



AVALIAÇÃO “IN VITRO” DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA EM SUCOS DE CRANBERRY (*VACCINIUM MACROCARPON*) SOBRE CEPAS DE *ESCHERICHIA COLI* RESPONSÁVEIS POR INFECÇÃO URINÁRIA

Ludmila Pini Simões¹, Louremi Bianchi Gualda de Souza²

RESUMO: As infecções do trato urinário (ITU) são definidas como a invasão e posterior multiplicação de micro-organismos nos tecidos das vias urinárias. As regiões afetadas variam desde a uretra, rim, pelve renal, bexiga e ureteres, até estruturas adjacentes nos homens, como a próstata e o epidídimo. Esse tipo de infecção é de extrema importância no estudo das ciências médicas, uma vez que representa uma parcela significativa das consultas nos serviços médicos públicos, se constituindo numa das infecções bacterianas mais comuns na população. Atinge principalmente o sexo feminino, pois as mulheres se contaminam com maior frequência por apresentarem uretra mais curta e assim ascendência de bactérias a bexiga. O agente etiológico mais comum é o micro-organismo *Escherichia coli*, provocando infecções consideradas mais simples, tendo a virulência ligada a forte adesão de fimbrias ao epitélio urinário. Com o aumento da resistência bacteriana, viu-se na profilaxia uma possível alternativa, entre elas o suco do fruto *Vaccinium macrocarpon*, conhecido como Cranberry que tem atividade relacionada com a inibição da aderência das fimbrias do micro-organismo *E. coli* nas células do trato urinário. Dentro deste contexto o objetivo desse trabalho foi analisar o efeito antimicrobiano de sucos de Cranberry concentrados, sobre cepas de *E. coli* visando assim uma alternativa ao uso de antibióticos. Para verificação da atividade bactericida foi realizado testes de sensibilidade a antimicrobianos como: difusão em disco, método de difusão em poços e microplaca, utilizando a cepa ATCC 25922 da bactéria *E. coli*. Os testes foram realizados em triplicata contendo controle positivo e negativo. Os resultados foram tabulados comparados com o controle positivo e negativo, e dados encontrados na literatura, para melhor compreensão da sua possível atividade antibacteriana. Contudo o resultado final encontrado foi que o suco do fruto Cranberry não tem nenhuma atividade contra o crescimento da cepa de *Escherichia coli* diante dos métodos realizados.

PALAVRAS-CHAVE: Cranberry; *E.coli*; ITU; Profilaxia.

1 INTRODUÇÃO

O projeto se trata de um trabalho experimental de natureza qualitativa em que foi testado o suco concentrado de Cranberry *in vitro* visando identificar a atividade antimicrobiana do suco sobre a cepa de *Escherichia coli*. No Brasil, um total de 80% das consultas clínicas deve-se à infecção do trato urinário (ITU). Aproximadamente 50 a 70% das mulheres apresentam pelo menos um episódio de ITU em suas vidas, sendo que, 20 a 30% destas apresentam episódios recorrentes. No entanto, a real incidência de ITU é, provavelmente, subestimada, porque pelo menos metade de todas as infecções urinárias se resolve sem atenção médica (AZEVEDO e SILVA, 2012).

Diversos agentes etiológicos podem ser responsáveis por ITU, sendo que a mais comum é a bactéria *Escherichia coli*, relacionada a aproximadamente 50% das infecções hospitalares, e de 70 a 90% dos episódios de infecções do trato urinário (ITU), atingindo indivíduos vulneráveis como crianças, idosos e gestantes, e é responsável por morbidade e altos custos financeiros no tratamento para pacientes e para sistemas públicos e privados de saúde. Em até 90% dos casos as ITUs acometem mulheres, especialmente jovens e sexualmente ativas, e aproximadamente 20% das mulheres na vida adulta. Tem-se conhecimento que a recorrência de ITU se dá através de duas cepas de *E. coli* são elas a NU14 e UT189 que formam saliências na superfície da bexiga por meio de biofilmes intracelulares, em que permanece protegida contra medicamentos, culminando em infecções. Esta bactéria adquiriu com o passar do tempo grande resistência a maioria dos antibióticos, como as ampicilinas, tetraciclina, estreptomicinas, sulfametoxazoles e carbenicilinas. Ainda que a resistência a antimicrobianos como nitrofurantoína e fluoroquinolonas tem permanecido baixa, já se tem observado um visível aumento, o que pode ser explicado pelo uso indiscriminado desses antibióticos (KORB et al., 2013).

Muitas substâncias têm sido testadas com a finalidade de se evitar o uso a antimicrobianos, entre estas o suco da *Vaccinium macrocarpon*, conhecida popularmente como Cranberry, arado-vermelho ou oxococo, é um fruto pequeno, globoso e vermelho (JESUS, 2013). Composto por água, alguns ácidos orgânicos, glicose, ácido ascórbico, frutose e proantocianidinas (PINA et al., 2011). É uma fruta vermelha, de sabor azedo, cultivada em alguns países da América do Norte. No início da década de 1980, estudos *in vitro* mostraram que o Cranberry era

¹ Acadêmica do curso de Farmácia do Centro Universitário de Maringá – UNICESUMAR, Maringá-Paraná. ludmilapini@gmail.com

² Orientadora, Professora Mestre do curso de Farmácia do Centro Universitário de Maringá – UNICESUMAR, Maringá-Paraná. louremi.souza@unicesumar.edu.br.



capaz de inibir cerca de 80% da aderência bacteriana no urotélio. O fruto tem uma substância chamada protoacnidina tipo A, com poder antioxidante 20 vezes mais potente que a vitamina C e 50 vezes mais potente que a vitamina E. No Brasil, o Cranberry pode ser encontrado na forma de suco, comprimidos manipulados ou em cápsulas gelatinosas (400 mg de extrato de Cranberry/cápsula) (PALMA, 2013). Assim a superfície das células uroepiteliais é revestida por mucopolissacarídeos que modulam a receptividade epitelial e previne a aderência bacteriana, a lesão dessa camada superficial permite o acesso bacteriano ao uroepitélio (MATOS,2012)

O uso do suco além de ser profilático é também importante, principalmente em casos de reinfecções sucessivas, com falhas na antibioticoterapia (JESUS, 2013). Em consequência do aumento do consumo do suco de Cranberry, atualmente sendo comercializado até mesmo em supermercados e farmácias de manipulação, foi então proposto o projeto tendo por objetivo final demonstrar a atividade antimicrobiana do suco de *Vaccinium macrocarpon* (Cranberry) sobre o crescimento de cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922, podendo assim incluir mais uma forma de tratamento sem ser o uso de antibacterianos que contribuem muito para a maior resistência dessas bactérias.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 PADRONIZAÇÃO DA SUSPENSÃO BACTERIANA

Utilizou-se como micro-organismo de referência a cepa de *Escherichia coli* estéril (ATCC 25922). Em salina estéril, padronizou-se a suspensão bacteriana até atingir uma turvação equivalente ao tubo 0,5 da escala MacFarland, que corresponde aproximadamente a 10^8 Unidades Formadoras de Colônias por mL (UFC/mL).

Para o teste de microdiluição, essa suspensão foi diluída em salina estéril a 1/10, correspondendo assim a 10^7 UFC/mL.

2.2 PREPARO DA SOLUÇÃO PARA CONTROLE POSITIVO DAS TÉCNICAS

Inicialmente, preparou-se uma suspensão de Ciprofloxacina 2mg/mL sendo diluída 1/100 2 vezes logo após tendo uma diluição 1/50 em soro fisiológico estéril obtendo-se a concentração de 0,004µg/mL.

2.3 OBTENÇÕES DAS AMOSTRAS

Três amostras de suco foram adquiridas em um supermercado da cidade de Maringá.

2.4 TESTES ANTIBACTERIANOS

2.4.1 Método De Difusão Ágar I

Para avaliação do suco, inseriu-se 10µL do mesmo em cada disco, sem realizar diluições.

Inoculou-se assepticamente e uniformemente com o auxílio de “swab” cepa de *E. coli* (10^8

UFC/mL), em placas com Ágar Muller-Hinton (AMH). Sendo inoculados 3 discos por placa. Para controle também foram submetidos discos dos antimicrobianos Ciprofloxacino e Sulfametoxazol + Trimetropim disponíveis no mercado, em todas as placas, totalizando 9 placas de testes.

Incubou-se as placas a 36°C/24horas. Após incubação foram realizadas as interpretações dos halos de inibição de crescimento ao redor do disco, medidos em mm.

2.4.2 Método De Difusão Ágar Ii

Em 9 placas de Ágar Muller-Hinton, inoculou-se cepa de *E. coli* (10 UFC/mL) pela mesma técnica anteriormente descrita. Em seguida, perfurou-se 3 poços para as de avaliação do suco, de aproximadamente 6,0mm, permitindo um espaço de 30mm entre cada poço. Volumes fixos do suco (0,1mL) foram então introduzidos nos orifícios da placa. Em cada placa utilizou-se 1 poço com Ciprofloxacina 0,004 µg/mL como controle positivo e como controle negativo usou-se salina.

Após as placas foram deixadas na bancada do laboratório por 40 minutos, para pré-difusão das diluições do suco e do antimicrobiano.

Posteriormente, foram incubadas a 36°C/24horas. A obtenção dos resultados foi realizada através da determinação do halo de inibição de crescimento ao redor do poço, medidos em mm.

2.4.3 Método da Diluição em Microplaca com Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Aos orifícios da coluna 1 da linha A ao H , foram adicionados 100 µL da solução de Ciprofloxacina 0,004 µg/mL + meio de cultura Muller- Hinton sendo o controle positivo.

Para o controle negativo foi usado somente Meio de Cultura Muller-Hinton + salina estéril.



Para o teste com o suco pronto para o consumo, adicionou-se 100 µL em todos os orifícios nas colunas 3 a 11, da linha A à H, sem realizar diluições. Sendo que na coluna 3,4 e 5 foi utilizado o suco 1, 6 ,7 e 8 suco 2 e 9,10 e 11 suco 3.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados que foram obtidos nesse experimento mostraram que através dos métodos de difusão em ágar e diluição em microplaca, foi possível observar ausência de atividade antibacteriana do suco do fruto *Vaccinium macrocarpon* (Cranberry), sobre a cepa de *E. coli* ATCC 25922, pois não houve a formação de halo de inibição em nenhum dos três sucos testados, e também houve turvação nos sucos na diluição da microplaca indicando crescimento bacteriano.

Outro estudo em andamento na Universidade da Califórnia, apresentou dados preliminares que sugerem que o suco de Cranberry tem alguma atividade antibacteriana, através de uma preparação cinco vezes mais concentrada que o suco comercialmente disponível. Mostrando que Cranberry pode ter sim, ação inibitória além da profilática já demonstrada (LEE et al. 2010).

Um fato importante que deve ser considerado é que estudos *in vitro* não permitem refletir a realidade, uma vez que não é possível verificar o mecanismo de ação dos agentes que ocorre no organismo *in vivo*, para que seja impedida a aderência da bactéria ao epitélio da bexiga. Fato que pode ser a razão do extrato em pó e o suco de Cranberry não terem apresentado atividade antibacteriana no presente estudo.

Com isso pode-se ressaltar que o uso de Cranberry até o devido momento não tem nenhuma comprovação científica de que tenha algum efeito profilático sobre a cepa de *E. coli* em infecções urinárias, nas concentrações comercializadas, necessitando de mais estudos para a comprovação de uso, evitando assim que o consumidor não seja mais uma vez ludibriado.

REFERÊNCIAS

AZEVEDO, C. P.; SILVA, J. O. Avaliação do perfil de resistência da Escherichia coli isolada de uroculturas e correlação com antibioticoterapias empíricas atualmente propostas. **Revista Multidisciplinar de Saúde, ano IV**, n. 7, p. 2-17, 2012.

JESUS, Tiago Filipe Pereira . **O mirtilo e suas propriedades terapêuticas**. 2013. Artigo disponível em: <http://hdl.handle.net/10284/3970>.

KORB, Arnildo et al. Perfil de resistência da bactéria Escherichia coli em infecções do trato urinário em pacientes ambulatoriais. **Rev Biol Ciênc Terra**, p. 72-9, 2013.

LEE, Yee-Lean. et al. Does Cranberry juice have antibacterial activity? *American Medical Association*. v. 283, n. 13, p. 1691, abr. 2010. Disponível em: www.jama.com. Acesso em: 20 set. 2015.

MATOS, Ana Isabel Soares de. Patogênese da Infecção Urinária. 2012. disponível em: <http://hdl.handle.net/10284/3567>

PALMA, Paulo. Cistite na mulher. **RBM. Revista brasileira de medicina**, v. 70, n. 10, p. 350-357, 2013.

PINA, Alexandra et al. Arando na profilaxia das infecções urinárias recorrentes: revisão baseada na evidência. **Revista Portuguesa de Clínica Geral**, v. 27, n. 5, p. 452-457, 2011.

VOLPATO, Débora C. Cranberry frente cepas de *Escherichia coli*. 2010. 20 f. TCC (Graduação) – Curso de Farmácia, Unicesumar, Maringá, 2010.