



CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA - CEUB

PROGRAMA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

LETÍCIA CARVALHO GUIMARÃES

NATÁLIA FARIA DE LIMA

**PESQUISA DE *Listeria monocytogenes* EM FRANGOS, CARNE BOVINA,
LATICÍNIOS E EMBUTIDOS À VENDA NO DISTRITO FEDERAL**

BRASÍLIA

2023



LETÍCIA CARVALHO GUIMARÃES

NATÁLIA FARIA DE LIMA

**PESQUISA DE *Listeria monocytogenes* EM FRANGOS, CARNE BOVINA,
LATICÍNIOS E EMBUTIDOS À VENDA NO DISTRITO FEDERAL**

Relatório final de pesquisa de Iniciação Científica apresentado à Assessoria de Pós-Graduação e Pesquisa.

Orientação: Fernanda Nomiya Figueiredo

BRASÍLIA

2023

DEDICATÓRIA

Com imensa admiração e gratidão, dedicamos este trabalho à nossa orientadora, Fernanda Nomiya, cujo apoio e orientação foram fundamentais em nossa jornada acadêmica. Sua sabedoria e experiência foram fontes inestimáveis para o nosso crescimento e desenvolvimento.

Além disso, estendemos nossa dedicatória a toda a comunidade do curso de medicina do UniCEUB, bem como a todos que nos auxiliaram nessa caminhada desafiadora.

A cada pessoa que, de alguma forma, possa ser beneficiada por esta pesquisa, nossa dedicação é também direcionada, com a esperança de que nosso trabalho possa contribuir positivamente em suas vidas.

AGRADECIMENTOS

Às professoras Fernanda Nomiyama Figueiredo, pela orientação acadêmica, paciência e confiança ao longo de todo o processo, e Fabíola Fernandes dos Santos Castro, pela oportunidade concedida e por acreditar no desenvolvimento deste projeto. Sem o apoio inestimável de ambas, nada disso seria possível.

Às monitoras, Mariana Marques Belluco e Mariana Si Qian Zhang, do curso de biomedicina, que generosamente disponibilizaram seu tempo, conhecimento e auxílio para a execução prática deste trabalho.

A todos os funcionários do LABOCIEN que nos acompanharam durante toda a pesquisa e nos forneceram todos os materiais e suporte necessários. Em especial ao Lula, à Paloma e à Elaine, cuja disponibilidade e ajuda facilitaram cada etapa deste estudo.

À instituição UniCEUB, que nos proporcionou a oportunidade de ingressar no cenário das pesquisas científicas. Um agradecimento especial a toda a equipe de Assessoria de Pesquisa e Iniciação Científica, que nos acompanhou durante todo o processo de execução do projeto.

À equipe de limpeza, cujo trabalho diligente tornou possível a realização do projeto em um ambiente confortável e adequado.

As nossas famílias, que sempre estiveram ao nosso lado, apoiando e acreditando em nosso objetivo, a vocês o nosso carinho e reconhecimento.

Por fim, agradecemos a todos que participaram, direta ou indiretamente, do desenvolvimento deste trabalho. Cada contribuição foi valiosa e essencial para o sucesso desta pesquisa.

“Não se esqueça de que o amor, tal como a medicina, é só a arte de ajudar a natureza.”

(Pierre Choderlos de Laclos)

RESUMO

As Doenças Veiculadas por Alimentos (DVA) representam uma séria preocupação para a saúde pública devido à sua alta capacidade de transmissão por meio de alimentos contaminados. Este estudo tem como objetivo verificar a ocorrência de *Listeria monocytogenes* em alimentos de consumo comum no Distrito Federal, buscando alertar sobre a implementação de medidas de controle e vigilância para reduzir a disseminação do patógeno na população brasileira. *Listeria monocytogenes* é uma bactéria gram-positiva e anaeróbia facultativa, que demonstra notável capacidade de sobreviver em ambientes desafiadores, incluindo baixas temperaturas e ambientes ácidos, o que a torna especialmente relevante no contexto das DVAs. Além disso, ela pode formar biofilmes em equipamentos usados na indústria alimentícia, o que aumenta o risco de contaminação ao longo da cadeia de produção. A contaminação por essa bactéria geralmente está associada ao consumo de alimentos crus ou insuficientemente cozidos, como leite cru, queijos não pasteurizados, carnes mal passadas, vegetais crus, salsichas e alimentos refrigerados. A Listeriose, doença causada por este agente, pode variar de leve a grave e afeta principalmente grupos de risco, como idosos, neonatos, gestantes e imunocomprometidos, podendo levar a complicações sérias, incluindo meningite, septicemia e aborto. A letalidade da Listeriose pode chegar a 30%, mesmo com tratamento adequado, o que torna essa doença um importante problema de saúde pública. No Brasil, a Listeriose é subnotificada e subdiagnosticada, o que dificulta a avaliação do seu impacto no país. Nesse contexto, a presente análise de alimentos, dentre eles carnes, leite, queijos e embutidos, revelou indícios compatíveis com a presença de *Listeria monocytogenes* somente na amostra de paleta bovina (da primeira rodada de testes) e de paleta bovina moída (da segunda rodada de testes). Estas amostras foram submetidas a testes para avaliar a sensibilidade a antimicrobianos. Tais resultados sugerem a possibilidade de contaminação em diversos pontos da cadeia produtiva, como locais de controle, manuseio e abate de animais, além do processamento de moedor e fatiamento de carne. É essencial identificar os alimentos de maior risco e implementar estratégias de eliminação do patógeno. No entanto, é necessário realizar mais estudos para garantir a segurança das diferentes abordagens de controle, como uso de tecnologias de irradiação gama e fagos, além de embalagens com nanofibras, por exemplo. Portanto, torna-se crucial garantir condições higiênicas e sanitárias adequadas de produção, transporte e armazenamento de alimentos. Além disso, deve-se promover o incentivo ao financiamento de pesquisas voltadas para o desenvolvimento de tecnologias que reduzam os riscos de contaminação, bem como estudos sobre a incidência do patógeno em produtos cárneos e processados. Destaca-se, por fim, a importância desta pesquisa como medida essencial para fornecer dados que aprimorem a compreensão e o monitoramento adequado da presença de *Listeria monocytogenes* nos alimentos consumidos diariamente pela população brasileira, contribuindo para a segurança alimentar e prevenção à saúde da população.

Palavras-chave: *Listeria monocytogenes*; listeriose; segurança alimentar.

LISTAS DE FIGURAS, TABELAS, QUADROS, GRÁFICOS, SÍMBOLOS E ABREVIações

Quadro 1 – Resultados esperados para identificação de <i>Listeria monocytogenes</i>	23
Quadro 2 – Resultados encontrados em testes com amostra de queijo não-pasteurizado (amostra 1 - primeira rodada)	24
Quadro 3 – Resultados encontrados em testes com amostra de leite de saquinho Paracatu (primeira rodada)	24
Quadro 4 – Resultados encontrados em testes com amostra de presunto Aurora (primeira rodada)	25
Quadro 5 – Resultados encontrados em testes com amostra de presunto Perdigão (primeira rodada)	25
Quadro 6 – Resultados encontrados em testes com amostra de salsicha Aurora (primeira rodada)	25
Quadro 7 – Resultados encontrados em testes com amostra de salsicha Perdigão (primeira rodada)	25
Quadro 8 – Resultados encontrados em testes com amostra de coxa de frango (primeira rodada)	26
Quadro 9 – Resultados encontrados em testes com amostra de peito de frango (segunda rodada)	26
Quadro 10 – Resultados encontrados em testes com amostra de contra filé bovino (segunda rodada)	26
Quadro 11 – Resultados encontrados em testes com amostra de coxão mole bovino (segunda rodada)	26
Quadro 12 – Resultados encontrados em testes com amostra de leite em pó Italac (primeira rodada)	27
Quadro 13 – Resultados encontrados em testes com amostra de peito de frango (primeira rodada)	27
Quadro 14 – Resultados encontrados em testes com amostra de queijo não-pasteurizado (amostra 2 - primeira rodada)	28
Quadro 15 – Resultados encontrados em testes com amostra de patinho bovino (primeira rodada)	29
Quadro 16 – Resultados encontrados em testes com amostra de patinho bovino (segunda rodada)	30

Quadro 17 – Resultados encontrados em testes com amostra de coxa e sobrecoxa de frango (segunda rodada)	31
Quadro 18 – Resultados encontrados em testes com amostra de paleta bovina (primeira rodada)	31
Quadro 19 – Resultados encontrados em testes com amostra de paleta bovina moída (segunda rodada)	32
Quadro 20 – Resultados esperados e encontrados em teste de sensibilidade a antimicrobianos em amostras com colônias compatíveis com <i>Listeria monocytogenes</i>	33
Prancha 1	37

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
OBJETIVOS	12
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	13
3. MÉTODO	20
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	40
REFERÊNCIAS	42

1. INTRODUÇÃO

Doenças veiculadas por alimentos (DVA) são extremamente importantes para a saúde pública devido ao alto potencial de transmissibilidade (Silva, 2021). Sendo que, de acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), cerca de 250 tipos de infecções são causadas por alimentos contaminados com bactérias, parasitas, vírus, toxinas e resíduos químicos (Souza, 2021).

O gênero *Listeria spp.* apresenta bacilos gram-positivos, que podem se apresentar Gram-lábeis, curtos e curvos, e corresponde às seis espécies *L. monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*, *L. innocua*, *L. welshimeri* e *L. grayi*. Sendo, de fato, a *L. monocytogenes* de maior relevância para o homem, uma vez que é relacionada a uma grande variedade de manifestações clínicas graves, que afetam, principalmente, grupos de risco como idosos, neonatos, gestantes, imunocomprometidos, ou seja, refere-se a um patógeno oportunista. Entretanto, podem também apresentar-se de forma mais branda em pacientes previamente hígidos (Silva, 2021).

A *Listeria monocytogenes* é uma bactéria gram-positiva, anaeróbia facultativa, catalase positiva e oxidase negativa, além de não produtora de esporos (Souza, 2021). Sua transmissão ocorre por via ocular, respiratória, cutânea e urogenital, sendo estas, menos frequentes, ou através da ingestão de alimentos contaminados, circunstância mais incidente (Byrne, 2014; Lopes, 2013). Nesse sentido, é a espécie com maior relevância clínica causando Listeriose, doença responsável por causar altas taxas de letalidade, chegando de 20% a 30%, mesmo com tratamento adequado. Entretanto, no Brasil, permanece sendo uma doença subdiagnosticada e subnotificada (Souza, 2021).

A doença manifesta-se em sua forma não invasiva com sintomas gripais e gastrointestinais. Contudo, a forma invasiva pode ocorrer como meningite, septicemia e abortos (Byrne, 2014). Nesse cenário, recebe destaque devido ao índice elevado de infecção por alimentos contaminados, principalmente devido à inadequada manipulação dos produtos, mormente de origem animal, e controle higiênico-sanitário deficitário (Silva, 2021).

Esta espécie bacteriana é encontrada em solo, água, esgoto e vegetação, além da microbiota fecal de diversos animais, o que facilita sua permanência no ambiente. É também contaminante alimentar com capacidade de crescer na superfície de diversos alimentos, como leite cru e seus derivados, vegetais crus, aves, peixes e carnes frescas ou processadas (Koneman, 2018). Pode ainda ser isolada em drenos e diversos tipos de materiais da indústria alimentícia, principalmente refrigeradores e freezers (Melo, 2015).

A refrigeração, método de controle de diversos patógenos nas linhas de produção das indústrias alimentícias, responsável, normalmente, por inibir a proliferação de microrganismos e manter os produtos viáveis para o consumo, não é eficaz quando se trata da *Listeria monocytogenes*, uma vez que esta apresenta resistência às baixas temperaturas, tornando a eliminação do patógeno desses setores de produção dificultada (Koneman, 2018; Melo, 2014). Ademais, a bactéria sobrevive a repetidos processos de congelamento e descongelamento, o que facilita a contaminação de diversos alimentos (Souza, 2021).

Além disso, a *L. monocytogenes* também apresenta, como fator de resistência, a capacidade de sobreviver em meios inóspitos como grandes variações de temperatura e pH, por exemplo, bem como se multiplicar na presença de altas concentrações de sal. Ou seja, tais características são fundamentais para a sobrevivência em alimentos que utilizam NaCl e temperaturas baixas para a sua conservação (Souza, 2021). Além disso, tratando-se de um microrganismo anaeróbico facultativo, é resistente às condições diversas de embalagens e armazenamento de alimentos (Melo, 2014).

Diante disso, a capacidade de alta virulência e transmissibilidade é justificada não só por características psicotróficas e comportamentais de crescimento bacteriano, mas também devido à capacidade de adesão e desenvolvimento de biofilme em superfícies como vidro, poliestireno e polipropileno, ou seja, estruturas que compõem os equipamentos de processamento de indústrias alimentares. Nesse sentido, o risco de contaminação existe em diferentes etapas da cadeia de produção (Souza, 2021).

O CDC (Centers of Disease Control and Prevention, EUA), por exemplo, observou surtos da doença e, a partir de um estudo, publicou diretrizes para prevenção da transmissão por alimentos que incluem lavar e/ou cozinhar completamente os alimentos crus de origem

animal ou vegetal antes do seu consumo e se alimentar de leite e de seus derivados pasteurizados (Koneman, 2018).

O primeiro surto de listeriose de origem alimentícia foi relatado, em 1981, no Canadá, através de uma salada de repolho contaminada ainda na plantação por meio de adubo de animal contaminado, afetando 52 pessoas sendo 11 delas levadas à óbito. Há um enorme risco de esses alimentos serem ingeridos dentro do ambiente hospitalar, local onde geralmente há, em sua maior parte, indivíduos pertencentes ao grupo de risco, como ocorreu na Finlândia em 1998 e 1999 (Byrne, 2014).

É imprescindível que haja um rígido controle de qualidade dos padrões exigidos e recomendados, associado a todo o processamento do produto a fim de evitar novos casos, uma vez que a doença não é, de fato, diagnosticada e notificada de forma criteriosa no Brasil, o que impede a análise correta do impacto de sua infecção no país (Lopes, 2013). Dessa forma, a avaliação da presença da *Listeria monocytogenes* contribui para o bem-estar e saúde do consumidor, vista as graves consequências da infecção e a alta taxa de letalidade (Lopes, 2013).

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Verificar a ocorrência de *Listeria monocytogenes* em frangos, carne bovina, laticínios e embutidos à venda para consumo em mercados do Distrito Federal, considerando unidades de venda distintas e em intervalos de tempo diferentes para a pesquisa. O estudo servirá como indicador de qualidade higiênico-sanitária dos alimentos comercializados e do seu processo produtivo.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a presença de *Listeria monocytogenes* em queijos não-pasteurizados, leite, salsicha, frango e carne bovina de supermercados do Distrito Federal.
- Alertar para a necessidade da implementação de medidas de controle e vigilância da bactéria, de forma a monitorar o risco de contaminação na população.

- Compreender o potencial que os alimentos mal processados têm de causar infecções em diversos sítios anatômicos e a importância do monitoramento efetivo para o sistema de saúde público.
- Avaliar o potencial contaminante existente na cadeia produtiva, que inclui o processamento e distribuição de alimentos prontos para o consumo.
- Avaliar a resistência das cepas de *Listeria monocytogenes* aos antimicrobianos disponíveis sugeridos pela metodologia do *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (BrCAST):
 - Meropenem;
 - Eritromicina;
 - Sulfametoxazol-trimetoprim.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A população brasileira tem hábitos alimentares que compõem suas refeições diárias em leites e laticínios, bem como ovos, carnes e derivados, desde o café da manhã até o jantar. Deste modo, a listeriose se torna um grande problema de saúde pública, uma vez que o patógeno é encontrado nesses alimentos e pode ser contaminante sem qualquer sazonalidade, caso não sejam cumpridas as medidas e protocolos básicos de higienização (Sakate, 2005).

Existem alimentos que são considerados de alto risco de contaminação, entre eles destacam-se o leite cru e os queijos não pasteurizados, vegetais consumidos sem cozimento, salsichas, carnes mal passadas ou cruas, aves, peixes e outros alimentos armazenados sob refrigeração, como frutos do mar, por exemplo (Souza, 2021). É importante salientar que tanto a contaminação de carnes quanto de vegetais crus é uma ocorrência frequente, sendo que ambos têm relevância dietética para o ser humano, o que ressalta a necessidade de identificar produtos contaminados para garantir a segurança alimentar (Barancelli, 2011).

Dentro desse contexto, é válido considerar os principais reservatórios da bactéria *Listeria monocytogenes*, sendo o trato gastrointestinal de animais uma fonte pertinente. Apesar de esses animais atuarem como portadores assintomáticos da bactéria, eles são o

principal foco de colonização e disseminação (Souza, 2021). Decerto, o Brasil destaca-se como um dos principais produtores mundiais de carnes e seus derivados, além de ser o maior exportador de carne bovina em escala global. No ano de 2020, a produção brasileira de carne bovina atingiu aproximadamente 10,10 milhões de toneladas equivalente à carcaça, com cerca de 74% destinados ao consumo interno. Em média, cada cidadão brasileiro consumiu cerca de 24,4 kg desse tipo de carne (Malafaia, 2021).

De fato, a carne bovina é a segunda opção mais consumida pela população brasileira, ficando atrás apenas das aves. Entretanto, é fundamental ressaltar a importância de monitorar a contaminação nos produtos cárneos, uma vez que essa ocorre ao longo de várias etapas do processo, desde o abate até o processamento. Contaminantes, tais como utensílios como facas e equipamentos, além das mãos dos operários envolvidos, podem ser responsáveis por contaminar superficialmente a carne (Soares, 2017).

O gênero *Listeria spp.* é composto por bacilos que podem ser classificados como gram-positivos ou gram-lábeis. São microrganismos que podem existir tanto dentro quanto fora das células, apresentando-se em arranjos em forma de V ou Y e não possuem capacidade de formar esporos, tampouco são encapsulados. São anaeróbios facultativos e possuem flagelos peritríquios (Byrne, 2014; Koneman, 2018). Essas características conferem uma ampla distribuição na natureza (Souza, 2021).

Segundo a Laborclin (2022), empresa fornecedora de produtos destinados ao uso em laboratórios, o Ágar *Listeria* de Ottaviani & Agosti (ALOA) pode ser utilizado para o isolamento de *Listeria spp.*, incluindo a *Listeria monocytogenes*, tendo em vista que é um meio cromogênico e seletivo para o crescimento de tal bactéria. A empresa afirma que, por hidrolisar o composto cromogênico, a *Listeria monocytogenes* forma colônias verde-azuladas nas placas de ALOA.

Sob uma perspectiva bioquímica, tais microrganismos são catalase positivos, oxidase negativos e móveis, com motilidade característica em forma de guarda-chuva em meio semissólido, embora essa capacidade motora seja reduzida entre 35°C e 37°C. Eles são capazes de crescer na presença de bile e de hidrolisar a esculina. Além disso, desenvolvem-se adequadamente em temperaturas variando de 0°C a 35°C, não produzem H₂S, mas geram ácido e acetoína (reação de Voges-Proskauer positiva) a partir da glicose. Apresentam

resultado positivo para o teste de Vermelho de Metila e arginina, enquanto o indol (produto da degradação do triptofano) e a urease são negativos (Byrne, 2014; Koneman, 2018).

O isolamento do patógeno em meios de cultura pode ser realizado a partir de amostras de alimentos e fluidos biológicos (Byrne, 2014; Koneman, 2018). As colônias crescem bem em Ágar Sangue de Carneiro (SBA), apresentando coloração branco-acinzentada e exibindo beta-hemólise em 18-24 horas de incubação. Foi constatado que o ágar Sangue (Oxoid) com 5% de sangue de cavalo permite melhor detecção da atividade da hemolisina. Por ser semelhante aos *Streptococcus*, spp., deve-se sempre realizar microscopia por Gram e o teste de catalase (Byrne, 2014; Koneman, 2018).

A diferenciação de espécies hemolíticas (beta-hemólise produzida no ágar sangue e CAMP Teste positivo) se dá através da observação dos testes de fermentação. A *Listeria monocytogenes* é um microrganismo fermentador, ou seja, é capaz de produzir ácido a partir da glicose. Não fermenta o carboidrato Xilose e fermenta a Ramnose, enquanto outras espécies metabolizam a Xilose e não utilizam a Ramnose (Jantzen, 2006; Koneman, 2018). Existem também Kits de identificação para *Listeria* spp. como API Coryne (BioMérieux), RapID CB-Plus (Remel), API *Listeria* (BioMérieux) e Micro-ID *Listeria* (Remel) (Koneman, 2018).

A *Listeria monocytogenes* é uma bactéria amplamente disseminada, podendo ser encontrada no solo, água, vegetação, animais e alimentos. Ela possui a capacidade de crescer bem em temperaturas de refrigeração e congelamento, bem como amplas faixas de pH, além de tolerar ambientes salinos com até 10% de NaCl, permitindo sua sobrevivência em alimentos conservados sob baixas temperaturas e contendo sal. Além disso, é resistente a ambientes ácidos e é capaz de formar biofilmes. Todas essas características contribuem para sua adaptação e sobrevivência em alimentos congelados, como carnes, frutos do mar, vegetais, comidas prontas, leites e seus derivados, independentemente de serem pasteurizados ou não (Koneman, 2018; Lopes, 2013).

Por muito tempo, acreditou-se que a refrigeração seria suficiente para assegurar a segurança microbiológica dos alimentos, uma vez que, teoricamente, as baixas temperaturas inibiriam o crescimento microbiano (Byrne, 2014). No entanto, essa crença não considerou a presença de microrganismos psicotróficos, como a *Listeria monocytogenes*, que, ao

contrário, prosperam em temperaturas baixas (Souza, 2021). Ademais, foi demonstrado que a persistência da bactéria no ambiente pode durar por até 8 semanas, não apenas devido à sua resistência, mas também por conta de práticas inadequadas de higiene (Osek, 2022). Tais características ressaltam a necessidade de cuidados específicos na manipulação e conservação de alimentos, especialmente os suscetíveis a abrigar esses patógenos, a fim de garantir a segurança alimentar para os consumidores.

A maioria dos países possui regulamentações para que seja garantido o controle de qualidade dos produtos alimentares. Nos Estados Unidos, por exemplo, a tolerância a cepas de *Listeria monocytogenes* como contaminantes alimentares é zero. Portanto, a presença de qualquer microrganismo em 25 g de alimento é considerada inaceitável e imprópria para consumo, violando as diretrizes implantadas (Byrne, 2014). Em 2023, de acordo com o FDA (Food and Drug Administration), cerca de 400 alimentos, incluindo saladas e iogurtes, foram recolhidos nos EUA devido à suspeita de contaminação por esse agente. Já a comunidade europeia utiliza o critério de que alimentos prontos devem ter contagens menores que 100 UFC/g, sendo que deve haver ausência do patógeno em 25 g do alimento ao final do processamento e ausência em 25 g ou 25 mL nos produtos destinados a fins medicinais e a lactentes (Lopes, 2013).

Em 2018, a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) suspendeu as vendas de um lote de alimentos importados da Europa devido à contaminação por *Listeria monocytogenes*, o que foi documentado no Diário Oficial da União e ainda pelo Grupo Globo de Comunicações, Revista Exame, dentre outros meios jornalísticos brasileiros. Isso ocorre porque, no Brasil, a ANVISA estabelece, por meio da RDC nº 331, padrões microbiológicos para alimentos. Em relação à *Listeria monocytogenes*, é exigido que nenhuma amostra apresente resultado acima de 10^2 UFC (Unidades Formadoras de Colônia) em cinco unidades amostrais coletadas de alimentos prontos para o consumo. Em casos envolvendo lactentes ou outras condições especiais, não é tolerado nenhum resultado positivo para a bactéria (Silva, 2021).

Além disso, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) também contribui para a segurança alimentar por meio da instrução normativa 09, de 08 de abril de 2009. Essa norma assegura que produtos com certas características físico-químicas, tais

como pH superior a 4,4, concentração de NaCl inferior a 10%, entre outros critérios, por exemplo, sejam submetidos ao monitoramento. Caso a presença de *L. monocytogenes* seja detectada, os produtos devem ser submetidos ao processo de reprocessamento até completa destruição do microrganismo (Silva, 2021). Nesse contexto, ações preventivas e corretivas são adotadas tanto pelo órgão regulatório quanto pela empresa produtora de alimentos para garantir que os alimentos estejam em conformidade com os padrões de qualidade e segurança alimentar.

A Dose Mínima Infectante de *Listeria monocytogenes* ainda não é completamente conhecida devido às dificuldades em realizar pesquisas sobre listeriose em indivíduos saudáveis. Entretanto, estudos revelaram que populações do patógeno com contagem entre 10^3 e 10^4 UFC/g em alimentos foram suficientes para a infecção e desencadeamento da doença. Outras investigações sugerem que contagens menores que 10^2 UFC/g em alimentos podem não ser suficientes para causar a infecção, embora isso não exclua a possibilidade. Acredita-se que, em certos casos, cerca de 1.000 células bacterianas sejam suficientes para desencadear a infecção em indivíduos considerados de risco (Lopes, 2013).

A principal forma de contaminação e infecção por *Listeria monocytogenes* ocorre através do consumo de alimentos contaminados com o patógeno, mas também pode ser adquirida por outras vias de transmissão, como ocular, respiratória, cutânea e urogenital. Adicionalmente, há a possibilidade de transmissão via transplacentária e via canal de parto (Koneman, 2018). Após a transmissão, há um período de incubação de cerca de 30 dias, durante o qual a bactéria tem a capacidade de atravessar as barreiras hematoencefálica, transplacentária e intestinal, podendo causar desde uma gastroenterite até complicações sistêmicas (Lopes, 2013).

A Listeriose pode manifestar-se de diversas formas e, frequentemente, sua apresentação é assintomática. O quadro clínico é caracterizado por febre, faringite, mialgia, mal-estar, dor abdominal em quadrante inferior, dor nas costas, diarreia, sepse, meningite, encefalite, endocardite, infecção nos olhos e articulações (Byrne, 2014; Koneman; 2018).

Em gestantes, a Listeriose pode resultar em complicações graves, como aborto espontâneo, infecção intra-uterina no feto, parto prematuro, morte fetal, icterícia e envolvimento hepático (Schlech, 2019). Quando a infecção ocorre ainda no útero, os

neonatos geralmente apresentam sepse e doença disseminada com lesões cutâneas contendo *Listeria monocytogenes* que podem se desenvolver no cérebro, fígado, rins, pulmões e baço. Tais casos possuem taxa de letalidade elevada e a sobrevivência é difícil mesmo com o tratamento adequado (Koneman, 2018).

Nos lactentes, a Listeriose se manifesta como forma de início tardio, na qual o neonato é contaminado pela mãe infectada durante o parto. Esses bebês podem apresentar meningite neonatal, com sintomas como febre, irritabilidade e fontanelas abauladas. Notavelmente, a mãe, nesses casos, geralmente não apresentou sinais de infecção ou sepse durante a gestação, mas pode apresentar sintomas gripais, como febre e mal-estar, que desaparecem naturalmente após o parto (Schlech, 2019).

Mulheres adultas durante o período puerperal podem desenvolver Listeriose, manifestando diferentes quadros clínicos, tais como como sepse aguda, meningite subaguda, meningoencefalite ou ainda rombencefalite. Além disso, em idosos, a maior probabilidade de gravidade é consequência do aumento de condições imunossupressoras, como neoplasias, por exemplo (Schlech, 2019).

Em adultos, é comum observar associação com imunocomprometimento, como diabetes, doença hepática, linfomas, doença renal, dentre outras possibilidades. Quando o microrganismo transpassa a barreira hematoencefálica, pode causar meningite subaguda com sinais e sintomas de febre, cefaleia e rigidez na nuca (Schlech, 2019). Além disso, na meningoencefalite, são observados sinais como ataxia, tremores, paralisias de nervos cranianos, convulsões e alterações no estado mental do paciente. Como uma possível complicação da infecção no Sistema Nervoso Central, pode-se observar abscessos cerebrais através de exames de imagem (Koneman, 2018; Lopes, 2013).

A *Listeria monocytogenes* pode causar uma variedade de complicações, incluindo infecções cutâneas, abscessos, peritonite, artrite, abscessos no fígado e no baço, colecistite, endoftalmite, infecções em próteses articulares ou em enxertos vasculares, osteomielite, miocardite e endocardite. Outrossim, trabalhadores que têm contato com tecidos de animais contaminados, como veterinários e funcionários de laboratórios, também podem estar em risco de infecção ocupacional pela bactéria (Koneman, 2018).

O diagnóstico para Listeriose envolve o isolamento da bactéria a partir da coleta de amostras de sangue ou líquido cefalorraquidiano, além de líquido peritoneal (Schlech, 2019). O tratamento para a doença consiste na administração de antibióticos e aminoglicosídeos. Entretanto, algumas cepas da bactéria têm demonstrado resistência e multirresistência aos antimicrobianos que são comumente utilizados na prática clínica (Byrne, 2014; Koneman, 2018).

Listeria monocytogenes é intrinsecamente resistente às fluoroquinolonas e cefalosporinas, mas permanece clinicamente sensível aos antimicrobianos mais utilizados na prática clínica contra bactérias gram-positivas, como penicilina, ampicilina, aminoglicosídeos, eritromicina, tetraciclina, trimetoprim-sulfametoxazol e imipenem. Costumeiramente, a terapia de escolha para listeriose tem sido administração de Ampicilina ou Benzilpenicilina associados a um aminoglicosídeo, como a Gentamicina. Para pacientes alérgicos à beta-lactâmicos, utiliza-se geralmente uma sulfonamida com trimetoprim. No entanto, a resistência crescente a esses fármacos representa uma ameaça iminente ao tratamento da doença (Schlech, 2019; Koneman, 2018).

A resistência antimicrobiana tem aumentado ao longo do tempo, com cepas resistentes a uma variedade de antimicrobianos, incluindo ácido nalidíxico, ampicilina, cefotaxime, cefalotina, clindamicina, coranfencol, eritromicina, estreptomicina, gentamicina, metecilina, oxacilina, penicilina G, rifampicina, sulfametoxazol-trimetoprim, tetraciclina e vancomicina. Isso tem gerado uma preocupação legítima e intensa à comunidade médica e científica, bem como às autoridades de saúde pública (Koneman, 2018; Lopes, 2013). De forma geral, a duração do tratamento ocorre de 2 a 3 semanas, podendo ser prolongada em casos de acometimento de sistema nervoso central (Schlech, 2019).

Apesar de ter uma incidência baixa, quando comparado com outros microrganismos de origem alimentar, a taxa de mortalidade pode chegar até 30%. A letalidade da doença é uma grande preocupação, pois a taxa pode ser de até 90% em grupos de risco (Costa et al., 2016; Rodrigues et al., 2017). No Brasil, a Listeriose é subnotificada e subdiagnosticada, o que resulta na falta de dados concretos sobre a incidência e números de casos da doença. Contudo, em diversos outros países, relatórios demonstram a alta relação da doença com alimentos contaminados e sua elevada taxa de mortalidade (CVE; Melo, 2015).

Nos Estados Unidos, onde os controles de qualidade industrial e notificação são mais eficientes, houve relatos de 36 casos de Listeriose em 17 estados, com 30 pacientes necessitando de internação hospitalar e 4 destes evoluindo para óbito, a partir da ingestão de cogumelos, em abril de 2020. Entre 2018 e 2019, foram registrados 50 casos da doença, com 90% dos pacientes sendo hospitalizados e 18% apresentando letalidade (9) (CDC, 2020).

Considerando que a bactéria tem facilidade em se reproduzir em baixas temperaturas e a principal via de transmissão é alimentar, o presente estudo tem como finalidade ser pioneiro em analisar alimentos comuns na rotina alimentar da família brasileira para identificar possíveis contaminações, tendo em vista a alta resistência a vários métodos de conservação e desinfecção dos alimentos industriais de tal microrganismo.

A falta de estudos e dados documentados locais sobre o assunto, no Brasil e no Distrito Federal, torna essa pesquisa ainda mais relevante para análise da presença da *Listeria monocytogenes* no consumo diário populacional. Dessa forma, será possível demonstrar a relevância da notificação compulsória e do monitoramento da bactéria, visando reduzir sua disseminação e seu impacto na população brasileira.

3. MÉTODO

A pesquisa é do tipo básica, exploratória e experimental, qualitativa e quantitativa, com experimentação laboratorial, utilizando o método ISO11290-1/A, descrito por Franchin, 2008, nas dependências do Labocien no Centro Universitário de Brasília (UniCEUB).

Esse método foi escolhido tendo em vista que é o método que apresentou maior sensibilidade para detecção de *Listeria monocytogenes* depois do método BAX System[®], um equipamento de alto custo e, por isso, inviável para esta pesquisa (Franchin, 2008).

O protocolo realizado do método será descrito a seguir:

1. Foram adquiridos meios de cultura e materiais necessários para realização da pesquisa segundo a metodologia ISO11290-1.
2. Os alimentos escolhidos para a pesquisa são os mais consumidos nas refeições diárias dos brasileiros de diferentes marcas e lotes, estando dentro do prazo da validade e

devidamente embalados e armazenados. As amostras foram compradas em comércios do Distrito Federal e transportadas e armazenadas em refrigeração até o momento da análise.

3. As amostras selecionadas foram: queijo não-pasteurizado amostra 1, queijo não-pasteurizado amostra 2, leite de saquinho Paracatu, leite em pó Italc, presunto Aurora, presunto Perdigão, salsicha Aurora, salsicha Perdigão, coxa de frango, peito de frango, patinho bovino e paleta bovina.
4. Dentro da cabine de fluxo, foram obtidas 25 g de 3 partes diferentes de cada amostra (75 g no total). Estes alimentos foram cortados utilizando tesouras esterilizadas e pesados em balanças de precisão dentro de beakers de vidro (um para cada amostra), também esterilizados.
5. Ainda dentro da cabine de fluxo, 75 g de cada amostra foram homogeneizadas em 150 mL de solução fisiológica (medido com proveta de vidro esterilizada) com o auxílio de bastões de vidro esterilizados. Posteriormente, as amostras foram fechadas com papel filme e retiradas da cabine de fluxo e colocadas em homogeneizador peristáltico por 2 minutos e depois deixadas para decantar por mais 3 minutos.
6. Após esse procedimento, 30 mL de cada solução foi inoculado em 70 mL de Caldo Half-Fraser em concentração de 1,285x, método de pré-enriquecimento da amostra, que foi incubado a 36 °C por 24 horas em estufa bacteriológica. Vale ressaltar que foram utilizadas pipetas de vidro esterilizadas (uma para cada amostra) e provetas de vidro esterilizadas para fazer a medida de cada solução e do Caldo Half-Fraser, respectivamente.
7. Após as 24 horas, dentro da cabine de fluxo, foi transferido, com o auxílio de micropipetas e ponteiros esterilizados, 0,1 mL de cada solução para tubos contendo Caldo Fraser, método de enriquecimento. Os tubos de cada amostra foram então incubados a 37 °C por 24 horas em estufa bacteriológica.
8. Após o período de incubação, foi realizada a leitura da hidrólise da esculina do Caldo Fraser. Sendo positiva ou negativa, as amostras foram transferidas para o Ágar ALOA.
9. Dentro da cabine de fluxo, com o auxílio de alça bacteriológica calibrada de 10 L, foi semeado, a partir das soluções em Caldo Fraser, em Ágar ALOA. Os meios de cultura foram incubados a 36 °C por 48 horas em estufa bacteriológica.

10. Com placas de ágar ALOA em que foi identificado crescimento de colônias com coloração azul esverdeada, crescimento presuntivo de *Listeria monocytogenes*, foi realizado o semeio apenas destas colônias em Ágar Sangue com 5% de Sangue de Carneiro, dentro da cabine de fluxo. Este repique foi realizado para melhor separação das colônias de interesse das demais colônias que possivelmente vieram a crescer nas placas e para permitir a replicação da bactéria de interesse a fim de se ter quantidade suficiente de colônias para realizar todos os testes do passo seguinte. Os meios de cultura foram incubados a 36 °C por 48 horas em estufa bacteriológica.
11. Após o crescimento das colônias em ágar sangue, foram selecionadas apenas as placas que tiveram crescimento bacteriano com colônias branco-acinzentadas, sugestivo de *Listeria monocytogenes*, e foi realizada a inoculação da colônia de interesse em Teste de Motilidade por 3 dias a 22 °C, bem como a realização do Teste de Catalase, Teste de Oxidase, CAMP Teste em Ágar Sangue de Carneiro com a cepa de *Staphylococcus aureus* 25923 e observação de hemólise, Testes Bioquímicos de Glicose, Xilose, Ramnose, Arginina, H₂S, Triptofano, Urease, Vermelho de Metila e Voges-Proskauer, e realização de microscopia com coloração de Gram para confirmação do crescimento de *Listeria monocytogenes*. Resultado esperado de acordo com o quadro 1.
12. Nos casos compatíveis com os resultados esperados para *Listeria monocytogenes*, foi realizado semeio em ágar Mueller-Hinton Sangue para Teste de Sensibilidade a Antimicrobianos, por meio da técnica de disco-difusão, com discos de Meropenem, Eritromicina e Sulfametoxazol-trimetoprim, e interpretação baseada na Tabela de Corte do *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (BrCAST).

A coleta, análise e registro das amostras foram realizados durante os meses de novembro e dezembro de 2022 e janeiro e fevereiro de 2023. No decorrer dos meses de março, abril e maio de 2023 foi realizada uma nova rodada de experimentos seguindo os mesmos passos supracitados, porém utilizando outras amostras. Baseado nos resultados encontrados na primeira rodada de testes, foram testadas, na segunda rodada, 6 amostras de carne: patinho bovino, paleta bovina moída, peito de frango, coxa e sobrecoxa de frango, coxão mole bovino e contra filé bovino. Vale ressaltar que as amostras foram compradas em local diferente da primeira rodada de testes.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme descrito na metodologia, foram analisadas 12 amostras de alimentos na primeira rodada de testes e 6 amostras de alimentos na segunda, a fim de detectar a presença de *Listeria monocytogenes*.

Os critérios para confirmação dos resultados esperados, para identificação de *Listeria monocytogenes* em cada teste, foram estabelecidos com base em estudo preliminar, seguindo as diretrizes do livro “Diagnóstico Microbiológico” de Koneman, edição de 2018, e o artigo de Byrne, de 2014. As informações do estudo preliminar, apresentadas na fundamentação teórica, foram resumidas no quadro 1.

Quadro 1 – Resultados esperados para identificação de *Listeria monocytogenes*

TESTE	POSITIVO	NEGATIVO
Hidrólise de esculina	Presente	-
Ágar ALOA	Colônias com halo de coloração azul esverdeado	-
Ágar sangue	Colônias branco-acinzentadas	-
Gram	Gram-positivo, curtos e curvos, arranjados em forma de V ou Y, intra e/ou extracelulares	-
Catalase	Formação de bolhas	-
Motilidade	Em forma de guarda-chuva	-
Oxidase	-	Amarelo/incolor
Camp Teste	Hemólise presente	-
Glicose	Amarelo	-
Xilose	-	Roxo
Ramnose	Amarelo	-
Arginina	Roxo	-

H ₂ S	-	Incolor
Triptofano	-	Halo amarelo
Urease	-	Laranja
Vermelho de Metila	Halo vermelho	-
Voges-Proskauer	Halo vermelho	-

Fonte: própria dos autores, 2022.

Todas as amostras passaram por procedimentos de homogeneização, pré-enriquecimento, enriquecimento e semeio em Ágar ALOA.

Após o enriquecimento, registrou-se a ocorrência ou ausência da hidrólise da esculina em cada amostra. Após o crescimento das culturas no Ágar ALOA, na primeira rodada de testes, foram eliminadas as amostras de queijo não-pasteurizado amostra 1, leite de saquinho Paracatu, presunto Aurora, presunto Perdigão, salsicha Aurora, salsicha Perdigão e coxa de frango.

Na segunda rodada de testes, as amostras excluídas após a análise do crescimento em Ágar ALOA foram as de peito de frango, contra filé bovino e coxão mole bovino, uma vez que não apresentaram crescimento de colônias com coloração azul esverdeada, característica presumida de *Listeria monocytogenes*, como indicado nos quadros 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 e 11 .

Quadro 2 – Resultados encontrados em testes com amostra de queijo não-pasteurizado (amostra 1 - primeira rodada)

TESTE	POSITIVO	NEGATIVO
Hidrólise de esculina	Presente	-
Ágar ALOA	-	Colônias brancas

Fonte: própria dos autores, 2022.

Quadro 3 – Resultados encontrados em testes com amostra de leite de saquinho Paracatu (primeira rodada)

TESTE	POSITIVO	NEGATIVO
-------	----------	----------

Hidrólise de esculina	-	Ausente
Ágar ALOA	-	Colônias brancas e amarelas

Fonte: própria dos autores, 2022.

Quadro 4 – Resultados encontrados em testes com amostra de presunto Aurora (primeira rodada)

TESTE	POSITIVO	NEGATIVO
Hidrólise de esculina	-	Ausente
Ágar ALOA	-	Sem crescimento de colônias

Fonte: própria dos autores, 2022.

Quadro 5 – Resultados encontrados em testes com amostra de presunto Perdigão (primeira rodada)

TESTE	POSITIVO	NEGATIVO
Hidrólise de esculina	-	Ausente
Ágar ALOA	-	Sem crescimento de colônias

Fonte: própria dos autores, 2022.

Quadro 6 – Resultados encontrados em testes com amostra de salsicha Aurora (primeira rodada)

TESTE	POSITIVO	NEGATIVO
Hidrólise de esculina	-	Ausente
Ágar ALOA	-	Sem crescimento de colônias

Fonte: própria dos autores, 2022.

Quadro 7 – Resultados encontrados em testes com amostra de salsicha Perdigão (primeira rodada)

TESTE	POSITIVO	NEGATIVO
Hidrólise de esculina	-	Ausente

Ágar ALOA	-	Sem crescimento de colônias
-----------	---	-----------------------------

Fonte: própria dos autores, 2022.

Quadro 8 – Resultados encontrados em testes com amostra de coxa de frango (primeira rodada)

TESTE	POSITIVO	NEGATIVO
Hidrólise de esculina	Presente	-
Ágar ALOA	-	Colônias brancas

Fonte: própria dos autores, 2022.

Quadro 9 – Resultados encontrados em testes com amostra de peito de frango (segunda rodada)

TESTE	POSITIVO	NEGATIVO
Hidrólise de esculina	Presente	-
Ágar ALOA	-	Sem crescimento de colônias

Fonte: própria dos autores, 2023.

Quadro 10 – Resultados encontrados em testes com amostra de contra filé bovino (segunda rodada)

TESTE	POSITIVO	NEGATIVO
Hidrólise de esculina	Presente	-
Ágar ALOA	-	Sem crescimento de colônias

Fonte: própria dos autores, 2023.

Quadro 11 – Resultados encontrados em testes com amostra de coxão mole bovino (segunda rodada)

TESTE	POSITIVO	NEGATIVO
Hidrólise de esculina	Presente	-
Ágar ALOA	-	Sem crescimento de colônias

Fonte: própria dos autores, 2023.

Após a eliminação das amostras supracitadas, as placas que apresentaram crescimento presuntivo de *Listeria monocytogenes* passaram por um processo de repique das colônias de interesse. Nesta etapa, as colônias de coloração azul esverdeada encontradas nas placas de leite em pó Italc, peito de frango, queijo não-pasteurizado amostra 2, paleta bovina e patinho bovino (todas pertencentes à primeira rodada de testes), bem como nas placas de paleta bovina moída, patinho bovino e coxa e sobrecoxa de frango (referente à segunda rodada de testes), foram semeadas em Ágar Sangue contendo 5% de Sangue de Carneiro.

Após o crescimento bacteriano nesse meio, foram selecionadas para a próxima etapa apenas as placas que apresentaram crescimento de colônias beta-hemolíticas branco-acinzentadas, o que sugere a presença de *Listeria monocytogenes*. Dessa forma, na primeira rodada de testes, foram eliminadas as amostras de leite em pó Italc e peito de frango. Na segunda rodada de testes, nenhuma amostra foi eliminada nesta etapa.

Os resultados encontrados nas amostras excluídas nesta fase estão detalhados nos quadros 12 e 13.

Quadro 12 – Resultados encontrados em testes com amostra de leite em pó Italc (primeira rodada)

TESTE	POSITIVO	NEGATIVO
Hidrólise de esculina	-	Ausente
Ágar ALOA	Colônias com halo de coloração azul esverdeado	-
Ágar sangue	-	Colônias translúcidas com aspecto mucoide

Fonte: própria dos autores, 2022.

Quadro 13 – Resultados encontrados em testes com amostra de peito de frango (primeira rodada)

TESTE	POSITIVO	NEGATIVO
Hidrólise de esculina	-	Ausente

Ágar ALOA	Colônias com halo de coloração azul esverdeado	-
Ágar sangue	-	Colônias alfa-hemolíticas

Fonte: própria dos autores, 2022.

Após a identificação das amostras que obtiveram os resultados sugestivos de *Listeria monocytogenes* nas etapas mencionadas anteriormente, procedeu-se à inoculação da colônia de interesse de cada amostra em diversos testes. Esses testes incluíram o Teste de Motilidade, realizado durante 3 dias a 22 °C, bem como o Teste de Catalase, Teste de Oxidase, CAMP Teste em ágar Sangue de Carneiro com a cepa de *Staphylococcus aureus* 25923 e observação de hemólise, além dos Testes Bioquímicos de Glicose, Xilose, Ramnose, Arginina, H₂S, Triptofano, Urease, Vermelho de Metila e Voges-Proskauer. Também foi realizada a microscopia com coloração de Gram para confirmar o crescimento de *Listeria monocytogenes*, de acordo com o resultado esperado detalhado no quadro 1.

Os quadros 14, 15, 16, 17, 18 e 19 apresentam os resultados obtidos em cada teste realizado nas amostras de queijo não-pasteurizado amostra 2, patinho bovino (da primeira rodada testes), patinho bovino (da segunda rodada), coxa e sobrecoxa de frango (da segunda rodada), paleta bovina (da primeira rodada) e paleta bovina moída (da segunda rodada).

Quadro 14 – Resultados encontrados em testes com amostra de queijo não-pasteurizado (amostra 2 - primeira rodada)

TESTE	POSITIVO	NEGATIVO
Hidrólise de esculina	Presente	-
Ágar ALOA	Colônias com halo de coloração azul esverdeado	-
Ágar sangue	Colônias branco-acinzentadas	-
Gram	-	Cocos Gram positivos
Catalase	-	Ausente
Motilidade	-	Ausente
Oxidase	-	Amarelo/incolor

Camp Teste	-	Hemólise ausente
Glicose	Amarelo	-
Xilose	-	Roxo
Ramnose	Amarelo	-
Arginina	Roxo	-
H ₂ S	-	Incolor
Triptofano	-	Halo amarelo
Urease	-	Laranja
Vermelho de Metila	Halo vermelho	-
Voges-Proskauer	Halo vermelho	-

Fonte: própria dos autores, 2022.

Quadro 15 – Resultados encontrados em testes com amostra de patinho bovino (primeira rodada)

TESTE	POSITIVO	NEGATIVO
Hidrólise de esculina	Presente	-
Ágar ALOA	Colônias com halo de coloração azul esverdeado	-
Ágar sangue	Colônias branco-acinzentadas	-
Gram	-	Cocos Gram positivos
Catalase	-	Ausente
Motilidade	-	Ausente
Oxidase	-	Amarelo/incolor
Camp Teste	-	Hemólise ausente
Glicose	Amarelo	-
Xilose	-	Roxo
Ramnose	Amarelo	-

Arginina	Roxo	-
H ₂ S	-	Incolor
Triptofano	-	Halo amarelo
Urease	-	Laranja
Vermelho de Metila	Halo vermelho	-
Voges-Proskauer	Halo vermelho	-

Fonte: própria dos autores, 2022.

Quadro 16 – Resultados encontrados em testes com amostra de patinho bovino (segunda rodada)

TESTE	POSITIVO	NEGATIVO
Hidrólise de esculina	Presente	-
Ágar ALOA	Colônias com halo de coloração azul esverdeado	-
Ágar sangue	Colônias branco-acinzentadas	-
Gram	-	Cocos Gram positivos
Catalase	Formação de bolhas	-
Motilidade	-	Ausente
Oxidase	-	Amarelo/incolor
Camp Teste	-	Hemólise ausente
Glicose	Amarelo	-
Xilose	-	Roxo
Ramnose	-	Roxo
Arginina	Roxo	-
H ₂ S	-	Incolor
Triptofano	-	Halo amarelo
Urease	-	Laranja

Vermelho de Metila	Halo vermelho	-
Voges-Proskauer	Halo vermelho	-

Fonte: própria dos autores, 2023.

Quadro 17 – Resultados encontrados em testes com amostra de coxa e sobrecoxa de frango (segunda rodada)

TESTE	POSITIVO	NEGATIVO
Hidrólise de esculina	Presente	-
Ágar ALOA	Colônias com halo de coloração azul esverdeado	-
Ágar sangue	Colônias branco-acinzentadas	-
Gram	-	Enterococo
Catalase	-	Ausente
Motilidade	-	Ausente
Oxidase	-	Amarelo/incolor
Camp Teste	-	Hemólise ausente
Glicose	Amarelo	-
Xilose	-	Roxo
Ramnose	Amarelo	-
Arginina	Roxo	-
H ₂ S	-	Incolor
Triptofano	-	Halo amarelo
Urease	-	Laranja
Vermelho de Metila	Halo vermelho	-
Voges-Proskauer	Halo vermelho	-

Fonte: própria dos autores, 2023.

Quadro 18 – Resultados encontrados em testes com amostra de paleta bovina (primeira rodada)

TESTE	POSITIVO	NEGATIVO
Hidrólise de esculina	Presente	-
Ágar ALOA	Colônias com halo de coloração azul esverdeado	-
Ágar sangue	Colônias branco-acinzentadas	-
Gram	Bacilos Gram positivos curtos e curvos	-
Catalase	Formação de bolhas	-
Motilidade	Em forma de guarda-chuva	-
Oxidase	-	Amarelo/incolor
Camp Teste	Hemólise presente	-
Glicose	Amarelo	-
Xilose	-	Roxo
Ramnose	Amarelo	-
Arginina	Roxo	-
H ₂ S	-	Incolor
Triptofano	-	Halo amarelo
Urease	-	Laranja
Vermelho de Metila	Halo vermelho	-
Voges-Proskauer	Halo vermelho	-

Fonte: própria dos autores, 2022.

Quadro 19 – Resultados encontrados em testes com amostra de paleta bovina moída (segunda rodada)

TESTE	POSITIVO	NEGATIVO
Hidrólise de esculina	Presente	-
Ágar ALOA	Colônias com halo de coloração azul esverdeado	-

Ágar sangue	Colônias branco-acinzentadas	-
Gram	Bacilos Gram positivos curtos e curvos	-
Catalase	Formação de bolhas	-
Motilidade	Em forma de guarda-chuva	-
Oxidase	-	Amarelo/incolor
Camp Teste	Hemólise presente	-
Glicose	Amarelo	-
Xilose	-	Roxo
Ramnose	Amarelo	-
Arginina	Roxo	-
H ₂ S	-	Incolor
Triptofano	-	Halo amarelo
Urease	-	Laranja
Vermelho de Metila	Halo vermelho	-
Voges-Proskauer	Halo vermelho	-

Fonte: própria dos autores, 2023.

Com base nos resultados esperados demonstrados no quadro 1, constatou-se que apenas a amostra de paleta bovina (da primeira rodada de testes) e a paleta bovina moída (da segunda rodada de testes) apresentaram indícios compatíveis com a presença de *Listeria monocytogenes*. Para avaliar a sensibilidade a antimicrobianos de tais amostras, procedeu-se ao semeio de ambas em Ágar Mueller-Hinton Sangue. Utilizando a técnica de disco-difusão, foram aplicados discos de Meropenem, Eritromicina e Sulfametoxazol-trimetoprim. A interpretação dos resultados foi feita com base na Tabela de Corte do *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (BrCAST). Os resultados encontrados estão apresentados no Quadro 20.

Quadro 20 – Resultados esperados e encontrados em teste de sensibilidade a antimicrobianos em amostras com colônias compatíveis com *Listeria monocytogenes*

Disco de antibiótico	Ponto de corte p/ diâmetro do halo (mm)*	Diâmetro do halo (mm) encontrado na amostra de paleta bovina, da primeira rodada de testes	Diâmetro do halo (mm) encontrado na amostra de paleta bovina moída, da segunda rodada de testes	Resultado final
Meropenem 10 µg	Sensível se ≥ 26 mm	34mm	30mm	As duas amostras são sensíveis ao antibiótico
Eritromicina 15 µg	Sensível se ≥ 25 mm	29mm	32mm	As duas amostras são sensíveis ao antibiótico
Sulfametoxazol-trimetoprim 25 µg	Sensível se ≥ 29 mm	36mm	34mm	As duas amostras são sensíveis ao antibiótico

*Baseado na tabelas de pontos de corte para interpretação de CIMs e diâmetros de halos do *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST)*

Fonte: própria dos autores, 2023.

Vale ressaltar que na segunda rodada de testes foram analisadas exclusivamente amostras de carnes, em sua maioria bovinas. Essa decisão foi tomada tendo em vista que, na primeira rodada de testes, apenas a amostra de paleta bovina havia apresentado resultados positivos para *Listeria monocytogenes*.

Tendo como base os resultados apresentados acima, foi possível constatar a presença de *Listeria monocytogenes* em 2 amostras, das 18 testadas, sendo ambas coincidentemente coletadas de amostras de paleta bovina. As colônias das duas amostras se mostraram sensíveis aos antibióticos que foram objetos do estudo.

Diante disso, foi possível analisar que a possibilidade de encontrar a bactéria em alimentos crus, processados e produtos em refrigeração está diretamente relacionada aos principais reservatórios da *Listeria monocytogenes*, ou seja, solo e vegetais em decomposição, uma vez que os animais são infectados e envolvidos no ciclo de transmissão por meio das fezes e do consumo de alimentos (Barancelli et al, 2011).

Nesse cenário, é necessário identificar os alimentos que apresentam maior risco, uma vez que as condições de produção são precárias, avaliando-se tais produtos de acordo com adequados indicadores higiênico-sanitários e critérios sanitários de transporte e armazenamento (Silva, 2021). Desse modo, carnes, por exemplo, geralmente se associam à transmissão de *Listeria* devido à possibilidade de contaminação cruzada em locais de controle, manuseio e abate de animais, além do processamento adicional de fatiamento e reembalagem, o que é possível tanto em produtos acabados quanto *in natura*. Enquanto os produtos lácteos, que podem ser contaminados em diversas etapas de manejo, beneficiamento, armazenamento e conservação, relacionam-se à contaminação devido a, principalmente, ausência de tratamento térmico prévio ao consumo (Lima, 2020).

Apesar de não terem sido testadas outras amostras de alimentos moídos, apenas a paleta bovina da segunda rodada, não é possível descartar a possibilidade de contaminação da amostra durante o processo de moagem. Em 1997, Roels já correlacionava a sanitização e limpeza inadequada de moedores com a contaminação de carnes em açougues nos Estados Unidos. Ele afirmou que, após o processamento de uma carne contaminada, o equipamento utilizado pode acabar sendo contaminado e vir a ser uma fonte continuada de contaminação cruzada para carnes que sejam moídas em seguida. Apesar de seu estudo ter sido voltado para a identificação de *Salmonella* nas amostras testadas, alguns de seus achados são válidos como orientações gerais.

O autor desencoraja que a população consuma carnes cruas, considerando tal ação como comportamento de risco, e enfatiza sobre a importância de cozinhar bem a carne moída. Afirma, ainda, que mesmo amostras com selo de manipulação segura não estão isentas de contaminação, uma vez que a presença do selo não garante, de fato, que as práticas seguras foram devidamente seguidas. Quanto aos moedores, Roels (1997) sugeriu que a indústria produzisse equipamentos mais fáceis de serem higienizados e limpos e que fosse investido em treinamento para funcionários responsáveis pela manipulação de tais equipamentos.

Chung realizou um estudo, em 2020, que também falava sobre a higienização de moedores e sua relação com contaminação cruzada. Em seu estudo, foi analisada a quantidade de carne suína moída que seria encontrada em amostras de carne bovina que

passaram pelo mesmo moedor. Foi constatado que, quando o moedor não era higienizado, a quantidade de carne suína encontrada na amostra de carne bovina era significativa. Se higienizado parcialmente, a presença de amostra suína reduzia, mas continuava presente. Uma vez completamente higienizado, não foi detectado contaminação cruzada entre as amostras. Apesar de não relacionar o seu estudo com bactérias, quando unimos os achados de Roels (1997) com os achados de Chung (2020), podemos inferir que se uma amostra contaminada for processada e o equipamento não for completamente higienizado as amostras subsequentes estão sujeitas a contaminação cruzada.

Segundo Azuonwu (2019), comerciantes de mercados podem estar mais preocupados em terminar rapidamente seus produtos, visando aumento de seus lucros, do que com processos de limpeza e higiene. Em seu estudo, o autor constatou que copos que eram utilizados para medir produtos não eram limpos antes e depois do uso. Ele correlacionou, então, que a higiene inadequada do recipiente poderia promover a proliferação de microrganismos, transferindo-os para os produtos medidos em seguida. Afirmou, também, que produtos que passam pelo processo de moagem podem servir de substrato para o crescimento de microrganismos em máquinas que não sejam corretamente higienizadas após o seu uso.

Conforme mencionado por Lima (2020), diversas estratégias têm sido estudadas para evitar a contaminação de alimentos por *Listeria monocytogenes* e garantir a segurança alimentar. Entre tais abordagens, destaca-se o uso de bacteriocinas, que são proteínas com atividade antimicrobiana capazes de atuar como conservantes nos alimentos, bem como embalagens de nanofibras contendo nanopartículas de nisina, que também configuram uma alternativa promissora para o monitoramento da bactéria. Outros antimicrobianos, como lactatos, diacetatos e nitritos também são utilizados na indústria alimentícia.

Nesse âmbito, de acordo com Osek (2022), tecnologias de processamento, como a irradiação gama, por exemplo, têm se mostrado eficazes para eliminar a bactéria e garantir a preservação dos alimentos, uma vez que a radiação gama possui ação bactericida. Além disso, o autor menciona a aplicação de ozônio gasoso e o uso de fagos, como o ListShield™, por exemplo, que podem ser utilizados tanto para reduzir quanto para eliminar a presença da *L. monocytogenes* em superfícies, equipamentos e produtos finais. Apesar disso, é

importante ressaltar que tais abordagens ainda não são amplamente aprovadas e regulamentadas em todos os países, estando, atualmente, consolidadas em nações como os Estados Unidos e o Canadá. Portanto, a realização de mais estudos é fundamental para garantir a eficácia e segurança dessas técnicas de monitoramento em diferentes contextos.

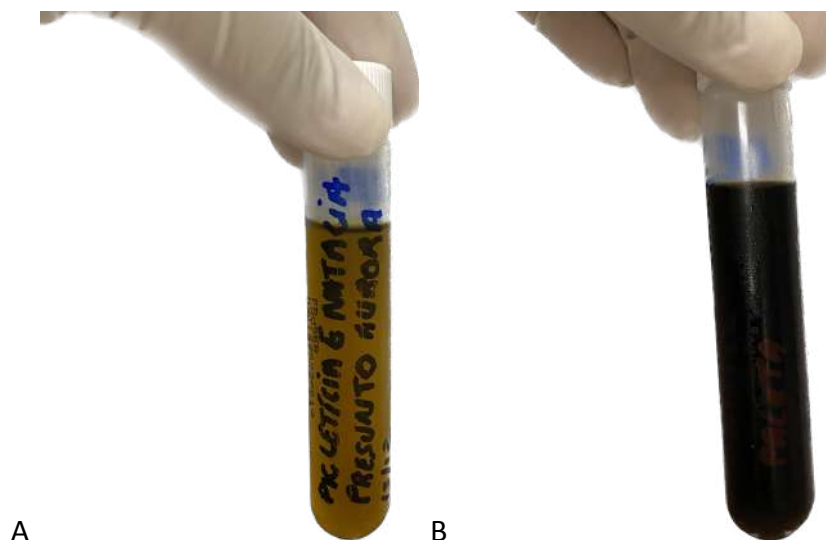
Nesse contexto, a *L. monocytogenes* é de extrema importância para a saúde pública, pois, apresenta alta taxa de disseminação, o que, muitas vezes, está relacionado à contaminação por meio de vestimentas de trabalhadores, equipamentos e utensílios contaminados, que possuem contato com processadores, esteiras e transportadores de alimentos (Lima, 2020). Além disso, existe grande preocupação também devido à capacidade desse patógeno de desenvolver biofilmes, o que pode potencializar a contaminação.

A Prancha 1, apresentada a seguir, demonstra alguns dos achados encontrados nos testes realizados ao longo do projeto.

PRANCHA 1

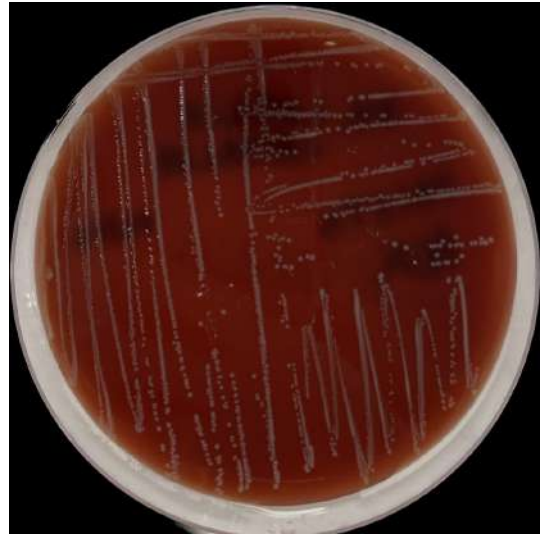
- A. Tubo de Caldo Fraser contendo inóculo da amostra de presunto Aurora (da primeira rodada de testes) com hidrólise de esculina ausente após 24 horas de incubação a 37°C.
- B. Tubo de Caldo Fraser contendo inóculo da amostra de paleta bovina (da primeira rodada de testes) com hidrólise de esculina presente. A *Listeria monocytogenes* é uma bactéria capaz de hidrolisar esculina, que está indicada pelo escurecimento do meio.
- C. Colônias azuis esverdeadas, sugestivas de *L. monocytogenes*, em placa de Ágar ALOA semeada com amostra de paleta bovina moída (da segunda rodada de testes), após 48 horas de incubação a 36°C.
- D. Colônias brancas-acinzentadas, sugestivas de *L. monocytogenes*, em placa de Ágar Sangue com 5% de Sangue de Carneiro semeada com amostra de paleta bovina (da primeira rodada de testes), após 48 horas de incubação a 36°C.
- E. Testes bioquímicos de Xilose, Ramnose, Arginina, Glicose E Vermelho de Metila, respectivamente da esquerda para a direita, inoculados com amostra de paleta

- bovina (da primeira rodada de testes), apresentando resultados condizentes com o esperado para *Listeria monocytogenes*.
- F. Zona de crescimento móvel em formato de guarda-chuva após 72 horas de cultivo de amostra de paleta bovina (da primeira rodada de testes) em meio de motilidade semissólido a 22°C.
 - G. Teste de Oxidase realizado a partir de amostra de paleta bovina moída (da segunda rodada de testes) apresentando resultado negativo, condizente com o esperado para *Listeria monocytogenes*.
 - H. Teste de Catalase realizado a partir de amostra de paleta bovina (da primeira rodada de testes) apresentando resultado positivo, condizente com o esperado para *Listeria monocytogenes*.
 - I. Esfregaço corado por Gram demonstrando bacilos gram-positivos curtos retirados de amostra de paleta bovina (da primeira rodada de testes).
 - J. Ágar Mueller-Hinton Sangue colonizado com amostra de paleta bovina (da primeira rodada de testes) para realização de Teste de Sensibilidade a Antimicrobianos, por meio da técnica de disco-difusão, com discos de Meropenem, Eritromicina e Sulfametoxazol-trimetoprim.

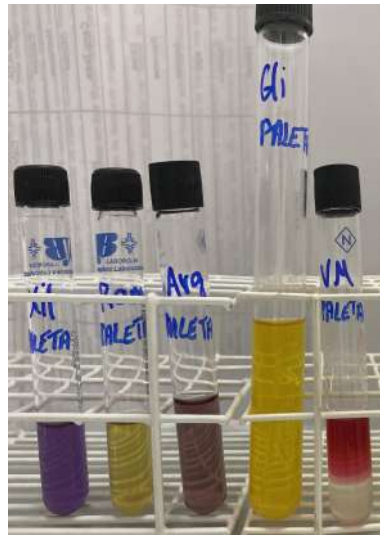




C



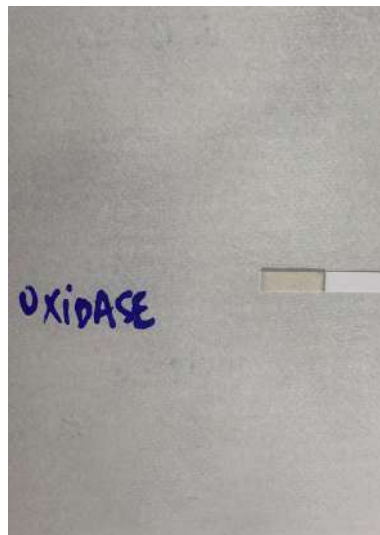
D



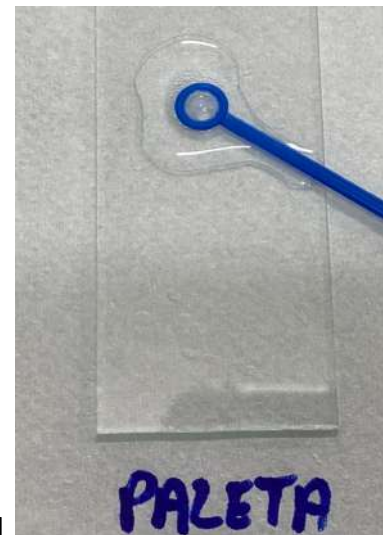
E



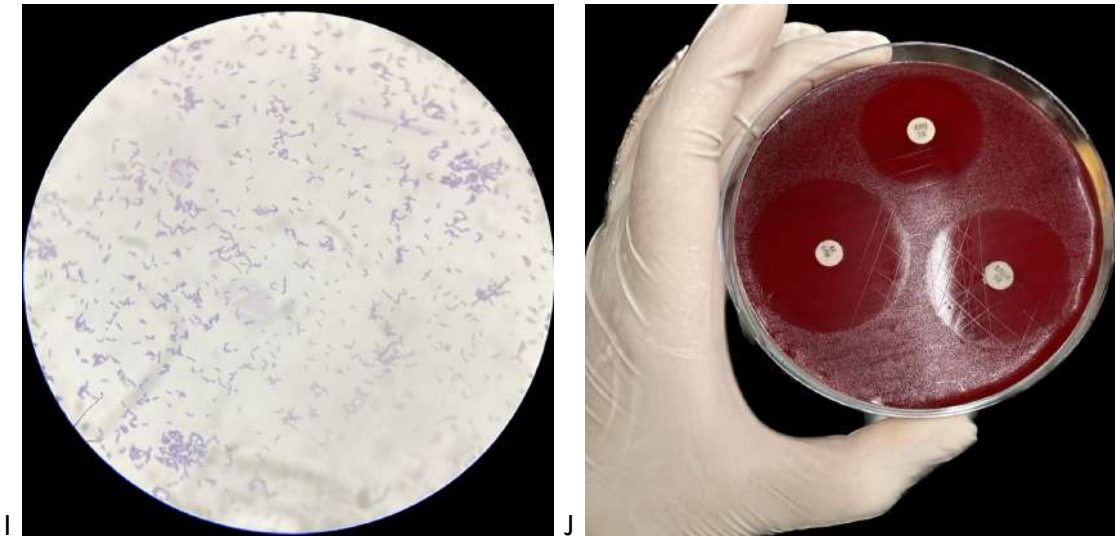
F



G



H



5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho pretendeu verificar o crescimento de *Listeria monocytogenes* em amostras de frangos, carne bovina, laticínios e embutidos à venda no Distrito Federal para correlacionar com a qualidade higiênico-sanitária dos alimentos comercializados e seu processo produtivo.

Pela realização do experimento foi possível detectar a presença de *Listeria monocytogenes* em 2 das 18 amostras testadas, o que representa aproximadamente 11% das amostras. Foi possível, também, constatar que as colônias de *L. monocytogenes* encontradas nas amostras positivas não apresentaram resistência ao Meropenem, Eritromicina e Sulfametoxazol-trimetoprim, que foram objetos de estudo no projeto.

Em suma, os resultados obtidos nessa pesquisa destacam a importância da vigilância e controle da *L. monocytogenes* em alimentos, especialmente em carnes. A presença desse patógeno representa um risco significativo à saúde pública, especialmente para grupos vulneráveis, como idosos e pessoas imunocomprometidas. Tendo em vista os aspectos observados, foi possível ressaltar a necessidade de medidas preventivas rigorosas na cadeia de produção e processamento de alimentos, dado o exposto sobre o risco de Listeriose e complicações, tal como infecções cutâneas, abscessos, peritonite, artrite, colecistite, endoftalmite, miocardite e endocardite, além de desfechos graves, incluindo meningite, septicemia e aborto, dentre outros.

É imprescindível que os órgãos regulatórios, indústria alimentícia e profissionais de saúde estejam atentos à importância da prevenção, notificação compulsória e monitoramento contínuo da Listeriose no país. A subnotificação e subdiagnóstico são questões que devem ser enfrentadas para obter dados epidemiológicos precisos e estabelecer estratégias efetivas de controle e prevenção da doença. Diante disso, é fundamental que tais agentes também invistam em pesquisas e desenvolvimento de tecnologias para o controle efetivo da *Listeria monocytogenes*, uma vez que a adoção de práticas inovadoras de monitoramento e controle de qualidade pode reduzir os riscos de contaminação de forma exponencial, garantindo a saúde dos consumidores e a confiabilidade dos produtos alimentícios oferecidos no mercado.

Em virtude dos fatos mencionados ao longo do trabalho, é possível afirmar que a inadequada manipulação dos produtos e o controle higiênico-sanitário deficitário desempenham papel importante na cadeia de contaminação alimentar. Por todos esses aspectos, é imprescindível a conscientização e educação sanitária de funcionários e manipuladores, bem como boas práticas de higiene durante todo o processo de produção e distribuição de alimentos, além de evitar o consumo de carnes cruas ou mal passadas.

Por fim, a realização de mais pesquisas e estudos sobre a incidência do patógeno em produtos cárneos é essencial, de forma que considerem não só um número maior de amostras, mas também possam comparar o grau de contaminação entre carnes processadas e que passaram pelo processo de moagem, para demonstrar a importância da implementação de medidas mais eficazes de prevenção e monitoramento da *Listeria monocytogenes*. Além disso, pode ser útil para reavaliar os padrões de segurança alimentar regulamentados no Distrito Federal e disseminar a conscientização de todos os profissionais e empresas envolvidas no processamento e manipulação de produtos alimentares, tendo em vista que boas práticas de higiene e controle de contaminação contribuem diretamente para redução do impacto da infecção na saúde pública.

REFERÊNCIAS

1. ARAÚJO, Lina R.S. **Fundamentos e atualidades em tecnologia e inspeção de alimentos** [livro eletrônico]. Fortaleza: Editora In Vivo, 2020.
2. AZUONWU, O; et al. Isolation and identification of potential high risk pathogens from blenders used in grinding some food stuffs in a local community market in rivers state: a public health concern. **Journal of Microbiology & Experimentation**, v. 7, n. 4, p. 183-187, jul. 2019. DOI: 10.15406/jmen.2019.07.00258.
3. BARANCELLI, Giovana V.; et al. *Listeria monocytogenes*: ocorrência em produtos lácteos e suas implicações em saúde pública. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 78, n. 1, p. 155-168, jan/mar. 2011. DOI: 10.1590/1808-1657v78p1552011.
4. BONETT, Lucimar P.; et al. Pesquisa de *Listeria monocytogenes* no processamento de embutidos cárneos em micro indústria do município de Toledo, PR. **Rev. Saúde e Biol.**, v.12, n.1, p.1-11, jan./abr. 2017.
5. BUCHANAN, Robert L.; et al. A review of *Listeria monocytogenes* : An update on outbreaks, virulence, dose-response, ecology, and risk assessments. **Food Control**, v. 75, p. 1–13, maio 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.12.016>.
6. BUCUR, Florentina I.; et al. Resistance of *Listeria monocytogenes* to Stress Conditions Encountered in Food and Food Processing Environments. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. 2700, p. 1-18, nov. 2018. DOI: 10.3389/fmicb.2018.02700.
7. BYRNE, Vanessa de V.; ***Listeria monocytogenes* em vegetais frescos, congelados e prontos para o consumo e resistência a antimicrobianos**. 2014. Dissertação (Mestrado em Ciências de alimento) - Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2014.
8. CENTRO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA – CVE, Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, Brasil. **Manual das doenças transmitidas por alimentos: *Listeria monocytogenes*/ Listeriose**. Disponível em: <ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/hidrica/listeria.pdf> Acesso em: 04/08/2022
9. CHUNG, Sunjung M.; HELLBERG, Rosalee S. Effects of poor sanitation procedures on cross-contamination of animal species in ground meat products. **Food Control**, v. 109, n. 106927, jan. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106927>.
10. COSTA, Daiane da Silva. **Modelagem probabilística do crescimento de *Listeria monocytogenes* em função do efeito de pH, temperatura e tempo de estocagem**. 2016. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos - Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2016.
11. DESTRO, Maria Teresa; et al. *Listeria monocytogenes* em Leite e Produtos Lácteos no Brasil: Uma Revisão. **UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde**, v. 13, n. 1, p. 59-67, 2011. DOI: <https://doi.org/10.17921/2447-8938.2011v13n1p%25p>.
12. DIAS, Victor H.C; KOVACS, Thais A.S.; MALACRIDA, Amanda M. Listeriose e suas implicações no contexto da saúde pública. **Revista De Ciência Veterinária E Saúde Pública**, Universidade Estadual de Maringá, v. 4, p. 173-177, 2017. DOI: <https://doi.org/10.4025/revcivet.v4i0.37129>.
13. FARBER, Jeffrey M. et al. Alternative approaches to the risk management of *Listeria monocytogenes* in low risk foods. **Food Control**, v. 123, n. 107601, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107601>.

14. FRANCHIN, Paulo R. **Comparação de metodologias alternativas para detecção de *Salmonella sp.* e *Listeria monocytogenes* em carnes e produtos cárneos**. 2008. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos- Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.
15. JANTZEN, Márcia M. ***Listeria monocytogenes*: detecção de células injuriadas por altas pressões e efeito de pré-enriquecimentos na PCR em Tempo Real**. 2006. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2006.
16. KONEMAN, Elmer; et al. **Diagnóstico Microbiológico: Texto e Atlas Colorido**. 7ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018.
17. LECUIT, Marc. *Listeria monocytogenes*, a model in infection biology. **Cellular Microbiology**, v. 22, n. 4, p. e13186, mar/abr. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1111/cmi.13186>.
18. LIMA, Isabela C.; ARAÚJO, Lina R. S. A importância da *Listeria monocytogenes* na indústria alimentícia. In: ARAÚJO, Lina R. S (org.). **Fundamentos e atualidades em tecnologia e inspeção de alimentos** [livro eletrônico]. Fortaleza: Editora In Vivo, 2020. p. 5-14. DOI: 10.47242/978-65-991243-3-4-5-14.
19. **LISTERIA ALOA ÁGAR**. Laborclin, 2022. Disponível em: <<https://www.laborclin.com.br/wp-content/uploads/2023/03/172176.pdf>>. Acesso em: 28 de julho de 2023.
20. LOPES, Micaela M. P. S. **Surto de *Listeria monocytogenes* na Região de Lisboa e Vale do Tejo (2009-2011)**. 2013. Trabalho de Projecto de Investigação (14º Curso de Mestrado em Saúde Pública 2011/2013) - Escola Nacional de Saúde Pública, Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, 2013.
21. MALAFAIA, G. C. et al. **Cadeia produtiva da carne bovina: contexto e desafios futuros**. Embrapa Gado de Corte, 2021.
22. MELO, J; et al. *Listeria monocytogenes* in cheese and the dairy environment remains a food safety challenge: The role of stress responses. **Food Research International**, v. 67, p. 75-90, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.10.031>.
23. OSEK, Jacek; et al. *Listeria monocytogenes* – How This Pathogen Survives in Food-Production Environments? **Frontiers in Microbiology**, v. 13, n. 866462, p. 1-21, abr. 2022. DOI: 10.3389/fmicb.2022.866462.
24. RADOSHEVICH, Liliana, et al. *Listeria monocytogenes*: towards a complete picture of its physiology and pathogenesis. **Nature Reviews Microbiology**, v. 16, n. 1, p. 32–46, nov. 2017. DOI: 10.1038/nrmicro.2017.126.
25. RODRIGUES, Carla S.; et al. An overview of *Listeria monocytogenes* contamination in ready to eat meat, dairy and fishery foods. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 47, n. 2, p. 1-8, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20160721>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/dZfTTzbhhs3ZVHbFP7gbkns/?lang=en>. Acesso em: jan 2023.
26. ROELS, T. H. et al. Incomplete sanitation of a meat grinder and ingestion of raw ground beef: contributing factors to a large outbreak of *Salmonella Typhimurium* infection. **Epidemiology and Infection**, v. 119, n. 2, p. 127–134, 1997. DOI: 10.1017/s0950268897007851.
27. SAKATE, RICARDO I. **Prevalência, epidemiologia, caracterização sorológica e molecular de *Listeria monocytogenes* isoladas na criação intensiva de Novilhos Superprecoces e em abatedouros frigoríficos no Estado de São Paulo**. 2005. Tese

- (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos- Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.
28. SCHLECH, Walter F. Epidemiology and Clinical Manifestations of *Listeria monocytogenes* Infection. **Microbiology Spectrum**, v. 7, n. 3, p. 1-12, maio de 2019. DOI: 10.1128/microbiolspec.GPP3-0014-2018.
 29. SILVA, Fabrício R. G. *Listeria monocytogenes* e sua importância na indústria de alimentos. **Revista GETEC**, v. 10, n. 28, p. 75-83, 2021. Disponível em: <https://revistas.fucamp.edu.br/index.php/getec/article/view/2391#:~:text=A%20Listeria%20monocytogenes%20%C3%A9%20uma,e%20at%C3%A9%20mesmo%20a%20morte>. Acesso em: mar. 2023
 30. SOARES, Karoline M.P, et al. Parâmetros de qualidade de carnes e produtos cárneos: uma revisão. **Higiene Alimentar**, v. 31, n. 268/269, p. 87-94, maio/jun. 2017. Disponível em: <https://docs.bvsalud.org/biblioref/2017/07/846491/268-269-site-87-94.pdf>. Acesso em: jul. 2023
 31. SOUZA, N. F. D. et al. Principais aspectos de *Listeria monocytogenes* e sua importância para a saúde pública. **ARS VETERINÁRIA**, Jaboticabal, São Paulo, v. 37, n. 4, p. 264–272, nov. 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.15361/2175-0106.2021v37n4p264-272>. Disponível em: <https://www.arsveterinaria.org.br/index.php/ars/article/view/1436/1413>. Acesso em: fev. 2023