

UNILEÃO
CENTRO UNIVERSITÁRIO LEÃO SAMPAIO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

LEILA TEADOSA DA SILVA

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODIFICAÇÃO DA ATIVIDADE
ANTIBIÓTICA DO SABINENO EM ASSOCIAÇÃO AO LED AZUL FRENTE**
Escherichia coli E *Staphylococcus aureus*

Juazeiro do Norte – CE
2022

LEILA TEADOSA DA SILVA

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODIFICAÇÃO DA ATIVIDADE
ANTIBIÓTICA DO SABINENO EM ASSOCIAÇÃO AO LED AZUL FRETE**
Escherichia coli E Staphylococcus aureus

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: Me. Rakel Olinda Macedo da Silva
Co- Orientador: Maria Hellena Garcia Novais

Juazeiro do Norte – CE
2022

LEILA TEADOSA DA SILVA

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODIFICAÇÃO DA ATIVIDADE
ANTIBIÓTICA DO SABINENO EM ASSOCIAÇÃO AO LED AZUL FRENTE**
Escherichia coli E Staphylococcus aureus

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 parcial do grau de bacharel em Biomedicina.

Orientador: Me. Rakel Olinda Macedo da Silva
Co- Orientador: Maria Hellena Garcia Novais

Data de aprovação: 08/12/2022

BANCA EXAMINADORA

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

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

Prof(a): _____
Me. Priscilla Ramos Freitas
Examinador 2

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODIFICAÇÃO DA ATIVIDADE
ANTIBIÓTICA DO SABINENO EM ASSOCIAÇÃO AO LED AZUL FRENTE
Escherichia coli E *Staphylococcus aureus***

Leila Teadosa da Silva ¹, Rakel Olinda Macedo da Silva ², Maria Hellena Garcia Novaes ³

RESUMO

Este estudo teve como objetivo avaliar a atividade antibacteriana e moduladora do sabineno em associação ao led azul frente *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. A substância isolada foi cedida pela Universidade Regional do Cariri, com isto, a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) foi realizada por meio do método de contato direto por microdiluição em caldo assim como a sua atividade moduladora associada aos antibióticos aminoglicosídeos, mais especificamente amicacina e gentamicina frente a cepas resistentes de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, além disso, foi realizada a análise da atividade antimicrobiana e moduladora em associação a exposição a luz de led azul. Na avaliação da atividade moduladora, foi observado sinergismo na associação do sabineno com amicacina, como na gentamicina frente as duas bactérias, resultando na diminuição da concentração inibitória mínima, alicerçado a isso, na análise da combinação do sabineno com os fármacos e o Led azul foi observado sinergismo em ambas as cepas, exceto na avaliação da associação de *Escherichia coli* com a gentamicina, que ao realizar a exposição ao led azul, resultou em um efeito antagônico, que corresponde ao aumento da CIM. Em suma, com os resultados obtidos, torna-se necessário mais estudos sobre os mecanismos de ação do sabineno frente as cepas analisadas, sua utilização e seus efeitos para possivelmente esta substância se tornar uma nova ferramenta no combate as infecções multirresistentes, assim, como a utilização da luz de led para fins terapêuticos.

Palavras-chave: *Escherichia coli*. Microdiluição. Resistencia. Sabineno. *Staphylococcus aureus*.

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY AND MODIFICATION OF THE ANTIBIOTIC
ACTIVITY OF SABINENE IN ASSOCIATION WITH THE BLUE LED IN FRONT
Escherichia coli AND *Staphylococcus aureus***

Leila Teadosa da Silva ¹, Rakel Olinda Macedo da Silva, Maria Hellena Garcia Novaes ³

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

²Docentes do curso de Biomedicina. rakelolinda@leaosampaio. Centro Universitário Leão Sampaio

³ Mestranda em Química Biológica. marlenna1516@gmail.com. Universidade Regional do Cariri.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the antibacterial and modulating activity of sabinene in association with the blue led against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The isolated substance was provided by the Regional University of Carin, with this, the determination of the minimum inhibitory concentration(MIC) was carried out through the direct contact method by microdilution in broth as well as its modulating activity associated with aminoglycoside antibiotics, more specifically amikacin and gentamicin against resistant strains of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, in addition, the activity analysis was carried out antimicrobial and modulator in association with exposure to blue LED light. In the evaluation of the modulating activity, synergism was observed in the association of sabinene with amikacin as in gentamicin against the two bacteria, resulting in a decrease in the minimum inhibitory concentration, based on this, in the analysis of the combination of sabinene with the drugs and the LED blue synergism was observed in both strains, except in the evaluation of the association of *Escherichia coli* with gentamicin, which, when performing exposure to blue led, resulted in an antagonistic effect, which corresponds to the increase in MIC. In short, with the results obtained, further studies are needed on the mechanisms of action of sabinene against the analyzed strains, its use and its effects so that this substance may possibly become a new tool in the fight against multidrug resistant infections, as well as the use of led light for therapeutic purposes.

Keywords: *Escherichia coli*. Microdilution. Resistance. Sabinene. *Staphylococcus aureus*.

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

²Docentes do curso de Biomedicina. rakelolinda@leaosampaio. Centro Universitário Leão Sampaio

³ Mestranda em Química Biológica. marlenna1516@gmail.com. Universidade Regional do Cariri.

1 INTRODUÇÃO

Há milhares de anos os seres humanos convivem diariamente com bactérias, porém, as que são patogênicas tem sido um problema de saúde ao passar dos anos, até o período dos primeiros antibióticos. A partir disso, com o costume da população de ter um uso inadequado e prolongado de fármacos e a não adesão ao tratamento prescrito pelo médico são ações que favoreceram o surgimento da resistência bacteriana prejudicando a terapêutica (CARVALHO et al., 2021; VASCONCELOS et al., 2017).

Desse modo, várias bactérias do grupo Gram positivos como *Staphylococcus aureus* e Gram negativos como *Escherichia coli* adquiriram diversos mecanismos de resistência como a síntese de enzimas que inativam a ação dos antibióticos como as enzimas beta lactamases de amplo espectro e a presença de elementos genéticos moveis que existem de acordo com a sua estrutura genética, que tem a função de inativar a ação dos antibióticos como também a transmissão desses genes (LEITE et al., 2020; REYES et al., 2018).

A partir disso, com a declaração de pandemia pela OMS (Organização Mundial da Saúde) no início de 2020 acabou resultando na intensificação de alguns costumes comuns da população com a automedicação, por conta da busca de uma prevenção e maior proteção contra o Coronavírus (SHARMA et al., 2016; UZUNIAR; WANH, 2020). Com isso, os órgãos governamentais tiveram grande influência no uso inadequado de fármacos, como o Ministério da Saúde que lançou a NOTA INFORMATIVA Nº 9/2020-SE/GAB/SE/MS, que liberou para os médicos prescreverem hidroxicloroquina mesmo tendo pouquíssimos estudos sobre sua eficácia contra a Covid-19 (BRASIL, 2020).

Alicerçado a isso, a busca por novos fármacos se tornou de grande importância, desse modo, as plantas medicinais aparenta-se ser uma ótima solução, por ser de baixo custo e por ser utilizados de várias formas como extratos, óleos e até mesmo substâncias isoladas, como o sabineno que é um monoterpeneo que pode ser isolado em diversas plantas como *Triphasia trifolia*, *Melaleuca alternifolia*, *Laurus nobilis* L, *Citrus limon* L, entre outros. Esta substância isolada possui mecanismos de atividade antimicrobiana, possuindo também uma atividade moduladora associada a outros antibióticos (CUNHA et al., 2012; SANTOS et al., 2008; SOUZA et al., 2017).

Junto a isso, os estudos com a utilização do LED (*Light Emitting Diode*) tem se tornado uma alternativa promissora para tratamento de infecções por bactérias resistentes,

tendo como vantagens a baixa emissão de calor, o controle da intensidade e o baixo custo, desse modo, em alguns estudos essas luzes apresentam capacidade de eliminação de bactérias Gram positivas e negativas e principalmente por não possuírem resistência aos antibióticos mesmo após diversos ciclos de tratamento. (HAMBLIN, 2016; LAZZARINI et al, 2017; ROCHA et al, 2017). Com isso, a luz de led azul demonstra ter efeitos antibacterianos sem ocasionar efeitos adversos nas células naturais do corpo humano (PEÇANHA, M. P; FERREIRA, J. J. C; DINIZ, A. L,2018).

Em suma, com o aumento de casos de infecções bactérias multirresistentes que dificultam o tratamento, resultou na busca por novos medicamentos, por isso, as plantas vem sendo alvo de diversos estudos, podendo ser utilizadas de diversas formas como substancias isolada que permitem melhor a análise da atividade antibacteriana, como também facilita a produção de novos fármacos. Além disso, terapêuticas utilizando luzes de LED foram desenvolvidas por ter ação imediata e acesso a regiões mais difíceis do corpo. Com isso, o estudo na medicina alternativa é imprescindível para obter novos métodos para tratar pacientes com infecções por bactérias muito resistentes.

Sendo assim, o presente estudo tem como objetivo determinar a concentração inibitória mínima da substância sabineno frente *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* por meio da microdiluição em caldo, assim como avaliar a combinação do sabineno com os antibióticos aminoglicosídeos, como a amicacina e gentamicina, por meio da atividade moduladora com o intuito de verificar seu resultado sinérgico e a atividade da substância química sabineno associada com a luz de LED azul.

2 METODOLOGIA

2.1 TIPO DE ESTUDO, LOCAL DE REALIZAÇÃO E OBTENÇÃO DA SUBSTÂNCIA ISOLADA

O presente artigo trata-se de um estudo experimental de caráter quantitativo. Foi realizado no Laboratório de Microbiologia do Centro Universitário Doutor Leão Sampaio. A substância isolada sabineno foi cedida pelo Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular da Universidade Regional do Cariri - URCA.

2.2 ANTIBIÓTICOS, MEIOS DE CULTURA E MICRORGANISMOS

Foram utilizados os antibióticos aminoglicosídeos (gentamicina e amicacina), como também os meios de cultura *Ágar Brain Heart Infusion* e *Muller Hinton*.

Os microrganismos utilizados nos testes foram obtidos através do Laboratório de Microbiologia do Centro Universitário Doutor Leão Sampaio. Foram utilizadas linhagens padrões das bactérias *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, como também linhagens resistentes dos microrganismos *Escherichia coli* 06 e *Staphylococcus aureus* 10.

2.3 PREPARO DAS SUBSTÂNCIAS

Foram pesadas 10 mg (10.000 µg) da substância isolada a ser testada em um eppendorf, diluído em 500µl de DMSO (Dimetilsulfóxido). Após isso essa substância foi transferida para um tubo Falcon e acrescentado 9265 µl de água destilada estéril, totalizando 9765 µl de solução com a concentração de 1024 µg/mL. Esta solução foi utilizada para fazer o teste de concentração inibitória mínima (CIM) e modulação.

Os antibióticos utilizados foram gentamicina e amicacina na concentração de 1024 µg/mL. Foi preparado a resazurina diluindo uma pequena quantidade de pó em 10ml de água destilada em um tubo falcon.

2.4 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MINIMA (CIM) POR MICRODILUÇÃO

As culturas de bactérias foram semeadas em Placas de Petri contendo *Ágar Brain Heart Infusion* 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 contendo solução salina. Após esse procedimento, foi testado a turbidez da solução com um controle de McFarland.

Para avaliar a atividade antibacteriana foi adicionado 100µl da solução final dos inóculos em cada poço da placa de microdiluição contendo o meio *Brain Heart Infusion Broth* e em seguida foi feita a microdiluição seriada com 100 µL da solução da substância isolada, por coluna, variando nas concentrações de 512 µg/mL no primeiro poço a 0,5 µg/mL no penúltimo poço, sendo o último o controle positivo. As microdiluições foram realizadas em triplicata. As placas foram levadas à incubadora por 24 horas a 37 °C. A

determinação da CIM bacteriana foi feita utilizando-se a adição de 20 μL de resazurina em cada poço e observação ocular após 1 hora (NCCLS, 2003; SALVAT; ANTONNACCI; FORTUNATO, 2001).

2.5 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE MODULADORA POR CONTATO DIRETO.

Para verificar a modulação do efeito antibacteriano foram utilizados antibióticos amicacina e gentamicina frente às cepas testadas, através do método proposto por Coutinho et al. (2008). Foram preparados tubos eppendorf, contendo em cada um deles a substância isolada sabineno 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, exceto no último poço da placa que corresponde ao controle positivo. As placas foram levadas à incubadora por 24 horas a 37 °C e a determinação da CIM bacteriana foi feita utilizando-se adição de 20 μL de resazurina em cada poço e observação ocular após 1 hora. Todos os testes foram realizados em triplicata (NCCLS, 2003).

2.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA POR MICRODILUIÇÃO COM EXPOSIÇÃO AO LED

Foram realizadas placas com a mesma metodologia descrita acima, mas antes de serem incubadas na estufa, essas placas foram expostas aos aparelhos de led azul com um comprimento de onda pré-determinado pelo aparelho, de 415nm por 20 minutos, também foram realizadas placas de controle que não foram expostas a luz de led. Todos os testes foram realizados em triplicata (PEREIRA et al, 2017).

2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram analisados a partir da organização dos dados em gráficos utilizando o programa gráfico Graph Pad Prism 7.0 sendo analisados posteriormente

através do teste ANOVA utilizando a média geométrica das duplicatas como dado central e o desvio padrão da média, realizando em seguida o teste de Bonferroni post hoc (onde $p < 0,05$ é considerado significativo)

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

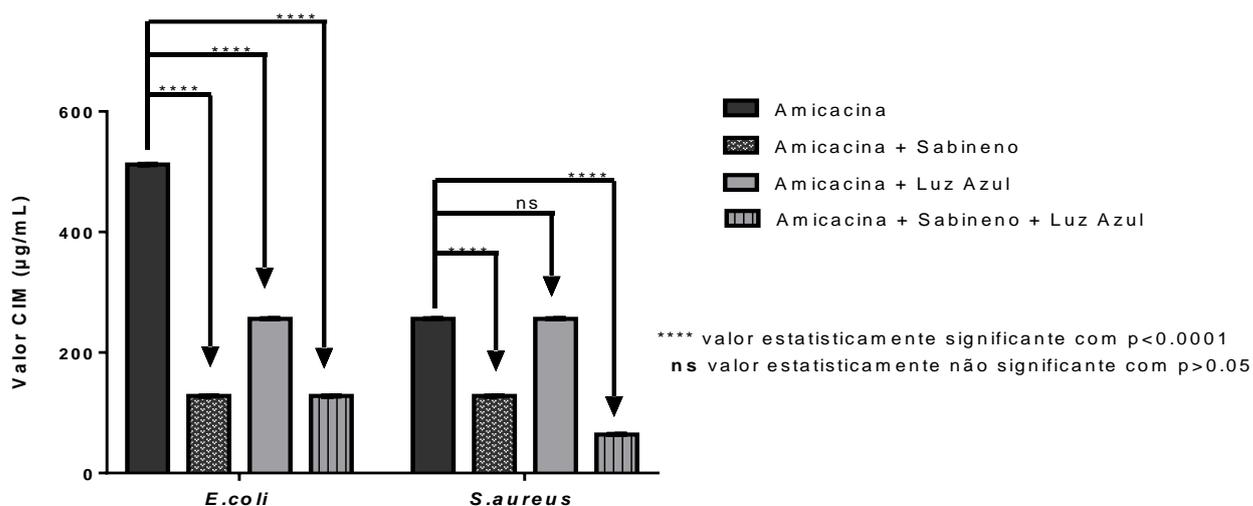
Após a realização dos testes descritos acima, a concentração inibitória mínima (CIM) realizada por meio da técnica de microdiluição em caldo, permitiu a análise da substância isolada sabineno em diferentes concentrações frente as cepas resistentes e padrões de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, para dessa forma, avaliar a menor concentração da substância que é necessária para inibir o crescimento bacteriano, com isso, os resultados apresentados demonstraram que as cepas das duas bactérias analisadas, apresentaram concentrações inibitórias mínimas maiores ou iguais a 1024 $\mu\text{g/mL}$.

Alicerçado a isso, no estudo de Barbosa (2021), os óleos essenciais de *Croton urticifolius* e *Croton adamantinus*, que possui em sua composição monoterpenos, como o sabineno e o alfa pineno demonstrou uma atividade antibacteriana de 512 $\mu\text{g/mL}$ frente *Escherichia coli* ATCC e de 1024 $\mu\text{g/mL}$ frente *Staphylococcus aureus* ATCC.

Em contrapartida, o presente estudo, demonstrou que para ambas as cepas das bactérias tiveram concentrações maiores ou iguais de 1024 $\mu\text{g/mL}$, ou seja, foi obtido um resultado divergente do estudo apresentado anteriormente, com isso pode-se explicar esta divergência pelo motivo de os óleos essencial de *Croton urticifolius* e *Croton adamantinus*, tem em sua composição o sabineno, porém também está presente diversos outros compostos, com isso, estas demais substâncias podem interferir na ação antibacteriana aumentando-a ou diminuindo-a.

Com isso, o sabineno pode apresentar inibição do crescimento bacteriano se for submetida em novos estudos, desse modo, as cepas resistentes seguiram para a avaliação da modulação que permite avaliar se a substância em parceria com antibióticos tem a capacidade de potencializar a ação dos fármacos, melhorando assim o seu efeito terapêutico. Os resultados apresentados estão demonstrados conforme o gráficos **1**.

Gráfico 1: Concentração inibitória mínima dos antibióticos amicacina e gentamicina em associação a presença ou ausência do sabineno e a exposição ao LED azul, frente *Escherichia coli* 06 e *Staphylococcus aureus* 10



Fonte: Própria do autor.

Realizando a interpretação e análise do gráfico, é possível perceber que houve sinergismo na associação do sabineno com a amicacina em ambas as bactérias, demonstrando uma redução da CIM, de 512 µg/mL para 128 µg/mL frente *Escherichia coli* e redução de 256 µg/mL para 128 µg/mL frente *Staphylococcus aureus*, resultando em uma potencialização do efeito terapêutico dos antibióticos. Como também, a associação do antibiótico com a substância isolada em exposição a luz de LED azul demonstrou efeito sinérgico.

Na associação do sabineno com a amicacina frente *Escherichia coli* é perceptível um sinergismo, por apresentar uma alta redução da concentração inibitória mínima, demonstrando que a substância sabineno potencializou a ação da amicacina revertendo a resistência obtida por esse microrganismo

No tratamento de infecções bacterianas causadas por Enterobacterias produtoras de beta lactamases, como *Escherichia coli*, os aminoglicosídeos que têm um grande potencial terapêutico tanto em esquemas de tratamento que envolvem a monoterapia (um único fármaco), quanto naqueles com terapia combinada de dois antibióticos (DA SILVA et al., 2022).

Como também no estudo de Rocha (2017), revela que nas amostras de pacientes com infecções bacterianas do trato urinário de um laboratório de Curvelo em Minas Gerais, demonstrou que a maioria das uroculturas positivas para *Escherichia coli*, e na avaliação do perfil de suscetibilidade a antibióticos, foi analisado que os antibióticos

aminolicosídeos como amicacina e gentamicina, foram os mais sensíveis dentre os demais fármacos. Analisando o resultado da combinação do sabineno com o antibiótico amicacina frente *Staphylococcus aureus*, demonstrou um resultado sinérgico, potencializando a ação do fármaco e diminuindo a resistência que esse microrganismo adquiriu contra a amicacina,

Em Camilo e colaboradores (2020), na avaliação da composição química e atividades biológicas in vitro dos óleos essenciais dos rizomas de *Zingiber officinale* Roscoe e *Curcuma longa* L. (*Zingiberaceae*), que tem em sua composição a substância química sabineno, na determinação da atividade inibitória comum frente *Staphylococcus aureus* foi observado uma redução da CIM de 1024 µg / mL para 14,7 µg / mL, nesse caso, houve um sinergismo entre o antibiótico e óleo essencial.

Realizando um comparativo com o presente artigo, verifica-se uma compatibilidade, de forma que houve uma diminuição da CIM, demonstrando esse efeito sinérgico, isso pode ser justificado pelo fato de as bactérias Gram positivas não terem uma camada externa na sua estrutura, permitindo assim uma ação antibacteriana um pouco mais eficaz comparando as bactérias Gram negativas.

Acrescenta-se também que a utilização de luzes de LED ou fototerapia no combate as infecções bacterianas são promissoras, pois possui um grande potencial antibacteriano, principalmente a luz de LED azul (GALO, 2018).

Com isso, na análise da modulação frente *Escherichia coli* 06, na associação dos antibióticos com a luz de LED azul, refletiu um efeito sinérgico quando associado a amicacina, diminuindo assim a CIM, melhorando o potencial terapêutico do fármaco.

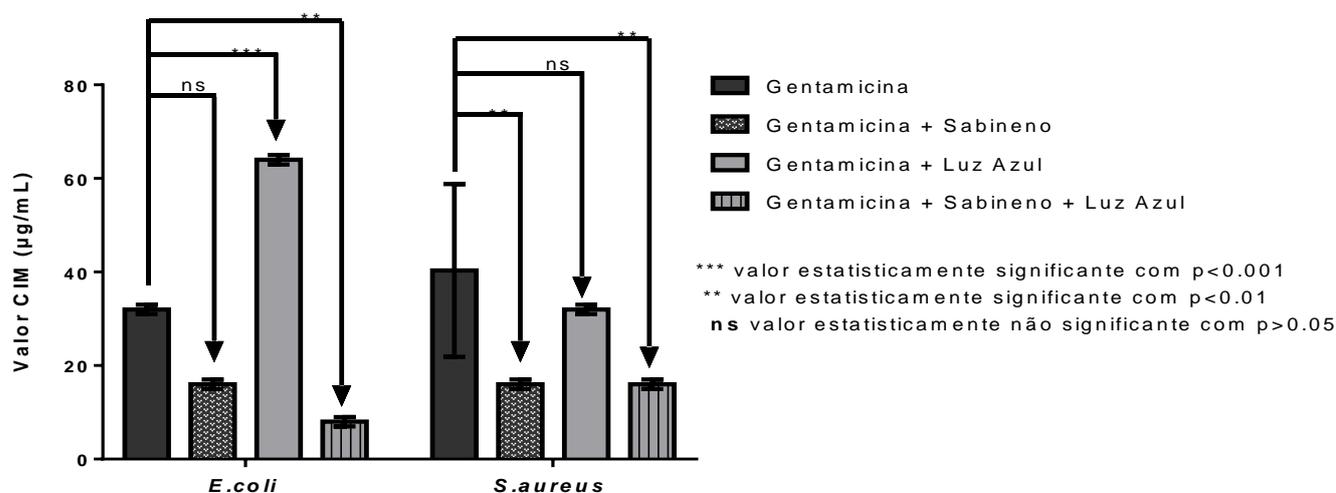
Do mesmo modo, no estudo de Giannelli e colaboradores (2017) que avaliou o efeito fotodinâmico da luz de LED no biofilme de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* na superfície de titânio moderadamente rugoso, demonstrou uma redução do crescimento bacteriano em ambas as bactérias, mostrando assim que o LED é uma ferramenta atraente para tratamento de infecções causadas por esses microrganismos.

Em Panyto e colaboradores (2019), avaliou a influência da luz de LED na sensibilidade de *Staphylococcus aureus* frente a fármacos, com isso, demonstrou que a luz de LED azul obteve um aumento da sensibilidade dos antibióticos, revertendo assim a resistência, com isso, determinou que o grau de influência do LED depende do comprimento de onda, frequência e duração para obter um bom resultado. Isto pode estar

ligado ao presente estudo, pois na análise da exposição a luz de LED azul em associação a amicacina, demonstrou um resultado não significativo, pois pode estar relacionado a um tempo curto de exposição a luz, podendo até obter melhores resultados em uma quantidade de tempo maior de contato com o LED azul. No resultado da associação do sabineno com a amicacina em contato com a exposição ao LED azul demonstrou uma potencialização do efeito antibacteriano, por conta da diminuição da CIM, de 258 µg/mL para 128 µg/mL.

Segundo Astuti e colaboradores (2020) na análise da eficácia fotodinâmica antibacteriana do LED para inativação de *Staphylococcus aureus*, afirma que obteve melhor resultado na exposição a luz de LED azul, mostrando que as bactérias absorveram a luz nas porinas, ativando reações químicas que provocam espécies reativas de oxigênio resultando na morte bacteriana. Os demais resultados estão demonstrados no **gráfico 2**.

Gráfico 2: Concentração inibitória mínima dos antibióticos amicacina e gentamicina em associação a presença ou ausência do sabineno e a exposição ao LED azul, frente *Escherichia coli* 06 e *Staphylococcus aureus* 10.



Fonte: Própria do autor.

Realizando uma análise do gráfico 2, verifica-se que a associação do sabineno com a gentamicina frente *Escherichia coli* 06 obteve um resultado não significativo, sendo necessário novos testes para verificar a eficácia dessa terapia combinada. Em contrapartida, frente *Staphylococcus aureus* 10 teve como resultado um efeito sinérgico, resultando na potencialização da ação terapêutica, revertendo a resistência adquirida, por causa da diminuição da CIM de 32 µg/mL para 16 µg/mL.

No estudo de Leandro(2020), realizado com óleos essenciais das folhas e inflorescências de *E. Ocimum gratissimum L.* (LAMIACEAE) que tem composição majoritária de terpenos, como o sabineno e o eugenol, evidenciou um efeito sinérgico em parceria com o antibiótico gentamicina frente *Escherichia coli* resistente. Como foi demonstrado nesse estudo, o sabineno possui sinergismo quando associado ao mesmo fármaco, reduzindo a concentração inibitória mínima.

Segundo o artigo de Figueirêdo e colaboradores (2018), na avaliação da atividade modulatória com o óleo essencial a partir das folhas de *Hyptis martiusii Benth*, que é composto por monoterpenos, como o sabineno, apresentaram um efeito antagônico frente *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* associados a amicacina e gentamicina, ou seja, os resultados demonstraram que o óleo essencial aumentou a CIM, gerando uma maior resistência.

Alicerçado a isso, no presente artigo os resultados estão divergentes ao estudo relatado anteriormente, isto pode ser justificado pelas diferentes cepas utilizadas nos dois estudos, de forma que no estudo de Figueirêdo e colaboradores (2018), foram utilizadas cepas bacterianas *Staphylococcus aureus* (AS ATCC 25923 e SA 358), *Escherichia coli* (EC ATCC 10536 e EC 27), com isso, demonstra que cada cepa possui sua capacidade de resistência, sendo umas mais resistentes do que outras.

No Gráfico 1 foi observado um efeito sinérgico na associação da amicacina com *Escherichia coli* quando exposto ao LED azul, porém na avaliação com a gentamicina houve um efeito antagônico, ou seja, ao invés do LED reverter a resistência a gentamicina, fez o inverso, estimulou o aumento da concentração inibitória mínima, de 32 µg/mL para 64 µg/mL. Em contrapartida, na associação dos antibióticos com o sabineno e a luz de LED azul, ilustrou um efeito sinérgico, principalmente com a gentamicina, que resultou em uma grande redução da CIM.

O antibiótico gentamicina é um aminoglicosídeo que tem ação contra bactérias Gram negativas, contudo, sua associação com outros fármacos permite uma maior penetração intracelular do fármaco, que resulta em um espectro de ação maior, podendo ser utilizado no combate a bactérias Gram positiva (SILVEIRA, 2017). Alicerçado a isso, nos testes frente *S.aureus* 10, demonstrou um melhor resultado em associação a gentamicina, tendo assim uma maior redução em comparativo com a amicacina.

Entretanto, na análise do antibiótico com a utilização do LED azul, ilustrou um resultado não significativo na associação com os dois antibióticos. Contudo, na análise dos antibióticos com o sabineno e a luz de LED teve ótimos resultados, refletindo em uma CIM menor, principalmente na associação com a amicacina.

Em Barbosa (2018), na avaliação da modulação da combinação dos compostos eugenol e sabineno, ambos monoterpenos, em associação a gentamicina frente *Staphylococcus aureus* demonstrou um sinergismo, reduzindo mais da metade da CIM. Com isso, este estudo está alicerçado ao presente artigo, pois ambos demonstram resultados parecidos, visto que o melhor resultado frente a mesma bactéria, ocorreu em associação a gentamicina, que evidenciou uma redução maior da CIM em comparação a amicacina.

Em Nicolao e colaboradores (2021), na análise da atividade antibacteriana e caracterização química do óleo essencial de louro, demonstrou que em sua composição tem a concentração de 12,23% de sabineno, com isso, na avaliação antibacteriana utilizando *Staphylococcus aureus* teve uma redução significativa do crescimento bacteriano, da mesma forma que foi observado no presente estudo.

Na análise da associação do sabineno com a gentamicina em exposição a luz de LED azul, demonstrou um efeito sinérgico frente a *Escherichia coli* 06, na qual ocorreu uma grande redução da concentração inibitória mínima, de 64 µg/mL para 8 µg/mL, mostrando assim que a luz do LED, melhorou ainda mais o efeito antibacteriano quando comparado aos testes que avaliaram a associação apenas do sabineno com o antibiótico, que não obteve um resultado significativo, dessa forma, a luz melhorou sua ação antibacteriana, sendo um agente potencializador.

Com isso, na combinação da gentamicina com o sabineno e a luz de LED azul, não obteve um resultado significativo, isto vai de acordo com estudo de Pedroso et al (2022), que realizou a avaliação da eficácia da luz de LED azul frente *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermitis*, demonstrou que o LED é uma ferramenta promissora para inibição do crescimento bacteriano das cepas analisadas, porém, os resultados não foram significativos, sendo necessário novos estudos para comprovar essa eficácia.

Este mesmo resultado pode ser justificado pelo fato de uma duração curta da exposição a luz de LED azul, sendo necessário mais testes com essa mesma metodologia,

mas aumentando o tempo de exposição, para verificar se quanto mais tempo exposto a luz, melhor a ação antibacteriana.

Em artigos, como o de Oliveira e colaboradores (2007), quando são testadas antibióticos com produtos naturais, é mais evidenciado uma atividade modulatória mais intensa frente bactérias Gram positivas do que diante das Gram negativas. Contudo, é possível averiguar, que com o sabineno teve um melhor efeito em associação a amicacina do que a gentamicina, principalmente frente *Escherichia coli* 06, demonstrando assim que a modulação pode estar associada a peculiaridades da parede celular bacteriana.

Nos testes frente a *Escherichia coli* 06, ilustrou um melhor resultado em associação com a amicacina, que refletiu em uma redução maior da CIM em comparação a gentamicina, que demonstrou um valor estaticamente não significante. Em contrapartida, nos testes frente *Staphylococcus aureus* 10 os resultados foram ótimos na associação com os dois antibióticos, porém, a maior redução da CIM foi observada na associação com a gentamicina

Desse modo, na utilização do LED azul, os resultados foram melhores na gentamicina, pois foi possível averiguar o antagonismo, mas também, o sinergismo quando foi associado o antibiótico com o sabineno e a luz de LED, que obteve uma grandiosa redução da concentração inibitória mínima.

Em suma, a análise do sabineno como uma substância capaz de inibir o crescimento de bactérias e possuir um efeito potencializador dos mecanismos de ação antibacterianos presentes nos antibióticos, precisa ser mais explorada, necessitando assim de mais estudos sobre seu efeito e sua utilização, para maior compreensão dos seus mecanismos, para ao final ser possível a criação de um novo método de tratamento fitoterápico para infecções bacterianas multirresistentes.

4 CONCLUSÃO

A substância isolada sabineno possui um potencial modulador demonstrando ter um efeito sinérgico. Alicerçado a isso, nos testes envolvendo a utilização da luz de Led azul demonstrou um efeito potencializador da ação antibacteriana, diminuindo o crescimento bacteriano, demonstrando ser uma boa ferramenta para combate a infecções multirresistentes.

Com isso, o presente estudo se caracteriza como um estudo preliminar, com isso torna-se importante a realização de novos estudos acerca desse tema, para melhor

compreensão sobre os mecanismos de ação do sabineno frente as cepas bacterianas testadas, sua utilização e seus possíveis efeitos colaterais, com a finalidade de contribuir no combate a resistência bacteriana, como também, para a formulação de um novo medicamento a ser utilizado no tratamento de infecções multirresistentes.

REFÊRENCIAS

- ASTUTI, S.D. et al. Antimicrobial Photodynamic Effectiveness of Light Emitting Diode (Led) For Inactivation on *Staphylococcus aureus*, Bacteria and Wound Healing in Infectious Wound Mice. **Journal of Physics: Conference Series**, v. 1, n. 1505. 2020.
- BARBOSA, A, J, C. **Composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de *Croton urticifolius* lam. e *Croton adamantinus* müll. arg. (euphorbiaceae).**2021. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2021.
- BARBOSA, T.F. **Avaliação da atividade antibacteriana e moduladora de fármacos da combinação dos compostos eugenol e sabineno.** 2018. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Biomedicina) - Centro Universitário Doutor Leão Sampaio, Juazeiro do Norte, 2018.
- BRASIL. NOTA INFORMATIVA Nº 9/2020-SE/GAB/SE/MS. Ministério da saúde, Brasília, 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias/anvisa/2020/hidroxicloroquina-e-coroquina-viram-produtos-controlados>. Acesso em: 14 de agosto de 2022.
- CAMILO, C. J. et al. Composição química e atividades biológicas in vitro dos óleos essenciais dos rizomas de *Zingiber officinale* Roscoe e *Curcuma longa* L. (Zingiberaceae). **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n.4. 2020.
- CARVALHO, J. J. V et al. Multiresistant bacteria and their impacts on public health: A social responsibility. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 6. 2021.
- 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, n.1. 2008.
- CUNHA, A. P. et al. **Plantas Aromáticas e Óleos Essenciais: Composição e Aplicações.** 1.ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2012.
- DA SILVA, J. E. B. et al. Use of aminoglycosides as a therapeutic strategy to fight infections caused by *Enterobacteriaceae* that produce extended-spectrum β -lactamases. **Research Society and Development**, v.11, n.2. 2022.
- FIGUEIRÊDO, F.R.S D. et al. Avaliação da atividade moduladora e citotóxica do óleo essencial das folhas de *Hyptis martiusii* Benth. **Revista ciencias de la salud**, v.16, n. 1. 2018.
- GALO, Í. D. C. **Fototerapia antimicrobiana: otimização de protocolo experimental in vitro e estudo de resistência bacteriana.** 2018. Dissertação (Mestrado em Ciências aplicada a saúde) - Universidade Federal de Goiás, Jataí, 2018.
- GIANNELLI, M. et al. Effects of photodynamic laser and violet-blue led irradiation on *Staphylococcus aureus* biofilm and *Escherichia coli* lipopolysaccharide attached to

moderately rough titanium surface: in vitro study. **Lasers in Medical Science**, v.1, n.32. 2017.

HAMBLIN, M.R. Antimicrobial photodynamic inactivation: a bright new technique to kill resistant microbes. **Current opinion in microbiology**, v. 33, n.1. 2016.

HEIN, S; BORTOLI C.F.C; MASSAFERA G.L. Fatores relacionados à infecção de trato urinário na gestação: revisão integrativa. **Journal of Nursing and Health**, v.1, n.1. 2016.

LAZZARINI, L. E. S. et al. Uso de diodos emissores de luz (LED) na fisiologia de plantas cultivadas: revisão. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 16, n. 2. 2017.

LEANDRO, M.K.N.S. et al. Modulation of antibiotic resistance by the essential oil of *Ocimum gratissimum* L. in association with light-emitting diodes (LED) lights. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 75, n. 11-12. 2020.

LEITE, M.S. et al. **Perfil de resistência aos antimicrobianos de *Escherichia coli* isoladas de amostras de urina de pacientes de uma Unidade de Terapia Intensiva. Revista Brasileira de Análises clínicas, v. 3, n.53, 2020.**

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.

NICOLAO, J.O. et al. Antimicrobial activity and chemical characterization of laurel essential oil. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 24, n. 2. 2021.

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

PANYTO, V.V. et al. Influence of led radiation on the *Staphylococcus aureus* sensitivity to antibiotics. **Photobiol Photomed**, v.1, n.26. 2019.

PEDROSO, J.T. Effectiveness of the blue led in the photoinactivation of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* in vitro. **Research Society and Development**, v.11, n.2. 2022.

PEÇANHA, M. P; FERREIRA, J. J. C; DINIZ, A. L. Investigação da ação antimicrobiana da luz azul contra diversos agentes de infecção hospitalar. **Revista Da Faculdade De Ciências Médicas De Sorocaba**, v,1, n .20. 2018.

PEREIRA, N.L.F. et al. Antibacterial activity and antibiotic modulating potencial of the essential oil obtaine from *Eugenia jambolana* in association with LED lights. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v.174, n.1. 2017.

REYES, A.A. et al. Bases moleculares de la resistencia a meticilina en *Stapylococcus aureus*. **Revista Chilena Infectol**, v.1, n.35. 2018.

ROCHA, P. S. G. et al. Uso de LEDs na multiplicação in vitro de três cultivares de bananeira. **Revista Colombiana de Ciências Hortícolas**, v. 11, n. 2. 2017.

ROCHA, T.B. **Perfil de resistência da bactéria *Escherichia coli* a antibióticos em infecções do trato urinário em um Laboratório de Curvelo-MG.** 2017. Trabalho de

conclusão de curso (Graduação em Farmácia) - Faculdade Ciências da Vida, Sete lagoas, Minas Gerais, 2017.

plants from northern Argentina for their antimicrobial activity. **Letters in Applied Microbiology**, v. 32, n.1. 2001.

SANTOS, R.P. et al. Composição química e atividade biológica das folhas e frutos de *Triphasia trifolia*. **Revista Química Nova**, v. 31, n. 1. 2008.

SHARMA, G. et al; *Escherichia coli* biofilm: development and therapeutic strategies. **Journal of Applied Microbiology**, v.121, n.1. 2016.

SILVEIRA, E.C. **Validação de metodologia farmacopéica para análise de sulfato de gentamicina por cromatografia líquida de alta eficiência para aplicação na indústria farmacêutica.** 2017. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em química) -Universidade Estadual Paulista, Bauru, 2017.

SOUZA, J. S. S. et al. Uso de Plantas Medicinais por Comunidades do Município de Curitiba. **Divers@ Revista Eletrônica Interdisciplinar**, v.10, n.2. 2017.

UZUNIAN, A; WANH A. Coronavirus SARS-CoV-2 and Covid-19. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v.4, n. 56. 2020.

VASCONCELOS, D.V. et al. O uso de antimicrobianos no âmbito hospitalar e as atribuições do farmacêutico na comissão de controle de infecção hospitalar (CCIH). **Revista AMRIGS**, v. 49, n. 3. 2017.

