

## RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE CRAVO-DA-ÍNDIA, MELALEUCA, SÁLVIA E CAPIM-LIMÃO EM *LISTERIA MONOCYTOGENES* PROVENIENTES DE SUSHI E DE SASHIMI COMERCIALIZADOS NO MUNICÍPIO DE PELOTAS

GABRIELE BENATTO DELGADO<sup>1</sup>; PÂMELA INCHAUSPE CORREA ALVES;  
ADRIELE DE AZAMBUJA FAGUNDES; NATALIE RAUBER KLEINUBING;  
GRACIELA VÖLZ LOPES<sup>2</sup>; WLADIMIR PADILHA DA SILVA<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – gabrielle\_delgado@hotmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – pam.inchauspe@hotmail.com;

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – adrieleazambuja97@gmail.com;

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas - natalierk10@hotmail.com;

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas - gracielaavlopes@yahoo.com.br;

<sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas - wladimir.padilha2011@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

*Listeria monocytogenes* é uma bactéria patogênica Gram-positiva, intracelular facultativa e não formadora de esporos. É psicrotrófica, podendo se multiplicar em temperaturas baixas, assim como em ambientes aeróbicos ou anaeróbicos (LIU et. al. 2007; JALALI e ABEDI, 2008). A transmissão aos seres humanos ocorre, principalmente, através do consumo de alimentos contaminados, sendo um patógeno de grande relevância para a saúde pública por causar a listeriose (dos SANTOS et al. 2021), que pode ser fatal, principalmente em gestantes, neonatos e imunocomprometidos (ECDC, 2024).

Surtos de listeriose são frequentemente associados ao consumo de carnes mal cozidas, laticínios, frutos do mar e alimentos prontos para consumo (CDC, 2024). Frutos do mar, peixes e produtos pesqueiros, são alimentos nos quais frequentemente se isola *L. monocytogenes* (JAMALI et al. 2015). O sushi e o sashimi são considerados alimentos prontos para consumo, do inglês *ready-to-eat* (RTE), por serem consumidos sem qualquer tratamento térmico adicional, dessa forma, podem veicular patógenos, como *L. monocytogenes* (RAMIRES et al. 2021).

Segundo a *World Health Organization* (WHO, 2024), a listeriose na sua forma invasiva pode evoluir para septicemia e meningite, podendo apresentar alta taxa de letalidade, em torno de 20 a 30%. No entanto, quando diagnosticada precocemente, a doença pode ser tratada, com a utilização de antimicrobianos, o que, durante a gestação previne a infecção do feto ou recém-nascido. Em 1999, CHARPENTIER e COURVALIN, já expressavam sua preocupação com relação a multirresistência de *L. monocytogenes* aos antimicrobianos de uso clínico, preocupação que foi confirmada mais de duas décadas depois por um estudo de SURYAWANSHI et al. (2023). O aumento da resistência antimicrobiana em *L. monocytogenes* intensifica a busca por substâncias alternativas, com destaque para os óleos essenciais (OE). Os compostos naturais surgem como uma alternativa aos conservantes sintéticos, visando inibir a multiplicação de microorganismos deteriorantes e patogênicos, além de prolongar a vida útil dos alimentos (GIARRATANA et al. 2016). Sendo assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o perfil de resistência a antimicrobianos clínicos e atividade antimicrobiana de OE em isolados de *L. monocytogenes* provenientes de sushi e sashimi comercializados na cidade de Pelotas.

## 2. METODOLOGIA

Foram selecionados onze isolados de *L. monocytogenes*, provenientes de sushi (n = 5) e de sashimi (n = 6). Os onze isolados foram avaliados qualitativamente quanto a susceptibilidade a antimicrobianos, pelo teste de disco-difusão em ágar, conforme descrito pelo European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST, 2024) e Moura et al. (2023) para *L. monocytogenes*, utilizando os seguintes antimicrobianos clínicos: amoxicilina (AMO), ampicilina (AMP), canamicina (CAN), ciprofloxacino (CIP), clindamicina (CLI), cloranfenicol (CLO), cefotaxima (CTX), eritromicina (ERI), estreptomicina (EST), gentamicina (GEN), imipenem (IPM), levofloxacina (LVX), linezolida (LNZ), meropenem (MER), moxifloxacina (MFX), penicilina (PEN), rifampicina (RIF), sulfametoxazol-trimetropina (SUT), tetraciclina (TET), vancomicina (VAN). Os isolados foram cultivados em ágar Triptona de Soja TSA com 0,6% de extrato de levedura a 37 °C durante 24 h. As colônias foram suspensas em solução salina 0,85% e o inóculo padronizado de acordo com a escala 0,5 de McFarland (~1,5 x 10<sup>8</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>). Os inóculos foram espalhados na superfície das placas de Petri contendo ágar Mueller Hinton suplementado com 5% de sangue equino lisado e desfibrinado e 20 mg.mL<sup>-1</sup> de β-NAD. Posteriormente, os discos impregnados de antimicrobianos foram adicionados às placas de Petri, em duplicata, e as placas foram incubadas a 37 °C por 18 ± 2 h, de acordo com o EUCAST (2024). Também foi realizado o teste de disco-difusão em ágar com quatro OE: sálvia (*Sálvia officinalis*), melaleuca (*Melaleuca alternifolia*), cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) e capim-limão (*Cymbopogon citratus*). Para esse teste, 10 µL de OE foram dispostos sobre discos de papel filtro e as placas incubadas a 37 °C por 18 ± 2 h. Após o período de incubação, os diâmetros das zonas de inibição foram mensurados e os resultados expressos em milímetros (mm).

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teste de susceptibilidade a antimicrobianos foi realizado nos 11 isolados de *L. monocytogenes*, com 20 antimicrobianos de uso clínico. Dos 11 isolados, 27,2% (n=3) foram resistentes a pelo menos um dos antimicrobianos testados. Por outro lado, 72,7% (n = 8) se mostraram suscetíveis a pelo menos um antimicrobiano avaliado. Foram identificados perfis de resistência à tetraciclina e ao cloranfenicol nos isolados L1 e LM44, respectivamente. Todos os isolados (n=11) foram resistentes à clindamicina e à cefotaxima, devido a sua resistência intrínseca. Estudos demonstraram resistência à tetraciclina em isolados de *L. monocytogenes* provenientes de produtos lácteos (KAYODE e OKOH, 2022; TERZI GULEL et al. 2020). Nossos resultados estão em concordância com os de KEET e RIP (2021), que encontraram resistência à tetraciclina e ao cloranfenicol em isolados de *L. monocytogenes* provenientes de frutos do mar.

No presente estudo avaliou-se também a atividade antimicrobiana dos OE de sálvia, melaleuca, cravo-da-índia e capim-limão (Tabela 1).

Tabela 1 - Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo-da-índia, melaleuca, sálvia e capim-limão contra isolados de *Listeria monocytogenes* provenientes de sushi e sashimi

---

Zonas de inibição (mm)

---

Isolados	Cravo-da-índia	Melaleuca	Sálvia	Capim-limão
L1	14	10	9	24
L10	19	14	6	SM
L11	17	13	11	SM
L16	18	12	9	SM
L17	15	14	8	SM
LM2	15	13	8	SM
LM13	15	14	9	SM
LM25	17	10	9	SM
LM40	17	17	10	SM
LM44	15	9	9	SM
LM47	19	14	10	SM

mm: milímetros; SM: sem multiplicação bacteriana.

Segundo ROTA *et al.* (2008), a atividade antimicrobiana de um OE pode ser classificada como fortemente inibitória, quando apresentar zonas de inibição maiores de 20 mm, moderadamente inibitória, quando as zonas de inibição forem entre 12 e 20 mm, e nenhum efeito inibitório, quando as zonas de inibição apresentarem menos de 12 mm. Desta forma, o OE de capim-limão apresentou atividade antimicrobiana fortemente inibitória contra *L. monocytogenes*, visto que para a maioria dos isolados, esse OE inibiu completamente a multiplicação bacteriana, enquanto o OE de cravo-da-índia apresentou atividade moderadamente inibitória. BODIATI *et al.* (2020) testaram a atividade antimicrobiana de seis óleos essenciais contra *L. monocytogenes*, e o OE de capim-limão também demonstrou ter maior atividade antimicrobiana contra o patógeno. Essa atividade pode estar relacionada com a presença do citral, composto majoritário deste OE, o qual atua rompendo a integridade da membrana celular com efeitos na homeostase da célula microbiana (SOMOLINOS *et al.* 2009). Os resultados obtidos neste estudo para o OE de cravo-da-índia são similares aos obtidos por SOMRANI *et al.* 2021, onde a atividade do OE de cravo foi avaliada contra *L. monocytogenes* e *Salmonella* Enteritidis, e foram encontradas zonas de inibição de 14 mm para *L. monocytogenes* e 12 mm para *S. Enteritidis*.

#### 4. CONCLUSÕES

Resistências à tetraciclina e cloranfenicol foram observadas em *L. monocytogenes* provenientes de sushi e sashimi, representando um risco à saúde da população. Os OE de capim limão e cravo-da-índia demonstraram atividade antimicrobiana forte e moderada, respectivamente, contra os isolados de *L. monocytogenes*, inclusive contra os isolados resistentes à tetraciclina e ao cloranfenicol. Esses resultados são importantes visando a utilização desses óleos em pesquisas futuras.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BUDIATI, T., WIBISONO, Y., PAMBAYUN, R. A., FAHREZY, M. F., ARIYANI, R., KURNIAWATI, E., ... & BAKRI, A. (2020). Inhibition of *Listeria monocytogenes* by natural antimicrobial. In **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science** (Vol. 411, No. 1, p. 012042). IOP Publishing.

CDC, CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. *Listeria* Infection (Listeriosis). 2024. **Centers for Disease Control and Prevention**. Disponível em: <https://www.cdc.gov/listeria/about/index.html>

- CHARPENTIER, E.; COURVALIN, P. Antibiotic resistance in *Listeria* spp. **Antimicrobial Agents Chemother** 43, 1999.
- DOS SANTOS, JS; BIDUSKI, B.; DOS SANTOS, LR. *Listeria monocytogenes*: a health risk and a challenge for food processing establishments. **Arch Microbiol** 203, 5907–5919, 2021.
- GIARRATANA, F.; MUSCOLINO, D.; RAGONESE, C.; BENINATI, C.; SCIARRONE, D.; ZIINO, G.; MONDELLO, L.; GIUFFRIDA, A.; PANEBIANCO, A. Panebianco Antimicrobial activity of combined essential oils of thyme and rosemary against *Listeria monocytogenes* in Italian mortadella packaged in modified atmosphere **J. Essent. Oil Res.** , 28 ( 6 ) ( 2016 ) , pp. 467 – 474.
- JALALI, M.; ABEDI, D. Prevalence of *Listeria* species in food products in Isfahan, Iran. **International Journal of Food Microbiology**, v. 122, p. 150-153, 2008.
- JAMALI, H.; PAYDAR, M.; ISMAIL, S.; LOOI, C. Y.; WONG, W. F.; RADMEHR, B.; ABEDINI, A. Prevalence, antimicrobial susceptibility and virulotyping of *Listeria* and *Listeria monocytogenes* species isolated from open-air fish markets **BMC Microbiol**, 15 ( 2015 ) , p. 144
- KAYODE, A. J., & OKOH, A. I. (2022). Assessment of multidrug-resistant *Listeria monocytogenes* in milk and milk product and One Health perspective. **PLoS One**, 17(7), e0270993.
- KEET, R., & RIP, D. (2021). *Listeria monocytogenes* isolates from Western Cape, South Africa exhibit resistance to multiple antibiotics and contradicts certain global resistance patterns. **AIMS microbiology**, 7(1), 40.
- LIU, E.; LOURENÇO, ML; AUSTIN, F.; AINSWORTH, AJ. A multiplex PCR for species-specific determination and virulence of *Listeria monocytogenes*. **J Microbiology Methods** 71, 133–140, 2007
- RAMIRES, Tassiana et al. Genetic diversity, biofilm and virulence characteristics of *Listeria monocytogenes* in salmon sushi. **Food Research International**, v. 140, p. 109871, 2021.
- SOMOLINOS, M.; GARCIA, D.; CONDON, S.; MACKEY, B.; PAGAN, R. Inactivation of *Escherichia coli* by citral. **Journal of Applied Microbiology**, v. 108, p. 1928-1939, 2009.
- SOMRANI M, DEBBABI H, PALOP A. Atividade antibacteriana e antibiofilme do óleo essencial de cravo contra *Listeria monocytogenes* e *Salmonella Enteritidis*. **Food Science and Technology International** . 2022;28(4):331-339.
- SURYAWANSHI, R.D.; PATIL, M.; SHINDE, O.; JOGDAND, A.; BHOSLE, P.; DESHMUKH, O.; BABAR, A. The *Listeria monocytogenes* isolated from raw milk: phenotypic and molecular characterization, pathogenicity testing, and multidrug resistance profiling. **Indian Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 6, 2023.
- TERZI GULEL, G., GUCUKOGLU, A., CADIRCI, O., SAKA, E., & ALISARLI, M. (2020). Serotyping and antibiotic resistance of *Listeria monocytogenes* isolated from raw water buffalo milk and milk products. **Journal of Food Science**, 85(9), 2889-2895.
- WHO, WORLD HEALTH ORGANIZATION. Listeriosis. 2024. **World Health Organization**.<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/listeriosis>