

## ANÁLISE DA ATIVIDADE INIBITÓRIA DE EXTRATO HIDROALCOÓLICOS DE *CITRUS AURANTIFOLIA* SOBRE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

**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 hidroalcoólicos de *Citrus aurantifolia* sobre *Staphylococcus aureus*. 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 *S. aureus* foi suspensa em solução salina esterilizada (padrão 0,5 da escala de McFarland) 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. A concentração inibitória mínima para todos os extratos avaliados foi 5%. Os extratos hidroalcoólicos de *Citrus aurantifolia* demonstraram potencial inibitório sobre *S. aureus*.

**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).

Tavares (2000) relatou a resistência de estafilococos, em especial *Staphylococcus aureus*, aos antibióticos normalmente usados. Segundo Raddi et al. (1988) os manipuladores de alimentos, assim como a população em geral, é portadora do microrganismo, que está presente no couro cabeludo, pele e mucosas. Iaria (1980) e Siqueira (1995) relatam a ocorrência de inúmeras intoxicações por *S. aureus* enterotoxigênico. Apesar de ser considerado da microbiota residente da orofaringe humana, em indivíduos debilitados pode causar endocardite, artrite bacteriana e meningite. *S. aureus* pode

causar grande variedade de infecções como furúnculos, síndrome da pele queimada, pneumonia, osteomielite, amigdalite, enterocolite e infecções urogenitais, entre outras. Em engenharia de alimentos esta espécie apresenta grande importância por sua capacidade de causar intoxicações alimentares, pois produz potente enterotoxina. (Ueno e Jorge, 2006). O objetivo do presente trabalho foi analisar a atividade inibitória do suco e de extratos aquosos e hidroalcoólicos do carpo, bagaço e casca de *Citrus aurantifolia* sobre *Staphylococcus aureus*.

### 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 hidroalcoólico:

Para cada parte retirada do fruto, 50g foram misturadas, em frasco âmbar esterilizado, a 250 ml de álcool etílico 80% e agitados vigorosamente por três minutos. Esta agitação foi realizada cinco vezes por dia durante 12 dias (Landucci, 2005).

Álcool (controle):

Álcool etílico na concentração de 80% foi adicionado a um recipiente âmbar esterilizado e foi submetido à agitação vigorosa por três minutos, cinco vezes ao dia durante 12 dias.

Preparo dos meios adicionados de extrato:

Após esse período, a tubos de ensaio foi adicionado a 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.

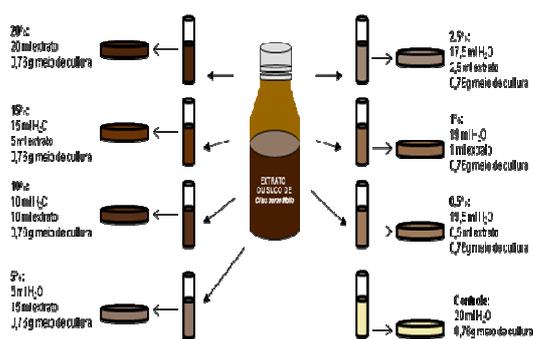


Figura 1 – Preparo dos meios de cultura adicionados de extratos de *Citrus aurantifolia* em diversas concentrações

Foram ainda preparados meios adicionados com álcool 80% nas mesmas proporções utilizadas para o extrato hidroalcoólico e meios sem adição de extratos para controle do crescimento microbiano.

Todos os meios foram preparados em duplicata.

Obtenção de colônias dos microrganismos

Com 24 h de antecedência, 25 cepas de *S. aureus*, 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 0,5 da escala de McFarland (aproximadamente  $1,5 \times 10^8$  cels/ml) para *S. aureus*.

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, álcool controle ou suco não necessitaram de correção, pois apresentaram pH 7,0. Os meios contendo extratos hidroalcoólicos inibiram todas as cepas de *S. aureus*, na concentração de 5% conforme mostrado na tabela 1.

Tabela 1: Percentual de cepas de *S. aureus* inibidas pelos extratos hidroalcoólicos de *C. aurantifolia*

Extrato	Percentual de cepas inibidas			
	0,5%	1%	2,5%	5%
Álcool Controle	0	0	0	0
Casca	0	0	0	100
Suco	0	0	0	100
Bagaço	0	0	0	100
Carpo	0	0	0	100

## Discussão

O estudo de Meléndez e Capriles, (2006) demonstrou que o extrato do fruto de *Citrus aurantifolia* inibiu 94% das bactérias testadas, tendo ainda o melhor potencial inibitório contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, concordando com o presente trabalho que avaliou extratos de diferentes partes da fruta, observando que os extratos hidroalcoólicos da casca, suco, carpo e bagaço inibiram 100% das cepas testadas de *S. aureus*.

Taiwo et al. (2007) verificaram a atividade inibitória de extratos de *Citrus aurantifolia* sobre *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Staphylococcus* spp., *Proteus* spp. e *Pseudomonas* spp. Os extratos inibiram 44% dos estafilococos e 69% das bactérias Gram-negativas. O extrato aquoso do suco possuía 33% de atividade contra estafilococos, no presente trabalho observou-se 100% de inibição nos meios contendo extrato hidroalcoólico da casca, suco, carpo e bagaço na concentração de 5%.

### Conclusão

Extratos hidroalcoólicos de carpo, bagaço, casca e suco de *Citrus aurantifolia* 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.

IARIA, S.T. et al. Pesquisa de *Staphylococcus aureus* enterotoxigênico nas fossas nasais de manipuladores de alimentos em hospitais, São Paulo, 1976. **Rev. Saúde Pública**. São Paulo. v. 14, p. 93-100, 1980.

LANDUCCI, L.F. Atividade inibitória de extratos vegetais do cerrado brasileiro sobre microrganismos bucais. 2005. 105F. Tese (doutorado em biopatologia bucal, area biopatologia bucal) – Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista, São José dos Campos.

MELÉNDEZ, P.A. & CAPRILES, V.A. Antibacterial properties of tropical plants from Puerto Rico. **Phytomedicine**. v.13, p. 272-276, 2006.

RADDI, M.S.G. et al. *Staphylococcus aureus*: Portadores entre manipuladores de alimentos.

**Rev. Saúde pública**. São Paulo. v. 22, n. 1, p. 36-40, 1988.

SIQUEIRA, R.S. Manual de microbiologia de alimentos. Rio de Janeiro: Embrapa. p.159. 1995.

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.

TAVARES, W. Bactérias gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. Brasil. v. 33, n. 3, p. 281-301. Mai.-Jun. 2000.

UENO, M., JORGE, A.O.C. Bacilos Gram-negativos. In: JORGE AOC. **Princípios de microbiologia e imunologia**. São Paulo: Ed. Santos. p.65-84, 2006.