

CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA DO ÓLEO DE *Zingiber officinale* FRENTE A LINHAGENS DE *Escherichia coli* E *Staphylococcus aureus*

Carlos Eduardo de Souza Duarte, João Antônio Pereira Martins, Délia Chaves
Moreira dos Santos, Juliana Alves Resende

Universidade Federal do Espírito Santo - Campus Alegre, Alto Universitário, S/N - Guararema, Alegre,
Espírito Santo - 29500000, Brasil, carlosedu.souzaduarte@gmail.com, joao.antonio.pm@gmail.com,
deliachavesmoreira@gmail.com, juliana.resende@ufes.br

Resumo

O gengibre (*Zingiber officinale*) possui propriedades terapêuticas consideráveis, além de sua aplicação na culinária e em terapias não convencionais, tendo grande potencial como antimicrobiano. Este estudo objetivou avaliar a ação antimicrobiana do óleo essencial (OE) de *Z. officinale* frente a linhagens controles de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. A avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) do extrato de *Z. officinale* foi realizado utilizando o método de microdiluição em caldo. As concentrações testadas foram de 0,5%, 1,0%, 2,5% e 5% µg/mL. O CIM e CBM encontrados foram iguais a 0,5% (5mg/mL), para ambas linhagens bacterianas testadas. Portanto, o OE de gengibre apresenta-se como uma opção promissora para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas contra infecções bacterianas.

Palavras-chave: Microdiluição; Gengibre; *E. coli*; *S. aureus*.

Área do Conhecimento: Farmácia.
Introdução

Entre as bactérias que possuem maior relevância na causa de processos tóxicos e infecciosos em seres humanos, destacam-se a *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (Levy et al., 2004).

O *Staphylococcus aureus* é um coco Gram-positiva da família *Micrococcaceae*, que não possui motilidade e possui um tamanho variado de 0,5 a 1,0 µm. Ela se organiza em aglomerados irregulares, semelhantes a cachos de uvas. É um anaeróbio facultativo e prefere temperaturas de crescimento entre 30° e 37°C. As infecções podem ter origens endógenas, como em pacientes com o sistema imunológico comprometido, ou exógenas, envolvendo fatores do ambiente, como lesões, contato físico direto, objetos contaminados, fluidos infectados e vias aéreas (Vieira; Agostini, 2011). Essa bactéria produz toxinas que são resistentes ao calor, o que significa que podem permanecer nos alimentos mesmo após o cozimento. Aproximadamente 45% das intoxicações alimentares bacterianas no mundo estão associadas ao *S. aureus* (Bresolin et al., 2005).

A *Escherichia coli* é uma bactéria em forma de bastonete Gram-negativo, da família *Enterobacteriaceae*. Pode ser móvel por flagelos ou não se mover, com cerca de 2 µm de comprimento e 0,5 µm de diâmetro. Essas bactérias utilizam D-glicose e outros açúcares para obter energia e produzem ácido e gás como subprodutos metabólicos. Presente na microbiota intestinal de animais de sangue quente, *E. coli* faz parte do grupo dos coliformes fecais (Cunha, 2006). Sua capacidade de causar doenças está relacionada à variedade antigênica dos componentes estruturais, como o lipopolissacarídeo (LPS) e a cápsula, bem como à adesão (adesinas) e à invasão (exotoxinas). Esta bactéria está frequentemente associada a infecções no trato urinário, sepse, meningites em recém-nascidos e gastroenterites (Prère; Fayet, 2005; Shelton et al., 2006).

A resistência antimicrobiana é um fenômeno crítico em que microrganismos, como bactérias, vírus, parasitas e fungos, adquirem a capacidade de sobreviver e proliferar mesmo na presença de medicamentos antimicrobianos que anteriormente eram eficazes. Essa adaptação representa uma ameaça significativa à saúde pública global, principalmente devido à disseminação acelerada de bactérias multirresistentes, capazes de causar infecções comuns que se tornam cada vez mais difíceis, ou até impossíveis, de tratar com as opções terapêuticas atualmente disponíveis (Who, 2015).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS, 2015), uma análise global revelou que a *E. coli* apresenta resistência significativa às cefalosporinas de terceira geração e às fluoroquinolonas,

medicamentos amplamente utilizados no tratamento de infecções do trato urinário. Além disso, *S. aureus* resistente à metilina (MRSA), um antimicrobiano beta-lactâmico do grupo das penicilinas, exibe taxas de resistência variáveis dependendo da região: 80% na África e no Pacífico Ocidental, 90% nas Américas, 50% no Mediterrâneo Oriental, 60% na Europa e 25% no Sudeste Asiático. Essa resistência reduz a eficácia dos tratamentos antimicrobianos convencionais, aumentando o risco de mortalidade, prolongando o tempo de internação hospitalar e elevando os custos dos cuidados de saúde devido à necessidade de intervenções terapêuticas mais agressivas.

Diante desse cenário, a medicina alternativa está explorando meios naturais para tratar infecções causadas por essas e outras bactérias resistentes, pois há um crescente interesse no uso terapêutico de produtos naturais, especialmente aqueles derivados de plantas (Oliveira *et al.*, 2007). As plantas produzem uma ampla gama de pequenas moléculas antimicrobianas, conhecidas como fitoalexinas, com estruturas variadas, incluindo terpenóides, glicosídeos, flavonóides e polifenóis. Embora a maioria dessas moléculas tenha uma atividade antibiótica relativamente fraca em comparação com antimicrobianos convencionais, as plantas ainda são eficazes no combate a infecções, o que sugere que elas utilizam um mecanismo sinérgico para lidar com as infecções, explicando a eficácia superior de muitos extratos de plantas da medicina tradicional em comparação com seus componentes isolados (Magalhães, 2010).

O *Zingiber officinale*, mais conhecido como gengibre, possui um rizoma ramificado com um aroma e sabor picante e agradável (Lorenzi; Matos, 2002). É conhecido por sua forte atividade antimicrobiana e é amplamente utilizado como especiaria na culinária, além de ser bem estabelecido na medicina tradicional (Yadav *et al.*, 2012). Pesquisas sobre seus OE e extratos mostraram que eles têm excelente atividade antimicrobiana contra diversos patógenos alimentares (Sa-Nguanpuag, 2011; Yousufil, 2012; Ahmed, 2012).

O presente estudo foi realizado com o objetivo de analisar a atividade antimicrobiana do OE de gengibre frente às linhagens ATCC de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

Metodologia

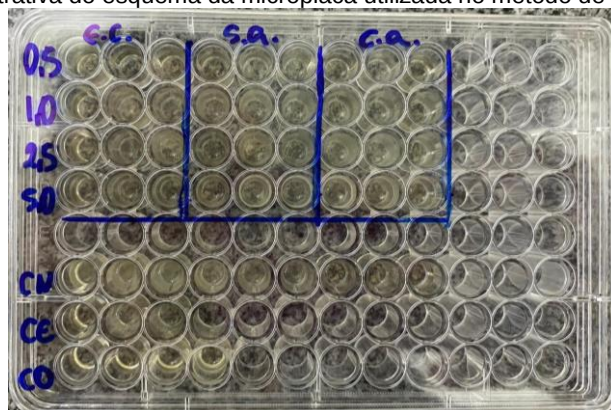
Neste estudo, foram utilizadas duas linhagens padrão: *E. coli* (ATCC 25922) e *S. aureus* (ATCC 25923). Ambas foram reativadas em caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) a 35±2°C, no intervalo de 24, sendo transferidas para Ágar BHI e incubadas novamente a 35 ± 2°C por 24 horas. Por fim, as linhagens foram estocadas a 4°C.

A avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) do óleo essencial de *Z. officinale* foi realizado utilizando o método de microdiluição em caldo, seguindo as especificações estabelecidas pelo *Clinical & Laboratory Standards Institute* - CLSI (2008), com modificações (Figura 1). Os testes antimicrobianos foram realizados em placas de microdiluição de 96 poços estéreis, em uma capela de fluxo laminar. Diferentes concentrações do OE (0,5%, 1,0%, 2,5% e 5%) foram testadas. O meio de cultura utilizado foi o Caldo *Mueller Hinton* (MH).

Os inóculos foram preparados a partir de colônias isoladas, cultivadas em ágar BHI, em seguida colônias isoladas foram suspensas em solução salina (NaCl 0,9%) e ajustadas para uma turbidez de 0,5 na escala de Mcfarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL). A mistura de reação final possui um volume de 220 µL em cada poço: 100 µL das concentrações dos OE (0,5%, 1,0%, 2,5% e 5%) e 100 µL do ágar MH 2X concentrado e 20 µL do inóculo bacteriano. Para cada linhagem bacteriana foi feito um controle de crescimento (inóculo + meio de cultura), controle de esterilidade (somente CMH). Em seguida, as placas foram tampadas, agitadas e incubadas por 24h a 35 °C. Todos os testes foram realizados em triplicata.

A CIM foi definida como a menor concentração do OE de gengibre que resultou na inibição completa do crescimento bacteriano (ausência de precipitado ou turvação no meio de cultura) após o período de incubação.

Figura 1- Imagem ilustrativa do esquema da microplaca utilizada no método de microdiluição em caldo.



<i>S. aureus</i>	0,5% (5 mg/mL)	0,5% (5 mg/mL)
------------------	----------------	----------------

Fonte: do autor (2024).

Discussão

Os resultados dos ensaios indicaram que o OE de gengibre demonstrou eficácia na inibição do crescimento de *E. coli* e *S. aureus*, com CIM e CBM de 0,5% (5 mg/mL). Todas as concentrações avaliadas (0,5%, 1,0%, 2,5% e 5,0%) resultaram em inibição do crescimento bacteriano, permitindo a definição da concentração de 0,5% (5 mg/mL) como suficiente para exercer tanto ação bactericida quanto bacteriostática.

Estudos anteriores, como o de Majolo *et al.* (2014), relataram que o OE de *Zingiber officinale* apresentou CIMs variando de 2,5% a 5,0% (25-50 mg/mL) e CBMs entre 5,0% e 10% (50-100 mg/mL) para as cepas testadas. Comparativamente, o OE de gengibre avaliado neste estudo mostrou-se mais eficaz, pois a menor CIM encontrada por Majolo *et al.* foi de 25 mg/mL, enquanto no presente estudo foi de apenas 5 mg/mL. A discrepância entre os resultados sugere uma possível variação na composição química do OE utilizado, que pode ser influenciada por fatores como a origem da planta, o método de extração e as condições de cultivo (Oliveira *et al.*, 2012).

Essas diferenças podem também ser atribuídas à variabilidade intrínseca das linhagens bacterianas testadas. Estudos investigaram a interação do OE de *Z. officinale* com as bactérias mencionadas indicam que *E. coli* tende a ser mais resistente em comparação a *S. aureus*. Conforme discutido por Zago *et al.* (2009), bactérias Gram-positivas, geralmente apresentam maior sensibilidade a antimicrobianos devido à estrutura mais simples de sua parede celular, que facilita a entrada de agentes antimicrobianos. Em contrapartida, bactérias Gram-negativas possuem uma membrana externa adicional composta por fosfolípidios, lipopolissacarídeos e proteínas (porinas), que confere maior resistência ao impedir a penetração de moléculas tóxicas.

Conforme destacado por Silva *et al.* (2009), as divergências entre os resultados deste estudo e aqueles encontrados na literatura ressaltam as dificuldades de comparação com pesquisas anteriores, especialmente devido à variação nos parâmetros experimentais adotados em cada estudo. Além disso, mesmo quando a metodologia é rigorosamente seguida, diferenças nos resultados podem ocorrer, pois linhagens distintas de um mesmo microrganismo podem apresentar sensibilidades variadas a um mesmo produto antimicrobiano vegetal. Esses fatores contribuem para as diferenças significativas nos valores de CIM observadas em estudos *in vitro* e sublinham a complexidade na avaliação da eficácia de OE.

Outro aspecto relevante é a influência do método de extração do óleo essencial na sua composição e, conseqüentemente, na sua eficácia. Como mencionado por Sa-Nguanpuag *et al.* (2011), a hidrodestilação pode resultar em uma composição diferente de compostos voláteis, afetando a atividade antimicrobiana do OE. Neste estudo, o OE mostrou uma potente ação inibitória em concentrações relativamente baixas, o que pode ser atribuído a uma maior concentração de compostos ativos como o geranial, α -curcumeno, e cafeno, conhecidos por suas propriedades antimicrobianas (Singh *et al.*, 2008; Mesomo *et al.*, 2013).

Esses achados enfatizam a importância de padronizar os métodos de extração e análise dos óleos essenciais para comparações mais consistentes entre estudos. Além disso, sugerem que o OE de gengibre possui um potencial terapêutico significativo contra patógenos bacterianos, que merece ser explorado em futuras pesquisas, especialmente em estudos clínicos que possam confirmar sua eficácia *in vivo*. A continuidade dos estudos deve também considerar a análise de mecanismos de resistência desenvolvidos pelas bactérias frente ao uso prolongado do OE, bem como a avaliação de possíveis efeitos adversos em células humanas, garantindo a segurança e a eficácia desse agente natural como alternativa terapêutica.

Conclusão

Os resultados deste estudo demonstraram que o óleo essencial de gengibre possui significativa atividade antimicrobiana contra *E. coli* e *S. aureus*, com uma CIM e CBM de 0,5% (5 mg/mL). Estes achados indicam que o OE de gengibre é eficaz tanto na inibição quanto na eliminação dessas bactérias, posicionando-o como uma alternativa natural aos antimicrobianos convencionais. A eficácia

observada em concentrações relativamente baixas, comparada a estudos anteriores, sugere uma variabilidade na composição do óleo que pode estar relacionada a fatores como a origem botânica e o método de extração. Portanto, o OE de gengibre apresenta-se como uma opção promissora para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas contra infecções bacterianas, destacando a necessidade de mais pesquisas para explorar seu potencial clínico e segurança.

Referências

ARAÚJO, M. M. de; LONGO, P. L. Teste da ação antibacteriana in vitro de óleo essencial comercial de *Origanum vulgare* (orégano) diante das cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 83, 2016.

BRESOLIN, B. M. Z.; DALL'STELLA, J. K.; DA SILVA, S. E. F. Pesquisa sobre a bactéria *Staphylococcus aureus* na mucosa nasal e mãos de manipuladores de alimentos em Curitiba/Paraná/Brasil. **Estudos de Biologia**, v.27, n.59, p. 27-32, 2005.

CUNHA, M. A. Métodos de detecção de microrganismos indicadores. Saúde & Ambiente em **Revista Duque de Caxias**, v.1, n.1, p.09-13, 2006.

FIO, F. S. D.; MATTOS, T. R.; GROPO, F. C. Resistência bacteriana. **Revista Brasileira de Medicina**, v.57, n.10, 2000. Disponível em:
<http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?fase=r003&id_materia=70>. Acesso em: 10 abr. 2011.

LEVY, C. E. *et al.* **Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção em Serviços de Saúde**. In: Módulo I – Principais Síndromes Infecciosas. 1ª ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2004.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa SP: Instituto Plantarum, 2002, 512p.

MAGALHÃES, C. F. **Efeito de extratos e frações de Piper aduncum sobre o crescimento e metabolismo dos Streptococcus mutans e Streptococcus sanguis**. Dissertação (Mestrado – Imunopatologia das Doenças Infecciosas e Parasitárias) – Universidade Vale do Rio Doce, Governador Valadares, 2010.

MAJOLO, C. *et al.* Atividade antimicrobiana do óleo essencial de rizomas de açafrão (*Curcuma longa* L.) e gengibre (*Zingiber officinale*) frente a salmonelas entéricas isoladas de frango resfriado. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 16, p. 505-512, 2014.

MESOMO, M. C. *et al.* Supercritical CO₂ extracts and essential oil of ginger (*Zingiber officinale* R.): Chemical composition and antibacterial activity. **The Journal of Supercritical Fluids**, v.80, p.44–49, 2013.

OLIVEIRA, A. R. M. F. *et al.* Influência da idade da planta na produção de óleo essencial de alevante. **Revista Ceres**, v.59, n.2, p.241-45, 2012.

OLIVEIRA, F. Q. *et al.* Espécies vegetais indicadas na odontologia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, n.3, p.466-476, 2007.

OUSSALAH, M. *et al.* Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157: H7, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. **Food Control**, v.18, p. 414-20, 2007.

PRÈRE, M. F.; FAYET, O. A new genetic test for the rapid identification of shigatoxins producing (STEC), enteropathogenic (EPEC) *E. coli* isolates from children. **Pathologie Biologie**, Paris, v.53, p.466-469, 2005.

PREUSS, H. G. *et al.* Minimum inhibitory concentrations of herbal essential oils and monolaurin for gram-positive and gram-negative bacteria. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v.272, p.29-34, 2005.

SA-NGUANPUAG, K. *et al.* Ginger (*Zingiber officinale*) oil as an antimicrobial agent for minimally processed produce: a case study in shredded green papaya. **International Journal of Agriculture & Biology**, v.13, n. 6, p.895-901, 2011.

SILVA, M. T. N. *et al.* Atividade antibacteriana de óleos essenciais de plantas frente a linhagens de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* isoladas de casos clínicos humanos. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 11, p. 257-262, 2009.

SINGH, G. *et al.* Chemistry, antioxidant and antimicrobial investigations on essential oil and oleoresins of *Zingiber officinale*. **Food and Chemical Toxicology**, v.46, p.295–302, 2008.

VIEIRA, F. F.; AGOSTINI, J. S. **Prevalence and profile of *Staphylococcus aureus* infections caused by isolated in a public Hospital of Dourados-MS.** In: INTERNATIONAL CONGRESS OF PHARMACEUTICAL SCIENCES, 8. Anais... Ribeirão Preto: CIFARP, 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. **Global Antimicrobial Resistance Surveillance System: Manual for Early Implementation.** Geneva: WHO, 2015. 36p.

YADAV, S. *et al.* *Zingiber officinale* Rosc.: A Monographic Review Research & Reviews: **Journal of Botany**, v.1, n.1, p.45-50, 2012.

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, p. 828-833, 2009.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), a Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).