

Flávia Da Silva Lima¹, Dayane dos Santos Silva², Gabrielle de Lima Mendes³, Karllisson Victor Barbosa⁴, José Rubens David dos Santos⁵

Professor(a) Orientador(a): Abel Barbosa Lira Neto⁶

Resumo:

A *Citrobacter koseri*, anteriormente denominado *Citrobacter diversus*, é um microrganismo Gram-negativo que possui raro isolamento, porém constitui importante causador de bacteremias. Dessa forma, o presente estudo objetivou analisar o perfil antimicrobiano *in vitro* do extrato da própolis vermelha em diferentes diluições, frente a bactéria *Citrobacter koseri*. O estudo foi realizado no Laboratório do Polo Tecnológico Agroalimentar de Arapiraca – AL. O teste de suscetibilidade bacteriana foi executado através da técnica de disco-difusão de papel-filtro em placas de Ágar *Mueller-Hinton* semeadas com *Citrobacter koseri*. Foram utilizadas 4 diluições diferentes e foram depositados em papel-filtro nas placas semeadas, foram levadas à estufa bacteriológica a 36 °C por 24 horas. O extrato apresentou crescimentos de halos significativa, onde o que apresentou os maiores diâmetros foram o da placa 1 na diluição de 10% que utilizou 500mg/ml de extrato, com o diâmetro de 10mm, na concentração do extrato bruto da própolis (100%) apresentou halos de tamanho padrão de 8mm. De acordo com os resultados obtidos, pode-se observar que o crescimento da cepa foi inibido em todas as concentrações de diluição do extrato da própolis vermelha. A *Citrobacter koseri* apresentou-se bacteriostático, pois ocorreu apenas a paralisação do seu crescimento.

Palavras-chave: Própolis; Anti Bacteriano; Crescimento.

Introdução:

A própolis é uma substância resinosa produzida pelas abelhas a partir da coleta de matéria orgânica de diferentes partes das plantas. Essa é utilizada pelas abelhas como selante para proteger suas colmeias de organismos invasores (OLIVEIRA, 2022). A própolis tem sido objeto de estudos farmacológicos devido às suas propriedades antibacterianas, atualmente inúmeros trabalhos demonstram as atividades biológicas da própolis bem como suas aplicações terapêuticas (LUSTOSA, 2008).

¹ Graduanda em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Alagoas – UNEAL, flavialima@alunos.uneal.edu.br

² Graduanda em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Alagoas – UNEAL, dayane.silva2@alunos.uneal.edu.br

³ Graduanda em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Alagoas – UNEAL, gabriellemendes@alunos.uneal.edu.br

⁴ Graduanda em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Alagoas – UNEAL, karllisson@alunos.uneal.edu.br

⁵ Graduanda em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Alagoas – UNEAL, rubbensjs@gmail.com

⁶ Docente e pesquisador, Universidade Estadual de Alagoas – UNEAL, abel.neto@uneal.edu.br

As bactérias Gram-negativas possuem representantes comensais e alguns tipos são patogênicos, destacando-se como as causadoras mais comuns de infecções urinárias, além de provocarem diarreia (BARROS et al., 2021). A *Citrobacter koseri*, anteriormente denominado *Citrobacter diversus*, é um microrganismo Gram-negativo que possui raro isolamento, porém constitui importante causador de bacteremias em humanos. É relatada ocorrência de abscessos cerebrais e meningite (LIU et al., 2015).

Com a crescente resistência antibacteriana, é evidente a necessidade de desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos contra microrganismos de interesse médico (LIMA, 2022), dessa forma, o presente estudo objetivou analisar o perfil antimicrobiano in vitro do extrato da própolis vermelha em diferentes diluições, frente a bactéria *Citrobacter koseri*.

Metodologia:

O estudo foi realizado entre os meses de janeiro e fevereiro de 2023 no Laboratório de Microbiologia Clínica e Experimental do Polo Tecnológico Agroalimentar de Arapiraca localizado na Vila Bananeiras, zona rural do município de Arapiraca - Alagoas. A própolis vermelha foi obtida de coletores alojados em caixas de abelhas *Apis mellifera* em um apiário na cidade de Porto de Pedras, Estado de Alagoas, nordeste do Brasil. A amostra de própolis bruta foi submetida à purificação e remoção de qualquer tipo de material estranho. Em seguida, foi triturado pela adição de nitrogênio líquido, homogeneizado, pesado e armazenado a -18°C.

O teste de suscetibilidade bacteriana foi executado através da técnica de disco-difusão de papel-filtro em placas de Petri em triplicata contendo aproximadamente 25 ml de ágar Mueller-Hinton (MH) solidificado. Foram utilizados extratos de própolis vermelho nas diluições de 100% (própolis bruta), 15% (750mg/ml), 10% (500 mg/ml) e 5% (250 mg/ml), o solvente como controle negativo (álcool 70%) e discos de antibióticos já utilizados em testes de suscetibilidade bacteriana como controle positivo. Para o semeio nas placas com MH foram diluídas 3 colônias de *Citrobacter koseri* em um tubo de ensaio contendo 1 ML de solução fisiológica estéril de cloreto de sódio a 0,9%. Um swab de algodão

esterilizado foi mergulhado no tubo a fim de coletar uma alíquota do inóculo e este foi empregado na placa MH, espalhando-o em 5 sentidos diferentes em um ângulo de 60°.

Foram adicionados 50µl de cada diluição de extrato bem como de solvente em discos de papel filtro medindo 6 mm, posicionando-os na placa com auxílio de uma pinça esterilizada. Um disco de antibiótico também foi colocado como controle positivo das análises e as placas semeadas foram levadas à estufa bacteriológica a 36 °C por 24 horas. A leitura foi executada pela medição com halômetro dos halos de inibição formados pelo desenvolvimento das colônias após o período de incubação.

Resultados e Discussão:

A tabela 1 apresenta as medidas de crescimento dos halos formados nas placas devido ao crescimento das colônias bacterianas de *Citrobacter koseri* após as 24 horas de incubação.

Tabela 1: Diâmetro dos halos de inibição formados pelo extrato de própolis vermelha.

PLACA	100%	15%	10%	5%	CONTROLE NEGATIVO	CONTROLE POSITIVO
1	8mm	8mm	10mm	8mm	0mm	CRO ₃₀ =24mm
2	8mm	0mm	8mm	8mm	0mm	TET ₃₀ =18mm
3	8mm	8mm	0mm	0mm	0mm	AMC ₃₀ =14mm

Legenda: CRO₃₀ (Ceftriaxona); TET₃₀ (Tetraciclina); AMC₃₀(Amoxicilina).

Fonte: Autores, 2023.

O extrato apresentou crescimentos de halos significativos. O que apresentou os maiores diâmetros foram o da placa 1 na diluição de 10% que utilizou 500mg/ml de extrato, com o diâmetro de 10mm, o controle negativo com o solvente (álcool a 70%) obteve 0mm e o controle positivo feito com o antibiótico Ceftriaxona obteve 24mm, mostrando a resistência do antibiótico a bactéria gram-negativa, enquanto o antibiótico Tetraciclina apresentou um halo de 18 mm.

Na concentração do extrato bruto da própolis (100%) apresentou halos de tamanho padrão de 8mm. Enquanto nas concentrações de 15% e 5% apresentaram dois halos de 8mm e apenas um com 0 mm. O disco de Amoxicilina usado como controle positivo

apresentou um halo de 14mm. Em um estudo feito por Pereira et al. (2021), mostra que apesar do isolamento pouco frequente, a cepa de *Citrobacter koseri* é sensível a esse antibiótico que pertence a classe da penicilina com ação bactericida, interferindo na parede celular.

A própolis tem a capacidade de inibir o crescimento de bactérias, previne a divisão celular, perturba o citoplasma, membrana plasmática e parede celular, causa lise parcial e inibe a síntese de proteínas (TAKAISI-KIKUNI e SCHILCHER, 1994). De acordo com os resultados obtidos, pode-se observar que o crescimento da cepa foi inibido em todas as concentrações de diluição do extrato da própolis vermelha, assemelhando-se com os resultados encontrados por Klahr (2016), no qual o crescimento cepa também foi inibido nas concentrações de extrato etanólico de própolis.

Conclusões:

Através dos dados, foi possível concluir que o extrato de própolis vermelho quando em contato com a cepa *Citrobacter Koseri* apresentou-se bacteriostático, pois ocorreu apenas a inibição do crescimento bacteriano.

Apoio Financeiro: FAPEAL - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Alagoas.

Referências:

BARROS, F. R. B.; MONTEIRO, M. de F. G.; SOUSA JÚNIOR, D. L. de; AQUINO, P. E. A. de; SARAIVA, C. R. N.; SILVA LEANDRO, M. K. do N.; MACEDO DA SILVA, R. O.; LEANDRO, L. M. G. Perfil de resistência de microrganismos isolados em fones de ouvidos de alunos de uma instituição de ensino superior de Juazeiro do Norte-CE. **Saúde (Santa Maria)**, [S. l.], v. 47, n. 1, 2021. DOI: 10.5902/2236583444242. Disponível em: <https://periodicos.ufsm.br/revistasauade/article/view/44242>. Acesso em: 24 fev. 2023.

KLAHR, G. T. **ATIVIDADE ANTIMICROBIANA IN VITRO E IN VIVO DO EXTRATO ETANÓLICO DE PRÓPOLIS CONTRA AS PRINCIPAIS BACTÉRIAS ENVOLVIDAS NA MASTITE BOVINA**. DISSERTAÇÃO (GRADUAÇÃO) - Bacharel em Zootecnia. Universidade Federal do Pampa, Dom Pedrito, 2016. Disponível em: <https://dspace.unipampa.edu.br/jspui/bitstream/rii/3022/1/Gabriela%20Tha%20C3%20ADs%20Klahr.pdf>

LIMA, P. M. N. **EFEITOS SINÉRGICOS ANTIMICROBIANOS DA COMBINAÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE GERÂNIO E LEMONGRASS SOBRE *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* e *Candida spp.*** Dissertação (Mestrado) - CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE

BUCAL. Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de São José dos Campos, 2022. Disponível em: [lima_pmn_me_sjc.pdf\(unesp.br\)](http://lima_pmn_me_sjc.pdf(unesp.br)).

LIU, H.-W., CHANG, C.-J., & HSIEH, C.-T. Brain abscess caused by *Citrobacter koseri* infection in an adult. *Neurosciences*, v.20, n.2, p.170–172, 2015. <https://doi.org/10.17712/nsj.2015.2.20140749>

LUSTOSA, S. R., GALINDO, A. B., NUNES, L. C. C., RANDAU, K. P., NETO, P. J. R. **Própolis: atualizações sobre a química e a farmacologia.** *Revista Brasileira de Farmacognosia*. v. 18, n. 3, p. 447-454, 2008.

OLIVEIRA, G. O. **USO DE MEL E PRÓPOLIS NO TRATAMENTO DE PARÂMETROS ASSOCIADOS ÀS INFECÇÕES DO TRATO RESPIRATÓRIO.** Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Nutrição. Centro Universitário Ritter dos Reis – UNIRITTER, Canoas, 2022.

PEREIRA, J. A., BONCI, M. M., MAKITA, M. T., BOTTEON, R. C. C. M., SOUZA, M. S., ALMEIDA, A. C. O., PINHEIRO, A. C., FIGUEIREDO, T. W. K. B. **Infecção urinária por *Citrobacter koseri* (*C. diversus*) em cão portador de nefrolitíase.** *Pubvet*, v.15, n.02, a750, p.1- 6, 2021.

<https://www.pubvet.com.br/pesquisa?palavra=urocultura>. Acesso em: 24 de fevereiro de 2023.

TAKAISI-KIKUNI, N. B.; SCHILCHER, H. **Electron microscopic and microcalorimetric investigations of the possible mechanism of the antibacterial action of a defined propolis provenance.** *Planta Medica*, v.60, n.3, 222-227p., 1994.