

PERFIL FENOTÍPICO DE RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS EM ISOLADOS DE *Listeria monocytogenes* DE ORIGEM ALIMENTAR

DIEGO PERES ÁVILA¹; ITIANE BARCELLOS JASKULSKI²; LAÍS ABREU ANASTÁCIO³; LUIZ GUSTAVO BACH⁴; VLADIMIR PADILHA DA SILVA⁵; GRACIELA VÖLZ LOPES⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – diiperes1@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – itianebarcellosj@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – laisabr@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – lugubach@hotmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – vladimir.padilha2011@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – graciela.volzes@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

Listeria monocytogenes é um micro-organismo Gram-positivo, não esporulado, psicrotrófico, sendo o agente etiológico da listeriose em humanos, a qual é uma doença de origem alimentar que apresenta baixa morbidade, porém, alta taxa de letalidade, entre 20 e 30% dos casos (IANNETTI et al., 2020; SIRSAT et al., 2020; WHO, 2018). A listeriose pode desencadear sintomas severos, principalmente em gestantes, idosos, imunocomprometidos e recém-nascidos, como aborto, sepse e meningoencefalite, podendo causar a morte (FDA, 2019; EFSA, 2013). O tratamento da sintomatologia clínica da doença se baseia na utilização de antimicrobianos β-lactâmicos, podendo ser associados a aminoglicosídeos ou outras classes de antimicrobianos (KATHARIOS-LANWERMEYER et al., 2012; KRAWCZYK-BALSKA et al., 2012).

Devido à sua natureza ubiquitária, *L. monocytogenes* pode estar amplamente distribuída na indústria de alimentos. Esse patógeno também é capaz de formar biofilme que, consequentemente, pode causar a contaminação cruzada dos alimentos no ambiente de processamento (IANNETTI et al., 2020). Dessa forma, é possível isolar *L. monocytogenes* em diversos pontos da cadeia produtiva de alimentos e de alimentos prontos para o consumo (SCHEINBERG et al., 2014).

Embora *L. monocytogenes* seja geralmente considerada suscetível à maioria dos antimicrobianos, relatos sugerem um aumento de estirpes resistentes a um número representativo de antimicrobianos, principalmente em isolados de origem alimentar e da cadeia produtiva de alimentos (ALLEN, 2016). Esse perfil de resistência ocorre devido à exposição exacerbada e indevida a antimicrobianos, pela aquisição de genes de resistência, geralmente localizados em elementos genéticos móveis, como plasmídeos e transposons (HAUBERT et al., 2016). Dessa maneira, é necessário entender como ocorre a disseminação dessa resistência, através do seu monitoramento em bactérias zoonóticas e comensais para, assim, fornecer informações acerca de possíveis riscos e intervenções (EFSA, 2017).

Diante do exposto, o objetivo do estudo foi determinar o perfil fenotípico de resistência a antimicrobianos em isolados de *L. monocytogenes* provenientes de alimentos e ambientes de processamento de alimentos.

2. METODOLOGIA

MICRO-ORGANISMOS

Foram utilizados 82 isolados de *L. monocytogenes* provenientes de carcaças de ovino (n=6), queijo minas artesanal (n=5), salsicha mista fresca (n=6), carcaças de frango (n=6), carcaças bovinas (n=14), linha de processamento de embutidos frescos (n=5), abatedouro de frangos (n=16), planta de processamento de carne (n= 4), beef jerky (n=2), linha de processamento de beef jerky (n=4), queijo fatiado (n=2) e presunto fatiado (n=12), previamente identificados e pertencentes à bacterioteca do Laboratório de Microbiologia de Alimentos, do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial (DCTA/FAEM/UFPel).

TESTE DE SUSCETIBILIDADE AOS AGENTES ANTIMICROBIANOS

Os isolados de *L. monocytogenes* foram submetidos ao teste de disco difusão em ágar de acordo com as recomendações do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2017). Os seguintes antimicrobianos foram avaliados: amicacina (30 µg), ampicilina (10 µg), cefoxitina (30 µg), ciprofloxacina (5 µg), cloranfenicol (30 µg), clindamicina (2 µg), eritromicina (15 µg), gentamicina (10 µg), meropenem (10 µg), ácido nalidíxico (30 µg), penicilina G (10 U), rifampicina (5 µg), estreptomicina (10 µg), sulfametoxazol + trimetoprima (23,75 µg + 1,25 µg), tetraciclina (30 µg) e vancomicina (30 µg) (Laborclin, Brazil). Multirresistência foi definida como resistência a três ou mais classes de agentes antimicrobianos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre os 82 isolados de *L. monocytogenes*, 52 (63,4%) foram resistentes a um ou mais antimicrobianos e 30 (36,6%) foram suscetíveis a todos os antimicrobianos testados. Foi observada resistência à clindamicina (48,8%), meropenem (28%), sulfametoxazol + trimetoprima (28%), rifampicina (13,4%), eritromicina (11%), tetraciclina (8,5%), estreptomicina (6,1%) e amicacina (4,9%) (Figura 1). Resistência contra a cefoxitina e ao ácido nalidíxico foi observada em todos os 82 isolados, porém, ressalta-se que se trata de resistência intrínseca de *L. monocytogenes*. Não foi observada resistência à ampicilina, ciprofloxacina, cloranfenicol, gentamicina, penicilina G ou vancomicina. A resistência a múltiplas drogas foi observada em 17% dos isolados de *L. monocytogenes* (n=14), como demonstrado na Tabela 1.

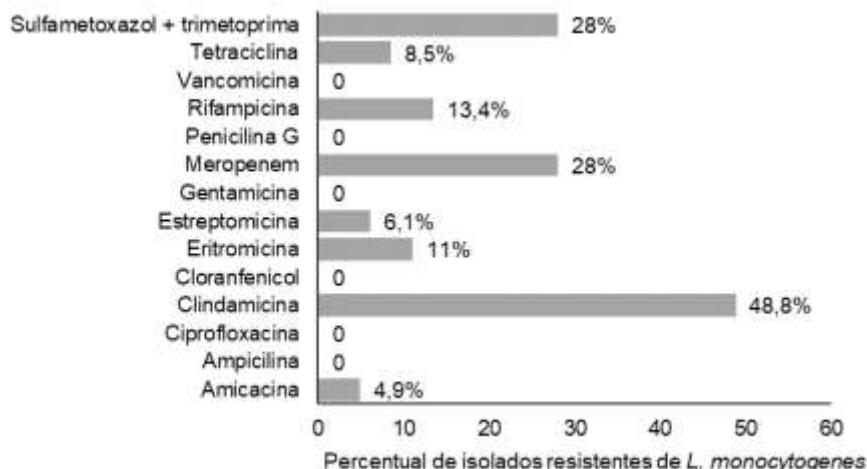


Figura 1. Frequência de Resistência a Antimicrobianos entre 82 Isolados de *Listeria monocytogenes* de Origem Alimentar.

Um estudo realizado na Polônia avaliou a resistência a antimicrobianos em isolados de *L. monocytogenes* provenientes de alimentos prontos para o consumo, carnes cruas, produtos cárneos crus e frutos do mar (SOSNOWSKI et al., 2019). Dos 146 isolados, 54,1% (n=79) foram resistentes à clindamicina, resultado semelhante ao obtido neste estudo, onde 48,7% (n=40) dos isolados foram resistentes a esse antimicrobiano. Em contrapartida, aqueles autores observaram suscetibilidade dos isolados à eritromicina, diferentemente do que foi verificado neste estudo, no qual 10,9% dos isolados demonstraram perfis de resistência a esse antimicrobiano. Em 2020, um estudo realizado na Jordânia com 53 isolados de *L. monocytogenes*, relatou que mais de 90% dos isolados apresentaram resistência à clindamicina (OBAIDAT, 2020), resultado superior ao observado neste estudo. Além disso, o autor descreveu a presença de isolados com perfis de resistência à penicilina, ampicilina, gentamicina e cloranfenicol, o que não foi observado neste estudo.

Tabela 1. Perfis Fenotípicos de Resistência a Antimicrobianos em *Listeria monocytogenes* de Origem Alimentar

Identificação	Perfil fenotípico de resistência	Número de isolados (%)
P1*	Suscetível	30 (36,6)
P2	CLI	29 (35,4)
P3	MER-SUT	9 (11,0)
P4	AMI-MER-SUT	3 (3,6)
P5	EST-CLI-RIF-MER-SUT	1 (1,2)
P6	CLI-ERI-MER-RIF-SUT-TET	5 (6,1)
P7	EST-ERI-CLI-RIF-MER-SUT	4 (4,9)
P8	AMI-CLI-ERI-MER-RIF-SUT-TET	1 (1,2)

AMI: amicacina, CLI: clindamicina, EST: estreptomicina, ERI: eritromicina, MER: meropenem, RIF: rifampicina, SUT: sulfametoxazol + trimetoprima, TET: tetraciclina.

* Perfis fenotípicos

4. CONCLUSÕES

Perfis de resistência e multirresistência a antimicrobianos foram observados entre os isolados de *L. monocytogenes* provenientes de diversos alimentos e ambiente de processamento de alimentos. Os resultados são preocupantes no âmbito de saúde pública, devido a possibilidade de ineficácia nas terapias antimicrobianas utilizadas para o tratamento da listeriose. Por conseguinte, os resultados obtidos neste estudo evidenciam a necessidade e importância de pesquisas acerca dos genótipos de resistência nos isolados de *L. monocytogenes* e a possibilidade de transferência horizontal dos genes de resistência a antimicrobianos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEN, K.J.; WALECKA-ZACHARSKA, E.; CHEN, J.C.; KATARZYNA, K.P.; DEVLIEGHERE, F.; VAN MEERVENNE, E.; OSEK, J.; BANIA, J. *Listeria monocytogenes* – An examination of food chain factors potentially contributing to antimicrobial resistance. *Food Microbiology*, London, v.54, p.178-189, 2016.

EFSA. **Listeria**. European Food Safety Authority, 27 jun. 2013. Acessado em 2 de set. 2020. Online. Disponível em: <http://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/listeria>

EFSA/ECDC European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2017. **EFSA J**, v.11, p.1-279, 2019.

FDA. **Listeria (Listeriosis)**. Food and Drugs Administration, 29 mar. 2019. Acessado em 2 de set. 2020. Online. Disponível em: <https://www.fda.gov/food/foodborne-pathogens/listeria-listeriosis>

HAUBERT, L.; MENDONÇA, M.; LOPES, G.V.; CARDOSO, M.R.D.I.; & SILVA, W.P. *Listeria monocytogenes* isolates from food and food environment harbouring *tetM* and *ermB* resistance genes. **Letters in Applied Microbiology**, United States, v.62, p.23-29, 2016.

IANNETTI, L.; SCHIRONE, M.; NERI, D.; VISCIANO, P.; ACCIARI, V.A.; CENTOROTOL, G.; MANGIERI, M.S.; TORRESI, M.; SANTARELLI, G.A.; DI MARZIO, V.; MARFOGLIA, C.; MIGLIORATI, G.; POMILIO, F. *Listeria monocytogenes* in poultry: Detection and strain characterization along an integrated production chain in Italy. **Food Microbiology**, London, v.91, n.103533, 2020.

KATHARIOS-LANWERMEYER, S.; RAKIC-MARTINEZ, M.; ELHANAFI, D.; RATANI, S.; TIEDJE, J. M.; KATHARIOU, S. Co-selection of cadmium and benzalkonium chloride resistance in conjugative transfers from non-pathogenic *Listeria* spp. to other *Listeriae*. **Applied and environmental microbiology**, United States, v.78, n.21, p.7549-7556, 2012.

KRAWCZYK-BALSKA, A.; MARCHLEWICZ, J.; DUDEK, D.; WASIAK, K.; SAMLUK, A. Identification of a ferritin-like protein of *Listeria monocytogenes* as a mediator of β -lactam tolerance and innate resistance to cephalosporins. **BMC microbiology**, Germany, v.12, n.1, p.278, 2012.

OBAIDAT, M.M. Prevalence and antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* O157:H7 in imported beef cattle in Jordan. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, United Kingdom, v.70, 2020.

SCHEINBERG, J.A.; SVOBODA, A.L.; & CUTTER, C.N. High-pressure processing and boiling water treatments for reducing *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp., and *Staphylococcus aureus* during beef jerky processing. **Food Control**, United Kingdom, v.39, p.105-110, 2014.

SIRSAT, S.A.; HECHT, O.; MIRABAL, C.; PEPE, D.A.; YANG, W.; MOHAMMAD, Z.; HADJIEV, V.G.; NEAL, J.A.; ROBLES HERNANDEZ, F.C. Bacteriostatic Effect of CoO-TiO₂ on *Listeria Monocytogenes* by the Presence of the Co-Catalytic CoO Nanoparticles. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, Netherlands, v.8, 2020.

SOSNOWSKI, M.; LACHTARA, B.; WIECZOREK, K.; & OSEK, J. Antimicrobial resistance and genotypic characteristics of *Listeria monocytogenes* isolated from food in Poland. **International Journal of Food Microbiology**, Netherlands, v.289, p.1-6, 2019.

WHO. Listeriosis. World Health Organization, 20 fev. 2018. Acessado em 1 de set. 2020. Online. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/listeriosis>