

PERFIL DE RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS DE *Listeria monocytogenes* ISOLADAS EM ALIMENTOS

LOUISE HAUBERT¹; MARIANA ALMEIDA IGLESIAS²; WLADIMIR PADILHA DA SILVA³

¹Universidade Federal de Pelotas - UFPel – louisehaubert@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas - UFPel – maryanaiglesias@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas - UFPel – wladimir.padilha2011@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Listeria monocytogenes causa listeriose, uma doença esporádica transmitida por alimentos que apresenta taxas letalidade em torno de 20%. A listeriose está associada a diversos alimentos contaminados, entre os quais, laticínios, vegetais crus, carne mal cozida, frutos do mar e produtos de frangos (FALLAH, 2012). A gravidade da infecção pode variar de acordo com a saúde do hospedeiro: em adultos saudáveis, a listeriose é limitada a uma gastroenterite caracterizada por uma leve enterite e/ou sintomas de gripe (SWAMINATHAN; GERNER-SMIDT, 2007); em indivíduos suscetíveis, incluindo crianças, idosos e indivíduos imunocomprometidos, as infecções podem se tornar invasivas, resultando em sintomas clínicos graves (SCHLECH, 2000). A apresentação clínica de listeriose invasiva inclui encefalite, meningite, septicemia e abortos espontâneos no último trimestre de gravidez (MCLAUCHLIN et al., 2004).

Considerando a alta letalidade relacionada à listeriose, a antibioticoterapia é necessária para o tratamento dos sintomas clínicos. Os antibióticos de escolha para o tratamento dessa enfermidade são os β -lactâmicos, como penicilina G e ampicilina, podendo ser usados sozinhos ou em combinação com um aminoglicosídeo, como a gentamicina (KRAWCZYK-BALSKA et al., 2012). Além disso, podem ser utilizados em associações com outras classes de antimicrobianos.

Apesar da suscetibilidade do patógeno a vários antimicrobianos, alguns isolados de *L. monocytogenes* provenientes de alimentos comumente envolvidos em surtos alimentares têm apresentado perfil de multirresistência (MARIAN et al., 2012; SAFDAR; ARMSTRONG, 2003), o que se deve, principalmente, ao uso indiscriminado e/ou errôneo dos agentes antimicrobianos. Além do aumento na resistência bacteriana, o mau uso dos antimicrobianos é um problema de saúde pública, tendo em vista que pode dificultar o tratamento de pacientes que necessitem de antibioticoterapia, bem como pode deixar resíduos nos alimentos.

Sendo assim, o trabalho teve como objetivo avaliar o perfil de resistência a antimicrobianos de *L. monocytogenes* isoladas em alimentos do sul do Rio Grande do Sul.

2. METODOLOGIA

Foram utilizados 14 isolados de *L. monocytogenes*, provenientes de alimentos, os quais foram submetidos aos testes de resistência a antimicrobianos pelo método de disco-difusão, segundo as recomendações do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2012), baseadas no método Kirby-Bauer (BAUER et al., 1966).

Os isolados foram incubados a 37°C por 24 horas em meio não seletivo e, após, foram repicados para água peptonada 0,1% até atingir a turbidez 0,5 na

escala de McFarland. Em seguida, com o auxílio de *swab*, cada cultura foi semeada em ágar Mueller-Hinton (Oxoid[®]), onde foram adicionados os discos impregnados com diferentes tipos de antimicrobianos. Após incubação a 37°C por 24 horas, os diâmetros das zonas de inibição foram interpretados, e os isolados foram classificados como sensíveis, intermediários, ou resistentes, de acordo com o CLSI (2012), seguindo os critérios de avaliação utilizados para bactérias do gênero *Staphylococcus*. A cepa padrão *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 foi utilizada como controle da técnica.

Foram avaliados 15 antimicrobianos: penicilina G (10U), ampicilina (10µg), cefoxitina (30µg), gentamicina (10µg), estreptomicina (10µg), amicacina (30µg), vancomicina (30µg), tetraciclina (30µg), eritromicina (15µg), clindamicina (2µg), cloranfenicol (30µg), ciprofloxacina (5µg), ácido nalidíxico (30µg), sulfametoxazol-trimetoprim (25µg) e rifampicina (5µg), adquiridos na Laborclin[®].

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 observa-se o perfil de sensibilidade, resistência intermediária e resistência de *L. monocytogenes* isoladas em alimentos frente a 15 antimicrobianos de uso clínico em casos de listeriose e em tratamentos de sepses variadas.

Tabela 1 – Perfil de sensibilidade, resistência intermediária e resistência de *L. monocytogenes* isoladas em alimentos

Antimicrobianos	Sensível		Intermediário		Resistente	
	Nº isolados	(%)	Nº isolados	(%)	Nº isolados	(%)
Penicilina G	14	100	0	0	0	0
Ampicilina	14	100	0	0	0	0
Cefoxitina	2	14,29	0	0	12	85,71
Gentamicina	14	100	0	0	0	0
Estreptomicina	13	92,86	0	0	1	7,14
Amicacina	14	100	0	0	0	0
Vancomicina	14	100	0	0	0	0
Tetraciclina	14	100	0	0	0	0
Eritromicina	14	100	0	0	0	0
Clindamicina	12	85,71	1	7,14	1	7,14
Cloranfenicol	14	100	0	0	0	0
Ciprofloxacina	14	100	0	0	0	0
Ácido Nalidíxico	0	0	0	0	14	100
Sulfametoxazol-Trimetoprim	13	92,86	0	0	1	7,14
Rifampicina	13	92,86	0	0	1	7,14

Os resultados obtidos no trabalho demonstram que a resistência a antimicrobianos de *L. monocytogenes* isoladas em alimentos é relativamente baixa, uma vez que todos os 14 isolados (100%) foram sensíveis a penicilina G, ampicilina, gentamicina, amicacina, vancomicina, tetraciclina, eritromicina, cloranfenicol e ciprofloxacina.

Salienta-se que todos os 14 isolados (100%) foram resistentes ao ácido nalidíxico, semelhante aos dados obtidos por ALONSO-HERNANDO et al. (2012). A resistência intrínseca de *L. monocytogenes* para esta droga é ainda desconhecida (ALLERBERGER; WAGNER, 2010; YUCEL et al., 2005).

Doze (12) isolados (85,71%) apresentaram resistência a cefoxitina, um antimicrobiano pertencente ao grupo das cefalosporinas. Em geral, isolados de *L. monocytogenes* são sensíveis aos β -lactâmicos, entretanto, há muitos isolados que apresentam resistência inata para as cefalosporinas, um grupo de antimicrobianos pertencentes aos β -lactâmicos. A provável causa da resistência inata é devida à ampla utilização deste antimicrobiano em sepses de origem desconhecida (KRAWCZYK-BALSKA et al., 2012).

Um isolado (7,14%) apresentou perfil de multirresistência, sendo resistente ao ácido nalidíxico, cefoxitina, sulfametoxazol-trimetoprim, rifampicina, estreptomicina e clindamicina. Além disso, um isolado (7,14%) apresentou resistência intermediária para clindamicina. Recentemente, KOVACEVIC et al. (2013), observaram que isolados de *L. monocytogenes* pertencentes aos sorotipos 1/2a e 4b, os quais são frequentemente ligados a surtos de listeriose, apresentavam sensibilidade reduzida ou resistência à clindamicina e ciprofloxacina, demonstrando dados preocupantes.

A multirresistência foi detectada, também, entre isolados de *L. monocytogenes* provenientes de amostras de carne crua e de produtos prontos para o consumo no varejo da Itália, onde 27,5% dos isolados foram multirresistentes (PESAVENTO et al., 2010).

4. CONCLUSÕES

A resistência a antimicrobianos de *L. monocytogenes* isoladas em alimentos no sul do Rio Grande do Sul é baixa. Tendo em vista a importância do patógeno à saúde pública, os resultados do trabalho contribuem para avaliar o padrão de dispersão da resistência aos antimicrobianos de *L. monocytogenes* isoladas em alimentos e para se estabelecer critérios para a escolha eficaz do tratamento de listeriose humana.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLERBERGER, F., WAGNER, M. Review. Listeriosis: a resurgent foodborne infection. **Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, 16 (1), 16-23, 2010.
- ALONSO-HERNANDO, A., PRIETO, M., GARCÍA-FERNÁNDEZ C., ALONSO-CALLEJA, C., CAPITA, R. Increase over time in the prevalence of multiple antibiotic resistance among isolates of *Listeria monocytogenes* from poultry in Spain. **Food Control**, v. 23, p. 37-41, 2012.
- BAUER, A. W.; KIRBY, W.M.M.; SHERRIS, J.C.; TURCK, M. Antibiotic Susceptibility Testing by Standardized Single Disc Method. **The American Journal of Clinical Pathology**, v. 45, n. 4, p. 493-49 1966.
- 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.
- FALLAH, A. A., SAEI-DEHKORDI, S. S., RAHNAMA, M., TAHMASBY H., MAHZOUNIE, M. Prevalence and antimicrobial resistance patterns of *Listeria* species isolated from poultry products marketed in Iran. Original Research Article. **Food Control**, v. 28, p. 327-332, 2012.
- KOVACEVIC, J., SAGERT, J., WOZNIAC, A., GILMOUR, M.W., ALLEN, K.J. Antimicrobial resistance and co-selection phenomenon in *Listeria* spp. Recovered from food and food production environments. **Food Microbiol.**, v. 34, p.319-327, 2013.
- KRAWCZYK-BALSKA, A., MARCHLEWICZ, J., DUDEK, D., WASIAK, K., SAMLUK, A. Identification of a ferritin-like protein of *Listeria monocytogenes* as a

- mediator β -lactam tolerance and innate resistance to cephalosporins. **BMC Microbiology**, v.12, p. 278, 2012.
- MARIAN, M. N., SHARIFAH AMINAH, S.M., ZURAINI, M.I., SON, R., MAIMUNAH, M., LEE, H.Y. MPN-PCR detection and antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* isolated from raw and ready-to-eat foods in Malaysia. **Food Control**, v. 28, p. 309-314, 2012.
- MCLAUCHLIN, J. MITCHELL, R. T., SMERDON, W.J., JEWELL, K. *Listeria monocytogenes* and listeriosis: a review of hazard characterization for use in microbiological risk assessment of foods. **Int. J. Food Microbiol.** v. 92, p. 15-33, 2004.
- PESAVENTO, G., DUCCI, B., NIERI, D., COMODO, N., LO NOSTRO, A. Prevalence and antibiotic susceptibility of *Listeria* spp. isolated from raw meat and retail foods. **Food Control**, v. 21, p. 708-713, 2010.
- SAFDAR, A., ARMSTRONG, D. Antimicrobial activities against 84 *Listeria monocytogenes* isolates from patients with systematic listeriosis at a comprehensive cancer center (1955-1997). **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, p. 483-485, 2003.
- SCHLECH 3rd, W.F. Foodborne listeriosis. **Clin. Infect. Dis.** v. 31, p. 770-775, 2000.
- SWAMINATHAN, B. GERNER-SMIDT, P. The epidemiology of human listeriosis. **Microbes Infect.** v. 9, p. 1236-1246, 2007.
- YUCEL, N., ÇITAK, S., & ONDER, M. Prevalence and antibiotic resistance of *Listeria* species in meat products in Ankara, Turkey. *Food Microbiology*, 22 (2-3), 241- 245, 2005.