

19 A 21 DE MAIO DE 2025 | BENTO GONÇALVES | RS

## RESISTÊNCIA À ANTIMICROBIANOS DE USO CLÍNICO DE ISOLADOS DE BACTÉRIAS ÁCIDO-LÁCTICAS PROSPECTADAS DE DIFERENTES MATRIZES ALIMENTARES

M. F. F. Siqueia<sup>1</sup>, S. S. Sigali<sup>2</sup>, P. F. Viana<sup>3</sup>, G. V. Lopes<sup>4</sup>, W.P. da Silva<sup>5</sup>, A. M. Fiorentini<sup>6</sup>

1-Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial – Universidade Federal Pelotas – CEP: 96010-900 – Pelotas – RS – Brasil, Telefone: (53) 32757284– e-mail: ([maria.fernanda.fs97@gmail.com](mailto:maria.fernanda.fs97@gmail.com))

2- Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial – Universidade Federal Pelotas – CEP: 96010-900 – Pelotas – RS – Brasil, Telefone: (53) 32757284– e-mail: ([silvanasigali@gmail.com](mailto:silvanasigali@gmail.com))

3 - Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial – Universidade Federal Pelotas – CEP: 96010-900 – Pelotas – RS – Brasil, Telefone: (53) 32757284– e-mail: ([fernandes199921@gmail](mailto:fernandes199921@gmail))

4- Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial – Universidade Federal Pelotas – CEP: 96010-900 – Pelotas – RS – Brasil, Telefone: (53) 32757284– e-mail: ([gracielavlopes@yahoo.com.br](mailto:gracielavlopes@yahoo.com.br))

5- Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial – Universidade Federal Pelotas – CEP: 96010-900 – Pelotas – RS – Brasil, Telefone: (53) 32757284– e-mail: ([wladmir.padilha2011@gmail.com](mailto:wladmir.padilha2011@gmail.com))

6- Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial – Universidade Federal Pelotas – CEP: 96010-900 – Pelotas – RS – Brasil, Telefone: (53) 32757284– e-mail: ([angefiore@gmail.com](mailto:angefiore@gmail.com))

**RESUMO-** As bactérias ácido-láticas (BAL) são geralmente reconhecidas como seguras (GRAS) e conseqüentemente, são utilizadas como culturas iniciadoras, entretanto algumas cepas podem possuir genes que transmitem resistência a antimicrobianos (RAM). O objetivo do presente estudo foi avaliar isolados de BAL de diferentes matrizes alimentares quanto à resistência aos antimicrobianos de uso clínico. Foram analisados 44 isolados, utilizando um protocolo adaptado do CLSI, frente à vancomicina, eritromicina, tetraciclina, gentamicina, penicilina, cloranfenicol, ciprofloxacina e ampicilina, sendo considerados como suscetíveis, resistência intermediária ou resistentes. Entre os isolados, 9,09% apresentaram multirresistência, 45,45% mostraram resistência à vancomicina, seguida de eritromicina (31,81%) e tetraciclina (29,54%). Como resultado geral foi observado que 81,82% dos isolados avaliados apresentaram resistência a pelo menos um dos antimicrobianos avaliados. Conclui-se que é necessário monitorar a RAM de isolados de BAL, uma vez que a provável transferência de genes de resistência representa riscos à saúde pública e a segurança de alimentos fermentados.

**ABSTRACT-** Lactic acid bacteria (LAB) are generally recognized as safe (GRAS) and are therefore used as starter cultures. However, some strains may have genes that transmit antimicrobial resistance (AMR). The aim of this study was to evaluate LAB isolates from different food matrices for resistance to antimicrobials in clinical use. Forty-four isolates were analyzed using a protocol adapted from CLSI against vancomycin, erythromycin, tetracycline, gentamicin, penicillin, chloramphenicol, ciprofloxacin and ampicillin, and were considered susceptible, intermediately resistant or resistant.



19 A 21 DE MAIO DE 2025 | BENTO GONÇALVES | RS

Among the isolates, 9.09% showed multidrug resistance, 45.45% showed resistance to vancomycin, followed by erythromycin (31.81%) and tetracycline (29.54%). As a general result, it was observed that 81.82% of the isolates evaluated showed resistance to at least one of the antimicrobials evaluated. It is concluded that it is necessary to monitor AMR of LAB isolates, since the probable transfer of resistance genes represents risks to public health and the safety of fermented foods.

**PALAVRAS-CHAVE:** segurança de alimentos; saúde pública; alimentos fermentados; suscetibilidade.

**KEYWORDS:** food safety; public health; fermented foods; susceptibility.

## 1. INTRODUÇÃO

Bactérias ácido-láticas (BAL) pertencem a um diverso grupo de microrganismos, com base nas suas características morfológicas e fisiológicas (Abedin, 2024), como o fato de serem Gram-positivas, catalase negativa, produtoras de ácido lático como principal produto da fermentação de carboidratos (Aleksanyan *et al.*, 2024). São consideradas GRAS (*Generally Reconized as Safe*) pelo FDA (*Food and Drug Administration*), e consequentemente são amplamente empregadas em diversos processos na indústria de alimentos (Mojgani *et al.*, 2015), como a de laticínios, panificação, produtos cárneos e vegetais (Fadda *et al.*, 2024).

Mesmo sendo consideradas seguras, algumas cepas de BAL podem atuar como reservatórios de genes de resistência a antimicrobianos de uso clínico (Holmes *et al.*, 2016), os quais podem ser transferidos para outras bactérias através da transferência horizontal de genes (Lerminiaux e Cameron 2019). A disseminação desses genes de resistência é agravada pelo uso indiscriminado de antimicrobianos na medicina, agricultura e pecuária (O'Neill, 2016), portanto essa resistência à antimicrobianos (RAM) é considerada uma ameaça à saúde pública global (WHO, 2020).

A seleção de isolados de BAL suscetíveis é imprescindível para minimizar os riscos associados a RAM, a fim de garantir a segurança de alimentos fermentados e reduzir os impactos na saúde pública (Santos *et al.*, 2019). Nesse contexto, o objetivo do presente estudo foi avaliar a resistência à antimicrobianos de uso clínico por bactérias ácido-láticas prospectadas de diferentes matrizes alimentares, para uma aplicação segura em processos futuros.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS



19 A 21 DE MAIO DE 2025 | BENTO GONÇALVES | RS

Foram avaliados 44 isolados de BAL, prospectados de diversas matrizes alimentares (mel, pescados, *levain*, amido de batata fermentado, kefir e leite de cabra *in natura*). Para avaliar a resistência a antimicrobianos de uso clínico dos isolados seguiu o protocolo proposto pelo Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI, 2020) com adaptação, onde o cultivo ativo foi padronizado seguindo a escala 0,5 de *Mc Farland*, ( $1,5 \times 10^8$  UFC. mL<sup>-1</sup>) em solução salina 0,85%. Após os cultivos foram inoculados em placas contendo 10 mL de ágar Mueller Hinton com o auxílio de swab esterilizado. Na sequência, os discos de antimicrobianos foram dispostos sobre o ágar e as placas foram incubadas em condições de anaerobiose a 37 °C por 24 horas. Os antimicrobianos avaliados foram: vancomicina (30 µg), eritromicina (15 µg), penicilina G (10 µg), tetraciclina (30 µg), cloranfenicol (30 µg), gentamicina (10 µg), ciprofloxacina (5 µg) e ampicilina (10 µg).

Os resultados foram classificados de acordo com o tamanho da zona de inibição formada ao redor de cada disco de antimicrobiano, como resistentes (R -  $\leq 15$  mm), com resistência intermediária (I - 16-20 mm) ou suscetível (S -  $\geq 21$  mm) (Viková *et al.*, 2006). Foram considerados multirresistentes os isolados que apresentaram resistência a 3 ou mais classes de antimicrobianos (CDC, 2019).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

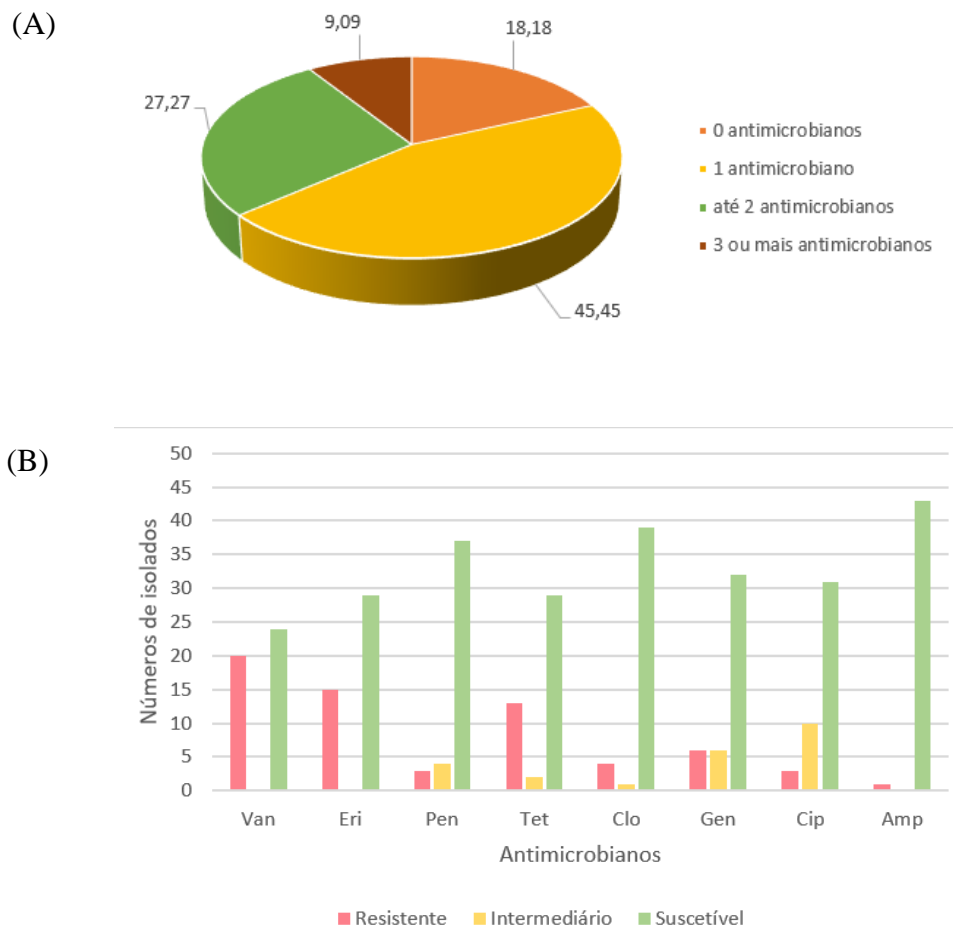
A multirresistência foi observada para 4 (9,09%) dos 44 isolados avaliados, em contrapartida 8 isolados (18,8%) não apresentaram resistência a nenhum dos antimicrobianos avaliados, A resistência a somente um dos 8 antimicrobianos avaliados foi observada para 20 (45,45%) dos isolados avaliados, já 12 (27,27%) isolados apresentaram resistência a dois dos antimicrobianos avaliados esses resultados podem ser observados na Figura 1 (A).

Os isolados apresentaram-se menos suscetíveis à vancomicina, sendo 20 (45,45%) resistentes a esse antimicrobiano, seguido de eritromicina, tetraciclina, gentamicina, penicilina, cloranfenicol, ciprofloxacina, ampicilina, com percentuais de isolados resistentes de 31,81%, 29,54%, 13,63%, 9,09%, 9,09%, 6,81% e 2,27% esses resultados podem ser observados na Figura 1 (B). Quanto a procedência dos isolados, em todas as matrizes alimentares foi identificado pelo menos um isolado com resistência a no mínimo um dos antimicrobianos avaliados.

Quanto a resistência a vancomicina e gentamicina, já era esperado um número expressivo de isolados resistentes tendo em vista que algumas espécies de BAL possuem resistência intrínseca a esses antimicrobianos (May-Torruco *et al.*, 2020), essa resistência está atrelada a genes cromossômicos, não sendo transferida para outros microrganismos (Amoor *et al.*, 2007; Honi *et al.*, 2014).



**Figura 1-** Avaliação da resistência a antimicrobianos de uso clínico de bactérias ácido-láticas prospectadas de diferentes matrizes alimentares, quanto ao percentual de isolados *versus* número de antimicrobianos resistentes (A) e quanto ao número de isolados resistentes a cada antimicrobiano (B)



(Van) vancomicina; (Eri) eritromicina; (Pen) penicilina; (Tet) tetraciclina; (Clo) Cloranfenicol; (Gen) Gentamicina; (Cip) Ciprofloxacina (Amp) ampicilina

Em estudos conduzidos por Yilmaz *et al.* (2025) e Duche *et al.* (2023) a resistência entre diferentes gêneros de BAL foi identificada para mais de uma classe de antimicrobiano. No presente estudo 37 isolados (81,82%) apresentaram resistência a pelo menos um antimicrobiano, esses resultados vão de acordo com o estudo de Luz *et al.* (2021), onde 88,88% dos isolados de BAL avaliados apresentaram resistência a pelo menos um antimicrobiano avaliado.

#### 4. CONCLUSÃO



19 A 21 DE MAIO DE 2025 | BENTO GONÇALVES | RS

Conclui-se que a grande maioria (81,82%) dos isolados avaliados neste estudo apresentaram resistência a pelo menos um antimicrobiano e somente 9,09% foram considerados multirresistentes, porém é muito preocupante pois a resistência se manifestou para quatro classes de antimicrobianos. Em contrapartida 15,9% dos isolados demonstraram ausência de resistência à antimicrobianos, ou seja, não são capazes de transmitir genes de resistência a outros microrganismos. Esse resultado é um indicativo de que a investigação da resistência de BAL à antimicrobianos de uso clínico é de suma importância, pois evidencia uma problemática quanto a propagação de bactérias que possuem genes de resistência a antimicrobianos na cadeia alimentar.

## 5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEDIN, M. M., CHOURASIA, R., PHUKON, L. C., SARKAR, P., RAY, R. C., SINGH, S. P., & RAI, A. K. Lactic acid bacteria in the functional food industry: Biotechnological properties and potential applications. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 64(29), 10730–10748, 2024.

ALEKSANYAN, T., HAKOBYAN, L. L., DIMOV, S., HAERTL' E, T., & BAZUKYAN, I. (2024). Important properties of lactic acid bacteria and their role in industry. **In Microbial Essentialism** p. 1-46, 2024.

AMMOR, M. S., FLÓREZ, A. B., MAYO, B. Antibiotic resistance in non-enterococcal lactic acid bacteria and bifidobacterial. **Food microbiology**, v.24(6), p559-570, 2007

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Antibiotic resistance threats in the United States, 2019. Antibiotic resistance threats in the united states**, Nov. 2019. Disponível em: <https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/threats-report/2019-ar-threats-report-508.pdf>. Acesso em: 05/02/2025

CLSI. Performance **Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**. 30th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2020.

DUCHE, R. T., SINGH, A., WANDHARE, A. G., SANGWAN, V., SIHAG, M. K., NWAGU, T. N. T., PANWAR, H., EZEUGU, Lewis. I. Antibiotic resistance in potential probiotic lactic acid bacteria of fermented foods and human origin from Nigeria. **BMC Microbiology**, vol. 23, no. 1, 19 2023.



19 A 21 DE MAIO DE 2025 | BENTO GONÇALVES | RS

FADDA, S., CASTELLANO, P., TER´AN, L., RAYA, R., & VIGNOLO, G. **Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects: Role of autochthonous starter cultures on quality, safety and health.** (6 ed.), CRC press, 2024.

HOLMES, A. H., MOORE, L. S., SUNDSFJORD, A., STEINBAKK, M., REGMI, S., KARKEY, A., GUERIN, P. J., PIDDOCK, L. V. Understanding the mechanisms and drivers of antimicrobial resistance. **The Lancet**, v. 387, n. 10014, p. 176-187, 2016.

HONI, U., SABRIN, F., ISLAM, T., ISLAM, E., BILLAH, M., ISLAM, K. D. Enzymatic activity and antibiotic resistance profile of *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*- 1 isolated from regional yogurts of Bangladesh. **Journal of Microbiology Biotechnology and Food Sciences**, v.3(3), p.235-239, 2014.

LERMINIAUX, N. A.; CAMERON, A. D. S. Horizontal transfer of antibiotic resistance genes in clinical environments. **Canadian Journal of Microbiology**, vol. 65, no. 1, p. 34–44, 2018.

LUZ, C.; CALPE, J.; QUILES, J. M.; TORRIJOS, R.; VENTO, M.; MARÍA GORMAZ; JORDI MAÑES; MECA, G. Probiotic characterization of *Lactobacillus* strains isolated from breast milk and employment for the elaboration of a fermented milk product. **Journal of Functional Foods**, vol. 84, p. 104599–104599, 2021.

MAY-TORRUCO, A. L., CORONA-CRUZ, A. I., JIMÉNEZ, A. L. L., CORTÉS, N. G., & VERA, R. J. (2020). Sensibilidad y Resistencia a Antibióticos de Cepas 76 Probióticas Empleadas en Productos Comerciales. **European Scientific Journal, ESJ**, v. 16, n. 18, p. 43. doi: 10.19044/esj.2020.v16n18p43

MOJGANI, N.; HUSSAINI, F.; VASEJI, N. Characterization of Indigenous *Lactobacillus* Strains for Probiotic Properties. **Jundishapur Journal of Microbiology**, v. 8, n. 2, 7 fev. 2015.

O'NEILL, J. Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations. London: Review on Antimicrobial Resistance, 2016.

SANTOS, D. S., CALAÇA, P. R. A., PORTO, A. L. F., SOUZA, P. R. E., CAVALCANTI, M. T. H. Caracterização parcial probiótica e molecular de bactérias ácido-láticas isoladas de queijo de coalho da cidade de Arcoverde. **Iniciação Científica CESUMAR**, v. 21, n. 1, p. 7-14, 2019.

VLKOVÁ, E.; RADA, V.; POPELÁŘOVÁ, P.; TROJANOVÁ, I.; KILLER, J. Antimicrobial susceptibility of bifidobacteria isolated from gastrointestinal tract of calves. **Livestock Science**, vol. 105, no. 1-3, p. 253–259, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Antimicrobial resistance**. Geneva: WHO, 2020. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>. Acesso em: 23 jan. 2025.

YILMAZ, N., YESIM ÖZOĞUL, ELIF COŞKUN DAĞGEÇEN, İSMAIL AKYOL, RATHOD, N. B., VIJAY, FATI H ÖZOĞUL. Isolation, characterization and antibiotic resistance of lactic acid bacteria from dairy and seafood sources. **Food Bioscience**, p. 105895–10589, 2025.