

ANÁLISE DA ATIVIDADE INIBITÓRIA DE EXTRATOS AQUOSOS DE *CITRUS AURANTIFOLIA* SOBRE *CANDIDA ALBICANS*

**Karen Cristine Santos Galvão, Mariella Vieira Pereira Leão, Célia Regina
Gonçalves e Silva, Silvana Soléo Ferreira dos Santos**

Universidade de Taubaté, Campus Bom Conselho, Laboratório de Microbiologia, Av.
Tiradentes, 500 - Centro - Taubaté - SP - CEP: 12030-180
karencristine13@gmail.com

Resumo - *Citrus aurantifolia*, conhecida popularmente por Lima da Pérsia, vem sendo usada medicinalmente. Com o aumento da seleção de microrganismos resistentes, cresce o interesse por novas substâncias com atividade antimicrobiana. O objetivo deste trabalho foi analisar a atividade inibitória de extratos aquosos de *Citrus aurantifolia* sobre *Candida albicans*. Foram preparados extratos do carpo, bagaço e casca de *Citrus aurantifolia* in natura. A atividade inibitória em diferentes concentrações foi avaliada pelo método de diluição em ágar Müller-Hinton. Após reativação, cada cepa de *C. albicans* foi suspendida em solução salina esterilizada (10^6 cels/mL) e semeada, com o auxílio de um replicador de Steers, nos meios previamente preparados. Depois de incubadas a 37 °C por 24 h, a leitura foi realizada observando-se a presença ou ausência de crescimento no meio. Não houve inibição em nenhuma das concentrações. Os extratos aquosos de *Citrus aurantifolia* não demonstraram potencial inibitório sobre *C. albicans*.

Palavras-chave: *Citrus aurantifolia*, lima da pérsia, antimicrobiano

Área do Conhecimento: Ciências Biológicas - Microbiologia

Introdução

Citrus aurantifolia, conhecida popularmente por Lima da Pérsia, vem sendo usada como anti-espasmódico, anticoagulante, auxiliar no tratamento de depressão e alcoolismo, entre outros (TAIWO et al. 2007). É utilizada em especial no sul da África, onde substitui medicamentos tradicionais para diversas doenças, como dor de estômago e problemas de pele. O suco tem alto potencial para o tratamento de doenças infecciosas quando utilizado sozinho ou em combinação com outras plantas (AIBINU et al., 2007).

A ocorrência de leveduras do gênero *Candida* pode ser observada na microbiota residente humana. *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. kefyr*, *C. glabrata* e *C. parapsilosis*, podem ser isoladas das superfícies mucosas sadias da cavidade bucal, vagina, trato gastrointestinal e região retal. Até 80% dos indivíduos podem exibir colonização desses locais na ausência de doença. Quando estes fungos tornam-se patogênicos, ao se aproveitarem da condição debilitada do hospedeiro, são usualmente denominados fungos oportunistas. Nestas circunstâncias podem produzir invasão da corrente sanguínea, trombo flebite, endocardite, infecções oculares e em praticamente qualquer órgão ou tecido quando introduzida por via intravenosa (Bassetti et al., 2006; Capoor et al, 2005; Laupland et al.,

2005). *C. albicans* é considerada a espécie do gênero *Candida* mais freqüentemente isolada e que apresenta mais fatores de virulência (Grimoud et al., 2003; Figueiredo et al. 2001; Jorge et al., 1997; Zöllner & Jorge, 2003). O objetivo deste trabalho foi analisar a atividade inibitória do suco *in natura* de *Citrus aurantifolia* sobre *Candida albicans*.

Material e métodos

Frutos de *Citrus aurantifolia* (lima da Pérsia) foram colhidos em uma fazenda de Natividade da Serra – SP e processados no laboratório de Microbiologia da UNITAU.

Preparo dos extratos:

Três quilos de *Citrus aurantifolia* foram lavados em água corrente com auxílio de escova, higienizadas em solução de hipoclorito de sódio (200 ppm) por 15 minutos e enxaguadas em água corrente para a remoção de resíduos do hipoclorito.

Depois de higienizados, os frutos foram descascados com uma faca esterilizada e a casca separada em Becker esterilizado.

Dois quilos do fruto descascado tiveram seus grumos cortados ao meio, para separação do carpo e bagaço que foram reservados em Becker esterilizado, um quilo do bagaço e da casca foi seco em estufa a 45 °C por cinco dias e o restante

congelado. A polpa e o suco foram congelados até o preparo dos extratos.

Extrato aquoso:

Para cada parte retirada do fruto, 50g foram misturadas a 250 mL de água destilada, que foi então esterilizada em autoclave por 15 min. a 121°C. Cada extrato foi agitado por 3 min. durante 3 dias e mantidos sobre refrigeração.

Preparo dos meios adicionados de extrato:

Após esse período, a tubos de ensaio foi adicionado 0,76 g de agar Müller-Hinton, água destilada e extrato em quantidades suficientes para que, em 20 mL de meio pronto, atingisse concentrações de 20, 15, 10, 5, 2,5, 1 e 0,5% (Figura 1). Os meios, em tubos, tiveram o pH verificado e depois foram esterilizados em autoclave a 121°C por 15 minutos e então vertidos em placas de Petri. Todos os meios foram preparados em duplicata.

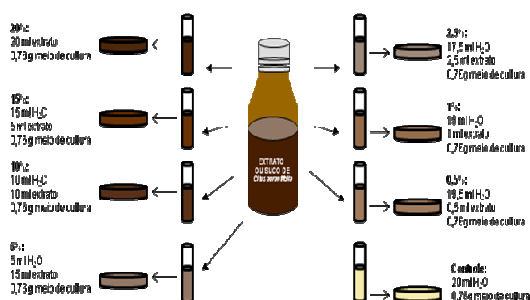


Figura 1 – Preparo dos meios de cultura adicionados de extratos de *Citrus aurantifolia* em diversas concentrações

Obtenção de colônias dos microrganismos:

Com 24 h de antecedência, 25 cepas de *C. albicans*, oriundas da coleção de culturas da Universidade de Taubaté (CCUT) e American Type Culture Collection (ATCC), foram reativadas em agar BHI.

Análise de atividade inibitória:

Após incubação por 24 h a 37 °C, para cada cepa foi preparada uma suspensão em 10 mL de solução salina (NaCl a 0,9%) esterilizada, compatível ao padrão 1 da escala de McFarland (10^6 céls/mL) para *C. albicans*.

Com auxílio de pipeta automática, as suspensões foram transferidas para um repicador de Steers para serem semeadas nas placas previamente preparadas.

Depois de incubadas a 37 °C por 24h, a leitura foi realizada observando-se a

presença ou ausência de crescimento no meio.

Resultados

Todos os meios contendo extrato e álcool controle não necessitaram de correção, pois apresentaram pH 7,0.

Os meios contendo extratos aquosos não inibiram as cepas de *C. albicans*.

Discussão

Johann et al. (2007) estudou três fungos fitopatogênicos (*Penicillium digitatum*, *Colletotrichum* spp. e *Curvularia* spp.) e duas espécies patogênicas para seres humanos (*Trichophyton mentagrophytes* e *Microsporum canis*), evidenciaram que extratos de hexano das cascas de *C. aurantifolia* possuem dois flavonóides polimetoxilados, que quando misturados, possuem capacidade de inibir esses fungos, porém a atividade é discreta em micro-diluições. No presente estudo as cepas da levedura de *C. albicans* não foram inibidas em extrato aquosos. Este resultado pode ter ocorrido pelo fato do extrato ser aquoso, portanto a água pode não ter extraído componentes com atividade antifúngica.

Conclusão

Extratos hidroalcoólicos de carpo, bagaço, casca e suco de *Citrus aurantifolia* não demonstraram potencial inibitório sobre *S. aureus*.

Agradecimentos

Programa de Iniciação Científica UNITAU, funcionários do laboratório de microbiologia.

Referências

AIBINU, I. et al. Evaluation of the antimicrobial properties of different parts of *Citrus aurantifolia* (lime fruit) as used locally. **African Journal of Traditional, Complimentary and Alternative Medicines**. v. 4, n.2, p. 185-195. 2007.

AMORIM, D.D. et al. Caracterização físico-química de lima-da-pérsia cultivada no leste de minas gerais. In **XX Congresso Brasileiro de Fruticultura**. Out. 2008.

BASSETTI, M. et al. Epidemiological trends in nosocomial candidemia in intensive care. **BMC Infect Dis**, v.10, n.6, p.6-21, 2006.

CAPOOR, M.R. et al. Emergence of non-albicans *Candida* species and antifungal resistance in tertiary care hospital. **Jpn J Infect Dis**, v.58, n.6, p.8-344, 2005.

FIGUEIREDO, R.L.Q. et al. Estudo microbiológico da prevalência de enterobactérias na cavidade bucal de pacientes HIV positivos e sua relação com o gênero *Candida*. **J Bras Clin Est Odontol**, v.5, n.26.

GRIMOUD, A.M. et al. Colonization of the oral cavity by *Candida* species: risk factors in long-term geriatric care. **J Oral Sci**, v.45, n.1, 2003.

JORGE, A.O.C. et al. Presença de leveduras do gênero *Candida* na saliva de pacientes com diferentes fatores predisponentes e de indivíduos controle. **Rev Odontol Univ**, São Paulo, v.11, n.4, p.85-279, 1997.

LAUPLAND, K.B. et al. Invasive *Candida* species infections: a 5 year population-based assessment. **J Antimicrob Chemother**, v.56, n.3, 2005.

TAIWO, S.S. et al. *In vitro* Antimicrobial Activity of Crude Extracts of *Citrus aurantifolia* Linn and *Tithonia diversifolia* Poaceae on Clinical Bacterial Isolates. **International Journal of Tropical Medicine**, v. 2, n. 4, p. 113-117. 2007.

ZÖLLNER, M.S.C, JORGE, A.O.C. *Candida* spp. occurrence in oral cavities of breastfeeding infants and their mother's mouths and breasts. **Braz Oral Res**, v.17, n.2, 2003.