

O EFEITO DO PH NA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO CIPROFLOXACINO EM BACTÉRIAS GRAM NEGATIVAS ISOLADAS DA URINA DE PACIENTES INTERNADOS EM UM HOSPITAL ENSINO.

Mayara Assumpção Lolis Baveloni (PIBIC/FA), Mirian Nicéa Zarpello, Sheila Alexandra Belini Nishiyama (co-orientadora), Maria Cristina Bronharo Tognim (Orientadora), e-mail: mcbtognim@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências da Saúde/ Maringá, PR

Medicina, Clínica Médica

Palavras-chave: *Enterobacteriaceae*, Ciprofloxacino, pH urinário

Resumo:

As infecções do trato urinário (ITUs) estão entre as infecções bacterianas em humanos mais comuns, afetando anualmente milhões de pessoas. Para que exista eficácia terapêutica, o pH urinário deve ser classificado como um fator de relevância. O pH urinário não afeta apenas o crescimento do uropatógeno, mas também a atividade antimicrobiana de vários antibióticos. O presente estudo teve como objetivo analisar influência do pH sobre a atividade antimicrobiana *in vitro* da ciprofloxacino para o tratamento de infecções urinárias causadas por *E. coli* recuperadas de pacientes atendidos em um hospital ensino. Durante a realização do estudo foram selecionados 106 isolados de *Escherichia coli*. Todas as bactérias foram isoladas e urina de pacientes maiores de 18 anos internados no Hospital Universitário de Maringá. A fim de avaliar a atividade antimicrobiana do ciprofloxacino em diferentes pHs, foi determinada a sua concentração inibitória mínima através do método de ágar diluição conforme descrito pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute*. Dentre os resultados obtidos, observamos que em pH 8, 66% dos isolados foram sensíveis ao ciprofloxacino. Quando a microdiluição em caldo foi realizada em pH 7, 55% dos isolados apresentaram sensibilidade ao ciprofloxacino. Já nos testes com pH 6,0, apenas 42% dos isolados se mostraram sensíveis ao ciprofloxacino. A partir deste estudo, verificamos que o surgimento de resistência e potenciais falhas terapêuticas podem estar relacionados ao pH urinário. Por fim, nossos dados demonstraram que o ajuste do pH pode ser uma ferramenta importante para otimizar o tratamento de ITUs com o ciprofloxacino.

Introdução

As infecções do trato urinário (ITUs) estão entre as infecções bacterianas em humanos mais comuns, afetando anualmente milhões de pessoas na comunidade e também nas unidades prestadoras de assistência à saúde.

Consideradas entre as mais frequentes causas de internações por infecções em pacientes idosos, as ITUs também são motivo mais comum de prescrição de antimicrobianos na atenção básica (ZARE; ROSTAMI; SHAHSAFI, 2018).

Grande parte das infecções do trato urinário (ITUs) são causadas por bactérias Gram negativas, especialmente espécies da família *Enterobacteriaceae*, sendo a *Escherichia coli* comumente isolada em aproximadamente 70 a 90% dos casos relacionados à ITU não complicada. Além de *E. coli*, espécies de *Klebsiella*, *Proteus* e *Enterobacter* são frequentemente recuperadas de pacientes com ITUs (CAMPOS et al., 2018).

O tratamento de pacientes com ITUs tem se tornado um desafio devido ao aumento gradativo das taxas de resistência bacteriana aos antimicrobianos. Com a ampla utilização de antibacterianos como as quinolonas e carbapenêmicos, isolados resistentes têm emergido cada vez mais, limitando as opções terapêuticas disponíveis (GAROFF et al., 2018).

Para que exista eficácia terapêutica, o pH urinário deve ser classificado como um fator de relevância (CUNHA, 2016). O pH urinário não afeta apenas o crescimento do uropatógeno, mas também a atividade antimicrobiana de vários antibióticos. Dependendo do antimicrobiano, se o pH urinário não for monitorado, a atividade antimicrobiana pode apresentar o mesmo efeito que concentrações urinárias subinibitórias, predispondo ao desenvolvimento de resistência (CUNHA, 2016).

Estudos avaliando pH e antimicrobianos são bem estabelecidos para alguns, como as quinolonas. Contudo, existem poucos estudos atuais que avaliem influência do pH sobre a atividade *in vitro* dos antimicrobianos, como o ciprofloxacino. Estudos desta natureza são de extrema importância, pois podem direcionar os clínicos na definição de tratamentos mais adequados para ITU. Com isso o objetivo do estudo foi de avaliar a atividade antimicrobiana da ciprofloxacino em diferentes pHs contra bactérias Gram negativas isoladas da urina de pacientes internados no Hospital Universitário Regional de Maringá (HUM).

Materiais e métodos

Amostras bacterianas

Foram selecionados 106 isolados de *E.coli*, provenientes de urocultura de pacientes (idade >18 anos) atendidos no HUM e que segundo critérios de diagnóstico estabelecidos pela Anvisa, encontravam-se com infecção urinária. Apenas um isolado por paciente foi incluído no estudo, sendo sempre o primeiro isolado.

Determinação da concentração inibitória mínima

A determinação da concentração inibitória mínima (CIM) do ciprofloxacino foi realizada pelo método de ágar diluição conforme descrito pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2018). As cepas padrão *Pseudomonas*

aeruginosa ATCC®27853 e *Escherichia coli* ATCC® 25922 foram utilizadas como controles de qualidade. O ajuste do pH do meio de cultura foi realizado com soluções de hidróxido de sódio e ácido clorídrico depois de autoclavados. Os testes de sensibilidade foram executados em duplicata. A interpretação dos resultados de CIM foi baseada nos pontos de corte estabelecidos pelo CLSI.

Resultados e Discussão

Quando os isolados foram testados em pH 7, 55% dos isolados foram categorizados como sensíveis ($CIM \leq 0,25 \mu\text{g/ml}$), 6% como intermediários ($CIM = 0,5 \mu\text{g/ml}$), e 40% como resistentes ao Ciprofloxacino ($CIM \geq 1 \mu\text{g/ml}$). Em pH 6, houve uma redução da sensibilidade das amostras, onde 42% delas se apresentaram sensíveis, 8% foram classificados como intermediários e 50% como resistentes.

Por outro lado, em pH 8 ocorreu um aumento da sensibilidade, 66% das amostras foram classificadas como sensíveis, 2% como intermediárias e 32% como resistentes. Destacamos que um total de 25 isolados não sensíveis (intermediário e resistente) ao ciprofloxacino em pH ácido, tornaram-se sensíveis quando testados em pH 8,0. Portanto o pH alterou a atividade inibitória do ciprofloxacino.

Na tabela 1 foi inserida a distribuição das CIMs nos pHs 6,7 e 8 e suas respectivas interpretações a partir dos pontos de cortes estabelecidos pelo comitê americano CLSI.

Tabela 1. Resultados das CIMs de ciprofloxacino em diferentes pHs contra isolados de *E. Coli*.

pH	Número de isolados com os seguintes CIMs ($\mu\text{g/ml}$)										Classificação dos isolados - CLSI (%)		
	0,03	0,06	0,13	0,25	0,5	1	2	4	8	16	S	I	R
6,0	-	1	20	24	9	4	3	9	1	35	45	9	52
7,0	5	10	33	10	6	2	6	2	5	27	58	6	42
8,0	31	23	11	5	2	1	1	2	19	11	70	2	34

Nota: CIM, concentração inibitória mínima; CLSI, *Clinical and Laboratory Standards Institute*.

A categorização de um isolado em um exame laboratorial de rotina baseia-se em resultados obtidos em pH neutro e em concentração sérica do fármaco. Aqui ao variarmos os pH demonstramos que a atividade do ciprofloxacino contra isolados de *E. coli* pode variar dependendo do pH do meio. Sabemos que em condições clínicas normais, o pH da urina tende a ser ácido, portanto, a redução na sensibilidade dos isolados para ciprofloxacino em pH ácido pode dificultar o tratamento mesmo para isolados cujos laudos demonstrem a sensibilidade a este fármaco.

Conclusões

A partir deste estudo, observamos atividade do ciprofloxacino varia de acordo com o pH do meio em que este antimicrobiano se encontra, tendo maior atividade em pH mais alcalinos. Assim podemos recomendar, sempre que for possível, um ajuste do pH urinário, quando do uso do ciprofloxacino poderia ser uma ferramenta importante para otimizar o tratamento de ITUs com o este antibacteriano.

Agradecimentos

Ao CNPq e Fundação Araucária pelo apoio ao desenvolvimento científico.

Referências

CAMPOS, A.C.C. et al. Comprehensive Molecular Characterization of *Escherichia coli* Isolates from Urine Samples of Hospitalized Patients in Rio de Janeiro, Brazil. **Front Microbiol**, v. 16, n. 9, p. 243, 2018.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. 11th ed. **CLSI** standard M07. Wayne, PA, 2018.

CUNHA, B.A. An infectious disease and pharmacokinetic perspective on oral antibiotic treatment of uncomplicated urinary tract infections due to multidrug-resistant Gram-negative uropathogens: the importance of urinary antibiotic concentrations and urinary pH. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**, v. 35, p. 521–526, 2016.

GAROFF, L. et al. Effect of aminoacyl-tRNA synthetase mutations on susceptibility to ciprofloxacin in *Escherichia coli*. **J Antimicrob Chemother**, 2018 Dec; 73(12):3285-3292.

ZARE, F.; ROSTAMI, F.M.; SHAHSAFI, M. Prevalence and pattern of antibiotic resistance of gram-negative bacteria isolated from urinary tract infections in patients referring to Neka Laboratories-Iran. **Int J BioMed Public Health**, v.1, n. 1, p. 30-36, 2018.