

ESTUDO DO PERFIL DE SENSIBILIDADE A EXTRATOS NATURAIS EM CEPAS BACTERIANAS ISOLADAS DE AMOSTRAS DE URINA DE EXAMES DE ROTINA EM PESSOAS DA TERCEIRA IDADE

STUDY ON THE PROFILE OF SENSITIVITY TO NATURAL EXTRACTS IN BACTERIAL STRAINS ISOLATED FROM URINE SAMPLES FROM ROUTINE EXAMINATIONS IN ELDERLY PEOPLE

ESTUDIO DEL PERFIL DE SENSIBILIDAD A EXTRACTOS NATURALES EN CEPAS BACTERIANAS AISLADAS DE MUESTRAS DE ORINA PROCEDENTES DE PRUEBAS ROTATIVAS EN INDIVIDUOS ANCIANOS

Melissa Consiglio Monqueiro¹
 Nicole Xagoraris²
 Matheus Salgado de Oliveira³
 Jorge Luis Costa Carvalho⁴
 Guilherme Rodrigues Teodoro⁵
 Sônia Khouri Sibelino⁶

Resumo: A fitoterapia tem sido estudada como alternativa para o tratamento de infecções do trato urinário (ITUs), comuns em idosos. Este estudo analisou amostras de urina de indivíduos com idade ≥ 55 anos para identificar alterações nos Elementos Anormais e Sedimentoscopia (EAS) associadas a culturas positivas. Também foi avaliada a sensibilidade dos patógenos isolados a duas preparações de cranberry (512 mg/mL e 128 mg/mL) e uma infusão de cavalinha (20 mg/mL). Foi utilizada a metodologia de microdiluição para determinar a concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração bactericida mínima (CBM) *in vitro*, com base em UFC/mL. Foram obtidas cinco culturas positivas para *Staphylococcus epidermidis* e *Escherichia coli*. Aproximadamente 60% dos resultados do EAS e das culturas de urina corresponderam aos critérios estabelecidos (nitrito, leucocitúria e bacteriúria). Os valores de CBM da solução de cranberry variaram entre 512 mg/mL e 32 mg/mL, enquanto a CIM variou entre 256 mg/mL e 16 mg/mL para *E. coli* e *S. epidermidis*. Não foi observada ação bactericida ou inibitória da infusão de cavalinha na concentração estudada.

Palavras-chave: infecção do trato urinário; fitoterapia; exames de rotina; extratos naturais; terceira idade.

Abstract: Phytotherapy has been studied as an alternative for treating urinary tract infections (UTIs), which are common in older adults. This study analyzed urine samples from individuals aged ≥ 55 to identify changes in Abnormal Elements and

¹ Formada em Biomedicina pela Universidade do Vale do Paraíba - Univap. E-mail: melissa_mel2002@hotmail.com.

² Graduanda na Universidade do Vale do Paraíba - Univap. E-mail: nicolexago14@gmail.com.

³ Professor membro do corpo docente da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade do Vale do Paraíba - Univap. E-mail: matheus.salgado@univap.br.

⁴ Pós-doutorando pela University of Saskatchewan (U of S) - Canadá. E-mail: auj201@usask.ca.

⁵ Supervisor de Microbiologia do Centro de Estudos e análises Microbiológicas (CEAM) da empresa Golden Technology. E-mail: guiteodoro@gmail.com.

⁶ Doutora em Ciências Biomédicas em Microbiologia pelo Instituto de Ciências Biomédicas pela Universidade de São Paulo - USP. E-mail: skkhour@gmail.com.

Sedimentoscopy (EAS) associated with positive cultures. The sensitivity of isolated pathogens was also evaluated against two cranberry preparations (512 mg/mL and 128 mg/mL) and a horsetail infusion (20 mg/mL). A microdilution method was used to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) in vitro based on CFU/mL. Five positive cultures were obtained for *Staphylococcus epidermidis* and *Escherichia coli*. Around 60% of the EAS results and urine cultures matched the established criteria (nitrite, leukocyturia, and bacteriuria). The MBC values for the cranberry solution ranged between 512 mg/mL and 32 mg/mL, while the MIC varied between 256 mg/mL and 16 mg/mL for *E. coli* and *S. epidermidis*. No bactericidal or inhibitory action was observed for the horsetail infusion at the studied concentration.

Keywords: urinary tract infection; phytotherapy; routine tests; natural extracts; elderly.

Resumen: La fitoterapia ha sido estudiada como alternativa para tratar infecciones del tracto urinario (ITU), frecuentes en adultos mayores. Este estudio analizó muestras de orina de individuos ≥ 55 años para identificar cambios en Elementos Anormales y Sedimentoscopia (EAS) asociados con cultivos positivos. También se evaluó la sensibilidad de los patógenos aislados frente a dos preparaciones de arándano (512 mg/mL y 128 mg/mL) y una infusión de cola de caballo (20 mg/mL). Se utilizó microdilución en pocillos para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) y bactericida (CMB) in vitro según UFC/mL. Se obtuvieron cinco cultivos positivos para *Staphylococcus epidermidis* y *Escherichia coli*. Alrededor del 60% de los resultados del EAS y los cultivos coincidieron con los criterios establecidos (nitrito, leucocituria y bacteriuria). Los valores de CMB de la solución de arándano variaron entre 512 mg/mL y 32 mg/mL, mientras que la CMI osciló entre 256 mg/mL y 16 mg/mL para *E. coli* y *S. epidermidis*. No se observó acción bactericida o inhibitoria de la infusión de cola de caballo a la concentración estudiada.

Palabras clave: infección del tracto urinario; fitoterapia; exámenes de rutina; extractos naturales; tercera edad.

Data de submissão: 11.12.2023

Data de aprovação: 21.01.2025

Identificação e disponibilidade:

(<https://revista.univap.br/index.php/revistaunivap/article/view/4545>,
<http://dx.doi.org/10.18066/revistaunivap.v31i70.4545>).

1 INTRODUÇÃO

Ao longo da história da humanidade, as plantas têm desempenhado um papel crucial na promoção da saúde e bem-estar e no tratamento de enfermidades. A fitoterapia abrange o conhecimento ancestral juntamente com estudos científicos e pesquisas, referindo-se à prática terapêutica baseada no uso de medicamentos que possuem componentes ativos provenientes de plantas ou derivados vegetais, e que tem sua origem no conhecimento e no uso popular (Ministério da Saúde, 2012).

No Brasil, em acordo com as orientações da Organização Mundial da Saúde (OMS), em 2006, foi aprovada a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no Sistema Único de Saúde (PNPIC), onde destacou-se a Política

Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, que também foi aprovada em 2006 por meio de decreto presidencial, estabelecendo diretrizes e ações abrangentes para toda a cadeia produtiva de plantas medicinais e fitoterápicas (Ministério da Saúde, 2012).

No SUS, a distribuição das ações e programas com plantas medicinais e a fitoterapia ocorrem de maneira diferenciada nas regiões do país, em relação aos produtos e serviços designados e, principalmente, às espécies das plantas medicinais disponibilizadas em razão dos diferentes climas e biomas. Em estados/municípios específicos, há políticas e legislações exclusivas para o serviço da fitoterapia no SUS e, quanto à acessibilidade dos produtos, as unidades de saúde, em sua maioria, disponibilizam a planta medicinal *in natura*, planta medicinal seca (droga vegetal), fitoterápico manipulado e fitoterápico industrializado (Rodrigues et al., 2011).

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, embora os mecanismos precisos dos fitoterápicos ainda não sejam completamente compreendidos, há sugestões de que seus componentes químicos atuem interrompendo a proliferação microbiana. Estudos revelaram que certas plantas são comumente utilizadas para tratar ITUs, tais como: *Vaccinium macrocarpon* (Cranberry), *Arctostaphylos uva-ursi* (Uva-ursina), *Urtica dioica* L. e *Urtica urens* L. (Urtiga), *Equisetum arvense* (Cavalinha), *Echinacea purpurea* (Equinácea), *Orthosiphon aristatus* (Chá-de-Java) e *Solidago virgaurea* (Vara-de-Ouro) (Agência Nacional de Vigilância Sanitária [ANVISA], 2013; Lopes & Cechinel-Zanchett, 2021).

O *Equisetum arvense*, mais conhecido como cavalinha, tem apresentado eficácia no tratamento de questões relacionadas a infecção no sistema urinário e cálculos renais, visto que apresenta ação diurética, antimicrobiana e efeitos anti-inflamatórios. Esta planta é rica em flavonóides, compostos fenólicos e minerais, conferindo-lhe propriedades diuréticas e antimicrobianas direcionadas contra *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*. Pesquisas apontam que tanto o extrato etanólico, quanto o creme formulado com base em *Equisetum arvense*, exibiram atividade antibacteriana comprovada *in vitro* (Santos, 2016). Além disso, um estudo de Castro e colaboradores (2011) apresentou como resultado do extrato glicólico de *Equisetum arvense* uma efetiva atividade microbicida de todas as cepas testadas na concentração de 50mg/mL, dentre elas *S. aureus*, *S. epidermidis* e *S. mutans*, expondo a capacidade biológica do vegetal atribuída ao componente timol, um monoterpene fenólico.

Outra alternativa fitoterápica para o tratamento de infecções do trato urinário, de acordo com Lopes e Cechinel-Zanchett (2021), é o cranberry, cientificamente conhecido como *Vaccinium macrocarpon*. Este é constituído por elementos fitoquímicos, sendo um dos mais importantes elementos as proantocianidinas. Os taninos possuem a capacidade de inibir a ligação bacteriana às superfícies celulares, bloquear a entrada de agentes patogênicos e reduzir a formação de biofilme. Isso leva à prevenção da aderência à matriz polimérica e impede a fixação das fímbrias. Como resultado, essas características fazem com que as proantocianidinas sejam recomendadas para a prevenção e o tratamento sintomático de ITUs.

Segundo Nunes (2021), o *Vaccinium macrocarpon* é frequentemente empregado em mulheres de forma preventiva, no tratamento das infecções urinárias e, principalmente, na terapia profilática de cistites de repetição. Visto isso, a infecção do trato urinário (ITU) é uma patologia frequente caracterizada por uma resposta do organismo frente a uma invasão bacteriana que acomete pessoas do mundo todo (Lopes & Cechinel-Zanchett, 2021). As ITUs são definidas pela presença de agentes infecciosos na urina, podendo acometer as regiões do trato urinário da uretra até os

rins, em quantidade igual ou superior a 10 mil unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/mL), podendo ser sintomáticas ou assintomáticas. As ITUs são mais frequentes em crianças até 6 anos de idade, mulheres jovens com vida sexual ativa e idosos com mais de 60 anos de idade (Masson et al., 2020).

O envelhecimento é um processo contínuo, dinâmico e progressivo, que envolve diversas alterações morfológicas, funcionais, bioquímicas e psicológicas. Estas mudanças resultam na diminuição da manutenção da capacidade homeostática do organismo, onde se observa a crescente ocorrência das síndromes geriátricas, sendo uma delas a incontinência urinária, a qual se caracteriza pela perda involuntária de urina e acomete cerca de 15% a 30% dos idosos que vivem em domicílio e 50% dos idosos residentes em instituições de longa permanência (Melo et al., 2017). Sendo assim, a população geriátrica possui maior risco de adquirir essas infecções por razões de mudanças fisiológicas causadas pelo envelhecimento e a diminuição da capacidade funcional (Corrêa & Montalvão, 2010).

As ITUs podem se manifestar pela disúria, incontinência de urgência, dor suprapúbica, polaciúria e acometimento dos rins (pielonefrite aguda); contudo, em casos severos de pielonefrite, os pacientes podem apresentar outros sintomas, como taquicardia, febre e sensibilidade na região costovertebral (Silva et al., 2023). Desta maneira, um diagnóstico preciso é essencial para que a terapêutica seja eficaz no prognóstico das infecções; sendo assim, as infecções do trato urinário são diagnosticadas a partir da correlação do exame de Elementos Anormais e Sedimentoscopia (EAS), o qual avalia os aspectos físico-químicos pela fita reativa, e microscópicos, com a contagem de leucócitos, hemácias, presença de bacteriúria, cristais e cilindros. Como método de diagnóstico laboratorial padrão-ouro, realiza-se um exame quantitativo do crescimento microbiano, a urocultura com antibiograma, que isola e identifica os micro-organismos causadores das infecções, bem como o perfil de sensibilidade do agente etiológico frente aos antibióticos testados (Masson et al., 2020).

Estudos realizados indicaram que os agentes bacterianos mais comuns nas ITUs são as bactérias Gram-negativas, especialmente a *Escherichia coli*, que representa 82% dos casos, tanto na infecção sintomática como na assintomática, seguindo por ordem de frequência: *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus* spp., *Staphylococcus saprophyticus* e *Streptococcus agalactiae*. As ITUs constituem a maior causa de sepse bacteriana em idosos acima de 65 anos (Malinovski & Estorillo, 2021).

Os antibióticos são frequentemente utilizados como tratamento principal para infecções do trato urinário (ITU); no entanto, devido à sua utilização excessiva e sem critério, diversas bactérias patogênicas desenvolveram resistência, tornando seu uso menos eficaz. Um estudo indicou que 82% das amostras de *Escherichia coli* apresentaram padrões de resistência a múltiplos antibióticos; desta maneira, o aumento na prevalência desses padrões sugere um uso inadequado de antibióticos na prática clínica (Lopes & Cechinel-Zanchett, 2021).

Assim sendo, Santos e Sirtoli (2023) demonstraram que o uso de plantas medicinais e fitoterápicos é uma prática muito comum e frequente na população idosa. Entretanto, o uso de práticas complementares está em expansão, sendo ainda necessário o desenvolvimento de pesquisas nessa área, de maneira que comprovem os componentes dos ativos e as possíveis interações medicamentosas que essas práticas podem causar, enriquecendo o conhecimento dos profissionais e estudantes da área da saúde, ajudando a tornar a implementação das práticas fitoterápicas no SUS mais seguras e eficazes.

Diante do exposto, o presente estudo possui como objetivo avaliar alterações no exame de EAS (Elementos Anormais do Sedimento), particularmente em relação aos leucócitos, presença de bactérias e nitritos, em amostras de urina de rotina, que poderiam apresentar resultado positivo para urocultura, com contagem de colônias igual ou superior a 10.000 UFC/mL, e também estudar o perfil de sensibilidade, *in vitro*, das cepas isoladas, com extrato fitoterápico de *Vaccinium macrocarpon* e *Equisetum arvense*.

2 METODOLOGIA

O estudo foi encaminhado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos - Univap, por meio de um sistema unificado, a Plataforma Brasil. Número do parecer 6.091.040 e protocolo de envio 040533/2023.

A coleta da amostra foi realizada na Faculdade da Terceira Idade da Univap, localizada no centro de São José dos Campos - SP, com os alunos que se encaixavam nos critérios de inclusão, os quais teriam que ser pessoas a partir de 55 anos e pessoas 60+, idosos, alunos da Faculdade da Terceira Idade, que poderiam estar ou não com suspeita de infecção do trato urinário e que estivessem de acordo com o TCLE. As pessoas que estivessem fazendo uso de antibióticos e/ou uso de dispositivo uretral de longa permanência não estariam aptas para participarem do estudo. A coleta da amostra de urina foi desempenhada na FTI (Faculdade da Terceira Idade), onde, primeiramente, foi explicado todo o projeto e realizada a leitura do TCLE juntamente com os participantes. Dessa maneira, foram instruídas as recomendações para a coleta da urina de acordo com o POP (Procedimento Operacional Padrão) do Centro Diagnóstico Laboratorial da Univap, a fim dos mesmos a realizarem. Após a coleta, as amostras foram encaminhadas ao laboratório, onde a urocultura foi realizada primeiramente. A urocultura é um método padrão-ouro, que foi utilizado para confirmar o diagnóstico de ITU. As uroculturas foram processadas pelo método da semeadura por espalhamento, com alça calibrada de 10 µL em meio de ágar CLED (OXOID - Inglaterra), ágar MacConkey (DIFCO - França) e ágar Manitol (KASVI - Espanha) e as placas foram incubadas em estufa bacteriológica (Modelo A-LT da FANEN - São Paulo - Brasil) à temperatura de 36 °C por 18 a 24 horas. As amostras que apresentaram mais de 10.000 UFC/mL foram consideradas positivas. Após o isolamento das colônias crescidas no meio de cultura, foi realizada a identificação dos micro-organismos, primeiramente, pela coloração de Gram, onde foram classificadas as bactérias em gram positivas (cocos, *Staphylococcus epidermidis*) e gram negativas (bacilos, *Escherichia coli*) e, por fim, realizados os testes bioquímicos (Rugai para micro-organismos gram negativos e prova da catalase e coagulase para gram positivos). Desta maneira, somente para as amostras que foram positivas, foi realizado o antibiograma manual para teste da suscetibilidade das cepas isoladas aos antimicrobianos comerciais. Além disso, concomitantemente, foi executado o exame EAS (Elementos Anormais e Sedimentoscopia) da amostra, a fim de auxiliar na triagem do diagnóstico na suspeita de ITU, sendo realizada a parte da fita reativa (Lumiratek - BioSystems NE, Espanha/Brasil), através de um equipamento semi-automatizado para a análise bioquímica, como densidade, pH, proteína, glicose, corpos cetônicos, bilirrubina, urobilinogênio, sangue, nitrito e esterase leucocitária. O exame também é composto pela análise física da urina; sendo assim, foram examinados a cor, o aspecto e o sedimento.

Além das análises físico-químicas, foi executada a centrifugação da amostra para a realização da avaliação microscópica na K-Cell (CRAL- Brasil) com ênfase no

sedimento urinário. Nessa etapa foi possível efetuar a contagem de hemácias, leucócitos, células tubulares, células epiteliais, se havia cilindros, filamentos de muco e cristais. Sendo assim, o exame de Elementos Anormais e Sedimentoscopia demanda a realização da urocultura, a fim de obter a confirmação da presença de micro-organismos existentes e provável ITU.

Após a observação das colônias crescidas na urocultura, os micro-organismos foram isolados para serem realizados os testes do perfil de sensibilidade das cepas ATCC (*E. coli*, nº 12.241, e *S. epidermidis*, nº 12.228) e dos isolados clínicos à ação da solução de cranberry e do chá de cavalinha. Os testes foram primeiramente realizados a partir da preparação da solução do cranberry em pó (vendido comercialmente - Cranberry CR Herbarium), com a preparação de duas soluções com concentrações diferentes, de 128 mg/mL e de 512 mg/mL, sendo ambas filtradas para um frasco âmbar esterilizado. Juntamente, foi preparada a infusão do *Equisetum arvense* a partir da parte aérea (extrato seco), a qual foi preparada por infusão com 20 mg/mL do extrato em água destilada, medida a qual é recomendada pelo Conselho Regional de Farmácia do Estado de São Paulo [CRFSP] (2019), devendo a preparação medicinal da cavalinha com partes aéreas ser realizada por infusão contendo 3 g em 150 mL, com administração realizada via oral, sendo indicado para adultos uma xícara de chá de 2 a 4 vezes ao dia (CRFSP, 2019). Para o controle positivo, foi utilizada uma solução manipulada de Ciprofloxacina na concentração de 64 µg/mL em ambos os testes. Para tal, realizou-se o repique das cepas 24 a 48 horas antes do experimento e, após, foi preparado o inóculo, onde, com o auxílio de uma alça descartável, uma colônia foi inoculada em 10 mL de caldo BHI (KASVI - Espanha), seguido de incubação *overnight* (18 horas) a 36 °C.

O experimento foi realizado em placa de 96 poços, de maneira análoga para ambas as soluções fitoterápicas, sendo o poço 1 para o controle positivo (100 µL da solução de Ciprofloxacina manipulada mais 5 µL do inóculo) e o poço 2 para o controle negativo (100 µL do caldo BHI e 5 µL do inóculo). Desta maneira, o poço seguinte (poço 3) ocupou a maior concentração da solução, primeiramente com 200 µL. A partir do poço com a maior concentração, do poço de número 4 até o de número 10 foram pipetados 100 µL de caldo BHI em cada, a fim de, ao final da microdiluição, obter 100 µL em todos os poços. Em seguida, foram pipetados 100 µL do conteúdo do poço 3 e transferidos para o poço 4, homogeneizando 3 vezes com a pipeta e transferindo para o poço 5, assim sucessivamente até o último poço. Após a microdiluição, foram pipetados 5 µL do inóculo em todos os poços, para assim incubar a placa na estufa por 16 a 20 horas (CLSI, 2018).

Posteriormente ao tempo de incubação do experimento na placa de 96 poços, uma alíquota de 5 µL das diferentes diluições testadas foi semeada em Ágar Müller-Hinton (referência/fornecedor) e incubada a 37 °C por 24h para análise da formação ou ausência das UFC/mL de cada diluição, para a determinação da CIM (Concentração Inibitória Mínima), que foi definida como a menor concentração do extrato, suficiente para impedir o metabolismo da célula bacteriana e a CBM (Concentração Bactericida Mínima), que consiste na menor concentração do extrato que seja capaz de causar morte celular da bactéria (Santurio et al., 2007).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre as 12 amostras analisadas, cinco (41,65%) apresentaram crescimento microbiano na urocultura, sendo identificado *Staphylococcus epidermidis* em três amostras, e *Escherichia coli* em duas. Aproximadamente 60% dos resultados dos testes de exame de urina tipo I (EAS) e urocultura revelaram uma correlação nos aspectos de leucocitúria, nitrito e bacteriúria (Tabela 1).

Tabela 1 - Amostras que apresentaram urocultura positiva e os respectivos parâmetros do exame EAS.

Amostras	Urocultura	Leucócitos	Nitrito	Bacteriúria
02	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	16.000/mL	Negativo	Aumentada
03	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	20.000/mL	Positivo	Aumentada
07	<i>Escherichia coli</i>	15.000/mL	Negativo	Aumentada
10	<i>Escherichia coli</i>	0/mL	Positivo	Aumentada
12	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0/mL	Negativo	Aumentada

Fonte: autores, 2023.

As infecções urinárias referem-se à presença e à multiplicação de bactérias no trato urinário, provocando danos aos tecidos, podendo acometer desde a uretra até os rins. As ITUs são comuns em todo o mundo, sendo estimadas em 150 milhões de acometimentos por ano, de maneira que as ITUs com complicações geram sobrecarga aos sistemas de saúde devido às constantes hospitalizações. Visto isso, as aparições desse tipo de infecção são em grande porcentagem em mulheres adultas, sendo que em mulheres acima de 60 anos essa prevalência aumenta, em consequência das baixas e, muitas vezes, da falta de hormônios significativos como estrogênio, relaxamento do assoalho pélvico, perda da flora vaginal e Diabetes Mellitus (Lopes & Cechinel-Zanchett, 2021). Diante disso, existe uma maior prevalência no sexo feminino devido à anatomia do trato urinário, a qual facilita a contaminação microbiana, e torna as mulheres mais sensíveis a essa contaminação (Moraes et al., 2021). Assim sendo, o diagnóstico das ITUs é realizado a partir do exame de Elementos Anormais e Sedimentoscopia (EAS), analisando os parâmetros de bacteriúria, leucocitúria e nitrito, e confirmado pelo método padrão-ouro, a urocultura. Das 5 amostras positivas, 3 tiveram correlação do exame EAS com a urocultura positiva, indicando que esses exames possuem boa associação diagnóstica para confirmação dessas infecções.

Contudo, com base nos resultados alcançados nos exames EAS juntamente com a urocultura, é possível observar que o nitrito não foi utilizado como parâmetro de referência decisiva, devido à presença de bactérias que possuem enzima redutora de nitrato para nitrito, enquanto outras não possuem esse tipo de metabolismo. Portanto, esse fator não está diretamente ligado ao diagnóstico de infecção do trato urinário, conforme evidenciado por estudos de Marques e colaboradores (2017), que destacam a baixa sensibilidade do nitrito para culturas positivas e reiteram que, em amostras resultadas em bactérias Gram-negativas em nitrito negativo, pode ser apontado que o micro-organismo pode exigir um período de mais de 4 horas para a realização da redução do nitrato a nitrito, e também nem todos os bacilos Gram-negativos apresentam a enzima nitrato redutase.

Dentre os resultados apresentados, a bacteriúria assintomática foi observada nas amostras 10 e 12, sendo conceituada pela presença de urocultura positiva em

uma amostra de paciente sem quaisquer sintomas urinários, tratando-se de uma condição clínica relativamente habitual em pessoas saudáveis, como também em idosos. No entanto, as ITUs são consideradas complicações agravantes em pacientes que possuem anomalia no trato genitourinário, que envolvem geralmente fatores estruturais/anatômicos ou estados patológicos subjacentes, como a diabetes e a bacteriúria assintomática, que requer tratamento e observação do quadro clínico do paciente (Nunes, 2021). Dessa forma, nas amostras 10 e 12 foi constatado um desequilíbrio na leucocitúria (0/mL) com bacteriúria (aumentada) em ambas as amostras, indicando quadro de bacteriúria assintomática.

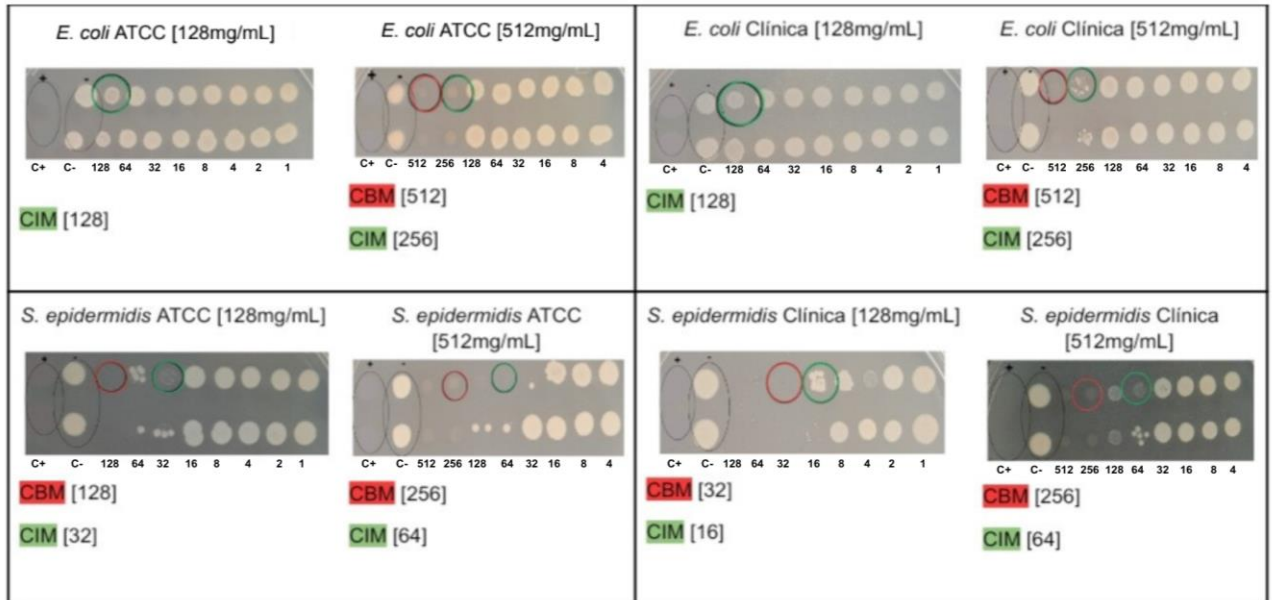
Tabela 2 - Resultados da CBM (Concentração Bactericida Mínima) e da CIM (Concentração Inibitória Mínima) do perfil de sensibilidade das cepas ATCC e clínicas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus epidermidis* ao extrato de cranberry.

Amostras	Micro-organismos	Solução [128 mg/mL]		Solução [512 mg/mL]	
		CBM	CIM	CBM	CIM
Cepa ATCC	<i>Escherichia coli</i> ATCC (12.241)	-	[128]	[512]	[256]
Amostra 7	<i>Escherichia coli</i>	-	[128]	[512]	[256]
Amostra 10	<i>Escherichia coli</i>	-	-	[512]	[256]
Cepa ATCC	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC (12.228)	[128]	[32]	[256]	[64]
Amostra 2	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	[128]	[32]	[256]	[64]
Amostra 3	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	[32]	[16]	[64]	[16]
Amostra 12	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	[128]	[64]	[256]	[32]

Fonte: autores, 2023.

Ao analisar a tabela 2, verificou-se que a solução de cranberry com a concentração de 128 mg/mL demonstrou atividade bactericida (CBM) contra as cepas de *S. epidermidis* (ATCC 12.228) e *S. epidermidis* 2, 3 e 12 nas concentrações [32] e [128], evidenciando a eficiência das soluções testadas. Entretanto, as concentrações mais diluídas não exibiram eficácia contra as cepas. Em relação à cepa de *E. coli* da amostra 10, a CBM e a Concentração Inibitória Mínima (CIM) na solução de 128 mg/mL não se mostraram eficazes. Em contrapartida, na solução de 512 mg/mL, tanto a CIM quanto a CBM demonstraram efeito antibacteriano; portanto, na solução a 512 mg/mL, observou-se efeito bactericida e inibitório para todas as cepas.

Figura 1 - Figura ilustrativa da determinação da CBM (Concentração Bactericida Mínima) e da CIM (Concentração Inibitória Mínima) a partir das UFC/mL das cepas ATCC e dos isolados clínicos frente às diferentes concentrações da solução de cranberry. A leitura foi realizada da direita para esquerda (menor para maior concentração).



Fonte: autores, 2023.

As plantas medicinais possuem capacidade de aliviar ou curar enfermidades e têm tradição de uso pela população ou comunidade. Elas possuem centenas ou milhares de diferentes substâncias que, se usadas corretamente, atuam no organismo como prevenção, tratamento ou cura de doenças. Os fitoterápicos são medicamentos feitos com plantas medicinais, que são comercializados ou distribuídos em formas farmacêuticas (ANVISA, 2022).

Perante o exposto, os componentes presentes no fruto do *Vaccinium macrocarpon* foram reconhecidos como compostos que interferem na adesão bacteriana nos tecidos, visto que a propriedade antiaderente do fruto é proveniente de compostos específicos, sendo principalmente as proantocianidinas, que são constituídas por monômeros de catequina e epicatequina (França et al., 2014). A literatura demonstra e confirma, através de estudos *in vitro* e *in vivo*, que o cranberry é uma terapia eficaz para profilaxia e tratamento das infecções urinárias. Um estudo de Ventura (2016) relatou o caso de uma paciente que apresentava infecção urinária recorrente por *Escherichia coli* (>1.000.000 UFC/mL) resistente à Ciprofloxacina. Ela foi submetida a um tratamento de 20 dias utilizando 5 g do fruto, o que é equivalente a 18 mg de proantocianidinas, dissolvido em 250 mL de água, duas vezes ao dia. Após 6 dias de tratamento, a paciente apresentou-se assintomática e com exame de urocultura negativo, demonstrando eficácia da terapia contra a infecção.

Vale ressaltar que bactérias se fixam ao epitélio do trato urinário pelas fímbrias. Essa adesão através das fímbrias é inibida pela frutose presente no *Vaccinium macrocarpon*. Porém, algumas cepas bacterianas mais virulentas, como cepas de pacientes com ITU de repetição, exibem fímbrias diferentes, intituladas p-fímbrias, diretamente relacionadas com a infecção do trato urinário recorrente e com a pielonefrite aguda, podendo ser inibidas pelas proantocianidinas (Dagostin, 2016).

Sendo assim, a partir do teste do perfil de sensibilidade das cepas frente ao *Vaccinium macrocarpon* foi comprovado seu efeito bactericida. Dessa forma, foi apresentado os resultados obtidos principalmente nas cepas clínicas, sendo elas,

Escherichia coli amostra 7 nas concentrações 128 mg/mL e 512 mg/mL e *Staphylococcus epidermidis* amostra 3 na concentração de 128 mg/mL e amostra 2 na concentração de 512 mg/mL, as quais apresentaram-se visualmente atrativas para a exposição na figura (Figura 1). Visto isso, o desfecho mais significativo do teste de sensibilidade foi obtido na solução de 512 mg/mL com as cepas de *Staphylococcus epidermidis*, onde foi possível observar a CBM em todas as cepas, até mesmo em concentrações menores quando comparada às cepas de *Escherichia coli*.

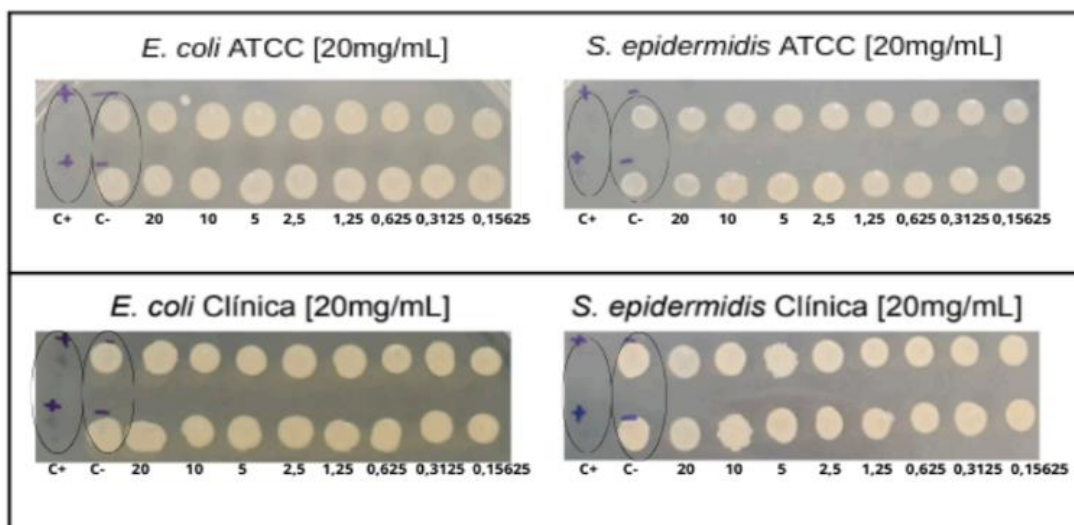
Tabela 3 - Resultados da CBM (Concentração Bactericida Mínima) e da CIM (Concentração Inibitória Mínima) para o perfil de sensibilidade das cepas ATCC e clínicas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus epidermidis* frente à infusão de cavalinha.

Amostras	Micro-organismos	Infusão aquosa de cavalinha [20 mg/mL]	
		CBM	CIM
Cepa ATCC	<i>Escherichia coli</i> ATCC (12.241)	-	-
Amostra 7	<i>Escherichia coli</i>	-	-
Amostra 10	<i>Escherichia coli</i>	-	-
Cepa ATCC	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC (12.228)	-	-
Amostra 2	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-	-
Amostra 3	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-	-
Amostra 12	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-	-

Fonte: autores, 2023.

Na Tabela 3 são apresentados os resultados do teste de sensibilidade frente à cavalinha, demonstrando que a infusão aquosa de 20 mg/mL não teve efeito bactericida ou bacteriostático em nenhuma das cepas testadas.

Figura 2 - Figura ilustrativa da determinação da CBM e CIM perante o experimento com a infusão de cavalinha sobre as cepas ATCC e clínicas (amostra 7 de *Escherichia coli* e amostra 2 de *Staphylococcus epidermidis*) isoladas. A leitura foi realizada da direita para esquerda (da menor para a maior concentração).



Fonte: Os autores, 2023.

Um estudo realizado por Oliveira (2011) avaliou o perfil de sensibilidade do extrato de *Equisetum arvense* (cavalinha) em concentração inicial de 200 mg/mL para as cepas ATCC, tendo observado CMM (Concentração Microbicida Mínima) de 25 mg/mL para a cepa ATCC de *S. epidermidis*. Portanto, pode-se alinhar em experimentos futuros uma maior concentração da solução de cavalinha a ser testada.

Dessa maneira, verifica-se que as plantas medicinais possuem efeitos benéficos no controle das infecções bacterianas; entretanto, é importante considerar que, em ambos os extratos testados (*Vaccinium macrocarpon* e *Equisetum arvense*), as ações bactericidas e/ou inibitórias dependem das concentrações estabelecidas, das formas de preparo e do inóculo bacteriano.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por meio da análise de amostras laboratoriais de rotina, pode-se concluir que as alterações observadas nos resultados do exame EAS e a detecção positiva na urocultura demonstraram uma relação diagnóstica significativa na confirmação de infecções do trato urinário (ITUs). Isso ocorre devido à correlação geralmente observada entre os aspectos físicos, químicos e microbiológicos desses exames. Portanto, enfatiza-se a importância da realização regular de exames de urina, especialmente em pessoas idosas, uma vez que quase metade das amostras analisadas apresentou a presença de bactérias clinicamente relevantes. Além disso, observou-se que a solução de cranberry mostrou eficácia na inibição ou eliminação das cepas bacterianas isoladas, reiterando seu potencial clínico como uma abordagem efetiva na redução dos riscos associados a ITUs em pessoas idosas, dependendo da concentração do extrato. Contudo, a cavalinha, quando preparada por infusão, na concentração testada de 20 mg/mL, não demonstrou atividade antimicrobiana, ressaltando a importância de se realizarem mais estudos em relação ao modo de preparo e, especialmente, sobre a concentração utilizada. O ajuste da concentração pode ser crucial para comprovar o efeito antimicrobiano *in vitro* que, por sua vez, poderá auxiliar no tratamento de infecções do trato urinário (ITUs).

REFERÊNCIAS

- Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2022). *Orientações sobre o uso de fitoterápicos e plantas medicinais*. Anvisa.
- Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (2013). *Microbiologia clínica para o controle de infecção relacionada à assistência à saúde. Módulo 4: Procedimentos Laboratoriais: Da Requisição do Exame à Análise Microbiológica e Laudo Final*. Anvisa.
- Castro, V., Oliveira, J., Vilela, P., Carvalho, C., Rocha, R., Cardoso, A., & Oliveira, L. (2011). *Efeito microbicida do extrato glicólico de Equisetum arvense (cavalinha) sobre Staphylococcus spp., Streptococcus mutans e Candida spp.* *Anais Eletrônico do XV Encontro Latino Americano de Iniciação Científica da Universidade do Vale do Paraíba*. Univap. https://www.inicepg.univap.br/cd/INIC_2011/anais/arquivos/RE_0360_0317_01.pdf

- Corrêa, E. F., & Montalvão, E. R. (2010). Infecção do trato urinário em geriatria. *Revista EVS-Revista de Ciências Ambientais e Saúde*, 37(4).
- Conselho Regional de Farmácia do Estado de São Paulo. (2019). *Plantas Medicinais e Fitoterápicas*. Departamento de Apoio Técnico e Educação Permanente Comissão Assessora de Plantas Medicinal e Fitoterápica.
- Dagostin, S. F. F. (2016). *Utilização de Vaccinium macrocarpon (Cranberry) para prevenção de infecção urinária recorrente: revisão da literatura e divulgação a profissionais de saúde*. [Monografia especialização em Farmacologia, Universidade do Extremo Sul Catarinense]
<http://repositorio.unesc.net/handle/1/3605>
- França, A. C. Y. R., Coutinho, V. G., & Spexot, M. C. (2014). O Consumo do Cranberry no Tratamento de Doenças Inflamatórias. *Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde*, 18(1), 47-53.
- Lopes, M., & Cechinel-Zanchett, C. C. (2021). Infecções do trato urinário: uma revisão sobre as evidências científicas das principais plantas medicinais utilizadas na prática clínica. *Infarma-Ciências Farmacêuticas*, 33(1), 18-30.
- Malinovski, E., & Estorillo, A. L. A. (2021). Bactérias mais frequentes no trato urinário. *Revista Saúde e Meio Ambiente: RESMA*, 12(1), 121-134.
- Marques, A. G., Pasternak, J., Damascena, M. D. S., França, C. N., & Martino, M. D. V. (2017). Desempenho da fita de urina como resultado presuntivo para cultura de urina negativa. *Einstein (São Paulo)*, 15, 34-39.
- Masson, L. C., Martins, L. V., Gomes, C. M., & Cardoso, A. M. (2020). Diagnóstico laboratorial das infecções urinárias: relação entre a urocultura e o EAS. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*, 52(1), 77-81.
- Melo, L. S, Ercole, F. F, Oliveira, D. U, Pinto, T. S, Victoriano, M.A, & Alcoforado C.L.G.C (2017). Urinary tract infection: a cohort of older people with urinary incontinence. *Revista Brasileira de Enfermagem*, 70(4), 838-844.
- Ministério da Saúde. (2012). *Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na atenção básica*. MS.
- Moraes, A. H. N., Feliciano, L. C., de Lima, R. J., de Lima, R. J., & Cardoso, A. M. (2021). Interface entre a urocultura, o EAS e o hemograma nas infecções do trato urinário. *Revista Brasileira Militar de Ciências*, 7(19).
- Nunes, L. C. (2021). *Plantas medicinais: fitoterapia nas infecções do trato urinário* [Tese de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas].
<http://hdl.handle.net/10451/52707>
- Oliveira, J. R. D. (2011). *Ensaio de citotoxicidade de extratos naturais após determinação da concentração microbicida mínima para Staphylococcus spp., Streptococcus mutans e Candida spp.* [Dissertação de mestrado. Universidade

Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de São Jose dos Campos].
<http://hdl.handle.net/11449/95044>

- Rodrigues, A. G., Santos, M. G., & Simoni, C. (2011). *Fitoterapia na saúde da família*. Sociedade Brasileira de Medicina de Família e Comunidade (Org.). Programa de Atualização em Medicina de Família e Comunidade, ciclo 5.
- Santos, M. S. S. (2016). *A Fitoterapia na Prevenção e Tratamento de Infecções do Trato Urinário Experiência Profissionalizante na Vertente de Farmácia Comunitária, Hospitalar e Investigação*. [Doctoral Dissertation, Universidade da Beira Interior].
- Santos, E. M., & Sirtoli, G. M. (2023). *O uso de plantas medicinais e fitoterápicos por idosos e a importância da atuação farmacêutica na sua orientação*. Unisales. https://unisales.br/wp-content/uploads/2021/12/UNISALES_TCC-FARMACIA-2021-eduarda.pdf
- Santurio, M.J.; Santurio, D.F.; Pozzati, P.; Moraes, C.; Franchin, P.R.; Alves, S.H. (2008). *Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente a sorovares de Salmonella de origem avícola*.
- Silva, A. C. S., Miotto, A. R., Bernardelli, S. N. Ú. & Pereira, V. C. (2023). *Staphylococcus saprophyticus: fatores de virulência, susceptibilidade antimicrobiana e infecções do trato urinário*. *Brazilian Journal of Health Review*, 6(6), 27895-27906.
- Ventura, J. (2016). *Infecção del tracto urinario por Escherichia coli resistente a antibióticos tratada con Vaccinium macrocarpon (arándano rojo): reporte de caso*.