


Atividade in vitro dos extratos de Gengibre e Açafrão contra *Streptococcus pneumoniae* e *Klebsiella pneumoniae*

In vitro activity of Ginger and Saffron extracts against *Streptococcus pneumoniae* and *Klebsiella pneumoniae*

Eurico Airone¹, Maricela Tamayo², Graciano Cumaquela^{3*} 

¹Médicos sem Fronteiras, Nampula, Moçambique

²Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Central de Nampula, Nampula, Moçambique

³Faculdade de Ciências de Saúde - Universidade Lúrio, Nampula, Moçambique

*Autor correspondente/Corresponding author: gcumaquela@unilurio.ac.mz

Recebido/Received: 12-03-2024; Revisto/Revised: 28-08-2024; Aceite/Accepted: 25-09-2024

Resumo

Introdução: atualmente as bactérias causadoras da pneumonia, constam da lista com vários agentes patogénicos que desenvolveram alto nível de resistência segundo a OMS, sendo que a *Streptococcus pneumoniae* e *Klebsiella pneumoniae* representam 43% dos casos em crianças menores de 5 anos no mundo. O gengibre e o açafrão estão entre as principais plantas medicinais utilizadas, devido a ação antimicrobiana. **Objetivo:** avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos de Gengibre e Açafrão frente à *Streptococcus pneumoniae* e *Klebsiella pneumoniae*. **Material e Métodos:** através de rizomas de gengibre e açafrão, obteve-se extratos oleoso e hidroalcoólico para ambos, que posteriormente testou-se a atividade antibacteriana pelo método de Kirby-Bauer, nas cepas supracitadas, obtidas no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Central de Nampula. Recorreu-se o SPSS v. 20.0 para a análise de dados. A normalidade dos dados verificou-se pelo Teste de Shapiro-Wilk, e a comparação das médias entre os grupos por Mann-Whitney. **Resultados:** mediante as concentrações bruta e diluições, o extrato hidroalcoólico de açafrão mostrou uma eficácia superior que o de gengibre, em ambos os microrganismos. No caso dos óleos essenciais, gengibre apresentou halo de inibição de 10.67mm frente a *Streptococcus pneumoniae* e 0.67mm contra *Klebsiella pneumoniae*; enquanto que o açafrão mostrou halos de 13mm contra *Streptococcus pneumoniae* e 1,00 mm frente a *Klebsiella pneumoniae*. **Conclusão:** os extratos hidroalcoólicos e oleosos apresentam atividade antimicrobiana frente a *Streptococcus pneumoniae* e *Klebsiella pneumoniae*, com diferença significativa. O açafrão foi mais eficaz que o gengibre para os dois microrganismos.

Palavras-chave: Gengibre, Açafrão, *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, Nampula.

Abstract

Introduction: Currently the bacteria that cause pneumonia are listed with several pathogens that have developed a high level of resistance according to the WHO, with *Streptococcus pneumoniae* and *Klebsiella pneumoniae* accounting for 43% of cases in children under 5 years of age worldwide. Ginger and saffron are among the main medicinal plants used, due to their antimicrobial action. **Objective:** to evaluate the antimicrobial activity of Ginger and Saffron extracts against *Streptococcus pneumoniae* and *Klebsiella pneumoniae*. **Material and Methods:** Ginger and saffron rhizomes were used to obtain oil and hydroalcoholic extracts for both, which were subsequently tested for antibacterial activity using the Kirby-Bauer method, on the aforementioned strains, obtained at the Clinical Analysis Laboratory of the Hospital Central de Nampula. SPSS v. 20.0 was used for data analysis. The normality of the data was checked by the Shapiro-Wilk test, and the comparison of means between groups by Mann-Whitney. **Results:** At the crude concentrations and dilutions, the hydroalcoholic extract of saffron was more effective than ginger in both microorganisms. In the case of essential oils, ginger showed an inhibition halo of 10.67mm against *Streptococcus pneumoniae* and 0.67mm against *Klebsiella pneumoniae*; while saffron showed halos of 13 mm against *Streptococcus pneumoniae* and 1.00 mm against *Klebsiella pneumoniae*. **Conclusion:** the hydroalcoholic and oily extracts show antimicrobial activity against *Streptococcus pneumoniae* and *Klebsiella pneumoniae*, with a significant difference. Saffron was more effective than ginger for both microorganisms.

Keywords: Ginger, Saffron, *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, Nampula.

1. INTRODUÇÃO

As comunidades de Moçambique, um país em desenvolvimento, convivem com uma situação de recursos limitados, culminando na restrição de acesso aos cuidados de saúde convencionais, em particular o acesso aos medicamentos (Mitano et al. 2016). Paralelamente, neste meio, a população recorre bastante a plantas para fins medicinais e alimentares, ao exemplo de gengibre e o açafrão, usados como condimento e para tratar diversas doenças incluindo as do trato respiratório (Cutrim et al. 2019). A pneumonia, é uma doença comum em grupos vulneráveis como idosos e crianças menores de 5 anos, constituindo a terceira maior causa de morbi-mortalidade neste último grupo etário (Pota 2022). Considerando o facto de haver cada vez mais relatos de resistência aos antimicrobianos de primeira linha usados para tratar esta doença, encontrar alternativas terapêuticas para fazer face à estas condições clínicas mediante o uso de plantas medicinais, é de extrema importância (Bartoletti et al. 2016; Lemos et al., 2021). Isto levou à colocação da seguinte questão de pesquisa: será que os extratos de gengibre e açafrão cultivados no povoado de Namititari, Distrito de Rapale (Nampula), possuem atividade antimicrobiana contra *Streptococcus pneumoniae* e *Klebsiella pneumoniae*? Este estudo torna-se relevante e oportuno à medida que a incidência e prevalência de pneumonias, bem como a resistência de seus agentes etiológicos possa ser controlado, minimizando as consequências sociais sobre os portadores. A pesquisa tem como objetivo principal, avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos de Gengibre e Açafrão frente à *Streptococcus pneumoniae* e *Klebsiella pneumoniae*.

As infeções respiratórias agudas, constituem grave problema mundial de saúde, muitas vezes levando a morte grupos vulneráveis, como crianças menores de 5 anos (Ramirez 2018). A pneumonia lidera as causas de morte em crianças até os cinco anos em Moçambique, só em 2021, foram diagnosticadas 969 mil crianças com a doença (Pota 2022). E, segundo o inquérito de causas de mortalidade 2019, a pneumonia corresponde a 7% de causas de morte em crianças de um a 59 meses Moçambique (Estatística (Mozambique) 2009).

A pneumonia é uma condição clínica caracterizada pela inflamação do pulmão, na qual os alvéolos infetados ficam preenchidos de fluidos provenientes da inflamação, interferindo no aporte de oxigénio, como consequência da dificuldade nas trocas gasosas (Tortora, Funke, e Case 2012). O *Streptococcus pneumoniae* é o principal agente causador da pneumonia, representando cerca de 43% dos casos, seguido pela *Klebsiella pneumoniae* e *Haemophilus influenzae* (Corrêa et al., 2018).

Atualmente as bactérias causadoras da pneumonia, constam da lista com vários agentes patogénicos que desenvolveram alto nível de resistência segundo a Organização Mundial da Saúde (Saavedra e Sousa 2019). Compreende-se por resistência aos antibacterianos, a capacidade que as bactérias adquirem de sobreviverem a concentrações de fármacos que as inibem (Oliveira e Aires 2016).

O mundo enfrenta a grande problemática da resistência microbiana, devido a ampla distribuição dos fármacos antimicrobianos e, conseqüente facilidade ao acesso por parte da população, culminando na automedicação (Oliveira e Aires 2016). Este fenómeno tem chamado a atenção da comunidade

1. INTRODUCTION

The communities in Mozambique, a developing country, live with a situation of limited resources, which culminates in restricted access to conventional health care, in particular access to medicines (Mitano et al. 2016). However, the population often uses plants for medicinal and nutritional purposes, such as ginger and saffron, used as a condiment and to treat various diseases, including those of the respiratory tract (Cutrim et al. 2019). Pneumonia is a common disease in vulnerable groups such as the elderly and children under 5 years of age, constituting the third greatest cause of morbidity and mortality in this last age group (Pota 2022). Considering the fact that there are increasing reports of resistance to first-line antimicrobials used to treat this disease, finding therapeutic alternatives to treat these clinical conditions by using medicinal plants, is of utmost importance (Bartoletti et al. 2016; Lemos et al., 2021). This led to the following research question: Do ginger and saffron extracts grown in the village of Namititari, Rapale District (Nampula), have antimicrobial activity against *Streptococcus pneumoniae* and *Klebsiella pneumoniae*? This study becomes relevant because the incidence and prevalence of pneumonia, as well as the resistance of its etiological agents, can be controlled, minimizing the social consequences for carriers. The main objective of the research is to evaluate the antimicrobial activity of Ginger and Saffron extracts against *Streptococcus pneumoniae* and *Klebsiella pneumoniae*.

Acute respiratory infections are a serious global health problem, often leading to the death of vulnerable groups, such as children under 5 years of age (Ramirez 2018). Pneumonia is the leading cause of death in children up to five years of age in Mozambique. In 2021, for example, 969,000 children were diagnosed with the disease (Pota 2022). And, according to the 2019 survey of causes of mortality, pneumonia accounts for 7% of causes of death in children aged between one and 59 months in Mozambique (Estatística (Mozambique) 2009).

Pneumonia is a clinical condition characterized by inflammation of the lungs, in which the infected alveoli become filled with fluids from the inflammation, interfering with oxygen intake as a result of impaired gas exchange (Tortora, Funke, e Case 2012). *Streptococcus pneumoniae* is the main causative agent of pneumonia, accounting for about 43% of cases, followed by *Klebsiella pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* (Corrêa et al., 2018).

Currently, the bacteria that cause pneumonia are on the list of several pathogens that have developed a high level of resistance according to the World Health Organization (Saavedra e Sousa 2019). Antibacterial resistance is understood as the ability that bacteria acquire to survive concentrations of drugs that inhibit them (Oliveira e Aires 2016).

Nowadays, the world faces the major problem of microbial resistance, due to the wide distribution of antimicrobial drugs and, consequently, easy access by the population, culminating in self-medication (Oliveira e Aires 2016). This phenomenon has attracted the attention of the scientific community due to the considerable increase in bacteria that do not respond to conventional treatment, becoming a global public health problem (Oliveira e Aires 2016; Xu et al. 2018).

The increase in the prevalence of antibiotic resistance is

científica pelo aumento considerável de bactérias que não respondem ao tratamento convencional, tornando-se um problema de saúde pública global (Oliveira e Aires 2016; Xu et al. 2018).

O aumento da prevalência de resistência a antibióticos é atribuído ao uso indiscriminado deste grupo farmacológico, e resulta no incremento de internamentos hospitalares e respetivos custos de tratamento (Bartoletti et al. 2016). A OMS estima que a partir de 2050, mais de dez milhões de pessoas morrerão por ano devido a resistência microbiana, reforçando assim a necessidade da bioprospecção de novos compostos com propriedades antimicrobianas (Lemos et al., 2021).

A distribuição de recursos da saúde não acontece de forma equitativa em todas as populações moçambicanas, grande parte do povo não tem acesso aos medicamentos convencionais, muitas vezes devido à fraca cobertura do Sistema Nacional de Saúde, levando as comunidades a recorrer às plantas medicinais para resolver os seus problemas de saúde (Mitano et al. 2016).

O mais preocupante ainda é o fato de alguns estudos feitos em Moçambique, apontarem para existência de muitos casos de resistência bacteriana frente aos agentes antimicrobianos usados na primeira linha de tratamento de infeções como pneumonia e meningite (Sigauque et al. 2012). Importa referir que desde os primórdios, o homem vem utilizando as plantas na alimentação, medicina, entre outros sectores da vida social (Martelli e Carvalho 2019).

O gengibre e o açafrão, são bastante comuns na gastronomia do povo moçambicano, usado como tempero e condimento na confeção de alimentos (Martelli e Carvalho 2019). Estas plantas estão entre as principais espécies de plantas medicinais amplamente utilizadas na medicina popular, sendo empregue tanto na culinária quanto no combate às diversas enfermidades por possuir ação cicatrizante, anti-inflamatória e antimicrobiana (Cutrim et al. 2019).

O gengibre (*Zingiber officinale Roscoe*) é indicado no tratamento de dores de cabeça, distúrbios gastrintestinais, náuseas, resfriados, osteoartrite e algumas infeções virais como a hepatite C, além de apresentar efeitos anticancerígenos (Cutrim et al., 2019; Júnior, 2020). Enquanto que o açafrão (*Curcuma longa Linnaeus*) é uma planta originária da Índia e cultivada em todo o mundo, do seu rizoma é seca e moída onde extrai-se o pó, utilizado na culinária como condimento ou corante de cor amarela e brilhante, e no preparo de medicamentos, com propriedade anti-inflamatória, antioxidante e antibacteriana, sendo principal constituinte químico, a curcumina (Ferrão & Liberato, 2015; Teles et al., 2019). Estudos demonstram que o seu óleo essencial apresenta poder antimicrobiano em potencial contra diferentes patógenos (Teles et al. 2019).

2. MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo é de natureza experimental, com abordagem quantitativa-analítica, finalidade aplicada e de procedimento laboratorial (Fontelles et al., sem data). Foi realizado no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Central de Nampula, sendo que a parte fitoquímica foi tratada no Laboratório de Etnobotânica e Fitoquímica e Centro de Estudos Interdisciplinares da Universidade Lúrio (UniLúrio).

attributed to the indiscriminate use of this pharmacological group, and results in an increase in hospital admissions and respective treatment costs (Bartoletti et al. 2016). The WHO estimates that by 2050, more than ten million people will die each year due to antimicrobial resistance, thus reinforcing the need for bioprospecting of new compounds with antimicrobial properties (Lemos et al., 2021).

The distribution of health resources is not equitable across all Mozambican populations, and a large proportion of the population does not have access to conventional medicines, often due to the poor coverage of the National Health System, leading communities to resort to medicinal plants to solve their health problems (Mitano et al. 2016).

Even more worrying is the fact that some studies carried out in Mozambique point to the existence of many cases of bacterial resistance to antimicrobial agents used in the first line of treatment for infections such as pneumonia and meningitis (Sigauque et al. 2012). It should be noted that since the beginning of time, humanity has used plants for food, medicine and other sectors of social life (Martelli e Carvalho 2019).

Ginger and saffron are very common in the gastronomy of the Mozambican people, used as spices and condiments in cooking (Martelli e Carvalho 2019). These plants are among the main species of medicinal plants widely used in folk medicine, being used both in cooking and to combat various diseases because they have healing, anti-inflammatory and antimicrobial properties (Cutrim et al. 2019).

Ginger (*Zingiber officinale Roscoe*) is indicated for the treatment of headaches, gastrointestinal disorders, nausea, colds, osteoarthritis and some viral infections such as hepatitis C, in addition to having anticancer effects (Cutrim et al., 2019; Júnior, 2020). While saffron (*Curcuma longa Linnaeus*) is a plant native to India and cultivated throughout the world, its rhizome is dried and ground into a powder, which used in cooking as a condiment or bright yellow colouring, and in the preparation of medicines, with anti-inflammatory, antioxidant and antibacterial properties, being main chemical constituent, curcumin (Ferrão & Liberato, 2015; Teles et al., 2019). Studies show that its essential oil has potential antimicrobial power against different pathogens (Teles et al. 2019).

2. MATERIAL AND METHODS

This is an experimental study, with a quantitative-analytical approach, applied purpose and laboratory procedure (Fontelles et al., sem data). It was carried out at the Clinical Analysis Laboratory of the *Hospital Central de Nampula* (HCN), and the phytochemical part was processed at the Ethnobotany and Phytochemistry Laboratory and the Center for Interdisciplinary Studies at Lúrio University (UniLúrio).

We observed four extracts obtained from ginger (*Zingiber officinale R.*) and saffron (*Curcuma longa L.*) rhizomes, being two oily extracts/essential oils and two hydroalcoholic extracts. In each hydroalcoholic extract, four different concentrations were obtained.

The species of the plants was identified by the Institute of Agricultural Research of Mozambique - Northeast Zonal Center, by analysing their macroscopic characteristics.

Foram observados 4 extratos obtidos de rizomas de gengibre (*Zingiber officinale R.*) e de açafrão (*Curcuma longa L.*), sendo 2 extratos oleosos/óleos essenciais e 2 extratos hidroalcoólicos. Em cada extrato hidroalcoólico foram obtidas 4 concentrações diferentes.

A identificação da espécie das plantas foi feita pelo Instituto de Investigação Agrária de Moçambique (IIAM) - Centro Zonal Nordeste, mediante a análise das características macroscópicas.

Foram colhidos rizomas frescos de gengibre e açafrão com cerca de 7 meses de idade cultivados no distrito de Rapale, no povoado de Namititari, cerca de 14km da Cidade Nampula. Os rizomas foram lavados com água corrente, cortados em fatias e colocados a secar numa estufa com circulação de ar por 40 horas, para perda de água até na ordem dos 10%.

A extração dos óleos essenciais foi feita pelo método de *Soxhlet*. A Tabela 1, mostra as características físicas e percentual de rendimento dos óleos essenciais de gengibre e de açafrão, após a extração.

Para a obtenção dos extratos hidroalcoólicos, foram usados rizomas secos de gengibre e açafrão, através da maceração em álcool etílico à 90%, na proporção de 1:4 durante 72 horas; seguida de filtragem do extrato e depois submetido ao evaporador rotativo para a eliminação e recuperação do solvente, durante 4 horas a uma temperatura de 50°C. Obtido o extrato seco bruto, este foi acondicionado em *ependorfs* com capacidade de 1mL, correspondente a 1g do extrato. Do volume total de extratos obtidos (3 e 5 mL de açafrão e gengibre respetivamente) foram feitas diluições com álcool etílico à 90% na proporção de C1= 1:1, C2= 1:2 e C3=1:3.

O isolamento e identificação de *Streptococcus pneumoniae* foi através duma amostra de Líquido Cefalorraquiano semeada em placas de ágar de sangue e ágar chocolate; para a identificação do microrganismo foi utilizado o teste de solubilidade à bílis; e para realização da sorotipagem, foi utilizada a técnica de Neufeld Quellung (Habib et al., 2014).

Para o isolamento da *Klebsiella pneumoniae*, foi tomada uma amostra de urina, levou-se uma porção de amostra e cultivou-se em meio de *MacKonkey* e foi incubada na estufa a uma temperatura de 35 a 36,5 °C durante 24 horas na ausência de oxigénio (*Farmacopéia Brasileira 4a. ed parte II, sem data*). Algumas colónias do microrganismo foram submetidas a provas bioquímicas confirmação, na qual obteve-se como resultados um microrganismo fermentador da lactose e sacarose, Indole - negativo, Motilidade - negativo, Citrato e Ureia - positivo; que conjugados com as características das colónias e o achado pela coloração de Gram ao microscópio, confirmou tratar-se de *Klebsiella pneumoniae*.

Para o Teste de Sensibilidade ou Antibiograma, foi utilizado o método de *Kirby-Bauer*, com recurso a cultura pura recente de 24h. Nos discos virgens foram impregnados os extratos e depois colocados na superfície do Ágar de Sangue para *Streptococcus pneumoniae* e Ágar de *Muller-Hinton* para *Klebsiella pneumoniae*. Após 24 horas de incubação, fez-se a leitura dos resultados com base na medição do diâmetro dos halos de inibição com recurso a um parquímetro. A concentração mínima inibitória foi considerada aquela que se situou entre a concentração que não foi capaz de inibir o crescimento bacteriano e aquela que iniciou a formação do halo mínimo.

Fresh rhizomes of ginger and saffron, approximately 7 months old, were harvested from the Rapale district, in the Namititari neighbourhood, approximately 14 km from Nampula City. The rhizomes were washed with running water, cut into slices and dried in an air-circulated oven for 40 hours to lose up to 10 percent of the water.

The extraction of essential oils was done using the *Soxhlet* method. The table 1 shows the physical characteristics and percentage yield of ginger and saffron essential oils after extraction.

Dried rhizomes of ginger and saffron were used to obtain the hydroalcoholic extracts by macerating them in 90% ethyl alcohol in a ratio of 1:4 for 72 hours, then filtering the extract and submitting it to a rotary evaporator to eliminate and recover the solvent for 4 hours at a temperature of 50°C. Once the crude dry extract was obtained, it was stored in *ependorfs* with a capacity of 1 mL, corresponding to 1 g of the extract. From the total volume of extracts obtained (3 and 5 mL of saffron and ginger respectively) were diluted with 90% ethyl alcohol in the proportion of C1 = 1:1, C2 = 1:2 and C3 = 1:3.

Isolation and identification of *Streptococcus pneumoniae* was through a cerebrospinal fluid sample seeded on blood agar and chocolate agar plates; the bile solubility test was used to identify the microorganism; and the Neufeld Quellung technique was used to perform serotyping (Habib et al., 2014).

To isolate *Klebsiella pneumoniae*, a urine sample was taken, a portion of the sample was cultured in *MacKonkey's* medium and incubated in the oven at a temperature of 35 to 36.5 °C for 24 hours in the absence of oxygen (*Farmacopéia Brasileira 4a. ed parte II, no date*). Some colonies of the microorganism were subjected to biochemical confirmation tests, which resulted in a lactose and sucrose fermenting microorganism, Indole - negative, Motility - negative, Citrate and Urea - positive; which, combined with the characteristics of the colonies and the finding by Gram staining under the microscope, confirmed that it was *Klebsiella pneumoniae*.

For the Sensitivity Test or Antibiogram, the *Kirby-Bauer* method was used, using a recent 24-hour pure culture. The extracts were impregnated onto the virgin discs and then placed on the surface of the Blood Agar for *Streptococcus pneumoniae* and Muller-Hinton Agar for *Klebsiella pneumoniae*. After 24 hours of incubation, the results were read based on the measurement of the diameter of the inhibition halos using a parking meter. The minimum inhibitory concentration was considered to be the one between the concentration that was unable to inhibit bacterial growth and the one that initiated the formation of the minimum halo.

Statistical analysis was performed using the *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS version 20.0). To evaluate the inhibitory effect of essential oils and hydroalcoholic extracts against *Streptococcus pneumoniae* and *Klebsiella pneumoniae*, the experimental data were subjected to the *Shapiro-Wilk* normality test ($n < 50$), the results of which revealed that they did not obey the normal distribution rule with $P_{value} = 0,01 (< 0,05)$. The means and respective deviations were determined for each concentration. The means were then compared to verify whether there was a statistically significant difference between the groups. The *Mann-Whitney* test was used, and *Spearman's*

A análise estatística foi feita com o auxílio do Software estatístico *Statistical Package for Social Sciences (SPSS versão 20.0)*. Para a avaliação do efeito inibitório dos óleos essenciais assim como dos extratos hidroalcoólicos contra *Streptococcus pneumoniae* e *Klebsiella pneumoniae*, os dados experimentais foram submetidos ao teste de normalidade de *Shapiro-Wilk* ($n < 50$), cujo resultado revelou que os mesmos não obedecem a regra de distribuição normal com $P_{value} = 0,01 (< 0,05)$. Foram determinadas as médias e os respetivos desvios para cada concentração. Posteriormente fez-se a comparação das médias para verificar se existe uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos, para tal foi utilizado o Teste de *Mann-Whitney*, e coeficiente de correlação de *Spearman* para verificar o comportamento dos halos de inibição em função das concentrações ou diluições. Todos os testes foram aplicados num intervalo de confiança de 95% com o nível de significância de 5%.

correlation coefficient was used to check the behaviour of the inhibition zones as a function of concentrations or dilutions. All tests were applied within a 95% confidence interval with a significance level of 5%.

Tabela/Table 1: Características físicas e percentual de rendimento dos óleos essenciais de gengibre e de açafrão/Physical characteristics and percentage yield of ginger and saffron essential oils.

Parâmetros/Parameters	Gengibre/Ginger	Óleos essenciais/Essential oils
		Açafrão/Saffron
Cor/Color Aspetto/Appearance Densidade/Density Rendimento/Yield	Amarelo pálido/Pale Yellow Transparente/Transparent 0,78 g/cm ³ 0,234%	Amarelo/Yellow Transparente/Transparent 0,89 g/cm ³ 0,2967%

3. RESULTADOS

No estudo testou-se a sensibilidade dos microrganismos perante os óleos essenciais e extratos hidroalcoólicos de ambas plantas, apurou-se a concentração mínima inibitória dos extratos hidroalcoólicos frente aos dois microrganismos e comparou-se as médias dos diâmetros dos halos de inibição dos óleos essenciais frente à cada microrganismo.

O antibiograma mostrou que as concentrações bruta, 1, 2 e 3 do extrato hidroalcoólico de Gengibre tem halos de inibição de 8.67, 7.33, 7.00 e 0.00mm para *Streptococcus pneumoniae* e 6.00, 5.33, 0.00 e 0.00 para *Klebsiella pneumoniae*, respetivamente. Nas mesmas concentrações, o açafrão mostrou halos de 15.33, 11.00, 8.67 e 7.67 contra *Streptococcus pneumoniae*; 9.67, 9.33, 8.00 e 7.33 contra *Klebsiella pneumoniae*, conforme mostrado na Tabela 2 (Médias e desvios padrão dos diâmetros dos halos de inibição criados pelos extratos hidroalcoólicos de gengibre e açafrão). Portanto, o extrato hidroalcoólico de açafrão mostrou uma eficácia superior que o de gengibre, em ambos os microrganismos. Foi usada a Clindamicina e Imipenem como controlo positivo para o *Streptococcus pneumoniae* e *Klebsiella pneumoniae* respetivamente, e como controlo negativo, foi usado álcool etílico à 90% para ambos os microrganismos.

3. RESULTS

The study tested the sensitivity of microorganisms to essential oils and hydroalcoholic extracts of both plants, determined the minimum inhibitory concentration of hydroalcoholic extracts against both microorganisms and compared the mean diameters of inhibition halos of the essential oils against each microorganism.

The antibiogram showed that the crude, 1, 2 and 3 concentrations of the hydroalcoholic extract of Ginger have inhibition halos of 8.67, 7.33, 7.00 and 0.00 mm for *Streptococcus pneumoniae* and 6.00, 5.33, 0.00 and 0.00 for *Klebsiella pneumoniae*, respectively. At the same concentrations, saffron showed halos of 15.33, 11.00, 8.67 and 7.67 against *Streptococcus pneumoniae*; 9.67, 9.33, 8.00 and 7.33 against *Klebsiella pneumoniae*, like as shown in Table 2 (Means and standard deviations of the diameters of the inhibition halos created by the hydroalcoholic extracts of ginger and saffron). The hydroalcoholic extract of saffron showed greater efficacy than that of ginger on both microorganisms. Clindamycin and Imipenem were used as positive controls for *Streptococcus pneumoniae* and *Klebsiella pneumoniae* respectively, and 90% ethyl alcohol was used as negative controls for both microorganisms.

Tabela/Table 2: Médias e desvios padrão dos diâmetros dos halos de inibição (em mm) criados pelos extratos hidroalcoólicos de gengibre e açafrão contra *Streptococcus pneumoniae* e *Klebsiella pneumoniae*/Means and standard deviations of the diameters of the inhibition zones (in mm) created by the hydroalcoholic extracts of ginger and saffron against *Streptococcus pneumoniae* and *Klebsiella pneumoniae*.

Planta/Plant	Concentração/Concentration (mg/mL)	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Gengibre/Ginger	Bruto/ (1000)	8.67±0.577	6.00±1.000
	1:1 (500)	7.33±0.577	5.33±0.577
	1:2 (250)	7.00±1.000	0.00±0.000
	1:3 (125)	0.00±0.000	0.00±0.000
	C ⁺	23.33±1.155	20.00±1.000
	C ⁻	0.00±0.000	0.00±0.000
Açafrão/Saffron	Bruto/ (1000)	15.33±1.155	9.67±0.577
	1:1 (500)	11.00±1.000	9.33±0.577
	1:2 (250)	8.67±0.577	8.00±1.000
	1:3 (125)	7.67±0.577	7.33±0.577
	C ⁺	15.33±1.159	19.33±1.155
	C ⁻	0.00±0.000	0.00±0.000

Legenda/Legend: C⁺ = Controlo positivo; C⁻ = Controlo negativo/C⁺ = Positive controle; C⁻ = Negative controle.

Na avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais, gengibre apresentou halo de inibição de 10.67mm frente a *Streptococcus pneumoniae* e 0.67mm contra *Klebsiella pneumoniae*, enquanto que o açafrão mostrou halos de 13mm contra *Streptococcus pneumoniae* e 1,00 mm frente a *Klebsiella pneumoniae*, como pode-se ver na Tabela 3 (Médias e desvios dos diâmetros dos halos de inibição criados pelos óleos essenciais de gengibre e açafrão contra os microorganismos). A Clindamicina e o Imipenem serviram para o controlo positivo em ambos microorganismos e não foi envolvido nenhum controlo negativo, por não ser diluídos os óleos essenciais. De acordo a estes resultados, observou-se que os óleos são pouco eficazes frente a bactérias Gram negativas.

A concentração mínima inibitória do extrato hidroalcoólico do gengibre, situou-se entre 125 e 250mg/mL frente à *Streptococcus pneumoniae*, e em torno dos 250 a 500mg/mL para *Klebsiella pneumoniae*, conforme a Tabela 4 (Concentração mínima inibitória dos extratos hidroalcoólicos de gengibre e açafrão). Para o extrato de açafrão, a concentração mínima inibitória situou-se abaixo dos 125mg/mL em ambos os microrganismos, revelando uma potencial atividade antibacteriana superior, comparativamente ao gengibre.

In the evaluation of the antimicrobial activity of the essential oils, ginger showed an inhibition halo of 10.67 mm against *Streptococcus pneumoniae* and 0.67 mm against *Klebsiella pneumoniae*, while saffron showed halos of 13 mm against *Streptococcus pneumoniae* and 1.00 mm against *Klebsiella pneumoniae*, as can be seen in Table 3 (Means and deviations of the diameters of the inhibition zones created by the essential oils of ginger and saffron against the microorganisms). Clindamycin and Imipenem served as positive controls for both microorganisms and no negative controls were used, as the essential oils were not diluted. According to these results, it was observed that the oils are not very effective against Gram negative bacteria.

The minimum inhibitory concentration of the hydroalcoholic extract of ginger was between 125 and 250mg/mL against *Streptococcus pneumoniae*, and around 250 to 500mg/mL for *Klebsiella pneumoniae*, as shown in Table 4 (Minimum inhibitory concentration of the hydroalcoholic extracts of ginger and saffron). For the saffron extract, the minimum inhibitory concentration was below 125mg/mL for both microorganisms, revealing a higher potential antibacterial activity compared to ginger.

Tabela/Table 3: Médias e desvios dos diâmetros dos halos de inibição (em mm) criados pelos óleos essenciais de gengibre e açafrão contra *Streptococcus pneumoniae* e *Klebsiella pneumoniae*/Means and deviations of the diameters of the inhibition zones (in mm) created by ginger and saffron essential oils against *Streptococcus pneumoniae* and *Klebsiella pneumoniae*.

Microrganismo/Microorganism	Planta/Plant	Óleos essenciais/Essential oils	Controlo Positivo/Positive Control
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Gengibre/Ginger	10.67±0.577	22.00±1.00
	Açafrão/Saffron	13.00±1.732	21.00±1.00
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Gengibre/Ginger	0.67±0.57	19.00±1.00
	Açafrão/Saffron	1.00±1.00	20.33±1.15

Tabela/Table 4: Concentração mínima inibitória dos extratos hidroalcoólicos de gengibre e açafrão em *Streptococcus pneumoniae* e *Klebsiella pneumoniae*/Minimum inhibitory concentration of hydroalcoholic extracts of ginger and saffron on *Streptococcus pneumoniae* and *Klebsiella pneumoniae*.

Planta/Plant	Concentração mínima inibitória (CMI)/Minimum inhibitory concentration (MIC)	
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Gengibre/Ginger	Entre 125 a 250 mg/mL/ Between 125 to 250 mg/mL	Entre 250 a 500 mg/mL/ Between 250 to 500 mg/mL
Açafrão/Saffron	Abaixo de 125mg/mL/ Below 125 mg/mL	Abaixo de 125 mg/mL/ Below 125 mg/mL

A Tabela 5 apresenta os resultados do Teste de *Mann-Whitney* mostrando as diferenças entre os grupos (extratos de gengibre vs açafrão) frente aos dois microrganismos. Os resultados revelam que existe uma diferença estatisticamente significativa entre o extrato hidroalcoólico de gengibre e de açafrão nas concentrações bruta e 1:1 para o *Streptococcus pneumoniae*, e nenhuma diferença nas concentrações 1:2 e 1:3. E frente a *Klebsiella pneumoniae*, há uma diferença estatisticamente significativa entre o gengibre e o açafrão, apenas na concentração bruta (não havendo obviamente nas concentrações 1:1, 1:2 e 1:3). Isto reforça os achados sobre maior eficácia do extrato hidroalcoólico de açafrão que gengibre em *S. pneumoniae* e seguidamente na *K. pneumoniae*.

Finalmente, a Tabela 6 apresenta resultados do Teste de *Mann-Whitney* mostrando as diferenças entre os grupos (óleos essenciais de gengibre vs açafrão) frente aos dois microrganismos. Quando comparadas as médias dos grupos frente à *Streptococcus pneumoniae*, os resultados mostraram que há uma diferença estatisticamente significativa entre eles, e como dito anteriormente, o açafrão foi mais eficaz comparativamente ao gengibre. Ao passo que, frente à *Klebsiella pneumoniae*, não há uma diferença estatisticamente significativa.

The Table 5 presents the results of the Mann-Whitney test showing the differences between the groups (ginger vs saffron extracts) against the two microorganisms. The results reveal that there is a statistically significant difference between the hydroalcoholic extract of ginger and saffron in the crude and 1:1 concentration for *Streptococcus pneumoniae*, and no difference in the 1:2 and 1:3 concentrations. As for *Klebsiella pneumoniae*, there was a statistically significant difference between ginger and saffron only in the crude concentration (there was no obvious difference in the 1:1, 1:2 and 1:3 concentrations). This reinforces the findings on the greater efficacy of the hydroalcoholic extract of saffron than ginger in *S. pneumoniae* and subsequently in *K. pneumoniae*.

Finally, the Table 6 presents results of Mann-Whitney test showing the differences between the groups (ginger and saffron essential oils) against the two microorganisms. When comparing the means of the groups against *Streptococcus pneumoniae*, the results showed that there was a statistically significant difference between them, and as previously mentioned, saffron was more effective compared to ginger. However, there was no statistically significant difference when it came to *Klebsiella pneumoniae*.

Tabela/Table 5: Resultados do Teste de *Mann-Whitney* mostrando as diferenças entre os grupos (extratos de gengibre vs açafrão) frente aos dois microrganismos com um nível de significância de 5%/Results of the Mann-Whitney test showing the differences between the groups (ginger and saffron extracts) against both microorganisms with a significance level of 5%.

Test Statistics (Extratos hidroalcoólicos/Hydroalcoholic extracts)					
Microrganismo/ Microorganism	Teste/Test - Mann-Whitney U	Extrato Bruto/ Extract Crude	0 1_1	0 1_2	0 1_3
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Asymp. Sig. (2-tailed)	.046	.043	0.37	1.000
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Asymp. Sig. (2-tailed)	.043	.072	.346	.456

Tabela/Table 6: Resultados do Teste de *Mann-Whitney* mostrando as diferenças entre os grupos (óleos essenciais de gengibre vs açafrão) frente aos dois microrganismos com um nível de significância de 5%/Results of the Mann-Whitney test showing the differences between the groups (ginger and saffron essential oils) against both microorganisms with a significance level of 5%.

Test Statistics (Óleos essenciais/Essential oils)		
Mann-Whitney U	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Asymp. Sig. (2-tailed)	.043	.637

4. DISCUSSÃO

Como observou-se na Tabela 2, o extrato hidroalcoólico de açafrão mostrou uma ligeira efetividade superior que o de gengibre, em ambos os microrganismos.

Em relação ao extrato hidroalcoólico de gengibre, vários estudos corroboram demonstrando a sua eficácia. Um estudo da Turquia em 2020 demonstrou que este extrato é eficaz contra cepas de *Klebsiella pneumoniae* (Mutlu-Ingok et al., 2020). Resultados similares também foram encontrados no ano de 2018 em Riyadh, onde avaliou-se o potencial inibitório do extrato hidroalcoólico de gengibre frente à *Klebsiella pneumoniae*, pelo método de *Kirb-Bauer*, onde inibiu o crescimento formando 11mm de diâmetro de halo de inibição (Abdalla & Abdallah, 2018). Em 2021 na Nigéria, uma pesquisa que usou o método de difusão em disco envolvendo o gengibre, mostrou uma forte

4. DISCUSSION

As can be seen in Table 2, the hydroalcoholic extract of saffron was slightly more effective than ginger in both microorganisms.

Regarding the hydroalcoholic extract of ginger, several studies corroborate its effectiveness. A study from Turkey in 2020 demonstrated that this extract is effective against strains of *Klebsiella pneumoniae* (Mutlu-Ingok et al., 2020). Similar results were also found in 2018 in Riyadh, where the inhibitory potential of the hydroalcoholic extract of ginger against *Klebsiella pneumoniae* was evaluated, using the *Kirb-Bauer* method, where it inhibited growth, forming an 11mm diameter inhibition halo (Abdalla & Abdallah, 2018). In 2021 in Nigeria, research using the disk diffusion method involving ginger showed strong inhibitory activity against *Streptococcus*

atividade inibitória contra *Streptococcus pneumoniae* (Ahmad et al., 2021).

O extrato hidroalcoólico de açafrão mostrou ser parcialmente ativo frente à *Klebsiella pneumoniae*, nas suas concentrações máxima e 500mg/mL, com halos de inibição de $9,67 \pm 0,577$ e $9,33 \pm 0,577$ mm respectivamente. Estes resultados denotam pouca atividade do extrato contra esta bactéria gram-negativa. Estudos similares divergem com este, como caso do estudo realizado em 2020 na Polónia, que observou o efeito inibitório do açafrão frente a *Klebsiella pneumoniae*, quando o seu extrato hidroalcoólico inibiu o crescimento deste microrganismo com um halo de 20mm de diâmetro (Adamczak et al., 2020). Resultados do potencial antibacteriano do açafrão frente à *Klebsiella pneumoniae*, também foram demonstrados em 2020 na Índia, onde o extrato hidroalcoólico inibiu o crescimento em torno dos 32mm de diâmetro de halo de inibição (Yadav et al., 2020).

Em função a atividade de açafrão contra *Streptococcus pneumoniae*, os resultados obtidos nesta pesquisa mostram que o extrato hidroalcoólico na sua concentração máxima foi ativo, com um halo de inibição de 15.33 ± 1.155 mm, e parcialmente ativo na concentração de 500mg/mL com um halo de inibição de 11.00 ± 1.000 mm, contra o mesmo microrganismo. As literaturas referem que, para extratos vegetais cujo halo de inibição seja ≥ 17 mm ou mais deve ser considerado muito ativo, 14 à 17mm – ativo, 9 à 14 – parcialmente ativo e < 9 – não ativo (Ayles et al. 2008).

Segundo os resultados da atividade de óleos essenciais (Tabela 3), gengibre e açafrão mostram-se pouco ativos contra *Streptococcus pneumoniae* e quase nenhuma atividade contra *Klebsiella pneumoniae*. Há também pesquisas que corroboram com este achado, por exemplo, uma determinação microbiológica através do método de concentração mínima inibitória com os óleos essenciais de gengibre, não obteve potencial inibitório contra *Klebsiella pneumoniae* (do Nascimento et al., 2017). Ao analisar estes resultados, é possível observar que os óleos não são eficazes frente a bactérias Gram-negativas como acontece nas Gram-positivas. As bactérias Gram⁺ são mais suscetíveis aos óleos essenciais que as Gram⁻, devido a existência de uma membrana exterior na parede celular destas últimas, impedindo a completa difusão de compostos hidrofóbicos (Cerri & Esmerino, 2022; Di Fonzo, 2024; do Nascimento et al., 2017; Norinho, 2023). Fato comprovado nesta pesquisa, pois sobre a *Klebsiella pneumoniae*, há menores halos de inibição comparativamente à *Streptococcus pneumoniae*.

Resultados semelhantes a este estudo, também foram achados em 2019 no Irão, avaliando o efeito antibacteriano do gengibre pelo método de difusão em disco, e o seu óleo essencial foi capaz de inibir o crescimento de *Streptococcus pneumoniae* (Mahboubi 2019).

5. CONCLUSÕES

Os extratos hidroalcoólicos de gengibre e açafrão, possuem atividade antimicrobiana frente à *Streptococcus pneumoniae* e *Klebsiella pneumoniae*, sendo a concentração mínima inibitória de açafrão superior que a do gengibre em ambos os microrganismos. Portanto, há uma diferença estatisticamente significativa entre a atividade antimicrobiana dos extratos

pneumoniae (Ahmad et al., 2021).

The hydroalcoholic extract of saffron proved to be partially active against *Klebsiella pneumoniae*, at its maximum concentrations and 500mg/mL, with inhibition halos of 9.67 ± 0.577 and 9.33 ± 0.577 mm, respectively. These results show little activity of the extract against these gram-negative bacteria. Similar studies disagree with this one, such as the study carried out in 2020 in Poland, which observed the inhibitory effect of saffron against *Klebsiella pneumoniae*, when its hydroalcoholic extract inhibited the growth of this microorganism with a halo of 20mm in diameter (Adamczak et al., 2020). Results of the antibacterial potential of saffron against *Klebsiella pneumoniae* were also demonstrated in 2020 in India, where the hydroalcoholic extract inhibited growth around 32mm in diameter of inhibition halo (Yadav et al., 2020).

Regarding the activity of saffron against *Streptococcus pneumoniae*, the results obtained in this research show that the hydroalcoholic extract at its maximum concentration was active, with an inhibition halo of 15.33 ± 1.155 mm, and partially active at a concentration of 500mg/mL with an inhibition halo of 11.00 ± 1.000 mm, against the same microorganism. The literature reports that, for plant extracts whose inhibition halo is ≥ 17 mm or more, it should be considered very active, 14 to 17mm – active, 9 to 14 – partially active and < 9 – not active (Ayles et al. 2008).

According to the results of the activity of essential oils (Table 3), ginger and saffron showed little activity against *Streptococcus pneumoniae* and almost no activity against *Klebsiella pneumoniae*. There is also research that corroborates this finding, for example, a microbiological determination through the minimum inhibitory concentration method with ginger essential oils did not obtain inhibitory potential against *Klebsiella pneumoniae* (do Nascimento et al., 2017). When analysing these results, it can be seen that the oils are not effective against Gram-negative bacteria as they are against Gram-positive bacteria. The Gram-negative bacteria are little susceptible to essential oils than Gram-positive, due to the existence of an outer membrane in the cell wall of these microorganisms, preventing the complete diffusion of hydrophobic compounds (Cerri & Esmerino, 2022; Di Fonzo, 2024; do Nascimento et al., 2017; Norinho, 2023). This was proven in this research, because there are smaller inhibition halos on *Klebsiella pneumoniae*, compared to *Streptococcus pneumoniae*.

Similar results to this study were also found in 2019 in Iran, evaluating the antibacterial effect of ginger by the disc diffusion method, and its essential oil was able to inhibit the growth of *Streptococcus pneumoniae* (Mahboubi 2019).

5. CONCLUSION

The hydroalcoholic extracts of ginger and saffron have antimicrobial activity against *Streptococcus pneumoniae* and *Klebsiella pneumoniae*, with the minimum inhibitory concentration of saffron being higher than that of ginger in both microorganisms. Therefore, there is a statistically significant difference between the antimicrobial activity of the hydroalcoholic extracts on both microorganisms, with saffron being the most effective. In turn, the oils of both plants tend

hidroalcoólicos, em ambos os microrganismos, sendo o açafraão, o mais eficaz. Por sua vez, os óleos de ambas plantas tendem a ser parcialmente ativos contra *Streptococcus pneumoniae* e não são ativos contra *Klebsiella pneumoniae*.

CONFLITO DE INTERESSES

Não há conflitos de conflitos de interesse por declarar.

AGRADECIMENTOS

Aos senhores Neivaldo Murrube e Victor Nicobué (Curso de Farmácia – UniLúrio) e Isidro Mazuze (Centro de Estudos Interdisciplinares Lúrio – CEIL) pela compreensão e simpatia, tendo desempenhado um papel fundamental na fase de extração dos óleos essenciais e purificação dos extratos.

Aos senhores Ezequias Siteo e Izaquiel Anselmo, do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Central de Nampula, pelo suporte técnico na fase de ensaios microbiológicos.

CONTRIBUIÇÕES AUTORAIS

Eurico Airone – conceptualização, software, investigação, recursos, redação - preparação do draft original. Eurico Airone e Maricela Tamayo – curadoria de dados. Graciano Cumaquela – análise formal. Eurico Airone, Maricela Tamayo e Graciano Cumaquela – Metodologia, redação - revisão e edição, visualização. Maricela Tamayo e Graciano Cumaquela – validação e supervisão. Todos os autores leram e concordaram com a versão publicada do manuscrito.

FONTES DE FINANCIAMENTO

O trabalho não foi suportado por nenhum subsídio ou bolsa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS/REFERENCES

- Abdalla, W E, & Abdallah, EM. Antibacterial activity of ginger (*Zingiber Officinale* Rosc.) rhizome: A mini review. *Int. J. Pharmacogn. Chin. Med* **2**, 2018.
- Adamczak, A, Ożarowski, M, & Karpiński, TM. Curcumin, a natural antimicrobial agent with strain-specific activity. *Pharmaceuticals* **13**, 2020.
- Ahmad, MH, Muhammad, AU, Dalhat, AD, & Salauddin, MA. Nigerian Medicinal Plants with Potential Antibacterial Property: A Review. *J Phytopharmacol* **10**: 26–34, 2021.
- Ayres, MC, Brandão, MS, Vieira-Júnior, GM, Menor, JCA, Silva, HB, Soares, MJS, & Chaves, MH. Atividade antibacteriana de plantas úteis e constituintes químicos da raiz de *Copernicia prunifera*. *Revista Brasileira de farmacognosia* **18**: 90–97, 2008.
- Bartoletti, R, Cai, T, Wagenlehner, FM, Naber, K, & Johansen, TEB. Treatment of urinary tract infections and antibiotic stewardship. *European Urology Supplements* **15**: 81–87, 2016.
- Cerri, AC, & Esmerino, LA. Atividade antimicrobiana e efeito antibiofilme de óleos essenciais: Um estudo comparativo: Antimicrobial activity and antibiofilm effect of essential oils: A comparative study. *Brazilian Journal of Development*, **8**: 73850–73863, 2022.
- Corrêa, RA, Costa, AN, Lundgren, F, Michelin, L, Figueiredo, MR, Holanda, M, Gomes, M, Teixeira, PJZ, Martins, R, & Silva, R. Recomendações para o manejo da pneumonia adquirida na comunidade 2018. *Jornal Brasileiro de Pneumologia* **44**: 405–423, 2018.
- Cutrim, E, Teles, A, Mouchrek, A, Mouchrek-Filho, V, & Everton, G. Avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante dos óleos essenciais e extratos hidroalcoólicos de *Zingiber officinale* (Gengibre) e *Rosmarinus officinalis* (Alecrim). *Revista Virtual de Química* **11**: 60–81, 2019.
- da Silva Ramos, R, de Albuquerque Sarmiento, P, Lins, TH, Lúcio, IML, Conserva, LM, & de Assis Bastos, ML. Atividade antimicrobiana in vitro dos extratos hexânico e etanólico das folhas de *Zeyheria tuberculosa*. *Revista da Rede de Enfermagem do Nordeste* **13**: 1015–1024, 2012.
- Di-Fonzo, IA. Estudo dos efeitos antimicrobianos e antioxidantes de óleos essenciais aplicados contra patógenos alimentícios. 2024.
- do Nascimento, NL, Lopes, PS, & Queiroz, PRM. EXTRATOS VEGETAIS COM CAPACIDADE DE INIBIÇÃO DE BIOFILME MICROBIANO. *Programa de Iniciação Científica-PIC/UniCEUB-Relatórios de Pesquisa* **3**, 2017.
- Instituto Nacional de Estatística. Mortalidade em Moçambique: Inquérito nacional sobre causas de mortalidade, 2007/8: relatório preliminar. Mozambique, 2009.
- Farmacopéia Brasileira 4a. Ed parte II. Disponível em https://fitoterapiabrasil.com.br/sites/default/files/documentos-oficiais/farmacopeia_brasileira_4a_edicao_part2-considerar_este.pdf. Consultado em 18-09-2023.
- Ferrão, JEM, & Liberato, MC. Dicionário de plantas medicinais. 2015.
- Fontelles, MJ, Simões, MG, & Farias, SH. METODOLOGIA DA PESQUISA CIENTÍFICA: DIRETRIZES PARA A ELABORAÇÃO DE UM PROTOCOLO DE PESQUISA. 2009.
- Habib, M, Porter, BD, & Satzke, C. Capsular serotyping of *Streptococcus pneumoniae* using the Quellung reaction. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*

to be partially active against *Streptococcus pneumoniae* and are not active against *Klebsiella pneumoniae*.

CONFLICT OF INTEREST

There are no conflicts of interest to declare.

ACKNOWLEDGEMENTS

To Mr. Neivaldo Murrube and Mr. Victor Nicobué (Pharmacy Course – UniLúrio) and Isidro Mazuze (Center for Interdisciplinary Studies of the Lúrio University) for their understanding and friendliness, having played a fundamental role in the essential oil extraction and purification phases.

To Mr. Ezequias Siteo and Mr. Izaquiel Anselmo, from the Clinical Analysis Laboratory of the *Hospital Central de Nampula*, for their technical support in the microbiological testing phase.

AUTHORS' CONTRIBUTIONS

Eurico Airone – conceptualization, software, investigation, resources, writing-original draft preparation. Eurico Airone and Maricela Tamayo – data curation. Graciano Cumaquela – formal analysis. Eurico Airone, Maricela Tamayo and Graciano Cumaquela – Methodology, writing-review & editing, visualization. Maricela Tamayo and Graciano Cumaquela – validation and supervision. All authors read and agreed to the published version of the manuscript.

SOURCES OF FUNDING

The work was not supported by any grant or scholarship.

84: e51208, 2014.

Júnior, AAA. Plantas Medicinais na Terapêutica Humana. Editora UFV, Viçosa, 2020.

Lemos, MNC, Silva, PM, & Aragão, JPA. Produção de gengibre (*Zingiber officinale Roscoe*) cristalizado e avaliações de propriedades físico-químicas e microbiológicas. 2021.

Mahboubi, M. *Zingiber officinale Rosc.* Essential oil, a review on its composition and bioactivity. *Clinical Phytoscience* **5**: 1–12, 2019.

Martelli, A, & Carvalho, L. Percepção dos moradores do distrito de Eleutério, município de Itapira-SP, acerca da utilização de plantas medicinais. *Arch Health Invest* **8**: 79–84, 2019.

Mitano, F, Ventura, CAA, Lima, MCRAA, Balegamire, JB, & Palha, PF. Derecho a la salud:(in) congruencia entre la estructura jurídica y el sistema de salud. *Revista Latino-Americana de Enfermagem* **24**, 2016.

Mutlu-Ingok, A, Devecioglu, D, Dikmetas, DN, Karbancioglu-Guler, F, & Capanoglu, E. Antibacterial, antifungal, antimycotoxigenic, and antioxidant activities of essential oils: An updated review. *Molecules* **25**, 2020.

Norinho, LGI. Avaliação dos óleos essenciais da flor e da folha da *Acacia dealbata* como potenciais conservantes alimentares: Estudo preliminar. 2023.

Oliveira, R, & Aires, T. Resistência aos Antibacterianos: Resistance to Antibacterials. *Gazeta médica*. 2016.

Pota, O. Moçambique promove acesso e cuidados no Dia Mundial da Pneumonia | As Nações Unidas em Moçambique. Disponível em <https://mozambique.un.org/pt/207307-mo%C3%A7ambique-promove-acesso-e-cuidados-no-dia-mundial-da-pneumonia>, <https://mozambique.un.org/pt/207307-mo%C3%A7ambique-promove-acesso-e-cuidados-no-dia-mundial-da-pneumonia>. consultado em 18-09-2023, 2022.

Ramirez, AI. Estudo de intervenção sobre infecções respiratórias em crianças menores de cinco anos na Equipe de Saúde Asplanas, Joaquim Gomes, Alagoas. 2018.

Saavedra, MJ, & Sousa, JC. O Ensino da Antibioterapia: Estado da arte. *História da Ciência e Ensino: construindo interfaces* **20**: 632–637, 2019.

Sigauque, B, Sevene, E, Manjate, A, Modi, B, Macuamule, C, & Namburete, E. ANÁLISE SITUACIONAL E RECOMENDAÇÕES: Uso e Resistência aos Antibióticos em Moçambique. 2012.

Teles, AM, Rosa, TDS, Mouchrek, AN, Abreu-Silva, AL, Calabrese, KS, & Almeida-Souza, F. Cinnamomum zeylanicum, Origanum vulgare, and Curcuma longa essential oils: Chemical composition, antimicrobial and antileishmanial activity. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019.

Tortora, GJ, Funke, BR, & Case, CL. Microbiologia. 10a edição, Porto Alegre, 2012.

Xu, H, Wang, X, Yu, X, Zhang, J, Guo, L, Huang, C, Jiang, X, Li, X, Feng, Y, & Zheng, B. First detection and genomics analysis of KPC-2-producing *Citrobacter* isolates from river sediments. *Environmental Pollution* **235**: 931–937, 2018.

Yadav, S, Singh, AK, Agrahari, AK, Sharma, K, Singh, AS, Gupta, MK, Tiwari, VK, & Prakash, P. Making of water soluble curcumin to potentiate conventional antimicrobials by inducing apoptosis-like phenomena among drug-resistant bacteria. *Scientific reports* **10**, 2020.