

Atividade antimicrobiana do óleo essencial das folhas de *Alpinia zerumbet* (colônia) e efeito modulador sobre antibióticos de uso clínico

Actividad antimicrobiana del aceite esencial de las hojas de *Alpinia zerumbet* (colonia) y efecto modulador sobre antibióticos de uso clínico

Antimicrobial activity of the essential oil from the leaves of *Alpinia zerumbet* and modulatory effect on conventional antibiotics

Anne Caroline Duarte Moreira¹ <https://orcid.org/0000-0002-0341-2786>

Hilania Valéria Dodou Lima^{1*} <https://orcid.org/0000-0002-5507-2795>

Andressa Hellen de Moraes Batista¹ <https://orcid.org/0000-0002-5507-2795>

Gleilton Weyne Passos Sales¹ <https://orcid.org/0000-0003-1721-0912>

Suelen Carneio de Medeiros¹ <https://orcid.org/0000-0003-0850-1910>

Nádia Accioly Pinto Nogueira¹ <https://orcid.org/0000-0003-0489-9108>

¹Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, Ceará, Brasil.

*Autora para la correspondencia: valeriadodou@gmail.com

RESUMO

Introdução: *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L. Burtt & R.M. Sm. (*Zingiberaceae*), conhecida popularmente como colônia, é intensamente utilizada na medicina popular por suas ações antihipertensiva, diurética, espasmolítica, antioxidante, antiulcerogênica, antiinflamatória e antimicrobiana.

Objetivo: Avaliar a atividade antimicrobiana do óleo essencial extraído das folhas de *A. zerumbet* sobre cepas microbianas de referência e seu potencial de modular a ação de antibióticos disponíveis comercialmente.

Métodos: Foram determinadas as Concentrações Inibitória Mínima (CIM) e Letal Mínima (CLM) do óleo para onze cepas: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25619, *P. aeruginosa* ATCC 9027, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, *S. aureus* ATCC 33591, *S. aureus* ATCC 14458, *S. epidermidis* ATCC 12228, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031, *Enterococcus faecalis* ATCC 4083, *Escherichia coli* ATCC 10536, *E. coli* ATCC 25922 e *Candida albicans* ATCC 10231. O efeito modulador do óleo sobre antibióticos comerciais foi avaliado pela técnica de difusão em ágar modificada.

Resultados: O óleo essencial de *A. zerumbet* foi capaz de inibir o crescimento 72,7% (n=8) e de matar 63,6% (n=7) das cepas testadas, com CIM e CLM variando de 0,312 a 10mg/mL. As cepas mais sensíveis à ação do óleo foram *S. aureus* ATCC 6538P e *K. pneumoniae* ATCC 10031. Além disso, o óleo foi capaz de modular de forma aditiva a ação de fármacos representantes das classes aminoglicosídeos, cefalosporinas, sulfonamidas, carbapenêmicos e macrolídeos, e de forma sinérgica fármacos das classes dos macrolídeos e polimixinas.

Conclusão: Portanto, o óleo essencial de *A. zerumbet* apresenta boa atividade antimicrobiana, com amplo espectro de ação, e é capaz de potencializar a ação de alguns fármacos já disponíveis comercialmente. Tais resultados demonstram que o potencial antimicrobiano desse óleo essencial é promissor e deve continuar sendo investigado, principalmente quanto ao seu mecanismo de ação e sua toxicidade. Esse trabalho é relevante para validação científica de aplicações farmacológicas do óleo essencial das folhas de *A. zerumbet* já evidenciadas na medicina popular e para seu uso no desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas eficazes contra infecções bacterianas.

Palavras chave: *Alpinia zerumbet*, óleo essencial; atividade antimicrobiana; efeito modulador; sinergismo.

RESUMEN

Introducción: *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L. Burtt & R.M. Sm. (*Zingiberaceae*),

conocida popularmente como colonia, es intensamente utilizada en la medicina popular por sus acciones antihipertensiva, diurética, espasmolítica, antioxidante, antiulcerogénica, antiinflamatoria y antimicrobiana.

Objetivo: Evaluar la actividad antimicrobiana del aceite esencial extraído de las hojas de *A. zerumbet* sobre cepas microbianas de referencia y su potencial de modular la acción de antibióticos disponibles comercialmente.

Métodos: Se han determinado las concentraciones inhibitorias mínimas (CLP) del aceite para once cepas: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25619, *P. aeruginosa* ATCC 9027, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, *S. aureus* ATCC 33591, *S. aureus* ATCC 14458, *S. epidermidis* ATCC 12228, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031, *Enterococcus faecalis* ATCC 4083, *Escherichia coli* ATCC 10536, *E. coli* ATCC 25922 y *Candida albicans* ATCC 10231. El efecto modulador del aceite sobre antibióticos comerciales fue evaluado por la técnica de difusión en agar modificado.

Resultados: El aceite esencial de *A. zerumbet* fue capaz de inhibir el crecimiento 72,7% (n = 8) y de matar 63,6% (n = 7) de las cepas probadas, con CIM y CLM variando de 0,312 a 10mg / ml. Las cepas más sensibles a la acción del aceite fueron *S. aureus* ATCC 6538P y *K. pneumoniae* ATCC 10031. Además, el aceite fue capaz de modular de forma aditiva la acción de fármacos representantes de las clases aminoglucósidas, cefalosporinas, sulfonamidas, carbapenémicos y macrólidos, y de forma sinérgica fármacos de las clases de macrólidos y polimixinas.

Conclusiones: Por lo tanto, el aceite esencial de *A. zerumbet* presenta buena actividad antimicrobiana, con amplio espectro de acción, y es capaz de potenciar la acción de algunos fármacos ya disponibles comercialmente. Estos resultados demuestran que el potencial antimicrobiano de este aceite esencial es prometedor y debe seguir siendo investigado, principalmente en lo que respecta a su mecanismo de acción y toxicidad. Este trabajo es relevante para la validación científica de aplicaciones farmacológicas del aceite esencial de hojas de *A. zerumbet* ya evidentes en la medicina popular y para su uso en el desarrollo de nuevas alternativas terapéuticas efectivas contra infecciones bacterianas.

Palabras clave: *Alpina zerumbet*; aceite esencial; actividad antimicrobiana; efecto modulador; sinergismo.

ABSTRACT

Introduction: *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L. Burtt & R.M. Sm. (*Zingiberaceae*), popularly known as colony, is intensely used in folk medicine for its antihypertensive, diuretic, spasmolytic, antioxidant, antiulcerogenic, anti-inflammatory and antimicrobial actions.

Objective: To evaluate the antimicrobial activity of essential oil extracted from *A. zerumbet* leaves on reference microbial strains and their potential to modulate the action of commercially available antibiotics.

Methods: Minimum Inhibitory Concentrations (MIC) and Minimum Lethal (MCL) of oil were determined for eleven strains: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25619, *P. aeruginosa* ATCC 9027, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, *S. aureus* ATCC 33591, *S. aureus* ATCC 14458, *S. epidermidis* ATCC 12228, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031, *Enterococcus faecalis* ATCC 4083, *Escherichia coli* ATCC 10536, *E. coli* ATCC 25922 and *Candida albicans* ATCC 10231. The modulating effect of the oil on commercial antibiotics was assessed by the modified agar diffusion technique.

Results: *A. zerumbet* essential oil was able to inhibit 72.7% growth (n = 8) and kill 63.6% (n = 7) of the tested strains with MIC and CLM ranging from 0.312 to 10 mg / ml. The most sensitive strains were *S. aureus* ATCC 6538P and *K. pneumoniae* ATCC 10031. In addition, the oil was able to additive to the action of drugs representing the aminoglycosides, cephalosporins, sulfonamides, carbapenems and macrolides classes, and synergistically drugs of the macrolide and polymyxin classes.

Conclusion: Therefore, the essential oil of *A. zerumbet* shows good antimicrobial activity, with a broad spectrum of action, and is able to potentiate the action of some commercially available drugs. Results demonstrated promising antimicrobial potential of this essential oil that should continue to be investigated, mainly regarding its mechanism of action and toxicity. This work is relevant for scientific validation of essential oil of *A. zerumbet* leaves pharmacological applications evident in popular medicine and

for its use in the development of new therapeutic alternatives effective against bacterial infections.

Key words: *Alpinia zerumbet*; oil essential; antimicrobial activity; modulatory effect; synergism.

Entregado: 08-08-18

Aprobado: 22-10-20

Introdução

A espécie *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L. Burtt & R.M. Sm. (*Zingiberaceae*) é conhecida popularmente por colônia, seroca, cuité-açu, pacova e gengibre-cocha, entre outras denominações. É uma planta típica de regiões tropicais e subtropicais e, na medicina popular, é intensamente utilizada por suas ações antihipertensiva, diurética, espasmolítica, antioxidante, antiulcerogênica, antiinflamatória e antimicrobiana.⁽¹⁻³⁾

Na literatura já são comprovados seus efeitos farmacológicos como anti-hipertensivo, diurético, antianginoso, antioxidante e antineoplásico entre outros, corroborando seu uso popular.⁽⁴⁻⁷⁾ Apesar disso, o potencial antimicrobiano do óleo essencial das folhas desta espécie sobre diferentes bactérias e fungos ainda é pouco relatado.

O rápido surgimento de cepas microbianas resistentes a inúmeros fármacos, nas últimas décadas, tem sido um fator preocupante e alvo de diversos estudos. A Organização Mundial da Saúde divulgou uma lista de microrganismos resistentes aos antibióticos que devem ser prioritários na pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos. Entre tais patógenos, merece destaque *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, espécies da família *Enterobacteriaceae* e *Staphylococcus aureus*.⁽⁸⁾

Extratos e óleos essenciais de plantas, assim como seus componentes isolados, têm apresentado bons potenciais antimicrobianos e, portanto, surgem como alternativas promissoras para o desenvolvimento de novos fármacos eficazes contra tais microrganismos.

Nesse contexto, o estudo objetivou avaliar a ação antimicrobiana do óleo essencial das folhas de *A. zerumbet* sobre diferentes espécies microbianas, assim como seu potencial modulador sobre antibióticos que já estão disponíveis comercialmente.

Métodos

Obtenção do material botânico

As folhas de *A. zerumbet* (Pers.) B.L. Burtt & R.M. Sm. (*Zingiberaceae*) foram obtidas no Horto de Plantas Medicinais Professor Abreu Matos da Universidade Federal do Ceará (UFC). A identificação botânica da espécie foi realizada no Departamento de Biologia da UFC e a exsicata foi depositada no Herbário Prisco Bezerra (UFC), com número 56851.

Extração do óleo essencial das folhas de *A. zerumbet*

O óleo essencial foi extraído a partir das folhas frescas da planta, pela técnica de hidrodestilação por arraste de vapor.⁽⁹⁾ Após duas horas de extração, foram separadas as fases óleo/água no doseador. A fase orgânica foi tratada com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4) e filtrada. O óleo extraído foi armazenado em recipiente de vidro âmbar sob refrigeração. O rendimento obtido foi de 0,172% (p/p).

Análise dos constituintes do óleo essencial de *A. zerumbet*

A análise da composição química do óleo essencial de *A. zerumbet* foi realizado por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG/EM), em aparelho do tipo *Shimadzu* modelo GC/MS QP 5050^a. As análises foram realizadas no Parque de Desenvolvimento Tecnológico (PADETEC) da UFC. Os

constituintes do óleo determinados foram: 4-hidroxi-4-metil (9,08%), 1,8-cineol (18,35%), terpinen-4-ol (19,23%), timol (11,17%), nerolidol (2,32%), óxido de cariofileno (7,79%), elemol (4,06%), salicilato de benzila (18,67%), astratone (6,45%), outros (2,88%).

Cepas microbianas

Os microrganismos testados foram: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25619, *P. aeruginosa* ATCC 9027, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, *S. aureus* ATCC 33591, *S. aureus* ATCC 14458, *S. epidermidis* ATCC 12228, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031, *Enterococcus faecalis* ATCC 4083, *Escherichia coli* ATCC 10536, *E. coli* ATCC 25922 e *Candida albicans* ATCC 10231. Estas cepas foram obtidas da Coleção de Microrganismos de Referência em Vigilância Sanitária - CMRVS, FIOCRUZ-INCQS, Rio de Janeiro.

Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A determinação da CIM foi realizada pelo método de microdiluição em caldo de cultura para bactérias e leveduras.^(10,11) Em microplacas de 96 poços estéreis foram adicionados 100 µL de caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) ou caldo *Sabouraud* (para bactérias e leveduras, respectivamente), 20 µL de diferentes concentrações de óleo (variando de 0,09 a 200 mg/mL), e 80 µL de suspensão microbiana com cerca de 10⁶ UFC/mL ou 10⁴ UFC/mL, para bactérias e leveduras, respectivamente.

Após incubação das microplacas a 35°C/37°C por 24h, foi realizada inspeção visual do crescimento microbiano e leitura de absorbância a 620nm, em leitor de Elisa. A CIM foi considerada a menor concentração do óleo essencial capaz de inibir completamente o crescimento microbiano, constatado pela ausência de turvação visível.

Determinação da Concentração Letal Mínima (CLM)

A partir dos poços das microplacas usadas para a determinação da CIM, que apresentaram ausência de turvação, foram retiradas alíquotas de 5 µL que foram distribuídas na superfície de ágar *Plate Count*. Após incubação das placas

a 35°C/37°C por 24h, foi realizada a contagem de colônias. A menor concentração do óleo essencial capaz de determinar uma redução do crescimento microbiano $\geq 99,9\%$ do inóculo inicial foi considerada a CLM.⁽¹²⁾

Efeito modulador do óleo essencial de *A. zerumbet* na atividade de antibióticos de uso clínico

O efeito modulador do óleo essencial de *A. zerumbet* sobre antibiótico foi determinado pelo método de disco-difusão modificado.⁽¹³⁾ Os antibióticos testados, obtidos da *Aldrich Co. LLC*, foram: Oxacilina (1 µg), Cefuroxima (30 µg), Cefepime (30µg), Cefalotina (30µg), Meropenem (10 µg), Polimixina B (300 UI), Nitrofurantoína (300µg), Gentamicina (30µg), Claritromicina (15 µg), Ciprofloxacina (5 µg), Clindamicina (2 µg) e Sulfametoxazol + Trimetropin (25µg).

Suspensões microbianas com cerca de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL foram semeadas na superfície de ágar *Mueller-Hinton*. Os discos comerciais dos antibióticos (ATB) foram colocados na superfície do meio, e sobre cada disco foram adicionados 20 µL do óleo essencial de *A. zerumbet*, em concentração igual a CIM. Após incubação a 37 °C por 24h foi realizada a leitura dos diâmetros dos halos de inibição (HI) do crescimento microbiano.⁽¹⁴⁾

Os diâmetros dos halos de inibição das associações entre o óleo essencial de *A. zerumbet* e os antibióticos (HI_{OEAZ-ATB}) foram comparados com os halos gerados pela ação do antibiótico sozinho (HI_{ATB}) e os resultados foram interpretados da seguinte forma.⁽¹⁴⁾

Efeito sinérgico quando: $HI_{OEAZ-ATB} \geq HI_{ATB} + 2,0mm$

Efeito aditivo quando: $HI_{ATB} + 2,0mm > HI_{OEAZ-ATB} \geq HI_{ATB}$

Efeito antagônico quando: $HI_{OEAZ-ATB} < HI_{ATB}$

Análise estatística

Os experimentos foram realizados em triplicata, em dois ensaios diferentes, e os resultados obtidos foram expressos como a Média \pm Erro Padrão da Média. As

médias dos diferentes tratamentos foram comparadas pela análise de variância (ANOVA) e pós-teste de Tukey, sendo consideradas estatisticamente significantes quando $p < 0,05$. As análises foram realizadas no programa *GraphPad Prism 6*.

Resultados

Atividade antimicrobiana do óleo essencial de *A. zerumbet*

O óleo essencial de *A. zerumbet* inibiu o crescimento e ocasionou a morte celular de 72,7% (n=8) e 63,6% (n=7) dos microrganismos testados, respectivamente. Além disso, apresentou amplo espectro de ação, sobre bactérias Gram negativo e Gram positivo, com destaque para as cepas *K. pneumoniae* ATCC 10031 e *S. aureus* ATCC 6538P (Tabela 1).

Tabela 1. CIM e CLM do óleo essencial de *A. zerumbet* para os microrganismos testados

Microrganismo	Óleo essencial de <i>A. zerumbet</i> (mg/mL)	
	CIM	CLM
Gram negativo		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	2,5	2,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 28614	10	10
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031	0,625	0,625
<i>Escherichia coli</i> ATCC 10536	2,5	2,5
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	10	10
Gram positivo		
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P	0,312	0,625
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 14458	2,5	10
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 33591	*	*
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC12228	*	*
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 4083	*	*
Leveduras		
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	5	*

* CIM ou CLM não determinada nas concentrações testadas (até 20mg/mL)

Efeito modulador do óleo essencial de *A. zerumbet* sobre a ação de antibióticos de uso clínico

Este ensaio foi realizado com as cepas para as quais o óleo essencial de *A. zerumbet* apresentou melhor ação, com menores CIM e CLM. Foram utilizadas, portanto: *K. pneumoniae* ATCC 10031, *P. aeruginosa* ATCC 9027, *S. aureus* ATCC 6538P e *E. coli* ATCC 25922.

Para a cepa *K. pneumoniae* ATCC 10031 nenhuma das associações OEAZ-ATB foi sinérgica, apesar disso, o óleo modulou de forma aditiva o efeito de 57,1% (n=4) dos ATB. Para *P. aeruginosa* ATCC 9027, o óleo potencializou sinérgicamente a ação do fármaco polimixina B e modulou de forma aditiva o efeito de 42,8 % (n=3) dos ATB. Já para *E. coli* ATCC 25922, foi observado efeito sinérgico na associação óleo com claritromicina e efeito aditivo em 42,8 % (n=3) das associações (Tabelas 2 a 4).

Tabela 2. Efeito modulador do óleo essencial de *A. zerumbet* na atividade de antibióticos de uso clínico sobre *K. pneumoniae* ATCC 10031

Antibióticos	<i>K. pneumoniae</i> ATCC 10031	
	HI _{ATB}	HI _{OEAZ-ATB}
Gentamicina	19	20,5*
Meropenem	27	26 ↓
Cefuroxima	30,5	30,5*
Ciprofloxacina	36,5	35,5 ↓
Nitrofurantoína	21	20,5 ↓
Sulfametoxazol trimetropim +	24	24*
Cefalotina	27	27*

HI_{OEAZ-ATB}: diâmetro do halo de inibição de crescimento (mm) determinado pela associação OEAZ-ATB (mm);

HI_{ATB}: diâmetro do halo de inibição de crescimento (mm) determinado pelo antibiótico isolado (mm);

(†) Efeito sinérgico; (*) Efeito aditivo; (↓) Efeito antagônico

Tabela 3. Efeito modulador do óleo essencial de *A. zerumbet* na atividade de antibióticos de uso clínico sobre *P. aeruginosa* ATCC 9027

Antibióticos	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	
	HI _{ATB}	HI _{OEAZ-ATB}
Gentamicina	24,5	23,5 ↓
Meropenem	24,5	25,5 *
Cefuroxima	26,5	27*
Ciprofloxacina	39,5	39,5*

Polimixina B	13	15,5 ↑
Claritromicina	14	12,5 ↓
Sulfametoxazol + trimetropim	30,5	30 ↓

HI_{OEAz-ATB}: diâmetro do halo de inibição de crescimento (mm) determinado pela associação OEAz-ATB (mm);

HI_{ATB}: diâmetro do halo de inibição de crescimento (mm) determinado pelo antibiótico isolado (mm);

(↑) Efeito sinérgico; (*) Efeito aditivo; (↓) Efeito antagônico

Tabela 4. Efeito modulador do óleo essencial de *A. zerumbet* na atividade de antibióticos de uso clínico sobre *E. coli* ATCC 25922

Antibióticos	<i>E. coli</i> ATCC 25922	
	HI _{ATB}	HI _{OEAz-ATB}
Gentamicina	21,5	22,5*
Meropenem	20,5	20 ↓
Cefuroxima	16,5	0 ↓
Ciprofloxacina	11,5	10,5 ↓
Claritromicina	8	12,5 ↑
Sulfametoxazol + trimetropim	24	24*
Cefepime	19	19*

HI_{OEAz-ATB}: diâmetro do halo de inibição de crescimento (mm) determinado pela associação OEAz-ATB (mm);

HI_{ATB}: diâmetro do halo de inibição de crescimento (mm) determinado pelo antibiótico isolado (mm);

(↑) Efeito sinérgico; (*) Efeito aditivo; (↓) Efeito antagônico

Para a bactéria Gram positivo *S. aureus* ATCC 6538P nenhuma associação apresentou efeito sinérgico, mas o óleo foi capaz de modular de forma aditiva a ação de 71,4% (n=5) dos ATB (Tabela 5).

Tabela 5. Efeito modulador do óleo essencial de *A. zerumbet* na atividade de antibióticos de uso clínico sobre *S. aureus* ATCC 6538P

Antibióticos	<i>S. aureus</i> ATCC 6538P	
	HI _{ATB}	HI _{OEAz-ATB}
Gentamicina	23	23*
Meropenem	39	39*
Cefuroxima	20,5	21*
Oxacilina	29	27,5 ↓
Claritromicina	27	27*
Clindamicina	28	0 ↓
Cefalotina	26	26*

HI_{OEAz-ATB}: diâmetro do halo de inibição de crescimento (mm) determinado pela associação OEAz-ATB (mm);

HI_{ATB}: diâmetro do halo de inibição de crescimento (mm) determinado pelo antibiótico isolado (mm);

(↑) Efeito sinérgico; (*) Efeito aditivo; (↓) Efeito antagônico.

Discussão

O óleo essencial de *A. zerumbet* apresentou boa ação antimicrobiana sobre diversas espécies de microrganismos, com destaque para as cepas *K. pneumoniae* ATCC 10031 e *S. aureus* ATCC 6538P, com potencial bacteriostático e bactericida. Além disso, foi capaz de modular de formas sinérgica e aditiva a atividade de fármacos antimicrobianos que já se tem disponíveis comercialmente.

O importante valor terapêutico de plantas da família *Zingiberaceae* pode ser atribuído à presença de constituintes como flavonóides, taninos e terpenóides, os quais são encontrados nas diferentes espécies, inclusive do gênero *Alpinia*.⁽¹⁵⁾

Apesar da intensa variação na composição dos óleos essenciais de plantas em virtude de fatores sazonais e geográficos, Santos et al. (2012)⁽¹⁶⁾ mostrou que o óleo essencial das folhas de *Alpinia zerumbet*, quando coletado em diferentes horas do dia e em plantas com diferentes idades, apresentam os monoterpênos oxigenados 1,8-cineol e terpinen-4-ol entre os majoritários. A análise da composição química do óleo utilizado no presente estudo também mostrou a presença desses constituintes entre os majoritários.

Alguns autores relatam o potencial farmacológico dos constituintes 1,8-cineol e terpinen-4-ol como antimicrobianos.^(17,18) A boa ação antimicrobiana encontrada neste estudo pode, portanto, ser decorrente da presença desses constituintes, sem descartar a possibilidade de efeito sinérgico com outros compostos minoritários também presentes no óleo essencial.

Estudo anterior mostrou que o óleo essencial extraído a partir de flores de *A. zerumbet* apresentou amplo espectro de ação antimicrobiana, com atividade sobre cepas de *Bacillus cereus*, *E. coli*, *S. aureus*, *C. albicans* e *Salmonella enteritidis*³. O ensaio de determinação da CIM do presente estudo também demonstrou esse potencial do óleo essencial de *A. zerumbet* como antimicrobiano bacteriostático e bactericida sobre bactérias Gram-positivo,

mas, principalmente, sobre bactérias Gram-negativo, além do seu efeito fungistático sobre cepa de *C. albicans*.

Considerando a lista de patógenos que devem ser prioritários na pesquisa e desenvolvimento de novos antibióticos⁽⁸⁾ e que estão presentes como prioridade 1 (crítica), *Pseudomonas aeruginosa* e espécies da família *Enterobacteriaceae*, a boa ação apresentada pelo óleo essencial de *A. zerumbet* sobre tais bactérias merece destaque e sinaliza para grande importância da continuidade das pesquisas.

Além disso, a literatura sugere que os óleos essenciais de plantas, no geral, apresentam boa ação antimicrobiana sobre bactérias Gram-positivo, entretanto, esse potencial é reduzido sobre bactérias Gram-negativo devido a presença de membrana externa que atua como uma barreira extra e dificulta a ação de moléculas de natureza lipofílica, como os óleos essenciais.⁽¹⁹⁾

O amplo espectro de ação apresentado pelo óleo essencial de *A. zerumbet*, portanto, merece destaque e mostra o potencial deste metabólito para o desenvolvimento de um fármaco com ação, inclusive, sobre as bactérias Gram-negativo mais preocupantes atualmente.

Em relação à crescente resistência microbiana evidente nos últimos anos, os óleos essenciais de plantas surgem como substâncias promissoras, pois, por se tratarem de uma mistura complexa de constituintes, podem apresentar efeito sinérgico e atuar por diferentes mecanismos de ação, dificultando o surgimento de resistência microbiana.⁽¹⁹⁾ Dessa forma, sua associação com fármacos antibióticos já disponíveis atualmente também podem apresentar importante efeito sinérgico e dificultar a resistência microbiana, sendo uma perspectiva favorável para o tratamento alternativo de infecções.

Diversos estudos já evidenciam o efeito modulador de extratos e óleos essenciais de diferentes plantas sobre a ação de antibióticos e antifúngicos convencionais.⁽¹⁹⁻²²⁾ Simões et al.,⁽²³⁾ relatou que componentes isolados

extraídos de plantas, como os sesquiterpenos, também apresentam a capacidade de interferir na ação de antimicrobianos. O nerolidol (componente presente no óleo essencial de *A. zerumbet*), por exemplo, quando associado a antimicrobianos da classe de macrolídeos (eritromicina) e quinolonas (ciprofloxacino), apresenta efeito sinérgico sobre *E. coli* e *S. aureus*.

O presente trabalho demonstrou que o óleo essencial de *A. zerumbet* também apresenta bom potencial modulador sobre diferentes antibióticos, com destaque para as associações com polimixina B sobre *P. aeruginosa* e com claritromicina sobre *E. coli*, ambos microrganismos que são considerados críticos para a descoberta de novos fármacos.

Diante do emergente desafio que se tornou o tratamento de infecções causadas por microrganismos resistentes, há a necessidade de busca constante por novos antimicrobianos e a exploração de sinergismos entre os óleos essenciais de plantas, ou seus constituintes, e antibióticos é uma forma promissora de superar esse desafio.⁽²⁴⁾

Relata-se que a maioria dos óleos essenciais tem seu mecanismo de ação sobre o envoltório celular microbiano (membrana e/ou parede celular). Dessa forma, em uma associação óleo essencial com fármaco que age no interior da célula (como a claritromicina), o efeito sinérgico pode ser explicado pela facilidade de entrada do antibiótico convencional na célula após a ação do óleo, o que potencializa a ação do fármaco.⁽²⁴⁾

O presente estudo reporta a boa atividade antimicrobiana e o amplo espectro de ação do óleo essencial de *A. zerumbet*, e seu potencial modulador sobre antibióticos de uso convencional. Sugere-se, portanto, que o óleo essencial de *A. zerumbet* é uma alternativa terapêutica promissora para o desenvolvimento de fármacos com atividade antimicrobiana, sendo importante a realização de estudos para esclarecer seu mecanismo de ação.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento de Científico e Tecnológico (CNPq), à Universidade Federal do Ceará (UFC), ao Horto de Plantas Medicinais Professor Francisco José de Abreu Matos da UFC e ao Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz (INCQS- FIOCRUZ).

Referências bibliográficas

1. Correa AJC, Lima CE, Costa MCCD. *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L. Burtt & R.M. Sm. (*Zingiberaceae*): levantamento de publicações nas áreas farmacológica e química para o período de 1987 a 2008. Rev Bras Plantas Med 2010[acceso:09/2/2019];2(1):113-9. Disponible en: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722010000100016
2. Bevilaqua F, Mocelin R, Grimm CJr, da Silva Junior NS, Buzetto TL, Conterato GM, Roman WA Jr, Piato AL. Involvement of the catecholaminergic system on the antidepressant-like effects of *Alpinia zerumbet* in mice. Pharm Biol 2016[acceso:09/2/019];54(1):151-6. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25885936/>
3. Kerkudo A, Ellong EN, Burger P, Gonnot V, Boyer L, Chandre F, Adenet S, Rochefort K, Michek T, Fernandez X. Chemical Composition, Antimicrobial and Insecticidal Activities of Flowers Essential Oils of *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L.Burtt & R.M.Sm. from Martinique Island. Chem Biodivers 2017[acceso:09/2/2019];14(4):1-26. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27935668/>
4. Barcelos FF, Oliveira ML, Giovaninni NPB, Lins TP, Filomeno CA, Schneider SZ et al. Estudo químico e da atividade biológica cardiovascular do óleo essencial de folhas de *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L. Burtt & R. M.Sm. em ratos. Rev Bras Plantas Med 2010[acceso:09/2/019];12(1):48-56. Disponible en: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-05722010000100008&script=sci_abstract&tlng=pt

5. Be Tu PT, Tawata S. Anti-Oxidant, Anti-Aging, and Anti-Melanogenic Properties of the Essential Oils from Two Varieties of *Alpinia zerumbet*. *Molecules* 2015[acceso:09/2/2019];20(9):16723-40. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26389869/>
6. Cunha GH, Fechine FV, Frota Bezerra FA, Moraes MO, Silveira ER, Canuto KM et al. Comparative study of the antihypertensive effects of hexane, chloroform and methanol fractions of essential oil of *Alpinia zerumbet* in rats *Wistar*. *Rev Bras Plantas Med* 2016[acceso:09/2/2019];18(1):113-24. Disponible en: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722016000100113&lng=en&tlng=en
7. Taira N, Nguyen BC, Tawata S. Hair Growth Promoting and Anticancer Effects of p21-activated kinase 1 (PAK1) Inhibitors Isolated from Different Parts of *Alpinia zerumbet*. *Molecules* 2017[acceso:09/2/2019];22(132):1-10. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28098826/>
8. World Health Organization (WHO). Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. [acceso:20/6/2017]. Disponible en: <http://www.who.int/medicines/publications/global-priority-list-antibiotic-resistant-bacteria/en/>
9. Craveiro AA, Fernandes AG, Andrade CHS, Matos FJA, Alencar JW, Machado MIL. Óleos essenciais de plantas do Nordeste. Fortaleza: Edições UFC, Brasil, 1981. p. 210.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Método de referência para testes de diluição em caldo para a determinação da sensibilidade de leveduras à terapia antifúngica: Norma Aprobada. 2da.ed. Norma M27-A2 do CLSI. Wayne, PA: CLSI, Pensilvania, Estados Unidos, 2008. pp. 1-51.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. 9na.ed. Approved standard.: M07-A9. Wayne, PA: CLSI, Pensilvania, Estados Unidos, 2012. pp. 1-88.

12. Baron EJ, Peterson LR, Finegold SM. In: Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 9na.ed. St Louis, Missouri, Estados Unidos: Mosby; 1994. p. 958.
13. Oliveira RAG, Lima EO, Vieira WL, Freire KRL, Trajano VN, Lima IO et al. Estudo da interferência de óleos essenciais sobre a atividade de alguns antibióticos usados na clínica. Rev Bras Farmacogn 2006[acceso:09/2/2019]; 16(1):77-82. Disponible en: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-695X2006000100014&script=sci_abstract&tlng=pt
14. Cleeland R, Squires E. Evaluation of new antimicrobials in vitro and in experimental animal infections. In: Lorian V, editor. Antibiotics in laboratory medicine. 3ra ed. Baltimore (Md.): Williams and Wilkins; 1991. pp. 747-62.
15. Victorio CP. Therapeutic value of the genus *Alpinia*, *Zingiberaceae*. Rev Bras Farmacogn 2011[acceso:09/2/2019];21(1):194-201. Disponible en: <https://www.scielo.br/pdf/rbfar/v21n1/aop1411.pdf>
16. Santos MS, Jezler CN, Oliveira ARMF, Oliveira RA, Mielke MS, Costa LCB. Harvest time and plant age on the content and chemical composition of the essential oil of *Alpinia zerumbet*. Hortic Bras 2012[acceso:09/2/2019]; 30(3):385-90. Disponible en: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-05362012000300005
17. Simsek M, Duman R. Investigation of Effect of 1,8-cineole on Antimicrobial Activity of Chlorhexidine Gluconate. Pharmacognosy Res. 2017[acceso:09/2/2019];9(3):234-7. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5541478/>
18. Hac-Wydro K, Flasiński M, Broniatowski M, Soltys M. Studies on the Behavior of Eucalyptol and Terpinen-4-ol - Natural Food Additives and Ecological Pesticides - in Model Lipid Membranes Langmuir. 2017[acceso:09/2/2019];33(27):6916-24. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28654274/>

19. Sales GWP, Batista AHM, Rocha LQ, Nogueira NAP. Efeito antimicrobiano e modulador do óleo essencial extraído da casca de frutos da *Hymenaea courbaril* L. Rev Ciênc Farm Básica Apl 2014[acceso:09/2/2019];35(4):709-15. Disponible en: <https://rcfba.fcfar.unesp.br/index.php/ojs/article/view/103>
20. Essid R, Hammami M, Gharbi D, Karkouch I, Hamouda TB, Elkahoui S, Limam F, Tabbene O. Antifungal mechanism of the combination of *Cinnamomum verum* and *Pelargonium graveolens* essential oils with fluconazole against pathogenic *Candida* strains. Appl Microbiol Biotechnol 2017[acceso:09/2/2019];101(18):6993-7006. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28766033/>
21. Lucena BFF, Tintino SR, Figueredo FG, Oliveira CDM, Aguiar JJS, Cardoso EN et al. Avaliação da atividade antibacteriana e moduladora de aminoglicosídeos do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. Acta Biol Colomb 2015[acceso:09/2/2019];20(1):39-45. Disponible en: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-734899>
22. Meirelles GC, Pippi B, Hatwig C, Barros FMC, Oliveira LFS, Von Poser GL, Fuentefria AM. Synergistic antifungal activity of the lipophilic fraction of *Hypericum carinatum* and fluconazole. Rev Bras Farmacogn 2017[acceso:09/2/2019];27(1):118-23. Disponible en: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2017000100118&lng=en&nrm=iso
23. Simões M, Rocha S, Coimbra MA, Vieira MJ. Enhancement of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* antibiotic susceptibility using sesquiterpenoids. Med Chem 2008[acceso:09/2/2019];4(6):616-23. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18991747/>
24. Chouhan S, Sharma K, Guleria S. Antimicrobial activity of some essential oils - present status and future perspectives. Medicines 2017[acceso:09/2/2019];4(3):1-21. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28930272/>

Conflito de interesse

Os autores declaram não haver conflito de interesse.

Contribuições dos autores

As etapas de planejamento da pesquisa e de coleta de dados e execução dos experimentos, incluindo a análise do óleo essencial, ensaios de avaliação do potencial antimicrobiano e do efeito modulador foram realizados pelos pesquisadores Anne Caroline Duarte Moreira, Andressa Hellen de Moraes Batista, Gleilton Weyne Passos Sales e Suelen Carneio de Medeiros. As etapas de análise formal dos resultados, curadoria de dados, redação e revisão do artigo foram realizados pelas pesquisadoras Hilania Valéria Dodou Lima e Nádia Accioly Pinto Nogueira.