

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS *CITRUS LIMON* E *CITRUS SINENSIS*: UMA BREVE REVISÃO

Roberta Cristina R. dos Reis¹; Ana Carolina Hermes²; Minéia Weber Blattes³

RESUMO

A resistência bacteriana desenvolvida por microrganismos patogênicos necessita de uma busca por terapias alternativas, mais da metade da população mundial utiliza a fitoterapia como uma alternativa para os medicamentos convencionais. Medicamentos oriundos de plantas podem se mostrar eficientes, mas não são completamente inofensivos. O objetivo deste estudo foi realizar uma busca na literatura acerca da atividade antimicrobiana do *Citrus sinensis* e *Citrus limon* frente as bactérias *Streptococcus pyogenes* e *Streptococcus pneumoniae*. Trata-se de uma revisão sistemática, com período de busca de 2000 a 2022 de artigos nas bases de dados PubMed, SciELO e Medline, com os descritores “óleo essencial *Citrus limon*”, “óleo essencial *Citrus sinensis*”, “atividade antimicrobiana óleos essenciais”, “*Streptococcus pyogenes* óleo essencial”, “*Streptococcus pneumoniae* óleo essencial”, os mesmos descritores se aplicam para os extratos. Foram usados artigos que continham a menção dos *Citrus sinensis* e *Citrus limon* e de ambas bactérias. Foram encontrados 65 artigos, dos quais apenas 13 atenderam aos critérios de inclusão. Embora as evidências tenham mostrado que os extratos dos *Citrus limon* e *Citrus sinensis* tenham alguma atividade antimicrobiana, ainda há necessidade de maior exploração dessas atividades, pois ainda não estão bem descritas na literatura.

Palavras-chave: Zona de inibição; Microrganismos; Resistência bacteriana; Óleo essencial; Extrato.

Eixo Temático: Atenção Integral e Promoção à Saúde.

1. INTRODUÇÃO

A indústria farmacêutica foi atraída pela utilização de produtos naturais como agentes de controle microbiano, já que os patógenos associados a doenças infecciosas estão cada dia mais resistentes aos fármacos utilizados em práticas clínicas (MESA-ARANGO *et al.*, 2009).

Devido ao aumento da resistência de microrganismos patogênicos os múltiplos fármacos e a susceptibilidade de atuarem sobre numerosos tipos de substratos, com diferentes temperaturas, pH e condições do meio ambiente, surge a

¹ Universidade Franciscana, Santa Maria/RS. roberta.reis@ufn.edu.br

² Universidade Franciscana, Santa Maria/RS. ana.hermes@ufn.edu.br

³ Universidade Franciscana, Santa Maria/RS. mweber@ufn.edu.br

preocupação para a procura de novas alternativas terapêuticas o que incentiva a procura por antibióticos naturais (KALEMBA; KUNICKA, 2003).

As bactérias têm capacidade genética de adquirir e transmitir resistência aos fármacos utilizadas para o seu tratamento. Devido à sua atuação em células bacterianas, os produtos vegetais podem influenciar fatores de virulência e alterar a capacidade de infecção (AMOROZO, 2002; NASCIMENTO; LOCATELLI; FREITAS, 2000).

Os óleos essenciais afetam a proliferação de bactérias de diferentes maneiras: afetando a parede celular, removendo os fosfolipídios e obstruindo a passagem de íons passivos e inibição de síntese de ATP (adenosina trifosfato), destruição do citoplasma bacteriano e inibição de síntese de energia na mitocôndria (CHOUHAN; SHARMA; GULERIA, 2017; NAMDEO *et al.*, 2020).

Nas sementes, cascas, flores ou folhas, várias espécies de plantas armazenam substâncias voláteis de aspecto oleoso que podem ter um aroma intenso, sendo denominadas como essências ou óleos essenciais, por possuírem tais características. Entre essas plantas aromáticas estão as frutas cítricas como o limão, laranja, tangerina e a lima que apresentam uma concentração de cerca de 3% de óleo essencial, sendo formado por uma mistura de hidrocarbonetos, compostos carbonílicos e álcoois (FERNANDES *et al.*, 2011; SILVEIRA *et al.*, 2012).

Os extratos das cascas são efetivos contra várias bactérias, com a presença do limoneno nas espécies de *Citrus* se tem considerado que ele seja responsável pela atividade antimicrobiana (Giuseppe *et al.* 2007).

Os *Citrus limon* e *Citrus sinensis* são plantas medicinais importantes da família Rutaceae. São cultivados principalmente pelos seus alcaloides, que estão tendo atividades anticâncer e potencial antibacteriano com um conjunto de extratos de diferentes partes como raiz, flor e folhas do limão. Atividades clínicas significantes sobre cepas bacterianas estão sendo reportadas (KAWAII *et al.*, 2000).

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi realizar um levantamento da literatura acerca dos dados da atividade antimicrobiana dos extratos e óleos essenciais dos *Citrus limon* e *Citrus sinensis* contra as bactérias *Streptococcus pyogenes* e *Streptococcus pneumoniae*.

2. METODOLOGIA

Trata-se de uma revisão sistemática da literatura, com abordagem quantitativa, um tipo de estudo que consiste em seis etapas, sendo elas: 1- a identificação do tema e seleção da hipótese ou questão de pesquisa; 2- estabelecimento de critérios para inclusão e exclusão de estudos/amostragem ou busca na literatura; 3- definição das informações a serem extraídas dos estudos selecionados/ categorização dos estudos; 4- avaliação dos estudos incluídos; 5- interpretação dos resultados; 6- apresentação da revisão/síntese do conhecimento.

As buscas de artigos foram realizadas nas seguintes bases de dados: *PubMed*, *SciELO*, *MEDline* e *Science Direct*. Foram aplicados os descritores “óleo essencial *Citrus limon*”, “óleo essencial *Citrus sinensis*”, “atividade antimicrobiana óleos essenciais”, “*Streptococcus pyogenes* óleo essencial”, “*Streptococcus pneumoniae* óleo essencial”, os mesmos descritores se aplicam para os extratos, em português, bem como “essencial oil *Citrus limon*”, “essential oil *Citrus sinensis*”,

“antimicrobial activity essential oil”, “*Streptococcus pyogenes* essential oil”, “*Streptococcus pneumoniae* essential oil” em inglês.

O período de buscas dos artigos ocorreu entre 2000 a 2022. Já o período de análise foi finalizado em maio de 2022. Também foram empregados os operadores “AND” e “OR” para buscas mais específicas na literatura.

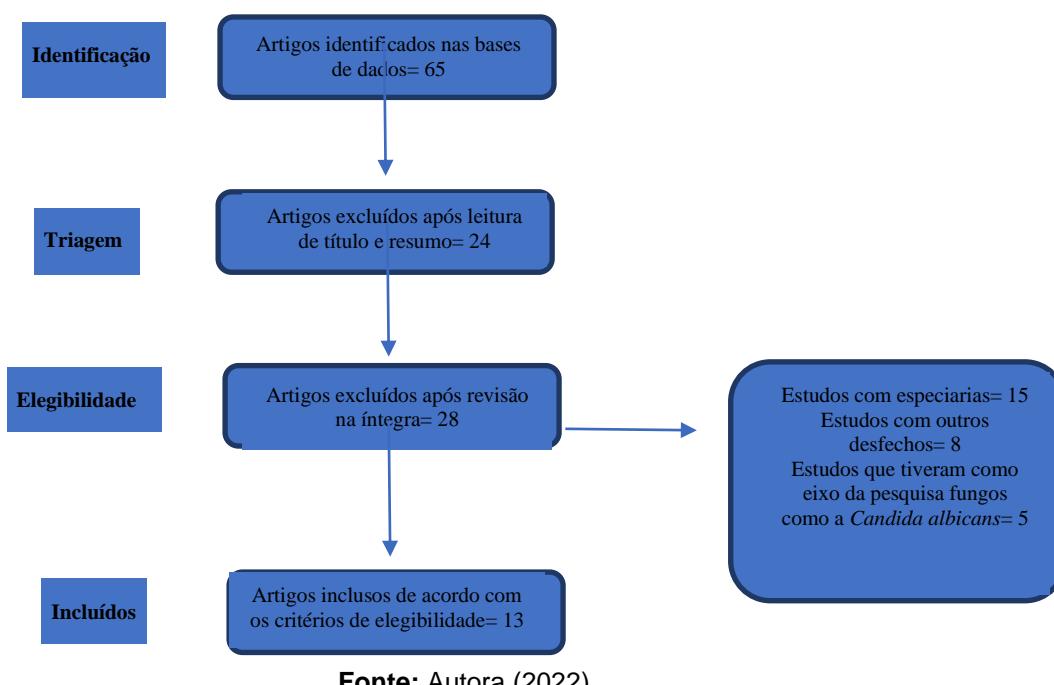
Os critérios de inclusão foram: estudos os quais tiveram intervenção com os óleos de *Citrus limon* e *Citrus sinensis*, e com a bactéria *Streptococcus pneumoniae* e *Streptococcus pyogenes* que tiveram como desfechos: 1) alguma atividade antimicrobiana contra essas duas bactérias; também foram inclusos estudos que tiveram como intervenção pelo menos um tipo de um dos óleos ou uma das bactérias.

Os critérios de exclusão foram estudos que não apresentavam os tipos de óleos e bactérias ou pesquisas que avaliaram outros desfechos, pois fugiam da proposta deste artigo.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Inicialmente foram identificados 65 artigos nas bases de dados. Após a aplicação dos filtros, avaliação de duplicatas e leitura de título e resumo, foram excluídos 24 artigos. Depois da leitura completa dos artigos, apenas 13 artigos atenderam aos critérios de elegibilidade deste estudo e foram incluídos. Já os outros excluídos continham: 15 artigos que incluíam especiarias, 8 tiveram outros desfechos e 5 tiveram como eixo da pesquisa fungos como a *Candida albicans* (Figura 1).

Figura 1 - Fluxograma das estratégias de buscas para identificação dos artigos elegíveis.



Na tabela 1 observamos os trabalhos que analisavam os efeitos antimicrobianos dos óleos essenciais. Os principais resultados mostram que os óleos essenciais analisados não apresentam atividade antimicrobiana contra as bactérias analisadas.

Tabela 1 - Características dos estudos e seus objetivos, bem como os resultados encontrados.

AUTOR E ANO	OBJETIVO	PRINCIPAIS RESULTADOS
Alexa <i>et al.</i> (2020)	Testar os efeitos antimicrobianos dos óleos essenciais de <i>Citrus sinensis</i> , cravo e bergamota e seus princípios ativos eugenol, limoneno e α -pineno contra microrganismos que causam infecções em humanos.	O diâmetro da zona de inibição para <i>Citrus sinensis</i> é de 7 a 8mm, bem menor em comparação com o controle positivo gentamicina que possui uma inibição de 21mm. A emulsão com <i>Citrus sinensis</i> não mostrou efeitos antimicrobianos nas cepas investigadas de <i>Streptococcus pyogenes</i> .
Eldahshan <i>et al.</i> (2016)	Comparar as atividades antimicrobianas dos óleos essenciais de ramos e folhas verdes de laranjeira egípcia em diferentes microrganismos.	O óleo essencial de <i>Citrus sinensis</i> das folhas teve uma zona de inibição de 21,3mm contra a bactéria <i>Streptococcus pyogenes</i> , o controle positivo de ampicilina teve uma zona de inibição de 29,8mm. Já o MIC (concentração inibitória mínima) das folhas mostrou 1,95 μ l/ml contra o controle positivo de ampicilina que mostrou um MIC de 0,007 μ l/ml.
Altun <i>et al.</i> (2022)	Avaliar a atividade antibacteriana dos óleos essenciais de canela, lavanda, tea tree, <i>Citrus limon</i> , coco, orégano, hortelã, louro e eucalipto contra <i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Streptococcus agalactiae</i> <i>in vitro</i> usando ágar método de difusão em disco.	<i>Citrus limon</i> teve uma zona de inibição de 11,50mm o qual é menor que o controle positivo vancomicina que possui uma zona de inibição de 19,75mm.
Lodh <i>et al.</i> (2018)	Investigar a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais <i>Allium sativum</i> , <i>Myristica fragrans</i> , <i>Piper nigrum</i> , <i>Citrus limon</i> , <i>Citrus sinensis</i> , <i>Coriandrum sativum</i> e <i>Eucalyptus globulus</i> contra diferentes microrganismos.	Os óleos essenciais de <i>Citrus sinensis</i> e <i>Citrus limon</i> mostraram uma zona de inibição 9mm a 12mm o qual é menor que o controle positivo amoxicilina que possui uma zona de inibição de 21mm.

Fonte: Autora (2022)

Na tabela 2 estão expostos os resultados encontrados com os extratos da casca e sucos de *Citrus sinensi* e *Citrus limon*.

Tabela 2 - Características dos estudos e os extratos usados, bem como os resultados encontrados.

AUTOR E ANO	EXTRATO	RESULTADOS
Mehmood et al. (2015)	Extrato das cascas de <i>Citrus sinensis</i> .	O extrato das cascas de <i>Citrus sinensis</i> foi extraído pelos seguintes solventes, dietil éter, clorofórmio, etanol e metanol, as zonas de inibição foram, respectivamente, 4,6mm, 4,6mm, 5,8mm, 4,3mm, todas as zonas de inibição demonstraram uma sensibilidade moderada para a bactéria <i>Streptococcus pyogenes</i> .
Deshwal (2018)	O extrato do suco de <i>Citrus limon</i> .	O extrato do suco de <i>Citrus limon</i> obteve uma zona de inibição de 22,3mm, o controle positivo norfloxacino teve uma zona de inibição de 15mm, o que resulta em dizer que o extrato do suco de <i>Citrus limon</i> efetivamente inibiu o crescimento da bactéria <i>Streptococcus pyogenes</i> .
Adham (2001)	Extrato das cascas de <i>Citrus limon</i> . Extrato do suco de <i>Citrus limon</i> . Extratos das cascas e do suco de <i>Citrus sinensis</i> .	O suco de <i>Citrus limon</i> sozinho e em combinação com extrato de casca exibe atividade inibitória contra bactérias gram-positivas e gram-negativas. <i>Citrus sinensis</i> na forma combinada apresentou atividade apenas contra bactérias gram positiva. Na comparação da atividade antimicrobiana de diferentes frutas cítricas os resultados mostraram que <i>Citrus limon</i> apresentou a maior atividade antimicrobiana e a menor atividade exibida por <i>Citrus sinensis</i> .
Hindi (2013)	Extrato da casca de <i>Citrus limon</i> . Extrato do suco de <i>Citrus limon</i> .	O extrato da casca de <i>Citrus limon</i> não teve inibição para as bactérias <i>Streptococcus pyogenes</i> e <i>Streptococcus pneumoniae</i> , já o extrato do suco obteve uma zona de inibição de 20mm para a bactéria <i>Streptococcus pyogenes</i> e para a bactéria <i>Streptococcus pneumoniae</i> a zona de inibição foi de 29mm.
Abdul-Husin (2018)	Extrato do suco de <i>Citrus</i>	A zona de inibição obtida pelo

	<i>limon.</i>	extrato de <i>Citrus limon</i> foi de 20mm para a bactéria <i>Streptococcus pyogenes</i> e seu MIC foi de 25. Para a bactéria <i>Streptococcus pneumoniae</i> se obteve um MIC de 50 e uma zona de inibição de 14mm.
Ewansiha (2020)	O extrato do suco de <i>Citrus limon</i> .	O extrato do suco de <i>Citrus limon</i> usado nas concentrações de 25, 50, 75 e 100% mostraram respectivamente uma zona inibitória de 6,67mm, 11mm, 14,33mm e 30mm para a bactéria <i>Streptococcus pneumoniae</i> , o controle positivo usado foi o ciprofloxacino que teve uma zona de inibição de 25,33mm para esta bactéria, com estes dados se pode considerar que a única zona inibitória que não houve resistência foi a de 30mm com a concentração de 100%. Já para a bactéria <i>Streptococcus pyogenes</i> foram usadas as mesmas concentrações de 25, 50, 75 e 100% que mostraram, respectivamente as zonas de inibição de 8,67mm, 13,33mm, 14,67mm e 29,66mm, para o controle positivo ciprofloxacino a zona de inibição foi de 30mm, Com base nos dados acima se pode considerar que não houve sensibilidade bacteriana.

Fonte: Autora (2022)

Na tabela 3 estão descritas as pesquisas com óleo essencial de *Citrus sinensis* e *Citrus limon* frente as bactérias *Streptococcus pyogenes* e *Streptococcus pneumoniae*.

Tabela 3 - Características dos estudos e os óleos usados, bem como os resultados encontrados.

AUTOR E ANO	ÓLEO ESSENCIAL	RESULTADOS
Mayaud <i>et al.</i> (2008)	Óleo essencial de <i>Citrus sinensis</i> .	O óleo essencial de <i>Citrus sinensis</i> exibiu pouca atividade antibacteriana contra a bactéria <i>Streptococcus pyogenes</i> .
Fabio <i>et al.</i> (2007)	Óleo essencial de <i>Citrus limon</i> .	A atividade antimicrobiana do óleo essencial de <i>Citrus limon</i> não demonstrou nenhuma zona de inibição contra as bactérias <i>Streptococcus</i>

		pyogenes e <i>Streptococcus pneumoniae</i> .
Inouye (2001)	Composto D-limoneno	O D-limoneno que é o composto químico presente nos cítricos não demonstrou nenhuma atividade antimicrobiana nas bactérias <i>Streptococcus pyogenes</i> e <i>Streptococcus pneumoniae</i> .

Fonte: Autora (2022)

A atividade dos óleos essenciais dos *Citrus limon* e *Citrus sinensis* observados nestes estudos, demonstraram uma atividade antimicrobiana pequena, muitas vezes menores que os controles positivos. Os extratos demonstraram uma atividade antimicrobiana maior, podendo eles serem extratos de suco ou das cascas. Verificou-se nos estudos que o *Citrus limon* apresentou uma atividade maior de inibição no crescimento da bactéria *Streptococcus pyogenes*.

Um estudo de Adedeji e colaboradores, relata que a atividade antimicrobiana de *Citrus limon* contra bactérias gram-positivas e gram-negativas, como *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Streptococcus pneumoniae*. Em contraste, um estudo de Hindi e Chabuck, relataram que o extrato de casca de *Citrus limon* mostrou atividade contra *Klebsiella pneumoniae* e *Staphylococcus aureus*, mas nenhum efeito sobre *Streptococcus pneumoniae* e *Escherichia coli*.

Os resultados previamente registrados mostram que as frutas cítricas têm alta atividade antimicrobiana contra cepas bacterianas gram-positivas do que gram-negativas (AL-ANI; AL-HALIEM; TAWFIK, 2010). A diferença na sensibilidade das bactérias gram-positivas em comparação com as bactérias gram-negativas aos antibióticos e antimicrobianos naturais podem ser devido a diferenças na composição da parede celular destas bactérias (SAMARAKOON *et al.*, 2012).

4. CONCLUSÃO

Neste estudo realizamos um levantamento bibliográfico dos óleos essenciais e extratos de *Citrus limon* e *Citrus sinensis* frente as bactérias *Streptococcus pyogenes* e *Streptococcus pneumoniae* pela sua característica de causar enfermidades no trato respiratório inferior.

Os óleos essenciais dos *Citrus limon* e *Citrus sinensis* demonstraram uma atividade antimicrobiana pequena, muitas vezes menores que os controles positivos. Os extratos demonstraram uma atividade antimicrobiana maior, podendo eles serem extratos de suco ou das cascas. O cítrico que obteve uma maior atividade foi o *Citrus limon*, entretanto, a maioria dos estudos relacionados a atividade antimicrobiana tem utilizado óleos essenciais, sendo necessários mais estudos dos extratos de suco e da casca destes cítricos para possibilitar melhor compreensão sobre esses mecanismos.

REFERÊNCIAS

ABDUL-HUSIN, I. F. Aqueous lemon extracts as antimicrobial agents against some pathogenic bacteria, **Plant Archives**, v. 18, n. 1, p. 431-434, 2018.

ADEDEJI, G. B.; FAGADE, E.; OYELADE, A. A. Prevalence of *Pseudomonas aeruginosa* in clinical samples and its sensitivity to citrus extracts. **African Journal of Biology and Medical Research**, v.10, p. 183-187, 2007.

ADHAM. A. N. Comparative Antimicrobial Activity of Peel and Juice Extract of Citrus Fruits Growing in Kurdistan/Iraq, **American Journal of Microbiological Research**, v. 3, n. 5, p. 155-159, 2015.

ALEXA, V.T. *et al.* Natural Preparations Based on Orange, Bergamot and Clove Essential Oils and Their Chemical Compounds as Antimicrobial Agents. **Molecules**, v. 25, n. 5502, 2020.

AL-ANI, W.N.; AL-HALIEM, S.M.; TAWFIK, N.O. Evaluation of the antibacterial activity of citrus juices: An in vitro study. **Al-Rafidain Dental Journal**, v. 10, n. 2, p.376-382, 2010.

ALTUN, M.; YAPICI, B. M. Determination of chemical compositions and antibacterial effects of selected essential oils against human pathogenic strains, **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 94, n.1, 2022.

AMOROZO, M.C.M. Uso e diversidade de plantas medicinais em Santo Antônio de Leverger. **Acta Botânica Brasílica**, Mato Grosso, v.16, n.2, p.189-203. 2002.

CHOUHAN, S.; SHARMA, K.; GULERIA, S. Antimicrobial activity of some essential oils - present status and future perspectives. **Medicines**, India, v.4, n. 58, 2017.

DESHWAL, V. K.; KAUR, B. Antimicrobial activity of citrus fruits on certain pathogenic microorganism, **Journal of Plant Development Sciences**, v.10, n. 8, p. 481-483, 2018.

ELDAHSHAN, O.A.; HALIM, A. F. Comparison of the Composition and Antimicrobial Activities of the Essential Oils of Green Branches and Leaves of Egyptian Navel Orange (*Citrus sinensis* (L.) OSBECK var. malesy), **Chemistry & Biodiversity**, v. 13, p. 681-685, 2016.

EWANSIHA, J.U. Evaluation of Antibacterial Potency of Citrus Limon (Lemon) Juice Against Some Pathogenic Organisms as Alternative Source of Chemotherapy, **European Journal of Biology and Biotechnology**, v. 1, n. 1, 2020.

FABIO, A. *et al.* Screening of the Antibacterial Effects of a Variety of Essential Oils on Microorganisms Responsible for Respiratory Infections, **Phytotherapy Research**, v. 21, p. 374-377, 2007.

FERNANDES. *et al.* Extração de óleos essenciais a partir de resíduos orgânicos para produção de sabonetes por uma associação de economia solidária. 26º CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, Porto Alegre: UNISINOS, p.8, 2011.

GIUSEPPE, G., B. *et al.* Flavonoid Composition of Citrus juices. **Molecules**, n.12, p.1641-1673, 2007.

HINDI, N. K. K.; CHABUCK, Z. A. G. Antimicrobial Activity of Different Aqueous Lemon Extracts, **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 3, n. 06, p. 074-078, 2013.

INOUE. S.; YAMAGUCHI. H.; TAKIZAWA. T. Screening of the antibacterial effects of a variety of essential oils on respiratory tract pathogens, using a modified dilution assay method, **Japanese Society of Chemotherapy and The Japanese Association for Infectious Diseases**, v. 7, n. 4, p. 251-254, 2001.

KALEMBA D.; KUNICKA, A. Antibacterial and anti-fungal properties of essential oils. **Current Medicinal Chemistry**, v. 10, n. 10, p. 813-829, 2003.

KAWAII, S.T. *et al.* Quantitative study of flavonoids in leaves of Citrus plants J. Agric. **Food Chemistry**, v. 48, n. 9, p. 3865–3871, 2000.

LODH, T. *et al.* Antimicrobial potential of traditionally used essential oils on different pathogenic microorganisms, **Indian Research Journal of Pharmacy and Science**, v. 19, p.1669-1673, 2018.

MAYAUD, L. *et al.* Comparison of bacteriostatic and bactericidal activity of 13 essential oils against strains with varying sensitivity to antibiotics, **Letters in Applied Microbiology**, v. 47, p. 167-173, 2008.

MEHMOOD, B. *et al.* In vitro assessment of antioxidant, antibacterial and phytochemical analysis of peel of Citrus sinensis, **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 28, n. 1, p. 231-239, 2015.

MESA-ARANGO, A.C. Citral and carvone chemotypes from the essential oils PF Colombian Lippia Alba (Mill.) N.E. Brown: composition, cytotoxicity and antifungal activity. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. Rio de Janeiro, v.104, n. 6, 2009.

NAMDEO, S. *et al.* Essential oils: an potential substitute to antibiotics growth promoter in broiler diet. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 8, n. 4, p. 1643-1649, 2020.

NASCIMENTO, G.G.F.; LOCATELLI, J; FREITAS, P.C. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 31, n. 4, p. 247-256, 2000.

SAMARAKOON *et al.* Antibacterial effect of citrus press-cakes dried by high speed and far-infrared radiation drying methods, **Nutrition Research and Practice**, v. 6, n. 3, p.187-194, 2012.

SILVEIRA. *et al.* Levantamento e análise de métodos de extração de óleos essenciais, **Encyclopédia Biosfera**, v. 8, n. 15, p. 2038-2052, 2012.