



Avaliação farmacognóstica e da atividade antimicrobiana in vitro do extrato hidroalcoólico do *Zingiber officinale* (gengibre) frente ao

Streptococcus pyogenes

Keyvid dos Santos Pereira^{1*}; Daniela de Araújo Vilar²; Mainê Alves Confessor²;
Marina Suênia de Araújo Vilar².

1. GRADUANDO EM MEDICINA- FACULDADE de CIÊNCIAS MÉDICAS de CAMPINA GRANDE/PB
2. DOCENTE/ ORIENTADOR – FACULDADE de CIÊNCIAS MÉDICAS de CAMPINA GRANDE/PB

* keyvid2013@gmail.com

Resumo: A utilização de produtos naturais constitui um meio importante para obtenção de agentes terapêuticos. O uso de medicamentos naturais é uma prática milenar que tem atravessado séculos, tendo resultados e efeitos benéficos para a população, constituindo um exercício alternativo da medicina. Além disso, o seu uso não visa substituir os medicamentos registrados e já comercializados, mas sim aumentar a opção de escolha terapêutica dos profissionais de saúde, no sentido de utilizar medicamentos equivalentes, igualmente registrados, possivelmente mais barato e/ou com espectro de ação mais adequados. Diante desse cenário de medicamentos naturais, o gengibre (*Zingiber officinale*) tem se destacado há séculos, tendo em vista a gama de aplicações medicamentosas que propicia. Deste modo, a presente pesquisa teve como objetivo verificar a atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico do *Zingiber officinale*, a partir da avaliação bactericida frente ao *Streptococcus pyogenes*, com o intuito de contribuir com a comunidade científica e validar o uso popular do gengibre para o tratamento de afecções bacterianas. Para a pesquisa, foi utilizado o extrato hidroalcoólico obtido através do rizoma do *Zingiber officinale*. A cepa utilizada para análise foi *Streptococcus pyogenes*. Foi realizada a inoculação da massa bacteriana em placas de petri com Ágar Müller Hinton. Utilizou-se a técnica de disco-difusão em ágar para testar a atividade antimicrobiana através da aferição do tamanho do halo formado. A concentração que apresentou o maior halo de inibição foi o extrato puro, em comparação com as demais diluições, comprovando-se o efeito antimicrobiano frente ao *Streptococcus pyogenes* ao se utilizar o extrato hidroalcoólico do gengibre.

Palavras-chave: *Zingiber officinale*, *Streptococcus pyogenes* e Atividade antimicrobiana.



INTRODUÇÃO

A utilização de produtos naturais constitui um meio importante para obtenção de agentes terapêuticos. Contudo, é muito comum, seu uso indiscriminado, devido ao seu respaldo científico ainda ser deficitário (CALIXTO, 2005). De tal modo, apesar do crescente uso de tais produtos, muito ainda há de ser esclarecido, o que evidencia a necessidade de pesquisas no contexto dos medicamentos fitoterápicos.

De acordo com a legislação sanitária brasileira, fitoterápico é o medicamento obtido, empregando-se exclusivamente matérias-primas ativas vegetais. É caracterizado pelo conhecimento da eficácia e dos riscos de seu uso, assim como pela reprodutibilidade e constância de sua qualidade (BRASIL, 2004).

O uso de medicamentos naturais é uma prática que tem atravessado séculos, tendo resultados em efeitos benéficos para população, constituindo um exercício alternativo da medicina. É importante ressaltar que tal uso não visa substituir os medicamentos registrados e já comercializados, mas sim aumentar a opção de escolha terapêutica dos profissionais de saúde, no sentido de utilizar medicamentos equivalentes, igualmente registrados, possivelmente mais barato e/ou com espectro de ação mais adequados, com indicações terapêuticas complementares às medicações existentes (CALIXTO, 2005).

No Brasil, o emprego das plantas na medicina popular surgiu por intermédio dos índios com a contribuição dos negros e dos europeus. Quando era colônia de Portugal os cuidados médicos eram restritos às metrópoles, enquanto na zona suburbana e rural, a população tinha que recorrer às ervas medicinais. Assim, essa terapia alternativa de cura surgiu da mistura de conhecimento de indígenas, fazendeiros e jesuítas (CALIXTO, 2005).

Diante desse cenário de medicamentos naturais, o gengibre (*Zingiber officinale*) tem se destacado há séculos, tendo em vista a gama de aplicações medicamentosas que propicia. Sob a égide da perspectiva histórica, o gengibre tem sido utilizado no Oriente há mais de 2000 anos. Antes do descobrimento da América já era largamente utilizado pelos árabes, como expectorante e afrodisíaco, sendo difundida por toda a Ásia tropical, da China à Índia. Foi introduzido na América logo após o descobrimento, tendo chegado ao Brasil no século XVI (NEGRELLE et al., 2005).

O *Zingiber officinale*, conhecido popularmente como gengibre, é uma planta herbácea perene, apresentando rizoma que é empregado nos cenários alimentar, industrial e da medicina popular. No Brasil, essa raiz foi catalogada



pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), reconhecendo suas peculiaridades e aplicabilidades terapêuticas. O gengibre também está incluído na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde-SUS (Renuis) (BRASIL, 2009). Essa relação tem como objetivo incentivar estudos científicos mais aprofundados a cerca dessas espécies relacionadas para que as mesmas possam ser utilizadas de forma segura e racional no SUS.

A utilização do gengibre como alternativa terapêutica é muito ampla, da qual se destaca a utilização no tratamento da asma, bronquite, amigdalite, rouquidão e tosse, com o uso do rizoma sob a forma de chá, o qual é preparado misturando-se gengibre fatiado e água fervente (PANIZZA, 1998). O seu uso para mau hálito foi destacado por Fernandes (2002), sendo o gengibre desidratado, do qual são utilizados pequenos pedaços para mastigação. Há relatos também do uso de gengibre para reumatismo e tratamento da coluna vertebral, no qual a planta é utilizada em forma de cataplasma, moído ou ralado e amassado (MARTINS et al., 1998). Outro uso apontado por Serigatto e Campos (1997) destaca a utilização no tratamento de inapetência, dispepsias e flatulência, com utilização de chá. Shafina, et al. (2008), sublinharam o uso do gengibre como agente anti-câncer e anti-inflamatório. Em acréscimo, Abdul Sattar, et al (2012) apontou o uso do extrato de gengibre contra o diabetes, através da redução da glicação.

Neste sentido, a presente pesquisa teve como objetivo verificar a atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico do *Zingiber officinale*, a partir da avaliação bactericida frente ao *Streptococcus pyogenes*, com o intuito de contribuindo com a comunidade científica e ratificar o uso popular do gengibre para tratar afecções bacterianas.

METODOLOGIA:

O material botânico utilizado foi o rizoma de *Zingiber officinale* que foi adquirido em mercado livre, no município de Campina Grande, Paraíba. A extração foi realizada em solução hidroalcoólica 70% v/v, o material ficou em maceração ao abrigo da luz e com agitação cada 24 horas durante uma semana. Em seguida foi realizada um processo de filtração simples para obtenção do extrato bruto. A cepa utilizada para análise foi *Streptococcus pyogenes* (ATCC 19615).

A bactéria foi cultivada em caldo BHI (Brains Heart Infusion, Difco) a 37°C durante 24h para sua ativação. Após esse processo foi realizada a inoculação da massa bacteriana em



placas de petri com Müller Hinton para isolamento das colônias bacterianas, as quais foram submetidas a crescimento a 37°C durante 24h.

As colônias bactérias que cresceram na placa foram colocadas em tubos de ensaio com solução salina até a turvação comoarativa de 0,5 da escala nefelométrica de McFarland, técnica adaptada de Bauer et al (1966).

Inicialmente os inóculos foram semeados na superfície do meio Müller Hinton (em duplicata) com o auxílio de “swab” estéril, cobrindo toda a superfície da placa de Petri com a suspensão do microorganismos.

Para avaliar a atividade do extrato do gengibre foi utilizada a técnica de discos. O extrato hidroalcoólico obtido do gengibre foi utilizado em três concentrações (Puro, diluído 1:10 e 1:100).

Foram utilizados discos estéreis de papel filtro sob os quais foi introduzido o extrato nas concentrações a serem avaliadas. Tais discos após receberem o extrato eram depositados na superfície de placas de Petri conter Agar Müller Hinton inoculados com as cepas de microrganismos, segundo a técnica de Bauer et al (1966) para testes de antibiograma.

Depois foram incubadas a 37°C por 24h para medição do halo de inibição dos microrganismos, sendo considerados halos de interesse científico acima de 8mm. Estes sendo medidos com régua. Todos os aspectos técnicos foram seguidos.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Os resultados obtidos através dos experimentos se encontram sumarizados na tabela 1. Na vertical encontram-se os extratos e suas diluições, assim como os antibióticos utilizados para fazer o controle positivo. Na horizontal está disposto o microrganismo utilizado no presente estudo. Os dados foram obtidos a partir da média aritmética de duas placas cultivadas conforme os dados metodológicos expostos acima, verificando-se a presença e a ausência de halo, e quando presentes foi feita a medição em mm e feita uma média dos valores obtidos.

Tabela 1- Média dos halos de inibição do crescimento, em milímetros, do *Streptococcus pyogenes* testado frente a atividade de antibióticos e do extrato de gengibre em sua forma pura e diluída.

<i>Substâncias Testadas</i>	<i>Halo de Inibição (mm)</i>
Bacitracina	17.5
Vancomicina	22
Penicilina	37.5



Extrato puro	11
Extrato 1/10	10
Extrato 1/100	9

A técnica de disco-difusão em ágar é uma das estratégias utilizadas como triagem da atividade antimicrobiana *in vitro* de óleos essenciais e de outros produtos com ação antimicrobiana (NASCIMENTO et al., 2007; PACKER e LUZ, 2007). Para tanto, a padronização das técnicas empregadas se faz necessária, de modo a viabilizar a sua reprodutibilidade e a comparação com outros estudos (NASCIMENTO et al., 2007; PACKER, LUZ, 2007). Dessa forma, baseando-se na metodologia descrita e nos resultados do controle, os resultados deste estudo são válidos e podem ser comparados a outros relatos da literatura. Em relação à metodologia de triagem da atividade antimicrobiana, esta se caracteriza por representar um método difundido em ensaios laboratoriais, sendo de rápida e fácil execução, e possibilitando a seleção de produtos com potencial atividade antimicrobiana. Quando da triagem da atividade antimicrobiana, a literatura tem estabelecido que halos de inibição do crescimento superiores a 8 mm são indicativo da presença de atividade inibitória (MENEZES et al., 2009; PACKER, LUZ, 2007; LIMA et al., 2006).

Assim, após a realização do screening da atividade antimicrobiana, levamos em consideração a presença de atividade um halo maior ou igual a 8mm. Foi utilizado no microrganismo do presente estudo, 3 diferentes diluições do extrato do gengibre, dispostos da seguinte forma: extrato puro, diluição na proporção de 1:10 e 1:100. Além do extrato, foram utilizados antibióticos como forma de controle positivo (bacitracina, vancomicina, penicilina) estabelecidos na literatura, e baseando-se nos testes de padronização da ANVISA para *Streptococcus pyogenes* (BRASIL, 2003).

O *Streptococcus pyogenes* apresentou sensibilidade em todas as concentrações do extrato hidroalcoólico de gengibre utilizadas. O maior halo inibitório se deu para o extrato puro, tendo-se obtido um halo inibitório médio entre os resultados, de 11mm, apresentando, assim, sensibilidade. Em relação às demais concentrações, obteve-se resultados satisfatórios, em ambos, com halos inibitórios de 10mm e 9mm nas diluições de 1:10 e 1:100, respectivamente. Estes dados obtidos corroboram aos achados na literatura, em que se demonstra uma tendência a sensibilidade desta bactéria a extrato natural, sendo, portanto uma boa alternativa para combater o perfil de resistência adquirido nestes últimos anos, devido ao uso indiscriminado de medicamentos (GONÇALVES et al, 2005).



Estas atividades encontradas, podem ser atribuídas aos seus constituintes químicos descritos na literatura por ANDRADE et al., 2012. Este autor encontrou que para a composição química do extrato alcóolico apresenta: alpha-zingibereno, beta-sesquifelandreno, alpha-farneseno, geranial, beta-bisaboleno, beta-eudesmol, curcumeno, formato de isobornila, geraniol, alpha-pineno, canfeno, eucaliptol, alpha-copaeno, alpha-terpineol. Os compostos mais abundantes, de acordo com a biblioteca CG-MS são alpha-zingibereno, beta-sesquifelandreno, alpha-farneseno, geranial, beta-bisaboleno, beta-eudesmol. Dos quais destacam-se 1-3% de óleos essenciais (os sequiterpenos), 2,5-5% de princípios picantes (o gingerol e shogaol) e 60% de amido. Os gingeróis, principalmente o [6]-gingerol são identificados como os maiores constituintes dos rizomas de gengibre fresco e têm sido atribuídos eles vários efeitos farmacológicos, tais como analgésico, antipirético, atividade anti-hepatotóxica, antinauseante, e anti-inflamatória (SURH et al., 1999). Já o óleo apresenta como constituintes 2-heptanol, alpha-pineno, canfeno, beta-pineno, 6-metil-5hepten-2ona, mirceno, 1,8-cineol, 2-nonanona, linalol, citronelal, borneol, (E) isocitral, citronelol, neral, geraniol, geranial, 2-hundecanona, acetato de geranila, ar-curcumeno, alpha-zingibereno, E-E-alpha-farneseno, beta-sequifelandreno. Sendo os constituintes majoritários o geranial (25,9%), alpha-zingibereno (9,5%), (E,E)-alpha-farneseno (7,6%), neral (7,6%) e ar-curcumeno (6,6%).

No entanto, é importante salientar a existência das contra-indicações para o uso do rizoma trabalhado, das quais são destacados, segundo Júnior et al. (2005), a potencialidade de gerar riscos para mulheres grávidas, face ao estímulo da motilidade uterina e consequente promoção do aborto, além de ser contra-indicado para pacientes portadores de cálculos biliares.

Considerando os antibióticos utilizados para controle, o que apresentou maior halo foi a penicilina, com 37,5mm. Com relação aos demais antibióticos, foram obtidos os halos de 17,5mm e 22mm para a bacitracina e vancomicina, respectivamente.

Desta forma foi possível comprovar um padrão de sensibilidade do *Streptococcus pyogenes* frente ao *Zingiber officinale*.

CONCLUSÕES:

O extrato hidroalcoólico do gengibre (*Zingiber officinale*) apresentou efeito antimicrobiano frente ao *Streptococcus pyogenes*, mostrando-se como uma alternativa promissora para as afecções que este agente proporciona na saúde humana, sendo, portanto,



necessários mais estudos de cunho clínico-experimental para atestar-se sua aplicabilidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abdul Sattar B.A., A.M. Hassan and A.S. Hassan: In vitro antimicrobial activity of *Thymus vulgaris*, *Origanum vulgare* and *Rosmarinus officinalis* against dental caries pathogens. *J. Pure Appl. Sci.*, 25, (2012).
2. ANDRADE, M. A. *et al.* **Óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Cinnamomum zeylanicum* e *Zingiber officinale*: composição, atividades antioxidantes e antibacteriana.** *Revista Ciência Agronomia*, Fortaleza, v. 43, n 2, abr/jun 2012.
3. ANVISA, **Padronização de testes de sensibilidade a antimicrobianos por disco-difusão: Norma aprovada.** 8ª edição. Vol 20. N. 1. 2003.
4. BAUER, A. W.; KIRBY, W. M. M.; SHERRIS, J.C. **Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method.** *American Journal of Clinical Pathology*, v.45, p.493-496, 1966.
5. BRASIL. Ministério da Saúde. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária.** Resolução RDC 134 de 29 de maio de 2003. Dispõe sobre a adequação dos medicamentos já registrados. D.O.U., Brasília, 02 jun. 2003.
6. BRASIL. Ministério da Saúde. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária.** Resolução RDC 48 de 16 de março de 2004. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. D.O.U., Brasília, 18 mar. 2004.
7. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Brasília: Ministério da Saúde, 2009. 60 p. – (Série B. Textos Básicos de Saúde, 1ª edição).
8. CALIXTO, 2005, J.B. Calixto. **Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America: a personal view.** *Journal of Ethnopharmacology*, 100 (2005), pp. 131–134.
9. FERNANDES, J. M. **Plantas medicinais de Alta Floresta: com contribuição a etnobotânica.** Alta Floresta, Cidade, 2002.
10. HABIB, S.hafina H.anim M.ohd et al. **Ginger extract (*Zingiber officinale*) has anti-cancer and anti-inflammatory effects on ethionine-induced hepatoma rats.** *Clinics* [online]. 2008, vol.63, n.6, pp.807-813. ISSN 1807-5932. <http://dx.doi.org/10.1590/S1807-59322008000600017>.
11. Júnior et al. (2005) JUNIOR, V. F. V.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura? *Química Nova*, São Paulo, v.28, n.3, maio-junho/2005. p.519-528.
12. HARTMANN, K. C.; ONOFRE, S. B.; **Atividade antimicrobiana de óleos essenciais da camomila (*Matricaria chamomilla* L.).** *Revista saúde e Pesquisa*, v.3, n.3, p.279-284, set./dez. 2010 – ISSN 1983-1870.



13. JAWETZ, ERNEST; LEVINSON, WARREN. **Microbiologia Médica e Imunologia**. 7. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 632p.
14. LIMA, IO;; OLIVEIRA, RAG;; LIMA, EO;; FARIAS, NMP;; SOUZA, EL. **Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de Candida**. Rev Bras Farmacogn, 16(2): 197- 201, 2006
15. MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M de; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. Plantas medicinais. Viçosa, MG: UFV, 1998. 220p.
16. MENEZES TOA, ALVES ACBA, VIEIRA JMS, MENEZES SAF, ALVES BP, MENDONÇA LCV. **Avaliação in vitro da atividade antifúngica de óleos essenciais e extratos de plantas da região amazônica sobre cepa de Candida albicans**. Rev Odontol UNESP, 38(3): 184-91, 2009.
17. NASCIMENTO, PFC;; NASCIMENTO, AC;; RODRIGUES, CS;; ANTONIOLLI, AR. **Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos**. Rev Bras Farmacogn,(1): 108-13, 2007.
18. NCCLS. **Método de referência para testes de diluição em caldo para a determinação da sensibilidade a terapia antifúngica das leveduras**. Norma M27-A2 NCCLS. Pensylvânia:Wayne; 2002.
19. NEGRELLE, R.R.B.; ELPO, E.R.S.; RÜCKER, N.G.A. **Análise prospectiva do agronegócio gengibre no estado do Paraná**. Horticultura Brasileira, Brasília, v.23, n.4, p.1022-1028, out-dez 2005.
20. PACKER JF, LUZ MMS. **Método para avaliação e pesquisa da atividade antimicrobiana de produtos de origem natural**. Rev Bras Farmacogn, 17(1): 102-7, 2007.
21. PANIZZA, S. **Plantas que curam: cheiro de mato**. 15. ed. São Paulo: IBRASA, 1998.
22. SANTOS,J.C.; FILHO,C.D.C.; BARROS,T.F.; GUIMARÃES,A.G.; **Atividade antimicrobiana in vitro dos óleos essenciais de orégano, alho, cravo e limão sobre bactérias patogênicas isoladas de vôngole**. Ciências Agrárias, Londrina, v32, n.4 p. 1557 – 1564, out./dez. 2011.
23. SCORZONI L, BENADUCCI T, ALMEIDA AMF, SILVA DHS, BOLZANI VS, MENDES-GIANNINI MJS. **Comparative study of disk difusion and microdilution methods for evaluation of antifungal activity of natural compounds against medical yeasts Candida spp and Cryptococcus sp**. Rev Ciênc Farm Básica Apl, 28(1): 25-34, 2007.
24. SERIGATTO, E. M., CAMPOS, R. A. B., **Plantas utilizadas na medicina caseira na região de Alta Floresta MT**. Alta Floresta: Gráfica Real, 1997.
25. SURH, Y. J.; LEE, S. **Enzymic reduction of [6]-gingerol , a major pungent principle of ginger, in the cell-free preparation of rat liver**. Life Sci. Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0024320594006024>. Acessado em: 25/06/2017.