

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.

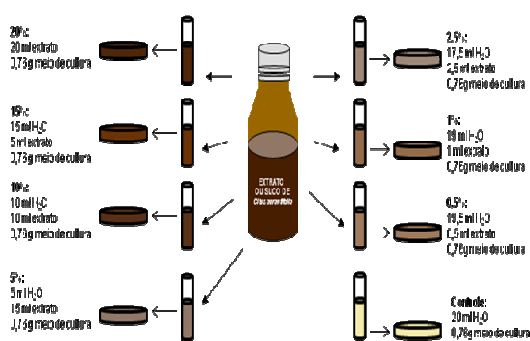


Figura 1 – Preparo dos meios de cultura adicionados de extratos de *Citrus aurantifolia* em diversas concentrações

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.