

UNILEÃO
CENTRO UNIVERSITÁRIO LEÃO SAMPAIO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

MILENA ALVES DE LIMA SAMPAIO

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODIFICADORA DE FÁRMACOS DO ÓLEO
ESSENCIAL DE QUATRO ESPÉCIES DE *Copaifera* spp. EM ASSOCIAÇÃO À LUZ
DE LED AZUL FRENTE A CEPAS DE *Staphylococcus aureus* E *Pseudomonas
aeruginosa***

Juazeiro do Norte – CE
2023

MILENA ALVES DE LIMA SAMPAIO

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODIFICADORA DE FÁRMACOS DO ÓLEO
ESSENCIAL DE QUATRO ESPÉCIES DE *Copaifera* spp. EM ASSOCIAÇÃO À LUZ
DE LED AZUL FRENTE A CEPAS DE *Staphylococcus aureus* E *Pseudomonas
aeruginosa***

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: Ma. Rakel Olinda Macedo da Silva
Coorientador: Ma. Priscilla Ramos Freitas

Juazeiro do Norte – CE
2023

MILENA ALVES DE LIMA SAMPAIO

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODIFICADORA DE FÁRMACOS DO ÓLEO
ESSENCIAL DE QUATRO ESPÉCIES DE *Copaifera* spp. EM ASSOCIAÇÃO À LUZ
DE LED AZUL FRENTE A CEPAS DE *Staphylococcus aureus* E *Pseudomonas
aeruginosa***

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: Ma. Rakel Olinda Macedo da Silva
Coorientador: Ma. Priscilla Ramos Freitas

Data de aprovação: ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

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

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

Prof(a): Ma. Tassia Thaís Al Yafawi
Examinador 2

Dedico esse trabalho aos meus pais, Luiz e Marinalva e as minhas irmãs, Monieli e Micaely. O alicerce para a concretização desse sonho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente a Deus, por ter me guiado e iluminado ao longo de toda essa jornada. Aos meus pais, que sempre estiveram ao meu lado, apoiando e incentivando em cada passo dado para a concretização desse sonho.

Às minhas irmãs, por todo o companheirismo e amparo ao longo desse percurso. Vocês são minha fonte de inspiração.

Em memória ao meu avô Zequinha, que foi uma grande inspiração para a realização desse experimento. O senhor foi um extraordinário homem e sei que está muito orgulhoso olhando daí sobre as nuvens.

Às minhas orientadoras, Rakel e Priscilla, por me concederem essa oportunidade, por todo o suporte e parceria ao longo de todas as etapas. Foi uma honra ter vocês como minhas orientadoras.

Agradeço também à Carol Justino e ao Arthur pela contribuição na realização dos testes.

A todos os preceptores do estágio, por todos os ensinamentos que me fizeram ser a profissional que sou.

Aos meus amigos da graduação, por ter dividido não só as dificuldades, mas principalmente as felicidades do processo. Obrigada por tudo, sem vocês os dias não teriam sido leves.

Por fim, a mim mesma, por todos os percalços não ter desistido e cada dia ter tentado ser melhor.

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODIFICADORA DE FÁRMACOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE QUATRO ESPÉCIES DE *Copaifera* spp. EM ASSOCIAÇÃO À LUZ DE LED AZUL FRENTE A CEPAS DE *Staphylococcus aureus* E *Pseudomonas aeruginosa*

Milena Alves de Lima Sampaio¹; Priscilla Ramos Freitas²; Raket Olinda Macedo da Silva³.

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade antibacteriana e moduladora do óleo essencial de quatro espécies de *Copaifera* spp. em combinação com antibióticos e luz de LED azul, frente às cepas resistentes de *S. aureus* (SA 10) e *P. aeruginosa* (PA 24), bactérias oportunistas comumente encontradas em infecções. O óleo essencial produzido a partir de quatro espécies diferentes do gênero, foi obtido comercialmente através da empresa dōTERRA®. A avaliação da atividade antibacteriana e moduladora foi realizada pela metodologia de microdiluição em placa de 96 poços, utilizando LED azul a 415 nm e os antibióticos Ampicilina, Gentamicina e Norfloxacino em concentrações iniciais de 1.024 µg/mL. Os experimentos foram realizados em triplicata e submetidos à análise estatística ANOVA, considerando um valor de $p < 0,05$ como significativo. O óleo essencial de quatro espécies de *Copaifera* spp. não apresentou atividade antibacteriana quando testado isoladamente, entretanto demonstrou atividade sinérgica na modulação da ação antibiótica em combinação com Ampicilina na ausência de LED azul, e com Norfloxacino e Gentamicina na presença da luz de LED, frente a cepa de *Staphylococcus aureus* (SA 10). Os resultados alcançados no presente estudo são de suma importância para o desenvolvimento de futuras pesquisas científicas, visando auxiliar no tratamento de lesões cutâneas provocadas por patógenos multirresistentes.

Palavras-chave: Antibacteriano. Copaíba. Fototerapia. Modulação. Óleo volátil.

ANTIBACTERIAL AND DRUG MODIFYING ACTIVITY OF THE ESSENTIAL OIL OF FOUR SPECIES OF *Copaifera* spp. IN ASSOCIATION WITH BLUE LED LIGHT IN FRONT OF STRAINS OF *Staphylococcus aureus* AND *Pseudomonas aeruginosa*

Milena Alves de Lima Sampaio¹; Priscilla Ramos Freitas²; Raket Olinda Macedo da Silva³.

ABSTRACT

The present study aimed to evaluate the antibacterial and modulating activity of the essential oil of four species of *Copaifera* spp. in combination with antibiotics and blue LED light, against resistant strains of *S. aureus* (SA 10) and *P. aeruginosa* (PA 24), opportunistic bacteria commonly seen in the community. The essential oil produced from four different species of the genus, was obtained commercially through the dōTERRA® company. The evaluation of the antibacterial and modulating activity was carried out using the microdilution methodology in a 96-well plate, using blue LED at 415 nm and the antibiotics Ampicillin, Gentamicin and Norfloxacin at initial concentrations of 1,024 µg/mL. The experiments were carried out in triplicate and treated with ANOVA statistical analysis, considering a p value < 0.05 as significant. The essential oil of four species of *Copaifera* spp. did not show antibacterial activity

¹ Discente do curso de Biomedicina. milena.sampio12@gmail.com. Centro Universitário Leão Sampaio.

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

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

when tested in detail, however it showed synergistic activity in the modulation of antibiotic action in combination with Ampicillin in the absence of blue LED, and with Norfloxacin and Gentamicin in the presence of LED light, against the strain of *Staphylococcus aureus* (SA 10). The results achieved in the present study are of paramount importance for the development of future scientific research, aimed at helping in the treatment of skin lesions caused by multidrug-resistant pathogens.

Keywords: Antibacterial. Copaíba. Phototherapy. Modulation. volatile oil.

1 INTRODUÇÃO

As infecções bacterianas são um fator preocupante a nível global devido ao aumento da morbidade e mortalidade resultantes do surgimento de bactérias com menor sensibilidade aos antibióticos, em decorrência da resistência bacteriana. Dessa maneira, ocorre o agravamento do processo infeccioso, o que eleva o tempo de internações, tornando o tratamento mais longo pelo fato da utilização de mais fármacos, aumentando o risco de causar efeitos adversos e, consequentemente, o risco de morte (BRASIL, 2022a; LAWAL et al., 2016).

Associado a isso, durante a pandemia ocasionada pelo vírus SARS-CoV-2, conhecida como COVID-19, houve um crescimento excessivo do uso de medicações por conta própria, sem embasamento científico mediadas por informações falsas propagadas. Neste contexto, os indivíduos começaram a utilizar antibióticos de amplo espectro de maneira irregular propiciando tanto o desenvolvimento quanto a disseminação da resistência bacteriana, em uma tentativa errônea em tratar os sintomas ou até mesmo prevenir o vírus (BRASIL, 2022b; FREIRE; JUNIOR, 2022).

Além do mais, as infecções causadas por bactérias na pele são comuns e podem ocorrer por diversos fatores, incluindo falta de higiene, virulência e patogenicidade bacteriana, disfunção imunológica em condições como dermatite atópica e diabetes *mellitus*, e susceptibilidade genética (PIRES et al., 2015). No entanto, o processo de tratamento e cicatrização pode ser retardado devido a dificuldade na circulação sanguínea e oxigenação do local afetado, existentes em certos casos, como em uma doença de base ou lesão crônica (LIMA et al., 2022; MORORÓ et al., 2020).

Dessa maneira, o óleo de copaíba, pertencente à família Fabaceae e ao gênero *Copaifera*, é extraído da resina da árvore conhecida como copaibeira e possui ampla utilização na terapia medicinal. Assim, diversas espécies de copaíba são encontradas no Brasil e na América do Sul, tais como: *Copaifera reticulata* Ducke, *C. officinalis* L., *C. langsdorffii* Desf., *C. coriacea*, *C. guyanensis* Desf., *C. multijuga* Hayne, *C. martii* Hayne, *C. confertiflora* e *C. cearensis* (CAVALCANTE; CAVALCANTE; BIESKI, 2017; LAMEIRA et al., 2022).

Ademais, o óleo de copaíba, cada vez mais tem se mostrado eficaz no tratamento de lesões cutâneo-mucosa por contaminação bacteriana e no processo de cicatrização tecidual, por possuir componentes capazes de inibir a proliferação de microrganismos, promover ação anti-inflamatória, analgésica, cicatrizante, antiviral e efeito antisséptico (MEDEIROS, 2019; MORORÓ et al., 2020).

Da mesma forma, a luz LED azul quando utilizada em contato com a pele, é segura e proporciona melhorias significativas. Visto, que o aparelho emite luz com o comprimento de onda de 415 nanômetros, que tem a capacidade de atuar diretamente na permeabilidade da membrana celular, nas mitocôndrias e na produção de ATP (adenosina trifosfato). O LED azul também tem efeitos benéficos no colágeno e na elastina, que são proteínas essenciais na formação de fibras para o tecido conjuntivo. Além de promover atividade antibacteriana e anti-inflamatória (MEYER et al., 2010; SANTOS et al., 2021; SILVA et al., 2019).

Diante disso, o presente estudo tem como objetivo avaliar o efeito antibacteriano e modulador do óleo essencial de quatro espécies de *Copaifera* spp. frente às cepas multirresistentes de *Staphylococcus aureus* (SA 10) e *Pseudomonas aeruginosa* (PA 24) em associação a drogas convencionais e à luz de LED azul.

2 METODOLOGIA

2.1 LOCAL DE REALIZAÇÃO, OBTENÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Copaifera* spp. E AMOSTRAS BACTERIANAS.

Foi realizado no Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular (LMBM) da Universidade Regional do Cariri – URCA, em que foram disponibilizados pela mesma os microrganismos para a realização do teste.

O óleo essencial utilizado neste estudo foi adquirido comercialmente por meio da empresa dōTERRA®. Segundo informações do fabricante, o óleo foi extraído a partir de quatro espécies de plantas: *Copaifera coriacea*, *C. langsdorffii*, *C. officinalis* e *C. reticulata*., por meio do processo de destilação a vapor, sendo o β -caryophyllene o componente químico principal, conforme mencionado no site e na rotulagem do produto.

2. 2 ANTIBIÓTICOS, MEIOS DE CULTURA E APARELHO

Foram utilizados os antibióticos Norfloxacino (classe quinolonas), Gentamicina (classe aminoglicosídeos) e Ampicilina (classe penicilinas) em pó da marca Sigma-Aldrich®-E.U.A. Os meios de cultura utilizados para o manuseio das bactérias foram o meio sólido *Agar Heart Infusion* (HIA) e o meio líquido *Agar Brain Heart Infusion* (BHI).

O aparelho utilizado durante o teste experimental foi o *Light Emithing Diodes* - LED da marca NEW-Estética®, Brasil. Esse equipamento possui um diodo emissor de luz com comprimento de onda que varia entre 405 nm a 940 nm, a depender de qual espectro de luz é utilizado: vermelho, azul e amarelo ou combinação dessas cores. Sendo, o espectro de escolha o azul que equivale a 415 nm, determinado previamente pelo aparelho.

2. 3 MICRORGANISMOS

Quanto aos microrganismos, foram utilizadas as linhagens de cepas multirresistentes Gram-positivo *Staphylococcus aureus* (SA 10), proveniente de uma amostra de swab retal, e Gram-negativo *Pseudomonas aeruginosa* (PA 24), obtida de uma secreção nasal. O perfil de resistência dessas bactérias foi previamente descrito no estudo de Bezerra et al. (2017). Essas cepas foram cedidas pelo Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular (LMBM) da Universidade Regional do Cariri - URCA.

2. 4 PREPARO DAS SUBSTÂNCIAS

Inicialmente, foi realizada a cultura dos microrganismos que estavam mantidos em Agar em estoque sob refrigeração, foram repicados em meio de cultura sólido contendo *Agar Heart Infusion* (HIA) e incubados por 24 horas a 37°C na estufa para crescimento microbiano. Após o crescimento, foram transferidos uma alçada de cada colônia de bactéria para suspensões em triplicata, nos tubos contendo 3 ml de solução estéril de NaCl a 0,9% para a obtenção do inóculo. Em seguida, as suspensões foram agitadas por 2 minutos com o auxílio do equipamento Vórtex e comparada a sua turbidez com a escala de 0,5 de McFarland, o que equivale a um inóculo de aproximadamente 10⁸ unidades formadoras de colônia - UFC/mL.

Posteriormente, foi pesado 10 mg do óleo essencial, o que equivale a 10.000 µg do óleo isolado em um *eppendorf*. O produto foi transferido para um tubo Falcon e logo após, diluído em 500 µL de DMSO (Dimetilsulfóxido). Após isso, foi acrescentado 9.265 µL de água

destilada estéril, totalizando um volume de 9.765 μL para obter uma solução do óleo na concentração inicial de 1.024 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Os antibióticos utilizados no experimento também foram preparados com água destilada estéril na concentração inicial de 1.024 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

2. 5 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM)

A determinação da Concentração Inibitória Mínima foi realizada através da técnica de microdiluição em caldo, em placas estéreis com 96 poços de fundo chato, nos quais foram feitas diluições em série 1:1. Primeiramente, foi transferido para *ependorfs* o inóculo com o volume de 100 μL , correspondendo a 10% do volume total de 1.000 μL , e adicionado o volume restante de BHI. Em seguida, 100 μL da solução final do inóculo foi transferido para cada poço da placa, logo após realizou-se a microdiluição seriada com 100 μL da solução do óleo, por coluna, com concentração variando de 512 $\mu\text{g}/\text{mL}$ a 0,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Todos os testes foram realizados em triplicata e as placas foram incubadas a 37°C por 24 horas (NCCLS, 2003).

Após esse período, as placas foram reveladas com corante específico, a resazurina a 0,01% (p/v) que foi preparado com água destilada estéril. Esse corante é um indicador colorimétrico de óxido-redução que permite a mudança de coloração do azul para o vermelho indicando o crescimento microbiano. Portanto, foi adicionado 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ da solução indicadora em cada poço e após uma hora em temperatura ambiente foi realizada a leitura do teste (SALVAT et al., 2001).

O controle de esterilidade/controlado negativo do teste, contém somente o meio de cultura com a finalidade de verificar se houve a contaminação do meio de cultura por manuseio durante a realização do teste.

Por fim, para determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) é feito por meio da leitura visual, utilizando os seguintes valores: até 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ são considerados com forte atividade antibacteriana; 600 a 1500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ possuem atividade moderada e acima de 1500 $\mu\text{g}/\text{mL}$, atividade fraca (COUTINHO, 2016).

2. 6 MODIFICAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBIÓTICA

Para verificação da modulação do efeito antibacteriano foram utilizados antibióticos de diferentes classes, como Norfloxacino, Gentamicina e Ampicilina frente às cepas bacterianas *S. aureus* e *P. aeruginosa*, através da metodologia proposta por Coutinho et al. (2008). Os antibióticos foram diluídos a uma concentração de 1.024 $\mu\text{g}/\text{mL}$ e adicionados 100 μL aos

poços contendo a suspensão. Para preparar a suspensão, utilizou-se 150 µL do inóculo bacteriano, com o volume correspondente à concentração subinibitória (CIM/8) do óleo essencial, e o volume restante do meio de cultura *Brain Heart Infusion Broth* (BHI) a 10%. Em seguida, foi realizada uma microdiluição seriada dos antibióticos com a suspensão. As placas foram incubadas a 35 ± 2 °C por 24 horas. Após a incubação, foi utilizado a resazurina sódica para destacar a atividade moduladora.

2. 7 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE MODULADORA COM EXPOSIÇÃO À LUZ DE LED AZUL

Primeiramente, as placas utilizadas para a avaliação da atividade moduladora antes de serem incubadas na estufa, foram submetidas à exposição à luz de LED azul, na potência máxima, durante 20 minutos, exceto as placas de controle. Em seguida, as placas foram incubadas a 37°C por um período de 24 horas (PEREIRA et al., 2017).

2. 8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os testes foram realizados em triplicata e os dados foram expressos em média geométrica como dado central e o desvio padrão da média, utilizando o método ANOVA de duas vias com pós-teste *Bonferroni*'s, usando o programa estatístico *GraphPad Prism* software 7.0. Sendo que, valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos para a determinação de atividade antibacteriana.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise da atividade antibacteriana direta do óleo essencial de quatro espécies de *Copaifera* spp. pela Concentração Inibitória Mínima (CIM) frente às cepas bacterianas, *Staphylococcus aureus* (SA 10) e *Pseudomonas aeruginosa* (PA 24) não alcançou resultados consideráveis clinicamente, indicando que o óleo essencial não possui ação antibacteriana isoladamente, como demonstrado na Tabela 1.

Tabela 1: Média geométrica da Concentração Inibitória Mínima ($\mu\text{g/mL}$) do óleo essencial de quatro espécies de *Copaifera* spp. (OEC) frente *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*.

Cepa Bacteriana	CIM
SA 10	$\geq 1.024 \mu\text{g/mL}$
PA 24	$\geq 1.024 \mu\text{g/mL}$

Fonte: Elaborada pela autora.

Apesar de não terem sido observados efeitos antibacterianos do óleo essencial contra as cepas testadas neste estudo, é relevante considerar que o uso de quatro espécie diferentes de *Copaifera* spp. resulta em um óleo essencial com composições químicas distintas. A interação entre esses compostos pode ter influenciado na atividade antibacteriana do óleo essencial.

Nos estudos realizados por Mendonça e Onofre (2009), mostraram que o óleo de *Copaifera multijuga* Hayne possui a capacidade de inibir o crescimento de *S. aureus* e *P. aeruginosa*, apresentando concentrações inibitórias mínimas de 1,56%, 3,12% e 12,5%, respectivamente, conforme determinado pela técnica de microdiluição em caldo.

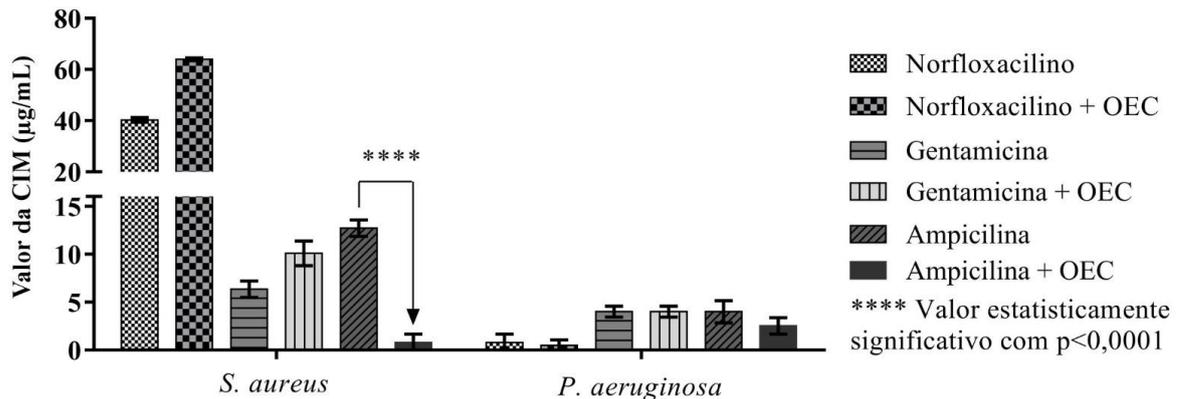
Além do mais, nos experimentos de Cavalcanti et al. (2022), ao analisar os óleos de copaíba da espécie *Copaifera officinalis* industrializado e não industrializado, resultou-se que ambos obtiveram atividade antibacteriana para as bactérias *S. aureus* e *E. faecalis*, pela concentração inibitória mínima. Desse modo, ressalta que a sensibilidade aos compostos presentes nas diferentes espécies de *Copaifera* spp. pode variar entre as espécies bacterianas.

Em outra pesquisa, Pavanelli e Garcia (2013) na avaliação do óleo essencial de copaíba por método de disco difusão, observou-se que não houve halos de inibição satisfatórios para *S. aureus*, sendo intermediário (16mm) e resistente para *P. aeruginosa* (<12mm), ou seja, o óleo essencial demonstrou limitações no efeito antibacteriano.

Nessa perspectiva, como Nascimento et al. (2007) evidencia em seus resultados, o experimento pode ser influenciado por uma variedade de fatores. A metodologia utilizada, o método de extração, a quantidade de emulsificador, o meio de cultura, o pH do meio, o tempo de incubação, a temperatura e a variabilidade genética de uma mesma espécie vegetal, são apenas alguns exemplos desses fatores. Além disso, as características físico-químicas de cada óleo essencial, como volatilidade, insolubilidade em água, viscosidade e complexidade.

Em seguida, foi analisado se o OEC tem efeito modulador de antibióticos quando associado a drogas convencionais, o que foi possível verificar a melhora da atividade de antibióticos da classe penicilina resultando em um efeito sinérgico frente *S. aureus*.

Gráfico 1: Atividade modificadora da ação de antibióticos do óleo essencial de quatro espécies de *Copaifera* spp. em associação com Norfloxacino, Gentamicina e Ampicilina contra cepas multirresistentes de *S. aureus* 10 e *P. aeruginosa* 24 **** $p < 0,0001$ indica diferenças significativas entre os grupos. A significância estatística foi determinada pelo método *Two-Way* ANOVA e teste post hoc de *Bonferroni*.



Fonte: Elaborada pela autora.

No experimento pela concentração subinibitória (CIM/8), o óleo essencial de quatro espécies de *Copaifera* spp. apresentou atividade moduladora, sendo capaz de modificar a resistência antibiótica. Obtendo um resultado favorável ao utilizar o óleo essencial em associação com Ampicilina frente à cepa multirresistente de *Staphylococcus aureus*. Os valores da CIM obtidos na triplicata foram significativamente reduzidos, sendo de 1 µg/mL, 1 µg/mL e 0.5 µg/mL. No entanto, não foi observado um efeito modulador significativo contra *Pseudomonas aeruginosa*, como indicado pelo Gráfico 1.

Segundo Madigan et al. (2016), Gram-negativas possuem uma membrana externa constituída por uma bicamada lipídica, o que confere maior resistência à entrada de moléculas grandes e hidrofóbicas. Por outro lado, as Gram-positivas não possuem uma membrana externa, facilitando a passagem de substâncias através de sua parede celular. Nessa perspectiva, a inibição de *S. aureus* foi expressiva em comparação com *P. aeruginosa* devido à ausência de membrana celular em sua composição. O que corrobora com Vieira (2021), em que Gram-positivas são sensíveis aos óleos essenciais devido a permeabilidade da parede celular.

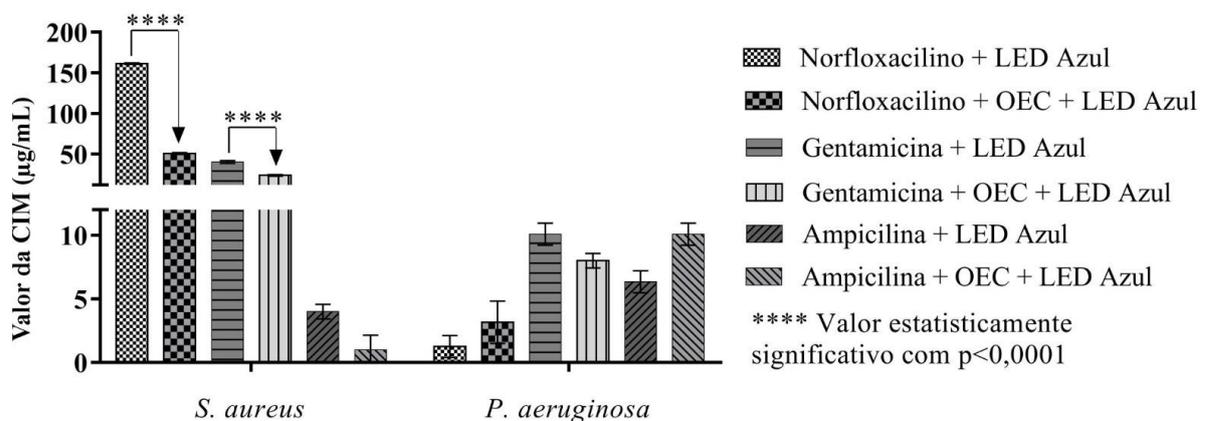
Semelhante aos achados no presente estudo, Lucena et al. (2015) observa que ao utilizar o óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf na concentração CIM/8 (128 µg/mL) associado com Gentamicina, Amicacina e Neomicina, obteve atividade moduladora frente *S.*

aureus resultando em uma redução da concentração inibitória mínima, porém *P. aeruginosa* (PA 143 e 78) na presença do OE permaneceu na mesma concentração.

Em relação aos compostos químicos do produto natural de *Copaifera*, Galúcio et al. (2016) relata que possui na resina sesquiterpenos e diterpenos. Os principais sesquiterpenos são: beta-cariofileno, beta-bisaboleno, bergamoteno, beta-selineno e alfa-humuleno, enquanto na constituição dos diterpenos possui o ácido poliáltico. De acordo com Junior e Pinto (2002), o β -bisaboleno proporciona ação anti-inflamatória e analgésica, e o β -cariofileno possui efeito anti-edêmico, anti-inflamatório, bactericida e insetífugo. Assim sendo, eficaz no controle da resistência bacteriana quando associada à ação do fármaco no teste de modulação.

Após a investigação da atividade moduladora de antibiótico em combinação com o OEC, observou-se que a presença do LED azul favoreceu a inibição do crescimento bacteriano, conforme o Gráfico 2. Nos testes nos quais a luz de LED azul foi utilizada em conjunto com os antibióticos e o óleo essencial de quatro espécies de *Copaifera*, foi observada atividade moduladora perceptível quando associada a Norfloxacino e Gentamicina frente *S. aureus* pela formação de sinergia, resultando em uma potencialização da ação dos fármacos e, conseqüentemente, melhorando o efeito terapêutico.

Gráfico 2: Atividade modificadora da ação de antibióticos do óleo essencial de quatro espécies de *Copaifera* spp. em associação a luz de LED azul e aos antibióticos Norfloxacino, Gentamicina e Ampicilina contra cepas multirresistentes de *S. aureus* 10 e *P. aeruginosa* 24 **** $p < 0,0001$ indica diferenças significativas entre os grupos. A significância estatística foi determinada pelo método *Two-Way* ANOVA e teste post hoc de *Bonferroni*.



Fonte: Elaborada pela autora.

Em um estudo realizado por Silva et al. (2019), foi observado um resultado semelhante ao avaliar a CIM do óleo essencial de *Allium sativum* L. em combinação com LED azul e o antibiótico Norfloxacino frente a cepa *S. aureus*. Neste estudo, foi evidenciado um efeito sinérgico, indicando que a combinação desses componentes resultou em uma maior eficácia na inibição do crescimento bacteriano.

Assim como, a pesquisa de Santos et al. (2021) utilizando combinação entre antibióticos e luz de LED azul verificou que esta associação pode modificar a multiplicação de *S. aureus*. Neste estudo, o óleo essencial de escolha foi *Lippia alba* Mill. e foi observado ação antibiótica a Gentamicina e Norfloxacino, pela metodologia de contato gasoso.

A fototerapia com luz de LED azul permite a potencialização do efeito antibacteriano frente as cepas multirresistentes, o que o estudo de Galo (2018) demonstra quando as bactérias foram expostas a diferentes tempos de aplicação e condições, obtendo resultados promissores quando testada a cepa *S. aureus* e *P. aeruginosa*. No presente estudo, foi verificado que a luz de LED azul em associação com o óleo comercial de quatro espécies de *Copaifera* e certos fármacos desenvolveu atividade antibacteriana frente a cepa *S. aureus*, diminuindo a concentração inibitória mínima.

De acordo com Adair e Drum (2016), devido a fototerapia de LED azul em altas doses frente *S. aureus* desregular a expressão gênica de 32 genes diferentes, causou modificações genéticas associadas à vulnerabilidade imediata após o contato do espectro visível. Ademais, em combinação com Norfloxacino da classe quinolona, o antibiótico age inibindo a síntese de ácido nucléico enquanto a Gentamicina da classe aminoglicosídeo age inibindo a síntese de proteínas (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2022). O que torna permeável a ação antibiótica na bactéria, demonstrado no presente estudo pela CIM reduzida.

Dessa maneira, o óleo essencial de quatro espécies de *Copaifera* spp., combinado com o LED azul, mostrou-se uma alternativa promissora no tratamento de infecções causadas por *Staphylococcus aureus*, uma bactéria oportunista comumente associada a infecções de pele e nosocomiais. Estudos, como de Procop et al. (2018), demonstram que as infecções causadas por essa bactéria variam desde casos mais simples, como foliculite, celulite, impetigo, furúnculo e carbúnculos, até complicações mais graves, como meningite, endocardite, bacteremia, pneumonia, broncopneumonia, síndrome da pele escaldada e síndrome do choque tóxico.

Além disso, para Guimarães (2017) o LED azul proporciona a cicatrização do tecido lesionado ao estimular a migração e a proliferação de fibroblastos e queratinócitos. Assim como Lima et al. (2021), relata que o óleo utilizado neste estudo possui propriedades cicatrizantes devido à sua composição, que é capaz de promover o reparo tecidual lesionado.

4 CONCLUSÃO

A partir dos dados obtidos neste estudo, o óleo essencial de quatro espécies de *Copaifera* spp. demonstrou um potencial promissor na modificação da atividade antibiótica, evidenciada pela redução da Concentração inibitória mínima (CIM) e pelo efeito sinérgico observado em relação a cepa Gram-positiva de *Staphylococcus aureus*. Isso sugere que o óleo essencial pode ser considerado uma alternativa no tratamento, pois em combinação com a luz de LED, bem como na sua ausência, potencializa a inibição do crescimento bacteriano, proporcionando melhorias significativas. Dessa maneira, os resultados alcançados têm uma importância relevante para o avanço de novas pesquisas científicas relacionadas à atividade antibacteriana e moduladora utilizando luzes de LED, e óleos essenciais de plantas, com o intuito de auxiliar no tratamento de enfermidades cutâneas ocasionadas por bactérias multirresistentes.

REFERÊNCIAS

ADAIR, T. L.; DRUM, B. E. RNA-Seq reveals changes in the *Staphylococcus aureus* transcriptome following blue light illumination. **Genom Data**, v. 26, n. 9, 2016.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Pandemia pode aumentar o risco de resistência microbiana**. Brasília, DF, 2022b. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2020/pandemia-pode-aumentar-o-risco-de-resistencia-microbiana>>. Acesso em: 14 mar. 2023.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Resistência microbiana: saiba o que é e como evitar**. Brasília, DF, 2022a. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2020/resistencia-microbiana-saiba-o-que-e-e-como-evitar>>. Acesso em: 14 mar. 2023.

BEZERRA, C. F. et al. Vanillin selectively modulates the action of antibiotics against resistant bacteria. **Microbial Pathogenesis**, v. 113, n. 1, 2017.

CAVALCANTE, J. W.; CAVALCANTE, V. M. G.; BIESKI, I. G. C. Conhecimento tradicional e etnofarmacológico da planta medicinal copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.). **Biodiversidade**, v. 16, n. 2, 2017.

CAVALCANTI, C. S. et al. Avaliação do potencial antimicrobiano de óleos comercializados em uma feira de recife – PE. In: DIGITAL, E. C. **Open science research III**. São Paulo: Editora científica digital, 2022. Pag. 586-596.

COUTINHO, H. D. M. **Manual técnico de pesquisa: laboratório de microbiologia e biologia molecular**. Crato: Imprima Soluções Gráficas Ltda, 2016.

COUTINHO, H. D. M. et al. In vitro anti-staphylococcal activity of *Hyptis martiusii* Benth against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: MRSA strains. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n.1, 2008.

FREIRE, M. S.; JUNIOR, O. M. R. Resistência bacteriana pelo uso indiscriminado da azitromicina frente a Covid-19: uma revisão integrativa. **Research, Society and Developmen**, v. 11, n. 1, 2022.

GALO, I. D. C. **Fototerapia antimicrobiana: otimização de protocolo experimental *in vitro* e estudo de resistência bacteriana**. 2018. Dissertação (Mestrado em Ciências Aplicada à Saúde) - Universidade Federal de Goiás, Jataí, 2018.

GALÚCIO, C. S. et al. Recuperação de sesquiterpenos do óleo-resina de copaíba a partir da destilação molecular. **Revista Química Nova**, v. 39, n. 7, 2016.

GUIMARÃES, F. R. **Fototerapia combinada (LED 470 e LASER 660/808 nm) no controle da infecção e no tratamento de úlceras cutâneas experimentais**. 2017. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, 2017.

JUNIOR, V. F. V.; PINTO, A. C. O gênero *Copaifera* L. **Revista Química Nova**, v. 25, n. 2, 2022.

LAMEIRA, O. A. et al. *Copaifera* spp.: Copaíba. In: CORADIN, L.; CAMILLO, J.; VIEIRA, I. C. G. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro - região Norte**. Brasília, DF: MMA, 2022. p. 1028-1040.

LAWAL, B. et al. Antimicrobial evaluation, acute and sub-acute toxicity studies of *Allium sativum*. **Journal of Acute Disease**, v. 5, n. 4, 2016.

LIMA, C. A. S. et al. Atualizações sobre as propriedades medicinais do óleo de copaíba (*Copaifera* spp.): uma revisão bibliográfica. **Revista Uniciências**, v. 25, n. 2, 2021.

LIMA, C. E. S. et al. **Cuidados de enfermagem ao paciente com pé diabético**. 2022. Monografia (Técnico em Enfermagem) - ETEC Padre José Nunes Dias, São Paulo, 2022.

LUCENA, B. F. F. et al. Avaliação da atividade antibacteriana e moduladora de aminoglicosídeos do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. **Acta Biológica Colombiana**, v. 20, n. 1, 2015.

MADIGAN, M. T. et al. **Microbiologia de Brock**, 14. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.

MEDEIROS, M. L. **Avaliação do efeito cicatrizante do óleo de copaíba veiculado em sistemas SNEDDS e processos terapêuticos em modelo experimental *in vivo* de lesões cutâneas**. 2019. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2019.

MENDONÇA, D. E.; ONOFRE, S. B. Atividade antimicrobiana do óleo-resina produzido pela copaíba - *Copaifera multijuga* Hayne (Leguminosae). **Revista Brasileira Farmacognosia**, v. 19, n. 2, 2009.

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

MORORÓ, D. G. A. et al. Ultrassom terapêutico associado a óleos essenciais de copaíba e melaleuca na cicatrização de lesões de pele. **ESTIMA, Braz. J. Enterostomal Ther**, v. 18, n. 1, 2020.

MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, M. A. **Microbiologia Médica**, 9. ed. Rio de Janeiro: GEN | Grupo Editorial Nacional S.A., 2022.

NASCIMENTO, P. F. C. et al. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, 2007.

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.

PAVANELLI, M. F.; GARCIA, R. Avaliação antibacteriana e antifúngica do óleo essencial de quatro espécies vegetais. **SaBios: Revista de Saúde e Biologia**, v. 8, n. 3, 2013. Disponível em: <<https://www.revista.grupointegrado.br/sabios>>. Acesso em: 08 jun. 2023.

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, 2017.

PIRES, C. A. et al. Infecções bacterianas primárias da pele: perfil dos casos atendidos em um serviço de dermatologia na Região Amazônica, Brasil. **Revista Pan-Amaz Saúde**, v. 6, n. 2, 2015.

PROCOP, G. W. et al. **Diagnóstico Microbiológico**, 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018.

SALVAT, A. et al. Screening of some plants from Northern Argentina for their antimicrobial activity. **Lett Appl Microbiol**, v. 32, n. 5, 2001.

SANTOS, V. R. S. et al. Potencial antibacteriano do óleo essencial de *Lippia alba* Mill. associado a luzes de LED. **Infarma Ciências Farmacêuticas**, v. 33, n. 2, 2021.

SILVA, A. D. L. et al. Atividade antibacteriana e moduladora do óleo essencial de *Allium sativum* L. (Alho). **Visão Acadêmica**, v. 20, n. 4, 2019.

VIEIRA, M. L. **Óleo funcional de caju, mamona e copaíba na alimentação de *Coturnix coturnix japonica***. 2021. Dissertação (Mestre em Zootecnia) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Rio Verde, 2021.