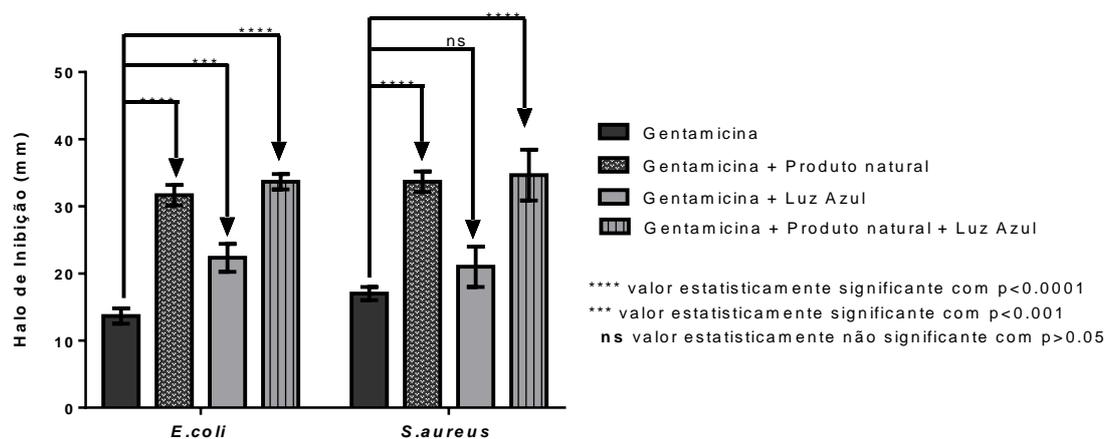
Após realização dos testes de atividade moduladora frente as bactérias multirresistentes *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, efeitos sinérgicos estatisticamente significantes foram observados em associação com as classes de antibióticos testadas na associação ou não do led azul. Estes resultados podem ser observados nos gráficos 1, 2, 3 e 4

Gráfico 1: Resultados de modulação da resistência ao antibiótico Amicacina na presença e ausência do produto natural 2-Allylphenol e do LED azul , frente a *Escherichia coli* 27 e *Staphylococcus aureus* 358.



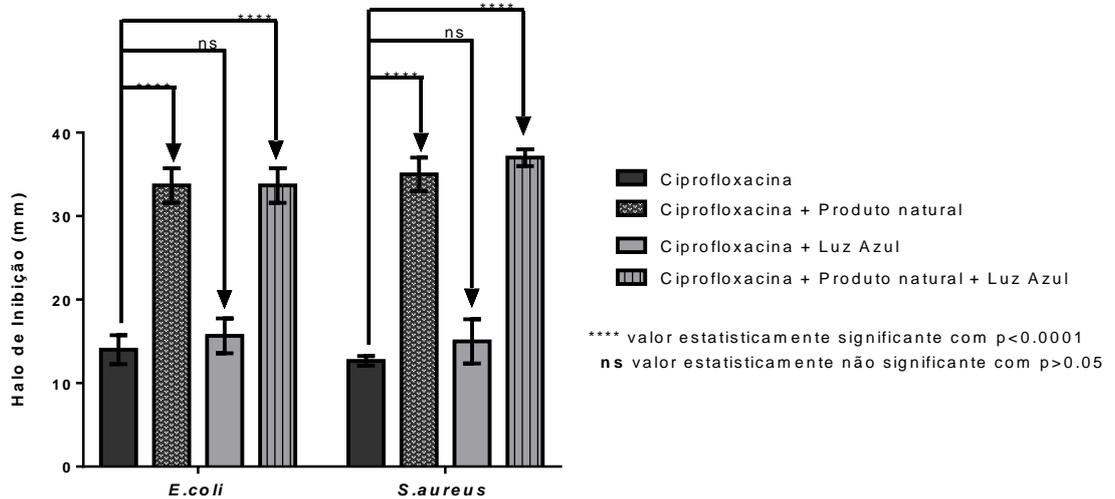
Fonte : própria do Autor

Gráfico 2: Resultados de modulação da resistência ao antibiótico Amicacina na presença e ausência do produto natural 2-Allylphenol e do LED azul , frente a *Escherichia coli* 27 e *Staphylococcus aureus* 358.



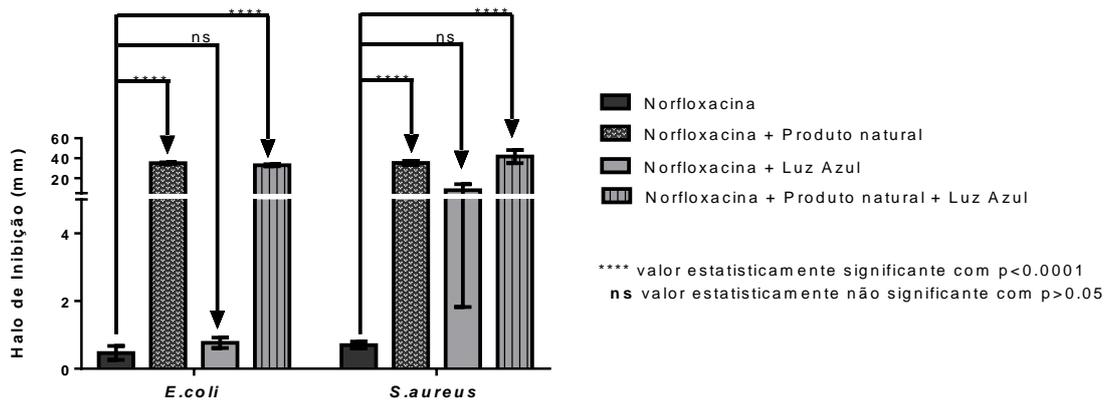
Fonte : própria do Autor

Gráfico 3: Resultados de modulação da resistência ao antibiótico Amicacina na presença e ausência do produto natural 2-Allyphenol e do LED azul , frente a *Escherichia coli* 27 e *Staphylococcus aureus* 358.



Fonte : própria do Autor

Gráfico 4: Resultados de modulação da resistência ao antibiótico Amicacina na presença e ausência do produto natural 2-Allyphenol e do LED azul , frente a *Escherichia coli* 27 e *Staphylococcus aureus* 358.



Fonte : própria do Autor

O estudo de Santos et al. (2021) foi realizado com o objetivo de avaliar o potencial antibacteriano do óleo essencial de uma planta a *Lippia alba* mil, o qual também teve associação

com o LED azul entre outros . E com isso obteve bons resultados observando assim a grande semelhança ao presente estudo.

Devido a crescente resistência bacteriana tem-se a necessidade de expandir com novas pesquisas com compostos como o 2- allylphenol e também ao desenvolvimento de fármacos, como os agentes moduladores, assim, são realizadas pesquisas científicas que abordam as plantas naturais associada a fármacos convencionais a fim de aumentar o grau de eficácia, o qual já é comum em diversos tipos de tratamentos (ZAGO et al., 2009; ALENCAR et al., 2015).

4 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo demonstram importante ação bacteriana e moduladora do 2- allylphenol frente as bactérias em análises. A alta intensidade de inibição está correlacionada a concentração usada que foi a 100% , podendo vir a contribuir para o bem da saúde humana nesse aspecto de estudo. Estes resultados merecem atenção, sendo assim importante o desenvolvimento de novas pesquisas científicas relacionadas a essa substância isolada.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, A.B; Pesquisa experimental em contabilidade: propósito, desenho e execução, **Revista Avanços na Contabilidade Científica e Aplicada**, v.10, n. 2, pag.224-244,2017.

ARAGÃO NETO, H.C et al. 2-Allylphenol Reduces IL-1 β and TNF- α , Promoting Antinociception through Adenosinergic, Anti-Inflammatory, and Antioxidant Mechanisms. *Hindawi*, v. 2019, p 2-6, 2019.

ASSIS, D. B. Efeito antinociceptivo do fenilpropanoide 2-alilfenol. 81 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2016. Disponível em: <https://repositorio.ufpb.br/jspui/bitstream/tede/9506/2/arquivototal.pdf>. Acesso em: 18 de novembro de 2022

CARVALHO, V. R. A. *et al.* Antibiotic-modifying activity and Chemical profile of the essential oil from of cordia DC. **Jornal of Essent oil Bearing Planta**, v.20, n. 2, 2017.

COUTINHO, H. D. M. et al Avaliação comparativa da modulação de antibióticos, frente às cepas bacterianas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*. **Revista Ciencia de la Salud**. v.13 n.3 p.345-354 , 2015.

FREIRES; JUNIOR; Resistência bacteriana pelo uso indiscriminado da azitromicina frente a Covid-19; uma revisão integrative . **Research. Society and Development**, v.11, n.1. p.1 – 10. 2022.

INOYUE, S, Takiwaza. T , Yamaguchi. H Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact, **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 47, n. 2 , p.567- 573, 2001.

JOSE, A.E; CARVALHO, H. H. C.; Wiest, J. M; Avaliação do efeito antibacteriano de extratos de folhas de batata-doce (*Ipomoea batatas* L.) frente a bactérias de interesse em alimentos e correlação com os compostos fenólicos, **Revista Ceres**, v. 62, n.5, p. 421-429, 2015.

LUCENA, H. L. et al. Análise farmacológica e toxicológica do monoterpene sabineno : um estudo in silico. In ANDRADE, J. V. et al. **Pesquisa e abordagens educativas em ciências da saúde**. Campina Grande : Editora Amplla , p. 32 – 42 , 2022.

MANINI, P. R.; **Efeito do óleo essencial de *Piper gaudichaudianum* , compostos majoritários em linhagens tumorais**. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciência da Saúde) – Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2015.

MATIAS et al. Avaliação da atividade antibacteriana e moduladora do óleo essencial de *Cordia verbenacea* , associado às luzes de led. **Revista Interfaces** , v. 5, nº 14, p. 07-14, 2017

MENEZES, J. M. R. *et al.* Perfil de infecção bacteriana em ambiente hospitalar, **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 15, n.2, p.199-207, 2016.

MORAES, A. L; ARAUJO, N. G. P.; BRAGA, T. L; Automedicação: revisando a literatura sobre a resistência bacteriana aos antibióticos, **Revista eletrônica Estácio saúde**, v. 5, n. 1, p. 122 – 130, 2016.

SANTOS, V. R. S. et al.; Potencial antibacteriano do óleo essencial de *Lippia alba* Mill. associado a luzes de LED, **Revista Infarma Ciências Farmace** , v.33 n.2 p.188-196, 2021.

SHARMA, P. K. et al. Biochemical characteristics of a novel vegetative tissue geraniol acetyltransferase from a monoterpene oil grass (*Palmarosa, Cymbopogon martinii* var. *Motia*) leaf.. **Plant Sci.**, v. 203,p. 63-73, 2013.

ZAGO, J.A.A. *et al.* Sinergismo entre Óleos Essenciais e Drogas Antimicrobianas sobre Linhagens de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* Isoladas de Casos Clínicos Humanos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.19, n.4, p. 1-6 ,2009.

