

## Área: Ciência de Alimentos

# AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA DE *Listeria monocytogenes* ISOLADAS DE CARÇAÇAS BOVINAS A DIFERENTES CLASSES DE ANTIMICROBIANOS

Mariana Almeida Iglesias\*, Luana Tombini Decol, Guilherme da Silva Dannenberg,  
Wladimir Padilha da Silva

Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel – Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial - Laboratório de Microbiologia de Alimentos – Universidade Federal de Pelotas - RS

\*E-mail: maryanaiglesias@hotmail.com

**RESUMO** – Quatorze isolados de *Listeria monocytogenes* provenientes de carcaças bovinas de frigoríficos-matadouros do sul do Brasil foram avaliados quanto à resistência a diferentes classes de antimicrobianos. Os isolados foram avaliados através do método de disco difusão, de acordo com as normas do Clinical and Laboratory Standards Institute, utilizando discos de antibióticos dos grupos  $\beta$ -lactâmicos (ampicilina 10  $\mu$ g), Glicopeptídeos (vancomicina 30  $\mu$ g), Macrolídeos (eritromicina 15  $\mu$ g), Tetraciclina (tetraciclina 30  $\mu$ g e minociclina 30  $\mu$ g) e Quinolonas (ciprofloxacina 5  $\mu$ g). Todos os isolados apresentaram sensibilidade a ciprofloxacina, minociclina, tetraciclina e vancomicina, dois foram resistentes a ampicilina e a eritromicina, e um destes também apresentou resistência intermediária a eritromicina. Estes resultados contribuem para o conhecimento sobre a resistência de *L. monocytogenes*, auxiliando assim no tratamento da listeriose humana, uma vez que a resistência a antibióticos está diretamente relacionada com a gravidade das infecções causadas por micro-organismos.

**Palavras-chave:** Antibiótico, Carcaça bovina, *Listeria monocytogenes*.

## 1 INTRODUÇÃO

*Listeria monocytogenes* é um importante patógeno de origem alimentar, responsável por inúmeros surtos relacionados a alimentos contaminados (TORRES et al., 2004 ; POSFAY-BARBE & WALD, 2009). É o agente causador da listeriose, enfermidade de grande preocupação para a saúde pública por apresentar período de incubação longo e alta taxa de letalidade em pacientes imunocomprometidos, necessitando diagnóstico precoce e terapia antimicrobiana adequada (GHANDI; CHIKINDAS, 2007).

Tendo em vista as características deste micro-organismo, a Organização Mundial da Saúde (OMS) sugere a investigação de diversos produtos alimentares em relação à presença de *L. monocytogenes*, uma vez que 30% dos casos de listeriose são considerados fatais (WHO, 1990)

Atualmente, cepas de bactérias multirresistentes são responsáveis por diversos surtos em todo o mundo e o arsenal terapêutico tem se tornado cada vez mais escasso. A presença de micro-organismos resistentes a antibióticos está diretamente relacionada ao uso indiscriminado de agentes antimicrobianos no tratamento de doenças, bem como na pecuária, onde são muito utilizados para aumento da eficiência alimentar e das taxas de crescimento em animais de diferentes espécies (SANTOS et al., 2008).

A resistência a antimicrobianos representa um problema de saúde pública, uma vez que pode ocasionar falha no tratamento dos pacientes. Contudo ainda existe pouca informação disponível sobre a suscetibilidade/resistência de *L. monocytogenes* isoladas de ambientes de produção e de processamento de alimentos a antimicrobianos, indicando a necessidade de monitorar os padrões de dispersão e transmissão de resistência a antibióticos (CONTER et al. 2009).

Sendo assim, o objetivo deste estudo foi determinar o perfil de resistência de *L. monocytogenes* provenientes de carcaças bovinas no sul do Brasil a diferentes classes de antimicrobianos.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido utilizando 14 isolados de *Listeria monocytogenes* provenientes de carcaças bovinas de frigoríficos-matadouros do sul do Brasil.

Os isolados de *Listeria monocytogenes* foram avaliados através do método de difusão em ágar, de acordo com as normas do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2012), utilizando discos de antibióticos dos grupos  $\beta$ -lactâmicos (ampicilina 10 $\mu$ g), Glicopeptídeos (vancomicina 30 $\mu$ g), Macrolídeos (eritromicina 15 $\mu$ g), Tetraciclina (tetraciclina 30 $\mu$ g e minociclina 30 $\mu$ g) e Quinolonas (ciprofloxacina 5 $\mu$ g).

Inicialmente, os isolados foram repicados em TSA com extrato de levedura (YE) e incubados a 35°C/24h para sua reativação. As culturas em TSA-YE foram inoculadas em 10mL de água peptonada a 0,1%, de modo a obter turbidez equivalente a 0,5 da escala de McFarland (1,5x10<sup>8</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>). Após o ajuste da turbidez, submergiu-se um *swab* estéril na suspensão bacteriana, retirou-se o excesso, e o inóculo foi semeado superficialmente em placas contendo ágar Mueller-Hinton, de modo a obter crescimento confluinte.

Os discos de antibióticos foram dispostos sobre a superfície do meio de cultura, de modo que ficassem, aproximadamente, a 2,5cm de distância das paredes da placa e a 4cm de distância um do outro, para evitar que as zonas de inibição de crescimento se sobrepusessem. Posteriormente, as placas de petri foram incubadas em estufa bacteriológica a 37°C por 18 horas. Utilizou-se uma régua milimétrica para medir as zonas de inibição de crescimento ao redor de cada disco de antibiótico. Os resultados foram interpretados de acordo com a tabela da CLSI (2011) e os isolados foram classificados em sensíveis (S), intermediários (I) ou resistentes (R).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 14 isolados de *L. monocytogenes* provenientes de carcaças bovinas avaliados quanto a resistência a diferentes grupos de antibióticos, foi possível observar que 7% dos isolados foram resistentes a ampicilina e eritromicina, pertencentes ao grupo dos  $\beta$ -lactâmicos e Macrolídeos, respectivamente. Quanto aos demais antibióticos testados, todos os isolados mostraram-se sensíveis. Foi possível observar, também, resistência intermediária a eritromicina em 7% dos isolados. Esses resultados podem ser visualizados na Tabela 1.

Tabela 1. Perfil de resistência/ sensibilidade de isolados de *Listeria monocytogenes* provenientes de carcaças bovinas no sul do Brasil.

Antibióticos	Sensível		Intermediário		Resistentes	
	Nº isolados	%	Nº isolados	%	Nº isolados	%
Ampicilina (10 $\mu$ g)	13	93	0	0	1	7
Ciprofloxacina (5 $\mu$ g)	14	100	0	0	0	0
Eritromicina (15 $\mu$ g)	12	86	1	7	1	7
Minociclina (30 $\mu$ g)	14	100	0	0	0	0
Tetraciclina (30 $\mu$ g)	14	100	0	0	0	0
Vancomicina (30 $\mu$ g)	14	100	0	0	0	0

É possível observar que a resistência de *L. monocytogenes* a antimicrobianos ainda é relativamente baixa, visto que todos os isolados testados mostraram-se sensíveis a ciprofloxacina, minociclina, tetraciclina e vancomicina. Perfis de suscetibilidade semelhantes foram observados por Yucel et al. (2005), Conter et al. (2009), Harakeh et al. (2009) e Ruiz- Bolivar et al. (2011), evidenciando os baixos índices de resistência de *L. monocytogenes* isoladas de alimentos.

Embora o isolamento de cepas multirresistentes de *L. monocytogenes* não seja comum, evidências de seu surgimento têm sido relatadas (RODAS-SUAREZ et al., 2006). Neste estudo, quando avaliados frente aos grupos de antibiótico dos  $\beta$ -lactâmicos e Macrolídeos, 7% dos isolados apresentaram resistência a ampicilina e eritromicina, resultados semelhantes aos encontrados por Harakeh et al. (2009), onde 60% dos 164 isolados de *L. monocytogenes* provenientes de alimentos foram resistentes a ampicilina e 30% a eritromicina.

A resistência bacteriana a antimicrobianos é amplamente estudada, devido a sua grande importância para a saúde pública. Apesar dos baixos índices de isolados resistentes a antimicrobianos, os resultados obtidos neste estudo reforçam que à medida que o uso de antimicrobianos torna-se indiscriminado, o número de bactérias resistentes aos fármacos mais utilizados na terapia humana cresce consideravelmente, sendo um potencial risco à saúde do consumidor.

## 4 CONCLUSÃO

Dada a importância de *L. monocytogenes* à saúde pública, os resultados obtidos neste trabalho são relevantes e sugerem que a resistência deste patógeno ainda é relativamente baixa. Estudos neste sentido contribuem não só para o conhecimento da resistência desse micro-organismo, como permitem obter resultados importantes para garantir um tratamento eficaz da listeriose humana, uma vez que a resistência a antibióticos está diretamente relacionada a gravidade das doenças causadas por micro-organismos patogênicos.

## 5 AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq e ao Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA pelo apoio financeiro (Processo nº 578163/2008-0).

## 6 REFERÊNCIAS

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-First Informational Supplement. Document M100-S21 (ISBN 1-56238-742-1). Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087 USA, 2011.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved standard - Eleventh Edition*. CLSI document M02-A11. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.

CONTER, M.; PALUDI, D.; ZANARDI E.; GHIDINI S.; VERGARA A.; IANIERI A. Characterization of antimicrobial resistance of foodborne *Listeria monocytogenes*. **International Journal of Food Microbiology**, V.128, p.497-500, 2009.

GANDHI, M., CHIKINDAS, M. *Listeria*: a foodborne pathogen that know to survive. **International Journal of Food Microbiology**. v. 113, p. 1-15, 2007.

POSFAY-BARBE, K. M., WLAD, E. R. Listeriosis. **Seminary Fetal Neonatal Medicine**, v.14, p.228-233, 2009.

RODAS-SUAREZ, O.R., FLORES-PEDROCHE, J.F., BETANCOURT-RULE, J.M., QUINONES RAMIREZ, E.I., VAZQUEZ-SALINAS, C. Occurrence and antibiotic sensitivity of *Listeria monocytogenes* strains isolated from oysters, fish, and estuarine water. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, P.7410–7412, 2006.

RUIZ-BOLIVAR, Z., NEUQUE-RICO, M.C., POUTOU-PINALES, R.A., CARRASCAL-CAMACHO, A.K.; MATTAR, S. Antimicrobial Susceptibility of *Listeria monocytogenes* Food Isolates from Different Cities in Colombia. **Foodborne Pathogens and Disease**, V. 8, N. 8, 2011.

STEVE HARAKEH, S. SALEH, I., ZOUHAIRI, O., BAYDOUN, E., BARBOUR, E., ALWAN, N. Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* isolated from dairy-based food products. *Science of the Total Environment* V.407, p. 4022–4027, 2009

SANTOS, L. L.; VENDRUSCOLO, E. C. G.; VIANA, C.; HILGERT, A. R.; BERGER, J.; MARTINS, P. K. Caracterização fenotípica e genotípica de cepas de *Staphylococcus aureus* metilina resistente (MRSA) na região de Oeste do Paraná. **Anais: 54º Congresso Brasileiro de Genética**. Salvador, 2008.

TORRES K.J, SIERRA S.C, POUTOU R.A, VERA H, CARRASCAL A.K, MERCADO M. Incidencia y Diagnostico de *Listeria monocytogenes*: microorganismo zoonótico emergente en La Industria de Alimentos. **Revista UDCA Actualidad & divulgación científica**, v. 7, p 25–57, 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Working Group. Foodborne listeriosis. *Bull. WHO* 66, 421–428, 1990.

YUCEL, N.; CITAK, S.; ONDER, M. Prevalence and antibiotic resistance of *Listeria* species in meatproducts in Ankara, Turkey. **Food Microbiology**, V. 22, p. 241–245, 2005